

Rozpoznávání – základ imunity VI.

„Základní jednotkou života není molekula, nýbrž znak.“
dánský biochemik Jesper Hoffmeyer

Rozpoznávání cizích organismů a cizorodých látek je jedním ze základních atributů života stejně jako rozmnožování, proměnlivost, dědičnost nebo výměna látková, metabolismus. Na rozpoznávání jsou závislé komplexní obranné reakce, které se obecně označují jako imunita. Bez imunity by nebylo variability, která je pro živý svět tak charakteristická, protože by nebyla ochráněna jedinečnost každého individua, a živá hmota, pokud by se vůbec vyvinula, by představovala asi jen nudnou, neměnnou, součást této planety.

Rozpoznávání má však daleko širší dosah, než identifikovat „cizí“ a nastartovat proti němu obrannou reakci. Je základem výměny informací, v živých objektech zakódovaných do molekul nukleových kyselin, jež určují jejich charakteristickou molekulárně chemickou stavbu (viz také seriál v Živě 2006, 1–6).

Rozpoznávání je v podstatě stálé ověřování a identifikace struktur. Každé ověřování, a tím také přenos informací, je zatíženo chybami a zkresleními. Každý z nás to zná ze zkušenosti, jak často ho zmýlí oči a sluch a kolikrát zcela přesně neporozumí mluvenému či napsanému. Imunitní rozpoznávání je rizikový proces, který je rovněž vystaven omylům a nástrahám, od posunů významu informace až po její úplné neporozumění, nebo různým omezením jejího přenosu. Na omylech rozpoznávání, nebo dokonce přímo na jeho destrukci, se nejvíce podílejí patogenní mikroorganismy a paraziti vyvolávající rozličná onemocnění.

Způsoby, jakými mikrobi obcházejí rozpoznávání nebo ho dokonce falzifikují, jsou nesmírně různorodé, někdy až bizarní, a překvapují především svou složitostí. Mnohé fylogeneticky velmi staré druhy bakterií měly k vývoji dokonalého parazitismu dostatek času. Američtí mikrobiologové z lékařské fakulty v St. Louis E. A. Groisman a H. Ochman propočtli,

že salmonely získaly horizontálním přenosem ostrůvek patogenity SPI-1 (kazetu mobilní DNA) obsahující geny, které jim umožňují přestup přes střevní stěnu, někdy před 80 miliony lety, tedy už v době dinosaurů, dlouho předtím, než se vůbec na Zemi objevili první lidé (Živa 2006, 4: 146–148). Tyto patogenní bakterie (obr. 2) způsobující průjmová onemocnění včetně

břišního tyfu každoročně nakazí přes miliardu lidí. Má-li postižený člověk z jakéhokoliv důvodu ještě navíc oslabený imunitní systém (jiné onemocnění, hladovění, stres nebo u seniorů), může dojít až k fatální systémové infekci končící v řadě případů smrtí.

Formy úniku z rozpoznání

Patogenní mikroorganismy i mnohobuněční paraziti vyvinuli různé strategie, jak se vyhnout imunitní odvetě ještě dřív, než jsou rozpoznáni jako cizí a než vůbec může začít odvetná imunitní odpověď.

• Mimikry

Především je to neuvěřitelná chemická proměnlivost, kterou jsou schopni vytvářet a která je podmíněna geneticky. Využívají molekulární mimikry, které je činí téměř totožné s vlastními antigeny hostitele, takže jsou ve vnitřním prostředí organismu nerozpoznatelné. Právě molekulární mimikry jsou struktury, které parazit sám endogenně syntetizuje. Salmonely tím, že změní strukturu svého povrchového lipopolysacharidu, odvracejí rozpoznání receptorem TLR4. Podobně mění svůj bičíkový protein flagelin *Campylobacter*, *Helicobacter* a *Bartonella*, což znemožní jejich rozpoznání receptorem TLR5.

