

Vrozená imunita

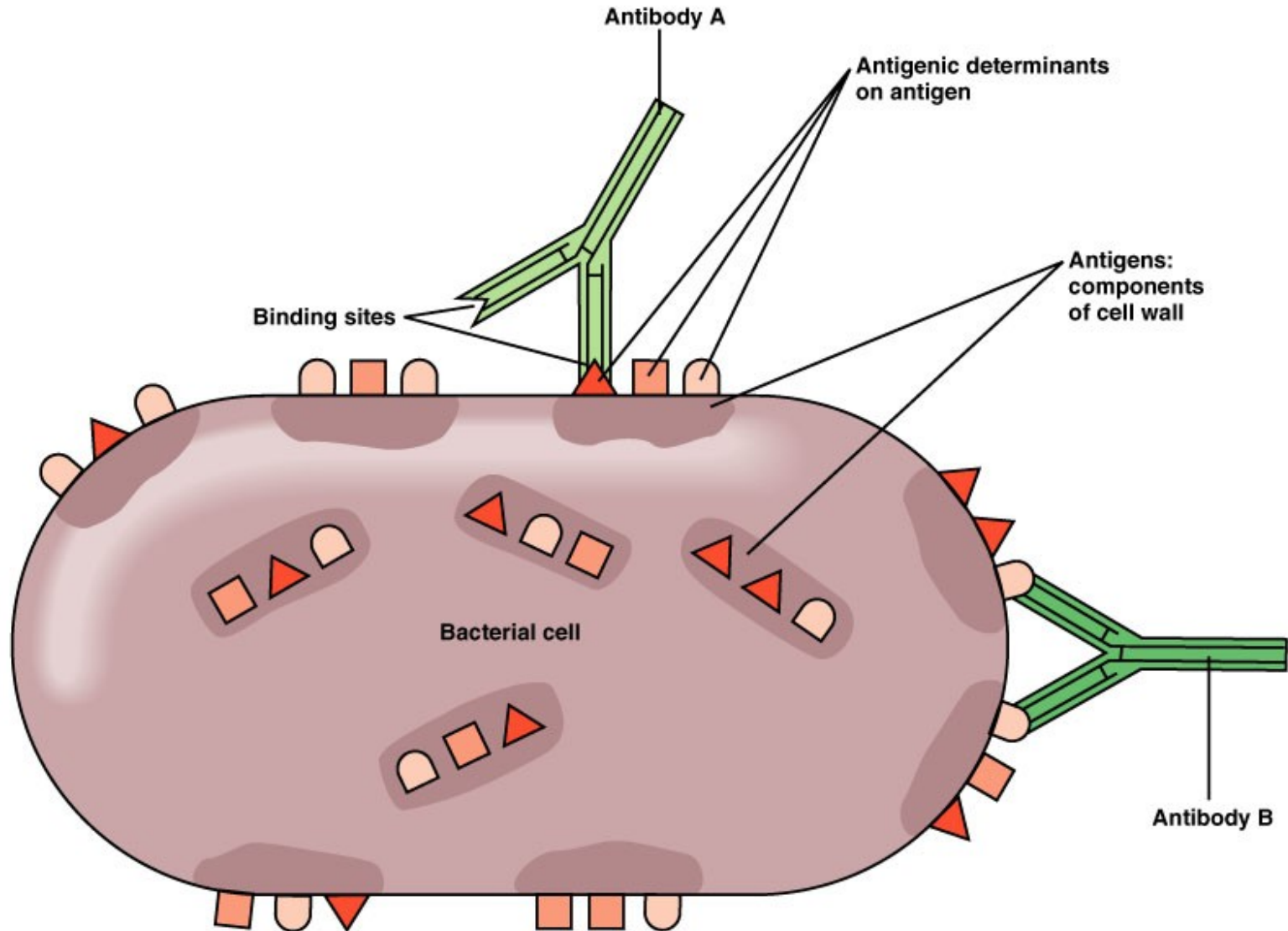
Marcela Vlková

Základní pojmy

Antigen

- Látka, kterou rozezná imunitní systém a která vyvolává imunitní reakci
- Základní složení:
 - nosičská část molekuly
 - Antigenní determinanty – epitopy, tvořené 5-7 aminokyselinami

Vztah antigenu a epitopu



Immunogennost

- Schopnost vyvolat imunitní reakci – musí:
 - Být cizorodé
 - Mít dostatečnou molekulovou hmotnost (> 6 kDa)
 - Mít komplexní strukturu
- Produkty imunitní reakce (protilátky, T-lymfocyty) mají schopnost s Ag specificky reagovat

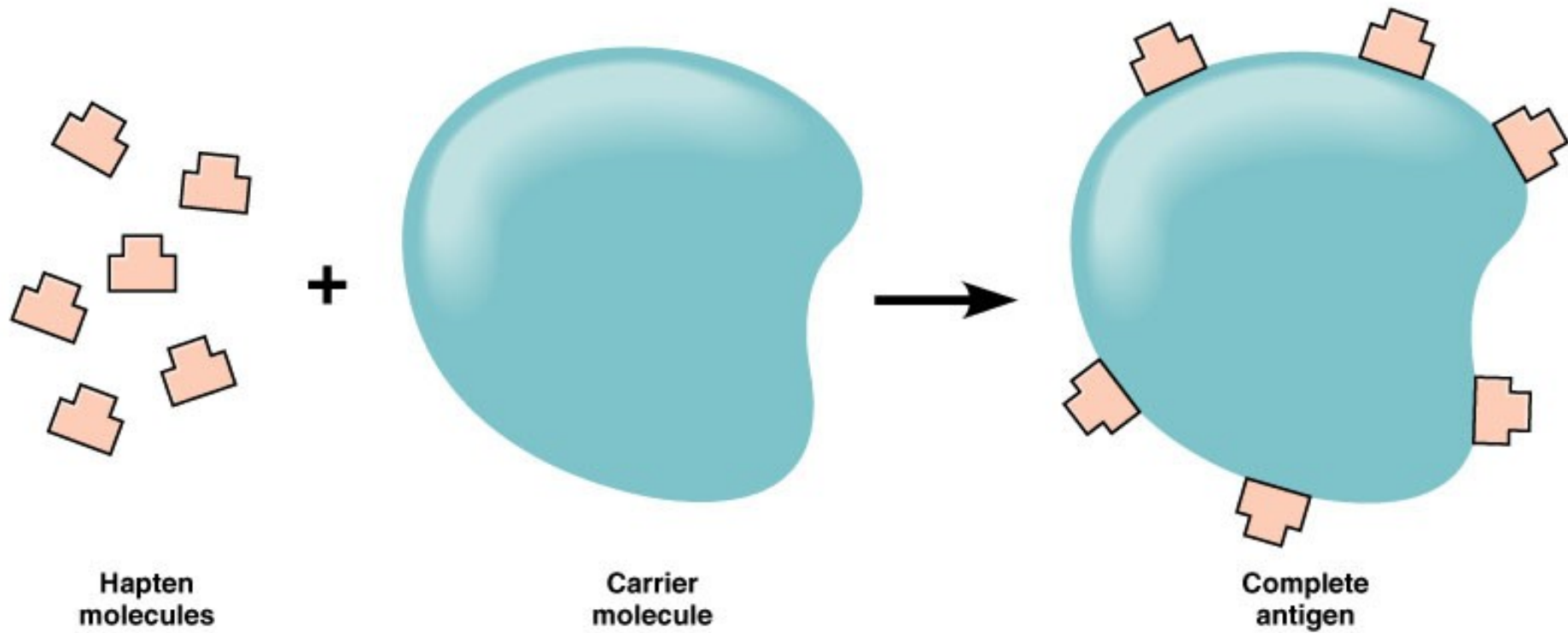
Chemické složení antigenů

- Proteiny – obvykle výborné imunogeny.
- Polysacharidy- jsou dobrými imunogeny zejména jako součást glykoproteinů.
- Nukleové kyseliny- špatná imunogenicita, vázána zejména na komplexy nukleových kyselin a proteinů.
- Tuky – velmi zřídka se uplatňují jako imunogeny. Nejznámější jsou sfingolipidy.

Hapten

- Nízkomolekulární látky které vyvolávají imunitní reakci po vazbě na jiné vysokomolekulární látky.
- Mají schopnost s produkty imunitní reakce reagovat.
- Typickými hapteny jsou některé kovy, vyvolávají IV. (buněčný) typ přecitlivělosti, nebo léky způsobující I. (atopický) typ přecitlivělosti.

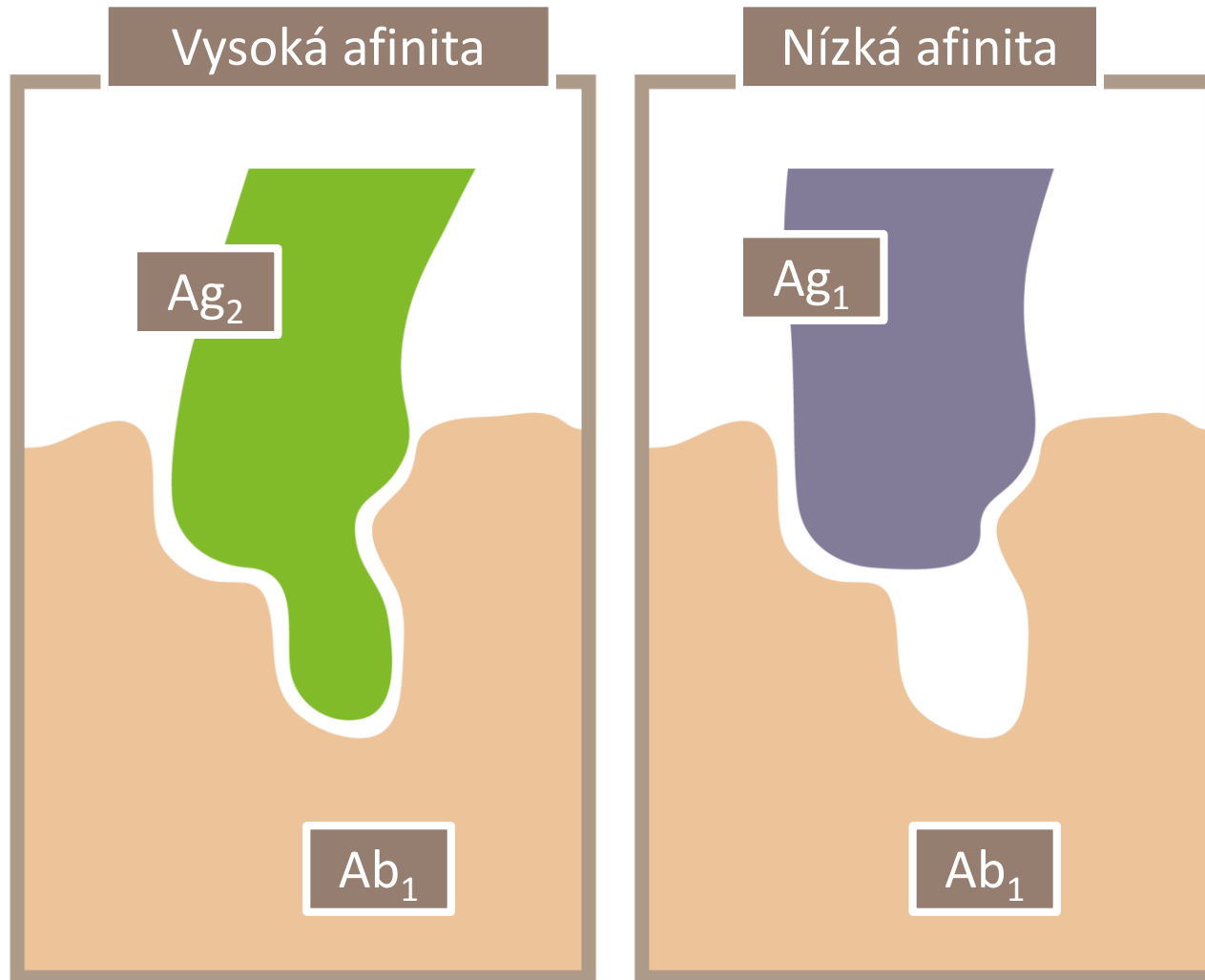
Imunogenicitata haptenu



Zkřížená reaktivita antigenů

- Při imunitní reakci může někdy dojít k reakci s jinou látkou, než tou, která reakci původně způsobila.
- Je to dáno imunologickou podobností obou látek, ale nemusí se jednat o podobnost chemickou
- Zkřížená reaktivita se uplatňuje zejména v patogenezi imunitních chorob

Zkřížená reaktivita antigenů



Imunitní systém

- Funkční charakteristika:
homeostáza, sebeudržování na úrovni
molekulární výstavby organismu
schopnost rozpoznání a eliminace cizorodých a
škodlivých látek z organismu
- Morfologická charakteristika:
lymfoidní, lymforetikulární systém
- Integrální součást organismu
propojení s metabolismem, endokrinním
a nervovým systémem

Základ imunitního systému

- Lymfatická tkáň a lymfatické orgány
- Buňky imunitního systému

Složky imunitního systému

- Periferní oblasti imunitního systému je možno rozdělit do několika funkčních oblastí jejichž imunitní odpověď má určité odlišné charakteristiky.
- Základní složky imunitního systému:
 - Kostní dřeň, tymus
 - Lymfatické uzliny a slezina
 - Imunitní systém sliznic
 - Kožní imunitní systém
 - Lymfatický cévní systém

Mízní cévy

- přítomny téměř ve všech tkáních těla
- Nebyly nalezeny v avaskulárních strukturách, jako jsou vlasy, nehty, epidermis, rohovka, sklivec a čočka a některé druhy chrupavky.
- Dále nebyly nalezeny v nervové tkáni, kostní dřeni a v nitru jaterního lalůčku.

Míza, lymfa

- Lymfa (míza) - nažloutlá tekutina kolující v lymfatickém systému
- Podobné složení jako krevní plazma. Lidské tělo obsahuje asi litr lymfy
- Lymfa vzniká v prostotu mezi buňkami z tkáňového moku.
- Sbírá se do mízních vlásečnic tzv. lymfatických kapilár. Tyto kapiláry sbírají lymfu se všech částí těla, spojují se dohromady a postupně vytvářejí větší lymfatické cévy. Potom pokračuje dál širšími lymfatickými cévami, kde se pak ústí do lymfatických uzlin, které lymfu filtrují. Lymfatické cévy se postupně spojují do velkých lymfatických cév - mízovodů, kterými vtéká lymfa do krčních žil krevního oběhu

Míza, lymfa

- Pravý mízovod - ductus lymphaticus dexter -přivádí lymfu z horní poloviny pravé strany těla
- Hrudní mízovod tzv. ductus thoracicus přivádí lymfu ze zbývajících částí těla. Tok krve do lymfatického systému zabraňují chlopně v ústích mízovodů.
- Hrudním mízovodem proteče do žil každou minutu 4-10 ml lymfy; během jednoho dne 60% objemu plazmy a 50% všech bílkovin
- Lymfa pomáhá při přenosu živin do těla. Ve střevech je obrovský počet lymfatických cév, které sbírají malé kuličky tuku a odevzdávají je do krve cestou hrudního mízovodu.

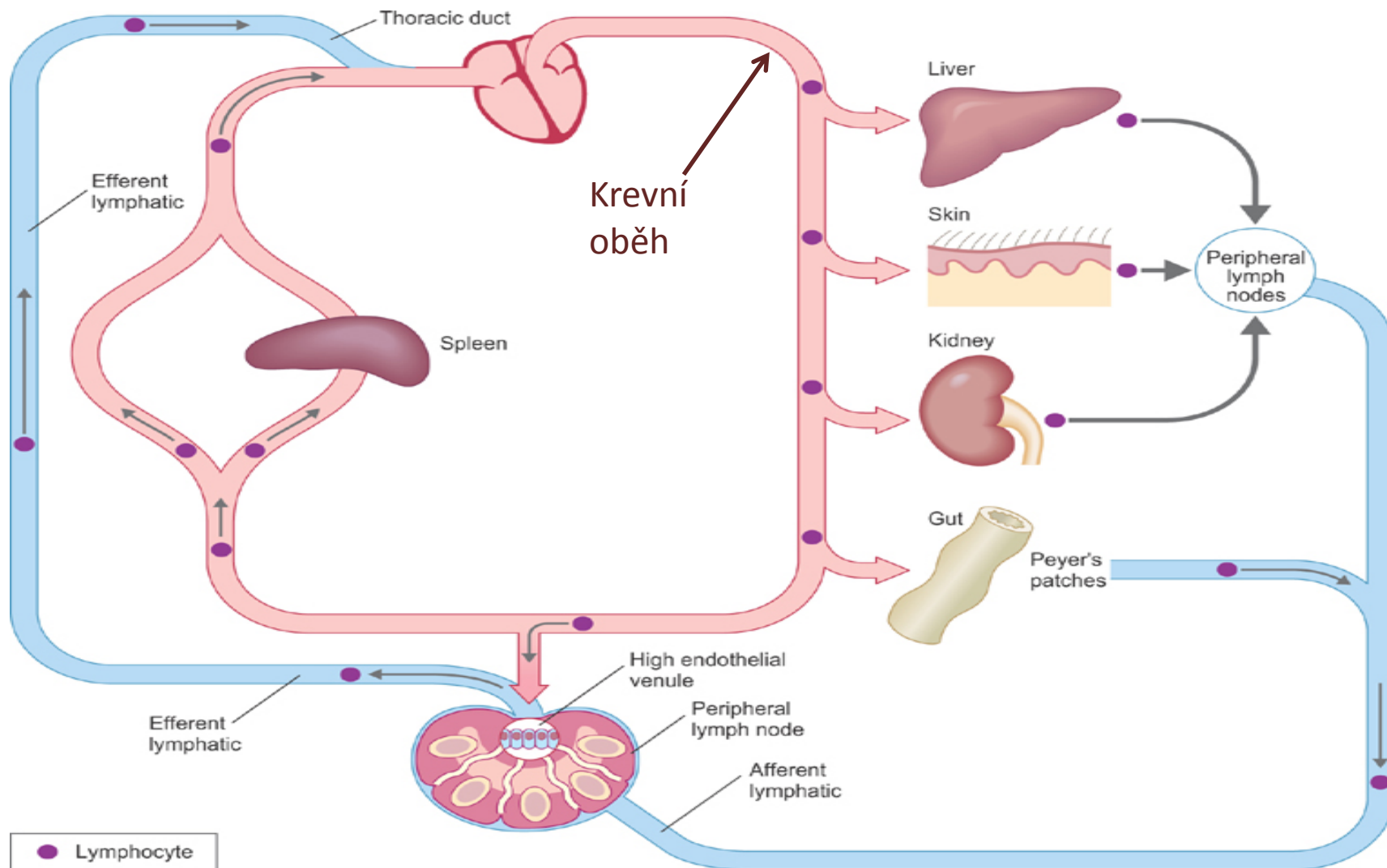
Složení lymfy

- Je do určité míry podobné složení krevní plazmy, má 50-70% bílkovin plasmy, obsahuje tuky a cholesterol, vitamíny rozpustné v tucích, které se vstřebávají v okolí trávicí soustavy. Dále obsahuje steroidní hormony, železo, měď a kalcium.
- Lymfa v kapilárách neobsahuje buňky; ty se do ní dostávají až po průchodu některou lymfatickou uzlinou. V ductus thoracicus má lymfa narůžovělou barvu, je kalná a obsahuje mnoho buněk.
- Má schopnost srážet se, podobně jako krev.
- 99 % jejích buněk tvoří lymfocyty - 95 % tvoří efektorové lymfocyty. Ostatní buňky jsou v lymfě ojedinělé

Složení lymfy

- Složení lymfy v cévách proměnlivé - závisí na jejich pozici.
- Lymfa z horních končetin je lymfa bohatá na bílkoviny.
- Lymfa ve střevech – chylus (střevní míza) – je bohatá na tuky, které se vstřebaly ze střeva během trávení. Tato lymfa je mléčné barvy.
- Klasická lymfa je vlastně světlá, téměř bezbarvá tekutina, již můžeme vidět například v puchýři.

