

Kazimierz Madaliński^{1,3}, Maciej Cedzyński², Anna Świerżko², Anna Szczepańska-Szerej⁴

UKŁAD DOPEŁNIACZA – EFEKTOR REAKCJI ZAPALNEJ. MOŻLIWOŚCI REGULACJI AKTYWNOŚCI DOPEŁNIACZA W CHOROBYCH NIEDOKRWIENNYCH

¹Zakład Wirusologii Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

Kierownik Zakładu: Bogumiła Litwińska

² Centrum Biologii Medycznej PAN w Łodzi

Dyrektor Centrum: Czesław S. Cierniewski

³Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Instytutu-Pomnik Centrum Zdrowia
Dziecka w Warszawie

Kierownik Zakładu: Danuta Dzierżanowska-Madalińska

⁴Klinika Neurologii Akademii Medycznej im. prof. Feliksa Skubiszewskiego w Lublinie

Kierownik Kliniki: Zbigniew Stelmasiak

Przedstawiono listę chorób, w których wymagane jest hamowanie reakcji dopełniacza (C), a także przegląd używanych już lub testowanych do celów klinicznych inhibitorów kaskady. Najgroźniejsze z chorób związanych z nadmierną aktywacją C - to niedokrwienne choroby serca i mózgu - zawał serca i udar mózgu. Istotą zagadnienia jest możliwość zmniejszenia pola zawału lub udaru, w przypadku zastosowania możliwie szybkiej i udanej interwencji. Wiadomo bowiem, iż nadmierna, 'zabójcza' aktywacja dopełniacza jest stymulowana przez ognisko martwicy tkankowej; a ochroną przed nią jest działanie inhibitorów. Wiele z badań leków odbywa się ciągle na modelach zwierzęcych. Jednakże, wiedza nt. skuteczności inhibitorów winna być łączona z dotychczasowymi wnioskami ze stosowania statyn, które wśród wielu swych działań mają obniżenie prognozy aktywacji C.

Słowa kluczowe: dopełniacz C, droga lektynowa aktywacji, aktywność biologiczna C, choroby z hiperaktywacją C, możliwość modyfikacji terapeutycznej C

Key words: complement C, lectin pathway of activation, biological activity of C, diseases with overactivation of C, possibilities of therapeutic modification of C

WSTĘP

Szereg zaburzeń funkcji układu odpornościowego może odzwierciedlać wrodzone, determinowane genetycznie defekty syntezy immunoglobulin, składników układu dopełniacza,

białek ostrej fazy (należą do nich także C3 i C9) lub zaburzenia różnicowania, regulacji, jak i dojrzewania komórek ‘immunologicznie kompetentnych’. Prowadzi to do przejściowych lub stałych dysfunkcji lub nawet ciężkiego braku odporności (1). Jedną z przyczyn defektów odporności, a także procesów autoimmunizacji, są wrodzone lub nabyte deficyty składników dopełniacza. Oprócz dobrze poznanych dróg aktywacji dopełniacza, klasycznej i alternatywnej, coraz więcej uwagi poświęca się tzw. drodze lektynowej.

Ponad 30 lat temu opisano po raz pierwszy dziewczynkę cierpiącą na atopowe zapalenie skóry oraz nawracające zakażenia bakteryjne, u której stwierdzono zaburzenia fagocytozy. Ich przyczyną był brak czynnika surowiczego, mającego zdolność opsonizacji drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Podobny defekt zaobserwowano kilka lat później u dzieci z nawracającymi, ropnymi zakażeniami. W tym samym czasie pojawiły się pierwsze doniesienia dotyczące obecności białka o charakterze lektyny, wiążącego reszty mannozy, obecnego w homogenatach wątroby i surowicy ssaków. Badania te pozwoliły na skorelowanie wspomnianych danych i scharakteryzowanie białka wiążącego mannozę. Lektyna wiążąca mannan (*mannan-binding lectin*, MBL) jest uważana za bardzo istotny składnik odporności wrodzonej. Deficyt MBL, podawany za najczęstszy niedobór odporności, może przyczynić się do zwiększonej podatności na liczne choroby zakaźne (2).

Jednym z istotnych zagadnień poruszonych w artykule jest przybliżenie niedawno poznanej drogi lektynowej oraz omówienie możliwości regulacji (obniżenia) aktywności dopełniacza w przypadkach, gdy jest to uzasadnione pod względem klinicznym.

DROGA LEKTYNOWA

Elementy drogi lektynowej dopełniacza występują u przedstrunowców i strunowców. Jej aktywatorem, podobnie jak drogi alternatywnej, są polisacharydy lub glikokoniuagaty powierzchniowe drobnoustrojów. Przebiega w sposób niezależny od C1q, proteaz serynowych C1s i C1r oraz przeciwciał, jednak, tak jak droga klasyczna, wymaga składników C4 i C2. Czynnikiem rozpoczynającym aktywację drogi lektynowej jest lektyna wiążąca mannan, tworząca kompleksy z proteazami serynowymi (*MBL-associated serine proteases*) MASP-1, MASP-2, MASP-3 oraz białkiem MAp19.

