

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Bakalářská práce:

FAGOCYTÁRNÍ RECEPTORY A JEJICH TERAPEUTICKÉ ASPEKTY



Vypracovala: Adéla Jačková

Školitel: RNDr. Jan Ženka, CSc.

České Budějovice 2012

Jačková, A., (2012): Fagocytární receptory a jejich terapeutické aspekty. [Phagocytic receptors and their therapeutic aspects. Bc. Thesis, in Czech], xxp, Faculty of Sciences, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace

The present study is dealing with the possibility of the application phagocytic receptors to non-cancer and cancer therapy and creates a basic overview of phagocytic receptors, their properties and roles.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, 25. 4. 2012

Adéla Jačková

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především svému školiteli RNDr. Janu Ženkovi, CSc, za vedení mé práce, vstřícné jednání, ochotu a trpělivost. Zvláštní poděkování pak patří lidem, kteří mi pomohli v nelehké životní situaci. Projevili neobyčejnou lidskost a je jejich zásluhou, že mohu studovat. Tímto tedy jmenovitě děkuji rodině Fialů, Pavle Čotkové, Jaroslavu Vrbovi, manželům Ptáčkovým, Ing. Hájkové a JUDr. Mrázkovi.

Obsah

1. Úvod	1
1.1. Imunita a imunitní systém	1
1.1.1. Získaná imunita	1
1.1.2. Vrozená imunita	3
2. Cíl práce	7
3. PRR	8
3.1. Klasifikace PRR	8
3.2. Přehled receptorů	9
3.2.1. MBL	9
3.2.2. CRP	10
3.2.3. Scavenger receptor (SR).....	11
3.2.4. Formylpeptidový receptor (FPR)	13
3.2.5. Manózový receptor.....	15
3.2.6. Dectin-1	16
3.2.7. CD14	16
3.2.8. TLR	17
3.2.9. NOD-1, NOD-2.....	19
3.3. Synergie fagocytárních a signálních receptorů	20
3.3.1. Spojitost mezi TLR-4 a scavengerovými receptory	21
3.3.2. TLR zvyšují expresi FPR1	21
3.3.3. Kooperace TLR s dectinem-1.....	21
3.3.4. Kooperace CD14 a TLR-4	22
3.4. Damage associated molecular patterns (DAMPs)	23
3.4.1. Zástupci DAMPs	24
4. Terapeutické aspekty fagocytární receptorů	26
4.1. Nenádorové terapeutické aspekty	26

4.1.1.	Využití manózy v léčbě akutního poškození plic.....	26
4.1.2.	FPR-1 podporuje hojení epitelu plic a trávicího traktu	27
4.1.3.	Léčba Gaucherovy choroby pomocí manózového receptoru	27
4.1.4.	Zymosan chrání před vznikem diabetu mellitu prvního typu.....	28
4.1.5.	Scavengerové receptory proti aterosklóze.....	28
4.2.	Nádorové terapeutické aspekty	28
4.2.1.	TAM (tumour-associated macrophages).....	29
4.2.2.	Schizophyllan indukuje protinádorovou odpověď	30
4.2.3.	W-peptidem zprostředkovaná suprese růstu nádoru.....	31
5.	Závěr.....	33
6.	Souhrn	34
	Použitá literatura:.....	35

1. Úvod

1.1. Imunita a imunitní systém

Imunita je schopnost organismu bojovat s látkami pocházejícími z vnějšího ale i z vnitřního prostředí – s antigeny.

Imunitní systém udržuje homeostázu organismu. Kromě rozpoznávání exoantigenů a ochrany proti mikroorganismům rozlišuje vlastní tkáň a dbá na to, aby nebyly poškozeny (imunotolerance) a vykonává imunitní dohled, tj. průběžně likviduje staré, poškozené a některé mutované buňky (Hořejší a Bartůňková 1998).

Imunitní systém reaguje na setkání s antigenem imunitní odpovědí. Ta je ale uskutečňována jen v nezbytném případě, protože je náročná jak energeticky tak na množství spotřebovaných živin. Každá imunitní odpověď znamená pro organismus riziko, že dojde k poškození vlastních tkání.

Buňky imunitního systému najdeme v celém těle, jsou ve všech orgánech a tkáních. Imunitní systém spolupracuje s dalšími tělními systémy, především s neuroendokrinní soustavou (Krejsek a Kopecký 2004).

Imunitu lze dělit na vrozenou a získanou.

1.1.1. Získaná imunita

Nazývá se také adaptivní nebo specifická. Je evolučně mladší než vrozená imunita. Vyvinula se jako odpověď na úhybné manévry mikroorganismů před aparátem vrozené imunity. Má univerzální rozpoznávací systém, který zajišťuje nalezení většiny antigenů. Zahájení získané imunitní odpovědi je závislé na signálech poskytovaných buňkami vrozené imunity (Medzhitov a Janeway 1997).

Získanou imunitu zajišťují T-lymfocyty a protilátky produkované B-lymfocyty. Lymfocyty mají jediný typ receptoru, ale s obrovským množstvím jeho variant, které rozliší prakticky každou molekulu (DeFranco a kol. 2007).

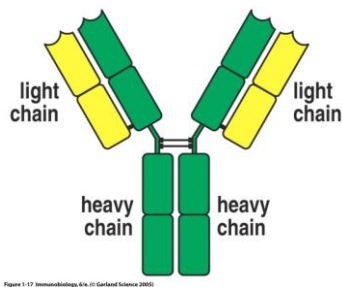
T-lymfocyty jsou zodpovědné za buněčnou adaptivní imunitu. Rozeznávají antigen umístěný na povrchu antigen prezentujících buněk (APC).

T-lymfocyty se dělí do 4 kategorií:

- 1) Induktorové – spolupracují s B-lymfocyty při humorální odpovědi a pomáhají při aktivaci makrofágů
- 2) Regulační – mají význam pro prevenci autoimunitních chorob
- 3) Cytotoxické – působí na nádorové buňky, buňky infikované virem nebo napadené parazity
- 4) NK-T lymfocyty – rozpoznávají lipidní antigeny a chrání před intracelulárními parazity a nádory (Pathak a Palan 2005)

B-lymfocyty hrají svojí produkcí protilátek důležitou roli v humorální adaptivní imunitě. Po setkání s antigenem jsou schopny intenzivní proliferace, mění se na plazmatické nebo paměťové buňky.

Plazmatické buňky produkují protilátky likvidující cizí objekty v organismu. Každá z molekul protilátek má strukturu imunoglobulinu. Molekulu tvoří čtyři řetězce – dva těžké a dva lehké, viz Obr. 1. Řetězce v jedné molekule spojuje disulfidická vazba mezi dvěma cysteiny. Disulfidové vazby vznikají i uvnitř řetězců, čímž molekula vytváří kruhové smyčky – domény, které se uplatňují při reakci s antigenem, aktivaci komplementu, vazbě na fagocyty při opsonizaci. Imunoglobuliny rozdělujeme do pěti tříd označovaných G, A, M, D, E (Jílek 2005).



Obr. 1: Struktura imunoglobulinu (Janeway 2005)

Paměťové buňky se uplatní při opětovném setkání těla se stejným antigenem. Spustí se sekundární odpověď, která je mnohem rychlejší a při které znovu dochází k diferenciaci na paměťové a plazmatické buňky. Antigen je zničen a imunologická paměť posílena (Jílek 2005).

1.1.2. Vrozená imunita

Nazývá se také nespecifická, je vývojově starší, odpověď na vstup antigenu do těla je rychlejší než u adaptivní imunity a někdy úplně postačí ke zvládnutí ataku. Dokáže rozlišit vlastní molekuly od cizích. Její mechanismy se ale nezaměřují na konkrétní patogeny, ale na molekuly s podobnou strukturou exprimovanou řadou patogenů a proto působí proti mnoha různým mikroorganismům (Pier a kol. 2004).

K rozeznání vlastních a cizích molekul používá vrozená imunita PRR (pattern-recognition receptors). To jsou bílkoviny, které se vyskytují na povrchu dendritických buněk, monocytů, makrofágů, lymfocytů a NK buněk. Tyto receptory navrhl Janeway, kterého napadlo, že lymfocyty musí mít molekuly, které rozpoznávají PAMPs (patogen-associated molecular patterns) nacházející se na mikroorganismech (Stahl a Ezekowitz 1998). To bylo později potvrzeno a PRR hrají klíčovou roli v rozpoznávání velkého množství různých látek. Hlavní odlišnost od receptorů T- a B-lymfocytů spočívá v tom, že PRR vznikají v průběhu evoluce, tak jak jsou zachovávány určité PAMPs a identifikují obecné struktury velkých skupin mikroorganismů (Medzhitov a Janeway 2002).

PAMPs jsou molekuly klíčové pro fyziologii mikroorganismů a nevyskytují se v hostitelském organismu. Příkladem mohou být peptidoglykany, lipopolisacharidy a lipoteichoová kyselina gramnegativních a grampozitivních bakterií, manany v buněčné stěně kvasinek a dvouvláknová RNA virů. Díky tomu PRR dokáže perfektně odlišit molekuly hostiteli vlastní od molekul cizorodých. (Medzhitov a Janeway 2002). Později byl místo PAMPs prosazován termín MAMPs (microbe-associated molecular patterns), protože tyto molekuly byly nalezeny i u nepatogenních mikrobů, virů a hub.

Imunitní odpověď mohou vyvolat i tzv. DAMPs (damage-associated molecular patterns). Na rozdíl od PAMPs iniciují odpověď i při neinfekčním poškození tkání. Vyvolávají zránění APC, jejich aktivaci a prezentaci antigenu. Jsou to jaderné nebo cytoplazmatické bílkoviny nekrotických nebo poškozených buněk, které směřují k povrchu buňky např. při poranění tkáně (Rubartelli a Lotze 2007).

Mezi mechanismy vrozené imunity patří fyziologické obranné bariéry, které zabraňují vstupu patogenů do těla. Hostitel je chráněn kůží a sliznicemi, navíc jsou tyto povrchy pokryty ještě jinými strukturami (řasinky v dýchacím systému). Buňky epitelu se neustále dělí, jsou obměňovány, což pro mikroorganismus znamená, že se na ně nestihne adherovat.

Obranu zajišťuje i nízké pH v žaludku nebo zvýšená teplota, které nejsou pro růst mikroorganismů příznivé. Svůj význam má také přirozená mikroflóra, protože kompetuje s ostatními patogenními organismy o prostor a nutrienty (Krejsek a Kopecký 2004).

Vrozenou imunitu lze stejně jako adaptivní rozdělit na buněčnou a látkovou.

Mezi mechanismy buněčné imunity patří fagocytóza. Časnou kontrolu potenciálně invazivních mikrobů zajišťují makrofágy, neutrofilny a dendritické buňky. Dendritické buňky a v menší míře i makrofágy působí spíše jako antigen prezentující buňky, což znamená, že pomocí hlavního histokompatibilního systému zobrazují antigeny, které jsou posléze rozpoznávány T-lymfocyty. Neutrofilny mikroby přímo ničí. Makrofágy a dendritické buňky žijí dlouho (Hořejší a Bartůňková 2005).

Makrofágy mají mnoho funkcí, rozpoznávají a lyzují tumorové buňky, tvoří obrannou linii proti mikrobiální invazi, v případě zánětu dorazí na místo poškození mezi prvními buňkami (Klimp a kol 2001).

Dendritické buňky rozdělujeme do dvou skupin. Jedna ze skupin působí jako periferní stráž, která se specializuje na příjem, zpracování a prezentaci antigenů. Tyto buňky spolupracují s T-lymfocyty, B-lymfocyty a NK buňkami. Vyskytují se hlavně v kůži, sliznici a jako nezralé formy v krvi. V určité fázi vývoje obsahují mnoho cytoplazmatických výběžků, které jim pomáhají pohlcovat cizorodé částice a komunikovat s ostatními buňkami. Mohou vstoupit do lymfatických uzlin a tak usnadnit prezentaci antigenu nezralým T-lymfocytům. Druhá skupina dendritických buněk je málo známá. Bylo dokázáno, že tyto buňky stimulují T-lymfocyty. Malá exprese molekul HLA II (human leukocyte antigen II) na právě izolovaných dendritických buňkách této skupiny naopak vzbuzuje pochybnosti o jejich roli v adaptivní imunitě. Jejich akumulace byla pozorována na karcinomech vaječníku (Cavanagh a Von Adrian 2002).