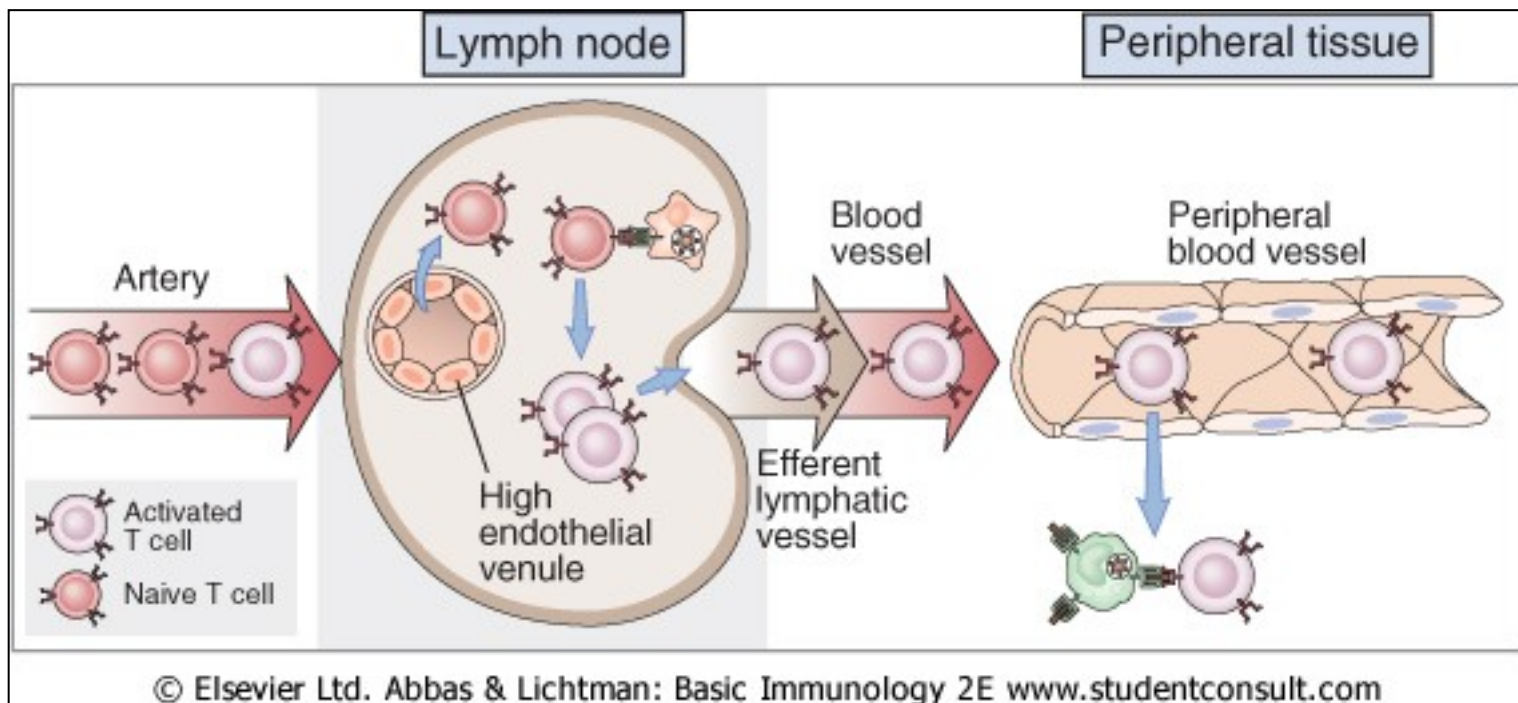
Cesty lymfocytů v těle



High endothelial venules

- Naivní T-lymfocyty: přestup do parenchymu uzlin nebo slizničního imunitního systému pomocí postkapilárních venul s vysokým endotelem
- V těchto venulách jsou přítomny adhezivní molekuly, které umožňují vazbu naivních nebo paměťových neaktivovatných T-lymfocytů

Cirkulace lymfocytů



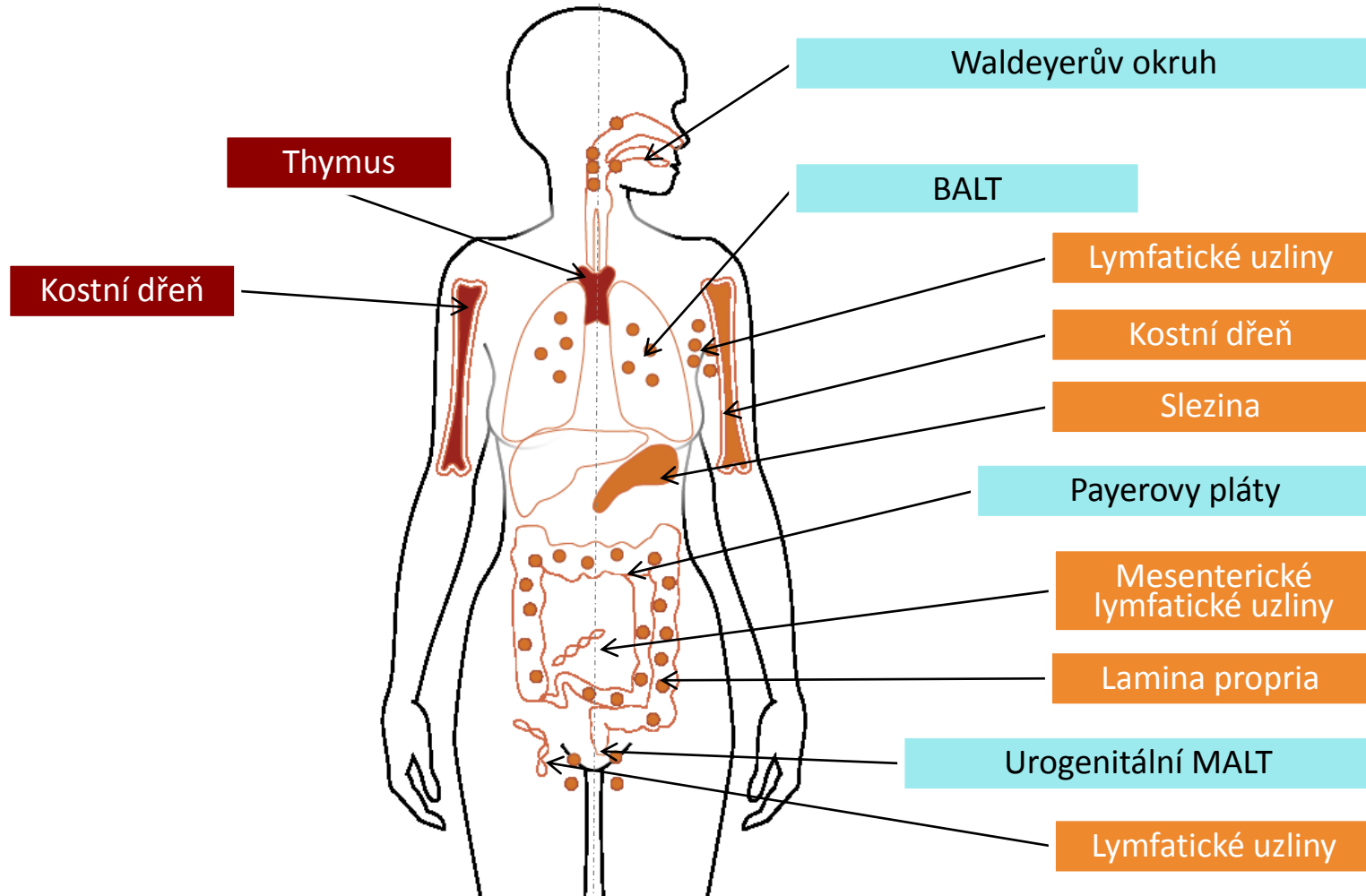
Lymfatické orgány

- **Primární: kostní dřeň, thymus**
 - Vznik, diferenciacie a zrání imunokompetentních buněk
- **Sekundární lymfatické orgány: slezina, lymfatické uzliny, MALT**
 - místo, kde probíhají specifické imunitní reakce

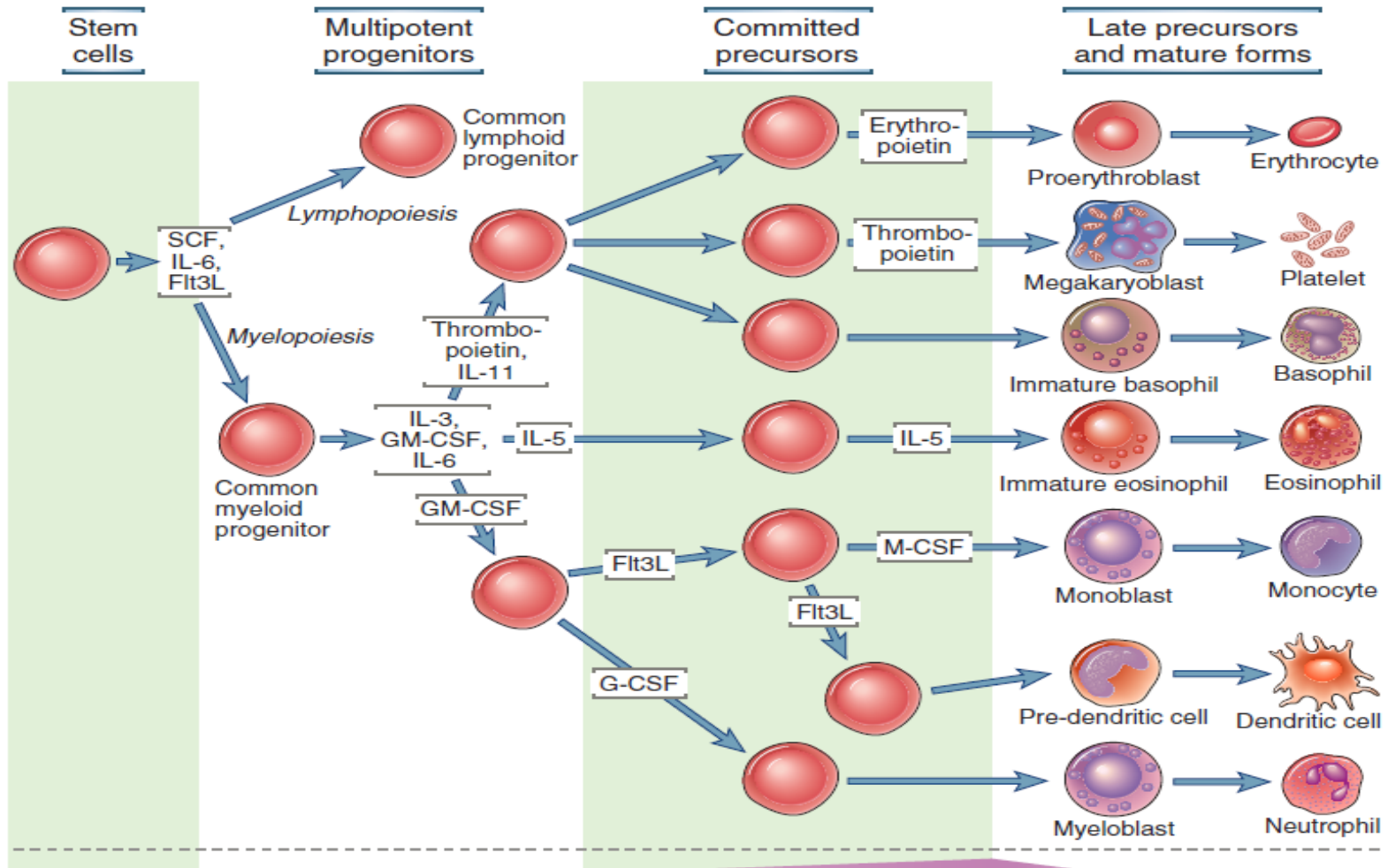
Primární a sekundární lymfatické orgány

Primární lymfatické orgány

Sekundární lymfatické orgány



Kostní dřeň - hematopoeza

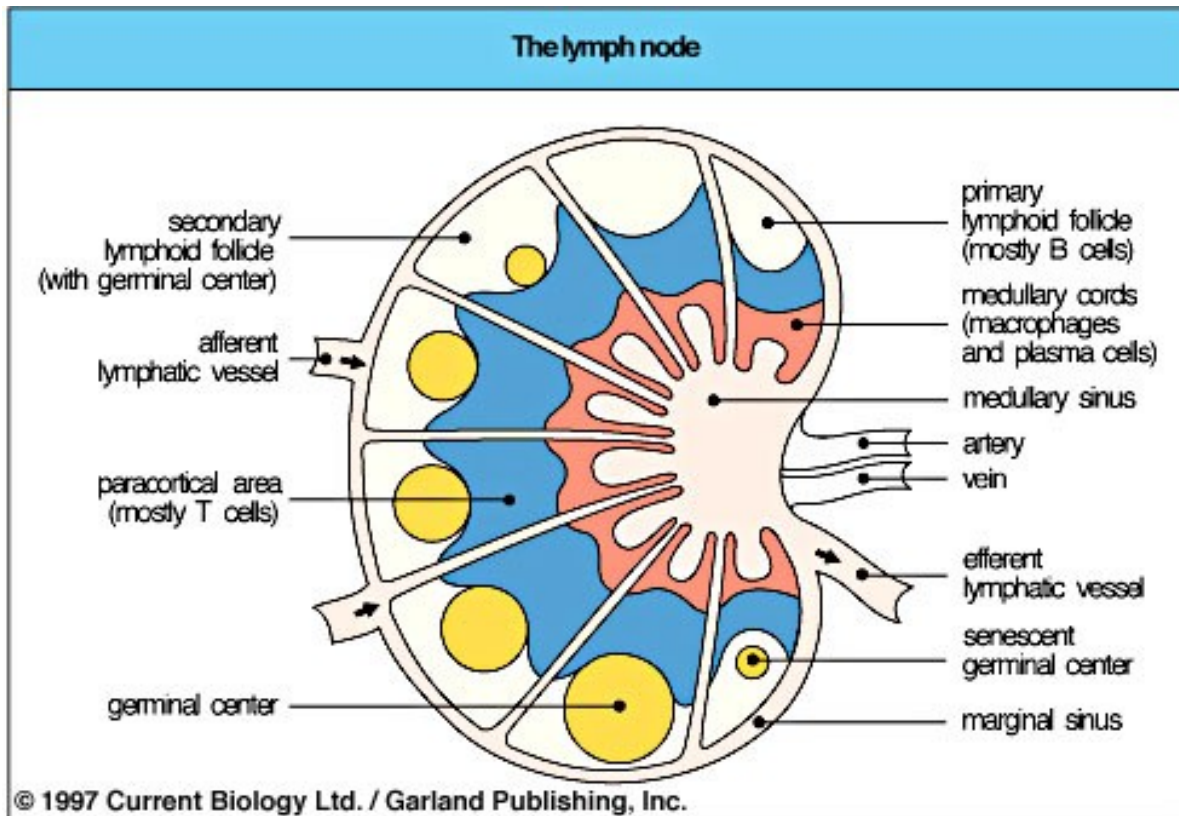


Propojení lymfatických orgánů

- Lymfatické orgány – propojení s dalšími orgány těla pomocí lymfatických a krevních cév
- Aferentní lymfatické cévy – přivádějí do uzlin lymfu a s ní Ag a antigen prezentující buňky
- Eferentní lymfatické cévy – odvádějí lymfu a efektorové lymfocyty
- Prokrvení uzliny zajišťují: arterie – vstup
vény - výstup
- Arterie přináší naivní lymfocyty do uzlin

Lymfatická uzlina

Místo, kde probíhají specifické imunitní reakce



Vyšetření lymfatických uzlin

Zvětšení lymfatických uzlin

v důsledku imunitní reakce na antigen

infiltrace zánětlivými buňkami (lymphadenitis)

infiltrace a proliferace maligních buněk

při imunologických (SLE, RA) a metabolických chorobách

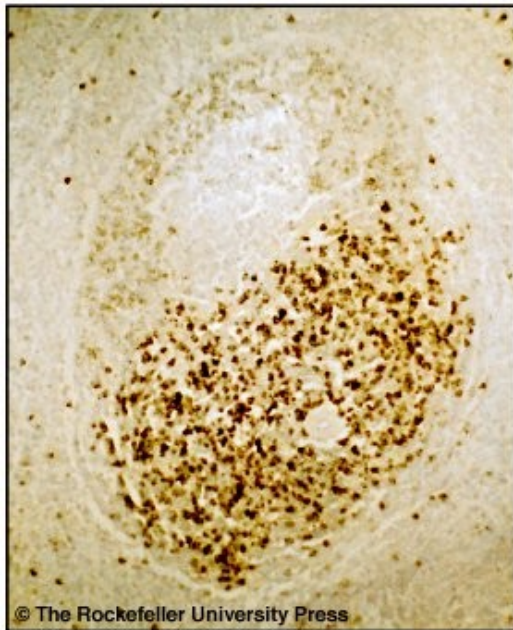
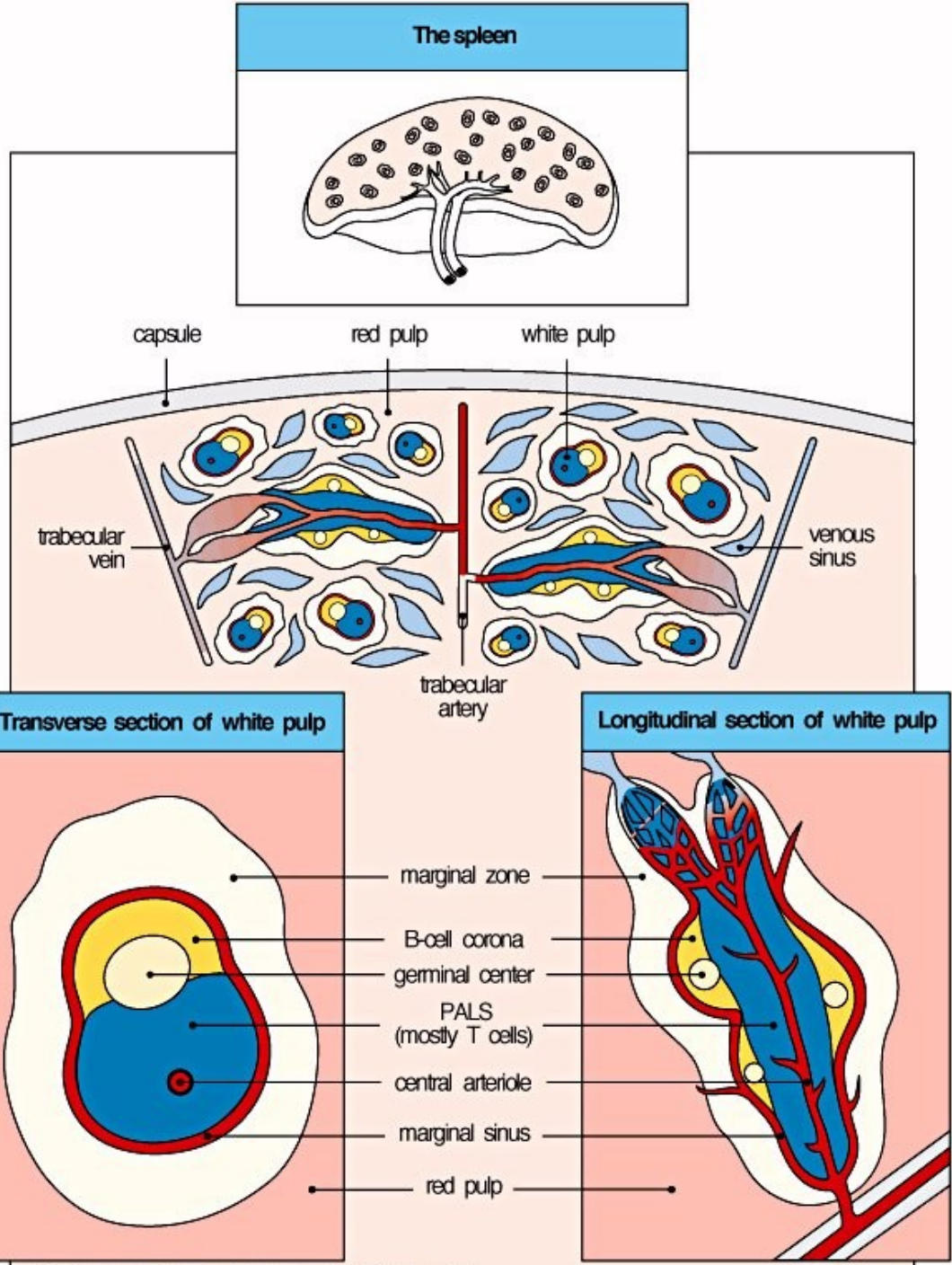
U zdravých dospělých osob bývají axilární a inguinální uzliny hmatné (v průměru 1 cm).

V dětství je reakce lymfatických uzlin běžná.

U dospělých do 30 let je asi 80% lymfadenopatií benigních, u osob nad 50 let jen asi 40%.

