

Protein koji vezuje manozu – činilac urođenog imunskog odgovora

Alisa Gruden-Movsesijan

Institut za primenu nuklearne energije – INEP, Beograd

Ključne reči: manozu; lektini; proteini, vezivanje; geni, regulacija ekspresije, bakterijska; komplement, aktivacija; imunološki faktori.

Key words: mannose; lectins; protein binding; gene expression regulation, bacterial; complement activation; immunologic factors.

Uvod

Animalni lektini su proteini koji specifično prepoznaju i vezuju ugljene hidrate endogenog porekla ili one prisutne na površini mikroorganizama. Ovako široka definicija pred-

Kategorizacija do danas poznatih animalnih lektina (kojih je svakim danom sve više) bazira se na strukturnom motivu karakterističnom za lektinski domen. Savremena klasifikacija podrazumeva njihovu podelu u pet familija proteina (tabela 1) (2).

Tabela 1

Klasifikacija animalnih lektina

Familija	Strukturni motiv	Ugljenohidratna specifičnost
S-tipa	konzervisan CRD*	različita (manozu, galaktozu, fukoza...)
I-tipa	imunoglobulinu sličan CRD	različita (Man6GlcNAc2, hijaluronska kis., sialolaktoza)
Galektini (C-tipa)	konzervisan CRD	galaktozidi
Pentraksini	pentamerna organizacija subedinica	sulfatizovani i fosforilisani monosaharidi
P-tipa	slični, ali još nedovoljno definisani CRD	glikoproteini sa manozu-6-fosfatom

* Domen za prepoznavanje ugljenih hidrata (Carbohydrate recognition domain)

ložena je zbog toga što lektine čini skup raznorodnih molekula, čiji se domen za prepoznavanje ugljenih hidrata (*carbohydrate recognition domain - CRD*), tj. lektinski domen, kombinuje sa raznorodnim domenima, koji uslovljavaju njihovu biološku funkciju. Polidomenska organizacija ovih molekula obezbeđuje njihovu multifunkcionalnost. Naime, lektini učestvuju u različitim procesima u organizmu – od međucelijskog prenosa glikokonjugata do interakcija između ćelija, pa do fagocitoze. Specifična reakcija lektin-ligand može se smatrati svojevrsnim dekodeom šifre koja je zapisana u selektovanim ugljenohidratnim ostacima (1).

Lektini S-tipa su kalcijum-zavisni animalni lektini koji su nađeni u serumu, ekstracelularnom matriksu i na membranama. Ovi proteini u okviru lektinskog domena poseduju zajednički strukturni motiv od 14 invarijantnih i 18 visoko konzerviranih aminokiselina (1). Kalcijum nije samo neophodan za vezivanje ugljenih hidrata (3) već učestvuje i u održavanju konformacije lektinskog domena, koja je ključna za njegovu aktivnost (4). Familija lektina tipa S je podeljena na nekoliko podgrupa, svrstanih u dva glavna tipa: solubilni i transmembranski lektini S-tipa (5).

Jedna podgrupa solubilnih lektina S-tipa nazvana je kolektini zbog prisustva regiona sličnog kolagenu kombinovanog sa lektinskim domenom u okviru jednog molekula (6). Kolektini su multimerni molekuli izgrađeni od 3 do 6 subjedinica organizovanih u obliku buketa ili krsta. Obuhvataju serumske proteine kao što su protein koji vezuje manozu (7), konglutinin (8) i CL-43 (9), kao i dva plućna surfaktantna proteina (SP-A i SP-D) (10,11). Specifično prepoznaju i vezuju oligosaharidne strukture sa terminalno postavljenom manozom, fukozom, N-acetilglukozaminom i glukozom. Kolektini zauzimaju značajno mesto u urođenom imunskom odgovoru na infekciju različitim patogenima (12).

Protein koji vezuje manozu

Protein koji vezuje manozu (*mannose-binding protein* – MBP) izolovan je iz jetre i seruma različitih vrsta kičmenjaka. Kod čoveka je opisana samo jedna forma MBP, dok su dve forme (MBP-A i MBP-S) pronađene kod zečeva, pacova, miševa i rezus majmuna (13). Ranije se smatralo da je MBP-A serumski oblik, a MBP-S forma prisutna u jetri (14), ali je u novije vreme pokazano da se obe forme mogu naći u serumu (15). Ispitivanja ekspresije gena za MBP pokazala su da je ona ograničena isključivo na hepatocite (16). Inflamatorni stimulus dovodi do povećanja nivoa iRNK za MBP i do povećane sinteze ovog proteina (17).

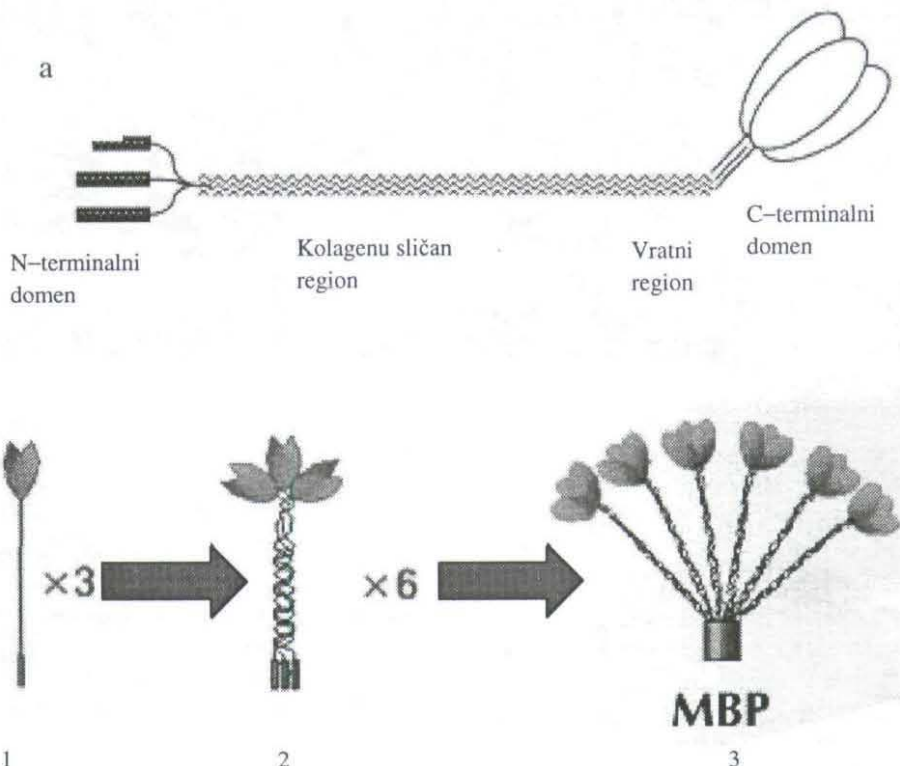
MBP je multimer izgrađen od 2 do 6 subjedinica, od kojih svaka sadrži po tri identična polipeptidna lanca molekulske mase 27-32 kDa. Strukturno, polipeptidni lanac čine četiri domena: N-terminalni domen, region sličan kolagenu, vratni region i C-terminalni domen (slika 1a) (7).

