



IMMUNOLÓGIAI ÉS
BIOTECHNOLÓGIAI
INTÉZET

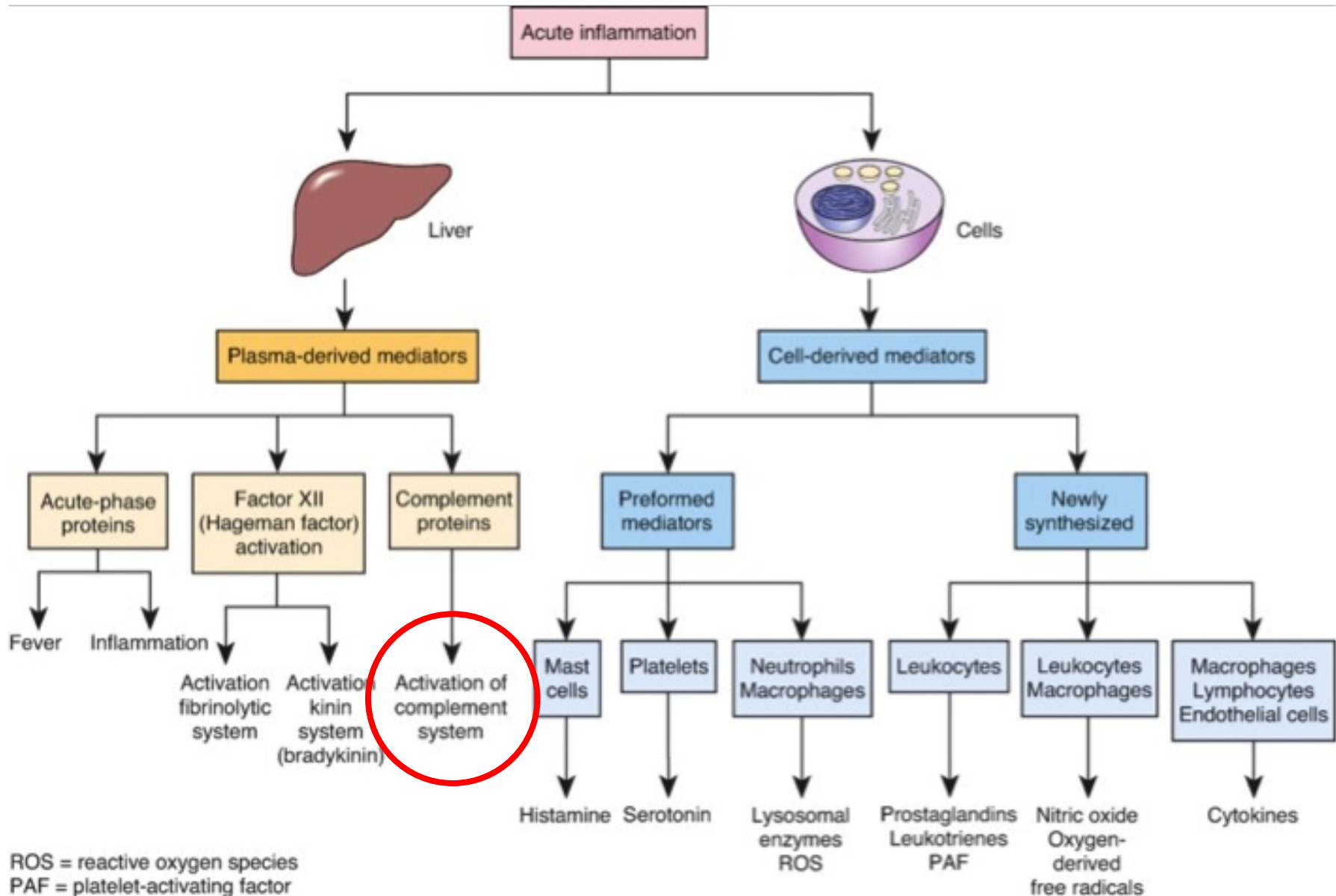


4. Praktikum: Entzündung. Das Komplementsystem

Grundlagen der Immunologie

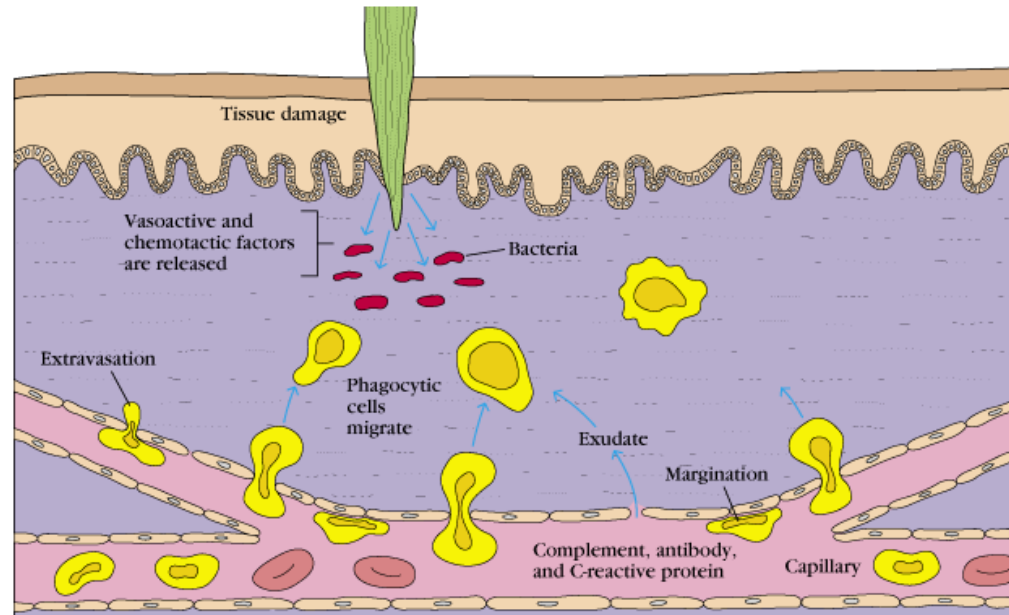
Universität Pécs, Klinisches Zentrum
Institut für Immunologie und Biotechnologie
Pécs, 2023.

Mediatoren der Entzündungsreaktion



Akute entzündliche Antwort:

- Infektion oder Gewebeverletzung verursacht eine komplexe Kaskade der unspezifischen Ereignisse
- sofortige Antwort
- beschränkt die Infektion oder die Gewebeverletzung

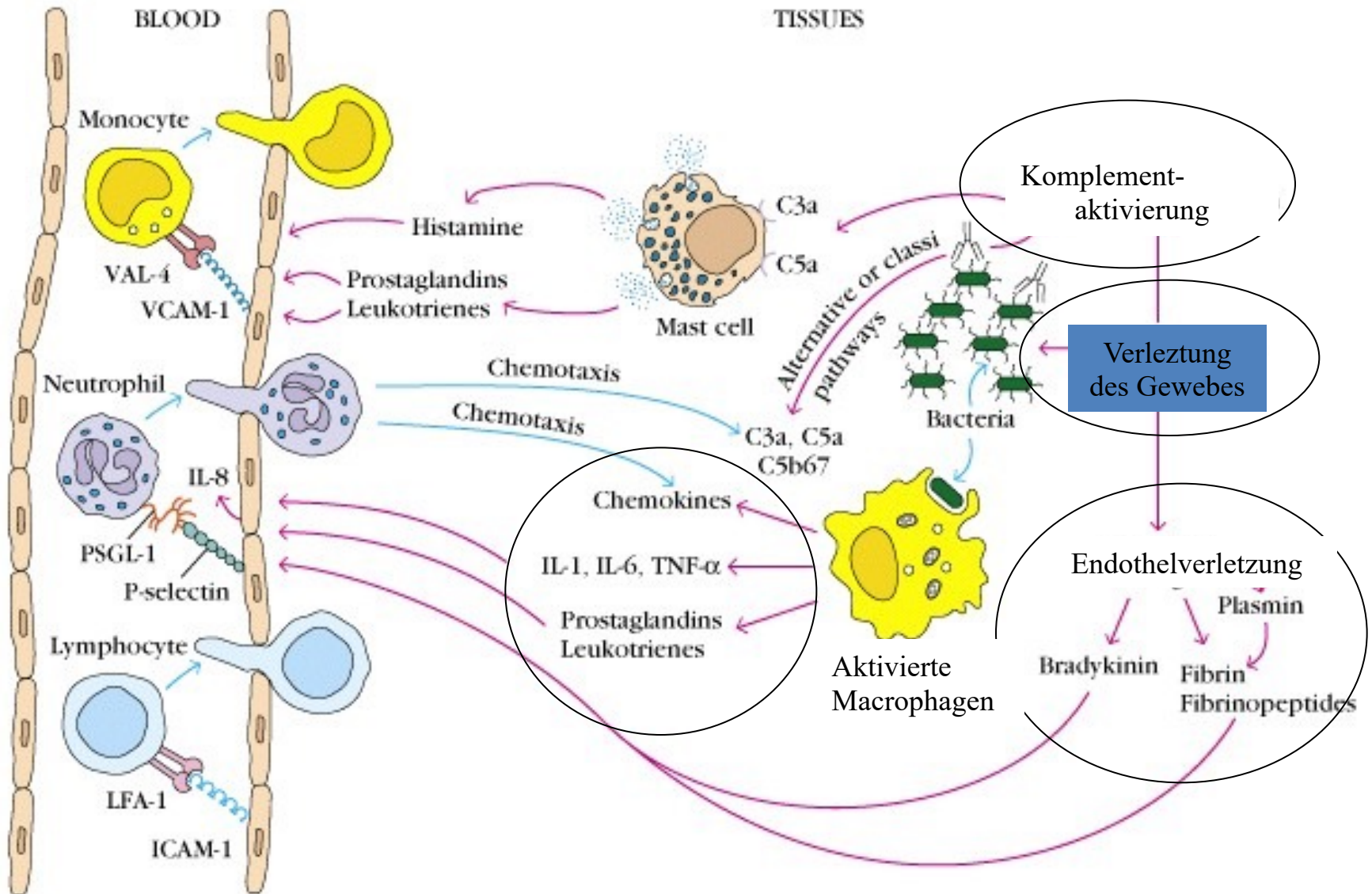


Celsus: beschrieb 4 Zeichen von Entzündung: - rubor (Rötung), calor (Wärmung), dolor (Schmerz), tumor (Schwellung) + functio laesa (Verlust der Funktion)

3 Hauptereignisse: - Vasodilation – in Minuten

- Die Permeabilität der Kapillaren erhöht sich, deshalb steigert sich die Flüssigkeitsströmung, Ödem entsteht
- Zustrom der Phagozyten in die Gewebe: - Stunden