Droga lektynowa jest uznawana za istotny mechanizm ostrej fazy odpowiedzi organizmu na zakażenie. Jej aktywacja następuje w wyniku przyłączenia kompleksu MBL-MASP do bogatych w D-mannozę, N-acetylo-D-glukozaminę lub L-fukozę struktur powierzchniowych drobnoustrojów. Zmiany konformacyjne zachodzące w cząsteczce MBL prowadzą do aktywacji proteaz kompleksu. Zaktywowana MASP-2 trawi składnik C4 powodując uwolnienie fragmentów C4a i C4b. W cząsteczce C4b dochodzi do ekspozycji grup tioestrowych. Mogą one tworzyć wiązania estrowe z grupami hydroksylowymi lub amidowe z grupami aminowymi na powierzchni drobnoustroju. Następnie trawieniu przez MASP-2 ulega składnik C2. Uwalnia się fragment C2b, a C2a wiąże się do C4b. Powstała w ten sposób konwertaza C4b2a aktywuje C3, w wyniku czego powstają cząsteczki: C3a (o charakterze anafilatoksyny) i C3b, która wiąże się przez grupy tioestrowe z grupami -OH lub -NH₂ struktur powierzchniowych mikroorganizmu. Tworzy się konwertaza C4b2a3b, która aktywuje składnik C5. Uwolniona w wyniku jego strawienia cząsteczka C5a działa jako silna anafilatoksyna, a C5b po związaniu się z C3b może przyłączyć następne składowe

dopełniacza (C6-C9), co w konsekwencji doprowadza do utworzenia tzw. kompleksu ataku błony komórkowej (membrane attack complex, MAC) i lizy komórki.

Dostępne są komercyjne testy do badania wariantów genu MBL drogi lektynowej, przykładem jest Inno-Lipa MBL2 (firma Innogenetics, Gent, Belgia)

PREPARATY MBL W TERAPII

Jedną z możliwości leczenia niedoborów odporności jest leczenie substytucyjne, czyli dożylnie podawanie preparatów. Opisano dwuletnią dziewczynkę, która od 4 mies. życia była leczona z powodu wielokrotnych zakażeń wirusowych i bakteryjnych układu moczowego, ucha środkowego, oskrzeli i krtani, zapalenia żołądka i jelit oraz posocznicy. U dziecka stwierdzono niedobór lektyny wiążącej mannan i obniżony poziom IgA. Preparat MBL, wyizolowany z połączonych porcji osocza wielu dawców i oczyszczony zgodnie z procedurami obowiązującymi dla preparatów krwiopochodnych, przetoczono dziecku 6-krotnie, w dawkach wystarczających do uzyskania prawidłowego stężenia w surowicy. Ochronne działanie infuzji MBL utrzymywało się przez blisko 3 lata. Nie zaobserwowano żadnych efektów ubocznych, nie powstawały też przeciwciała anti-MBL. *Valdimarsson* przedstawił następnie wyniki badań, w których 20 zdrowym ochotnikom z niedoborami MBL podawano dożylnie oczyszczony preparat białka. Preparat okazał się całkowicie bezpieczny (nie stwierdzono tworzenia przeciwciał anti-MBL ani zakażeń wirusami, które mogą być przenoszone wraz z preparatami krwiopochodnymi, po 24 tygodniach od ostatniej iniekcji). Średni czas półtrwania białka w krwiobiegu wynosił jednak tylko około 3 dni (maksymalnie 115 godzin), dlatego aby terapia była skuteczna, należałoby podawać chorym co najmniej dwie dawki (po 6 mg) tygodniowo (3, 4).