N-terminalni nekolageni segment MBP bogat je cisteinskim ostacima koji su odgovorni za stvaranje međulančanih disulfidnih veza, koje stabilizuju multimernu formu molekula. Region sličan kolagenu karakterišu ponovci sekvence Gly-X-Y (humani MBP poseduje 19 ponovaka ove sekvence, pri čemu X i Y mogu biti bilo koja aminokiselina, ali su najčešće prolin ili hidroksiprolin). Tri polipeptidna lanca se u ovom domenu povezuju u kolagenu trostruku helikoidnu strukturu, formirajući na taj način trimernu strukturnu subjedinicu. Ove subjedinice se dalje, zahvaljujući stvaranju međulančanih disulfidnih veza, mogu povezivati u dimere, trimere i oligomere sa 4, 5 ili 6 subjedinica (slika 1b). Kolageni region MBP značajan je po tome što sadrži mesta vezivanja serinskih proteaza koje učestvuju u aktiviranju komplementa (18), kao i mesta koja su značajna za interakciju sa kolektinskim receptorima na fagocitima (19).

U vratnom regionu polipeptidni lanci su u obliku α -heliksa.

Oni se obavijaju jedni oko drugih formirajući trostruki uvijeni α -heliks – uvijeni kalem (eng: coiled coil). Vratni region obezbeđuje relativnu slobodu kretanja lektinskog domena, što povećava aviditet ovog domena za ligande (20).

Lektinski domen se nalazi na S-terminalnom kraju molekula. U okviru jedne subjedinice nalazi se grupa od 3 lektinska domena, što obezbeđuje trovalentnu, pa samim tim i jaču interakciju između lektina i komponenata koje poseduju ugljenohidratne ostatke. Aktivnost ovog domena zavisi od prisustva kalcijum (Ca^{++}) jona, što i svrstava ovaj lektin u familiju lektina S-tipa. Rezultati ispitivanja različitih mutanata potvrdili su značaj konzerviranih ostataka lektinskog



Sl. 1 – Struktura MBP: a) građa strukturne subjedinice; b) 1. polipeptidni lanac; 2. strukturna subjedinica izgrađena od tri polipeptidna lanca; 3. multimerni protein

domena. Izmene u oblasti visokokonzerviranih hidrofobnih aminokiselina dovode do drastičnog smanjenja aktivnosti datih mutanata, dok je kod skoro svih potpuno inaktivnih mutanata došlo do izmene aminokiselina koje su značajne za vezivanje kalcijumovih jona. Kristalografska analiza pokazala je da MBP poseduje dva mesta za vezivanje kalcijuma. Ključni događaj u interakciji lektina i šećera je direktno vezivanje kalcijuma koji se nalazi na mestu 2 za 3- i 4- OH grupe terminalnog šećera (3).

Gen za MBP

Kodirajući region ovog proteina čine četiri egzona, od kojih svaki kodira funkcionalne domene molekula. Gen za humani MBP lokalizovan je na hromozomu 10 (21). Kod čoveka prvi egzon kodira signalnu sekvencu sekretornog proteina, N-terminalni, cisteinom bogat region i 7 kopija kolagenog motiva Gly-X-Y. Mutacije u okviru ovog egzona na kodonima 52, 54 i 57 dovode do poremećaja u stvaranju funkcionalnih multimeri (22). Drugi egzon kodira preostale Gly-X-Y kolagene ponovke; kod čoveka ih ima još 12. Egzon 3 kodira kratki vratni region. Smatra se da se u okviru ovog domena nalazi sekvenca koja bi mogla biti odgovorna za interakciju sa drugim ćelijama (21). Lektinski domen je kodiran od strane četvrtog egzona.

Regulacija sinteze MBP pod uticajem je različitih faktora.

Utvrdeno je da je ekspresija iRNK za MBP povećana pod dejstvom interleukina 6 (IL-6), deksametazona i toplotnog šoka, a da je smanjena dejstvom IL-1. U petostepenom bočnom regionu gena za MBP nalazi se nekoliko regulatornih konsenzus sekvenci: region sličan promotorskoj konsenzus sekvenci toplotnog šoka kod *Drosophila*; tri sekvence homologe konsenzus sekvencama elemenata koji odgovaraju na stimulaciju glukokortikoidima, kao i sekvenca homologa elementu koji odgovara na dejstvo citokina, a koja se nalazi uzvodno od gena za amiloidni A protein (23). Prisustvo sekvenci koje su homologe sekvencama u promotorskom regionu gena za proteine akutne faze, kao i regulacija citokinima navodi na zaključak da bi MBP mogao da bude reaktant akutne faze.

Kod bolesnika koji su bili podvrgnuti hirurškim intervencijama, kao i bolesnika u toku i posle napada malarije, utvrđeno je povećanje koncentracije MBP u serumu 2 do 4 puta (24). Takođe je pokazano da dolazi do povećanja sinteze iRNK za MBP kod ljudi koji su preživeli težak fizički stres (npr. kao posledica teškog sudara) (16).

Inflamacijski stimulusi dovode do povišene sinteze iRNK za MBP i do povećane sekrecije MBP u cirkulaciji. Intraperitonealno ubrizgavanje pokretača akutne faze odgovora (kazeina i LPS) miševima dovelo je do blagog porasta MBP-A u serumu (25). Taj porast se javlja nešto kasnije nego što je slučaj kod serumskog amiloidnog A proteina (SAA). Preliminarna ispitivanja nivoa MBP kod pacova eksperimentalno inficiranih parazitskom nematodom *Trichinella spiralis* (*T. spiralis*) pokazala su da se koncentracija

MBP u cirkulaciji povećava dva puta u odnosu na nivo MBP pre infekcije (26).