Die Entstehung der Entzündungsreaktion



Neutrophile wandern zum Gewebe

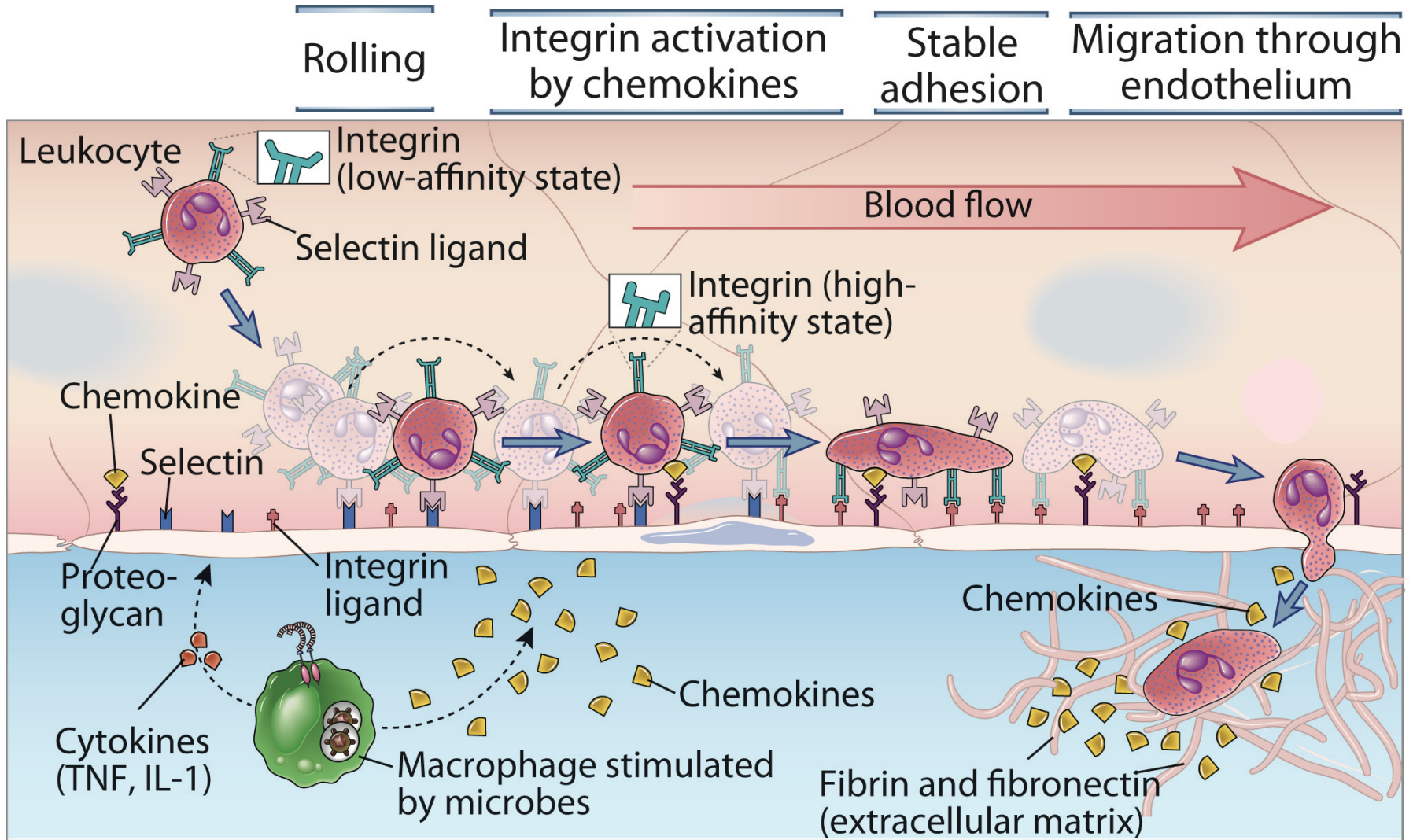
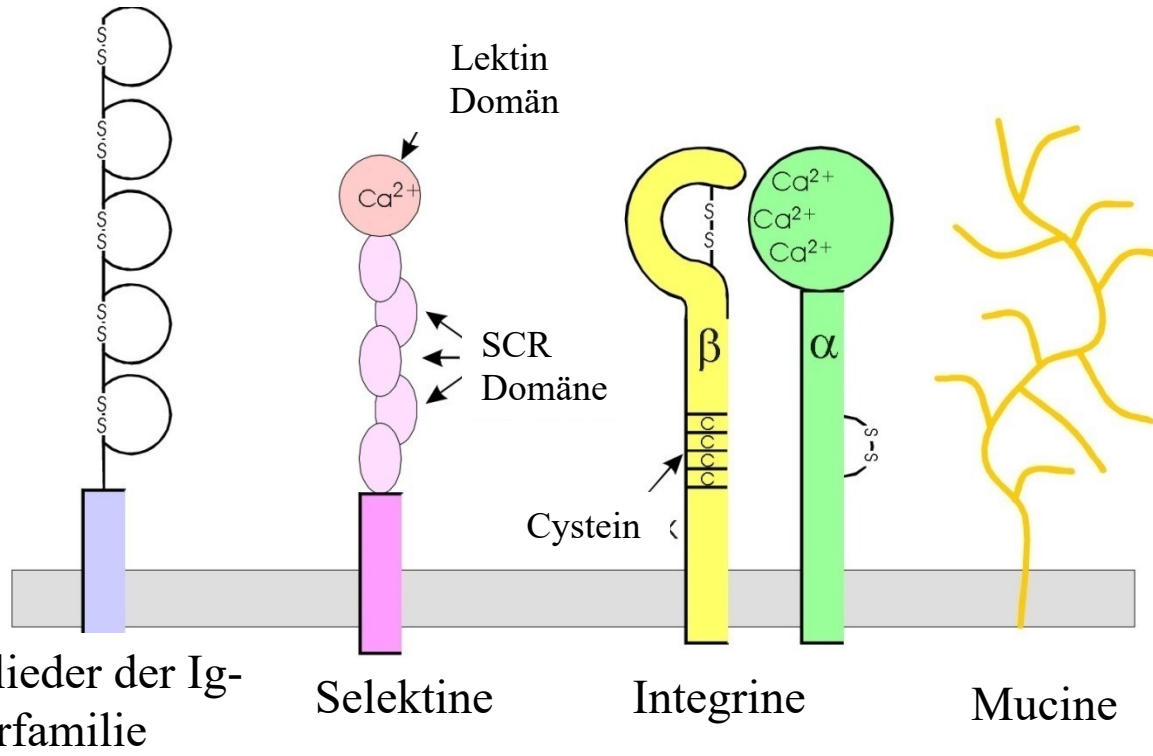


Fig. 3-3

Die Familien der Adhäsionsmoleküle



„weitere“
akzessorische
Moleküle

CD2

CD4

CD8

B7

CD28

CTLA 4

ICAM

L-Selektin

E-Selektin

P-Selektin

VLA

LFA

Mac1

**„Vaskuläre
Adressine“ =
Gefäßadressine**

CD45

CD44

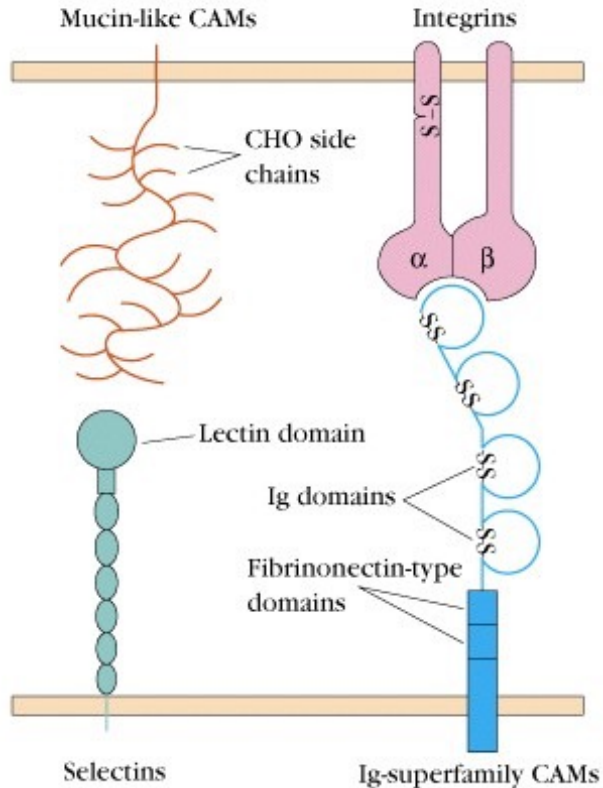
CD40, CD40L

CD19/CD21/CD81

CD22

Adhäsionsmolekülpaare bilden Rezeptor - Ligand - Verbindungen

(a) General structure of CAM families



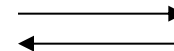
(b) Selected CAMs belonging to each family

Mucin-like CAMs:

GlyCAM-1
CD34
PSGL-1
MAdCAM-1

Selectins:

L-selectin
P-selectin
E-selectin

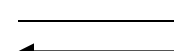


Ig-superfamily CAMs:

ICAM-1, -2, -3
VCAM-1
LFA-2 (CD2)
LFA-3 (CD58)
MAdCAM-1

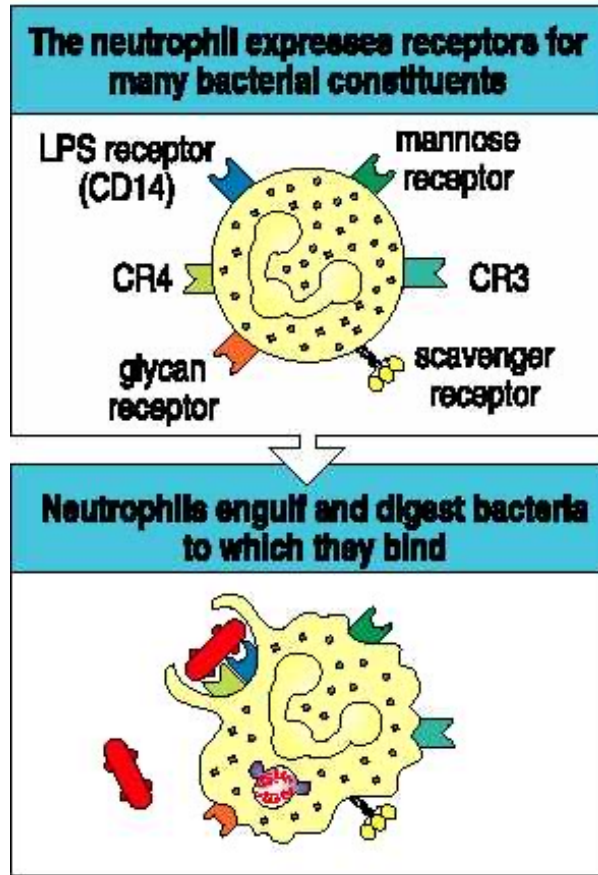
Integrins:

$\alpha 4\beta 1$ (VLA-4, LPAM-2)
 $\alpha 4\beta 7$ (LPAM-1)
 $\alpha 6\beta 1$ (VLA-6)
 $\alpha L\beta 2$ (LFA-1)
 $\alpha M\beta 2$ (Mac-1)
 $\alpha X\beta 2$ (CR4, p150/95)



Mustererkennungsrezeptoren der Phagozyten-Zellen

Figure 8.8



PRR= **P**attern **R**ecognition **R**eceptors
(Mustererkennungsrezeptoren)