Neutrofilny žijí krátce a mají mimořádnou schopnost pohlcovat a tím eliminovat patogeny (Colucci-Guyon a kol. 2011). Pro jejich fagocytární funkci je klíčová opsonizace bakterií. Na rozdíl od makrofágů jsou neutrofilny pozoruhodně pasivní, pozřou bakterii jen, když se pohybuje v jejich blízkosti. Po každé fagocytóze se sloučením endosomu s lysozomem vytváří fagosom, do kterého jsou vylučovány reaktivní formy kyslíku a hydrolytické enzymy (Burg a Pillinger 2001).

Důležitými efektory buněčné imunity jsou mastocyty, které byly dříve studovány spíše v souvislosti s jejich vlivem na alergická onemocnění. (Avila a Gondzalez-Espinosa 2011). Vyskytují se v kůži, sliznici, podél cévního řečiště, to je tam, kde mikroorganismy nejvíce pronikají. Jejich cytoplazma obsahuje granula, ve kterých jsou uloženy různé bioaktivní látky (histamin, leukotrieny, proteázy) které mohou být v případě potřeby rychle uvolněny. Mastocyty exprimují TLR (Toll-like receptory), rozpoznávají bakterie a jsou také schopny je zabít (Palker a kol. 2010).

NK buňky (natural killer) se vyskytují v periferní krvi, orgánech i tkáních. Rozpoznávají nádorové a viry napadené buňky pomocí receptorů, které jim poskytují informace aktivačního nebo inhibičního charakteru. Po vyhodnocení těchto zpráv buď k cytolyze buňky dochází, nebo ne. Receptory NK-buněk také dokáží identifikovat změněnou expresi molekul HLA I (human leukocyte antigen I), která je typická pro maligní nebo infikované buňky (Moretta a kol. 2000). Atypickým zástupcem třídy HLA I je HLA G, který ve zvýšené míře exprimují melanomy, karcinomy prsu a ledvin. Tento komplex potlačuje funkce NK buněk a cytotoxických T-lymfocytů prostřednictvím vazby na inhibiční receptory a vypíná tak protinádorovou odpověď (Rouas-Freiss a kol. 2003). NK buňky jsou cytotoxické a tato schopnost bývá aktivována IL-2 (interleukin-2), což se uplatňuje především při odstraňování nádorových buněk. Mezi další aktivátory patří TNF α (tumor necrosis factor α), IL- (interleukin) 4, 7, 12, 15. Význam NK buněk spočívá i v produkci několika cytokinů. Jedná se o INF γ (interferon γ), TNF α , IL-3, GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), což vede k názoru, že spolupracují s T-lymfatickým systémem a regulují hematopoézu (Timonem 1997).

Na obranné reakci se podílí i trombocyty a erytrocyty. Trombocyty interagují s leukocyty a endoteliálními buňkami, což může vést k časné fázi obranné reakce, včetně aktivace leukocytů, tvorby cytokinů a nábory leukocytů do poškozené tkáně. Předpokládá se, že jsou primárně zodpovědné za reaktivitu proti bakteriálním produktům a chovají se jako cirkulující stráž, která se váže na infekční agens a předkládá je RES (retikuloendotelový systém). Trombocyty exprimují TLR (Semple a Freedman 2010).

Mezi látkovou vrozenou imunitu počítáme komplement a interferony.

Komplement zahrnuje soubor asi čtyřiceti glykoproteinů, z nichž některé se vyskytují v krevním séru, jiné na povrchu buněk, kde tvoří receptory (Ferenčík a kol. 2000). Jeho funkcí je bránit tělo proti antigenům a udržovat integritu organismu. Aktivace tohoto

systemu indukuje procesy důležité pro obranyschopnost organismu, jako je fagocytóza, protilátková odpověď, zánětlivá reakce nebo cytolýza (Sakamoto a kol. 1997). System může být přímo aktivován nádorovými buňkami a to buď lektinovou nebo klasickou cestou. Alternativní cestu nádory blokují. Rozpustné molekuly komplementu se snadno dostanou k nádoru a jsou syntetizovány místně (Macor a Tedesco 2007).

Interferony jsou vlastně cytokiny. Obecně se rozdělují do dvou tříd. Interferony třídy I jsou ve velkém počtu produkovány dendritickými buňkami. Mezi další sekretory patří lymfocyty a makrofágy. Ty tvoří hlavně INF- α a INF- β . Funkce interferonů spočívá nejen v indukci protivirové aktivity, ale také tvoří spojník mezi vrozenou a adaptivní imunitou. Imunitní odpověď na virovou infekci je velmi rychlá (Fitzgerald-Bocarsly a Feng 2007). Zástupcem třídy II je IFN- γ , který je klíčový v boji proti intracelulárním parazitům a při nádorové kontrole. Je produkován NK a NK-T buňkami, v menší míře i induktorovými a cytotoxickými T-lymfocyty. IFN- γ přímo inhibuje replikaci viru, má imunostimulační a imunomodulační účinky. Přispívá k aktivaci makrofágových buněk, stimuluje tvorbu protizánětlivých cytokinů, antimikrobiálních látek včetně superoxidových radikálů. Zesiluje expresi HLA I. i II. třídy, čímž se buňky nesoucí tyto znaky stanou citlivějšími vůči cytotoxickým T-lymfocytům (Schoenborn a Wilson 2007).

2. Cíl práce

- 1) Vytvořit základní přehled informací o fagocytárních receptorech, jejich vlastnostech a úloze.
- 2) Zjistit, zda je v některých oblastech medicíny používána modulace fagocytárních receptorů pro dosažení terapeutického efektu.
- 3) Pokusit se navrhnout terapeutický přístup, který by na základě aktivace fagocytárních receptorů vyústil v protinádorový imunitní atak.

3. PRR

3.1. Klasifikace PRR

PRR se mohou dělit podle více kritérií, avšak nejběžnější jsou dělení podle umístění v buňce na membránové a cytoplazmatické receptory a podle funkce na sekretované, fagocytární a signální receptory.

Sekretované receptory usnadňují likvidaci mikrobů fagocyty, tím, že mají schopnost aktivovat komplementovou kaskádu a zprostředkovávají opsonizaci (Jeannin a kol. 2008). Signální receptory se nachází v cytoplazmě i v membráně buněk. Aktivují signální cesty, které vedou k produkci cytokinů a kostimulačních molekul. Fagocytární receptory se vyskytují jen na povrchu fagocytujících buněk. Rozpoznávají PAMPs přímo nebo pomocí složitých komplexů (Gordon 2002). Kromě sekretovaných receptorů mohou fagocytózu zefektivnit samotné opsoniny. Mezi nejvýznamnější patří protilátky třídy IgG (imunoglobulin G), C1q a C3b složka komplementu vznikající klasickou, alternativní i lektinovou cestou aktivace komplementu. C3b pak může být ještě štěpeno na iC3b, který je také opsoninem, ale je rozpoznáván jinými fagocytárními receptory než C3b (Gröndahl a kol. 2001). Základní přehled receptorů je uveden v Tab. 1.

	Membránové	Cytoplazmatické
Sekretované		CRP
		MBL
Fagocytární	Scavenger receptor	
	Formylpeptidový receptor	
	Manóзовý receptor	
	Dectin-1	
	CD14	
Signální	TLR-1, 2, 4, 5, 6, 10	TLR- 3, 7, 8, 9 (membrány endosomů)
		NOD-1, NOD-2

Tab. 1: Rozdělení PRR podle umístění a funkce (Gordon 2002, Jeannin a kol. 2008).

Zkratky: CRP-C-reaktivní protein, MBL-mannose-binding lectin, NOD-nucleotide-binding oligomerization domain

3.2. Přehled receptorů

3.2.1. MBL

MBL je glykoprotein řadící se do skupiny kolektinů (rodina kolagenů obsahující lektinovou doménu rozeznávající sacharidy). U člověka existují dva typy MBL - plazmatický a jaterní, přičemž oba jsou produkty jednoho funkčního genu na chromozomu deset. V plazmě se MBL vyskytuje jako směs dimérů až hexamérů, převažují nižší oligoméry. Čím více podjednotek se váže, tím účinněji aktivují komplementový systém (Kilpatrick 2002). Molekulové váha tohoto proteinu je 400-700 kDa. MBL váže nejen sacharidy (N-acetylglukosamin, manóza, fukóza, glukóza, N-acetylmanosamin), ale také fosfolipidy (nejvyšší afinitu má k fosfatidylinositolu a fosfatidylserinu). Pomocí lektinové domény rozpoznává široké spektrum mikroorganismů (kvasinky, bakterie, viry, plísňe prvoci). Mikrobiální vazba je závislá na vápníku a náchylná k inhibici manózou a N-acetylglukosamin (Turner 2003). Mimo aktivace komplementu lektinovou cestou MBL

také neutralizuje virus influenzy A a opsonizuje salmonelu přímo bez účasti komplementového systému. Pro spouštění lektinové cesty komplementu jsou nezbytné MASPs (s MBL asociované serinové proteázy), které vytváří s MBL komplexy. MASP-2 je pravděpodobně ekvivalentem C1 složky komplementu, protože sama štěpí C4 a C2 a vytváří enzym podobný C3 konvertáze. MASP-1 může přímo štěpit C3 na C3b a C3a (Kilpatrick 2002).

Deficience MBL je odpovědná za zvýšenou citlivost k infekcím a k autoimunitním chorobám jak u myší, tak u lidí.

MBL inaktivuje meprinové metaloproteázy, které se podílejí na růstu nádoru a tvorbě metastáz. Bylo prokázáno, že MBL cytotoxicky a nezávisle na komplementu eliminuje tumorové buňky, dále byla popsána vazba MBL na buňky adenokarcinomu tlustého střeva a buňky gliomu. Interakce s apoptotickými a nekrotickými buňkami přispívá k omezení zánětlivého procesu. MBL může být také zahrnut v eliminaci možných tumorogenních patogenů (Jwierzko a kol. 2007).

3.2.2. CRP

CRP je protein akutní fáze syntetizovaný játry s molekulovou hmotností 120 kDa. Je členem fylogeneticky staré rodiny pentraxinů, jejichž struktura obsahuje nejčastěji pět monomérů uspořádaných do kruhu. CRP rozpoznává mnoho ligandů. Mezi nejvýznamnější patří fosfatidylcholin vázaný podobně jako ligandy MBL kalcium-dependently. Fosfatidylcholin se vyskytuje v polysacharidech mnoha bakterií a hub a ve většině plazmatických membrán, takže jeho vazba s CRP umožňuje rozpoznání širokého spektra patogenních cílů, tak jako poškozených nebo nekrotických buněk. CRP také váže fosfatidyletanolamin, polykationty, chromatin, histony, laminin a fibronectin (Wang a kol. 2002).

Komplexy ligandu a CRP jsou rozpoznávány C1 složkou komplementu a tak efektivně zahajují vznik C3 konvertázy klasickou cestou komplementu. C1 se navazuje na jeden pentamer a pro aktivaci klasické cesty je potřeba více CRP molekul těsně sousedících. Aktivace vede k vystavení opsonizačních fragmentů C3 a C4 na povrchu buňky, což podporuje tvrzení, že CRP zprostředkovává prostřednictvím svých ligandů fagocytózu. Alternativní a lektinovou cestu CRP spíše inhibuje.

Dlouho známá je přímá interakce CRP s fagocyty. Bylo zjištěno, že Fc receptor pro IgG je také receptorem pro CRP. Interakce buněk nebo částic s Fc receptorem vede jejich

fagocytóze. Je možné, že při vyvolání fagocytózy CRP pracuje synegeticky s C3b složkou komplementu.

Ve vztahu k nádorům má CRP protichůdné účinky. Interakcí s monocyty a makrofágy může indukovat tumoricidní činnost, respirační vzplanutí, produkci peroxidu vodíku a sekreci TNF a IL-1. Na druhou stranu byl popsán vliv na snížení aktivity neutrofilů. CRP inhibuje například produkci superoxidů neutrofilů, sekreci granul, intracelulární fosforylaci proteinů, chemotaktickou odpověď a s tím související p38 kinázovou aktivitu. Dále vyvolává odstanění I-selektinu z povrchu neutrofilů a tím redukuje adhezi k endoteliálním buňkám. Zprostředkovává také odstranění receptoru pro IL-6 (Volanakis 2001).