Ugljenohidratna specifičnost MBP

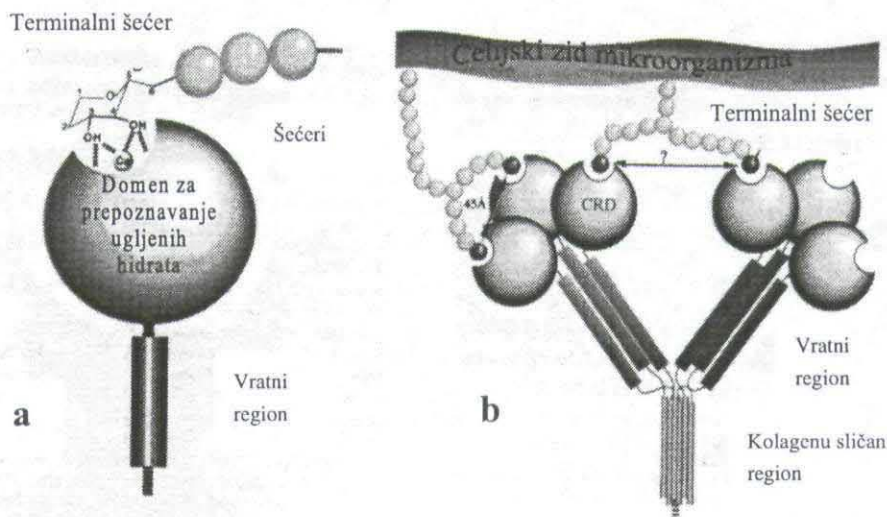
MBP putem lektinskog domena selektivno prepoznaje određenu ugljenohidratnu strukturu, tj. motiv koji je prisutan kod različitih mikroorganizama, kao što su bakterije, virusi, gljivice i paraziti (27). Iako prepoznaje široku lepezu ligandata, MBP se ne vezuje za šećere prisutne na „sopstvenim“ glikoproteinima. Objašnjenje za ovu selektivnost leži u činjenici da je za vezivanje MBP neophodna ekvatorijalna orijentacija 3- i 4-OH grupe terminalnog šećera (slika 2a) (3). Ovakva konfiguracija je zastupljena kod heksoza kao što su N-acetilglukozamin, fukoza i manoza. Zajednička karakteristika različitih mikroorganizama je kombinacija ovih šećera u oligosaharidima koji se nalaze na njihovoj površini. Sijalinska kiselina i galaktoza, koji su češće zastupljeni šećeri na glikoproteinima sisara, nemaju ovakvu konfiguraciju OH grupa i ne mogu biti ligandi za MBP (28).

Međutim, oligomerna struktura MBP je glavni faktor diskriminacije sopstvenog od stranog (slika 2b). Kao i kod ostalih lektina, interakcija MBP sa monovalentnim ligandom veoma je slaba. Lektini postižu čvrsto, specifično vezivanje za površinu ćelije putem multivalentnih interakcija (29). Znači da bi umnožavanje vezujućih mesta stvaranjem oligomernih struktura značajno povećalo afinitet lektina za multivalentne ligande. Kristalografskom analizom utvrđeno je da razmak između ligandata mora biti 45° Å da bi se postiglo vezivanje sa visokim afinitetom. Strukture sa visokim sadržajem manoze koje se ponavljaju, a koje bi mogle da premoste ovaj razmak i da povežu vezujuća mesta MBP, prisutne su na površini različitih patogena. Ovakav strukturni motiv nije prisutan kod glikoproteina viših eukariota (28).

Interakcija MBP sa mikroorganizmima

Uloga koju MBP ima u prvoj liniji odbrane organizma zasniva se na njegovoj direktnoj interakciji sa oligosaharidima na površini patogena, koja potom dovodi do pokretanja različitih efektorskih mehanizama. Vezani MBP može da aktivira fagocite i pospeši fagocitozu, kao i da aktivira komplement, što rezultira vezivanjem C3b, opsonizaciji i započinjanju litičke aktivnosti sistema komplementa (30).

Strukture sa visokim sadržajem manoze prisutne su na površini raznorodnih mikroorganizama, bakterija, virusa, gljivica i parazita. Pokazano je da se MBP vezuje za sojeve *Escherichia coli* (K-12 i B) i izaziva aktiviranje komplementa (31). MBP takođe može da se veže za površinu bakterije *Salmonella montevideo*, pri čemu može da pospeši fagocitozu opsonizovane bakterije od strane neutrofila ili da aktivira komplement i dovede do lize bakterijske ćelije (32). Ispitivanja različitih gramnegativnih i grampozitivnih bakterija utvrdila su da MBP može da se veže za *Listeria monocytogenes*, *Haemophilus influenzae* (33), *Neisseria*



Sl. 2 – a) Lektinski domen prepoznaje ekvatorijalno postavljene C3- i C4-OH grupe. b) MBP oligomer prepoznaje strukturni motiv koji se ponavlja prisutan na površini patogena

meningitidis (34), *Klebsiella aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus beta-haemolyticus* tipa A (35).

MBP stupa u interakciju sa glikoproteinima omotača nekoliko vrsta virusa, kao što su virus influence (36), virus humane imunodeficiencije (HIV-1) (37) i herpes simpleks virus (38). Protein omotača HIV-1, gp 120, veoma je glikozilovan i ekspirira, kako visokomanozne, tako i kompleksne oligosaharide. Infekcija CD4-pozitivnih ćelija zavisi od prisustva ovih ugljenohidratnih struktura. Ispitivanja su pokazala da MBP vezuje rekombinantni gp 120, kao i ćelije koje su inficirane HIV-1, i to na specifičan i kalcijum zavisian način. Preinkubacija HIV-1 sa MBP inhibira infekciju CD4+ H9 limfocita ovim virusom *in vitro* (39). Vezujući se za HIV-1 i HIV-2, MBP može da aktivira komplement (40).

MBP se vezuje za nekapsuliranu formu patogene gljivice *Cryptococcus neoformans* (41), kao i za *Candida albicans* (42). Istraživanje interakcije MBP sa parazitima dovela su do saznanja da MBP može da se veže za površinu parazitskih protozoa *Leishmania major*, *L. Mexicana* i *Trypanosoma cruzi*. MBP reaguje sa fosfolipidima koji sadrže glikoinozitol, a koji su prisutni na vanćelijskim (promastigote) i unutarćelijskim (amastigote) stadijumima razvika pripadnika roda *Leishmania* (43). Vezivanje MBP za proteofosfoglikane, koje stadijum amastigota *L. mexicana* sekretuje kada se nađe u makrofagama, dovodi do aktivacije komplementa lektinskim putem (44). Površinski antigeni *Trypanosoma cruzi* amastigota predstavljaju ligande za MBP (45). Do sada je u literaturi opisan samo jedan slučaj interakcije MBP sa višćelijskim parazitom, trematomom *Schistosoma mansoni* (46). U *in vitro* uslovima nađeno je da ova interakcija dovodi do aktiviranja komplementa, ali nije pronađen porast koncentracije MBP u cirkulaciji obolelih osoba.