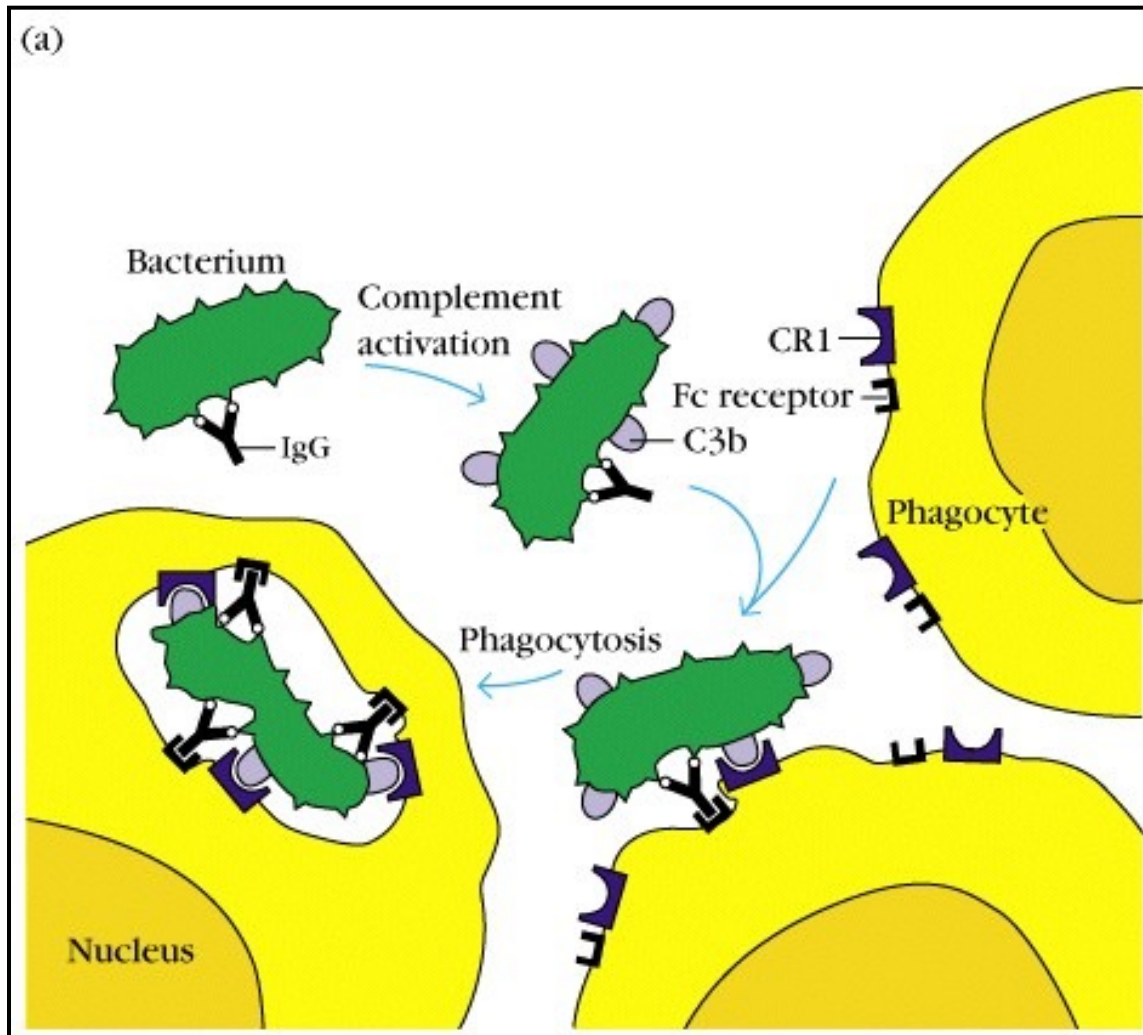
PAMP=**P**athogen **A**ssociated **M**olecular
Patterns

Mannose-Rezeptor
LPS-Rezeptor (CD14)
Glycan-Rezeptor
Komplement-Rezeptore (CR)
Scavenger-Rezeptor
Toll-like-Rezeptoren= TLR

Die Mustererkennungsmoleküle (PRR)

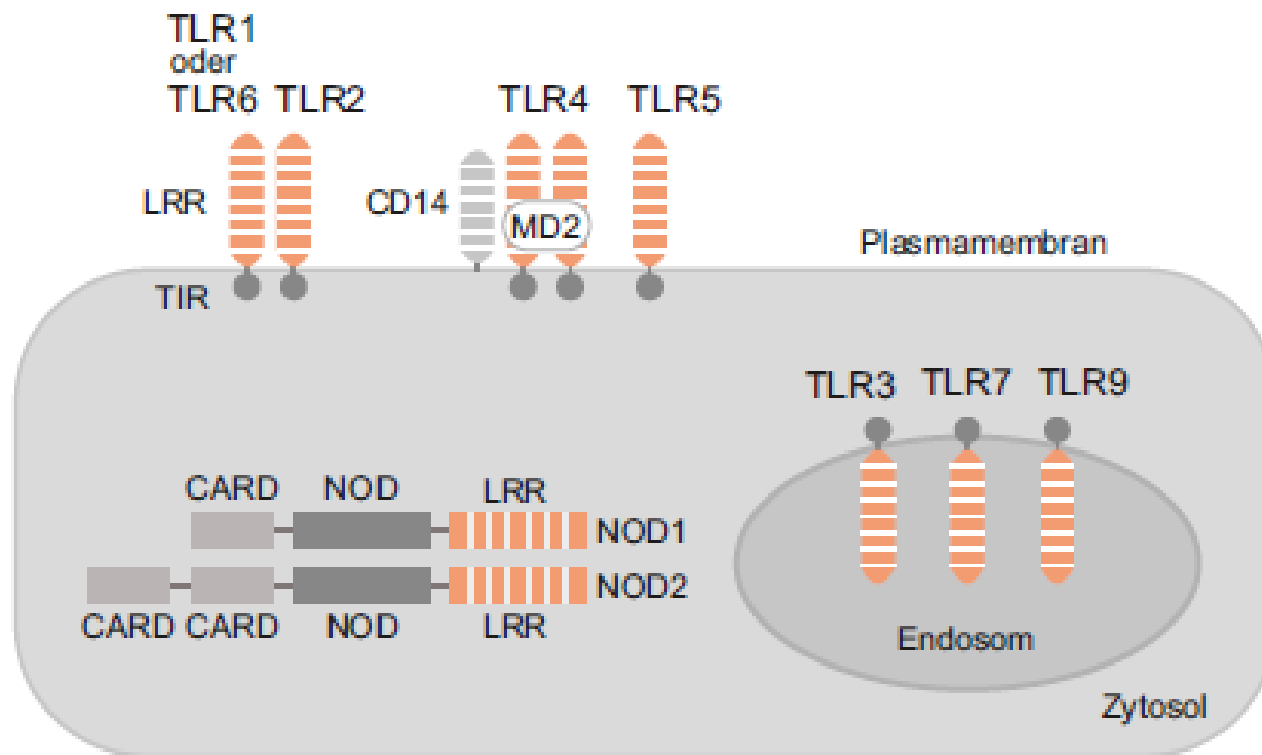
- Toll-ähnliche Rezeptoren – TLR1-10 → stimulieren die Zelle zur antimikrobiellen Abwehr
- Phagozytäre Rezeptoren → Makrophagen-Rezeptoren mit Kollagen-Struktur (MARCO) und der Makrophagen-Mannose-Rezeptor
- Sezernierte Moleküle, Opsonine → C1q, Mannan-bindende Lektin (MBL), C-reaktives Protein (CRP) Serum-Amyloid (SAM), → aktiviert das Komplementsystem

OPSONISIERUNG: C3b und IgG sind OPSONINS



Funktion der Mustererkennungsmoleküle (PRR)

- Opsonisation von Fremdpartikeln
- Aktivierung der Komplement-, und Koagulationskaskade
- Aktivierung der Phagozytose



■ **Abb. 2.2** Struktur und zelluläre Lokalisation von TLRs, NOD1 und NOD2. Alle Moleküle binden ihre Liganden mit *leucine-rich repeats* (LRRs). TLRs sind membranassoziiert und fungieren als Rezeptoren an der Zelloberfläche oder in endosomalen Kompartimenten. NOD1 und NOD2 sind zytosolische Proteine

■ **Tab. 2.1** Übersicht über die Erkennung molekularer Muster durch das innate Immunsystem

Molekulare Muster	PRRs, innate Sensoren	Ausgelöste Funktionen
<p>Kohlenhydrate</p> <ul style="list-style-type: none"> – Mannose – β-Glukan <p>Proteine, Peptide</p> <ul style="list-style-type: none"> – Formylierte Peptide – Flagellin <p>Lipide</p> <ul style="list-style-type: none"> – LPS <p>Nukleinsäuren</p> <ul style="list-style-type: none"> – ssRNA – dsRNA – ssDNA – dsDNA <p>Harnsäurekristalle extrazelluläres ATP</p>	<p>PRRs mit Leucin-reichen <i>Repeat</i>-Domänen</p> <ul style="list-style-type: none"> – Toll-<i>like</i> Rezeptoren (TLR) – NOD-<i>like</i> Rezeptoren (NLR) <p>RIG-<i>like</i> PRRs</p> <ul style="list-style-type: none"> – RIG-I – MDA5 <p>Enzyme</p> <ul style="list-style-type: none"> – cGAS & STING <p>G-Protein-gekoppelte PRRs</p> <ul style="list-style-type: none"> – Formylpeptidrezeptoren 1–3 (FPR 1–3) <p>PRRs mit Lektindomänen</p> <ul style="list-style-type: none"> – Mannoserezeptor – Dectin-1 <p>Scavengerrezeptoren</p>	<p>Phagozytose Entzündung</p> <ul style="list-style-type: none"> – Migration von Immunzellen – Oxidativer Burst, d. h. Produktion reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffmetabolite – Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen – Aktivierung von Inflammasomen <p>Induktion eines anti-viralen Status Zelltod</p>

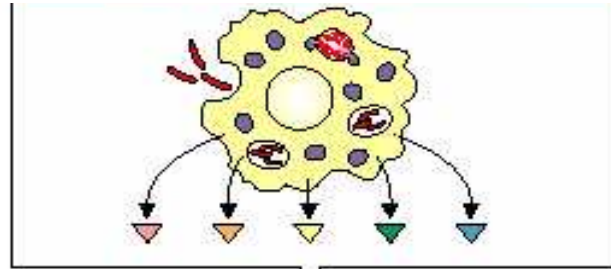
■ Tab. 2.2 PRRs für Nukleinsäuren

PRR, Nukleinsäuresensor	Lokalisation des PRR	Expression	Liganden
TLR3	Zellmembran, endozytotische Vesikel	Breit	dsRNA (>35 bp) Extrazellulär oder endolysosomal
TLR7	Endozytotische Vesikel	B, pDC	dsRNA in endolysosomalen Kompartimenten, keine 2'-O-Methylierung
TLR 8	Endozytotische Vesikel	Mo, Mph, DC	ssRNA in endolysosomalen Kompartimenten
TLR9	Endozytotische Vesikel	B, pDC	DNA in endolysosomalen Kompartimenten, Einzelstränge, un-methylierte CpG-Motive, kurze DNA-RNA-Hybride
RIG-I	Zytosol		Kurze dsRNA (>24 bp), <i>blunt end</i> mit 5' Phosphorylierung, kein Cap, keine Methylierung an N1
MDA5	Zytosol		Lange dsRNA (>500 bp)
AIM2	Zytosol		dsDNA
cGAS	Zytosol	Myeloide Zellen	dsDNA , ssDNA mit doppelsträngigen Abschnitten, Lange DNA-RNA-Hybride
STING	Zytosol, in intrazellulären Membranen verankert	Myeloide Zellen	cGAMP; bakterielle zyklische Dinukleotide