Kolejne wyniki badań zwracają uwagę na możliwość zastosowania opisywanego białka w terapii nowotworów. MBL wiąże się do komórek ludzkiego raka okrężnicy i działa na nie cytotoksycznie. Efekt ten nie jest związany z aktywacją dopełniacza. Wspomniane badania prowadzono dotychczas wykorzystując linie komórkowe lub na modelu zwierzęcym. Obecnie rozważa się leczenie substytucyjne z użyciem MBL u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów, mukowiscydozą, wirusowym zapaleniem wątroby C; dalej - u kobiet, u których dochodzi do nawrotowych poronień oraz u dzieci z nawracającymi zakażeniami (5). Możliwe jest zarówno stosowanie preparatów MBL otrzymanych z osocza jak i białka rekombinantowego (rhMBL). Pierwszy ze sposobów zapewnia naturalną oligomeryzację cząsteczek, co jest istotne dla aktywności biologicznej leku. Natomiast wytworzenie kompleksów z MASP zapewnia zdolność do aktywacji dopełniacza. Z drugiej strony, produkty rekombinacji wolne są od ryzyka, jakie zawsze występuje przy stosowaniu preparatów krwiopochodnych. Działają one cytotoksycznie na niektóre komórki nowotworowe, wiążą się do wirusów grypy typu A i mogą tworzyć kompleksy z MASP obecnymi w osoczu biorcy. Niedawno opublikowano wyniki badań farmakokinetycznych (I fazy) z użyciem białka rekombinantowego, wyprodukowanego przez duńską firmę NatImmune. Również ten preparat nie wywoływał niepożądanych efektów ubocznych, ale średni czas jego półtrwania wynosił tylko około 30 godzin. Licencję na produkcję i sprzedaż rhMBL uzyskała firma Enzon Pharmaceuticals. Przewiduje się stosowanie leku u osób z niedoborami MBL, poddawanych chemioterapii przeciwnowotworowej. Ostatnio zaproponowano możliwość suplementacji MBL u chorych z zakaźnym zapaleniem wsierdza (6).

RECEPTORY DOPEŁNIACZA

Centralny składnik układu dopełniacza – zarówno drogi klasycznej, alternatywnej, jak i lektynowej – C3, zaktywowany na powierzchni, zostaje związany jako większy fragment, C3b. Fragment C3b służy z jednej strony jako główny czynnik aktywacji składników C5-C9 (powodujących lizę komórki), a z drugiej – jako ligand receptora CR1, znajdującego się m.in. na krwinkach czerwonych.

Obie aktywności fragmentu C3b są hamowane przez czynnik I, który trawi C3b od dwóch końców, wytwarzając iC3b oraz C3f. Fragment iC3b jest następnie trawiony do C3c i C3dg, który z kolei jest dalej degradowany przez proteazy surowicy do C3d. Fragmenty iC3b, C3dg oraz C3d związane z powierzchnią mogą zostać rozpoznane przez receptory krwinek białych, określone jako CR2, CR3 i CR4. Natomiast zarówno fragment C3d, jak i podobnie powstający C4d, mogą krążyć w surowicy i być wykrywane odpowiednimi przeciwciałami. Wykrycie określonych, podwyższonych stężeń tych fragmentów uznano za wskaźnik obecności kompleksów immunologicznych.

Na powierzchni wielu komórek, zwłaszcza krwinek białych i makrofagów, istnieją swoiste receptory dla składników i białek regulacyjnych układu dopełniacza, z których najważniejsze to: C1qR, CR1 (CD35), CR2 (CD21), CR3 (CD11b/18), CR4 (ligand: C3dg), C5aR, HRF (homologiczny czynnik restrykcyjny; receptor składników C8+C9) i CD59. Znajomość receptorów dopełniacza zaczyna mieć coraz większe znaczenie dla proponowanej strategii terapeutycznej (7).

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA DOPEŁNIACZA I MOŻLIWOŚCI JEJ
MODYFIKACJI W ZAWALE SERCA

Dalsza część tego opracowania będzie poświęcona praktycznemu zastosowaniu hamowania nadmiernej aktywacji dopełniacza, w tym określeniu etapów kaskady, które powinny być hamowane i poszukiwaniem substancji, które do tego celu służą. Lista jednostek chorobowych lub stanów patologicznych związanych z nadmierną aktywacją dopełniacza jest bardzo długa; tabela I. Na jej czele znajduje się obrzęk naczynioruchowy, w którym wrodzony lub nabyty niedobór C1-inhibitora prowadzi do gwałtownych, trudnych do opowania sytuacji klinicznych; przede wszystkim, jeżeli obrzęk obejmuje krtań (8).

Aktywacja dopełniacza poza organizmem – w wyniku krążenia krwi przez aparat płuco-serce ('cardiopulmonary bypass') lub przejścia przez kuprofanowe błony dializacyjne – powoduje przejściową leukopenię, wynikającą zapewne z agregacji leukocytów w płucach (9).

◆ Uszkodzenie tkanek w wyniku martwicy niedokrwiennej prowadzi do silnej aktywacji dopełniacza i odkładania obfitych złogów drogi końcowej (C5b-C9; MAC). W doświadczalnych modelach zawału serca wykazano, że zablokowanie dopełniacza **zmniejszyło wielkość uszkodzenia tkanek**. Były to jedne z pierwszych, poza zastosowaniem C1-inhibitora w HAE, prób praktycznego wykorzystania wiedzy o możliwości terapeutycznego hamowania szkodliwej aktywacji dopełniacza (9).

Przykład takiego praktycznego zastosowania wiedzy podano poniżej.