3.2.3. Scavenger receptor (SR)

SR tvoří velkou rodinu transmembránových glykoproteinů exprimovaných na makrofázích, dendritických buňkách a některých endoteliálních buňkách. Byly objeveny jako molekuly schopné vázat modifikované LDL. Dnes víme, že identifikují mnoho různých ligandů, což vede k řadě fyziologických nebo patologických důsledků od antimikrobiální imunity (fagocytóza je umožněna i bez předchozí opsonizace), prezentace antigenu, buněčné adheze až k fagocytóze apoptotických a nekrotických buněk (Mukhopadhyay a Gordon 2004). Scavenger receptory jsou rozděleny do osmi skupin (A-H) podle celkové struktury a svých ligandů (Areschoug a Gordon 2009). Mezi nejběžnější domény vyskytující se v SR struktuře patří kolagenní, lektinová nebo na cystein bohatá doména (Mukhopadhyay a Gordon 2004). Některé patogeny (*Streptococcus pyogenes*) vyvinuly mechanismy, které jim umožňují vyhnout se rozpoznání SR a existuje i několik příkladů mikroorganismů, které mohou využívat SR pro vlastní prospěch (Areschoug a Gordon 2009).

Nejznámější zástupci SR jsou uvedeny v Tab. 2.

	struktura	ligandy	funkce
SR-A (I, II) - skupina A	Kolagenní doména pro polyanionické ligandy Na cystein bohatá doména (ne SR-A II) Spacerová oblast Transmembránová doména Cytoplazmatický ocas Alfa-helikální spirála	Lipid A (LPS G- bakterií) Lipoteichoová kys. (G+ bakterií) Dvouřetězcová DNA CpG DNA Ox. LDL, ac. LDL	SR-A I, II-deficientní myši jsou citlivější k infekci Listerií a Staphylococem aureem
MARCO - skupina A	Podobná SR-AI bez alfa-helikální spirály a s delší kolagenní doménou	G+ i G- bakterie (přesné ligandy dosud neurčeny) Ox. LDL, ac. LDL	MARCO-deficientní myši jsou citlivější k infekci Streptococcus pneumoniae
SR-CLI – skupina A	Podobná SR.-AI, ale s lektinovou doménou a s C-koncem namísto na cystein bohaté domény	Zymosan Tepelně inaktivované E. coli a Staphylococcus aureus a Saccharomyces cerevisiae (přesné ligandy dosud neurčeny) Ox. LDL β -amyloid	
CD36 - skupina B	Dvě transmembránové domény Extracelulární smyčka s více glykosylačními místy Dva krátké intracelulární ocase	Plasmodium falciparum - erytrocytární membránový protein-1 P. falciparum - glykosylfosfatidylinositol Lipoteichoová kyselina β -glukan LDL, HDL, VLDL Diacylglyceridy Trombospondin, kolagen Ox. LDL, ac. LDL, mal. hovězí sérový albumin Fosfatidylserin, fosfatidylinositol	CD36-deficientní myši jsou citlivější k infekci Staphylococem aureem
SR-BI - skupina B	Smyčka jako u CD36	LPS na HeLa buňkách E2 glykoprotein viru	Peritoneální makrofágy izolované

		hepatitidy C LDL, HDL, VLDL Ox. LDL, ac. LDL, mal. hovězí sérový albumin Fosfatidylserin, fosfatidylinositol	z SR-BI-deficientních myší vykazují 30% snížení v příjmu bakterií
dSR-CI – skupina C	CCP doména Doména MAM rodiny 2 spacerové oblasti Na serin a threonin bohatá doména somatomedinová doména	Ac. LDL, mal. hovězí sérový albumin β -glukan	
LOX-1 - skupina E	Krátký cytoplasmatický N- konec Transmembránová doména Lektinová doména Neck doména	tepelně inaktivovaný Staphylococcus aureus, E. coli Fibronektin Ox. LDL Antagonisté: nespecifické anionty, anti- LOX-1 monoklonální protilátky	

Tab. 2: Zástupci SR, jejich struktura, ligandy a funkce (Plüddemann a kol. 2007, Mukhopadhyay a Gordon 2004, Areschoug a Gordon 2009, Peiser a kol. 2002, Pearson 1996).

Zkratky z tabulky: LDL-nízkodenzitní lipoprotein, ox. LDL-oxidovaný LDL, ac. LDL-acetylovaný LDL, LPS –lipopolysacharid, MARCO-macrophage receptor with collagenous structure, SR-CLI-scavenger receptor s lektinovou doménou, mal.-maleoylovaný, HDL-vysokodenzitní lipoprotein, VLDL-velmi nízkodenzitní lipoprotein, dSR-CI -scavenger receptor Drosophily melanogaster, CCP-protein kontroly komplementu, MAM rodina-Meprin A5 antigen and receptor protein tyrosine phosphatase Mu, LOX-1-lectin-like oxidised LDL-receptor 1

3.2.4. Formylpeptidový receptor (FPR)

FPR a FPRL (formyl peptide receptor-like) tvoří malou skupinu receptorů spřažených s G proteinem. Mezi hlavní zástupce těchto receptorů patří FPR-1, FPR-2, FPR-3, FPRL-1, FPRL-2. Obsahují sedm transmembránových domén a jsou exprimovány hlavně na savčích leukocytech (Ye a kol. 2009). Množství genů pro FPR se u různých savčích druhů značně

liší, což naznačuje přítomnost rozdílných selektivních tlaků během evoluce. Klíčovým ligandem vazby k FPR je N-formylová skupina přítomná v bakteriích, ale také v některých mitochondriálních proteinech. Celkový počet agonistických ligandů je mimořádně velký, zahrnuje formylované i neformylované peptidy různého složení, které působí jako chemoatraktans a aktivují fagocyty. FPRL-1 kromě toho váže i lipidy podílející se na zánětlivé odpovědi. Klasickým důkazem názoru, že FPR působí jako antimikrobiální receptory je, že bakterie jsou hlavním zdrojem chemotaktických formylovaných peptidů. Tento názor potvrzuje i větší citlivost FPR-1-deficientních myši k infekci *Listeria monocytogenes*. Endogenní ligandy těchto receptorů jsou spojovány s HIV, Alzheimerovou chorobou, amyloidózou či různými prionovými onemocněními (Le a kol. 2002).

FPR-1 agonisté: fMLF (f-methionin–leucin–fenylalanin) *Escherichie coli* a jeho analogy, peptid T20 a T21 (význam při léčbě HIV), W-peptid, annexin I

FPRL-1 agonisté: fMLF a jeho analogy, peptidy *Helicobacter pylori* HP (2-20); T21, N36, F-peptid, V3-peptid (význam při léčbě HIV); syntetické peptidy W-peptid, MMK-1, WKYMVM; annexin I, lipoxin A4, serum amyloid A protein, A β 42 (β amyloid se 42 aminokyselinami), PrP106–126 (fragment prionového proteinu)

FPRL-2 agonisté: peptidy *Helicobacter pylori* HP (2-20), W-peptid, WKYMVM

FPR-1 antagonisté: malé syntetické peptidy s t-butyloxykarbonylovou nebo isopropylureidovou skupinou, cyklosporin H, spinorfin

Navázání agonisty na FPR spouští signální cestu vedoucí k buněčné aktivaci. Na začátku způsobí kontakt FPR s agonistou rozpad heterotrimerického G proteinu připojeného k FPR na α podjednotku a $\beta\gamma$ komplex. To vede k řadě transdukcí signálu, jejichž výsledkem je aktivace proteinkinázy C schopné zvýšit hladinu vápenatých kationtů v buňce. $\beta\gamma$ komplex pravděpodobně aktivuje molekulu CD38, která indukuje konverzi NAD⁺ (nikotinamid adenin dinukleotid) na cyklickou ADP-ribózu. Cyklická ADP-ribóza v konečném důsledku také zapříčiní influx vápenatých kationtů do buňky buď interakcí s ryanidovými receptory na povrchu endoplazmatického retikula (zde influxu předchází uvolnění iontů z buňky), nebo otevřením vápenatých kanálů v buněčné membráně. Trvale zvýšený příjem vápenatých iontů je podmínkou pro fMLF-indukovanou migraci neutrofilů (Le a kol. 2002).

3.2.5. Manóзовý receptor

Manóзовý receptor je protein exprimovaný na makrofázích, nezralých dendritických buňkách, buňkách hladkého svalstva trachey, buňkách epitelu retiny, mesangiálních buňkách v ledvinách, podmnnožině endoteliálních buněk a buňkách Kaposiho sarkomu a je zatím nejlépe prozkoumaným PRR receptorem. Manóзовý receptor je syntetizován jako inaktivní prekurzor a stává se plně funkčním až průchodem pře Golgiho aparát. Skládá se z pěti typů domén (série osmi lektinových domén, na cystein bohatá doména, doména obsahující opakování fibronektinu II, transmembránová a cytoplazmatická doména), přičemž pro rozpoznání širokého spektra antigenů jsou nejdůležitější lektinové domény. Ty jsou schopné vázat hexózy, jejichž hydroxylové skupiny na uhlíku 3 a 4 leží v ekvatoriální rovině. Tak dochází k vazbě manózy, fukózy, N-acetylglukosaminu, glukózy, nikoliv však galaktózy, která má hydroxylové skupiny na uhlíku 3 a 4 umístěny axiálně. Vazba je závislá na vápenatých kationtech. Manóзовý receptor identifikuje patogenní G⁺ i G⁻ bakterie, kvasinky, parazity i mykobakterie. Ostatní domény (hlavně na cystein bohatá) umožňují identifikaci sulfátovaných hormonů lutropinu a thyreotropního hormonu, stejně jako všech neoglykoproteinů majících na svém konci sulfátovou skupinu, což hraje důležitou roli v regulaci dostupnosti těchto hormonů (Stahl a Ezekowitz 1998).

Manóзовý receptor vyvolává transdukcii signálu vedoucí k produkci cytokinů pro- i protizánětlivých. Navíc může reagovat s jinými PRR a také zahájit intracelulární signalizaci. Zprostředkovává prezentaci antigenu T-lymfocytům (přes MHC II), fagocytózu cizorodých látek i endogenních produktů a je specialistou v dodávání lipoarabinomananu pro prezentaci na buňkách s CD1b (Gazi a Martinez-Pomarez 2009).

Myši bez manóзовého receptoru překvapivě nejsou náchylnější k infekci houbovými patogeny, ale mají zvýšené plazmatické koncentrace některých endogenních glykoproteinů jako například lyzozomálních hydroláz, což potvrzuje roli tohoto receptoru v odstraňování tělu vlastních antigenů (McGreal a kol. 2005).

Manóзовý receptor je významným spojníkem mezi vrozenou a získanou imunitou.

3.2.6. Dectin-1

Dectin-1 je transmembránový protein, který obsahuje lektinovou doménu v extracelulární části a motiv ITAM-like (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) v intracelulární části. Je exprimován na makrofázích, neutrofilech, dendritických buňkách a u lidí i na B-lymfocytech a eozinofilech. Jeho hlavním PAMP je β -glukan vyskytující se na stěnách mnoha druhů hub a rostlin, ale rozpoznává i endogenní ligandy z T-lymfocytů a ligandy mykobakterií.

Po stimulaci ligandem dectin-1 zprostředkovává intracelulární signalizaci pomocí ITAM-like motivu za účasti Syk (spleen tyrosine kinase). Indukuje tvorbu mediátorů lipidů a zánětlivých cytokinů (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-23, CCL2-Chemokine C-C motif ligand 2, CCL3). Jako odpověď na zymosan (zdroj glukanu) spouští dectin-1 fagocytózu (zde bez účasti Syk) a tvorbu reaktivních kyslíkových radikálů (Drummond a Brown 2011).

Dectin-1-deficientní myši nevykazují žádné imunitní defekty v odpovědi na houbové patogeny, což naznačuje přítomnost jiných PRR, které likvidují tyto mikroorganismy (McGreal a kol. 2005).

3.2.7. CD14

CD14 je membránový glykoprotein složený z tři sta padesáti šesti aminokyselin dlouhého základu a devatenácti aminokyselin dlouhého N-koncového peptidu. Neprochází plazmatickou membránou, ale připojuje se k ní pomocí glykosylfosfatidylinositolu, který není spojován s funkcí vazby antigenů. Po glykosylaci je jeho molekulová váha cca 55 kDa. Exprimují ho B-lymfocyty, bazofily, neutrofile, monocyty, makrofágy, placentární trofoblasty a dásňové fibroblasty. Syntéza a exprese CD14 u monocytů, makrofágů a neutrofilů může být regulována několika mediátory. Například TNF α , G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor), fMLF a LPS zvyšují expresi CD14 u neutrofilů přibližně dvakrát a IL-4, IL-13, IFN α , IFN γ , IL-2 a TGF β indukují snížení exprese CD14 u monocytů (Antal-Szalma's 2000).