Makrophagen produzieren entzündliche Zytokine

Figure 8.10

Makrophagen werden von Gram- bakteriellem LPS aktiviert und danach produzieren sie Zytokine



IL-1

IL-8

TNF- α

IL-6

IL-12

Lokale Wirkungen

Aktiviert vaskuläre Endothelzellen und Effektor-Lymphozyten

Chemotaktisch für Leukozyten, aktiviert Effektorzellen

Aktiviert vaskuläre Endothelzellen und erhöht vaskuläre Permeabilität

Lymphozyten-Aktivierung, erhöhte Antikörper-Produktion

Aktiviert NK-Zellen, induziert die Differenzierung der T-Helfer-Zellen in Th1-Richtung

Systemische Wirkungen

Fieber, IL-6-Produktion

GM-CSF
Komplement-Protein
INF α

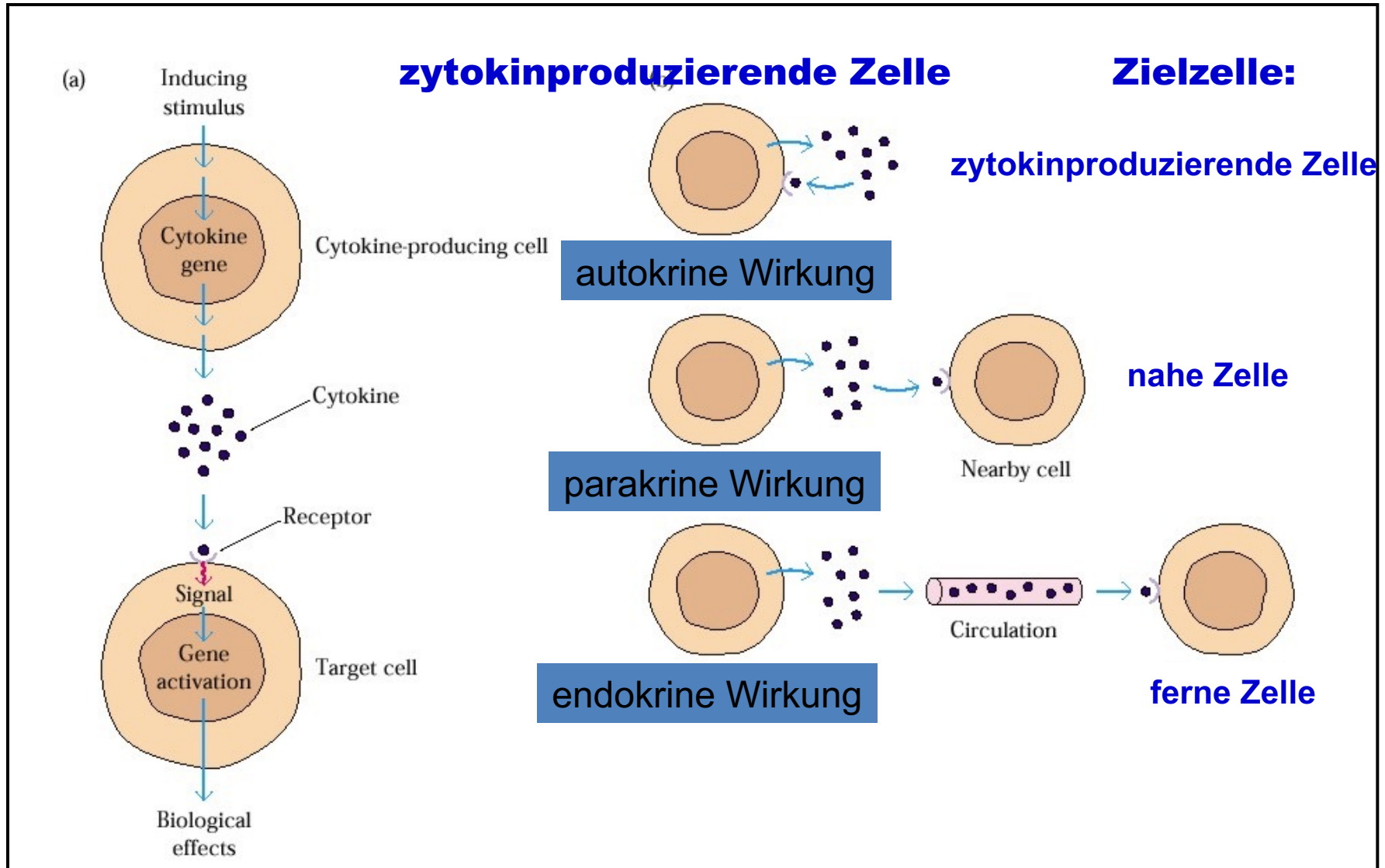
Fieber, septischer Schock

Fieber, induziert Akutphase-Protein-Produktion

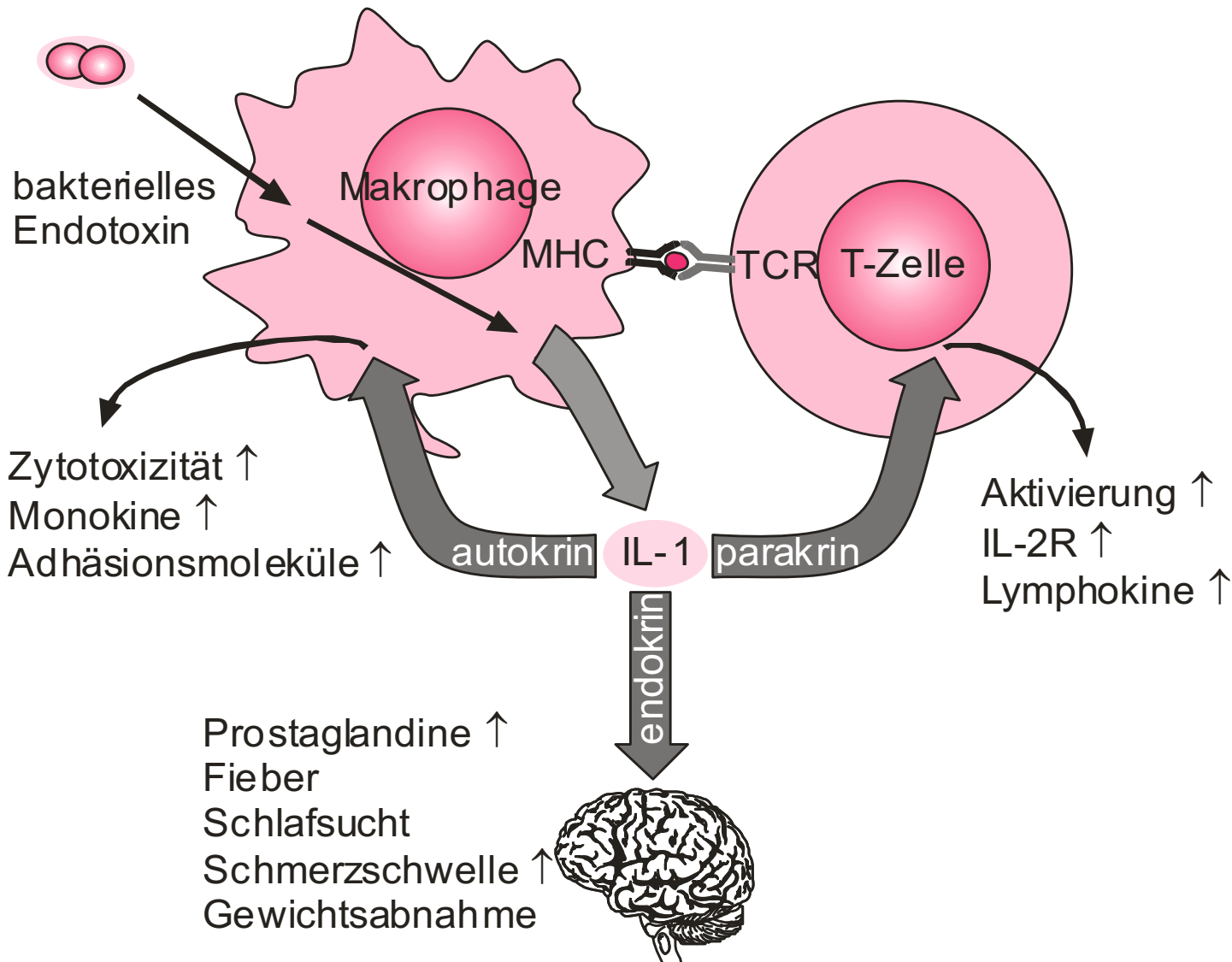
Funktionale Gruppen von Zytokinen

<p>I. Regulierungsmoleküle der Entzündung = Proinflammatorische Zytokine</p> <p>Chemokine</p>	<p>IL-1α, IL-1β, IL-6, TNFα, TNFβ, IL-17</p> <p>IFNα, IFNβ, (anti-virale Zytokine)</p> <p>CXC-Chemokine CXCL8 (IL-8), CC-Chemokine: CCL2 (MCP-1) CCL3/CCL4 (MIP-1α,β)</p>
<p>II. Regulatoren der Lymphozytenaktivierung und – Differenzierung (Th1 – Th2)</p>	<p>Th1: IL-2, IFNγ, IL-12, IL-18, IL-23, IL-27</p> <p>Th2: IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, IL-21, IL-25</p> <p>IL-7</p>
<p>III. Regulatoren der Hämatopoiesis</p>	<p>SCF, GM-CSF, IL-3, IL-7</p>
<p>IV. Immunregulierende Zytokine</p>	<p>IL-10 und TGFβ</p>