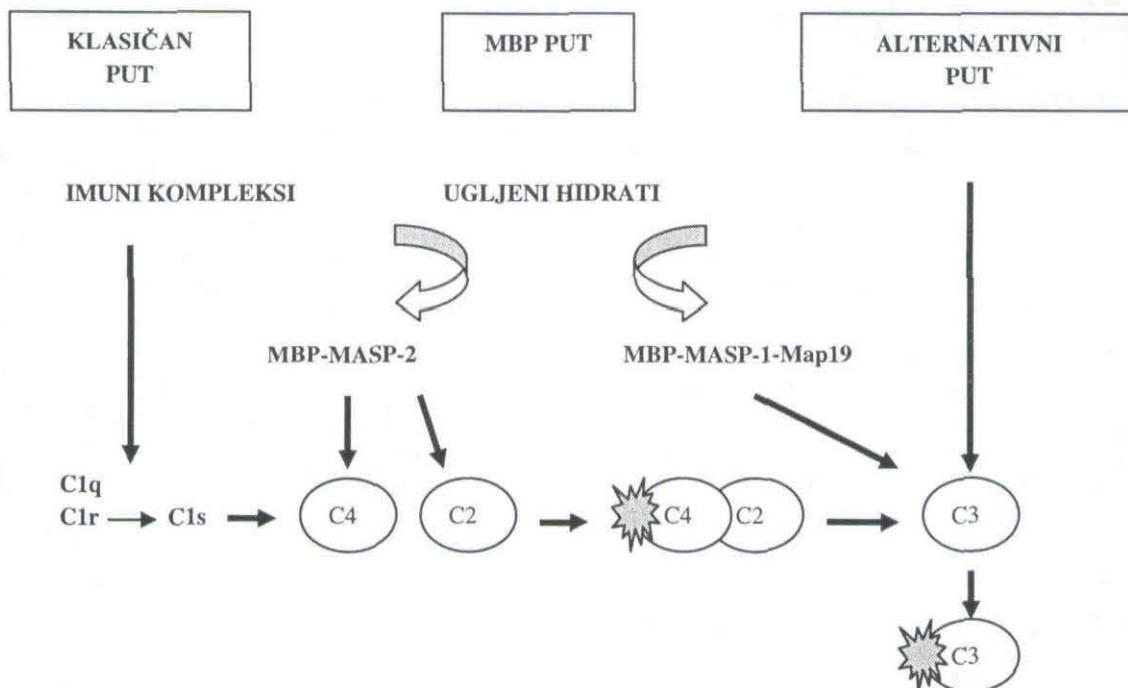
Ispitivanje oligosaharidne građe glikoproteina *T. spiralis* lektinima različite specifičnosti pokazalo je da strukture na površini, kao i ekskretorno/sekretorni produkti parazita

ta poseduju kompleksne oligosaharide sa visokim sadržajem manoze (47). Histochemijskim ispitivanjem i korišćenjem testova na čvrstoj fazi utvrđeno je da se MBP vezuje za somatske i sekretorne komponente parazita (48).

MBP aktivacija sistema komplementa

Heksamerna forma MBP strukturno je veoma slična C1q komponenti komplementa. Strukturna sličnost proširena je na funkcionalnu kada je utvrđeno da MBP može da aktivira komplement i izazove lizu ćelija patogena (30,49). MBP je jedini kolektin koji u asocijaciji sa dve serinske proteaze - MASP-1 (50) i MASP-2 (18) (*mannose-binding protein associated serine protease*), kao i jednim neproteaznim proteinom označenim kao MAP19 (51) može da aktivira sistem komplementa. U novije vreme otkrivena je i treća proteaza, MASP-3, koja se dobija alternativnom obradom gena za MASP-1/3 (52). Analiza sekvence serinskih proteaza pokazala je da je domenska organizacija ovih proteina visoko konzervirana i da je identična domenskoj organizaciji C1r i C1s komponenata komplementa (53). Na osnovu strukturne sličnosti između C1q i MBP, kao i strukturne i genetske sličnosti između MASP 1,2 i C1r/C1s zaključeno je da MBP put aktivacije komplementa podseća na klasičan put aktivacije, s tim što su MASP-1 i MASP-2 odgovorne za aktivaciju C4 i C2 putem MBP.

Najnovija istraživanja pokazala su da MASP-2 u kompleksu sa MBP koji je vezan za manan može da aktivira komplement, iako MASP-1 nije prisutan u kompleksu (54). Prema dosadašnjim podacima šema aktivacije komplementa lektinskim putem izgledala bi na sledeći način (slika 3): MBP u kompleksu sa MASP-2 aktivira komplement na uobičajeni način, preko aktivacije C4 i C2 (18), dok je kompleks MBP-MASP-1 sposoban da direktno aktivira C3 (55). Lektinski put aktivacije komplementa mogao bi biti evolutivno stariji, s obzirom na to da zavisi samo od prisustva



Sl. 3. – Sistem komplementa sa posebnim osvrtom na lektinski (MBP) put. Prema Gadjeva, et al (53).

komplementu sličnih faktora (koji se javljaju već kod beskičmenjaka), a ne i od antitela, koja su se u evoluciji pojavila tek kod kičmenjaka.

Aktivacijom sistema komplementa i stvaranjem produkata aktivacije: C3b, iC3b, C3d, anafilatoksina C3a i C5a MBP snažno utiče na stvaranje i regulaciju inflamatornog odgovora. Pored toga, MBP predstavlja vezu između urođenog i stečenog imunskog odgovora, tako što dovodi do vezivanja C3b za antigene, a utiče i na stvaranje imunološkog pamćenja (56).