CD14 je hlavním LPS receptorem. Navázání antigenu na receptor vede k interakcím s dalšími komponentami membrány, které umožní transmembránovou signalizaci a tvorbu cytokinů – TNF α , IL-1, IL-6, IFN- γ (Stelzer 2000). Ačkoli samotný CD14 stačí k navázání LPS, LBP (LPS-binding protein) urychluje tuto interakci stokrát až tisíckrát. CD14 dále interaguje s různými složkami G- a G+ bakterií, parazitů a hub. Na základě experimentů

in vitro se ukázalo, že se účastní fagocytózy G- bakterií, LPS-zprostředkované resorpce kostí a interakce monocytů a endoteliálních buněk. Může hrát roli v regulaci apoptózy a v internalizaci apoptotických tělísek.

CD14 má kromě membránové ještě rozpustnou formu vyskytující se v séru účastnící se transportu fosfolipidů. Biologické rozdíly mezi těmito dvěma formami nejsou doposud jasné (Antal-Szalma's 2000). Ve výzkumu Moore a kol. (2000) myši, kterým chyběli obě formy CD14, LPS nedokázal vyvolat produkci TNF α a IL-6 u makrofágů. Co se týče vazby celých bakterií (tepelně usmrcená *E. coli*) nebyl mezi CD14-deficientními a normálními myšmi rozdíl (Moore a kol. 2000).

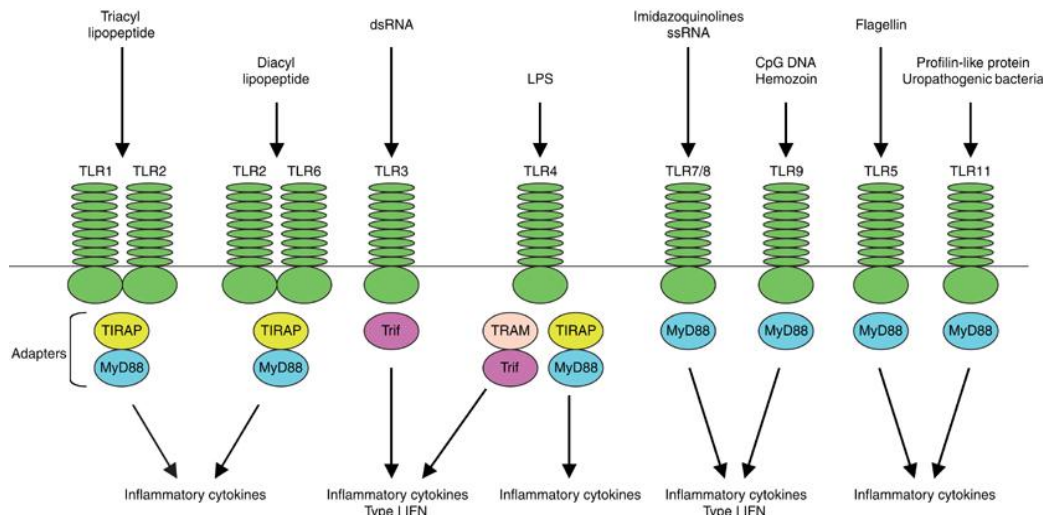
3.2.8. TLR

TLR působí jako senzory patogenů, organizují zánětlivé reakce a aktivují tak imunitní systém. U myši je popsáno třináct TLR, u člověka deset. Každý TLR rozpoznává omezenou podmnnožinu nebo dokonce jedinou molekulu produkovanou mikroby (Mukhopadhyay a kol. 2004). Ligandy vázající se na TLR jsou uvedeny v Tab. 3.

TLR	Ligandy
TLR-1/TLR-2	Triacyl lipopeptidy (mykoplazmatické, bakteriální), rozpustné faktory
TLR-2	Peptidoglykan, lipopeptid, zymosan, glykosylfosfoinositol, glykolipidy, lipoteichoová kyselina, poriny, atypický LPS, HSP70 (heat shock protein 70)
TLR-3	Virová RNA
TLR-4	LPS, taxol, bakteriální HSP60, některé virové proteiny, mnoho hostitelských proteinů
TLR-5	Flagelin
TLR-6/TLR-2	Diacyl lipopeptid
TLR-7	Virová RNA, syntetické ligandy: imidazochinolin, loxoribin, bropimirin
TLR-8	Jednovláknová DNA
TLR-9	Nemetylované CpG DNA
TLR-10	
TLR-11	Uropatogenní bakterie

Tab 3: TLR a jejich ligandy (Mukhopadhyay a kol. 2004).

Vazba antigenu na TLR aktivuje signální dráhy, které vedou k tvorbě zánětlivých cytokinů (IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α) a k maturaci dendritických buněk, která je klíčovým procesem pro indukci adaptivních imunitních odpovědí. Do přenosu signálu jsou zapojeny různé adaptorové molekuly, které jsou společně se svými TLR znázorněny na Obr. 2 (Kawai a Akira 2006).



Obr 2: TLR, jejich ligandy a adaptorové molekuly. TLR-1/2 a TLR-2/6 využívají MyD88 (myeloid differentiation primary response protein) a TIRAP (toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein) adaptorové molekuly. TLR-3 využívá Trif (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β), TLR-4 čtyři adaptorové molekuly - MyD88, TIRAP, Trif a TRAM (trif-related adapter molecule). TLR-7/8, TLR-9, TLR-5 a TLR-11 používají jen MyD88 (Kawai a Akira 2006).

V nedávné době došlo k objevu, že aktivované TLR mohou podpořit útok na nádorové buňky. Proběhlo několik klinických studií, ty ale zatím nepřinesly žádné uspokojivé výsledky, což bylo dáno hlavně imunosupresivním prostředím nádorů, včetně indukce tolerogenních dendritických buněk a regulačních T-lymfocytů, které potlačují rozvoj efektorových T-lymfocytů. Stejně tak aktivace TLR navázáním jejich ligandů může způsobit imunosupresi, zánětlivou odpověď a indukovat regulační i efektorové T-lymfocyty, což jsou jen normální procesy, které slouží ke zmenšení škod během infekce, ale při boji s nádorem omezí schopnost vyvolat protinádorovou imunitu, zvláště pak v imunosupresivním prostředí nádoru. Jednou z možností, jak využít TLR v boji proti nádorům, by bylo blokovat tuto supresivní funkci TLR (Conroy a kol. 2008). Druhá skupina vědců si všímá skutečnosti, že nádory exprimují své TLR a využívají je ve svůj prospěch k proliferaci, metastazování a úniku před apoptózou a navrhuje nádorovou TLR signalizaci inhibovat (Huang a kol. 2008).

3.2.9. NOD-1, NOD-2

NOD-1 a NOD-2 patří do skupiny NLR (NOD-like receptorů) exprimovaných ve fagocytech, ale i v endoteliálních buňkách. Obsahují šest domén, z nichž doména

NACHT zprostředkovává NLR oligomerizaci a série na leucin bohatých opakování slouží jako detektor ligandů. NOD-1 a NOD-2 se nacházejí v cytoplazmě a aktivují NF- κ B, p38 a JNK (c-Jun N-terminal kinase) signální cesty, které vedou k expresi TNF, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-8, CCL-2, KC (keratinocyte chemoattractant) a α -defensinů (Kersse a kol. 2011).

NOD-1 je senzorem bakteriálních peptidoglykanů. Detekuje ale jen minimální motiv – D-glutamyl-meso-diaminopimelovou kyselinu, která se nachází v membránách G- i některých G+ bakteriích (Magalhaes a kol. 2011). V nedávné době byla objevena schopnost NOD-1 rozpoznat i *Trypanosomu cruzi*, což naznačuje, že receptor může přispět ke zničení patogenu, který nevlastní molekulu peptidoglykanu (Kersse a kol. 2011). Pro identifikaci ligandu je potřeba ho přenést do cílové buňky, což probíhá přímo nebo pomocí vezikul bakteriální membrány. Někdy ligandy přenáší sama hostitelská buňka. NOD-1 nemá význam jen v obraně proti patogenním látkám, ale byla také popsána regulace imunitní odpovědi. Neutrofilové z NOD-1-deficientních myší vykazovaly zhoršenou schopnost zabíjet bakterie (Magalhaes a kol. 2011).

NOD-2 detekuje myramyl dipeptidy peptidoglykanů, ale i parazity a viry, které nemají peptidoglykan. Účastní se zahájení autofagie, procesu, pomocí kterého se hostitelská obrana může zaměřit na intracelulární patogeny a degradovat je v lyzozomech (Magalhaes a kol. 2011).

3.3. Synergie fagocytárních a signálních receptorů

Mezi některými signálními a fagocytárními receptory existuje kooperace. Tyto interakce zahrnující rozpoznání mikrobů a spouštění signálních cest mohou být pro hostitele velkou výhodou:

- A) Pokud se na identifikaci patogenu podílí více receptorů, imunitní systém zabrání účinněji uniknutí mikroba před rozpoznávacími mechanismy.
- B) Zároveň je umožněno, aby genetické nedostatky v jednom receptoru (kvůli nimž není patogen zachycen) byly nahrazeny jiným systémem.
- C) Čím více receptorů je do rozpoznání zahrnuto, tím přesněji může imunitní systém vyvolat odpověď, podle toho jaké ohrožení organismu hrozí.

- D) S větším počtem receptorů upraví imunitní systém zánětlivou reakci přiměřeněji k typu mikroba, se kterým se setkal (Underhill 2007).

3.3.1. Spojitost mezi TLR-4 a scavengerovými receptory

Hoebe a kol. ukázali, že CD36 působí jako koreceptor TLR-2 v odpovědi na mikrobiální diacylglyceridy a je klíčovou částí při TLR-2 odpovědi na MALP-2 (mycoplasma-derived lipopeptide 2) a lipoteichoovou kyselinu. Po stimulaci s diacylglyceridy CD36 asociuje s TLR2/6 heterodimérem na povrchu buněk a je nezbytný pro indukci odpovědi proti mikrobiální molekule. CD36 na povrchích makrofágů také působí jako receptor pro bakterii *Staphylococcus aureus*, fagocytuje ji a na této internalizaci mikroba závisí TLR2/6 odpověď. (Areschoug a Gordon 2009).

Interakce fagocytárních a signálních receptorů nemusí být vždy synergická. Např. TLR-4 zprostředkovaný zánět může být potlačován neznámou SR-A (možná i MARCO) signalizací. Předpokládá se, že toto potlačení zánětu je vyvoláno vycytáváním LPS receptorem SR-A, který kompetitivně brání navázání antigenu na TLR-4 a tím potlačuje aktivaci makrofágů (Ohnishi a kol. 2011). SR-A a MARCO zvyšují TLR-3 odpověď (Mukhopadhyay a kol. 2011).

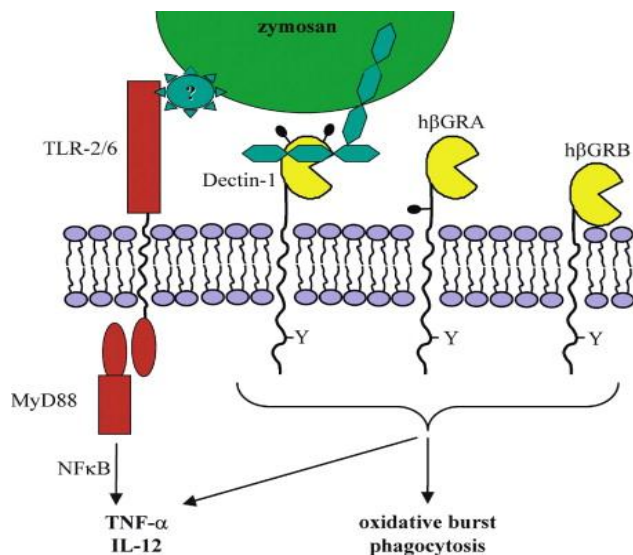
3.3.2. TLR zvyšují expresi FPR1

LPS je schopen prostřednictvím TLR-4 zvýšit expresi FPR1 u neutrofilů a makrofágů. Regulace je dosaženo transkripčními a potranskripčními mechanismy. V pokusu Mandal a jeho kolegů bylo zjištěno, že ligandy, které stimulují makrofágy vazbou na TLR-2 a TLR-3 jsou také schopné vyvolat FPR1 expresi, přičemž tato indukce nesouvisí ani s Myd88 (myeloid differential primary response protein) závislou, ani s Myd88 nezávislou signální dráhou (Mandal a kol. 2005).