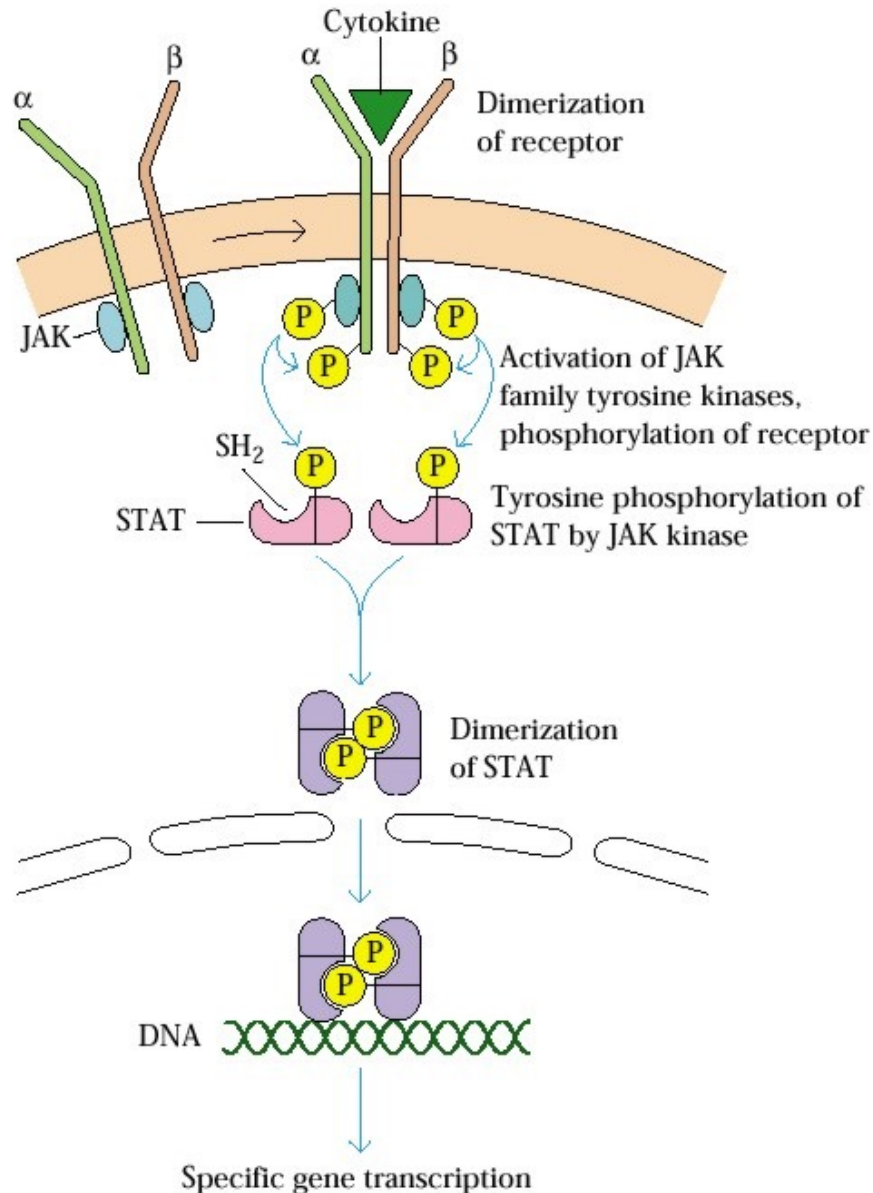
Mechanismen der Zytokinwirkung I:



Autokrine, parakrine und endokrine Wirkungen von IL-1

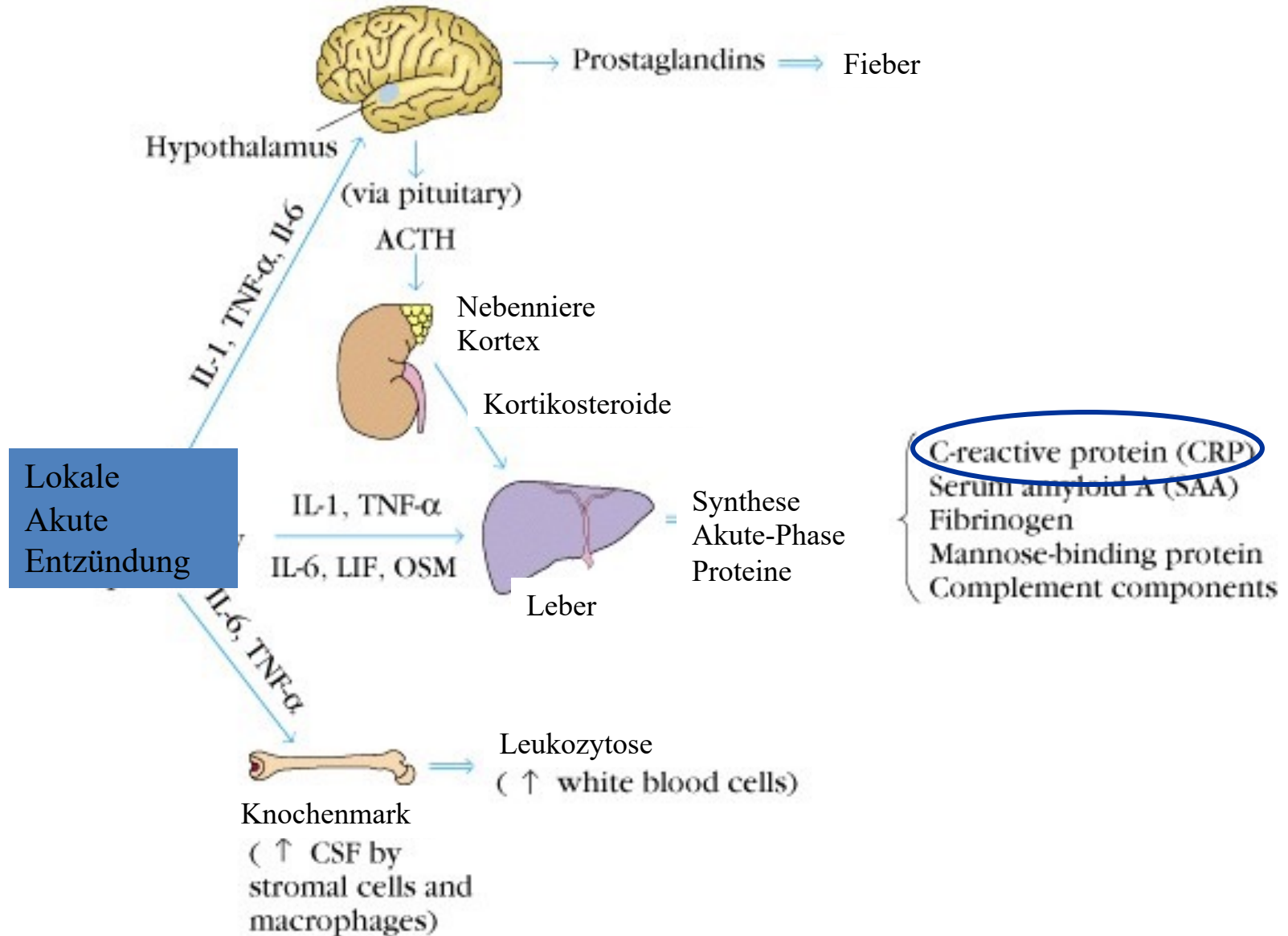


Die Signaltransduktion über JAK- und STAT-Proteine

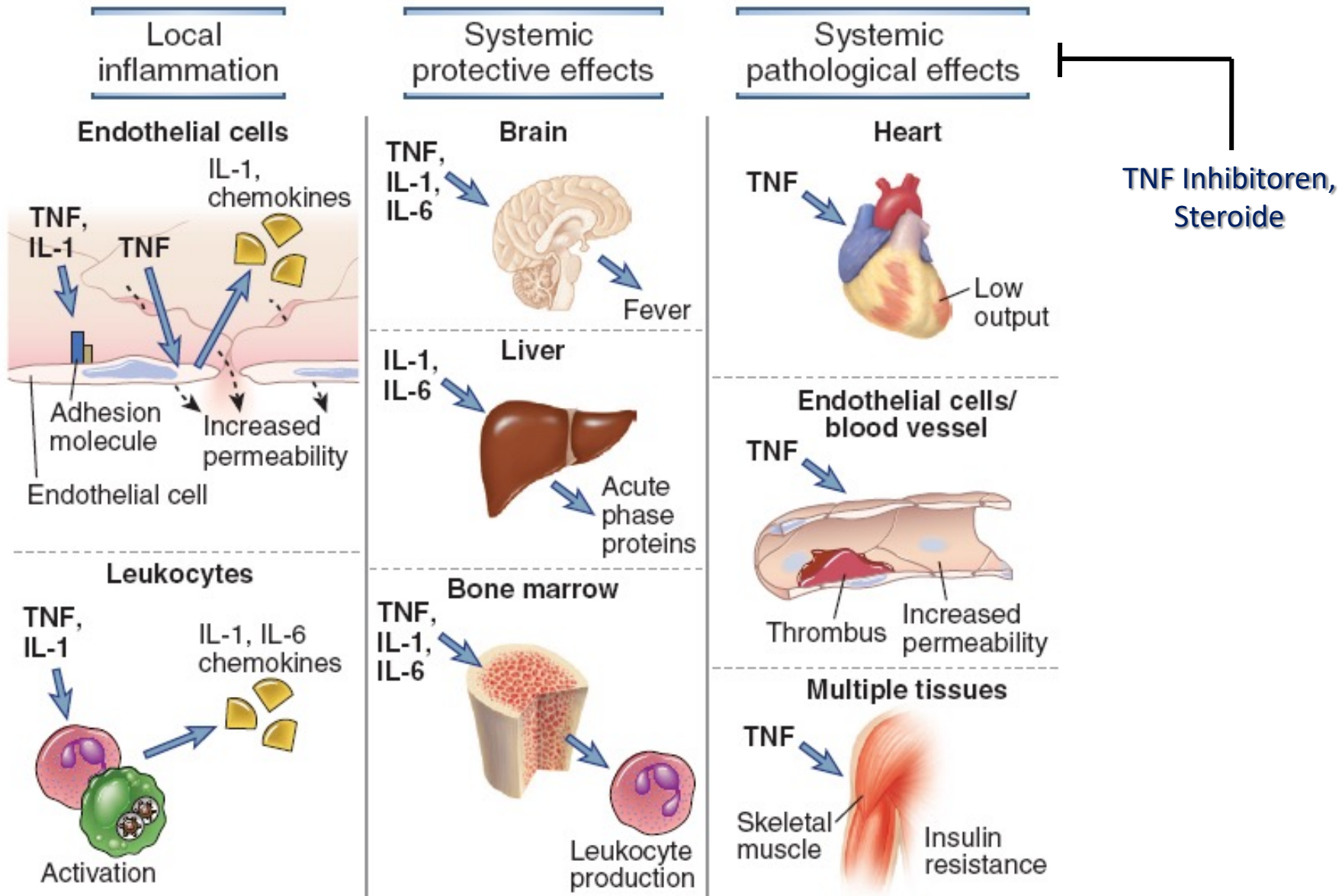


1. Zytokin-Ligandenbindung
2. Oligomerisierung der Rezeptorketten
3. Aktivierung der assoziierter Botenmoleküle (Second messenger Kinase – Rezeptor-PTK)
4. JAK – Janus-Kinasen
5. STAT: Signal transducers and activators of transcription)
6. Strukturelle Änderungen im Zytoskelett, Zellproliferation und Aktivierung der Transkription spezifische Gene