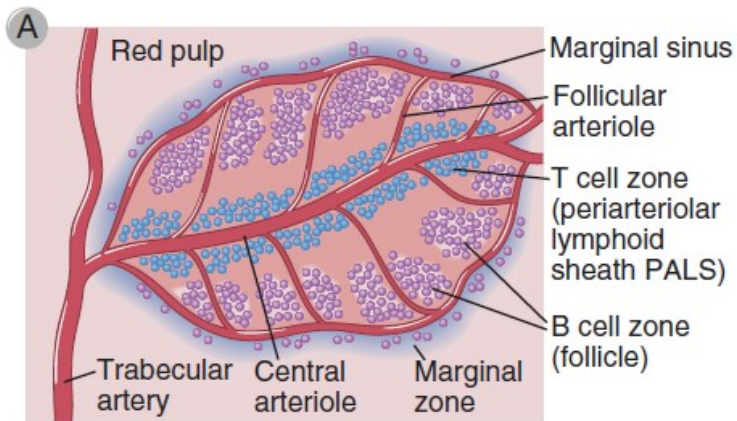
Diagnostický význam při infekci HIV

Slezina



Slezina

- Hlavní funkce
- – odstraňování starých a poškozených buněk a partikulí (imunokomplexy) z cirkulace
- Iniciace adaptivní imunitní odpovědi na patogeny přenášené krví



Vyšetření sleziny

U zdravých osob slezinu nenahmatáme

Hyposplenismus: vrozená asplenie

stavy po splenektomii

Význam vakcinace proti pneumokokům!

Splenomegalie:

hyperplasie buněk imunitního systému (infekce)

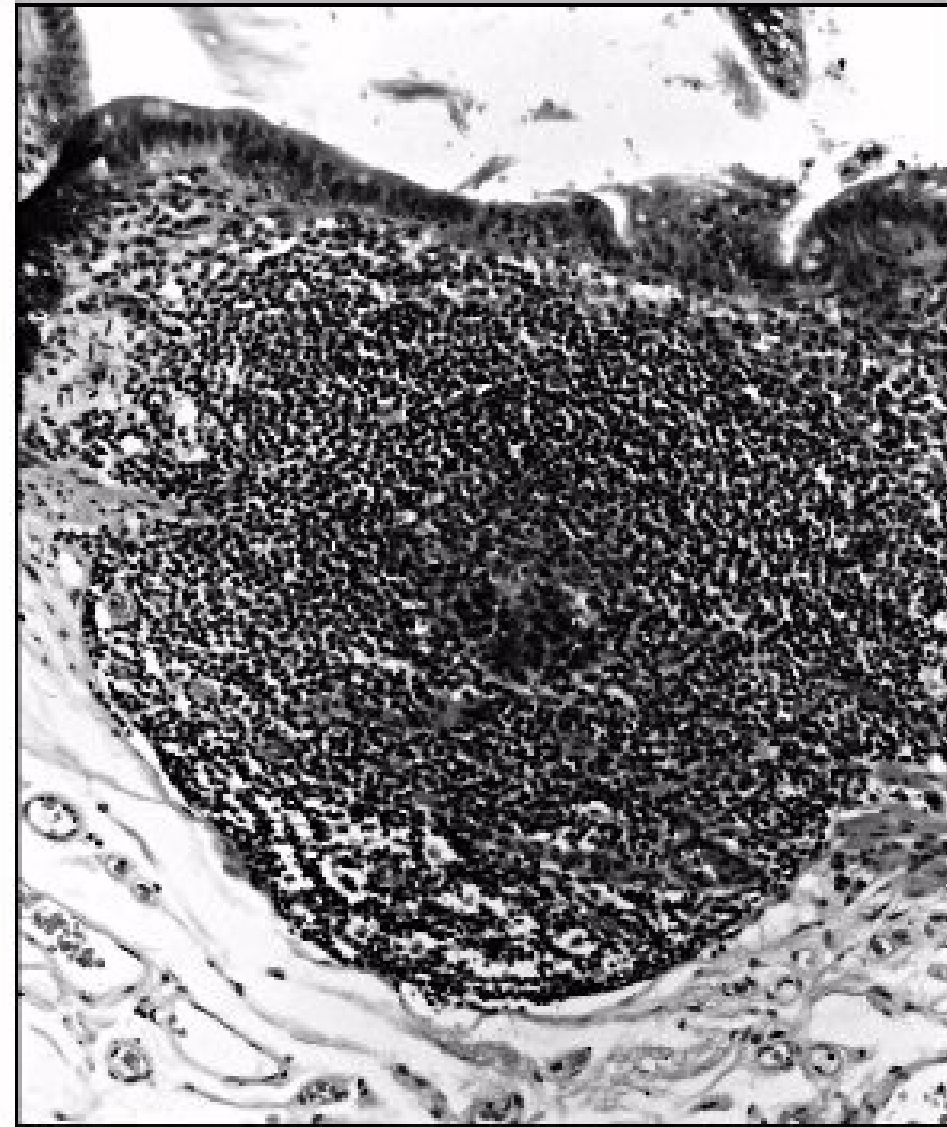
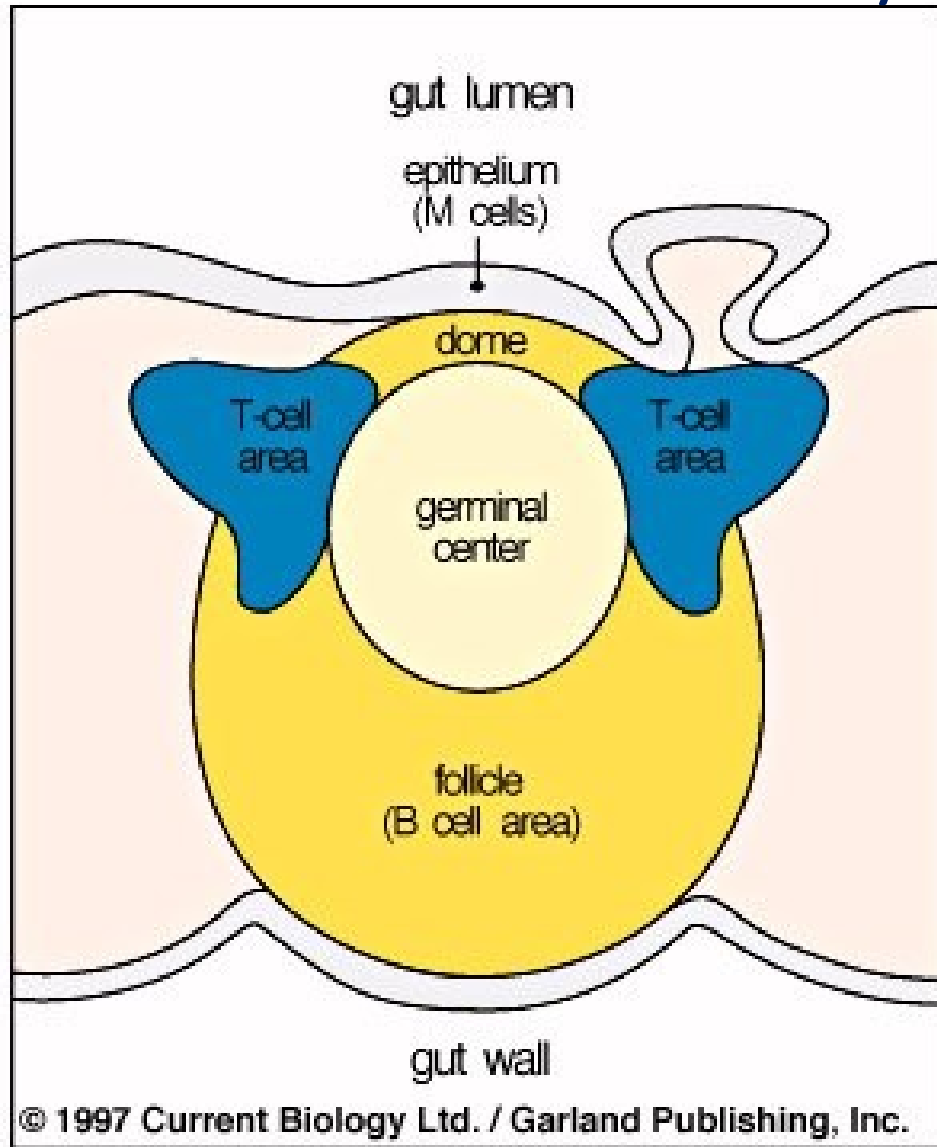
porušení průtoku krve (cirhóza jater, trombózy)

maligní procesy (primární i sekundární)

autoimunitní procesy (RA-Felty, SLE, hematol.)

extramedulární hematopoéza

Mucosa-associated lymphoid tissues (MALT)



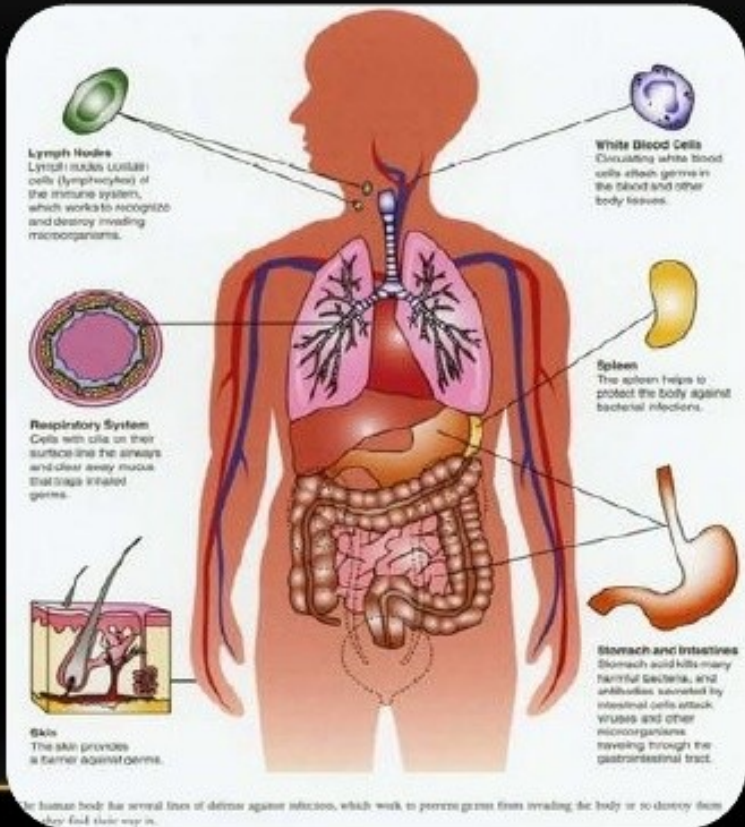
IMUNITA

- Vrozená (přirozená, nespecifická,
innate immunity)
u všech mnohobuněčných organismů
- Adaptivní (získaná, specifická,
adaptive immunity)
až od obratlovců

Adaptivní = vzniklý adaptací

THE IMMUNE SYSTEM

Infection of the human body by pathogenic microorganisms such as bacteria, viruses, parasites or fungi triggers the immune response. It occurs in a two-step process: **innate immunity halts the infection, and adaptive immunity subsequently clears it.**

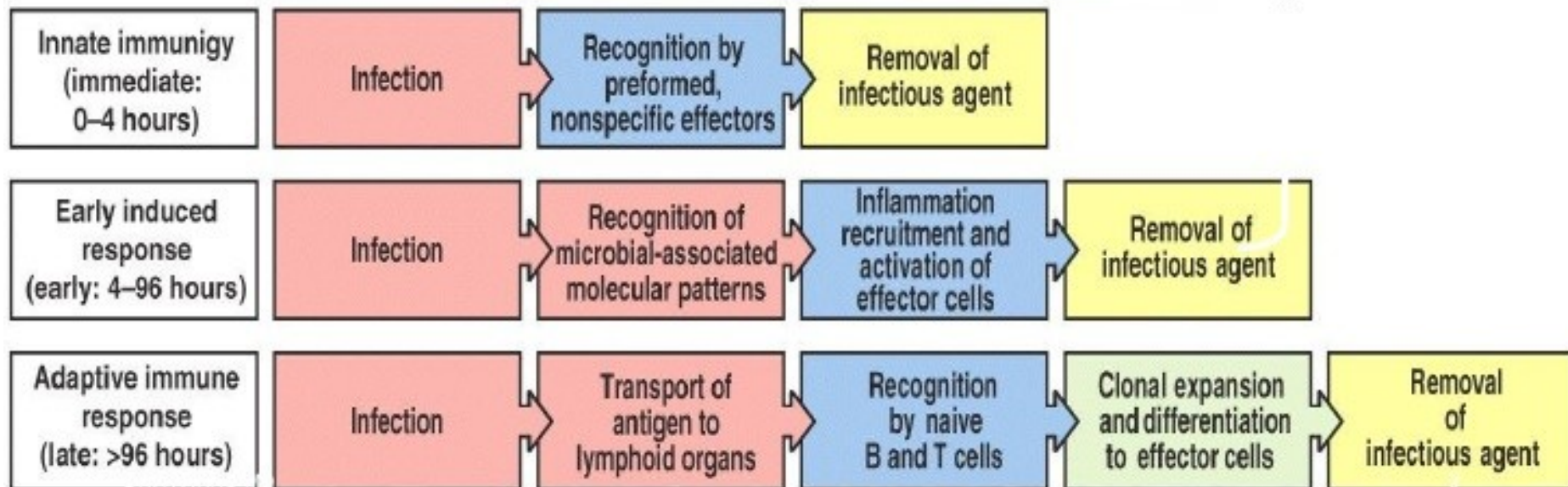


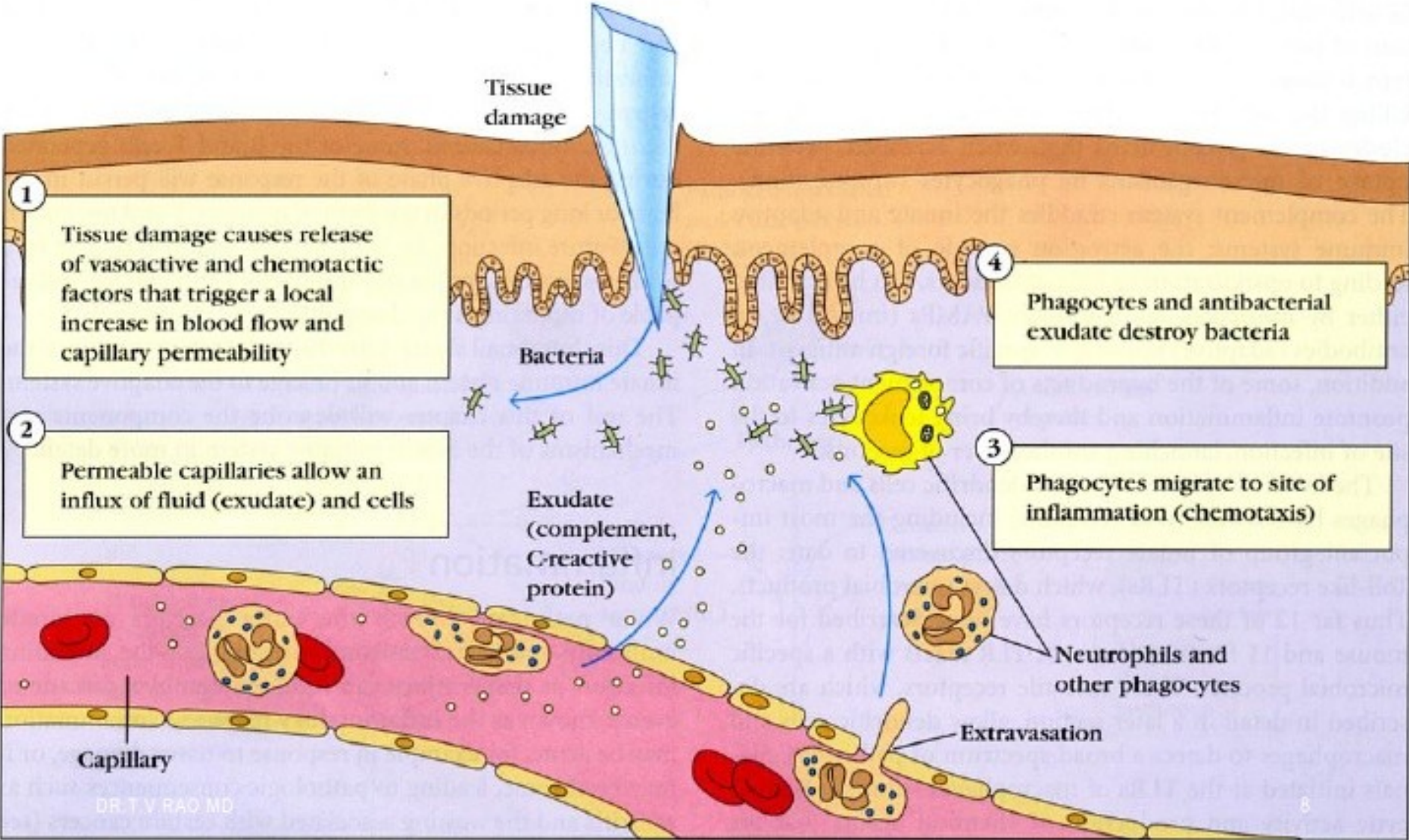
IMUNITA VROZENÁ

Innate Immunity- First Line of Defense

Characteristics:

- rapid
- does not generate immunologic memory
- dependent upon germ line encoded receptors recognizing structures common to many pathogens





Vrozená imunita

Fyzikální bariéry

Kůže

Sliznice

Respirační trakt

Močový trakt

Vrozená imunita

Chemické bariéry

pH (kůže 5,5, žaludek 1-3, vagina 4,5)

mikrobicidní substance

(lysozym, defensiny, cathelicidiny...)

Vrozená imunita

Biologické bariéry

Mikroorganismy fyziologické mikroflóry
(komensální mikroorganismy)

Vrozená imunita

Celulární složky

Epitelové a endotelové buňky, erytrocyty, destičky

Mastocyty, eosinofily, basofily

NK buňky (natural killer cells)

Profesionální fagocyty (neutrofilní leukocyty – „mikrofágy“, mononukleární fagocyty – „makrofágy“)

Dendritické buňky (buňky prezentující antigeny)

The Innate Immune System composed of ?

- includes physical, chemical, and cellular barriers
- **physical** barriers include skin and mucus membranes
- **chemical** barriers include stomach acidity, secreted anti-microbial peptides
- **cellular** barriers include macrophages, neutrophils
- innate immune response activation occurs within minutes of pathogen recognition

Vrozená imunita: charakteristické rysy

Specifičnost:

Jsou rozeznávány struktury, které jsou stejné u řady cizorodých agens (u mikroorganismů jsou to tzv. „pathogen associated molecular pattern“, **PAMP**, např. v lipopolysacharidech nebo peptidoglykanech).

Adaptivní imunitní systém naproti tomu poznává a odlišuje epitopy antigenů (T-, B-)

PAMP „ Pathogen Associated Molecular Pattern“

- Patogenem asociované molekulové vzory
- Vysoce konzervované struktury přítomny na rozsáhlých skupinách mikroorganismů, jsou esenciální pro jejich životní funkce
- Nevyskytují se na hostiteli
- Peptidoglykany, kyselina lipoteichová, lipopolysacharid bakteriální manany, glukany,
- Bakteriální sekvence DNA tvořené cytosinem a guaninem (CpG) a dvoušroubovicovou DNA

DAMP „Damage Associated Molecular Patterns“

- Vznikají při poškození infekcí, zánětem, chemickými toxiny, trauma, snížené krevní zásobování
- Nesouvisí s buňkami v apoptóze

PAMPs and DAMPs

TABLE 4–2 Examples of PAMPs and DAMPs		
Pathogen-Associated Molecular Patterns		Microbe Type
Nucleic acids	ssRNA	Virus
	dsRNA	Virus
	CpG	Virus, bacteria
Proteins	Pilin	Bacteria
	Flagellin	Bacteria
Cell wall lipids	LPS	Gram-negative bacteria
	Lipoteichoic acid	Gram-positive bacteria
Carbohydrates	Mannan	Fungi, bacteria
	Dectin glucans	Fungi
Damage-Associated Molecular Patterns		
Stress-induced proteins	HSPs	
Crystals	Monosodium urate	
Nuclear proteins	HMGB1	
CpG, cytidine-guanine dinucleotide; dsRNA, double-stranded RNA; HMGB1, high-mobility group box 1; HSPs, heat shock proteins; LPS, lipopolysaccharide; ssRNA, single-stranded RNA.		

Vrozená imunita: charakteristické rysy

Receptory:

pro tyto molekulární struktury jsou geneticky zakódovány - v DNA zárodečné linie. Označují se jako „pattern recognition receptors“, **PRR**.

Jsou jak na nebo v buňkách (např. TLR, NLR), tak i solubilní (např. CRP, MBL).

Naproti tomu u adaptivní imunity receptory lymfocytů T a B vznikají somatickým přeskupováním genů.