Badaniami mającymi na celu ocenę efektu działania monoklonalnego inhibitora skład-

nika C5 (pexelizumabu) na współczynniki zgonu i wystąpienia zawału serca u chorych przechodzących połączone przeniesienie zastawki aorty wraz z chirurgią typu ‘by-pass’ tętnicy wieńcowej – objęto 3099 pacjentów w 205 ośrodkach. Autorzy stwierdzili korzystne działanie pexelizumabu; jednak uważają, że należy w dalszych studiach potwierdzić wielkość spadku śmiertelności z jego użyciem (10).

- ◆ Aktywacja dopełniacza jest ważną przyczyną uszkodzenia tkanek w chorobach zależnych od kompleksów immunologicznych. Kompleksy takie powstają w przebiegu każdej ostrej choroby zakaźnej, a ich istotą jest zarówno mobilizacja dopełniacza, jak i cytotoksyczności zależnej od komórek (limfocytów T) prowadzących do usunięcia czynnika zakaźnego. Natomiast, niesprzyjające mechanizmy zaczynają odgrywać rolę przy braku takiej eliminacji, przewlekłym krążeniu i odkładaniu kompleksów immunologicznych.

Rozważania te wzięto pod uwagę, konstruując strategię użycia substancji w celu hamowania kaskady dopełniacza na różnych etapach aktywacji. Substancjami tymi są: rozpuszczalne receptory C / przeciwciała monoklonalne / dożylnie immunoglobuliny i/lub peptydy blokujące. Najbardziej naturalnym lekiem pozostaje C1-inhibitor (C1-inh), którego brak w przypadkach obrzęku naczynioruchowego jest przyczyną bardzo gwałtownych objawów klinicznych. Terapia ostrych objawów niedoboru C1-inh całkowicie zdała egzamin i zmniejszyła co najmniej 8-krotnie śmiertelność w tej chorobie. Początkowo używany preparat pochodzący z osocza zdrowych dawców został zastąpiony preparatem rekombinantowym C1-inh, preparatem z mleka króliczek transgenicznych, lub antagonistą receptora bradykininy (firmy Baxter, Behring - Jerini, Dyax, Pharming). W obrzęku naczynioruchowym, oprócz naturalnego inhibitora, do leczenia stanów przewlekłych stosowane są leki anaboliczne, np. danazol (powoduje wzrost syntezy C1-inh przez pozostały 1 allel genu u dotkniętej osoby) i leki anty-fibrynolityczne, np. kwas traneksamowy (hamuje zużycie C1-inh). Jednak, co

Tabela I. Choroby i zespoły patologiczne związane z nadmierną aktywacją dopełniacza
Table I. Diseases and pathologic disorders connected with complement overactivation

- | |
|---|
| 1) Choroba Alzheimera |
| 2) Astma i ARDS |
| 3) Niedokrwienie i niedotlenienie ważnych narządów: |
| 4) Zawał serca i zator mózgu |
| 5) Rana oparzeniowa |
| 6) Choroba Crohna |
| 7) Doświadczalne alergiczne zapalenie mózgu i opon; zapalenie nerwów |
| 8) Szok Forssmana i posocznica septyczna |
| 9) Kłębkowe zapalenie nerek i schyłkowa niewydolność nerek, z hemodializą |
| 10) Anemia hemolityczna |
| 11) Zapalenie naczyń indukowane kompleksami |
| 12) Stwardnienie rozsiane |
| 13) Odczyn zapalny po ‘bypassie’ sercowo-płucnym |
| 14) Reumatoidalne zapalenie stawów i toczeń rumieniowaty trzewny |
| 15) Zespół wynaczynienia |
| 16) Reakcja odrzucania przeszczepu |

b. istotne, C1-inhibitor okazał się ponadto obiecującym lekiem w posocznicy, zespole wynaczynienia, w udarze mózgu oraz w zawale serca (11).

Obecnie dostępne i przetestowane *in vivo* inne inhibitory dopełniacza hamują głównie efektorową fazę wspólną dla wszystkich 3 dróg aktywacji ('post-C3'). Wiele inhibitorów obejmuje produkty trawienia C3, jego fragmenty; ale także składnik C5 i jego pochodną, C5a. Należy do nich także grupa rozpuszczalnych białek: CD35, CD46, CD55 i CD59, będących w stanie natywnym receptorami komórkowymi (12). Jak już wspomniano, obecność inhibitorów na powierzchni komórek gospodarza chroni je przed atakiem własnego dopełniacza. Białko CD59, szeroko rozpowszechnione w błonach komórkowych, hamujące polimeryzację i wnikanie składników C9 do wnętrza błony, zostało nazwane 'protektyną' (12). Kompstatyna, peptyd 13-aa, jest inhibitorem aktywacji układu dopełniacza. Wiąże się ona do natywnego C3 i hamuje jego trawienie przez konwertazę C3. Kompstatyna została pomyślnie przetestowana w modelach krążenia pozaustrojowego; hamowała powstanie fragmentów C3a oraz sC5b-9, oraz aktywację leukocytów wielojądrazystych (13).

