

Rozpoznávání – základ imunity I.

Růži rozpozná někdo geometrií, jiný motýlem.
Francouzský básník a dramatik Paul Claudel (1868–1955)

Všechny živé organismy žijí v planetární biocenóze ve vzájemné kooperaci. Vztahy a interakce, které mezi nimi existují, se uskutečňují na základě rozpoznávání struktur a signálů, které jsou pro každého živého jedince charakteristické. Rozpoznání umožňuje nejen kooperaci mezi organismy, ale také obranu jejich individuality. Patří mezi základní atributy života stejně jako dráždivost, látková výměna nebo rozmnožování. Od svého vzniku žijí mnohobuněčné organismy v těsném spojení s mikroby. Množství mikroorganismů často převyšuje počty buněk svých hostitelů. Např. mikroflóra trávicího traktu člověka obsahuje asi 10^{14} mikrobů příslušejících více než k tisíci různých druhů. Jsou to většinou komenzálové, kteří se žíví zbytky natrávené potravy. Patogenních mikrobů, jež jsou příčinou různých onemocnění, je ve střevní mikroflóře mizivý zlomek. Aby se patogeny ve vnitřním prostředí nadměrně nepomnožily a nedošlo k ohrožení existence makroorganismu, vytvořily se u všech mnohobuněčných důmyslné rozpoznávací systémy umožňující jejich odlišení od neškodných mikrobů a vlastních buněk. Jejich principem je velice přesné rozpoznávání struktur specifických nejen pro patogenní mikroorganismy, ale i pro faktory, které se uvolňují při poškození vlastních buněk.

Senzory

Bakterie a viry byly po dobu téměř tří miliard let jedinými obyvateli naší planety. Jejich výlučnost skončila endosymbiotickým vznikem velkých jaderných buněk (viz také Živa 2006, 1–6; 2009, 2: 50–52). Už jednobuněční prvoci a řasy rozpoznávají mikroorganismy, a to prostřednictvím specifických senzorů – lektinových molekul, které se vážou na glycidy bakteriálních buněčných stěn. Podobné lektinové senzory používají i fagocyty, velké bílé

krvinky pohlcující v našem organismu cizorodé částice. Jako příklad lze také uvést makrofágy usedlé v kůži. Při tetování pohlcují drobné částičky barviv a vytvořený obrazec pak na témže místě zůstává trvale.

Čím většími a komplexnějšími se organismy stávaly, tím se i stávaly pro mikroorganismy atraktivnějším zdrojem živin. Proto musely rozvíjet výkonnější a přesnější cílenou obranu. Se vznikem krevního oběhu se mnohonásobně zvětšily vnitřní povrchy. Jak uvádí přední světový odborník

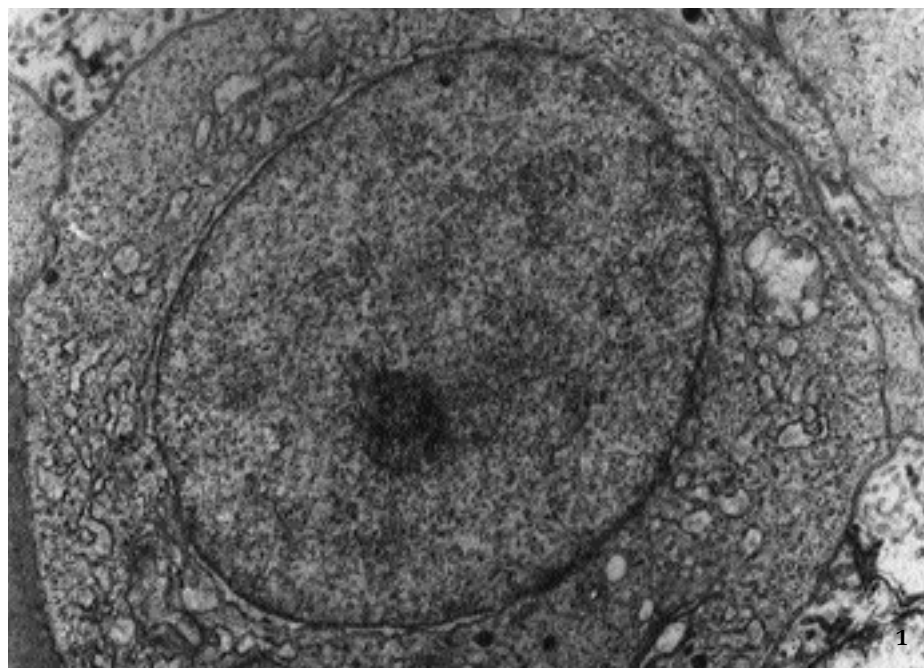
na cévní výstelku W. C. Aird z Centra pro cévní biologii Harvardovy univerzity v Bostonu, zaujímá u člověka vnitřní povrch cévního systému více než $4\,000\text{ m}^2$, což představuje desetinásobek vnitřní plochy střeva. Ubránit tak ohromnou plochu před mikroby je jedinečným výkonem imunity.