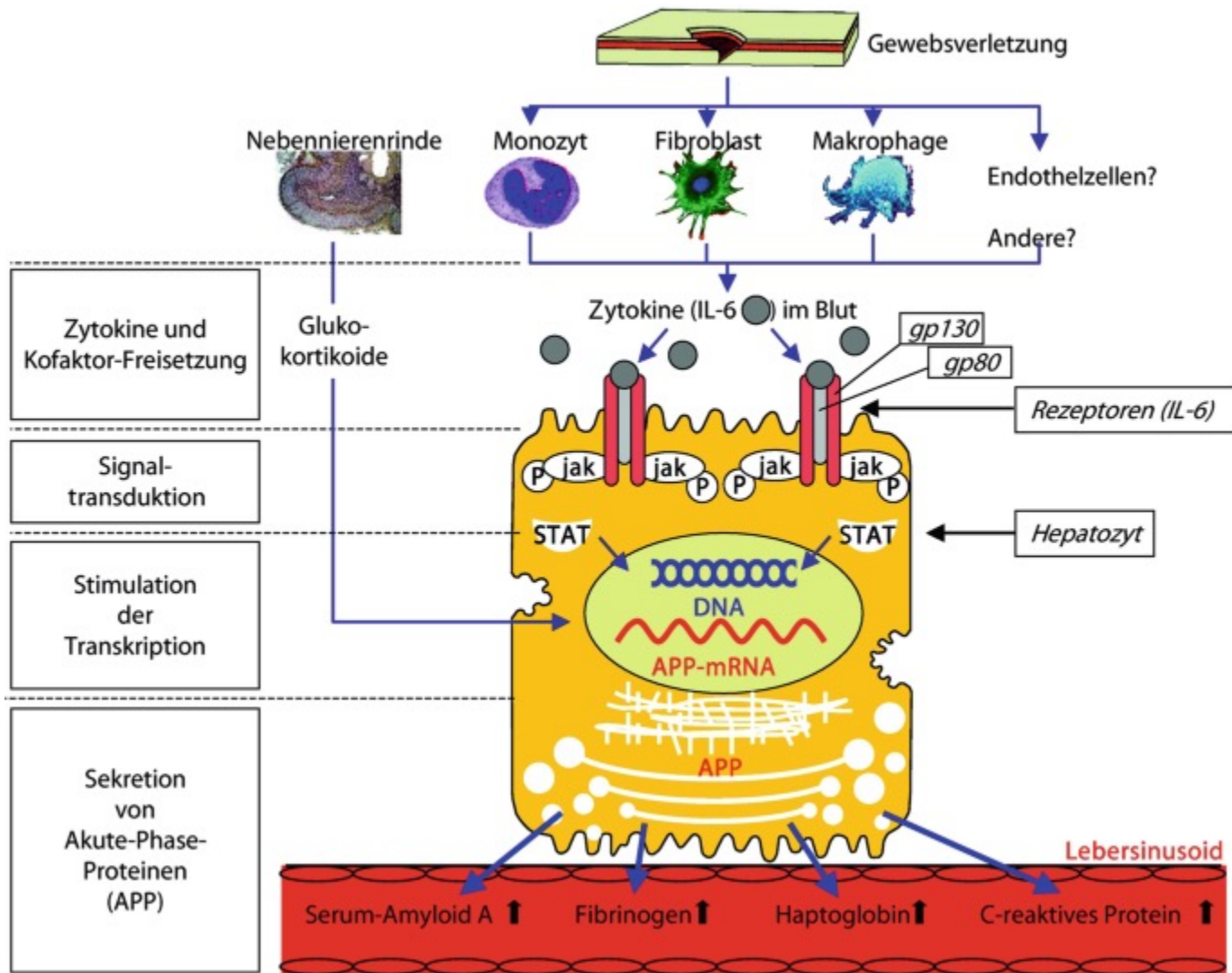
Systemische Entzündung



Lokale Entzündung → Systemische Entzündung



Akut-Phasenreaktion



Akutphase Proteine im in Serum

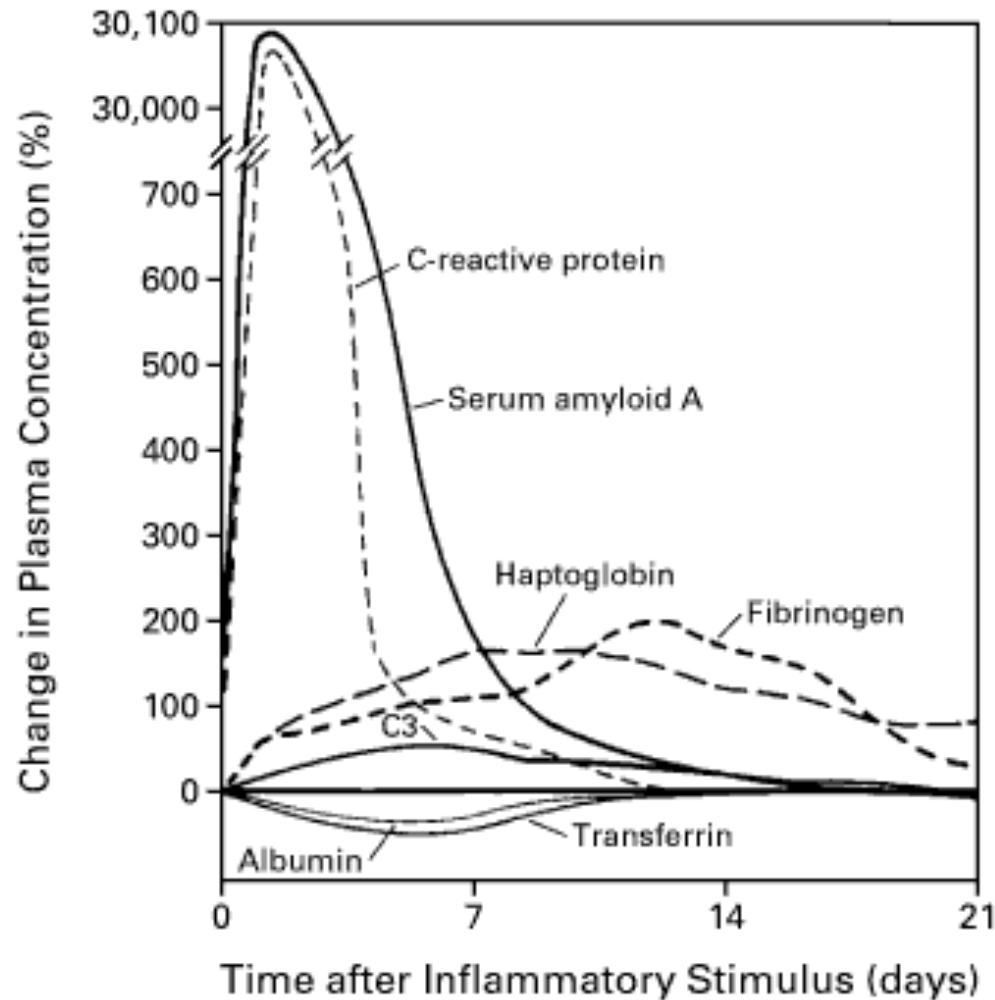


Table 19.1-5 Classification of the acute phase proteins from

Ref. [/2/](#)

Protein	Reference interval (g/L)	Reaction time (h)	Rise (x normal)
CRP	< 0.005	6–10	10–1,000
SAA	< 0.010	6–10	10–1,000
α_1 -anti-chymotrypsin	0.3–0.6	10	10
Acid α_1 -glycoprotein	0.5–1.4	24–48	2–3
α_1 -antitrypsin	1.9–3.5	24–48	2–3
Haptoglobin	0.7–3.8	24–48	2–3
Fibrinogen	2.0–4.5	24–48	2–3
C3	0.5–1.2	48–72	< 2
C4	0.2–0.5	48–72	< 2
Ceruloplasmin	0.15–0.60	48–72	< 2

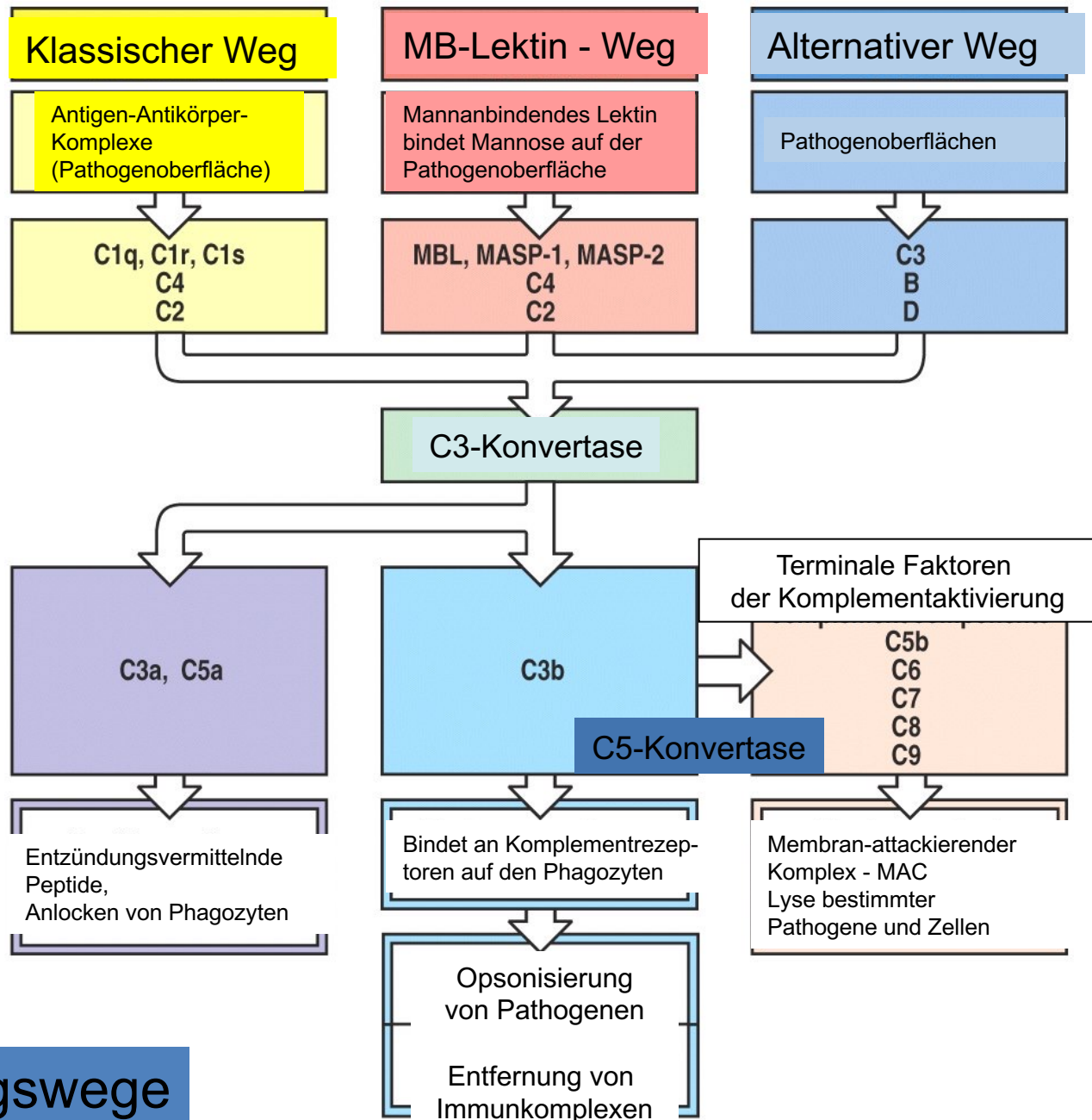
Table 19.3-1 Diagnostic value of various tests for the detection of inflammation

Test	Diagnostic sensitivity	Diagnostic specificity	Usefulness for inflammation	
			Acute	Chronic
CRP/SAA	Very high	High	Very high	Moderate
SPE	High	Low	Moderate	High
ESR	High	Low	Moderate	Moderate
WBC count	High	Low	High	Moderate
TM	High	Low	High	Low

ESR, erythrocyte sedimentation rate; SPE, serum protein electrophoresis; TM, temperature measurement

Komplementfaktoren

- Inaktive Enzym-Prekursoren = Serin-Protease im Serum und Körperflüssigkeiten, die wiederum die Entstehung anderer Enzyme katalysieren: → Enzym-Kaskade
- Zelloberflächenrezeptoren - Komplementrezeptoren (CR) zur Bindung aktivierter Komplementfaktoren (C3b)
- Regulatorische Proteine: lösliche Moleküle und Zelloberflächmoleküle