Jiné mimikry jsou přivlastněné strukturální složky hostitele. Tuto důmyslnou strategii používají např. motolice rodu *Schistosoma* (krevnička, vyvolávající obávané onemocnění – bilharziózu), které si vypůjčují proteinové determinanty krvinek hostitele, a proto nejsou jako cizí detekovatelné. Rovněž jejich vývojová stadia parazitující u plže *Biomphalaria glabrata* využívají jako maskujícího převleku molekul jeho hemolymfy.

Paraziti dokážou zamaskovat i jiné své struktury, např. nukleové kyseliny. Virus Ebola produkuje kamuflážní protein, kterým chrání svoji RNA před rozpoznáním RNA-helikázami hostitelské buňky (enzymy, které rozplétají dvoušroubovici nukleových kyselin, některé RNA helikázy rozpoznávají virovou RNA).

• Únik do úkrytů

Jiné patogeny napadají a kolonizují mladé jedince, kteří ještě nemají vyvinutou plnohodnotnou imunitu, nebo pronikají a množí se ve tkáních s omezenou imunologickou kompetencí. Jako příklad mohou sloužit někteří paraziti hmyzu, kteří s chirurgickou přesností kladou vajíčka do nervových ganglií hostitele, kam krevní zásobením nedosahuje, tudíž se tam nedostanou ani ochranné látky. Využívají se v nich tedy v naprostém bezpečí. V nervových gangliích člověka též přežívají po celý život v latentním stavu herpesvíry 1 a 2 a viry planých neštovic a pásového oparu. Jejich genetický materiál je uložen v buňkách nervových ganglií a může být kdykoli aktivován k tvorbě nových virových partikul. Herpesvirus 8 a virus Epstein-Barrové latentně přežívají v B lymfocytech. Některé bakterie se ukrývají do speciálních vakuol uvnitř buněk. Salmonely si je vytvářejí v buňkách přirozené imunity, v makro-



1

1 Koncová část tenkého střeva bezmikrobního selete v rastrovacím elektronovém mikroskopu. Zvětšení 120x. Orig. I. Trebichavský a O. Kofroňová

fázích. Podobně se chovají brucely, listerie nebo francisely, které po pohlcení fagocytem unikají z fagosomální vakuoly do cytosolu, kde jsou chráněny před účinky destrukčních enzymů. V konečné fázi si vytvářejí uvnitř buněk vlastní niky připomínající buněčné organely.

• Mutace

RNA viry díky vysoké četnosti mutací mění povrchové struktury a skladbu virové proteinové kapsule. Takto se např. proměňuje virus hepatitidy C, který je hlavním původcem cirhózy a karcinomu jater, jimiž na celém světě onemocní ročně více než 170 milionů lidí. Také virus chřipky mění bodovými mutacemi jednotlivých genů své obalové proteiny H (hemagglutinin) a N (neuraminidázu). Čas od času však mezi různými chřipkovými kmeny dochází k výměně celých úseků RNA, které tyto proteiny kódují. Tak vzniknou zcela nové druhy chřipkových virů, s nimiž se lidstvo dosud nesetkalo. Propukají rozsáhlé epidemie, nebo dokonce pandemie, které za sebou zanechávají desítky milionů obětí. Tato úniková strategie chřipkových virů před rozpoznáváním zároveň zvyšuje jejich virulenci i patogenitu (viz také Živa 2002, 1: 6–8). Lze uvést, že od r. 2004 do doby vzniku tohoto článku současný typ viru ptačí chřipky H5N1 usmrtil v jihovýchodní Asii více než 60 % lidí, kteří se touto formou chřipky nakazili, tj. téměř 300 z 500.

Ke změnám povrchových antigenů však lze dospět i bez mutací, jen přesouváním genových kazet. Tento manévř vyžaduje velké množství relevantních genů a je charakteristický pro trypanozomy – prvoky vyvolávající v Africe spavou nemoc (Živa 2010, 5: 202–205). Desetinu jejich genomů zaujímají genové kazety obsahující okolo dvou tisíc genů, které kódují odlišnost jejich povrchových proteinů. Trypanozomy tyto kazety v průběhu onemocnění neustále vyměňují a tak unikají rozpoznání.