3.3.3. Kooperace TLR s dectinem-1

Schopnost dectinu-1 zprostředkovat fagocytózu kvasinek a zymosanových částic odvozených od hub, respirační vzplanutí a produkci cytokinů závisí na buněčném typu. Někdy stačí dectin-1 na indukci tvorby cytokinů sám, někdy je zapotřebí spolupráce s TLR systémem, viz Obr. 3. Příkladem je tvorba TNF u makrofágů, které na rozdíl od dendritických buněk schopných indukovat produkci TNF přímo, vyžadují kooperaci s TLR (Reid a kol. 2009).

Nejdéle známá je interakce dectinu-1 s TLR-2/6 systémem. TLR-2 vytváří pár s TLR-6. Aby mohl indukovat tvorbu cytokinů (TNF- α , IL-12), potřebuje TLR systém kromě signálu poskytnutého dectinem 1 navázat ještě protein MyD88 a NF- κ B. Přesný mechanismus této interakce nebyl přesně objasněn (Brown a Gordon 2003).



Obr. 3: Dectin-1 buď kooperuje s TLR za tvorby cytokinů nebo je sám schopen aktivovat fagocytózu a oxidativní vzplanutí (Brown a Gordon 2003).

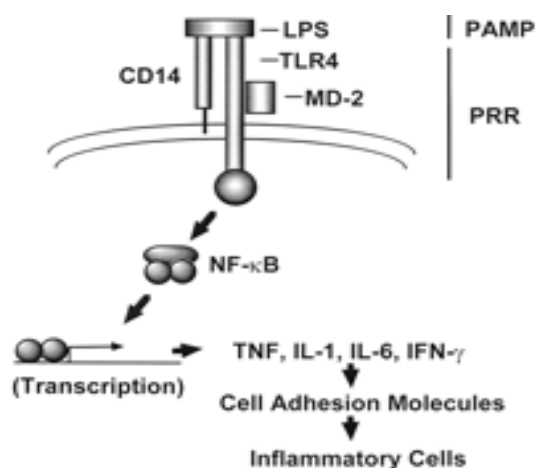
Zablokováním dectinu-1 se výrazně sníží tvorba cytokinů v odpovědi TLR na zymosan. Je zde předpoklad, že dectin-1 přijímá částice s TLR-stimulující aktivitou (Underhill a Gantner 2004).

3.3.4. Kooperace CD14 a TLR-4

Prozatím není známo, jak CD14 přenáší signály dovnitř buněk. Jednou z možností transmise signálu je kooperace s TLR-4, ale Kirschning a Yang uvádí i význam TLR-2 (Stelter 2000). Aby mohlo dojít k reakci TLR-4 s LPS, je nutné, aby byl tento antigen nejprve navázán na LBP (lipopolysaccaride binding protein), který katalyzuje převod monomeru LPS z bakterií na membránový receptor CD14. Je také nezbytné, aby se protein nazývaný MD-2 spojil s TLR-4. (Myši, které nemají MD-2, nejsou schopny na LPS reagovat. Myši, kterým chybí CD14 mohou reagovat jen při vysoké koncentraci LPS.) Jak se dostane bakteriální vzor z CD14 na TLR-4 není zatím známo (Mukhopadhyay a kol. 2004). Molekulový vzor je rozpoznáván a TLR-4 spouští aktivaci transkripčního faktoru NF- κ B (nuclear factor kappa B), který pak vyvolá zánětlivou odpověď založenou na přepisu genů

pro zánětlivé cytokiny (IL-1, IL-6, IFN- γ , TNF α), molekulách buněčné adheze a buňkách zánětu (Mann 2001).

Na Obr. 4 je kooperace znázorněna.



Obr 4: Interakce LPS a TLR-4 (Mann 2001).

3.4. Damage associated molecular patterns (DAMPs)

Jak již bylo výše uvedeno, receptory vrozené imunity jsou schopny rozpoznat také látky tělu vlastní, které se objeví na povrchu buňky nebo jsou uvolněny z buněk při poškození tkání. DAMPs vznikají biochemickými modifikacemi látek v těle jako je například oxidace či změna cukru v glykoproteinu nebo glykolipidu. Jindy buňka prostě jen přemístí intracelulární molekulu na svůj povrch nebo změní expresi genu jako v případě trombospondinu. Protože je poškození buněk spojeno s tvorbou reaktivních kyslíkových intermediátů, poškozené buňky na svém povrchu nejčastěji exprimují motivy modifikované oxidací. Různé modifikace nazývané eat-me signály jsou identifikovány rozpustnými PRR působícími jako opsoniny. Buňky jsou dále zachyceny fagocytárními receptory, které rozpoznávají buď přímo DAMPs nebo opsoniny. Toto rozpoznání vede nakonec k odstranění poškozených buněk (Jeannin a kol. 2008).

Na DAMPs můžeme pohlížet jako na molekuly pro- i protinádorové. Na jednu stranu podporují expresi cytokinů, která zpětně může indukovat expresi DAMPs, jejich signální dráhy vyvolávají zánět, regeneraci tkání. Pokud se tyto pochody stanou nekontrolovatelnými, vedou ke karcinogenezi. Na druhou stranu radioterapie a některé druhy

chemoterapeutik mohou na buněčných površích způsobit preapoptotické nebo apoptotické změny a prostřednictvím těchto DAMPs aktivovat dendritické buňky a protinádorovou imunitní odpověď (Srikrishna a Freeze 2009).

3.4.1. Zástupci DAMPs

V současné době dochází k velkému „boomu“ v objevu DAMPs. Každá buňka obsahuje více DAMPs, ale doposud nebylo objasněno, zda vyvolávají podobné biologické reakce nebo mají specializované funkce. Další otázkou je, zda jsou některé důležitější a jakou funkci mají u různých typů buněk a za různých patofyziologických podmínek (Kono a Rock 2008). Níže jsou uvedeny nejznámější zástupce této skupiny molekulových vzorů.

Fosfatidylserin je jedním z nejznámějších v membráně ukotvených signálů. Oxidace fosfatidylserinu vyvolaná cytochromem C vede k jeho translokaci z vnitřní strany plazmatické membrány na vnější (Tyurina 2000). Je rozpoznáván mnoha různými receptory ať už rozpustnými nebo fagocytárními. Proč je potřeba tolik receptorů není známo, ale předpokládá se, že ne všechny receptory jsou vyjádřeny na všech fagocytech a proto je třeba více způsobů rozpoznání (Ravichandran 2010).

Calreticulin je nejčastěji umístěn v lumen endoplazmatického retikula, kde reguluje homeostázu vápenatých iontů a působí jako chaperon. Najdeme ho i v jádře, cytoplasmě a malé množství také v plazmatické membráně, kde je lokalizován společně s fosfatidylserinem. Je to eat-me signál, který pracuje na principu potlačení don't eat me signálu CD47. U rakovinových buněk ozářených UV bylo zjištěno větší množství calreticulinu v plazmatické membráně a takové buňky pak byly více fagocytovány. Větší expozice calreticulinu byla také odpovědí na léky indukovanou apoptózu (antracykliny, oxaliplatin). Samotný calreticulin není schopen apoptózu vyvolat, potřebuje k tomu ještě další apoptotické signály (Abhishek a kol. 2009).

HsP (heat shock proteiny) jsou intracelulární molekuly vyskytující se u prokaryont i eukaryont. Jejich syntéza se zvyšuje jak při poškození tkání, tak ve stresových podmínkách jako je tepelný šok, expozice UV záření, působení těžkých kovů, infekce nebo při maligním onemocnění, fyziologicky také při diferenciaci buněk. Zvýšení syntézy HsP je jev známý jako stresová reakce. Při nekróze jsou uvolněny do extracelulárního prostředí, což slouží jako signál nebezpečí. Receptory, které HsP váží, jsou TLR-2 a TLR-4. HsP, které hrají roli při poškození tkání jsou HsP60, HsP70, HsP90 (Wallin a kol. 2002).

HMGB1 (High-mobility group box 1) je nehistonový chromatin vážící protein, který ovlivňuje transkripci. Je uvolňován nekrotickými buňkami do extracelulárního prostoru, kde působí jako cytokin a tím podněcuje zánětlivou odpověď. Spekuluje se, že může být asociován i s apoptózou. Je rozpoznáván RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts), TLR-2, TLR-4 (Ulloa a Messmer 2006).

S100 jsou vápník vážící proteiny s širokým spektrem intracelulárních funkcí. Regulují homeostázu vápenatých iontů, fosforylaci proteinů, mají enzymovou a transkripční aktivitu. Jako DAMPs působí S100A8, S100A9 a S100S12, které se někdy také nazývají calgranuliny. Tyto proteiny se fyziologicky ve velkém množství vyskytují v cytoplazmě neutrofilů a monocytů, po uvolnění buňkou jsou rozpoznávány receptory TLR a RAGE. Indukují prozánětlivou a protrombotickou odpověď. Jejich hladina je výrazně zvýšena ve tkáních a séru u mnoha patologických stavů spojených se zánětem (Lim a kol. 2009).

Jako DAMPs účinkují i purinové metabolity - ATP, adenosin, kyselina močová. Tato jejich funkce je však málo prozkoumána. ATP má jako DAMPs jedinečné vlastnosti. Je dostupný ve vysokých koncentracích v cytoplazmě téměř všech zdravých buněk, zatímco v extracelulárním prostoru se téměř nevyskytuje. Když se buňka poškodí, dojde k rychlému vypuštění z buňky ven, kde je inaktivován všudypřítomnou ATPázou (Willart 2008). Kyselina močová stimuluje maturaci dendritických buněk (Shi a kol. 2003).

DNA, protein akutní fáze serum amyloid A a molekuly extracelulární matrix – kyselina hyaluronová, heparin sulfát, fibrinogen, laminin, fibronectin, fibrinogen, kolagenní a elastinové peptidy mohou také působit jako DAMPs (Kono a Rock 2008).

4. Terapeutické aspekty fagocytárních receptorů

Význam fagocytárních receptorů s novými poznatky roste. Objevují se první pokusy testovat ligandy těchto receptorů pro léčbu proti nádorům, ale i jiných dosud těžko léčitelných onemocnění. Hlavním problémem v rozvoji nových terapeutik však stále zůstávají dosud neúplně objasněné funkce receptorů.

4.1. Nenádorové terapeutické aspekty

Ve využití fagocytárních receptorů prozatím dominuje manózový receptor, pravděpodobně proto, že byl objeven jako jeden z prvních a je jedním z nejlépe popsáných PRR (Stahl a Ezekowitz 1998). Glukocerebrosidáza (pro léčbu Gaucherovy choroby – viz níže) se dokonce již delší dobu používá v klinické praxi (Zhu a kol. 2004). Zajímavostí je, že manózový receptor může hrát určitou roli i v lidové léčbě. Na onemocnění gastrointestinálního traktu se v Číně používá více než dva tisíce let rebarbora. Z *Rheum tanguticum* byl extrahován polysacharid, který obsahoval 49% manózy, byl schopen vázat se na manózový receptor, spustit tak produkci cytokinů (protizánětlivý IL-4) a výrazně zvyšovat schopnost makrofágů provádět endocytózu, která je u zánětlivých onemocnění gastrointestinálního traktu např. kolitidy snížena (Li a kol. 2008).

4.1.1. Využití manózy v léčbě akutního poškození plic

Navzdory intenzivnímu vyvíjení nových metod léčby akutního poškození plic je toto onemocnění stále spojeno s významnou mortalitou (více než 25%). Jednou z možností terapie je obsadit manózový receptor manózou, cukrem s molekulovou hmotností 180 Da. Cukry podobné velikosti (glukóza a fruktóza) nemají významný vliv na akutní poškození plic, zřejmě z důvodu specifických vazebných vlastností manózy.