Zarówno w sposobie hamowania obejmującym fazę efektorową, jak i na późniejszych etapach, wykorzystywane są rozpuszczalne białka z komórek oraz z surowicy. Należy także dodać, że większość nowych strategii terapeutycznych obejmuje swoiste hamowanie drogi klasycznej; duża grupa projektów dotyczy hamowania drogi lektynowej, a tylko pojedyncze – drogi alternatywnej (np. czynnik D). Zestawienie już używanych, lub potencjalnych inhibitorów aktywacji dopełniacza podaje tabela II.

Tabela II. Zestawienie używanych lub testowanych do celów klinicznych inhibitorów dopełniacza
Table II. Summary of already used C inhibitors or substances tested for clinical use

Białko docelowe	Inhibitor
C1 (r,s)	C1-inhibitor*
C3b, C4b; C3bBb	>rCD35, rCD55, rCD46 rCD46-CD55, rCD55-CD59 rCD59
C3, C3a	Anty-C3, anty-C3a; kompstatyna
C5, C5a	Anty-C5, anty-C5a (przeciwciała monoklonalne)
C5aR	Mutanty C5a
Czynnik D	preparaty robocze

Legenda: * inhibitor stosowany w klinice

r = rozpuszczalne

Wg Sahu, Lambris [15]; w modyfikacji

Powstanie różnych grup badawczych, jak COMMA (*Complement inhibition in myocardial infarction treated with angioplasty*) oraz COMPLY (*Complement inhibition in myocardial infarction treated with thrombolytics*) potwierdza zainteresowanie użyciem różnorodnych metod i preparatów leczniczych w celu obniżenia pola zawału serca. Powraca się co pewien czas do utrwalonego już działania C1-inhibitora, który hamując ogólną aktywację dopełniacza, zapobiegał uszkodzeniu kardiomiocytów i wywierał efekt kardioprotekcyjny (14).

Nie wszystkie badania obejmujące hamowanie końcowej części dopełniacza, jako terapii pomocniczej leczenia ostrego zawału serca, przyniosły pozytywne wyniki pod względem

redukcji powierzchni pola zawału. W tym samym studium, użyte przeciwciało (pexezulimab) wpłynęło jednak na znamiennej redukcję śmiertelności pacjentów (15).

UDZIAŁ AKTYWNYCH SKŁADNIKÓW DOPEŁNIACZA W CHOROBYCH NIEDOKRWIENNYCH NA PRZYKŁADZIE UDARU MÓZGU

U większości chorych z udarem mózgu, w krótkim czasie po wystąpieniu zawału mózgu stwierdza się podwyższony poziom białek ostrej fazy, a zwłaszcza białka C-reaktywnego (C-reactive protein, CRP) i fibrynogenu. Wartości prawidłowe CRP wynoszą < 1.5 mg/dL, a fibrynogenu < 400 mg/dL. Już uprzednio stwierdzono, że ludzkie białko C-reaktywne jest klasycznym białkiem ostrej fazy, które wiąże się z ligandami odsłoniętymi w uszkodzonej tkance. Następnie wykazano, iż CRP aktywuje dopełniacz, zwiększając strefę zawału serca, jak i udaru mózgu (16). Nie jest pewne, w jakim stopniu markery procesu zapalnego są przyczyną, a w jakim stopniu - skutkiem udaru mózgu. Badania prospektywne dowodzą, że CRP jest markerem aktywności procesu miażdżycowego i niezależnym czynnikiem ryzyka udaru niedokrwienego mózgu (17). Z drugiej strony zaś, w pierwszych dniach choroby obserwuje się wzrost poziomu CRP częściowo zależny od rozmiaru ogniska zawałowego i korelujący z gorszym rokowaniem przebiegu zawału mózgu. Przemawia to za uaktywnieniem się procesów zapalnych w martwiczych tkankach.