Interakcija MBP sa receptorima za C1q

MBP može delovati kao opsonin, pospešujući na taj način eliminaciju patogena od strane fagocita. Kolagenu sličan region reaguje sa receptorima za C1q – cC1qR i C1qRp i može da pokrene više bioloških funkcija kao što su povećana fagocitoza, stvaranje oksido-redukcionih radikala, modulacija sekrecije imunoglobulina, citokina itd. cC1qR, 56 kDa receptor nalazi se na različitim ćelijama uključujući endotelne ćelije, fibroblaste, leukocite, trombocite i specijalizovane epitelne ćelije. Izolovani cC1qR vezuje C1q, MBP, SP-A, konglutinin i CL-43. C1qRp, 126 kDa receptor nalazi se na površini monocita, makrofaga, neutrofila i endotelne ćelije. Povećanje intenziteta fagocitoze posredovane sa FcR i CR1 direktna je posledica interakcije SP-A, MBP i C1q sa C1qRp receptorima (57). Fagocitoza je najprimitivniji oblik odbrane ćelije. Tako je MBP, zahvaljujući efektima koje proizvodi vezujući se direktno za patogene, kandidat za evolutivno rane opsonine. Iako je pokazano da MBP utiče na vezivanje, preuzimanje i ubijanje gramnegativnih bakte-

rija nezavisno od komplementa (58), ipak se smatra da je glavni efekat MBP u opsonizaciji indirektna, tj. preko aktivacije komplementa lektinskim putem. Postoje dva načina kako MBP može da opsonizuje mikroorganizme: (a) kao direktan opsonin, vezujući se za C1q receptore; (b) indirektno, aktivirajući sistem komplementa, čije aktivirane komponente zatim služe kao opsonini.

Uloga MBP u fiziološkim i patološkim stanjima

Pre tridesetak godina opisan je slučaj deteta sa teškim dermatitisom, hroničnom dijarejom i rekurentnim bakterijskim infekcijama, kod koga je primećen defekt u opsonizaciji. Normalni polimorfonuklearni leukociti koji su inkubirani sa serumom ovog pacijenta nisu fagocitovali kvasac (*Sacharomyces cerevisiae*) (59). Primena sveže plazme kod deteta dovela je do poboljšanja opsonizatorske funkcije plazme i do poboljšanja kliničke slike bolesnika. Kasnije je sličan defekt u opsonizaciji otkriven u 11 od 43 slučajeva dece koja su bolovala od čestih neobjašnjivih infekcija. Ovaj defekt u opsonizaciji zastupljen je u ukupnoj populaciji kod 5–7% osoba. Daljim ispitivanjem utvrđeno je da se defekt u opsonizaciji javlja kod dece sa veoma niskim nivoom MBP u cirkulaciji (60). Dodavanje prečišćenog MBP može da koriguje defekt, i to na dozno-zavistan način. Deficijencija MBP primećena je i kod odraslih osoba i jedna je od najčešćih imunodeficijencija kod ljudi.

Pokazalo se da je nizak nivo MBP u serumu u korelaciji sa postojanjem tri tačkaste mutacije u regionu gena koji kodira kolageni segment MBP (61), kao i sa polimorfizmom koji je uočen u promotorskom regionu gena za MBP (62).

Mutacije na kodonu 54 i 57 u okviru prvog egzona dovode do zamene glicina, koja remeti Gly-X-Y kolagene ponovke, što se ogleda u manje efikasnoj polimerizaciji MBP i vodi ka smanjenoj sekreciji ili pojačanoj degradaciji proteina (63). MBP izolovan iz seruma pacijenata koji su bili homozigoti za mutacije na 54. ili 57. kodonu imao je molekulsku masu oko 120-130 kDa, dok se nemutirani MBP sastojao od smeše polimera molekulske mase od 200 do 600 kDa. Međutim, i kod heterozigota ovaj poremećaj u aminokiselinskoj sekvenci takođe dovodi do smanjenog nivoa MBP u serumu i do strukturnih promena u N-terminalnom domenu (64). Mutacija na kodonu 52 takođe dovodi do smanjenja nivoa MBP u serumu, ali se njen uticaj na tercijernu strukturu molekula danas još ne zna. Ispitivanja mutanata utvrdila su da su peti i šesti ponovak kolagene sekvence Gly-X-Y od ključnog značaja za aktivaciju komplementa i da verovatno formiraju vezno mesto za MASP. MASP su homodimeri čiji svaki protomer mora da se veže za odvojene subjedinice MBP oligomera da bi se stvorio stabilan kompleks koji može da aktivira komplement. Poremećaj samo u jednoj MBP subjedinici, koji se javlja kao posledica prisustva polipeptida koji poseduje mutaciju, može da destabilizuje MBP- MASP kompleks. Međutim, smanjena mogućnost aktivacije komplementa ne može se objasniti samo destabilizacijom kompleksa. Verovatno da je i autoaktivacija MASP-2 poremećena kada se ona nalazi u kompleksu sa mutiranim MBP (64).

Dve alelske varijante u promotorskom regionu gena za MBP koje poseduju guanin na poziciji -550 (alel N) i -221 (alel Y) dovode se u vezu sa visokom koncentracijom MBP u serumu, dok su aleli L i X (citozin na poziciji -550 i -221) u korelaciji sa niskom serumskom koncentracijom MBP. Opisana je još i delecija od 6 bp u promotorskom regionu gena za MBP.

MBP, kao činilac prve linije odbrane organizma od različitih patogena, ima najveći značaj tokom prvih 18 meseci života, kada imunološki sistem deteta još nije potpuno razvijen. Postavlja se pitanje – kakva je uloga ovog lektina kod odraslih, koji poseduju imunoglobulin-zavisnu odbranu organizma? Ipak, stvaranje specifičnih antitela, kao odgovor na prodor stranih agensa, ima svoja ograničenja. Naime, to je rezultat brojnih ćelijskih događaja i zahteva određeno vreme koje se meri satima, a ponekad i danima. To može imati ozbiljne posledice u situacijama kada je organizam napadnut mikroorganizmima koji imaju sposobnost deobe, npr. svakih 30 minuta. U ovim situacijama cirkulišući proteinski faktori, između ostalih i MBP, koji pospešuju fagocitozu i eliminaciju patogena, dobijaju na značaju (65). MBP takođe ima veliki značaj kod imunonekompetentnih osoba.