Intravenózní podání manózy před LPS-indukcí nemoci zlepšuje celkový obraz akutního plicního onemocnění u myši. Manóza zmenšuje plicní edém, snižuje produkci cytokinů (TNF- α , IL-1 β , CCL-2) a infiltraci zánětlivých buněk. Aktivace leukocytů v místě zánětu je základním zánětlivým procesem a myeloperoxidáza je enzym umístěný hlavně v primárních granulech neutrofilů. Manóza tlumí aktivaci leukocytů a snižuje LPS-aktivovanou aktivitu myeloperoxidázy v závislosti na dávce manózy. Dále zvyšuje expresi manózového receptoru a hladinu mRNA pro manózový receptor, což naznačuje, že manóza up reguluje manózový

receptor mechanismem, který je spojen s aktivací transkripce mRNA pro manózoový receptor. Tato up regulace samozřejmě ještě přispívá k preventivním účinkům manózy. Porucha signální dráhy NF-κB, který hraje hlavní roli v zánětlivých odpovědích, také podporuje léčbu a modulace jeho aktivace by mohla poskytnout přímý způsob inhibice zánětlivých mediátorů (Xu a kol. 2010).

4.1.2. FPR-1 podporuje hojení epitelu plic a trávicího traktu

Epitel plic bývá často poškozen (akutní poškození plic, trauma, různé akutní onemocnění) a aby nedošlo k vážným komplikacím jako je plicní edém nebo pneumonie, je důležitá rychlá obnova intaktní epiteliální bariéry. N-formylované peptidy, které uvolňují mitochondrie nekrotických buněk, aktivují FPR-1, následně podporují migraci buněk a zlepšují hojení plicního epitelu. Tato funkce FPR-1 není spojena s vyplavením IL-8, který je při poškození vysoce exprimován na zničených epitelových buňkách. Mechanismy, jakými FPR-1 usnadňuje uzavření rány, nejsou známe, ale jejich objasnění by bylo velkým přínosem pro léčbu akutních i chronických plicních onemocnění (Shao a kol. 2011).

Podobným způsobem zřejmě fMLF-aktivovaný FPR zvyšuje restituci epiteliálních buněk při zánětlivých onemocněních tenkého střeva, které vedou k porušení epiteliální bariéry střeva v podobě eroze a ulcerace. *In vitro* FPR indukuje migraci buněk sloužící k hojení prostřednictvím fosfatidylinositol-3-kináza-závislou aktivací Rac1 and Cdc421 (Babbin a kol. 2007).

4.1.3. Léčba Gaucherovy choroby pomocí manózoového receptoru

Gaucherova choroba je dědičné onemocnění způsobené deficiencí lyzozomální hydrolázy glukocerebrosidázy. Důsledkem je hromadění glykosylceramidu a to primárně v makrofázích centrální nervové soustavy, jater, sleziny, plic a kostní dřeně. Onemocnění je léčeno rekombinantním enzymem glukocerebrosidázou, která je remodelována tak, aby obsahovala odhalené manózoové zbytky, což zvyšuje rozpoznání a přijetí tohoto enzymu manózoovým receptorem na makrofázích. Problémem léčby ale je, že manózoové receptory jsou exprimovány i na jiných buňkách (např. jaterní sinusoidy) a tyto Gaucherovou chorobou nepostižené receptory odnímají velkou část enzymu určeného afektovaným makrofágům. (Je to až 90%). Pro kýžený terapeutický efekt je zapotřebí velmi časté podávání léku a ve velkých dávkách. Řešením by mohla být zvýšená exprese manózoových receptorů na afektovaných makrofázích vyvolaná dexamethasonem (Zhu a kol. 2004).

4.1.4. Zymosan chrání před vznikem diabetu mellitu prvního typu

Diabetes mellitus prvního typu vzniká T-lymfocyty zprostředkovanou destrukcí insulin sekretujících B-buněk ostrůvků pankreatu. Interakce zymosanu s dectinem-1 a TLR-2 reguluje vrozenou imunitu a navozuje ochranu před vznikem diabetu *in vitro* i *in vivo*. Tato interakce přispívá ke zvýšenému množství protizánětlivých cytokinů produkovaných antigen-prezentujícími buňkami (IL-2, IL-10, TNF- α , TGF- β 1). IL-2, IL-10 a TNF- α podporují správnou funkci regulačních T-lymfocytů. IL-10 a TGF- β 1 potlačují induktorové T-lymfocyty, které pak nejsou schopny modulovat autoimunitní reakce. (Karumuthil-Melethil a kol. 2008).

4.1.5. Scavengerové receptory proti aterosklóze

U scavengerových receptorů, které vážou různé formy LDL či HDL, se nabízí využití v terapii aterosklerózy. V úvahu prozatím připadá LOX-1, rozpoznávající oxidovanou formu LDL, která je při aterogenezi důležitější než nemodifikovaná forma - vyvolává zánět. U myši s aterosklerózou, kterým byl zablokován LOX-1, byla pozorována výrazná redukce aterosklerózy v důsledku snížené proliferace a migrace buněk hladké svaloviny a menšího hromadění zánětlivých buněk. Mezi hlavní projevy aterosklerózy patří koronární trombóza, která může být také potlačena inhibicí LOX-1. Mechanismem působení je pravděpodobně blokáce agregace krevních destiček, neboť LOX-1 je exprimován i na krevních destičkách.

Renální tkáň u obézních krys, u kterých se rozvíjí renální dysfunkce, vykazuje vysoké hladiny LOX-1. Inhibice tohoto receptoru u krys redukuje renální dysfunkce (Mehta a kol. 2011).

Interakce modifikovaných LDL s CD36, SR-BI a SR-A vyúsťuje v progresi aterosklerotických onemocnění. CD36 je spojován se vznikem trombózy a diabetu, SR-BI s hypercholesterolémií, infarktem a ischemií. Zacílení těchto receptorů by tedy mohlo snížit jejich protrombotické a aterogenní účinky (Ashraf a Gupta 2011).

4.2. Nádorové terapeutické aspekty

Stejně jako TLR i fagocytární receptory lze teoreticky použít v boji proti rakovině dvěma způsoby. V prvním případě se zablokuje supresivní funkce fagocytárních receptorů, které se vyskytují na nádorech nebo na buňkách asociovaných s nádory. Podkladem pokusům je

důkaz, že i některé bakterie mohou využít PRR k překonání vrozené imunity a k přežití v hostiteli (Allavena a kol. 2010). Například *Mycobacterium tuberculosis* se prostřednictvím manosylovaného lipoarabinomananu váže na manózový receptor a inhibuje produkci IL-12. (Nigou a kol. 2001).

4.2.1. TAM (tumour-associated macrophages)

Pro potlačení imunity mají velký význam TAM vyskytující se hojně ve stromatu solidních nádorů (Allavena a kol. 2010). Makrofágy totiž vykazují pozoruhodnou míru plasticity a mají možnost vykonávat různé funkce v závislosti na mikroenvironmentálních podnětech. V prostředí nádoru proto mohou být naverbovány k plnění funkcí, které zajistí nádorový růst. (Dangaj a kol. 2011). Zvýšený výskyt TAM je asociován s rychlou tumorovou progresí. TAM jsou spojovány s neoangiogenezí, proliferací (produkují růstové faktory) a invazí (jsou hlavním zdrojem proteolytických enzymů, které degradují extracelulární matrix) nádorových buněk. Na jejich povrchu byla zjištěna velká exprese manózového receptoru, který váže nádorové muciny a komponenty nádorového ascitu (např. mezotelin), čímž moduluje cytokinovou produkci TAM směrem k imunosupresivnímu typu (zvýšená produkce IL-10, TGF β - transforming growth factor β , snížená produkce CCL3) (Allavena a kol. 2010).

Blokací manózového receptoru jeho protilátkou *in vitro* se podařilo zamezit vazbě mezotelinu a předejít tak tumorem (byly využity buňky nádoru vaječníku) indukované polarizaci makrofágů směrem k TAM (Dangaj a kol. 2011).

Druhou možností léčby je indukce fagocytárních receptorů vyskytujících se na hostitelských tkáních, jejíž výhodou je podle mne, na rozdíl od blokace TAM, možné širší využití. Užší využití mají TAM proto, že byly nalezeny jen u některých solidních nádorů. Navíc, například nádory štítné žlázy sice s TAM spolupracují, ale na rozdíl od karcinomu ovaríí se doposud nikdo nezabýval otázkou, zda i zde makrofágy zvýšeně exprimují manózový receptor. Léčba karcinomu ovaríí pomocí TAM jistě skrývá nemalý potenciál, ale je možné, že pro ostatní nádorová onemocnění nebude aplikovatelná. Nicméně po lepším prozkoumání funkcí fagocytárních receptorů na nádorových buňkách nebo buňkách, které nádory naverbují (a to nejen receptorů na TAM), se může suprese fagocytárních receptorů stát velmi významným prostředkem proti rakovině.

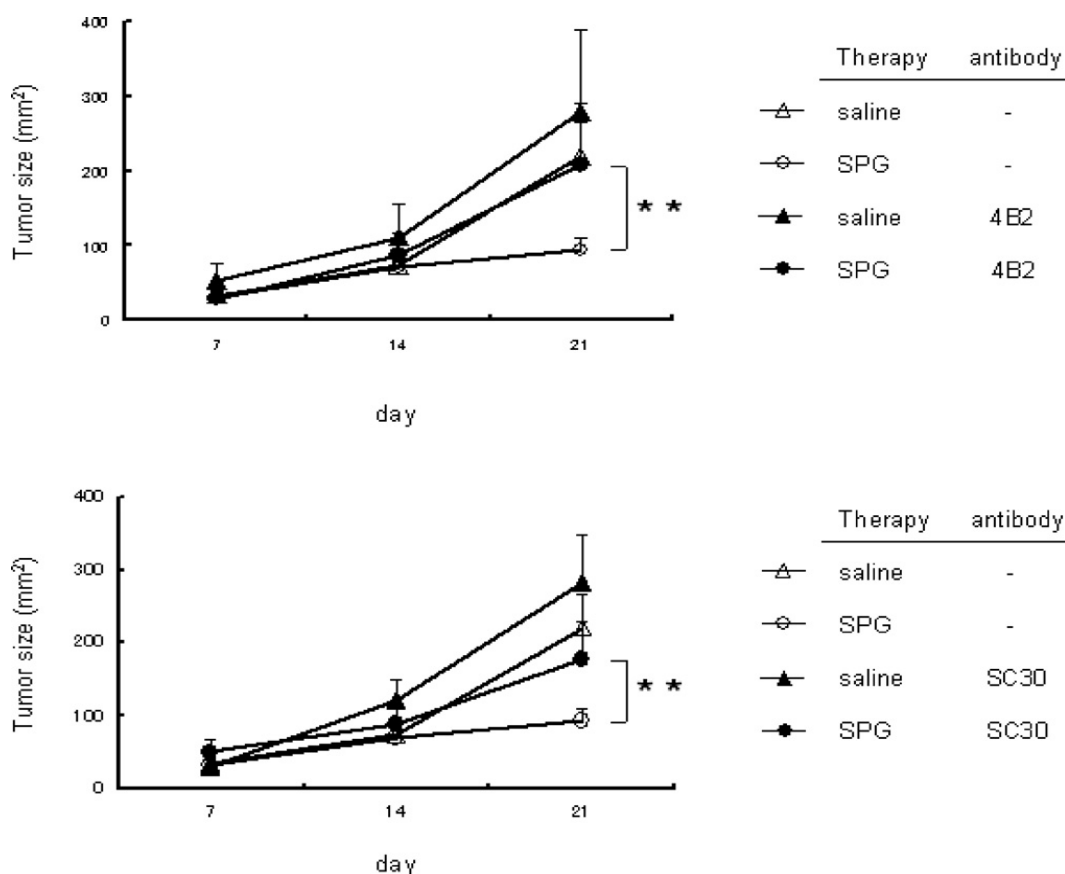
Proč má aktivace fagocytárních receptorů širší pole uplatnění? Jedním z našich cílů je indukovat fagocytární receptory tak, že instalujeme PAMPs pomocí nosiče, který se na základě rozpustnosti začlení do lipidické části membrány nádorové buňky. To by mělo být proveditelné u všech typů solidních nádorů, i když se samozřejmě mohou najít výjimky a zatím nejsme schopni odhadnout, zda reakce různých typů nádorových buněk na tento stimul budou obdobné.

Otázkou instalace PAMPs na nádorové buňky se do dnešního dne nikdo nezabýval. Vědecké skupiny se snažily aktivovat fagocytární receptory antigeny, ale ty byly vždy podány bez zaměření na nádorové buňky, viz schizophyllan a W-peptid.