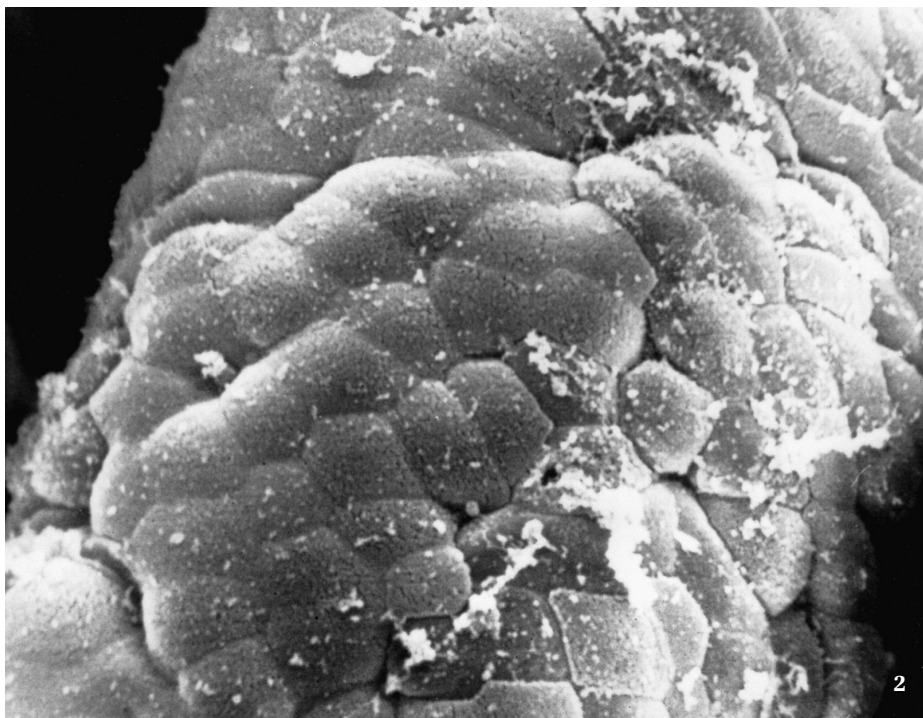
• Virtuální existence

O některých virech by se dalo říci, že si osvojily moderní počítačovou technologii. Jejich genetický zápis existuje pouze v hostitelově genomu. Teprve při jeho aktivaci se začínou vytvářet infekční virové partikule. Po určitou dobu tak v hostiteli přežívají retroviry (např. HIV – původce AIDS). Jejich genetickou informaci zakódovanou v RNA přepíše enzym reverzní transkriptáza na DNA a ta je uložena do genomu. Pokud se retroviry dostanou do zárodečných buněk, jsou ve formě tohoto zápisu přeneseny na potomky, u nichž jsou pak přítomny v genomu všech buněk. Většina těchto endogenních retrovirů je však defektní v tom smyslu, že ztratily schopnost vytvářet infekční partikule. Je neuvěřitelné, že více než 8 % lidského genomu obsahuje endogenní retroviry. Jsou to vlastně molekulární archeologické zápisy dávných infekčních onemocnění, s nimiž se lidstvo za dobu své existence potkalo (Živa 2006, 6: 242–244). Retroviry tak hrají významnou úlohu v evoluci.

Obrana útokem

• Interference

V aktivním zásahu proti imunitě hostitele, který má za následek oslabení imunity nebo ji zcela potlačí, spočívá další velmi



sofistikovaná strategie. Nazývá se interference a vyvinula se zejména u mnohobuněčných parazitů. V r. 1976 ji poprvé popsali kalifornští parazitologové K. J. Lie a D. Heyneman u sporocyst motolice *Echinostoma lindoense*, které tímto způsobem zabraňují své enkapsulaci (zapouzdření) v tkáních již zmíněného plže *Biomphalaria glabrata*. Navíc se napadený hostitel není schopen později bránit další infekci stejným druhem parazita. Interference může být namířena jak proti obranným molekulám (humorální imunita), tak proti imunitním buňkám (buněčná imunita), což zapříčiní neúčinnost fagocytózy a enkapsulace.