Nizak nivo MBP bi mogao da predstavlja predispoziciju za razvoj bolesti kada je kombinovan sa drugim defektima u imunskom sistemu. Nekoliko grupa naučnika istraživalo je odnos između deficijencije MBP i prijemčivosti na HIV infekciju i razvoj AIDS-a. U Danskoj su vršena ispitivanja na 96 homoseksualnih muškaraca sa HIV infekcijom. Kod njih je ispitivano prisustvo alela za MBP i praćen je nivo

MBP u periodu od 10 godina. Ovi podaci su poređeni sa podacima dobijenim kod 123 zdrave osobe i 36 homoseksualnih muškaraca koji nisu bili HIV pozitivni. Osam procenata HIV inficiranih osoba bilo je homozigotno za mutirane MBP gene, u poređenju sa 0,8% u zdravoj populaciji i 0% u HIV negativnoj homoseksualnoj populaciji. Preživljavanje osoba koje su imale AIDS, a koje su bile homozigotne za jednu od varijanta MBP alela bilo je značajno kraće u odnosu na bolesnike koji su posedovali normalni MBP alel (66).

Grupa naučnika iz Italije ispitala je uticaj polimorfizma u promotorskom regionu gena za MBP na infekciju HIV-1 i na progresiju bolesti kod dece koja su perinatalno bila izložena virusu. Pokazalo se da polimorfizam na poziciji -550 utiče na HIV-1 infekciju i progresiju AIDS-a. Osobe homozigotne za alel N nose povećan rizik za rapidno napredovanje bolesti, dok homozigoti za alel L imaju veću šansu da kasnije razviju bolest (67).

Nedavno je pronađena veza između deficijencije MBP i teške ateroskleroze (66). Sedamdeset šest bolesnika sa veoma teškim oblikom ateroskleroze poređeno je sa 100 zdravih dobrovoljnih davalaca krvi. Utvrđeno je da je 13,2% bolesnika homozigotno za defektni MBP gen u poređenju sa 3% kod kontrolne grupe.

Kod MBP deficijentnih žena nizak nivo MBP može da poveća podložnost intrauterinim infekcijama i da dovede do gubitka ploda (68).

Hronična bolest jetre je najčešća komplikacija cistične fibroze koja može da dovede do pojave ciroze i samim tim umanjuje mogućnost preživljavanja obolelih. Utvrđeno je da postoji značajna zavisnost između pojave ciroze i prisustva mutiranog MBP genotipa, što se može objasniti činjenicom da deficijencija MBP, kao posledica mutacije, olakšava prodor bakterijama i virusima koji dovode do oštećenja jetre (69).

Smatra se da je nedovoljno efikasan imunski odgovor na različite infekcije jedan od uzroka nastanka autoimunskih oboljenja i da deficijencija komponenata komplementa C1q ili C2 često dovodi do razvoja sistemskog eritemskog lupusa ili reumatoidnog artritisa. Moguće je da nizak nivo MBP u cirkulaciji dovodi do stvaranja imunskih kompleksa ili poremećajem u uklanjanju patogena na taj način stimulišući pojavu autoimunskog oboljenja, ali najčešće kada je u kombinaciji sa drugim defektima u imunskom odgovoru organizma (70). Prisustvo različitih alela za MBP kod bolesnika sa sistemskim eritemskim lupusom povećava rizik od pojave bolesti, kao i od komplikacija koje su posledica dodatnih infekcija (71), dok u slučaju reumatoidnog artritisa utiču na rano ispoljavanje bolesti (72).

Kao zaključak može se reći da MBP ima značajnu protektivnu ulogu. On verovatno predstavlja, u evolutivnom smislu, rani mehanizam odbrane organizma. Kod organizma kod kojih je razvijen humoralni i ćelularni imunski sistem MBP može imati značaja u ranoj fazi infekcije, pre stvaranja specifičnog humoralnog i ćelularnog odgovora. Ovaj protein može biti veoma važan u ranom detinjstvu, pre sazrevanja imunskog sistema (73).

L I T E R A T U R A

1. Drickamer K, Taylor M. Biology of animal lectins. *Annu Rev Cell Biol* 1993; 9: 237–64.
2. Gabius HJ. Animal lectins. *Eur J Biochem* 1997; 243(3): 543–76.
3. Weis WI, Drickamer K, Hendrickson WA. Structure of a C-type mannose-binding protein complexed with an oligosaccharide. *Nature* 1992; 360(6400): 127–34.
4. Kimura T, Imai Y, Irimura T. Calcium-dependent conformation of a mouse macrophage calcium-type lectin. Carbohydrate Binding activity is stabilized by an antibody specific for a calcium-dependent epitope. *J Biol Chem* 1995; 270(27): 16056–62.
5. Drickamer K. Evolution of Ca (2+)-dependent animal lectins. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1993; 45: 207–32.
6. Malhotra R, Haurum J, Thiel S, Sim RB. Interaction of C1q receptor with lung surfactant protein A. *Eur J Immunol* 1992; 22(6): 1437–45.
7. Drickamer K, Dordal MS, Reynolds L. Mannose-binding proteins isolated from rat liver contain carbohydrate-recognition domains linked to collagenous tails. Complete primary structures and homology with pulmonary surfactant apoprotein. *J Biol Chem* 1986; 261(15): 6878–87.
8. Lee YM, Leiby KR, Allar J, Paris K, Lerch B, Okarma TB. Primary structure of bovine conglutinin, a member of the C-type animal lectin family. *J Biol Chem* 1991; 266(5): 2715–23.
9. Lim BL, Willis AC, Reid KB, Lu J, Laursen SB, Jensenius JC, et al. Primary structure of bovine collectin-43 (CL-43). Comparison with conglutinin and lung surfactant protein D. *J Biol Chem* 1994; 269(16): 11820–4.
10. Benson B, Hawgood S, Schilling J, Clements J, Damm D, Cordell B, et al. Structure of canine pulmonary surfactant apoprotein: cDNA and complete amino acid sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82(19): 6379–83.
11. Lu J, Willis AC, Reid KB. Purification, characterisation and cDNA cloning of human lung surfactant protein D. *Biochem J* 1992; 284(Pt 3): 795–802.
12. Lu J. Collectins: collectors of microorganisms for the innate immune system. *Bioessays* 1997; 19(6): 509–18.
13. Hansen S, Holmskov U. Structural aspects of collectins and receptors for collectins. *Immunobiology* 1998; 199(2): 165–89.
14. Oka S, Ikeda K, Kawasaki T, Yamashina I. Isolation and characterization of two distinct mannan-binding lectins from rat serum. *Arch Biochem Biophys* 1988; 260(1): 257–66.
15. Hansen S, Thiel S, Willis A, Holmskov U, Jensenius JC. Purification and characterization of two mannan-binding lectins from mouse serum. *J Immunol* 2000; 164(5): 2610–8.
16. Ezekowitz RA, Day LE, Herman GA. A human mannose-binding protein is an acute-phase reactant that shares sequence homology with other vertebrate lectins. *J Exp Med* 1988; 167(3): 1034–46.
17. Sastry K, Zahedi K, Lelias JM, Whitehead AS, Ezekowitz RA. Molecular characterization of the mouse mannose-binding proteins. The mannose-binding protein A but not C is an acute-phase reactant. *J Immunol* 1991; 147(2): 692–7.
18. Thiel S, Vorup-Jensen T, Stover CM, Schwaebler W, Laursen SB, Poulsen K, et al. A second serine protease associated with mannan-binding lectin that activates complement. *Nature* 1997; 386(6624): 506–10.
19. Malhotra R, Laursen SB, Willis AC, Sim RB. Localization of the receptor-binding site in the collectin family of proteins. *Biochem J* 1993; 293(Pt 1): 15–9.
20. Sheriff S, Chang CY, Ezekowitz RA. Human mannose-binding protein carbohydrate recognition domain trimerizes through a triple alpha-helical coiled-coil. *Nat Struct Biol* 1994; 1(11): 789–94.
21. Sastry K, Herman GA, Day L, Deignan E, Bruns G, Morton CC, et al. The human mannose-binding protein gene. Exon structure reveals its evolutionary relationship to a human pulmonary surfactant gene and localization to chromosome 10. *J Exp Med* 1989; 170(4): 1175–89.
22. Sumiya M, Super M, Tabona P, Levinsky RJ, Arai T, Turner MW, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet* 1991; 337(8757): 1569–70.
23. Taylor ME, Brickell PM, Craig RK, Summerfield JA. Structure and evolutionary origin of the gene encoding a human serum mannose-binding protein. *Biochem J* 1989; 262(3): 763–71.
24. Thiel S, Holmskov U, Hviid L, Laursen SB, Jensenius JC. The concentration of the C-type lectin, mannose-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. *Clin Exp Immunol* 1992; 90(1): 31–5.
25. Liu H, Jensen L, Hansen S, Petersen SV, Takahashi K, Ezekowitz AB, et al. Characterization and quantification of mouse mannan-binding lectins (MBL-A and MBL-C) and study of acute phase responses. *Scand J Immunol* 2001; 53(5): 489–97.
26. Gruden-Movsesijan A. Examination and characterization of mammalian mannose-binding protein and an