Vrozená imunita: charakteristické rysy

Rozsah repertoáru:

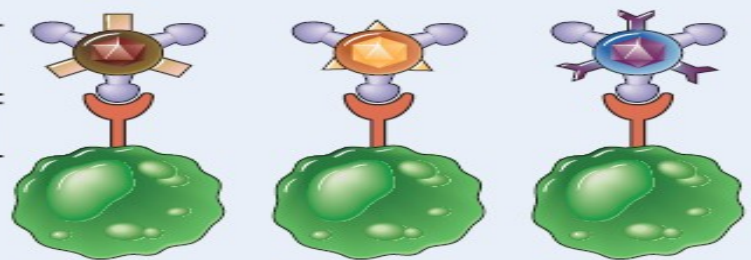
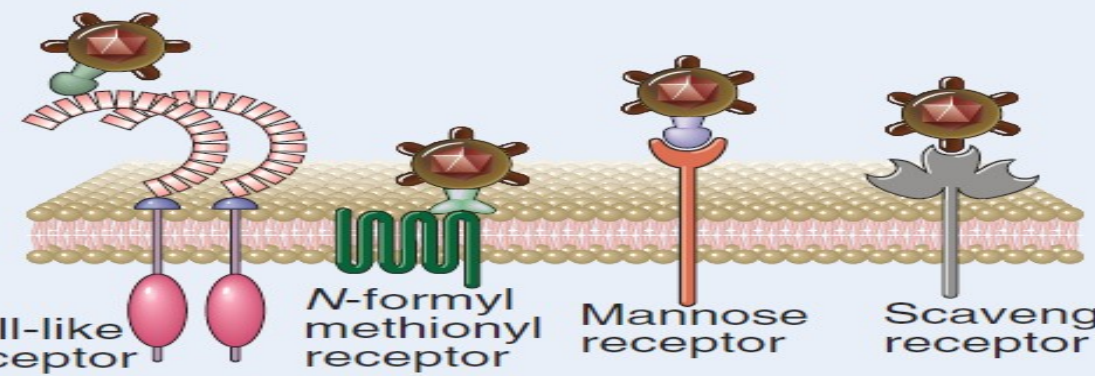
Poznávací schopnost PRR je omezená, odhaduje se na cca 10^3 „molekulárních vzorců“, zatímco *adaptivní imunitní systém je schopen odlišit (TCR, BCR lymfocytů) více než 10^{7-8} epitopů antigenů.*

Kromě součástí mikroorganismů poznává vrozený imunitní systém také alterované buňky hostitele (prostřednictvím např. heat shock proteinů, membránových fosfolipidů, MHC)

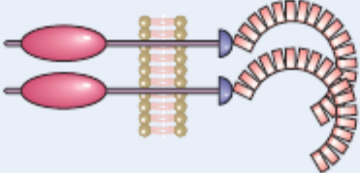


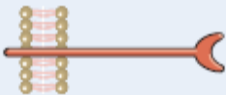
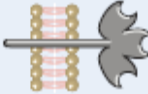

PRR- Pattern Recognition Receptors

- Identifikace PAMP a solubilních složek imunity
- Exprese receptorů není klonální – receptory přítomné na stejném typu buněk mají stejnou identitu
- Připraveny okamžitě reagovat – není potřeba proliferace – rychlá odpověď
- Schopny diskriminace mezi patogenními a nepatogenními mikroorganismy

PRR- Pattern Recognition Receptors

Innate Immunity	
Specificity	<p>For structures shared by classes of microbes (pathogen-associated molecular patterns)</p> <p>Different microbes</p> <p>Identical mannose receptors</p> 
Receptors	<p>Encoded in germline; limited diversity (pattern recognition receptors)</p>  <p>Toll-like receptor</p> <p>N-formyl methionyl receptor</p> <p>Mannose receptor</p> <p>Scavenger receptor</p>
Distribution of receptors	Nonclonal: identical receptors on all cells of the same lineage
Discrimination of self and non-self	Yes; healthy host cells are not recognized or they may express molecules that prevent innate immune reactions

Cell associated PRR

Cell-Associated Pattern Recognition Receptors	Location	Specific Examples	PAMP/DAMP Ligands
<p>Toll-like receptors (TLRs)</p> 	Plasma membrane and endosomal membranes of dendritic cells, phagocytes, B cells endothelial cells, and many other cell types	TLRs 1-9	Various microbial molecules including bacterial LPS and peptidoglycans, viral nucleic acids
<p>NOD-like receptors (NLRs)</p> 	Cytoplasm of phagocytes epithelial cells, and other cells	NOD1/2 NALP family (inflammasomes)	Bacterial cell wall peptidoglycans Flagellin, muramyl dipeptide, LPS; urate crystals; products of damaged cells
<p>RIG-like receptors (RLRs)</p> 	Cytoplasm of phagocytes and other cells	RIG-1, MDA-5	Viral RNA
<p>C-type lectin-like receptors</p> 	Plasma membranes of phagocytes	Mannose receptor Dectin	Microbial surface carbohydrates with terminal mannose and fructose Glucans present in fungal cell walls
<p>Scavenger receptors</p> 	Plasma membranes of phagocytes	CD36	Microbial diacylglycerides
<p><i>N</i>-Formyl met-leu-phe receptors</p> 	Plasma membranes of phagocytes	FPR and FPRL1	Peptides containing <i>N</i> -formylmethionyl residues

Toll-like receptory a endogenní ligandy

Mitochondrie

Oligosacharidy hyaluronanu

Proteiny teplotního šoku (HSP 60, HSP 70)

Surfaktantové proteiny

Interferon alfa

β -defensin

Kardiolipin

Fibronektin

Kyselina močová

„Hyppos“ (hydrofobní molekuly)

Vlastní molekuly asociované se stavem ohrožení

„damage-associated molecular pattern“ ?

PRR- Pattern Recognition Receptors

- **TLR** (Toll-like receptor): TLR1 -11
 - v buněčné membráně (např. TLR2, 4)
 - v endosomech (TLR3, 7, 9)
- **RLR** (RIG-I-like receptor):
 - intracelulární (reakce s viry, tvorba IFN α)
- **NLR** (Nod-like receptors): např. NOD2, NALP3
 - v cytoplasmě, složky inflamasomů
- **CLR** (C-type lectin receptor)
 - poznávají nekrotické buňky, manosové zbytky

Innate Immune Receptors

- Innate immune receptors are not clonally distributed
- Binding of receptors results in rapid response
- Innate immune receptors mediate three functions:
 - phagocytic receptors to stimulate pathogen uptake
 - chemotactic receptors that guide phagocytes to site of infection
 - stimulate production of effector molecules and cytokines that induce innate responses and also influence downstream adaptive immune responses

Vrozená imunita: charakteristické rysy

Autoreaktivita:

Vrozená imunita se vytvořila k poznávání „cizího“, mikroorganismů, nikoliv vlastních molekul.

Paměť:

Po reakci na cizorodý podnět nevzniká.

(Naproti tomu vytvoření imunologické paměti je pro adaptivní imunitu příznačné – primární a sekundární reakce, „booster“).

Mastocyty

Lokalizovány perivaskulárně a v blízkosti neuronů

Dlouhožijící buňky

Jsou aktivovány IgE a antigeny, imunokomplexy, cytokiny, anafylatoxiny, hormony, neurotransmitery

Sekretují řadu vasodilatačních a prozánětlivých mediátorů – preformovaných (histamin, kininy, proteasy) i nově syntetizovaných (leukotrieny, prostaglandiny, NO, cytokiny –zejm. $\text{TNF}\alpha$)

Důsledek – akumulace buněk přirozené imunity (neutrofily, eosinofily, monocyty-makrofágy a lymfocyty

Účast v reparačních procesech

Jsou jednou z nejvýznamnějších součástí vrozených obranných imunitních mechanismů.

Celulární složky vrozené imunity



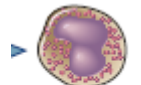
Erythrocyte

Neutralizace chemokinů, odstraňování komplexů Ag-Ab, zpomalení pohybu leukocytů v kapilárách zvyšují adhezi na endotel, krevní skupiny, Rh- faktor



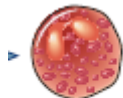
Platelet

Obsahují denzní tělíska (ADP, serotonin, histamin) a alfa granule (cytokinů, chemokinů, růst.faktorů) - modulace zánětové odpovědi



Basophil

Krátce žijící buňky, v cytoplazmě četná granula obsahující histamin, proteoglykany, interleukiny (IL-4, IL-13) – časná fáze zánětové reakce, Váží IgE – degranulace - rozvoj zánětu



Eosinophil

Krátce žijící buňky 10-20h – v periferní krvi, delší životnost v tkáních - sliznice dýchacího, trávicího a močopohlavního ústrojí; Receptory pro Ig, chemokiny cytokiny složky komplementu... v cytoplazmě četná granula obsahující kationické proteiny (ECP), cytokiny (IL-3,IL-5, TNFalfa...) chemokiny, úloha v časně fázi zánětu

NK (Natural Killer) buňky

jsou morfologicky podobné lymfocytům („velké granulární lymfocyty“, LGL), nefagocytují, nemají adhezenční schopnosti

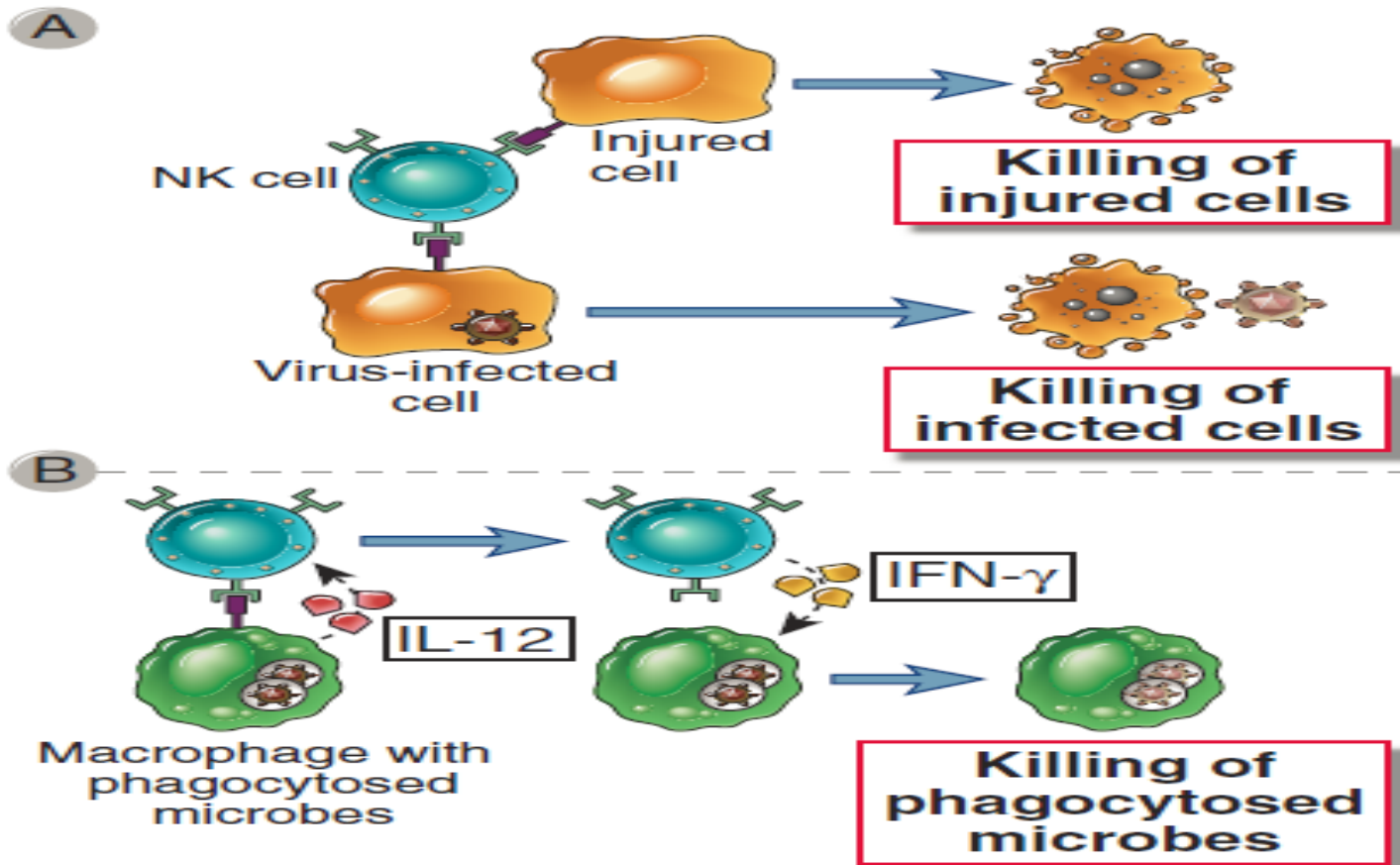
specializují se na zabíjení abnormálních vlastních buněk organismu nápadných nízkou expresí MHC molekul (např. infikovaných viry, intracelulárními bakteriemi, nádorové buňky)

cytotoxické nástroje NK buněk – perforin a granzym – podobně jako u CD8+ cytotoxických buněk

jejich cytotoxická aktivita je jednak přirozená, jednak může být zprostředkována protilátkami vázanými na FcR III (CD16), ADCC

ovlivňují vrozenou i adaptivní imunitu svými cytokiny, především IFN γ a TNF α

Funkce NK buněk



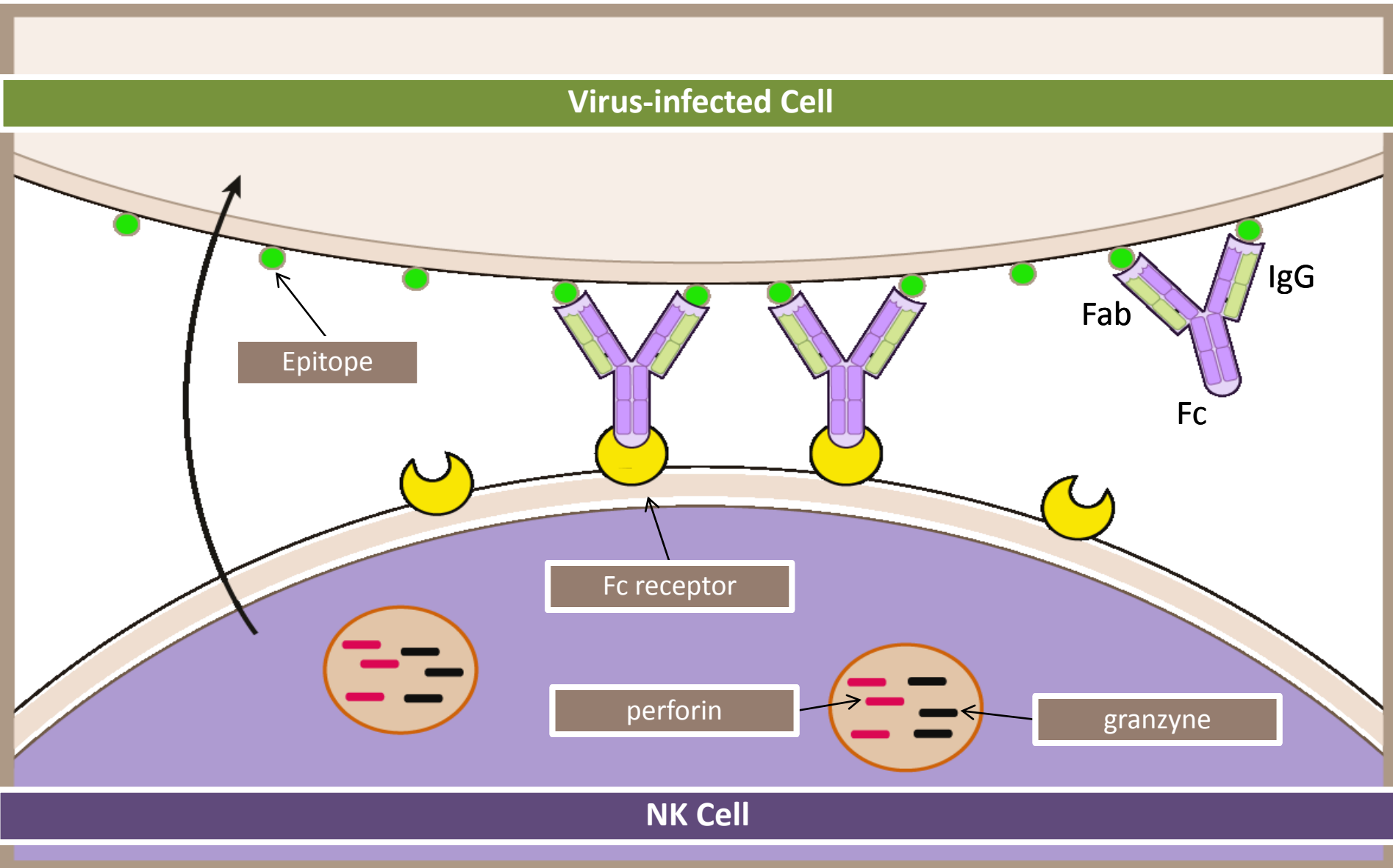
Buňky NK

Aktivace NK-buněk je regulována souhrou signálů, které vycházejí z aktivačních a inhibičních receptorů.

- Inhibiční receptory (KIR) se váží na molekuly MHC I, které jsou přítomny na většině zdravých buněk.
- Aktivační receptory (KAR) poznávají heterogenní skupinu ligandů, které se objeví na buňkách v důsledku stresu, maligní konverse, virové infekce.

Řada genů, které ovlivňují funkci NK, jsou shluknuty na chromosomu 12 („natural killer gene complex – NKC“)

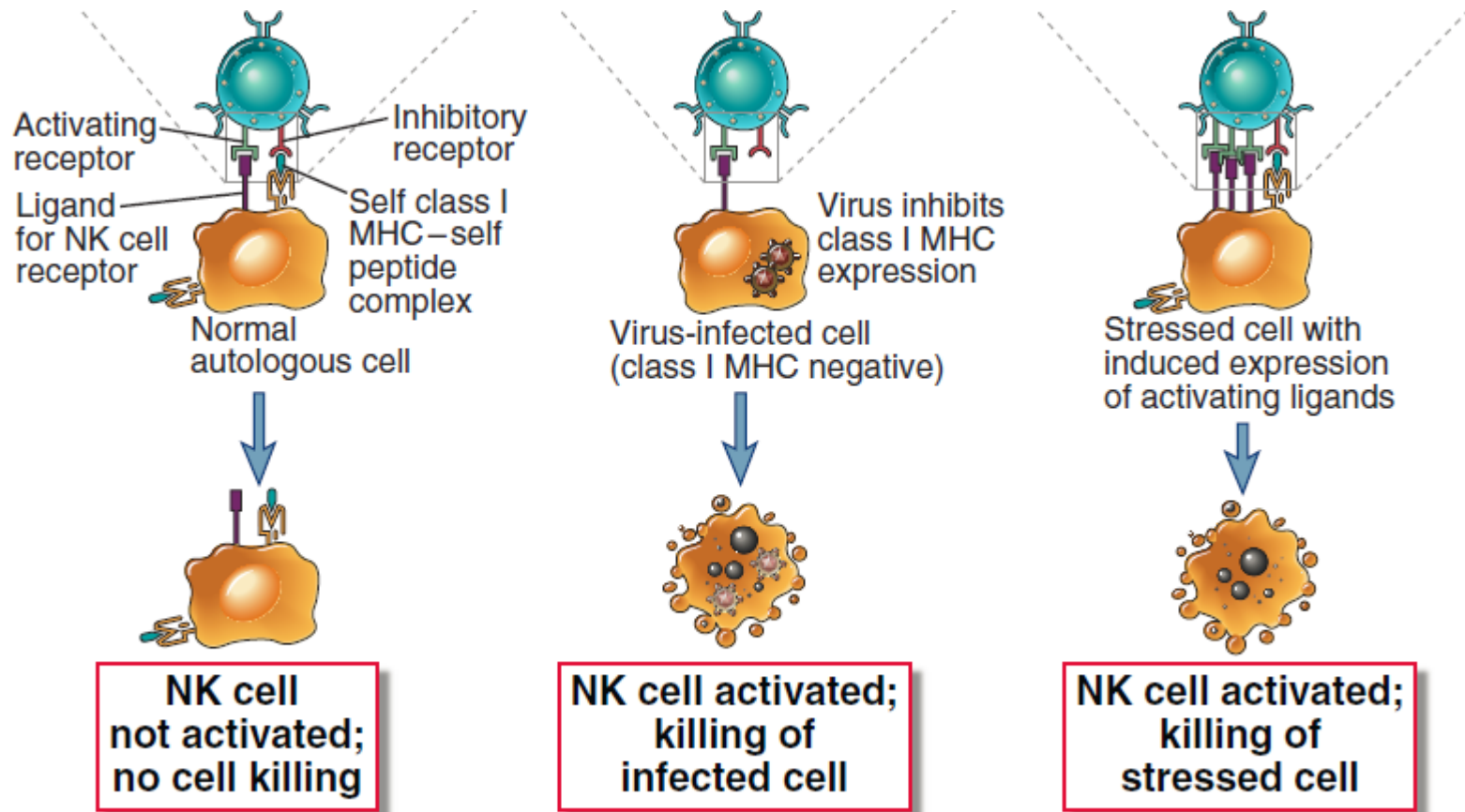
Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



Interferony (IFN)

- Existují dva typy interferonů:
- Typ I: IFN a, IFN b - jsou produkována některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, makrofágy). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.
- Typ II tzv. imunní - IFN g: produkován NK buňkami, aktivovanými T_H1 buňkami, způsobuje především aktivaci makrofágů.