Die Aktivierungswege

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

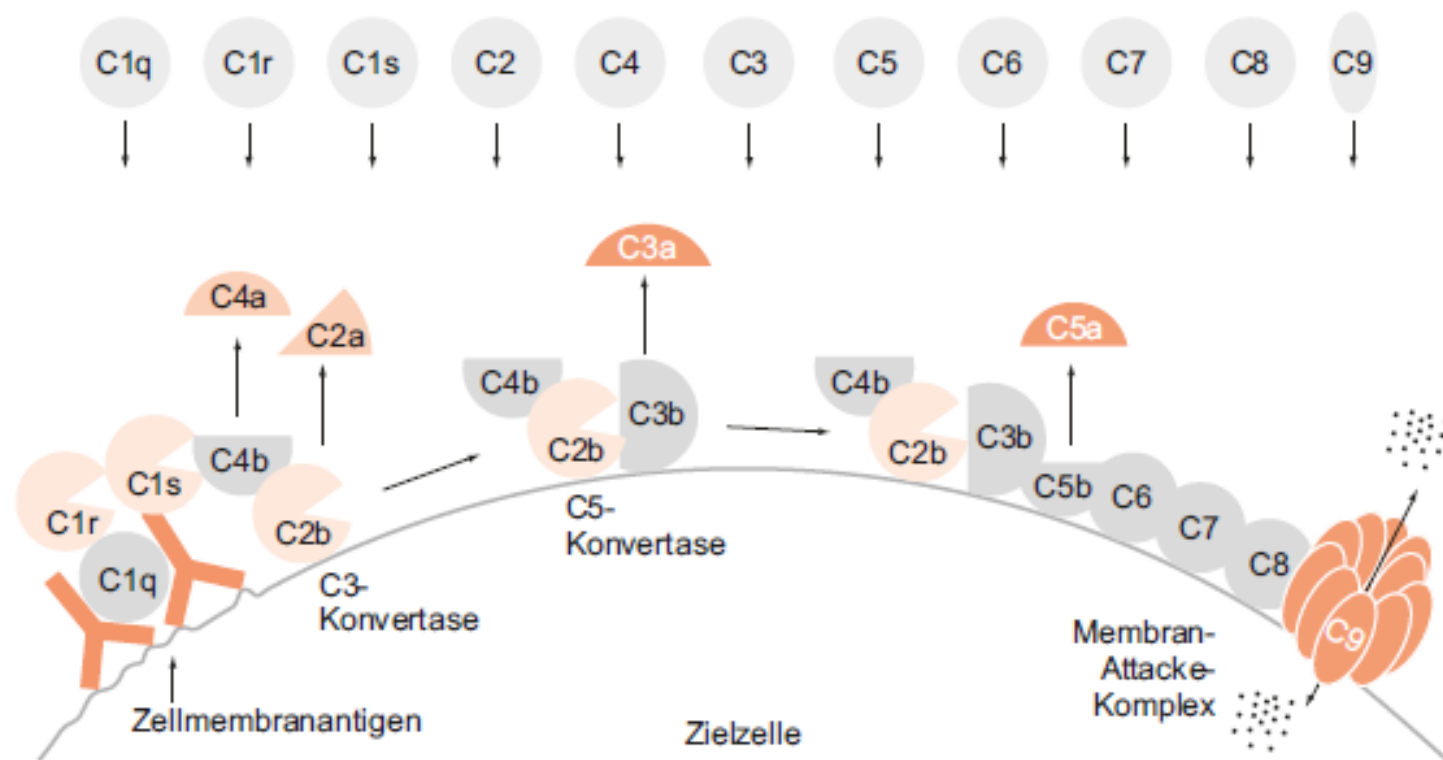


Abb. 1.8 Der klassische Weg der Komplementaktivierung. Antikörper selbst sind nicht zytotoxisch. Nach Bindung an ein Antigen ermöglichen sie aber durch eine Konformationsänderung die Bindung von C1q. Die auf der Oberfläche der bakteriellen Zielzelle ablaufende Enzymkaskade führt zur Freisetzung von biologisch aktiven Spaltprodukten und bis zum lytischen Membran-Attacke-Komplex

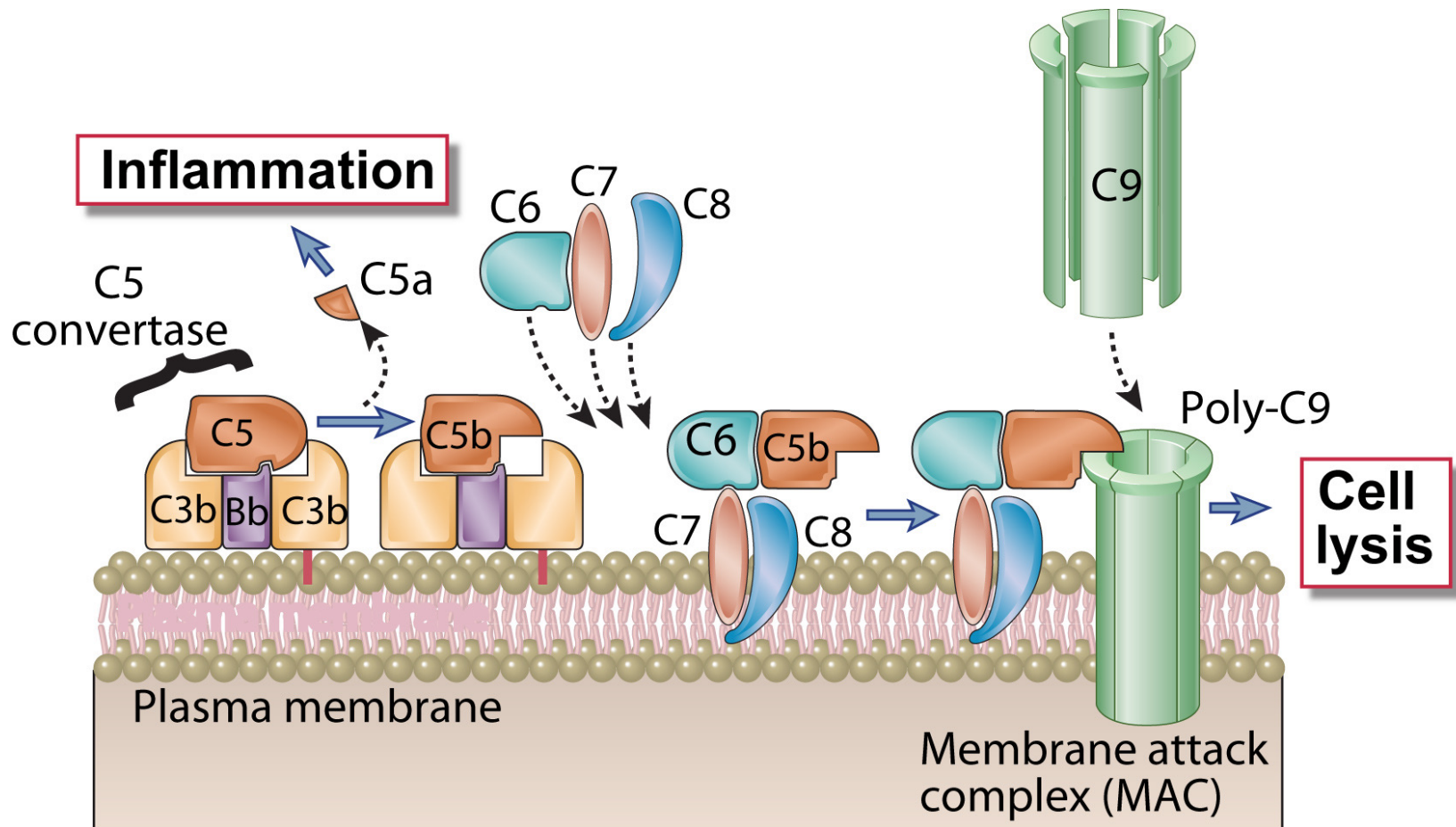
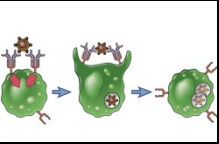


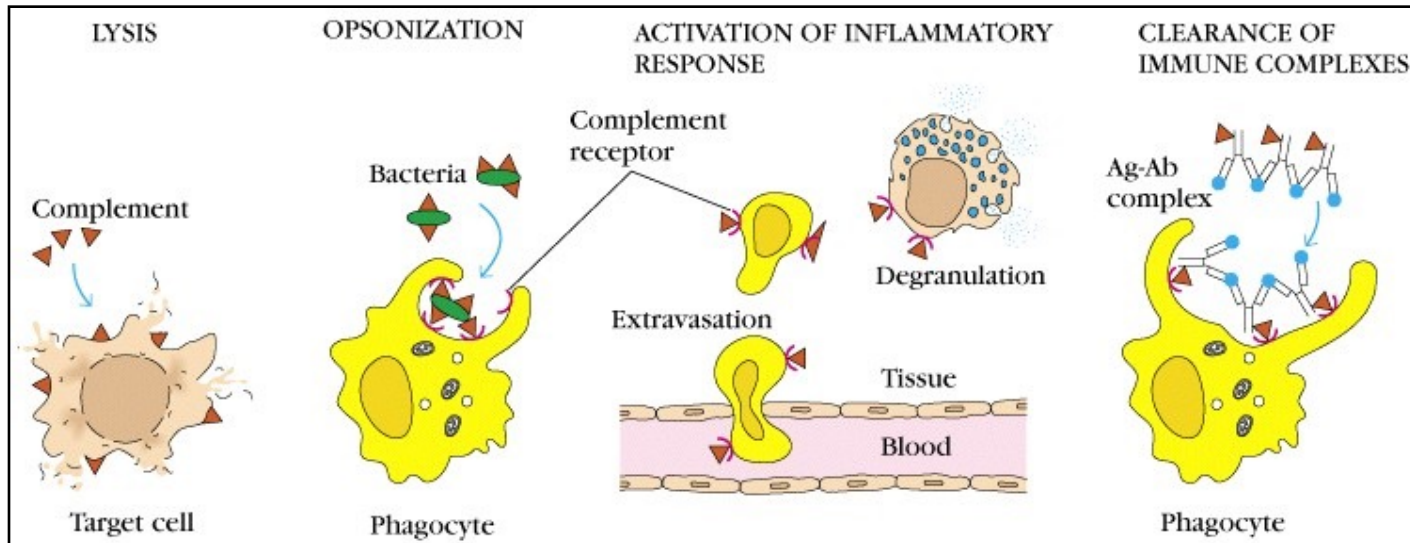
Fig. 12-12

Komplementrezeptoren

Rezeptor	Liganden	Funktion	Vorkommen
C1qR	C1q, MBL	-Die Phagozytose von Fremdmaterial induzieren, die Bildung von antibakteriellen Sauerstoffradikalen fördern, - weitere Komplementaktivierung hemmen	Monozyten, Makrophagen, B-Zellen, Granulozyten, Thrombozyten
CR1 (CD35)	C3b> C4b	- Hemmt die Komplementaktivierung - Bindet Immunkomplexe und beschleunigt deren Eliminierung	<u>Erythrozyten</u> Neutrophile Monozyten/Makrophage Endothelzellen B-Lymphozyten FDC
CR2 (CD21)	C3d, iC3b EBV, INF α , CD23	- B-Zell-Korezeptor → Aktivierung - Bindet Epstein-Barr-Viren	B-Zellen, einige T-Zellen FDC
CR3 (CD11b/CD18) CR4 CD11c/CD18	iC3b, C3dg C3d, ICAM-1, LPS Fibrinogen	- Binden Zelladhäsionsmoleküle der Neutrophile und helfen bei der Extravasation - Binden Immunkomplexe und beschleunigen die Phagozytose	Monozyten/Makrophage Neutrophile NK-Zellen einige T-Zellen DC, FDC
C3aR und C5aR	C3a C5a	- Induzieren Aktivierung und Degranulation der Basophile und Mastzellen	Mastzellen, Basophile Neutrophile Monozyten/Makrophage