- investigation of the influence of infection with the parasite *Trichinella Spiralis* on its activity [master's thesis]. Beograd: Faculty of Biology of the Belgrade University; Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu; 1995. (In Serbian).
27. Epstein J, Eichbaum Q, Sheriff S, Ezekowitz RA. The collectins in innate immunity. *Curr Opin Immunol* 1996; 8(1): 29–35.
 28. Weis WI, Taylor ME, Drickamer K. The C-type lectin superfamily in the immune system. *Immunol Rev* 1998; 163: 19–34.
 29. Weis WI, Drickamer K. Structural basis of lectin-carbohydrate recognition. *Annu Rev Biochem* 1996; 65: 441–73.
 30. Ikeda K, Sannoh T, Kawasaki N, Kawasaki T, Yamashina I. Serum lectin with known structure activates complement through the classical pathway. *J Biol Chem* 1987; 262(16): 7451–4.
 31. Kawasaki N, Kawasaki T, Yamashina I. A serum lectin (mannan-binding protein) has complement-dependent bactericidal activity. *J Biochem (Tokyo)* 1989; 106(3): 483–9.
 32. Schweinle JE, Ezekowitz RA, Tenner AJ, Kuhlman M, Joiner KA. Human mannan-binding protein activates alternative complement pathway and enhances serum bactericidal activity on a mannan-rich isolate of *Salmonella*. *J Clin Invest* 1989; 84(6): 1821–9.
 33. van Emmerik LC, Kuijper EJ, Fijen CA, Dankert J, Thiel S. Binding of mannan-binding protein to various bacterial pathogens of meningitis. *Clin Exp Immunol* 1994; 97(3): 411–6.
 34. Jack DL, Dodds AW, Anwar N, Ison CA, Law A, Frosch M, et al. Activation of complement by mannan-binding lectin on isogenic mutants of *Neisseria meningitidis* serogroup B. *J Immunol* 1998; 160(3): 1346–53.
 35. Neth O, Jack DL, Dodds AW, Holzel H, Klein NJ, Turner MW. Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immun* 2000; 68(2): 688–93.
 36. Anders EM, Hartley CA, Reading PC, Ezekowitz RA. Complement-dependent neutralization of influenza virus by a serum mannan-binding lectin. *J Gen Virol* 1994; 75(pt 3): 615–22.
 37. Saifuddin M, Hart ML, Gewurz H, Zhang Y, Spear GT. Interaction of mannan-binding lectin with primary isolates of human immunodeficiency virus type 1. *J Gen Virol* 2000; 81(Pt 4): 949–55.
 38. Fischer PB, Ellermann-Eriksen S, Thiel S, Jensenius JC, Mongensen SC. Mannan-binding protein and bovine conglutinin mediate enhancement of herpes simplex virus type 2 infection in mice. *Scand J Immunol* 1994; 39(5): 439–45.
 39. Ezekowitz RA, Kuhlman M, Groopman JE, Byrn RA. A human serum mannan-binding protein inhibits in vitro infection by the human immunodeficiency virus. *J Exp Med* 1989; 169(1): 185–96.
 40. Haurum JS, Thiel S, Jones IM, Fischer PB, Laursen SB, Jensenius JC. Complement activation upon binding of mannan-binding protein to HIV envelope glycoproteins. *AIDS* 1993; 7(10): 1307–13.
 41. Levitz SM, Tabuni A, Treseler C. Effect of mannan-binding protein on binding of *Cryptococcus neoformans* to human phagocytes. *Infect Immun* 1993; 61(11): 4891–3.
 42. Kitz DJ, Stahl PD, Little JR. The effect of a mannan-binding protein on macrophage interactions with *Candida albicans*. *Cell Mol Biol* 1992; 38(4): 407–12.
 43. Green PJ, Feizi T, Stoll MS, Thiel S, Prescott A, McConville MJ. Recognition of the major cell surface glycoconjugates of *Leishmania* parasites by the human serum mannan-binding protein. *Mol Biochem Parasitol* 1994; 66(2): 319–28.
 44. Peters C, Kawakami M, Kaul M, Ilg T, Overath P, Aebischer T. Secreted proteophosphoglycan of *Leishmania mexicana* amastigotes activates complement by triggering the mannan binding lectin pathway. *Eur J Immunol* 1997; 27(10): 2666–72.
 45. Kahn SJ, Wlekinski M, Ezekowitz RA, Coder D, Aruffo A, Farr A. The major surface glycoprotein of *Trypanosoma cruzi* amastigotes are ligands of the human serum mannan-binding protein. *Infect Immun* 1996; 64(7): 2649–56.
 46. Klabunde J, Berger J, Jensenius JC, Klinkert MQ, Zelck UE, Kremsner PG, et al. *Schistosoma mansoni*: adhesion of mannan-binding lectin to surface glycoproteins of cercariae and adult worms. *Exp Parasitol* 2000; 95(4): 231–9.
 47. Gruden-Movsesijan A, Ilic N, Sofronic-Milosavljevic L. Lectin-blot analyses of *Trichinella spiralis* muscle larvae excretory-secretory components. *Parasitol Res* 2002; 88(11): 1004–7.
 48. Gruden-Movsesijan A, Sofronic-Milosavljevic LJ. Mannose-binding protein (MBP) in *Trichinella spiralis* infection. In: Isao T, Somei K, Moryasu T, editors. IX International Congress of Parasitology; 1998 Aug 24–28; Japan. Bologna, Italy: Monduzzi Editore S. P. A.; 1998. p. 1099–103.
 49. Ohta M, Okada M, Yamashina I, Kawasaki T. The mechanism of carbohydrate-mediated complement activation by the serum mannan-binding protein. *J Biol Chem* 1990; 265(4): 1980–4.
 50. Matsushita M, Fujita T. Activation of the classical complement pathway by mannan-binding protein in association with novel C1s-like serine protease. *J Exp Med* 1992; 176(6): 1497–502.