Účinné senzory si vytvořili také bezobratlí živočichové. Příkladem může být evolučně velmi starý lektin limulin, který v plazmě ostrorepů (*Limulidae*) vysoce specificky rozpoznává strukturní složky bakteriálních stěn. Fylogeneticky mnohem mladší obratlovci mají v krevním oběhu komplexní senzor – tzv. komplement, který se skládá asi ze 30 bílkovin. Tento senzor mikroorganismy nejen zaznamenává, ale také je zabíjí proděravěním jejich buněčné stěny. Jak prokázal japonský vědec H. Sekine v r. 2001, analogický rozpoznávací senzor, který může být z funkčního hlediska pokládán za předchůdce komplementu, se nachází u primitivních strunatců (*Chordata*) – sumek (*Asciidiacea*). Evolučně stará cesta aktivace komplementu spočívala na lektinech, u čelistnatých obratlovců vybavených adaptivní imunitou je však komplement aktivován imunoglobulinovými molekulami, tedy protilátkami. Pro úplnost je třeba dodat, že v krevním oběhu savců jsou bakterie rozpoznávány ještě mnoha dalšími senzory, např. proteinem vázajícím bakteriální sacharid mannan (MBP, z anglického Mannan Binding Protein), a celou řadou antimikrobiálních peptidů (Živa 2001, 1–6). Diagnosticky významný je tzv. C reaktivní protein (CRP). Původně byl objeven na začátku 30. let 20. stol. jako složka krevního séra při zánětu, která se specificky vážala na C polysacharid pneumokoků. Později se zjistilo, že po bakteriální infekci (nikoli virové) vzrůstá hladina CRP již za 6 hodin a nejvyšších koncentrací dosahuje za dva dny. Vzestup může být až tisícinásobný proti fyziologickým hodnotám. Stanovení koncentrace CRP v krvi se proto používá k odlišení bakteriálních a virových onemocnění. Senzory rozpoznávání však nepředstavují jen molekuly v tělních tekutinách, ale také receptory přímo na povrchu buněk nebo uvnitř, v jejich cytoplazmě.

Rozpoznávání vzorů

Proces rozpoznávání lidstvo odedávna fascinuje a byl vždy předmětem jeho snahy přiřazovat přibližně stejný obsah rozpoznávaného do určitých kategorií nebo souborů nesoucích podobné rysy. Moderní filozofie si proces poznávání či noetiku vetkla do svého středu. Roku 2003 se stal bestsellerem román *Rozpoznávání vzorů* (Pattern recognition) Williama Gibsona. Ústředním motivem knihy je touha lidí hledat význam a určité opakující se vzory v údajích, které je třeba ani nemají. Děj románu se odehrává v několika velkoměstech a zápletkou je hledání původce

1 Velký lymfocyt pronefrosu (párového vylučovacího orgánu) hrouzka obecného (*Gobio gobio*). Zvětšení v elektronovém mikroskopu $20\,000\times$. Lymfocyty mají specifické receptory pro antigen a objevily se poprvé u čelistnatých obratlovců. Foto I. Trebichavský