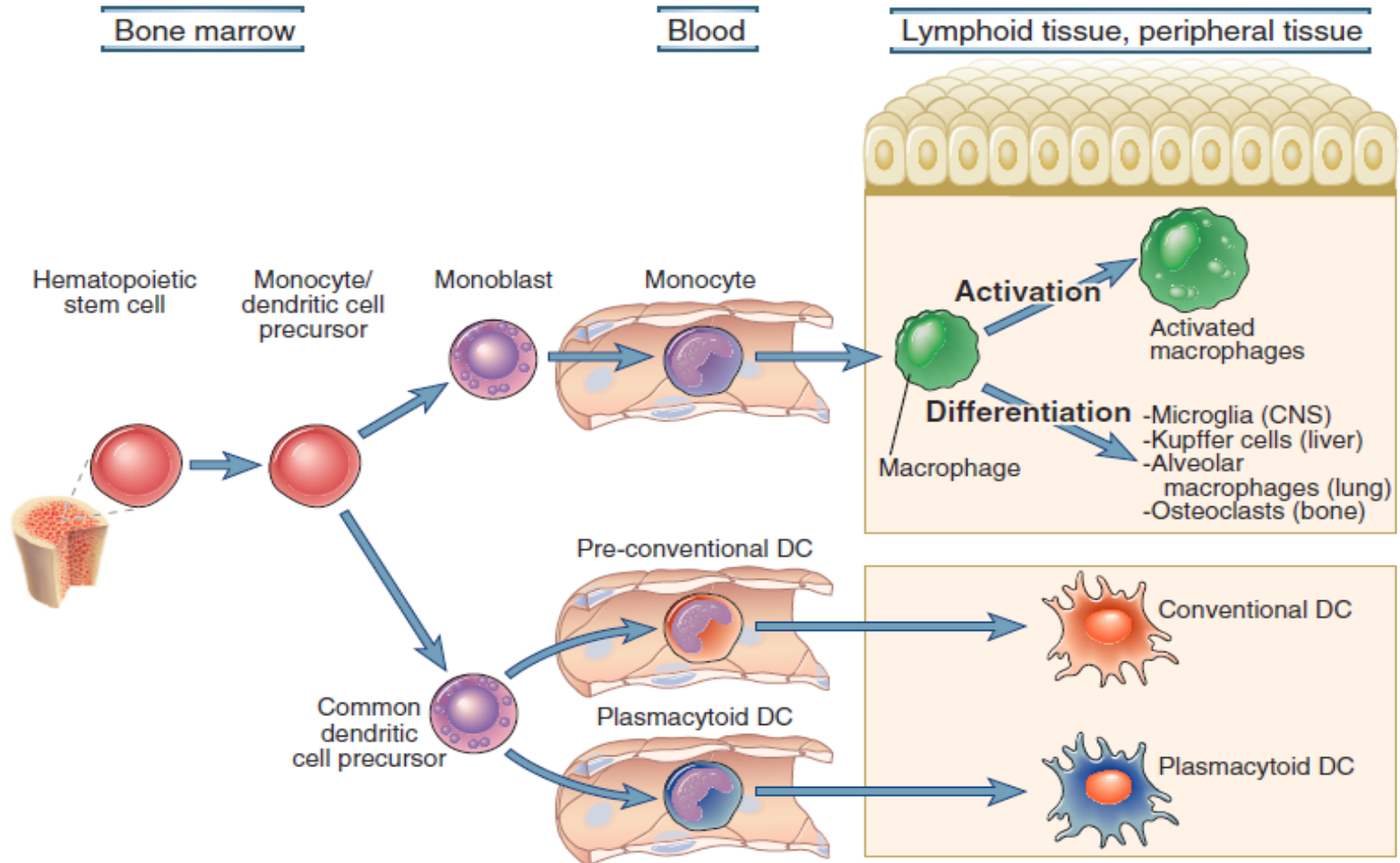
Reakce NK buněk



Buňky NKT

- Imunofenotypově i funkčně podobné NK a T
- Přítomny v periferní krvi, slezině, játrech, lymfatických uzlinách, kostní dřeni, thymu
- Aktivované migrují do míst infekce nebo zánětu
- Receptor má charakter „semi-invariantního“ $\alpha\beta$ TCR (Va24/Ja18 – Vb11)
- **Poznávají glykolipidové nebo lipidové struktury presentované na nepolymorfní CD1 molekule (lysofostatidylcholin je autoantigenem pro lidské NKT)**

Buňky imunitního systému – monocyty, makrofágy, dendritické buňky



PROFESIONÁLNÍ FAGOCYTY

Polymorfonukleární leukocyty
(neutrofilní granulocyty)
„mikrofágy“ (I. Mečnikov)

Mononukleární fagocyty
(v krvi i ve tkáních)
„makrofágy“ (I. Mečnikov)

Fagocytóza

- Neutrofilní granulocyty a eosinofilní granulocyty
- Monocyty a makrofágy
- Fyziologická funkce:
 - » 1. pohlcení - ingesce
 - » 2. nitrobuněčné zabití - cidie
 - » 3. odstranění - eliminace
- Antimikrobiální systémy:
 - » 1. závislý na kyslíku
 - » 2. nezávislý na kyslíku

Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

1. závislý na kyslíku

Reaktivní metabolity kyslíku (H_2O_2 , HOCl , hydroxylový radikál, superoxidový aniont, singletový kyslík(O_2))

Reaktivní dusíkové metabolity (NO , NO_2)

Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy, RNAsy

2. nezávislý na kyslíku

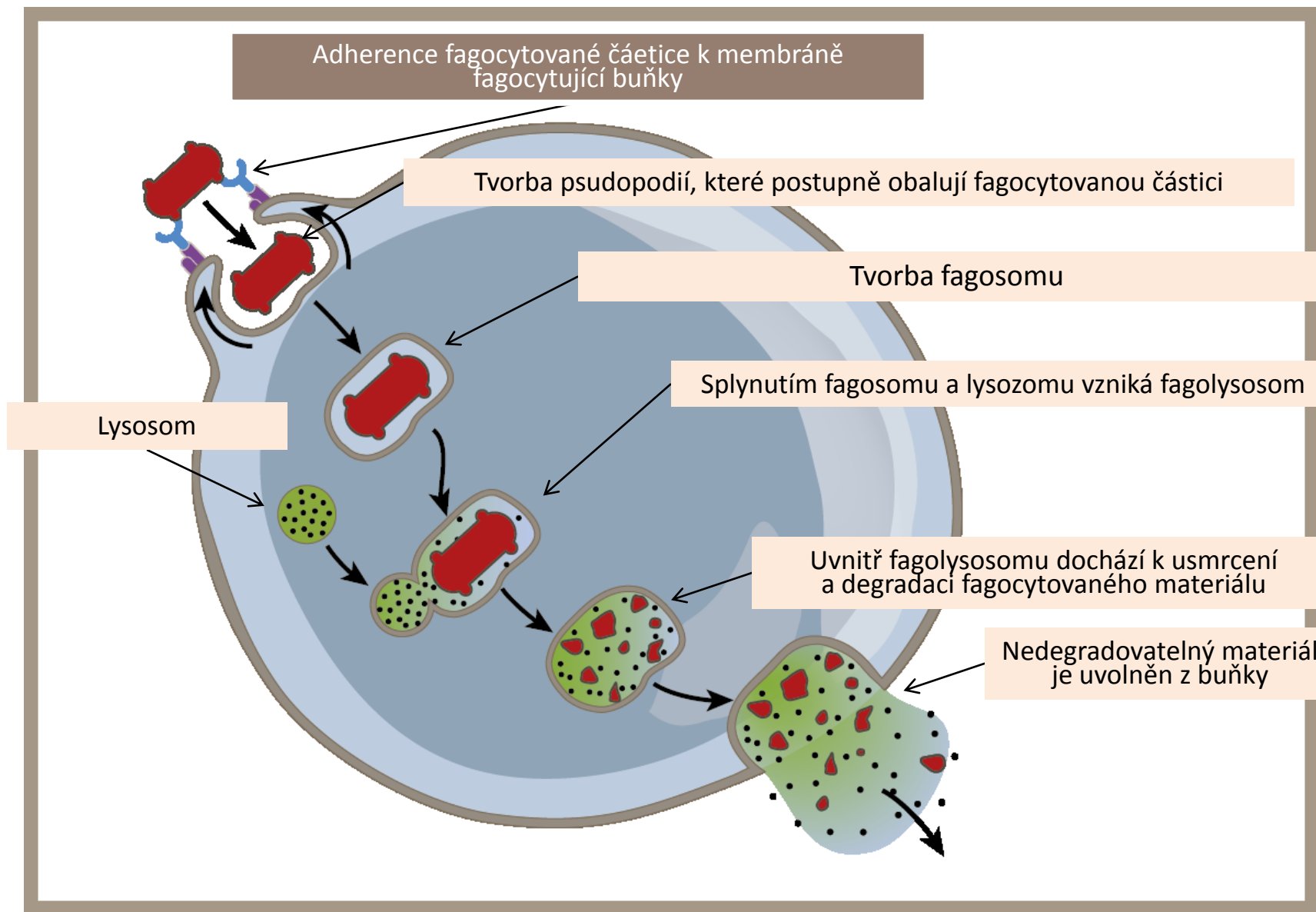
Nízké pH

Lysozym

Lactoferin

Defenziny – antimikrobiální polypeptidy

Fagocytóza



Možnosti vyšetření fagocytárních funkcí

Chemotaxe: vyšetření chemotaxe pod agarózou

Ingesce: ingesce metakrylátových partikulí

Tvorba reaktivních metabolitů kyslíku:

NBT test, chemiluminiscence, redukce tetraarhodamidu.

Vyšetření exprese β 2-integrinů

Komplexní vyšetření: mikrobicidie

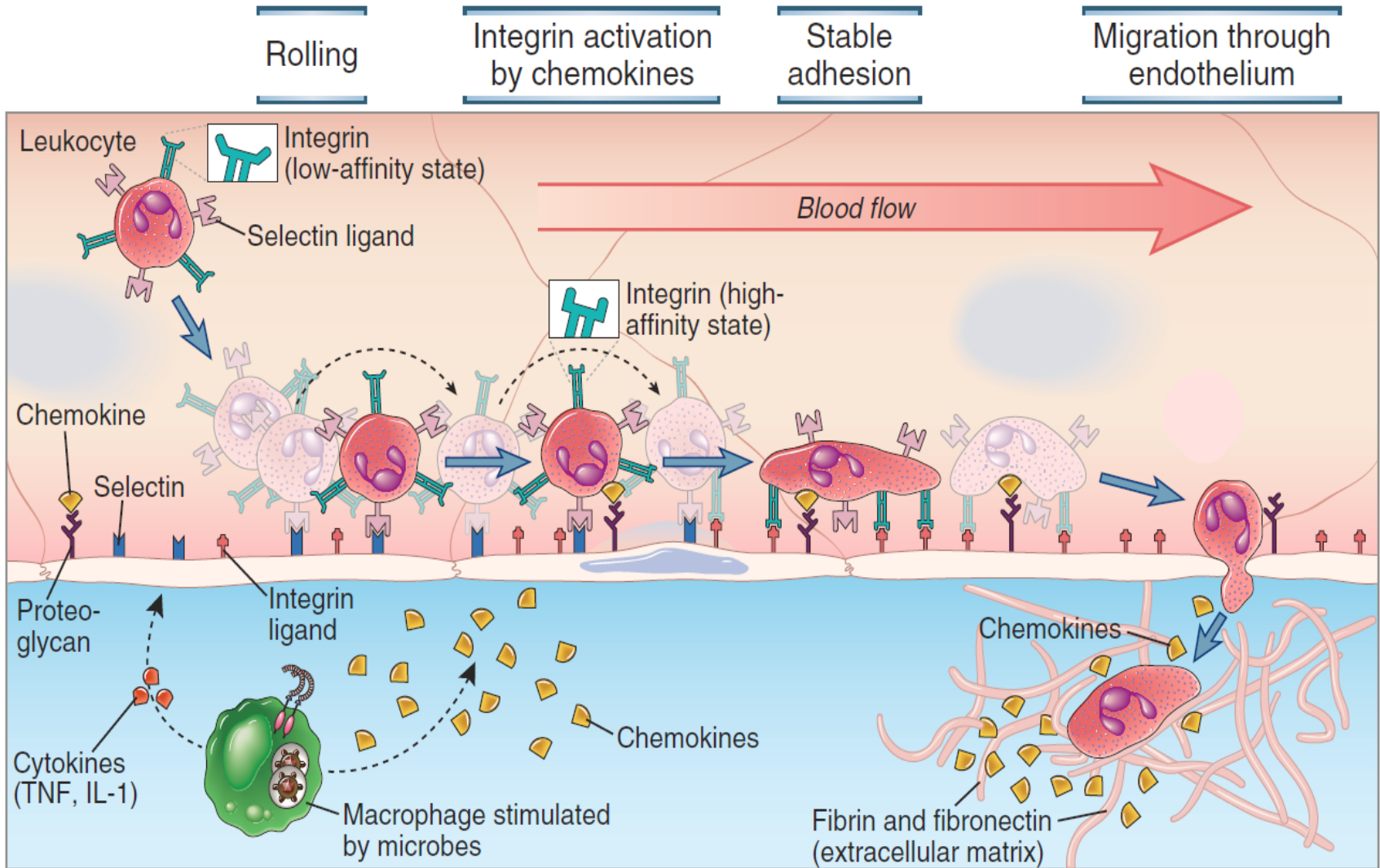
Indikace k vyšetření fagocytárních schopností granulocytů

- Především opakované hluboké abscesy, hnisavé lymfadenitidy, případně i první epizoda abscesu v neobvyklé lokalizaci (jaterní absces). Obtíže jsou vrozené, tj. objevují se obvykle od časného věku.
- Výskyt solitárních, granulomů v časném věku.
- Poruchy odhojování pupečníku spojené s poruchou hojení ran a výraznou leukocytózou (LAD syndrom).

Deficit leukocytárních integrinů (LAD-I)

- Příčinou syndromu je porucha syntézy CD18, nevytváří se komplex CD11/CD18 – integriny nutné k přechodu cév do místa zánětu.
- Opožděné odhojování pupečníku s omfalitidou.
- Abscesy s malou tvorbou hnisu.
- Často postižena periproktální oblast, objevují se gingivitidy, lymfadenitidy, kožní infekce.
- Porucha hojení ran.
- V krvi výrazná leukocytóza i mimo akutní infekci.

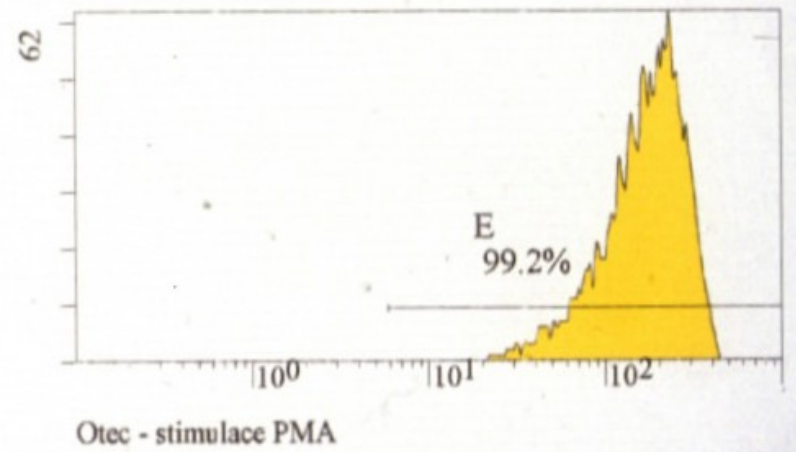
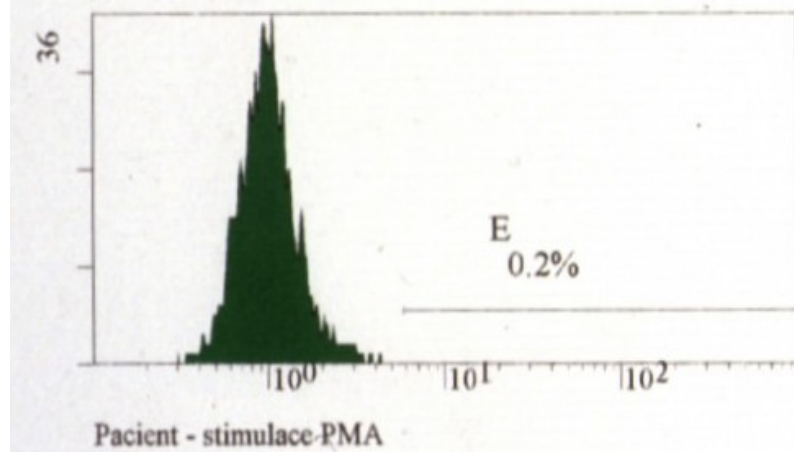
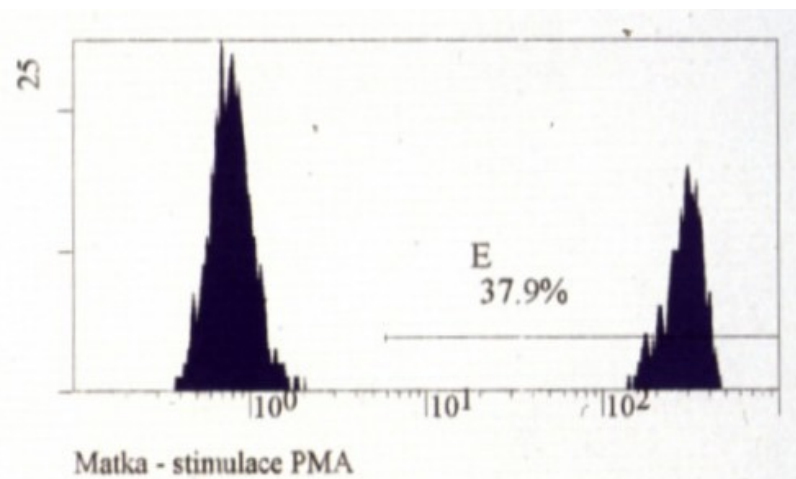
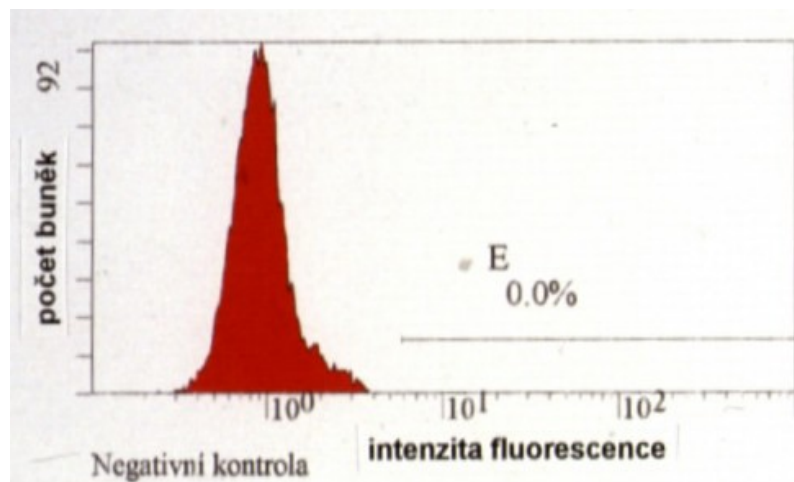
Cesta leukocytů do místa zánětu



Chronická granulomatózní choroba

- Opakované abscesy nejčastěji postihující játra, periproktální oblast, plíce, objevují se hnisavé lymfadenitidy, osteomyelitidy.
- Granulomy mohou působit útlak, například žlučovýchodů.
- Většinou poměrně časný nástup obtíží, první příznaky se však vzácně mohou objevit i v dospělosti.
- Příčinou je **porucha tvorby reaktivních metabolitů kyslíku.**

Chronic Granulomatous Disease (X-linked)



Vrozená imunita

Humorální složky

Mikrobicidní faktory (lysozym, defensiny, katherlicidiny a další)

Histamin, eikosanoidy


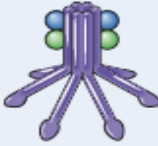


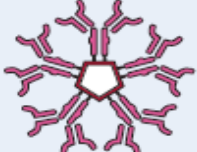
Komplementový systém

Pentraxiny (CRP, SAP, PTX3)

Kollektiny (MBL, SP-A, SP-B), Fikoliny

Cytokiny (Interferony α, β, γ , $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6, chemokiny)

Solubilní PRR

Soluble Recognition Molecules	Location	Specific Examples	PAMP Ligands
Pentraxins 	Plasma	C-reactive protein	Microbial phosphorylcholine and phosphatidylethanolamine
Collectins 	Plasma Alveoli	Mannose-binding lectin Surfactant proteins SP-A and SP-D	Carbohydrates with terminal mannose and fructose Various microbial structures
Ficolins 	Plasma	Ficolin	<i>N</i> -Acetylglucosamine and lipoteichoic acid components of the cell walls of gram-positive bacteria
Complement 	Plasma	C3	Microbial surfaces
Natural antibodies 	Plasma	IgM	Phosphorylcholine on bacterial membranes and apoptotic cell membranes

Vrozená imunita

Humorální složky

Pentraxiny (CRP, SAP – sérový amyloid P, PTX3)

CRP a SAP – produkovány buňkami jater

PTX3 produkován dendritickými buňkami, makrofágy a endotelem v odpovědi na vazbu na TLR a cytokiny

CRP a SAP se váží na různá místa buněčných stěn bakterií plísni a apoptotických buněk obsahujících fosfatidylcholin a fosfatidylmetanolamin

PTX – vazba na vybrané typy gram-positivních i negativních bakterií, viry a plísně, apoptotické buňky

Všechny tři aktivují komplement vazbou na složku C1q

Vrozená imunita

Humorální složky

Kolektiny (MBL, SP-A, SP-D)

MBL = Mannose binding Lectin - vazba manozových zbytků ve stěnách bakterií

SP-A, SP-D = Surfactant protein A, Surfactant protein D – opsoniny, nacházejí se v plicních sklípcích,

Funkce – inhibice růstu bakterií, spolupráce s alveolárními makrofágy

Fikoliny – N-acetylglukosoamin a lipoteichová kyselina – součást buněčné stěny grampozitivních bakterií

Cytokiny (Interferony α, β, γ , $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6, chemokiny)

Antimikrobiální peptidy

- Endogenní **antibiotika**.
- Charakterizováno asi 20 různých proteinů.
- Tvořeny keratinocyty, mastocyty, buňkami ekrinních žláz, ale též neutrofilními granulocyty a buňkami NK.
- Spouštějí a koordinují aktivitu řady složek vrozeného a adaptivního imunitního systému („**alarminy**“).
- zajišťují integritu a růst epitelu, podporují angiogenézi.