Wyniki kolejnych badań dostarczyły wiele dowodów potwierdzających znaczący udział CRP w rozwoju zmian miażdżycowych w naczyniach domózgowych i wewnątrzczaszkowych (17, 18). CRP może być zarówno markerem niestabilności blaszki miażdżycowej, jak i uczestniczyć w jej destabilizacji. Wobec ścisłego związku pomiędzy aktywnością procesu miażdżycowego i epizodów niedokrwienia mózgu, zupełnie naturalna wydaje się potrzeba stwierdzenia podwyższonego poziomu CRP w najwcześniejszym okresie zawału mózgu. Wyniki badań dowodzą jednak, że poziom CRP wzrasta średnio 3-krotnie w kolejnych trzech pomiarach przeprowadzonych do 2. doby od wystąpienia udaru (19). Przemawia to za dodatkowym, wtórnym uruchomieniem kaskady procesów zapalnych w obrębie ogniska zawałowego. *Napoli* i wsp. (20) oceniali aktywność układu dopełniacza w ostrym okresie udaru mózgu dokonując pomiaru poziomu składnika C3 (białka klasycznej, alternatywnej i lektynowej drogi aktywacji układu dopełniacza) oraz składnika C4 (białka drogi klasycznej i lektynowej). Aktywacja układu dopełniacza może wiązać się w początkowym okresie z obniżeniem poziomu jednego lub obu tych składników w surowicy krwi na skutek szybkiego wyczerpania ich zapasów. W trakcie rozwijającego się procesu zapalnego oba składniki układu dopełniacza działają jak białka ostrej fazy, co przejawia się wzrostem ich poziomu w surowicy krwi. W okresie tym stwierdzono krótkotrwały spadek poziomu obu składników tylko u 15% chorych. Późniejszy, statystycznie istotny wzrost poziomu C3 korelował wyraźnie z wysokim poziomem CRP, a wzrost C4 z podwyższonym poziomem fibrynogenu, ocenianych w pierwszej dobie niedokrwienia mózgu. Aktywacja układu dopełniacza na drodze klasycznej była znacząco istotna zarówno w przypadkach zawałów kardioembolicznych, rozległych zawałów o charakterze zakrzepowo-zatorowym, jak i zawałów zatokowych. Wydaje się, że wiodącą rolę w aktywacji drogi klasycznej dopełniacza pełni CRP, ale nie można również wykluczyć znaczącego udziału odpowiedzi humoralnej prowadzącej do powstania kompleksów immunologicznych i aktywatorów wytworzonych w ognisku zawałowym (20).

Wzrost aktywności układu dopełniacza w ognisku niedokrwiennym mózgu potwierdzają również wyniki badań przeprowadzanych na zwierzętach. W modelach doświadczalnego niedokrwienia mózgu stwierdzono dramatyczny wzrost syntezy C1q w komórkach mikrogleju, czego wyrazem jest także znaczny wzrost aktywności C1q w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz wzrost ekspresji receptorów: C5aR i C3aR (21). Natomiast podanie składnika C9, podwyższając aktywność lityczną dopełniacza podczas niedokrwienia, ma działanie neurotoksyczne i wyraźnie prowadzi do zwiększenia rozmiarów ogniska zawałowego (22).

Wzrost poziomu CRP w ostrym okresie niedokrwienia mózgu i zwiększona w konsekwencji aktywność układu dopełniacza ma niekorzystne znaczenie prognostyczne. Wykazano wyraźną korelację pomiędzy podwyższonym poziomem CRP w 2. dobie choroby, a objętością ogniska zawałowego i niekorzystnym przebiegiem udaru mózgu, ocenianym za pomocą wskaźnika Bartela i zmodyfikowanej skali Rankina. CRP jest również markerem wzrostu ryzyka zgonów (do 1 roku) w przebiegu zawału mózgu, wystąpienia powtórnego udaru mózgu, zawału mięśnia sercowego, jak i innych epizodów sercowo-naczyniowych. Chorych z podwyższonym poziomem CRP można zatem uznać za grupę wysokiego ryzyka chorób układu krążenia. Wspomniani już badacze stwierdzili, iż hamowanie CRP może być nowym sposobem ochrony serca (przy ostrym zawale), jak i chronienia mózgu (przy zagrażającym udarze) (16).

Biorąc pod uwagę, iż stopień nasilenia zmian zapalnych w obrębie mózgu po wystąpieniu udaru niedokrwiennego wpływa na rozległość uszkodzenia, uzasadnione wydaje się postępowanie mające na celu zahamowanie lub zmniejszenie aktywności procesu zapalnego. Dotychczasowy poziom wiedzy na temat czynników indukujących niedokrwienne mechanizmy zapalne upoważnia do rozpoczęcia badań nad praktycznym zastosowaniem inhibitorów układu dopełniacza.