51. Takahashi M, Endo Y, Fujita T, Matsushita M. A truncated form of mannan-binding lectin-associated serine protease (MASP)-2 expressed by alternative polyadenylation is a component of the lectin complement pathway. *Int immunol* 1999; 11(5): 859–63.
52. Dahl MR, Thiel S, Matsushita M, Fujita T, Willis AC, Christensen T, et al. MASP-3 and its association with distinct complexes of the mannan-binding lectin complement activation pathway. *Immunity* 2001; 15(1): 127–35.
53. Gadjeva M, Thiel S, Jensenius JC. The mannan-binding-lectin pathway of the innate immune response. *Curr Opin Immunol* 2001; 13(1): 74–8.
54. Matsushita M, Thiel S, Jensenius JC, Terai I, Fujita T. Proteolytic activities of two types of mannan-binding lectin-associated serine proteases. *J Immunol* 2000; 165(5): 2637–42.
55. Matsushita M, Fujita T. Cleavage of the third component of complement (C3) by mannan-binding protein-associated serine protease (MASP) with subsequent complement activation. *Immunobiology* 1995; 194(4–5): 443–8.
56. Carroll MC, Prodeus AP. Linkages of innate and adaptive immunity. *Curr Opin Immunol* 1998; 10(1): 36–40.
57. Hansen S, Holmskov U. Structural aspects of collectins and receptors for collectins. *Immunobiology* 1998; 199(2): 165–89.
58. Kuhlman M, Joiner K, Ezekowitz RA. The human mannan-binding protein functions as an opsonin. *J Exp Med* 1989; 169(5): 1733–45.
59. Soothill JF, Harvey BA. Defective opsonisation. A common immunity deficiency. *Arch Dis Child* 1976; 51(2): 91–9.
60. Super M, Thiel S, Lu J, Levinsky RJ, Turner MW. Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect in opsonisation. *Lancet* 1989; 2(8674): 1236–9.
61. Madsen HO, Garred P, Kurtzhals JA, Lamm LU, Ryder LP, Thiel S, et al. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics* 1994; 40(1): 37–44.
62. Madsen HO, Garred P, Thiel S, Kurtzhals JA, Lamm LU, Ryder LP, et al. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol* 1995; 155(6): 3013–20.
63. Super M, Gillies SD, Foley S, Sastry K, Schweinle JE, Silverman VJ, et al. Distinct and overlapping functions of allelic forms of human mannan binding protein. *Nat Genet* 1992; 2(1): 50–5.
64. Wallis R. Dominant effects of mutations in the collagenous domain of mannan-binding protein. *J Immunol* 2002; 168(9): 4553–8.
65. Summerfield JA. The role of mannan-binding protein in host defence. *Biochem Soc Trans* 1993; 21(2): 473–7.
66. Holmskov UL. Collectins and collectin receptors in innate immunity. *APMIS Suppl* 2000; 100: 1–59.
67. Boniotto M, Crovella S, Pirulli D, Scarlatti G, Spano A, Vatta L, et al. Polymorphisms in the MBL2 promoter correlated with risk of HIV-1 vertical transmission and AIDS progression. *Genes Imm* 2000; 1(5): 346–8.
68. Kilpatrick DC, Bevan BH, Liston WA. Association between mannan binding protein deficiency and recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 1995; 10(9): 2501–5.
69. Gabolde M, Hubert D, Guilloud-Bataille M, Lenaerts C, Feingold J, Besmond C. The mannan binding lectin gene influences the severity of chronic liver disease in cystic fibrosis. *J Med Genet* 2001; 38(5): 310–1.
70. Mullighan CG, Marshall SE, Welsh KI. Mannose binding lectin polymorphisms are associated with early age of disease onset and autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Scand J Immunol* 2000; 51(2): 111–22.
71. Garred P, Voss A, Madsen HO, Junker P. Association of mannan-binding lectin gene variation with disease severity and infections in a population-based cohort of systemic lupus erythematosus patients. *Genes Imm* 2001; 2(8): 442–50.
72. Garred P, Madsen HO, Marquart H, Hansen TM, Sorensen SF, Petersen J, et al. Two edged role of mannanose binding lectin in rheumatoid arthritis: a cross sectional study. *J Rheumatol* 2000; 27(1): 26–34.
73. Koch A, Melbye M, Sorensen P, Homoe P, Madsen HO, Molbak K, et al. Acute respiratory tract infections and mannanose-binding lectin insufficiency during early childhood. *JAMA* 2001; 285(10): 1316–21.

Rad je primljen 31. V 2002. god.