4.2.2. Schizophyllan indukuje protinádorovou odpověď

Schizophyllan je látka používaná spolu s ozařováním pro léčbu karcinomu čípku v Japonsku. Posiluje cytokinovou imunomodulační aktivitu lymfocytů a myeloidních buněk. Schizophyllan je zdrojem β -glukanu, což je agonista dectinu-1. Protinádorová aktivita dectinu-1 není konkrétněji popsána a tak Ikeda a kol. (2007) provedli pokus s myšmi, kterým byly zablokovány dectinové receptory specifickou monoklonální protilátkou. Myším byly transplantovány nádorové buňky sarkomu 180 a byly léčeny schizophyllanem. Myším, které měli zablokované dectinové receptory léčba schizophyllanem nepomáhala a nádory rostly. Růst nádorů u myší, kterým nebyla podána protilátky proti dectinu-1 byl výrazně menší, viz Obr. 5.

Protilátky způsobily snížení exprese receptoru a zároveň inhibovaly jeho vazbu se schizophyllanem. Blokace dectinu-1 dále snížila jeho produkci TNF- α a IL-12 a pravděpodobně omezila dectinem-1 podporovanou interakci dendritických buněk a T-lymfocytů (Ikeda a kol. 2007).



Obr. 5: Inhibiční efekt protilátek 4B2 a SC30 na schizophyllanem indukovanou supresi nádorového růstu. Kontrolní skupině byl podáván pouze fyziologický roztok. Druhou skupinu tvořily myši léčené schizophyllanem, třetí skupině byl podán fyziologický roztok s 4B2 nebo SC30, čtvrtá skupina byla léčena schizophyllanem a zároveň jí byla podána jedna z protilátek (Ikeda a kol. 2007).

Existuje rozsáhlá literatura, řešící otázku částečné redukce nádorového růstu perorálním podáváním β -glukanu. β -glukan byl používán v čisté formě nebo ve formě látek extrahovaných z různých hub, např. *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Schizophyllum commune*. Tato literatura se však zabývá aktivací makrofágů, neutrofilů, NK buněk a komplementového receptoru CR3 a otázku dectinu-1 vůbec nezahrnuje (Chan a kol 2009).

4.2.3. W-peptidem zprostředkovaná suprese růstu nádoru

W-peptid je syntetický agonista FPRL-1 receptoru. Stimulací FPRL-1 receptoru W-peptidem Lin a kol. (2007) docílili *in vitro* i *in vivo* zvýšené exprese TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand), membránového proteinu, který spouští signální kaskádu vedoucí k apoptóze. TRAIL exprese je regulována NF- κ B. V dalším

pokusu transplantovali myším hepatom H22 a po dosažení určité velikosti nádoru jim i.p. aplikovali W-peptid. Sám W-peptid snížil velikost tumoru o 50% a výrazně prodlužoval přežití myši. Vysvětlením suprese tumoru je právě apoptóza indukovaná zvýšenou expresí TRAIL.

Otázkou však zůstává, zda zabití nádorových buněk bude možno provést selektivně, jelikož membránová forma TRAIL vykazuje hepatotoxicitu. Řešení by snad mohl nabídnout enzym cysteinová proteáza, která štěpí membránovou formu za vzniku rozpustné netoxické formy TRAIL, ale provést takové štěpení *in vivo* nebude lehkým úkolem (Lin a kol. 2007).

Abychom se vyhnuli podobným problémům s nízkou selektivitou k nádorovým buňkám v našem výzkumu, preferujeme instalaci agonisty přímo na nádorové buňky před pouhým systémovým podáním. Léčba pak bude cílená a nebude poškozovat buňky zdravých tkání.

5. Závěr

Fagocytární receptory se mohou stát účinným prostředníkem v léčbě nádorových i nenádorových onemocnění. Jejich prostřednictvím lze dodat do buněk chybějící enzymy, pomocí jejich agonistů lze modulovat vrozenou i adaptivní imunitu a podpořit tak hojení zánětů a předcházet autoimunitním onemocněním.

Léčbu nádorových onemocnění pomocí fagocytárních receptorů doposud zastíňoval výzkum TLR a jejich interakce s agonisty. Bylo navrženo použití agonistů TLR-3,7 a 9 (Ženka, ústní sdělení), jejichž ligandy jsou známy a chemicky syntetizovány. Interakce těchto receptorů s agonistou vyvolá produkci $INF\alpha$ (viz Obr. 2), který indukuje apoptózu, silný mechanismus v boji proti nádorovým buňkám. Zacílení TLR-3 agonistou by mohlo být přínosem pro eliminaci buněk nádorů prostaty a prsu, aktivace TLR-7 slibovala efekt na všechna onemocnění spojené s infekcí viru HPV. Výhoda TLR-9 spočívá hlavně v tom, že ho lze použít i v kombinaci s jinými terapeutiky (ozáření, chemoterapie). Klinické zkoušky ale zatím nepřinášejí očekávané výsledky. Setkáváme se jen s mnoha vedlejšími efekty a neuspokojivým účinkem (So a Ouchi 2010).

Pro dosažení účinné imunitní odpovědi na úrovni vrozené imunity je nutná úzká spolupráce signálních receptorů aktivovaných rozpustnými agonisty a fagocytárních receptorů, aktivovaných na povrch buněk vázanými ligandy (Underhill a Gantner 2004). Při použití samotných stimulátorů signálních receptorů je tedy splněna jen jedna část této podmínky a to při systémové aplikaci navíc ještě velmi nedokonale. Otázka vazby fagocytárních agonistů přímo na nádorové buňky nebyla dosud řešena a rovněž se nikdo nezabýval synergií stimulace signálních a fagocytárních receptorů za účelem získání silné protinádorové imunitní reakce.

Funkce TLR a fagocytárních receptorů jsou všemožně propojeny. TLR aktivuje transkripci několika genů a mnoho genových produktů se účastní fagocytózy. Na druhou stranu signalizace fagocytárními receptory může modulovat TLR signalizaci (Underhill a Gantner 2004). V oblasti složité synchronizace těchto receptorů zůstává stále mnoho otazníků. Stejně tak ještě nemáme úplné informace o všech ligandech a funkcích receptorů, ale zaměření se na spolupráci TLR s fagocytárními receptory ve prospěch aktivace imunity, by snad v budoucnu mohlo přispět k dlouho očekávané účinné nádorové terapii pozbývajících vedlejších nežádoucích účinků.

6. Souhrn

- ❖ Byla podána souhrnná základní informace o receptorech vrozené imunity s podrobnějším zaměřením na receptory fagocytární.
- ❖ Byl sestaven přehled oblastí, kde se modulace fagocytárních receptorů používá a to u nádorových i nenádorových onemocnění. Množství aplikací v nádorové oblasti je poměrně malé.
- ❖ Byl předložen návrh hlavních směrů a způsobů, jak co nejúčinněji použít aktivaci fagocytárních receptorů v oblasti nádorové terapie. Perspektivním směrem se jeví kombinace aktivace signálních receptorů rozpustnými ligandy spolu s aktivací fagocytárních receptorů agonisty vázanými.

Použitá literatura:

- **Abhishek D. G., Nowis D., Golab J., Vandenabeele P., Krysko D. V., Agostinis P. (2009):** Immunogenic cell death, DAMPs and anticancer therapeutics: An emerging amalgamation. *BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA*. 1805: 53-71.
- **Allavena P., Chieppa M., Bianchi G., Solinas G., Fabbri M., Laskarin G., Mantovani A. (2010):** Engagement of the Mannose Receptor by Tumoral Mucins Activates an Immune Suppressive Phenotype in Human Tumor-Associated Macrophages. *CLINICAL & DEVELOPMENTAL IMMUNOLOGY*. 2010: Article ID 547179.
- **Antal-Szalma's P. (2000):** Evaluation of CD14 in host defence. *EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION*. 30: 167–179.
- **Areschoug T., Gordon S. (2009):** Scavenger receptors: role in innate immunity and microbial pathogenesis. *CELLULAR MICROBIOLOGY*. 11: 1160-1169.
- **Ashraf M. Z., Gupta N. (2011):** Scavenger receptors: Implications in atherothrombotic disorders. *THE INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOCHEMISTRY & CELL BIOLOGY*. 43: 697-700.
- **Avila M., Gonzalez-Espinosa C. (2011):** Signaling Through Toll-like Receptor 4 and Mast Cell-dependent Innate Immunity Responses. *IUBMB LIFE*. 63: 873-880.
- **Babbin B. A., Jesaitis A. J., Ivanov A. I., Kelly D., Laukoetter M., Nava P., Parkos C. A., Nusrat A. (2007):** Formyl peptide receptor-1 activation enhances intestinal epithelial cell restitution through phosphatidylinositol 3-kinase-dependent activation of Rac1 and Cdc42. *JOURNAL OF IMMUNOLOGY*. 179: 8112-8121.
- **Brown G. D., Gordon S. (2003):** Fungal β -Glucans and Mammalian Immunity. *IMMUNITY*. 19: 311-315.
- **Burg N. D., Pillinger N. H. (2001):** The Neutrophil: Function and Regulation in Innate and Humoral Immunity. *CLINICAL IMMUNOLOGY*. 99: 7-17.
- **Cavanagh L. L., Von Andrian U. H. (2002):** Travellers in many guises: The origins and destinations of dendritic cells. *IMMUNOLOGY AND CELL BIOLOGY*. 80: 448-462.
- **Chan G. C. F., Chan W. K., Sze D. M. Y. (2009):** The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells. *JOURNAL OF HEMATOLOGY & ONCOLOGY*. 2: Article ID 25.
- **Conroy H., Marshall N. A., Mills K. H. G. (2008):** TLR ligand suppression or enhancement of Treg cells? A double-edged sword in immunity to tumours. *ONCOGENE*. 27: 168-180.
- **Dangaj D., Abbott K. L., Mookerjee A., Zhao A. Z., Kirby P. S., Sandaltzopoulos R., Powell D. J., Lamaziere A., Siegel D. L., Wolf C., Scholler N. (2011):** Mannose Receptor (MR) Engagement by Mesothelin GPI Anchor Polarizes Tumor-Associated Macrophages and Is Blocked by Anti-MR Human Recombinant Antibody. *PLOS ONE*. 6: Article ID e28386.

- **DeFranco A. L., Locksley R. M., Robertson M. (2007):** Immunity (Primers in Biology). New Science Press Ltd. ISBN 978-0-19-920614-8.
- **Drummond R. A., Brown G. D. (2011):** The role of Dectin-1 in the host defence against fungal infections. CURRENT OPINION IN MICROBIOLOGY. 14: 392-399.
- **Ferenčík M., Rovenský J., Mařha V. (2000):** Dictionary of immunology. Slovak academic press. ISBN 8088908-63-9.
- **Fitzgeral-Bocarsly P., Feng D. (2007):** The role of type I interferon production by dendritic cells in host defense. BIOCHIMIE. 89: 843-855.
- **Gazi U., Martinez-Pomarez L. (2009):** Influence of the mannose receptor in host immune responses. IMMUNOBIOLOGY. 214: 554-561.
- **Gordon S. (2002):** Pattern recognition receptors: Doubling up for the innate immune response. CELL PRESS. 111: 927-930.
- **Gröndahl G., Johannisson A., Jensen-Waern M., Ekdahl K. N. (2001):** Opsonization of yeast cells with equine iC3b, C3b, and IgG. VETERINARY IMMUNOLOGY AND IMMUNOPATHOLOGY. 80: 209-223.
- **Hořejši V., Bartůňkova J. (2005):** Základy imunologie. TRITON. ISBN 80-85875-73-X.
- **Huang B., Zhao J., Unkeles J., Feng Z. H., Xiong H. (2008):** TLR signaling by tumor and immune cells: a double-edged swordTLR signaling by tumor and immune cells. ONCOGENE. 27: 218-224.
- **Ikeda Y., Adachi Y., Ishii T., Tamura H., Aketagawa J., Tanaka S., Ohno N. (2007):** Blocking effect of anti-dectin-1 antibodies on the anti-tumor activity of 1,3-beta-glucan and the binding of dectin-1 to 1,3-beta-glucan. BIOLOGICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN. 30: 1384-1389.
- **Janeway Ch. A., Travers P., Walport M., Shlomchik M. J. (2005):** Immunobiology - the immune system in health and disease. Garland publishing. ISBN 0-8153-4101-6.
- **Jeannin P., Jaillon S., Delneste Y. (2008):** Pattern recognition receptors in the immune response against dying cells. CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY. 20: 530-537.
- **Jílek P. (2008):** Základy imunologie. ANYWAY. ISBN 978-80-254-2422-3.
- **Jwierzko A., Florczak K., Cedzyjski M., Szemraj J., Wydra D., Bak-Romaniszyn L., Emerich J., Suiiowska Z. (2007):** Mannan-binding lectin (MBL) in women with tumours of the reproductive system. CANCER IMMUNOL IMMUNOTHER. 56: 959-971.
- **Karumuthil-Melethil S., Perez N., Li R., Vasu C. (2008):** Induction of Innate Immune Response through TLR2 and Dectin 1 Prevents Type 1 Diabetes. THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY. 181: 8323 -8334.
- **Karlsson M.C. I. (2010):** A regulatory role for macrophage class A scavenger receptors in TLR4-mediated LPS responses. EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY. 40: 1451-1460.