• Vyřazení receptorů přirozené imunity

Viry, bakterie i jiní paraziti mohou svými toxickými metabolity narušit proces rozpoznávání receptory přirozené imunity (Živa 2010, 2: 50–52). Buď zabrání syntéze rozpoznávacích molekul hostitele, anebo receptor přímo vyřadí z funkce. Toho dosahují nejrůznějšími způsoby: zablokováním těchto receptorů, narušením přenosu signálů a jak bylo uvedeno výše, syntézou kamuflážních dezinformačních molekul.

Vyřazení rozpoznávacích receptorů se např. podílí na vzniku periodontitidy, nejrozsáhlejší příčiny uvolňování a ztráty zubů. V tomto procesu hrají hlavní úlohu bakterie označované jako „červený komplex“ – *Porphyromonas gingivalis* zablokuje rozpoznání receptorem TLR4 a tím usnadní kolonizaci dentálního plaku dalšími poškozujícími gramnegativními bakteriemi *Tannerella forsythia* a *Treponema denticola*.

Listerie, které čas od času kontaminují potravinové výrobky, ke svému patogennímu působení dokonce využívají cytoplazmatický rozpoznávací receptor NOD2. Také některé viry jako virus západonilské horečky zneužívají rozpoznávací receptory TLR3 pro své šíření v napadeném organismu. Již zmíněná motolice *Schistosoma mansoni*, která nakazí asi 80 milionů obyvatel rozvojových zemí ročně, potlačuje přes receptory TLR obrannou zánětovou odpověď hostitele.

2 Stejný úsek střeva jako na předešlém obrázku, ale 24 hodin po infekci bakterií *Salmonella enterica* (serovar Typhimurium) a při větším zvětšení. Klky jsou pokryty zbytky poškozených buněk a stovkami bakterií (malé bílé tečky). Salmonely jsou velmi úspěšné v dezinformaci imunity, což jim umožnilo přestup přes střevní bariéru a nitrobuněčný parazitismus. Zvětšení 1 050x.

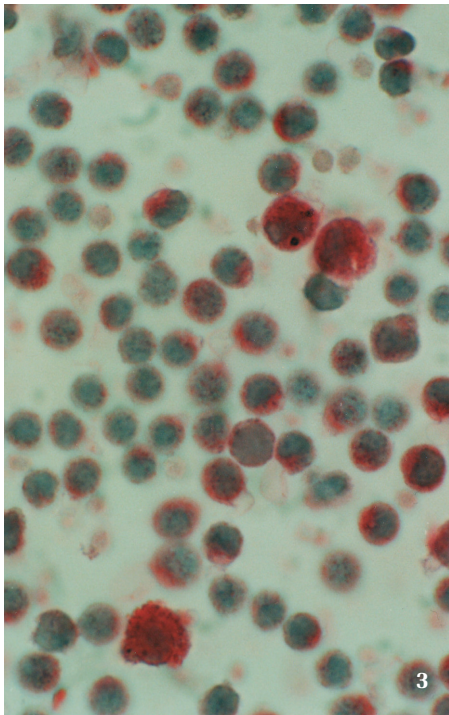
Orig. I. Trebichavský a O. Kofroňová

• Zmatení cytokinové odpovědi

Další sofistikovanou strategií, jak uniknout rozpoznání, je falzifikace nebo inhibice signálů komunikačních molekul zánětu. Mezi významné regulátory imunitní odpovědi patří cytokiny. Některé z nich jsou prozáněťové, zatímco jiné zánět brzdí (obr. 3). Tato zpětnovazebná regulace zabraňuje nadměrné reaktivitě imunity, která by jednak vedla k vyčerpání organismu, jednak k poškození vlastních buněk a tkání. K tomu skutečně dochází u dlouhotrvajících chronických zánětů, jako je revmatické onemocnění kloubů, nebo u sepsí. Je tedy zřejmé, že zásah do cytokinových regulací zánětu je pro parazity výhodný a usnadňuje jejich únik před imunitou hostitele.