Badaniom poddano już szereg substancji hamujących nadmierną aktywację układu dopełniacza, wykazując eksperymentalnie zmniejszenie pola martwicy niedokrwionej tkanki. Należą do nich rozpuszczalne receptory C, przeciwciała monoklonalne, immunoglobuliny i peptydy blokujące. Równolegle prowadzone są także badania doświadczalne nad skutecznością C1-inhibitora w ograniczeniu pola zawału mięśnia sercowego. Pozytywne wyniki badań osiągnięto na zwierzętach z zastosowaniem C1-inh w doświadczalnym zamknięciu tętnicy środkowej mózgu. *Simoni* i wsp. uzyskali 36% poprawę stanu ogólnego i 54% zmniejszenie deficytu neurologicznego u myszy, którym po 2-godz. niedokrwieniu, w trakcie reperfuzji, podano równocześnie C1-inh (23). Objętość powstałego ogniska niedokrwienego w mózgu tych myszy była średnio trzykrotnie mniejsza w porównaniu z tymi, które otrzymały sól fizjologiczną. W innym badaniu, w którym prowadzono ocenę histopatologiczną mózgu szczurów po 60-min. niedokrwieniu, stwierdzono w ognisku zawałowym znacznie niższą aktywność mieloperoksydazy i mniejszą kumulację leukocytów w przypadku zastosowania C1-inh przed reperfuzją. Obszar niedokrwienia był u tych zwierząt ponad 2-krotnie mniejszy i wykazywał mniejszy stopień uszkodzenia neuronów. Wyniki powyższych badań wskazują na możliwość neuroprotektynnego działania C1-inh podczas niedokrwienno-reperfuzyjnego uszkodzenia mózgu zwierząt. Nie wiadomo jednak, czy efekt ten okaże się równie korzystny w przypadkach zawałów mózgu u ludzi.

Uznana już pozycja statyn w profilaktyce choroby niedokrwiennej mięśnia sercowego leży u podstaw zainteresowania tymi lekami w profilaktyce udarów niedokrwiennych mózgu. W ostatnim okresie dużo uwagi poświęca się różnorodnym mechanizmom działania statyn,

wśród których na szczególną uwagę zasługuje ich efekt przeciwzapalny. W jednej z analiz badania CARE (Cholesterol and Recurrent Events) wykazano, że prawastatyna powoduje obniżenie poziomu CRP, oraz że zmiany dotyczące tego wskaźnika procesu zapalnego nie korelują z działaniem hipolipemizującym leku. Wykazano też, że skuteczność prawastatyny w tym studium była większa u osób z podwyższonym stężeniem CRP, a zatem przeciwzapalne działanie leku może mieć znaczenie kliniczne (24). Wyniki te potwierdzono także w kolejnych analizach z zastosowaniem statyn. Za przeciwzapalnym mechanizmem ich działania przemawia również zmniejszenie ekspresji cytokin prozapalnych i obniżenie poziomu C3 układu dopełniacza podczas leczenia simwastatyną (25). Powyższe wyniki badań oraz spostrzeżenia dotyczące lepszego rokowania u tych chorych, którzy w trakcie wystąpienia zawału mózgu byli leczeni statynami, mogą stanowić podstawę nowych, perspektywicznych możliwości terapeutycznych.

K Madaliński, M Cedzyński, A Świerzko, A Szczepańska-Szerej

COMPLEMENT SYSTEM – AN EFFECTOR OF INFLAMMATORY REACTIONS.
POSSIBILITIES OF COMPLEMENT REGULATION IN ISCHAEMIC DISEASES

SUMMARY

Activation of the complement system (C) is an important aspect of the immune reaction, and therefore also of inflammatory response. This review summarizes the known pathways for C activation, including the relatively recently described lectin pathway. We must remember that the complement, like the immune response itself, is a two-edge sword. One side is beneficial to the host, aiming to eliminate pathogens, either free or attached to cells. On the other side, overactivation of C may lead to the destruction of tissues, which is obviously harmful. Thus activation of C must be regulated at each stage of the cascade (early, intermittent, and final), and to this end, act specific inhibitors, which often exist as cellular receptors.

A list of diseases in which the complement is over-activated was presented, together with a summary of the currently tested or *in-use* cascade inhibitors. The most dangerous conditions include ischaemias - heart infarct and brain ischaemia. The crucial point in inhibiting C is the possibility of reducing the area of infarct or ischaemia by fast and effective intervention, aiming to disrupt the cascade chain. It is known that excessive killing by C activation is amplified in ischemic tissue; but that the inhibitors may offer protection. One should be aware that many of these exciting studies are being carried out on animals. However, existing knowledge on the efficacy of C inhibitors should be considered jointly with the current use of *statins* in human therapy, which, among their pleiotropic actions, also lower the level of C activation

PIŚMIENNICTWO

1. Zeman K. (red.) Zaburzenia odporności u dzieci. Seria: Biblioteka pediatrii. Warszawa: Wyd. Lek. PZWL; 2002; 13-15 i 60-66.
2. Cedzyński M, Świerzko AS.: Mannose-binding lectin – a molecule important in innate immunity. *Centr Eur J Immunol* 2000; 25: 1-5.
3. Valdimarsson H, Vikingsdottir T, Bang P, Saevarsdottir S, Gudjonsson JE, Oskarsson O, Christiansen M, Blou L, Laursen I, Koch C. Human plasma-derived mannose-binding lectin: a phase I safety and pharmacokinetic study. *Scand J Immunol* 2004; 59: 97-102.