- **Kawai T., Akira S. (2006):** TLR signaling. *CELL DEATH AND DIFFERENTIATION*. 13: 816-825.
- **Kersse K., Bertrand M. J. M., Lamkanfi M., Vandenabeele P. (2011):** NOD-like receptors and the innate immune system: Coping with danger, damage and death. *CYTOKINE & GROWTH FACTOR REVIEWS*. 22: 5-6.
- **Kilpatrick D. C. (2002):** Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *TRANSFUSION MEDICINE*. 12: 335–352.
- **Klimp A.H., de Vries E. G. E., Scherphof G. L., Daemen T. (2001):** A potential role of macrophage activation in the treatment of cancer. *CRITICAL REVIEWS IN ONCOLOGY/HEMATOLOGY*. 44: 143-161.
- **Kono H., Rock K. L. (2008):** How dying cells alert the immune system to danger. *NATURE REVIEWS IMMUNOLOGY*. 8: 279-289.
- **Krejsek J., Kopecký O. (2004):** *Klinická imunologie*. Nucleus HK. ISBN 80-86225-50-X.
- **Le Y., Murphy P. M., Wang J. M. (2002):** Formyl-peptide receptors revisited. *TRENDS IN IMMUNOLOGY*. 23: 541-548.
- **Lim S. Y., Raftery M. J., Goyette J., Hsu K., Geczy C. L. (2009):** Oxidative modifications of S100 proteins: functional regulation by redox. *JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY*. 86: 577-588.
- **Lin C. T., Wei W., Zhang J., Liu S., Liu Y., Zheng D. (2007):** Formyl peptide receptor-like 1-mediated endogenous TRAIL gene expression with tumoricidal activity. *MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS*. 6: 2618-2625.
- **Liu L., Guo Z., Lv Z., Sun Y., Cao W., Zhang R., Liu Z., Li C., Cao S., Mei Q. (2008):** The beneficial effect of Rheum tanguticum polysaccharide on protecting against diarrhea, colonic inflammation and ulceration in rats with TNBS-induced colitis: The role of macrophage mannose receptor in inflammation and immune response. *INTERNATIONAL IMMUNOPHARMACOLOGY*. 8: 1481-1492.
- **Macor P., Tedesco F. (2007):** Complement as effector system in cancer immunotherapy. *IMMUNOLOGY LETTERS*. 111:6-13.
- **Magalhaes J. G., Sorbara M. T., Girardin S. E., Philpott D. J. (2011):** What is new with Nods? *CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY*. 23: 29-34.
- **Mandal P., Novotný M., Hamilton T. A. (2005):** Lipopolysaccharide Induces Formyl Peptide Receptor 1 Gene Expression in Macrophages and Neutrophils via Transcriptional and Posttranscriptional Mechanisms. *THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY*. 175: 6085-6091.
- **Mann D. L. (2001):** Tumor Necrosis Factor and Viral Myocarditis: The Fine Line Between Innate and Inappropriate Immune Responses in the Heart. *CIRCULATION*. 103: 626-629.
- **Martínez-Pomares L., Gordon S. (1999):** Potential role of the mannose receptor in antigen transport. *IMMUNOLOGY LETTERS*. 65: 9-13.

- **McGreal E. P., Miller J. L., Gordon S. (2005):** Ligand recognition by antigen-presenting cell C-type lectin receptors. *CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY*. 17: 18-24.
- **Medzhitov R. a Janeway Ch. A. Jr (2002):** Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY*. 9: 4-9.
- **Mehta J. L., Khaidakov M., Hermonat P. L., Mitra S., Wang X. W., Novelli G., Sawamura T. (2011):** LOX-1: A New Target for Therapy for Cardiovascular Diseases. *CARDIOVASCULAR DRUGS AND THERAPY*. 25: 495-500.
- **Moore C. J., Andersson L. P., Ingalls R. R., Monks B. K., Li R., Arnaout M. A., Golenbock D. T., Freeman M. V. (2000):** Divergent Response to LPS and Bacteria in CD14-Deficient Murine Macrophages. *THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY*. 165: 4272-4280.
- **Moretta L., Biassoni R., Bottino C., Mingari M.C., Moretta A. (2000):** Human NK-cell receptors. *IMMUNOLOGY TODAY*. 21: 420-422.
- **Mukhopadhyay S., Gordon S. (2004):** The role of scavenger receptors in pathogen recognition and innate immunity. *IMMUNOLOGY*. 2009: 39-49.
- **Mukhopadhyay S., Herre J., Brown G. D., Gordon S. (2004):** The potential for Toll-like receptors to collaborate with other innate immune receptors. *IMMUNOLOGY*. 112: 521-530.
- **Mukhopadhyay S., Varin A., Chen Y., Liu B., Tryggvason K., Gordon S. (2011):** SR-A/MARCO-mediated ligand delivery enhances intracellular TLR and NLR function, but ligand scavenging from cell surface limits TLR4 response to pathogens. *BLOOD*. 117: 1319-1328.
- **Nigou J., Zelle-Rieser C., Gilleron M., Thurnher M., Puzo G. (2001):** Mannosylated Lipoarabinomannans Inhibit IL-12 Production by Human Dendritic Cells: Evidence for a Negative Signal Delivered Through the Mannose Receptor. *THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY*. 166: 7477-7485.
- **Ohnishi K., Komohara Y., Fujiwara Y., Takemura K., Lei X., Nakgawa T., Sakashita N. Takeya M (2011):** Suppression of TLR4-mediated inflammatory response by macrophage class A scavenger receptor (CD204). *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS*. 411: 516–522.
- **Palker T. J., Dong G., Leitner W. W. (2010):** Mast cells in innate and adaptive immunity to infection *EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY* 40: 14-18.
- **Pathak s., Palan U. (2005):** Immunology (Essential a Fundamental). Science Publishers Inc. ISBN: 1-57808-378-8.
- **Pearson A.M. (1996):** Scavenger receptor in the innate immunity. *CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY*. 8: 20-28.
- **Peiser L., Mukhopadhyay S., Gordon S. (2002):** Scavenger receptor in innate immunity. *CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY*. 14: 123-128.
- **Pier G. B., Lyczak J. B., Wetzler L. M. (2004):** Immunology, infection, and immunity. ASM Press. ISBN: 1-55581-246-5.

- **Plüddemann A., Neyen C., Gordon S. (2007):** Macrophage scavenger receptors and host-derived ligands. *METHODS*. 43: 207-217.
- **Ravichandran K. S. (2010):** Find-me and eat-me signals in apoptotic cell clearance: progress and conundrums. *JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE*. 207: 1807-1817.
- **Reid D. M., Gow N. A. R., Brown G. D. (2009):** Pattern recognition: recent insights from Dectin-1. *CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY*. 21: 30-37.
- **Rouas-Freiss N., Moreau P., Menier C., Carosella E. D. (2003):** HLA-G in cancer: a way to turn off the immune system. *SEMINARS IN CANCER BIOLOGY*. 13: 325-336.
- **Rubartelli A., Lotze M.T. (2007):** Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern. *TRENDS IN IMMUNOLOGY*. 32: 157-164.
- **Sakamoto M., Fujisawa Y., Nishioka K. (1997):** Physiologic Role of the Complement System in Host Defense, Disease, and Malnutrition. *NUTRITION*. 14: 391-398.
- **Schoenborn J.R., Wilson C. B. (2007):** Regulation of Interferon- γ during innate and adaptive immune responses. *ADVANCES IN IMMUNOLOGY*. 9: 41-101.
- **Semple J. W., Freedman F. J. (2010):** Platelets and innate immunity. *CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES*. 67: 499-511.
- **Shao G., Julian M. W., Bao S. Y., McCullers M. K., Lai J. P., Knoell D.L., Crouser E. D. (2011):** Formyl Peptide Receptor Ligands Promote Wound Closure in Lung Epithelial Cells. *AMERICAN JOURNAL OF RESPIRATORY CELL AND MOLECULAR BIOLOGY*. 44: 264-269.
- **Shi Y., Evans J. E., Rock K. L. (2003):** Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *LETTERS TO NATURE*. 425: 516-521.
- **So E. Y., Ouchi T. (2010):** The application of Toll like receptors for cancer therapy. *INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL SCIENCES*. 6: 675-681.
- **Srikrishna G., Freeze H. H. (2009):** Endogenous Damage-Associated Molecular Pattern Molecules at the Crossroads of Inflammation and Cancer. *NEOPLASIA*. 11: 615-628.
- **Stahl P. D., Ezekowitz R. A. B. (1998):** The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense. *CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY*. 10: 50-55.
- **Stelter F. (2000):** Structure/function relationships of CD14. *CHEMICAL IMMUNOLOGY*. 74: 25-41.
- **Timonem T. (1997):** Natural killer cells: Endotelial interactions, migration and target cells recognition. *JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY*. 62: 693-701.
- **Turner M. W. (2003):** The role of mannose-binding lectin in health and disease. *MOLECULAR IMMUNOLOGY*. 40: 423-429.
- **Tyurina Y.Y., Tyurin V., Zhao O., Djukic M., Quinn P. J., Pitt B. R., Kagan V. E. (2000):** Oxidation of phosphatidylserine: a mechanism for plasma membrane

phospholipid scrambling during apoptosis. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS*. 324: 1059-1064.

- **Ulloa L., Mesmmer D. (2006):** High-mobility group box 1 (HMGB1) protein: Friend and foe. *CYTOKINE & GROWTH FACTOR REVIEWS*. 17: 189-201.
- **Underhill D. M. (2007):** Collaboration between the innate immune receptors Dectin-1, TLRs and Nods. *IMMUNOLOGICAL REVIEWS*. 219: 75-87.
- **Underhill, D. M., Gantner, B. (2004):** Integration of Toll-like Receptors and Phagocytic Signaling for Tailor Immunity. *Microbes and Infection*. 6: 1368 – 1374.
- **Volanakis J. E. (2001):** Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *MOLECULAR IMMUNOLOGY*. 38: 189-197.
- **Wallin R. P.A., Lundqvist A., Moré S. H., von Bonin A., Kiessling R., Ljunggren H. (2002):** Heat-shock proteins as activators of the innate immune system. *TRENDS IN IMMUNOLOGY*. 23: 905-910.
- **Wang H., Wu Y., Chen Y., Sui S. (2002):** Polymorphism of structural forms of C-reactive protein. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE*. 9: 665-671.
- **Willart M. A. M., Lambrecht B.N. (2008):** The danger within: endogenous danger signals, atopy and asthma. *CLINICAL & EXPERIMENTAL ALLERGY*. 39: 12-19.
- **Xu X., Xie Q., Lu G., Yao H., Chen Y., Zhou J. (2010):** Involvement of mannose receptor in the preventive effects of mannose in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY*. 641: 229-237.
- **Ye R. D., Boulay F., Wang J. M., Dahlgren C., Gerard C., Parmentier M., Serhan C. N., Murphy P. M. (2009):** International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIII. Nomenclature for the Formyl Peptide Receptor (FPR) Family. *PHARMACOLOGICAL REVIEWS*. 61: 119-161.
- **Zhu Y. X., Li X. M., Schuchman E. H., Desnick R. J., Cheng S. H. (2004):** Dexamethasone-mediated up-regulation of the mannose receptor improves the delivery of recombinant glucocerebrosidase to Gaucher macrophages. *JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS*. 308: 705-711.