Funktionen des Komplementsystems:

1. **Lyse**: Zellen, Bakterien, Pilze, Viren
2. **Opsonisierung**: hilft bei der Phagozytose und der Antigen-Eliminierung
3. **Komplementrezeptor-Bindung der Immunkomplexe**:
 - an CR1 der Erythrozyten → Transport in die Leber und Milz
 - B-Lymphozyten-Aktivierung
 - Mastzellen- und Basophilen-Aktivierung → Entzündung
4. Kleine Komplementfragmente C3a, C5a können lokale Entzündungsreaktionen induzieren



Regulierung der Komplementkaskade

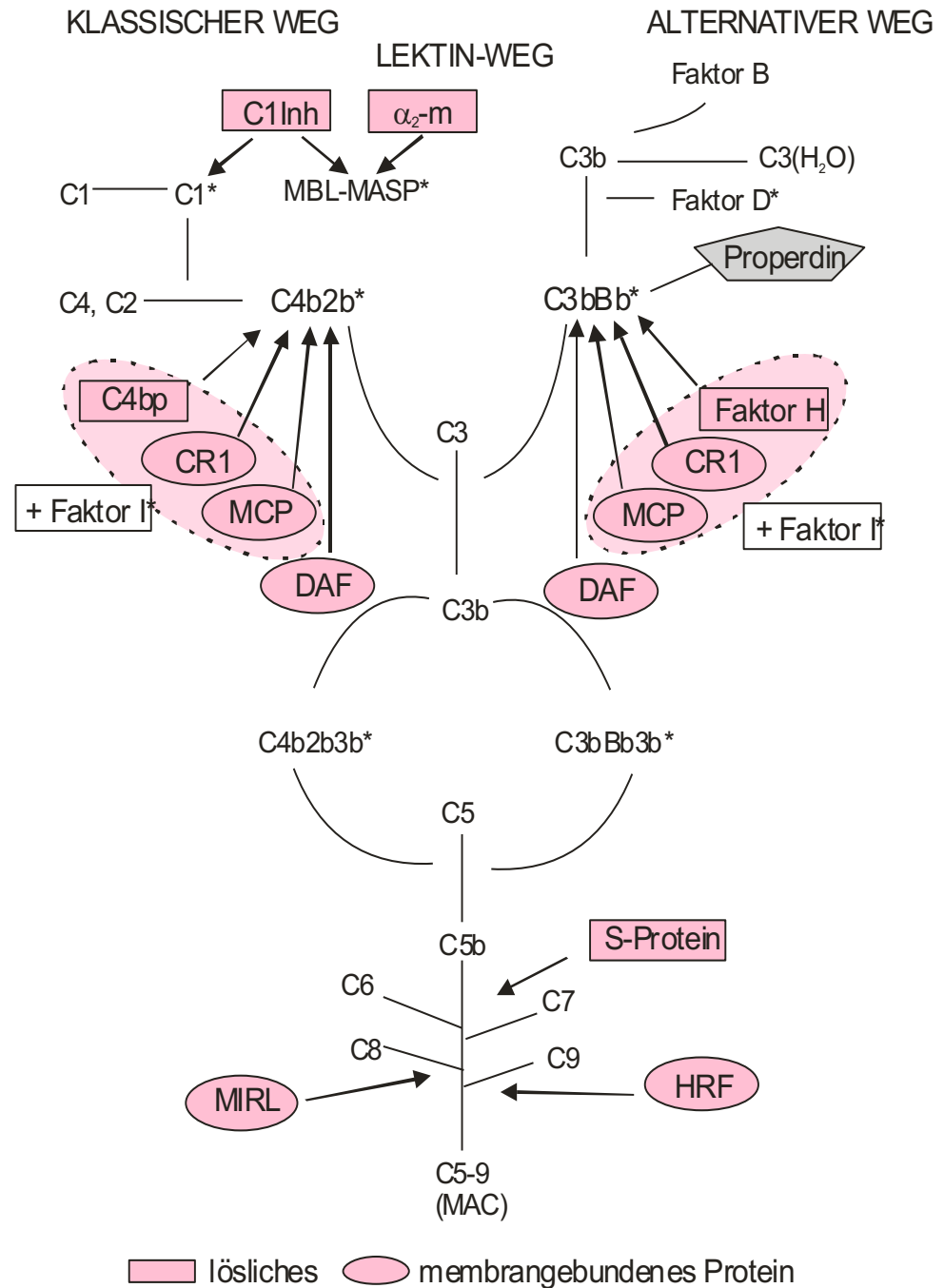
Lösliche Moleküle:

C1-Inhibitor und α_2 -Makroglobulin
 → hemmen den ersten Schritt des klassischen und lektinabhängigen Weges

Faktor-H, Faktor-I:
 → hemmen den alternativen Weg

Membrangebundene Proteine: **CR1, MCP, DAF**

→ hemmen C3-Konvertase-Enzyme
 → verhindern die reaktive Lyse der körpereigenen Zellen



■ Tab. 1.4 Komplementinhibitoren

Inhibitor	Zielmoleküle	Funktion
C1-Inhibitor	C1r, C1s	Dissoziiert C1r und C1s von C1q (Serinproteaseinhibitor)
Faktor I	C3b, C4b	Spaltet C3b in iC3b, C3d (Serinprotease)
Faktor H	C3b	Bindet C3b und verdrängt Bb
C4-bindendes Protein (C4BP)	C4b	Verdrängt C2
Membran-Komplement-Protein (MCP, CD46) ^a	C3b, C4b	Kofaktor für Faktor I
<i>decay accelerating factor</i> (DAF) ^a	C4b2b, C3bBb	Dissoziation beider C3-Konvertasen
CD59 ^a	C7, C8	Verhindert C9-Bindung

^aAls membranständige Proteine auf allen kernhaltigen Blutzellen, Endothelzellen und Epithelzellen exprimiert

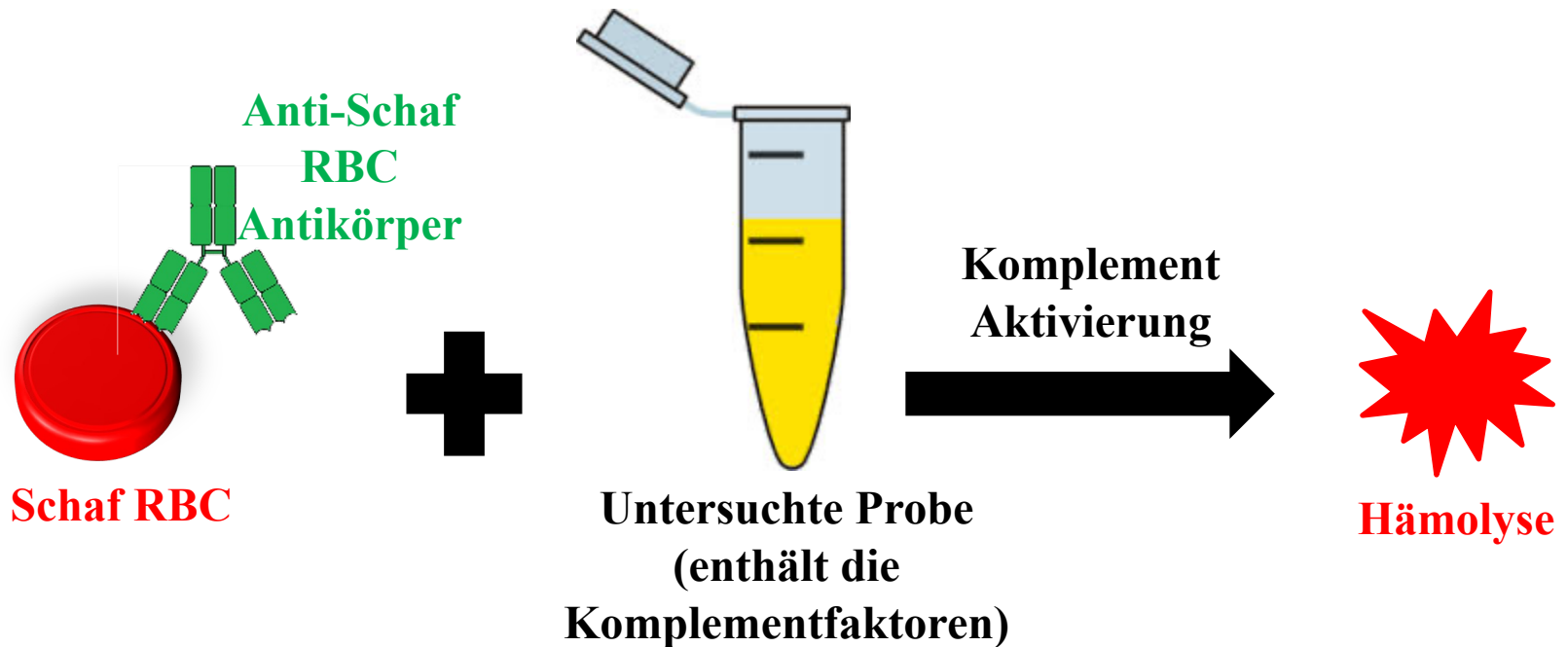
C1-Esterase-Inhibitor (C1-INH)

- C1-INH ist ein [Serin-Protease-Inhibitor](#), der die Aktivierung des [Komplementfaktors C1](#) kontrolliert
- C1-INH besitzt eine regulierende Funktion in zwei lebenswichtigen Systemen des Körpers: im [Kontaktsystem](#) der Blutgerinnung und im [Komplementsystem](#) der Immunabwehr
- Ein Mangel an diesem Protein wird als [hereditäres Angioödem](#) (oder **hereditäres angioneurotisches Ödem - HAE**) bezeichnet
- Im Falle des HAE kann ein C1-INH-Mangel in beiden Systemen zur Ödembildung beitragen, die zentrale Rolle scheint jedoch das Peptid [Bradykinin](#) im Kontaktssystem zu spielen
- Meistens präsentiert es sich mit wiederkehrenden Schwellungen ([Ödemen](#)) der Haut, Schleimhäute und der inneren Organe, die unter Umständen lebensbedrohlich sein können



Funktionelle Tests des Komplementsystems

- Wann wird es durchgeführt:
 - Wiederkehrende Infektionen, mögliche Defizienz des Komplementsystems
 - **Autoimmunkrankheiten**
- Allgemeiner Test: basiert auf **Hämolyse** → CH50 oder CH100^[26,27]



CH50 → Verdünnung der Probe die 50% Hämolyse der RBCs verursacht
CH100 → Verdünnung der Probe die Hämolyse aller RBCs verursacht