Blokovat aktivitu prozáněťových cytokinů a zabránit tím rozvoji obranného zánětu dovedou svými produkty velké viry neštovic. Prozáněťové cytokiny jsou rovněž inhibovány adenoviry a viry sérové žloutenky (HBV). Viry klíšťové encefalitidy a bakterie *Borrelia burgdorferi* využívají k těmto účelům inhibiční látky obsažené v sekretech slinných žláz klíšťat.

Viry dokážou také uloupit geny hostitele kódující syntézu cytokinů a pozměnit jejich aktivitu tak, že kódují nové produkty, které cytokinové regulace narušují. Cytomegaloviry, které bezpříznakově infikují snad celou lidskou populaci, produkují cytokinu podobnou látku, která zánět potlačuje. Pro tyto virové cytokiny se vžil označení virokiny, pro mimikry cytokinových receptorů na buněčných površích pak viroreceptory.



3 Imunohistochemický průkaz faktoru nekrotizujícího nádory – TNF- α v mononukleárních buňkách krve (monocytech a lymfocytech) aktivovaných produktem z bakterií *Nocardia opaca*. Větší monocyt obsahující tento zánětový cytokin má červeně zbarvenou cytoplazmu (reakce Fast red v metodě APAAP). Zvětšení 700 \times . Orig. I. Trebichavský a M. Zahradníčková

• Útok na specifické rozpoznávání

Mechanismy, jimiž se uskutečňuje vysoce specifické rozpoznávání antigenů T lymfocyty, jsou velice komplexní, a tudíž více zranitelné. Rozpoznávací proces spočívá ve vytváření antigenních peptidů z enzymaticky rozštěpených mikrobiálních proteinů. Antigenní peptidy jsou navázány na proteiny vlastního histokompatibilního komplexu (MHC) a předkládány T lymfocytům (Živa 1997, 4: 169–171; 2010, 4: 150–152). Z toho vyplývá, že tvorba MHC je důležitým předpokladem pro uskutečnění specifické imunitní odpovědi, a proto se stala terčem útoku mnoha patogenů a parazitů. Jako příklad mikroba, který syntézu molekul MHC snižuje, lze uvést původce tuberkulózy *Mycobacterium tuberculosis*. Díky této schopnosti může úspěšně přežít v makrofázích, což nakonec vede k tvorbě granulomu, ohraničeného ložiska infikovaných makrofágů. K náchylnosti k onemocnění TBC i jeho obtížné terapii přispívají stresové podmínky oslabující účinnost imunity (špatná hygiena, podvýživa, jiná onemocnění). O úspěšnosti bakterie svědčí následující smutná čísla: několik miliard latentně infikovaných lidí celosvětově, 14 milionů vykazujících příznaky TBC a dva miliony úmrtí ročně.

Různé druhy virů narušují různé fáze procesu předkládání antigenů: viry Epstein-Barrové brzdí syntézu antigenních peptidů, cytomegaloviry, adenoviry, viry planých neštovic a viry pásového oparu zabraňují jejich transportu na membránu buněk. HIV inhibuje tvorbu produktů MHC,

cytomegaloviry nejenže množství těchto produktů snižují, ale přinutí buňky syntetizovat jejich nefunkční homology, takže nemůže dojít k nabídce antigenu T lymfocytům. Herpesvirus 8 má jen 86 genů, ale celou čtvrtinu z nich využívá pro tvorbu faktorů, které znemožňují rozpoznávání, rozvracejí kooperace T a B lymfocytů, přirozených zabíječů (NK buněk) a komplementových kaskád.