Antimikrobiální peptidy v residentních kožních buňkách

cathelicidiny (hCAP18/LL 37)

keratinocyty

β - defensiny (HBD - 2, HBD - 3)

keratinocyty

dermcidiny (DCD)

ekkrinní potní žlázy

Molekuly buněčných interakcí

Cytokiny

Interleukiny (IL-1 – IL-35),
IFN, TNF, TGF, CSF

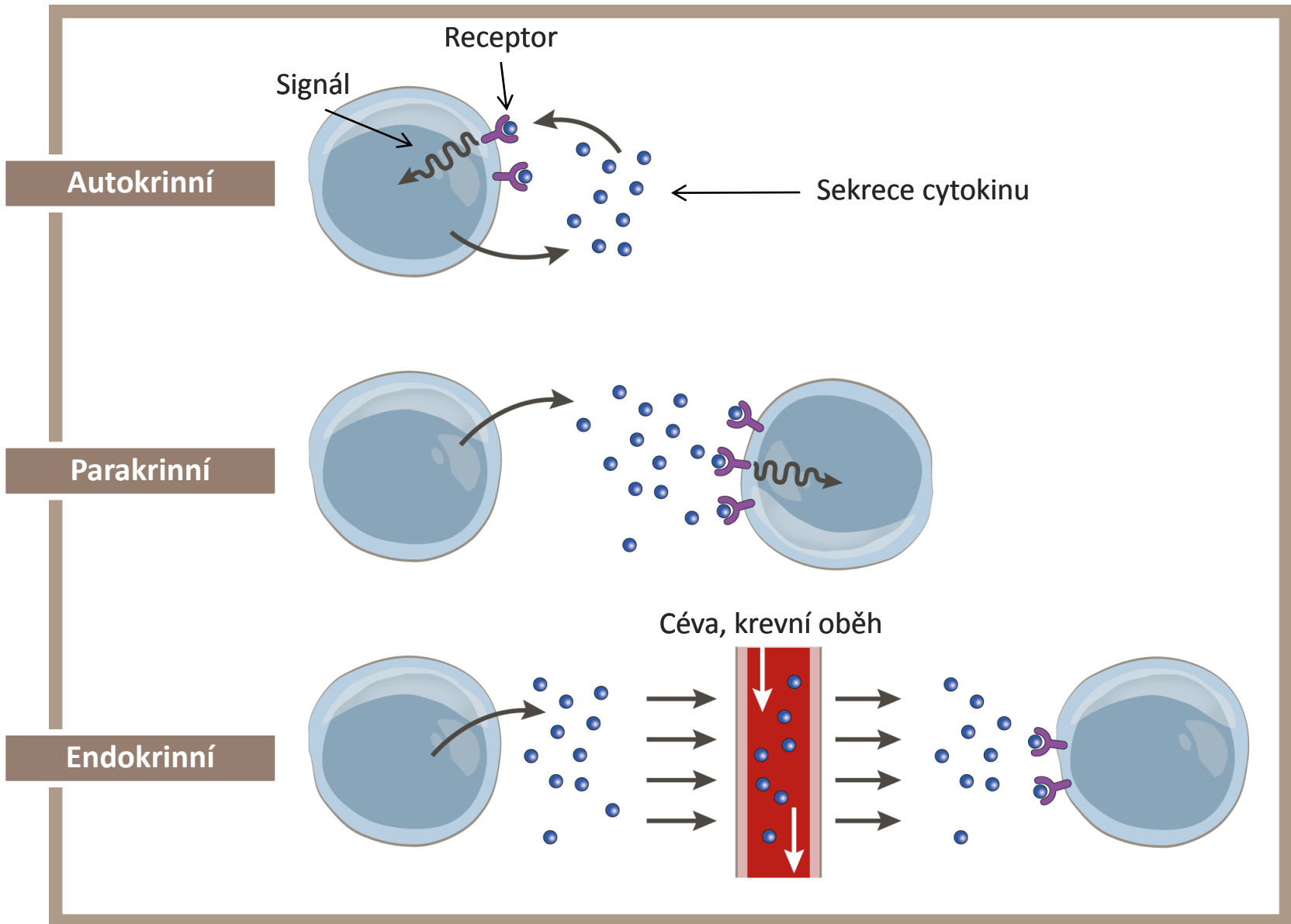
Chemokiny (C, CC, CXC, CX3C)

Adhezivní molekuly: integriny, selektiny, adresiny

Cytokiny

- Hlavní regulátory imunitního systému, působící na krátkou vzdálenost prostřednictvím vazby na specifické receptory na povrchu buněk
- Jsou produkovány buňkami imunitního systému, mají krátký biologický poločas
- Účinek – autokrinní, parakrinní, endokrinní

Schéma typů působení cytokinů na druhé buňky



Cytokiny

- Hlavním producentem je určitá skupina buněk x mohou však být produkovány různými buňkami
- Vytvářejí funkční cytokinovou síť
- Jeden cytokin má často stimulační i tlumivý efekt
- Působí na více oblastí, vlastností – tzv. pleiotropní efekt

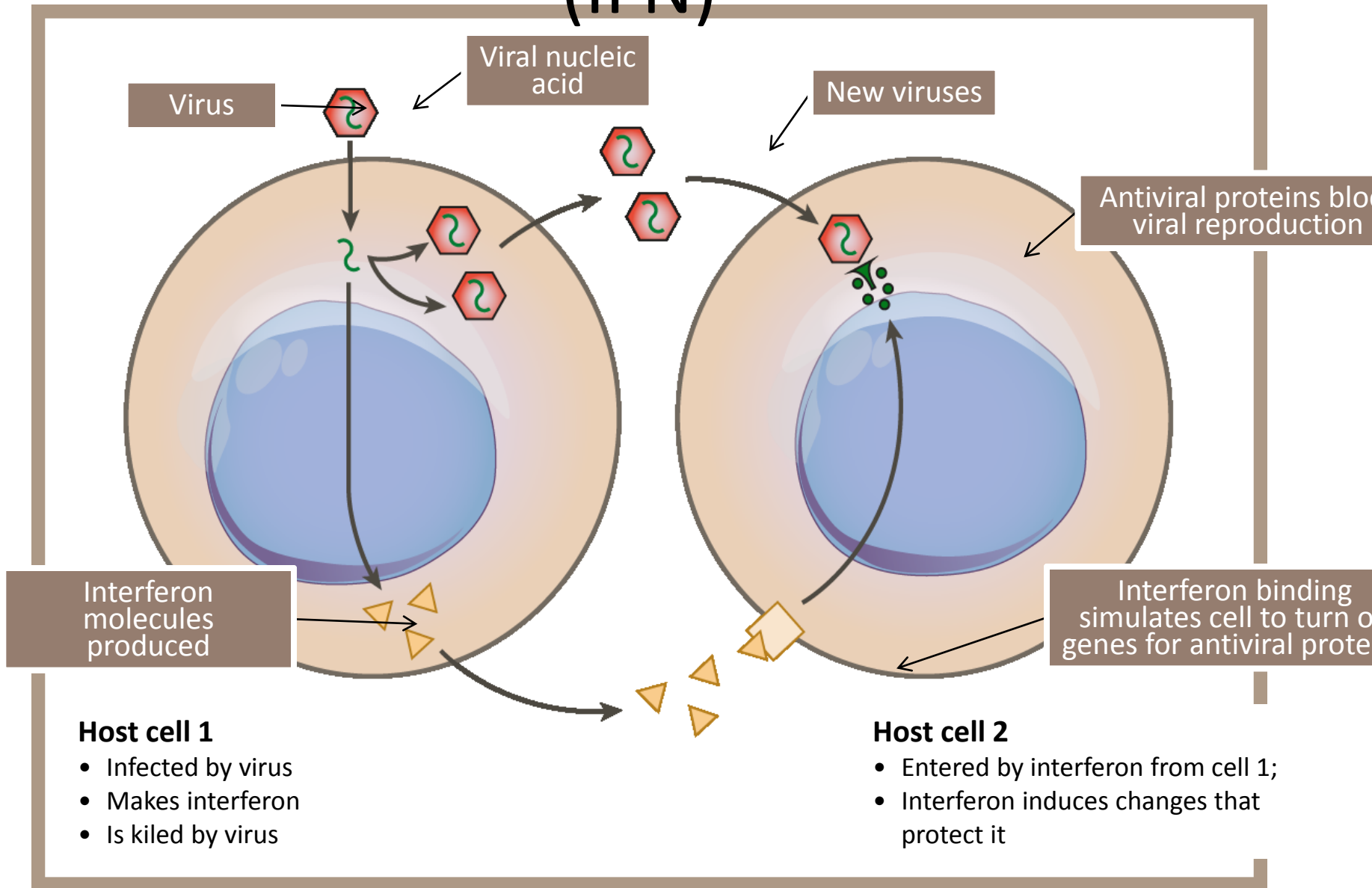
Funkce cytokinů

- Stimulační:
 - Stimulace T- lymfocytů: IL-2
 - Stimulace B-lymfocytů, produkce protilátek: IL-4, IL-5, IL-10, IL-21
 - Stimulace makrofágů: IFN- γ
 - Stimulace granulocytů: IL-8, chemokiny
 - Proliferace progenitorových buněk
- Prozánětlivé cytokiny: IL-1, IL-6, IL-18, TNF- α
- Regulační: IL-10, IL-13, TGF- β

Interferony

- Typ I: IFN α , IFN β : jsou produkovány některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, makrofágy). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.
- Typ II „Imunní“: IFN γ : produkován aktivovanými T_H1 buňkami, způsobuje aktivaci makrofágů.

Mechanismus účinku interferonu (IFN)



Cytokiny

- Uplatňují se v patogenezi:
 - atopických chorob (IL-4, IL-13 – stimulace tvorby IgE)
 - Zánětlivé choroby (TNF- α)
 - Imunodeficiency (defekt produkce IFN γ , IL-12)
- Ale lze je využít i terapeuticky
 - protinádorová léčba (IL-2, IFN- α)
 - Léčba sklerózy multiplex (IFN- β)
 - Léčba některých imunodeficitů (IFN- γ)

Komplementový systém

- Soustava 30 proteinů nacházejících se v tělních tekutinách nebo jsou vyjádřeny na povrchu buněk
- Nejdůležitější humorální součást imunity
- Podílí se na identifikaci nebezpečných vzorů mikroorganismů
- Na některé z nich se vážou složky komplementu
- Označené mikroby jsou pak identifikovány povrchovými receptory buněk imunitního systému, např. fagocyty
- Plně aktivovaný komplement je schopen usmrcovat především Gram-negativní bakterie, neutralizovat viry a opsonizovat
- Vztah k zánětu

Komplementový systému

- Soustava asi 30 sérových a membránových proteinů, některé z nich jsou latentní enzymy
- Po zakotvení některých složek na povrchu buňky dochází ke štěpení navázaných složek a získání enzymatické aktivity - konvertázy
- Kaskádovitě štěpí další složky a posouvají reakci k vytvoření membranolytického komplexu
- Odštěpené části složek, které nemají enzymatickou aktivitu, slouží především k opsonizaci
- Hlavní složky 9 sérových proteinů C1-C9
- C3 ústřední složka, C3b vazba na mikrobiální povrch,
- Terminální produkt komplementové kaskády C5b, C6, C7, C8 a C9 (MAC membrane attack complex)

Komplementový systém - funkce

- Proteolytickým štěpením dochází k aktivaci komplementové kaskády – vznik molekul s různými biologickými účinky:
- Označení nebezpečných vzorů mikroorganismů - opsonizace (C3b, C4b)
- Chemotaxe (C3a, C5a, komplex C567)
- Tvorba anafylatoxinů (C3a, C4a, C5a)
- Osmotická lýza (komplex C5b-C9)

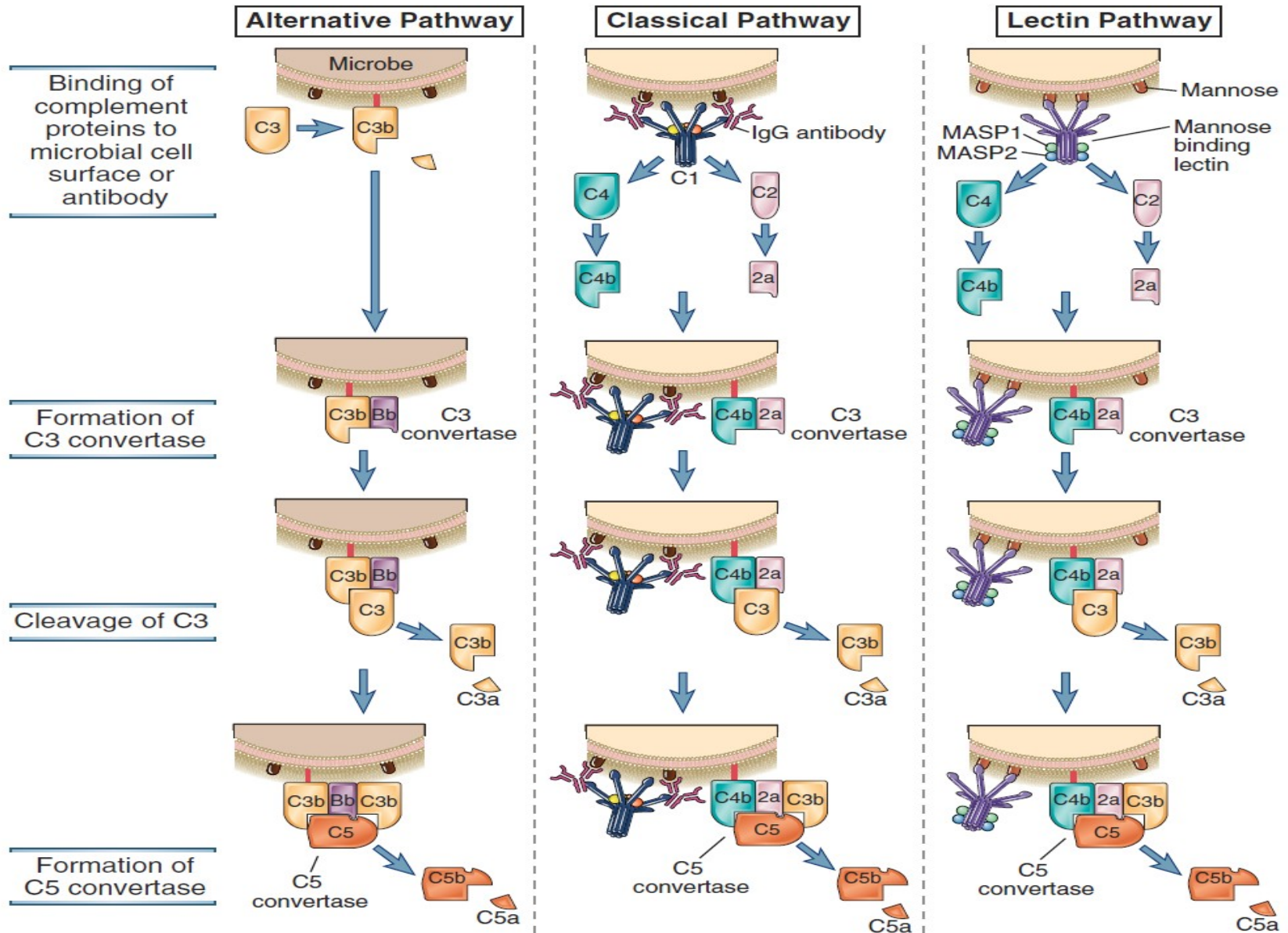
Aktivace komplementového systému

- Do úrovně složky C5b probíhá cestou enzymatické kaskády
- Od aktivované složky C5b dochází k neenzymatickému sestavení komplexu napadajícího membránu - MAC = Membrane Attact Complex
- Výsledkem je lýza buňky

Aktivace aneb cesty komplementového systému

- ☞ klasická - spouštěna vazbou C1q na Fc úsek molekuly IgG nebo IgM, nebo C-reaktivní protein
- ☞ alternativní - spouštěna bakteriálními produkty nebo jako následek spontánní hydrolýzy C3 složky komplementu regulačními faktory I a H
- ☞ lektinová - na C1q a na protilátce nezávislá, spouštěna vazbou MBL-mannan
- Různorodost aktivačních drah je výsledkem evolučního procesu
- Zajištění obranného potenciálu komplementového systému na přítomnost biologicky rozmanitých mikroorganismů