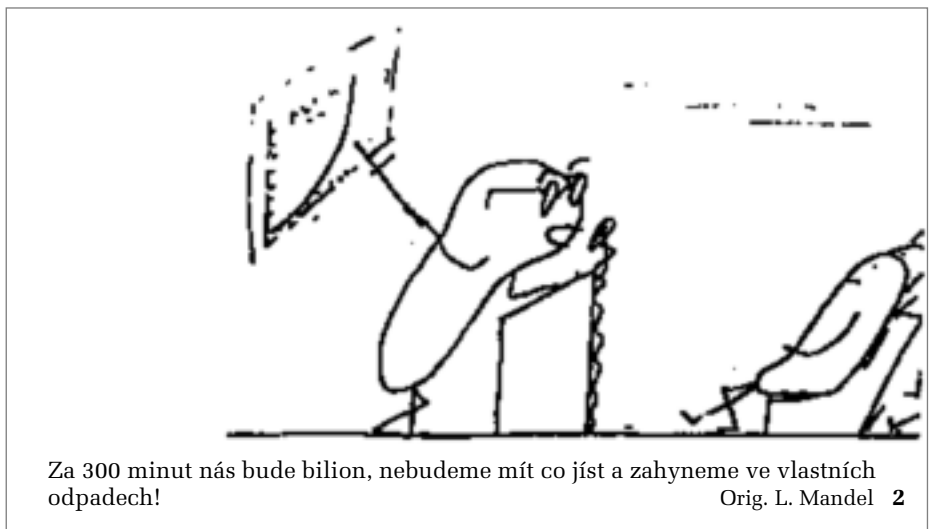
kriminálních obrazových klipů šířených anonymně po internetu. Jde v podstatě o hledání stopy či neopakovatelného vzoru, který každý jedinec zanechává. Na stejných principech jsou založeny také obranné mechanismy využívající senzorů rozpoznávajících strukturální vzory jedinečných mikrobiálních molekul.

Základy rozpoznání vzorů pomocí buněčných senzorů – receptorů lze vysledovat již u hub, řas i rostlin, ale mnohem komplexnější a efektivnější je u živočichů. Rozpoznání mikrobiálního vzoru – struktury – vyvolá v buňce signál, který je přenesen do jádra buňky, kde dojde k příslušnému přepisu genů řídících tvorbu obranných molekul. O evolučně dávném vzniku rozpoznávacích mechanismů svědčí proteinové řetězce obsahující tzv. LRR (Leucine Rich Repeats, protože obsahují převážně aminokyselinu leucin). Tyto senzory zprostředkovávají interakce bakteriálních a eukaryotních buněk. Jejich molekuly jsou uspořádány do tvaru podkovy, jež nese četná vazebná místa pro mikrobiální strukturální vzory. LRR řetězce byly nalezeny u rostlin, např. v huseničku rolním (*Arabidopsis thaliana*). Tato bylina je pro rostlinnou genetiku stejně významným experimentálním modelem jako laboratorní myš nebo muška octomilka (*Drosophila melanogaster*) mezi živočichy. LRR receptor huseničky přesně rozpoznává bílkovinu bakteriálních bičků – flagelin. U bezčelistnatých obratlovců, mihulí a sliznatek, slouží LRR řetězce jako rozpoznávací receptory pro antigeny.

Přirozená versus adaptivní imunita

Imunita živočichů se tradičně dělí na přirozenou (neboli vrozenou, nespecifickou) a adaptivní (specifickou, předvídavou; blíže také Živa 1997, 1–4). Organismy bránící se fylogeneticky starší přirozenou imunitou mají své rozpoznávací a obranné molekuly kódovány v genomu a jsou tudíž trvale přítomny v jejich vnitřním prostředí. Proto proti invadujícím mikrobům reagují okamžitě. Avšak senzory přirozené imunity rozpoznávají řádově jen asi 10^3 specifit. Dokáží odlišit škodliviny (noxy) od neutrálních molekul a rozpoznávají některé stavební molekuly mikroorganismů nebo jejich nukleové kyseliny. Nejsou však tak přesné jako senzory, kterými disponuje adaptivní imunita.

Na úsvitu prvohor, před 500 miliony let, se na Zemi objevili první čelistnatí obratlovci. Současně s nimi přišla zcela nová, vysoce rozlišující imunita, která se nikdy u žádného zástupce bezobratlých nevykytla a kterou označujeme jako adaptivní. Jejím základem byl nový typ obranné buňky, lymfocyt (obr. 1) vybavený novými senzory – receptory, které na rozdíl od molekul senzorů přirozené imunity nejsou jako celek zakódovány v genomu. Vznikají přepisem náhodně přeskupených určitých genových úseků. Toto přeskupování je řízeno produkty genů RAG1 a RAG2. V průběhu života dochází často ke vzniku těchto molekulárních buněčných receptorů až při setkání organismu s cizorodými strukturami, které jsou pak následně těmito receptory rozpoznávány. Takto vzniklé receptorové molekuly už naprosto přesně, tj. specificky rozpoznávají cizí antigenní



vzory od molekul vlastního organismu. Tyto geny pronikly do genomů předků čelistnatých obratlovců horizontálním genetickým přenosem (Živa 2006, 1–6).