4. Christiansen OB, Kilpatrick DC, Souter V, Varrming K, Thiel S, Jensenius JC. Mannan-binding lectin deficiency is associated with unexplained recurrent miscarriage. *Scand J Immunol* 1999; 49: 193-196
5. Summerfield JA: Clinical potential of mannose-binding lectin-replacement therapy. *Biochem Soc Trans* 2003; 31: 770-773.
6. Tran CT, Kjeldsen K, Hauso S, Hoiby N, Johansen HK, Christiansen M. Mannan-binding lectin is a determinant of survival in infective endocarditis. *Clin Exp Immunol* 2007; 148: 101-105.
7. Madaliński K, Cedzyński M, Świerżko A. The lectin pathway of complement activation. The role of complement in pathological processes and possible strategies of its activity modulation in therapy of some diseases. *Centr Eur J Immunol* 2003; 28: 67-73.
8. Madaliński K. Dziedziczny obrzęk naczynioruchowy. *Lekarz Rodzinny* 2001; 9: 26-29.
9. Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med* 2001; 344: 1140-44.
10. Carrier M, Ménasché P, Levy JH, i in.: Inhibition of complement activation by pexelizumab reduces death in patients undergoing combined aortic valve replacement and coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 131: 352-56.
11. Sahu A, Lambris JD. Complement inhibitors: a resurgent concept in anti-inflammatory therapeutics. *Immunopharmacology* 2000; 49:133-48.
12. Wojnicz D, Jankowski S. Białko CD59 – charakterystyka i jego rola w ochronie komórek przed działaniem dopełniacza. *Post Mikrobiol* 2000; 39: 37-53.
13. Soulika AM, Holland MC, Sfyroera G, Sahu A, Lambris JD. Compstatin inhibits complement activation by binding to the beta-chain of complement factor 3. *Mol Immunol* 2006; 43: 2023-29.
14. Fu J, Lin G, Zeng B, Wu Z i in. Anti-ischemia/ reperfusion of C1 inhibitor in myocardial cell injury via regulation of local myocardial C3 activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 350: 162-168.
15. Granger CB, Mahaffey KW, Weaver WD, Theroux P, Hochman JS, Filoon TG, Rollins S, Todaro TG, Nicolay JC, Ruzyllo W. i wsp.: Pexelizumab, an anti-C5 complement antibody, as adjunctive therapy to primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction: the COMplement inhibition im Myocardial infarction treated with Angioplasty (COMMA) trial. *Circulation* 2003; 108: 1184-1190.
16. Pepys MB, Hirschfield GM, Tennent GA, Gallimore JR i in. Targeting C-reactive protein for the treatment of cardiovascular disease. *Nature* 2006; 440: 1217-1221.
17. Hashimoto H, Kitagawa K, Hougaku H i in. C-reactive protein is an independent predictor of the rate of increase in early carotid atherosclerosis. *Circulation* 2001; 104: 63-67.
18. Arenillas J, Alvarez-Sabin J, Molina C i in. C-reactive protein predicts further ischemic events in first-ever transient ischemic attack or stroke patients with intracranial large-artery occlusive disease. *Stroke* 2003; 34: 2463-68.
19. Winbeck K, Poppert H, Etgen T i in. Prognostic relevance of early serial C-reactive protein measurements after first ischemic stroke. *Stroke* 2002; 33: 2459-64.
20. Napoli M, Papa F, Bocolla V. C-reactive protein in ischemic stroke. An independent factor. *Stroke* 2001; 32: 919-27.
21. Barnum S, Ames R, Maycox P i in. Expression of the complement C3a and C5a receptors after permanent focal ischemia: An alternative interpretation. *Glia* 2002; 38: 169-73.
22. Imm M, Feldhoff P, Feldhoff R i in. The administration of complement component C9 augments post-ischemic cerebral infarction volume in neonatal rats. *Neurosci Lett* 2002; 325: 175-8.
23. Simoni M, Storini C, Barba M iin. Neuroprotection by complement (C1) inhibitor in mouse transient brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23: 232-9.
24. Ridker P, Rifai N, Pfeffer M. Long term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 1999; 100: 230-5.

25. Halkes C, Dijk H, Jaegere P i in. Postprandial increase of complement component 3 in normolipidemic patients with coronary artery disease. Effects of expanded-dose simvastatin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1526-30.

Podziękowanie

Autorzy serdecznie dziękują Pani Dorocie Białęckiej za znakomitą pomoc przy opracowaniu manuskryptu.

Praca ta została wykonana jako część badań prowadzonych w ramach grantu PB373/P05/23 Komitetu Badań Naukowych.

Otrzymano: 12.09.2007 r.

Adres autorów:

Prof. dr hab. med. Kazimierz Madaliński
Zakład Wirusologii PZH
ul. Chocimska 24
00-791 Warszawa
E-mail: kmadalinski@pzh.gov.pl