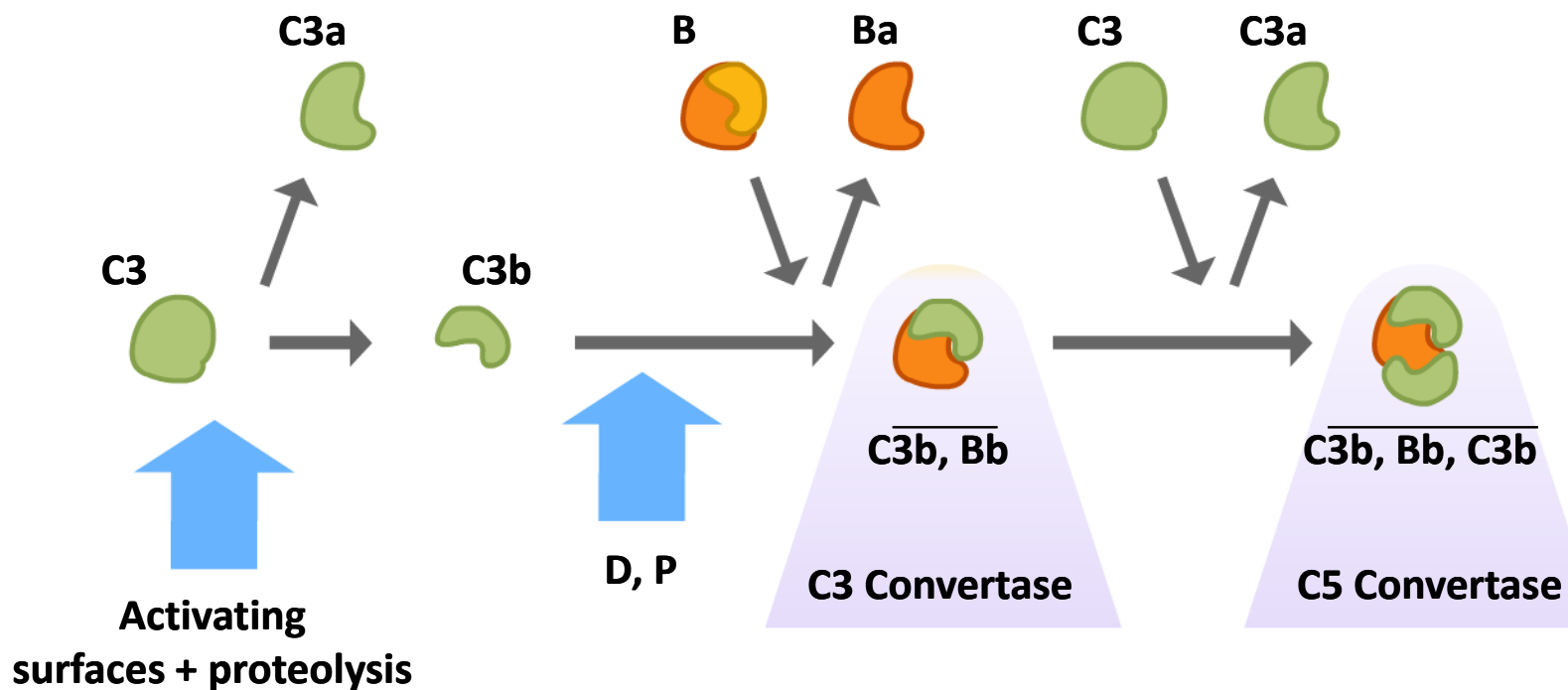
Aktivace komplementového systému



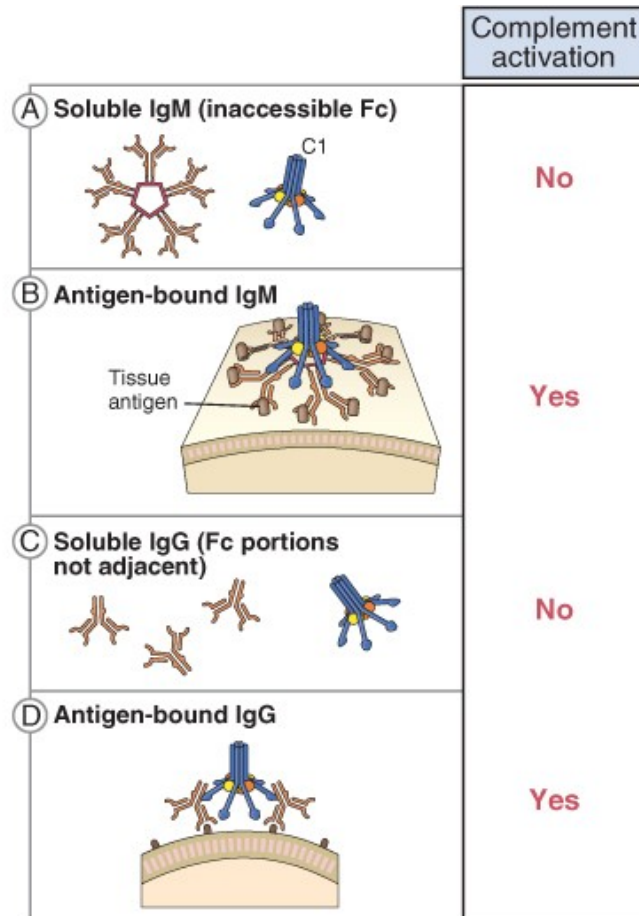
Alternativní dráha KS

- Fylogeneticky nejstarší
- Aktivována složka B komplementu
- Aktivace na základě přítomnosti molekul na povrchu mikroorganismu
 - Lipopolysacharid G- bakterií
 - Buněčná stěna některých bakterií
 - Buněčná stěna kvasinek (zymozan)
 - Agregovaný IgA
- Stabilizace komplexu se účastní složky D a P (properdin)
- Vzniká alternativní C3 konvertáza (C3bBb)

Aktivace alternativní dráhy komplementového systému



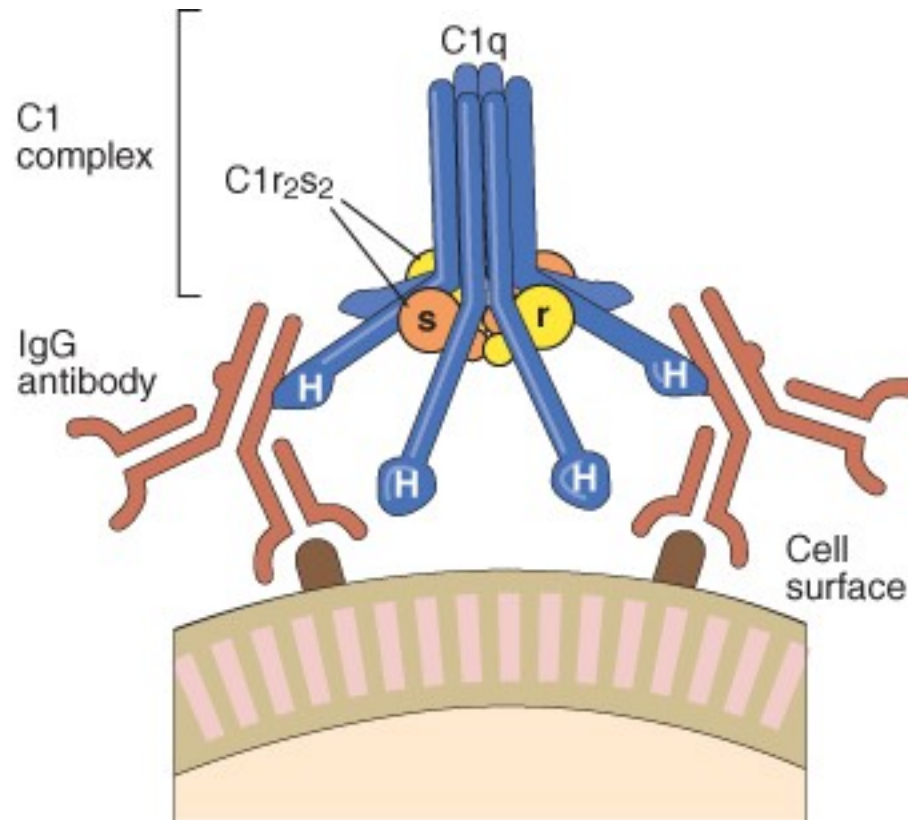
Klasická dráha aktivace komplementu



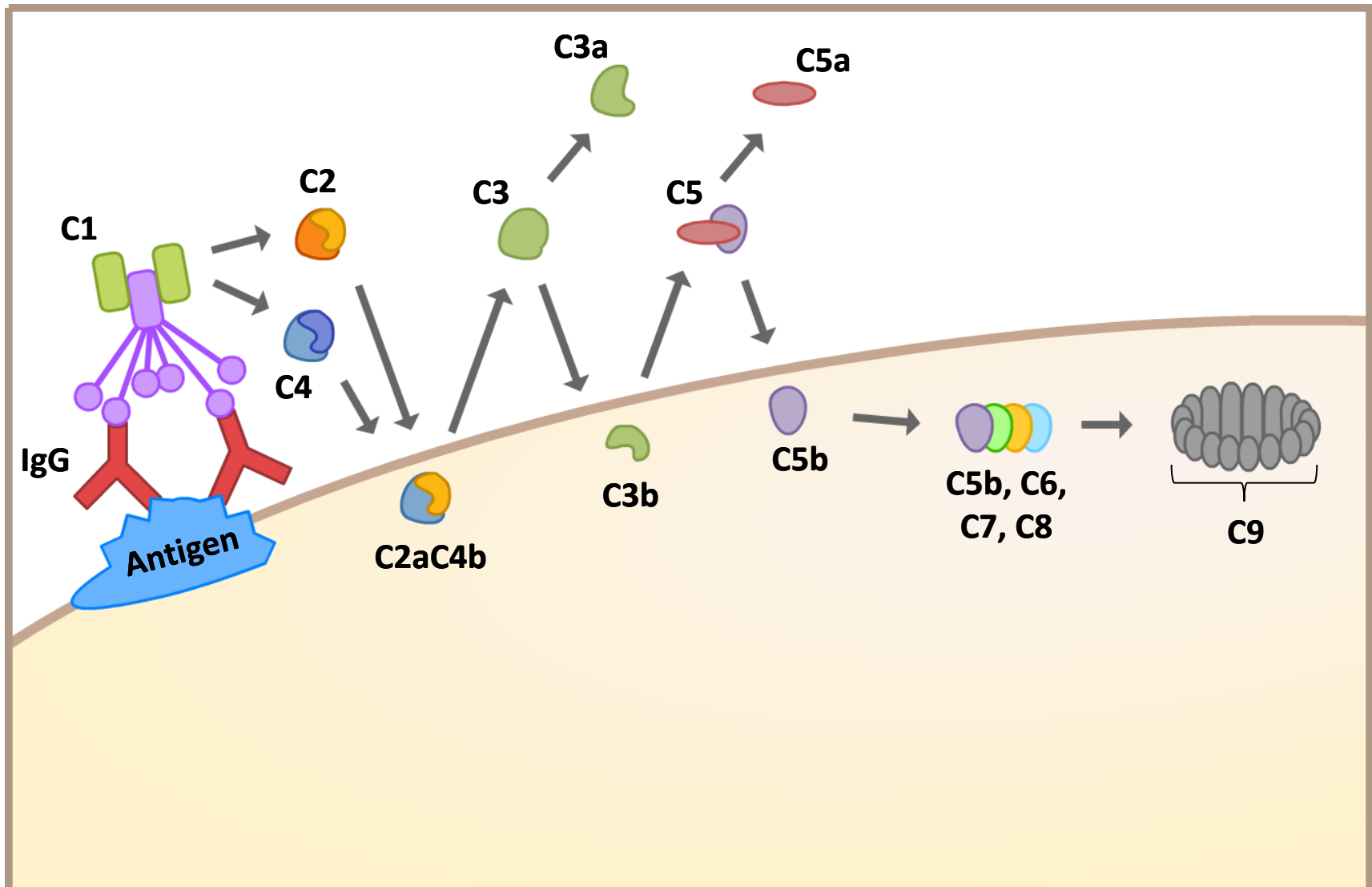
Klasická dráha komplementového systému

- Fylogeneticky nejmladší – závislá na působení protilátek
- Zahrnuje působení složek C1, C2, C4
- Vazba C1q části molekuly na Fc řetězec protilátek
- Na podjednotku C1q jsou navázány C1s a C1r, které se po vazbě C1q na molekulu protilátky aktivují
- C1r štěpí C1s, a tato pak štěpí složky C2 a C4

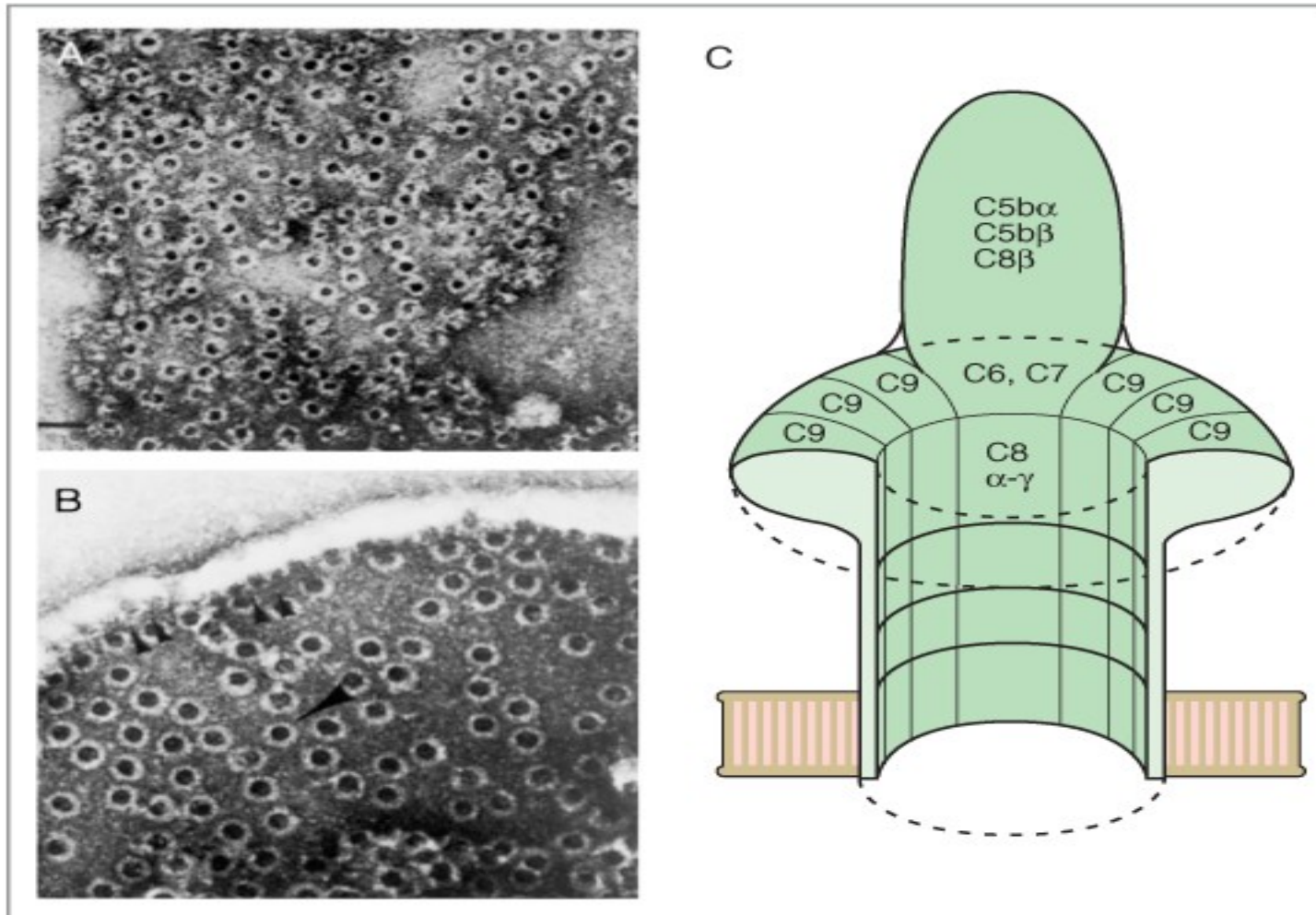
Jednotka C1



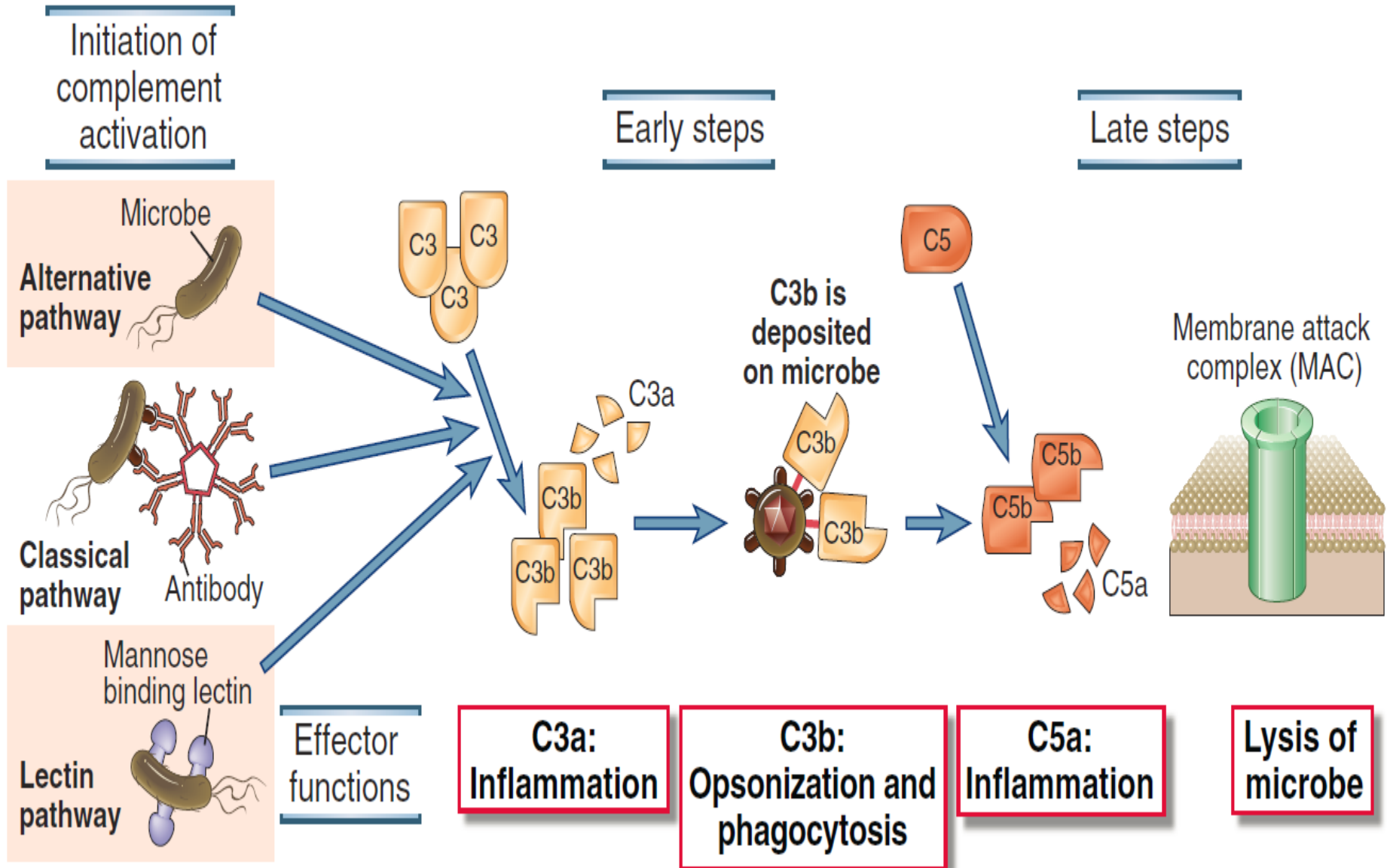
Aktivace klasické cesty komplementového systému



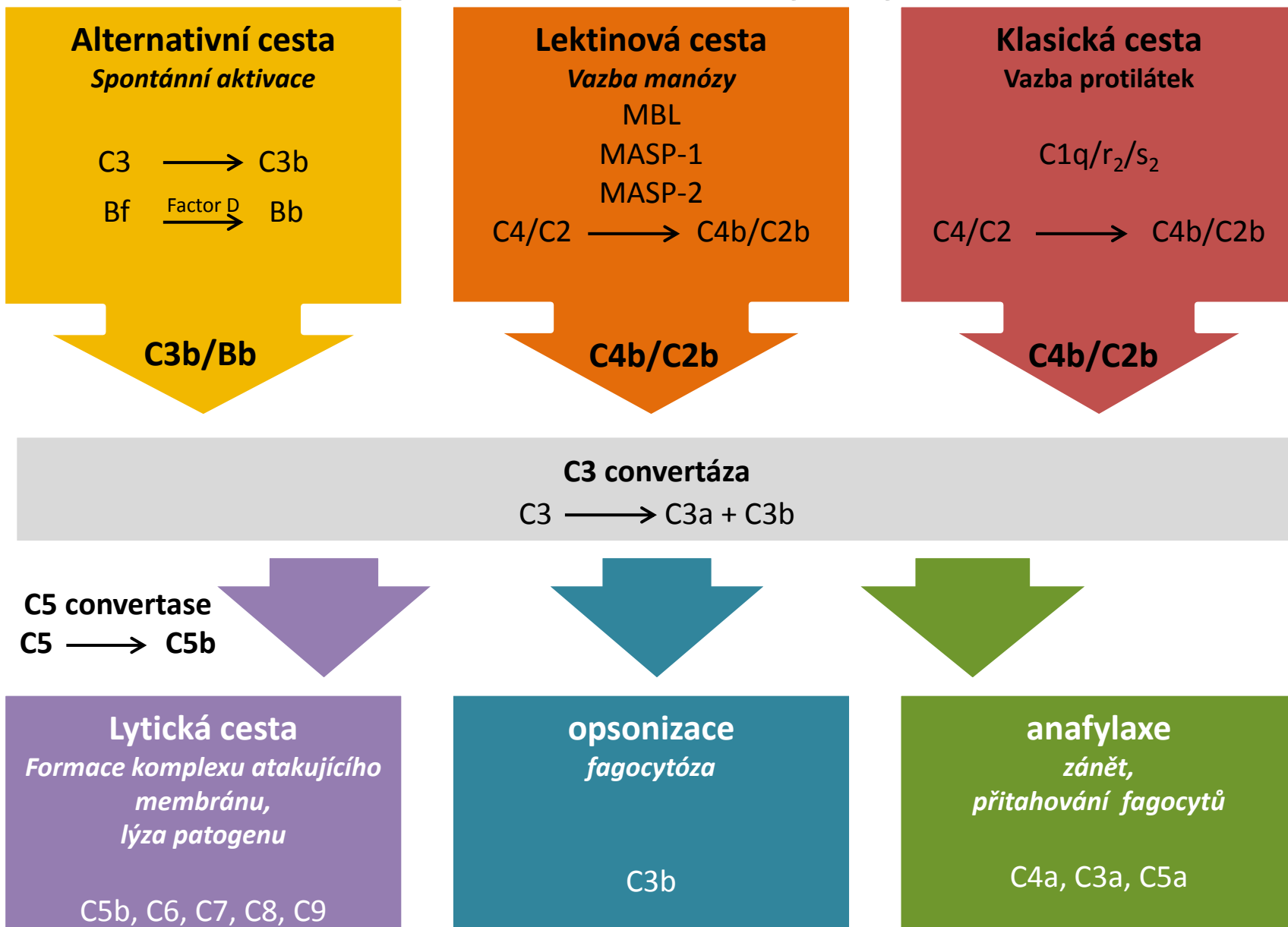
Membranolytický komplex



Aktivace komplementového systému



Komplementový systém



Biologicky aktivní produkty aktivace C

- C2b, C2a
- C3a, C3b
- C4a, C4b
- C5a, C5b
- C5b679(n)
- Ba, Bb

adhese, chemotaxe, aktivace buněk, lýza buněk, odstraňování imunokomplexů a buněčných odpadů, modulace aktivity APC, B - i T-lymfocytů

Deficience komplementového systému

- C1-C4 : častý vývoj systémových imunokomplexových chorob (SLE-like), náchylnost k pyogenním infekcím.
- C3-C9: zejména náchylnost k pyogenním infekcím. U deficitu C9 jsou typické opakované meningokové meningitidy.
- C1 INH: hereditární angioedém.