Právě toto přeskupování bylo druhou evoluční novinkou a stalo se základem obrovské variability molekul z imunoglobulinové nadrodiny (mezi ně patří také již výše zmíněné protilátky), které jako třetí inovaci využila adaptivní imunita. Jejich vazebná místa mohou rozlišit prakticky každou antigenní strukturu, která se na Zemi vyskytuje, nebo se vyskytne. Odhaduje se, že tato variabilita může generovat neuvěřitelný počet bilionů odlišných vazebných míst. Protože jsou jejich počty u každého jedince jiné, jsme každý jinak odolný nebo vnímavý k různým infekčním chorobám.

Jak již bylo řečeno, lymfocyty náhodně vytvářejí receptory s vazebnými místy pro antigen i v jeho nepřítomnosti. Tento proces vytváření různých specifit lymfocytových receptorů, někdy označovaný jako GOD (Generation of Diversity) je tak imunologickou aplikací jedné ze základních vlastností živé hmoty, to je vytváření diverzity. Většina lymfocytů (udává se až 98 %) však „svůj“ antigen nikdy nepotká, a proto zaniknou. S určitou cizorodou strukturou reaguje jen asi desetiitisícina ze všech lymfocytů. Rozpoznání určité molekulární struktury receptorem lymfocytu pro antigen je podnětným signálem k jeho rozmnožení. Vznikne tak početně ohromný klon totožných buněk, které tuto molekulární strukturu antigenu rozpoznávají. Z nich se v krátké době diferencují stamiliony lymfocytů produkujících buď dostatečná množství molekul protilátek s vazebnými místy specifickými pro daný antigen (v případě tzv. B buněk) nebo dostatečný počet buněk schopných usměrnit imunologickou reakci či přímo zabít mikroorganismus nebo pozměněnou vlastní buňku, pokud je tato antigenní struktura součástí jejich povrchu (v případě tzv. T buněk).

Lymfocyty označované jako lymfocyty T jsou schopny generovat receptory, které rozpoznávají antigenní peptidy připravené štěpením mikrobiálních molekul. Jsou to např. receptory T lymfocytů (TCR), které mají opět obrovskou variabilitu (až 10^{18} vazebných míst). Rozpoznávají však pouze peptidy ve vazbě na specifické molekuly,

kteří jsou jim nabídnuty kooperujícími buňkami, např. makrofágy. Tyto T buňky jsou funkčně různorodé. Některé napomáhají produkci protilátek, jiné se účastní regulace imunitních reakcí a další pak jsou skutečnými výkonnými buňkami imunitní reakce. Jsou schopny rozpoznat a zabít např. virem infikované či nádorově pozměněné vlastní buňky. Vedle těchto výkonných, efektorových buněk vznikají ještě buňky paměťové, dlouhodobě žijící lymfocyty, které opět a přesně rozpoznávají cizorodé struktury, s nimiž se setkaly již dříve.

Další proces vytvářející diverzitu tak nutnou pro rozpoznávání je chemická manipulace s geny protilátek, tedy vytváření diverzity již na úrovni DNA. Část genu, která kóduje vazebné místo protilátky pro antigen, je pomocí enzymu AID (aktivací indukovaná DNA cytozin deamináza) změněna, a vzniká tak další specifita pro následné rozpoznávání. Tato manipulace s geny přinesla vznik nových tříd imunoglobulinových molekul a umožnila další specializaci protilátek a jejich začlenění do rozličných imunitních procesů. To ještě více umocnilo účinnost adaptivní imunity a zvýšilo pravděpodobnost přežití potomstva. Za tuto evoluční inovaci rozpoznávacího systému se ale platí daň v podobě zvýšené frekvence vzniku nádorových onemocnění, leukemií a lymfomů. Adaptivní imunita má i své nitrobuněčné senzory umožňující specifickou odpověď i proti takovým mikrobům, které proniknou do buněk. Uplatňují se zejména v obraně proti virům.

Je zajímavé, že senzory a mechanismy rozpoznávání byly objeveny mnohem dříve v adaptivní imunitě než v imunitě přirozené. Preventivní ochrana proti infekčním chorobám pomocí protilátek se využívá již dlouho při vakcinaci. Teprve v posledních letech bylo konečně objasněno, proč většina živých organismů infekci odolává, když nedokáží vytvářet protilátky, a také proč okamžitě nepodlehne infekčnímu onemocnění, když se první specificky zaměřené protilátky objeví až po několika dnech trvání nemoci. To bude námětem příštího pokračování.

Studie byla podpořena institucionálním záměrem AVOZ 50200510.