HIV je ještě nebezpečnější. Při onemocnění AIDS dochází k úbytku molekul MHC, k ochromení funkce pomocných T lymfocytů a nakonec i ke katastrofálnímu poklesu jejich počtu (z 500–1 200 v 1 mm³ krve pod 200). To má za následek naprosté zničení specifické imunity, tvorbu nefunkčních protilátek a posléze superinfekci dalšími patogeny a parazity. Komplexní léčba výrazně prodloužila život nemocným ve vyspělých státech, avšak v rozvojových afrických zemích nemocní umírají zpravidla na tuberkulózu nebo salmonelovou sepsi.

Nullum est iam dictum...

Již se neřekne nic, co nebylo řečeno dřív

(Publius Terentius Afer, asi 190 př. n. l.) Patogenní viry, bakterie i jiní paraziti za miliony let soužití se svými hostiteli dokonale ovládli umění maskování a napodobování, kamufláže a falzifikace při úniku před imunitním rozpoznáváním. Naučili se ještě více. Využívat i zneužívat a často také zotročit své hostitele ve svůj prospěch. Když se za 2. světové války prováděly rozsáhlé akce, jak dezinformovat nepřítel (např. klamná vylodění na několika evropských pobřežích, která kryla skutečnou vylodovací operaci Spojenců v Normandii), lidé pouze nedokonale napodobili děje, jež se odehrávají v živém světě běžně.

Ale i hostitelé se museli zajistit před útoky patogenů a tím zabezpečit své přežití. Reagovali v podstatě ustavením nového uspořádání a redundancí systémů, které udržovaly jejich vnitřní prostředí. Redundance, pojistka zmnohanásobením, je jediná stálost, kterou lze v přírodě nalézt. Pro obranu před cizími elementy to znamenalo budovat stále nové, a tím i účinnější signální a metabolické systémy, a nastavit vyšší hladinu hierarchizace jejich regulací. Redundance se běžně používá

v technice při konstruování několikanásobných záložních systémů, aby byla zajištěna co nejvyšší míra spolehlivosti. V biologických systémech v sobě zahrnuje navíc i funkční pleiotropii, kdy jeden gen či faktor kóduje nebo zodpovídá za několik odlišných funkcí. V kontextu obrany proti patogenům pak vyřazení několika imunitních faktorů nevede ke ztrátě obranyschopnosti.

Redundance a zvyšování regulační hierarchie mohly být jednou z příčin, proč je evoluce na této planetě anagenetická. Anagenese spočívá ve zvyšování schopnosti vyhledávat, využívat a zpracovávat stále vzrůstající množství biologické informace. Jejím důsledkem je vznik stále složitějších forem organismů vybavených vždy vyšším stupněm koordinace a homeostatické regulace životních funkcí. To ve svém důsledku vede k zvyšování komplexity živých organismů. Co se týče evoluce živých forem, je role parazitických organismů evidentně pozitivní. Bez jejich selekčního tlaku by se vysoce komplexní organismy, počítaje v to i člověka, na Zemi nikdy nevyvinuly.

Lectori benevolo salutem

A tím již nezbyvá než pozdravit trpělivého čtenáře, který se až k tomuto závěru prodral houštinou neobvyklých termínů. Přeji bychom si, aby v jeho povědomí zůstalo, že rozpoznávání mikrobů je nezbytné pro další komunikaci s nimi. Ve svém životě se nepřetržitě setkáváme s myriádami mikrobů a parazitů, ale také nosíme ve svém těle obrovské množství prospěšných mikroorganismů. Všechny musí být selektivně rozpoznány, aby mohly být buď zlikvidovány, nebo tolerovány. Uvědomíme-li si, že žijeme v biosféře spolu s 10³⁰ bakterií, jejichž celková hmotnost činí kolem 8 miliard tun, což převyšuje hmotnost rostlin i živočichů dohromady, pak musíme vyjádřit obdiv k rozpoznávacím mechanismům, protože jen díky nim přežil náš druh, ale také ostatní organismy v našem složitém světě. A také díky nim je živá příroda tak rozmanitá a mnohotvárná.

Studie byla podpořena institucionálním záměrem AV0Z50200510.