Základní indikace vyšetření složek komplementového systému

- **Podezření na deficit některé složky aktivačních drah:**
 - Funkční vyšetření klasické (CH 50) nebo alternativní (AH 50) dráhy
 - V případě patologického nálezu vyšetření hladiny jednotlivých složek komplementu.
- **Monitorování zánětlivého procesu:**
 - Složky komplementu se chovají jako proteiny akutní fáze.
 - Při silné aktivaci komplementu při imunokomplexových chorobách ale dochází k výrazné konzumpci.
- **Podezření na poruchu regulačních složek komplementové kaskády (hereditární angioedém):**
 - Vyšetření C1 INH a hladiny složek C3 a C4.

FUNKČNÍ VYŠETŘENÍ KLASICKÉ DRÁHY

Hemolytický test CH50

!Odběr sražené krve do skleněné zkumavky, nutno zpracovat do 1 hodiny!

- erythrocyty po inkubaci s protilátkami (amboceptorem) vytvoří komplex antigen – protilátka
- přidání vyšetřovaného séra (obsahuje komplement)
- lýza erythrocytů se projeví uvolněním hemoglobinu; detegujeme spektrofotometricky

Imunochemické vyšetření jednotlivých složek komplementového systému

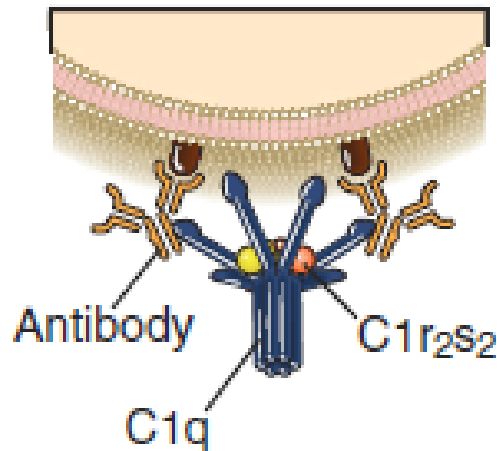
- **C3** (0,7 – 1,5 g/L)
- **C4** (0,1 – 0,4 g/L)
- **C1-INH** (210-390 mg/L); + funkční test
- **C1q** (100-250 mg/L), **C2** (10 – 30 mg/L), **C5** (80 – 170 mg/L)
- **MBL** (0,3 – 3,5 mg/L)

Lektin vázající manózu (MBL)

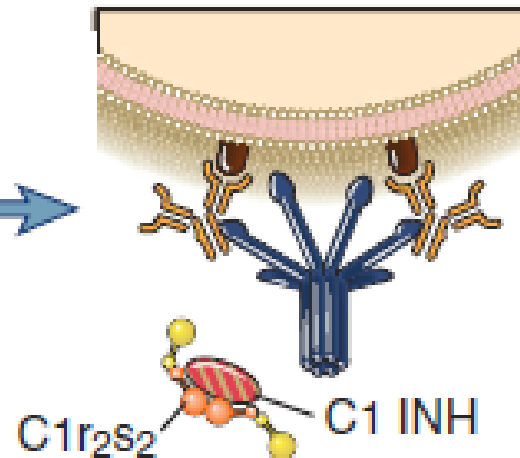
- Po vazbě na manózové zbytky na povrchu bakterií aktivuje C2 a C4.
- Asi u 25% populace lze prokázat heterozygótní deficit.
- Deficit MBL je asociován s vyšší frekvencí banálních infekcí a komplikací při cytostatické léčbě.

Funkce C1-INH

C1q binds to antigen-complexed antibodies, resulting in activation of C1r₂s₂



C1 INH prevents C1r₂s₂ from becoming proteolytically active



Hereditární angioedém

- Způsoben deficitem C1 INH, dominantně dědičný
- Při traumatech, stomatologických výkonech, infekcích, menstruaci dochází k nekontrolované aktivaci komplementového systému
- Vazoaktivní peptidy způsobují zvýšenou vaskulární permeabilitu se vznikem edémem; terčem terapie může být bradykinin
- Klinické příznaky- nesvědivé kožní otoky, dechové obtíže, průjmy, křeče v břiše

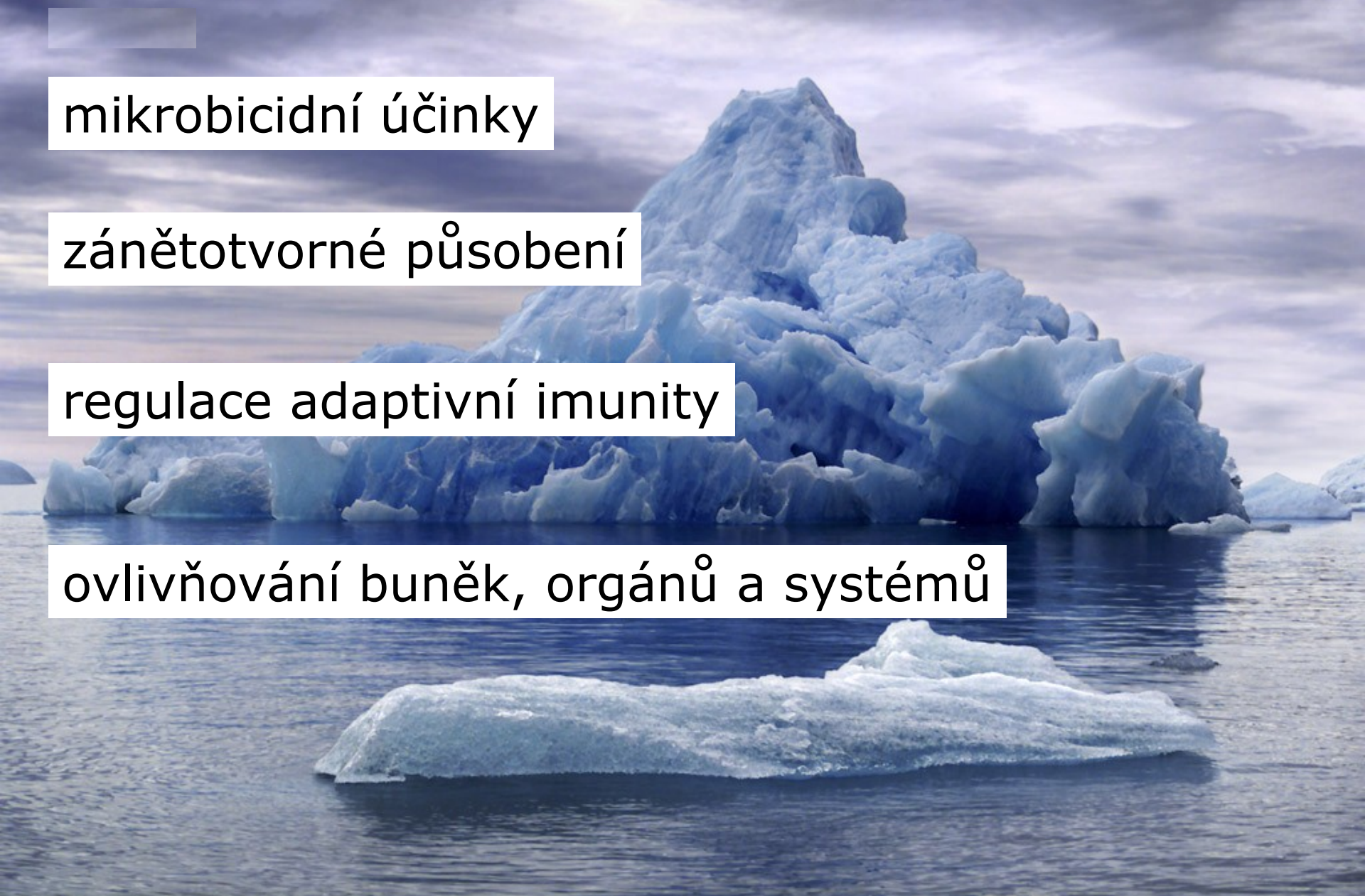
Komplementový systém je pilířem imunity

mikrobicidní účinky

zánětotvorné působení

regulace adaptivní imunity

ovlivňování buněk, orgánů a systémů



Zánět

- fylogeneticky stará a monotónní obranná reakce
- efektorový mechanismus nejen vrozené , ale i adaptivní imunity
- rozvoj zánětu:
 - rozpoznání nebezpečného podnětu
 - vyhodnocení charakterů podnětu a rizika
 - vylití granul, transkripce genů, ..
- každý zánět má imunopatologickou složku

Zánět- komplexní obranná reakce systému vrozené imunity

- na infekci bakteriální, virovou, parazitární,
- na poškození tkání fyzikálními a chemickými faktory
- na efektorové stadium adaptivní imunitní reakce

**Směřuje k odstranění škodliviny a k obnově
poškozených struktur a funkcí**

Zánět

- rychlá odpověď organismu na poškození tkání, (neimunologický podnět)
- nebo infekci (imunologický podnět)
- vede k lokalizaci onemocnění
- Eliminace případné infekce
- zahojení
- Reakce organismu může být místní nebo celková – závisí na rozsahu poškození a délce trvání

Dva druhy zánětu

- Akutní zánět – fyziologický proces:
 - Odezní bez důsledků, dochází ke zhojení poškozené tkáně
- Chronický zánět – patologická reakce
 - Patologický, dochází k destrukci tkáně, nahrazování vazivem a vede k trvalému poškození

Průběh zánětlivé reakce

- Fagocyty a tkáňové žírné buňky – uvolnění obsahu granulí do okolí
- Látky uvolněné z poškozených buněk –
- **Důsledek** - zvýšení permeability cév – tzn. prostup plazmatické tekutiny do extravaskulárního prostoru a vzniká otok

Klasické známky zánětu

- Bolest
- Zarudnutí
- Otok
- Horečka

Clinical symptoms of inflammation: pain, redness, heat, swelling

1. Increased vascular diameter, increased blood flow (heat, redness)
2. Activation of vascular endothelium to express adhesion molecules, increases leukocyte binding
3. PMNs are first cell type recruited to site, followed later by monocytes
4. Increased vascular permeability results in local swelling and pain

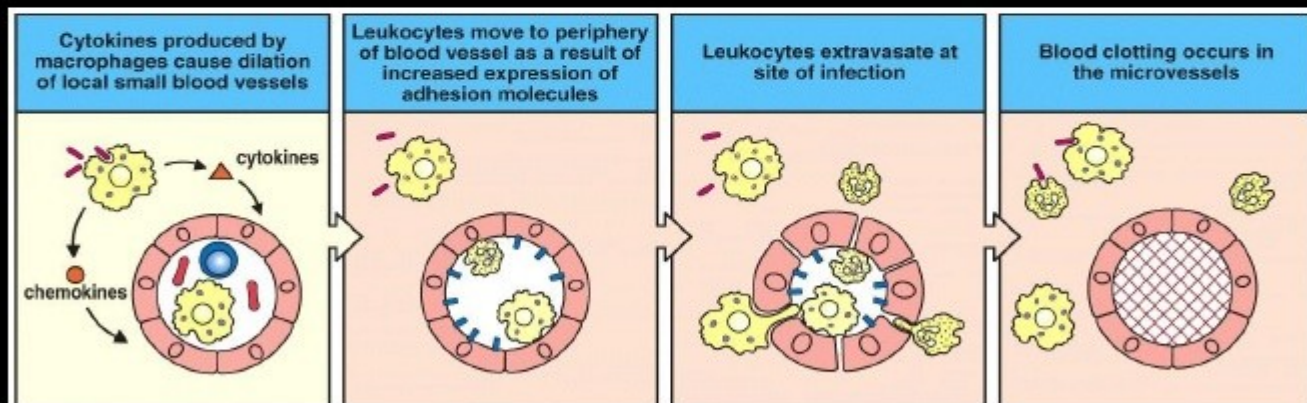


Figure 2-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Microvascular coagulation helps prevent pathogen spread into bloodstream (physical barrier)

Zánět - průběh

- Zvýšení adhezivity endotelií expresí adhezivních molekul – zachycení fagocytů a lymfocytů – jejich průnik do tkáně
- Aktivace koagulačního, fibrinolytického, komplementového a kininového systému
- Ovlivnění místních nervových zakončení (bolest)
- Změny regulace teploty (některé mediátory působí jako pyrogeny)

Vliv prozánětlivých cytokinů

- Uplatňuje se zejména IL-1, IL-6 a TNF- α .
- Ovlivněním hypotalamického centra termoregulace se zvyšuje tělesná teplota
 - Aktivátor metabolických pochodů v buňkách IS: indukce exprese heat shock protein (HSP) (pomoc při skládání nativních nově syntetizovaných proteinů do správných konformací)
- Aktivace osy hypothalamus – hypofýza nadledinky – mobilizace tkáňového metabolismu
- Cytokiny se dostávají do oběhu – stimulace sérových proteinů tzv. “proteinů akutní fáze”.
- Klesá sérová hladina Fe a Zn.
- Objevuje se únavnost, ospalost, nechutenství.

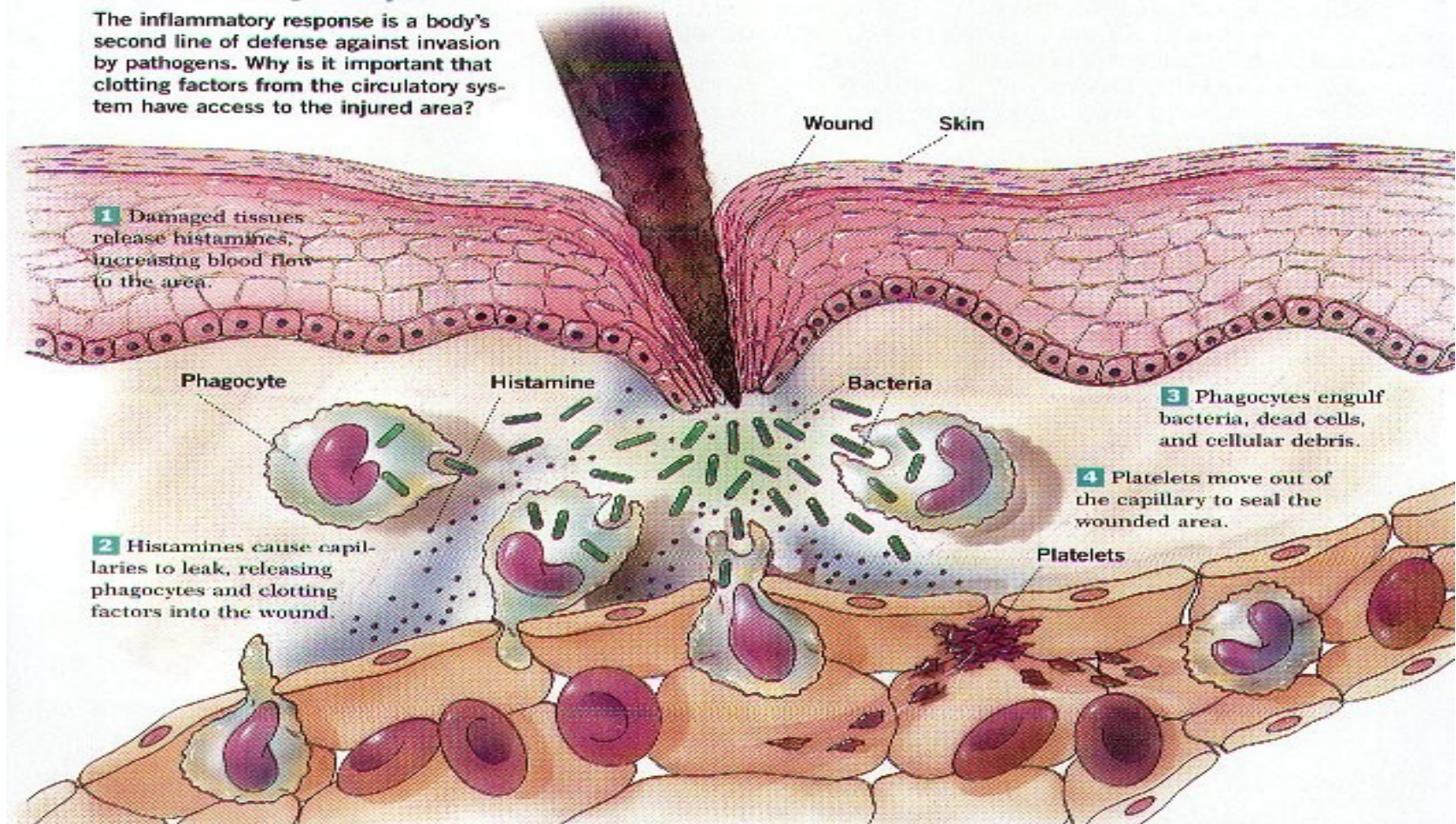
Hlavní události v místě zánětu

- Hlavní roli hrají složky nespecifické imunity
 - Vznik vasoaktivních a chemotaktických látek, často produktů aktivace komplementového systému.
 - Zvýšený přítok krve do místa zánětu.
 - Příliv zánětotvorných buněk, zejména granulocytů a makrofágů.
 - Zvýšená cévní permeabilita vede k přechodu bílkovin do extravaskulárních prostorů.

Iniciace zánětlivé odpovědi

Steps of the Inflammatory Response

The inflammatory response is a body's second line of defense against invasion by pathogens. Why is it important that clotting factors from the circulatory system have access to the injured area?



Laboratorní známky zánětu

- leukocytóza,
- zvýšená FW
- zvýšené hladiny reaktantů akutní fáze
- snížené hladiny železa a zinku v plazmě

Proteiny akutní fáze

- Jejich hladina se zvyšuje v dob akutního zánětu
- Jsou produkovány hlavně játry pod vlivem IL-1, IL-6, TNF- α
- Nejznámější a diagnosticky nejčastěji využívaný: C-reaktivní protein (CRP)
- Další: součásti komplementového systému, alfa-1-antitrypsin, sérový amyloid A, fibrinogen...

Proteiny akutní fáze

Oponizace

- CRP – C-reaktivní protein
- SAP – sérový amyloid
- Složky komplementu C3, C4

CRP a SAP váží nukleoproteiny vzniklé při rozpadu tkání a napomáhají jejich odstraňování fagocytózou

Zvýšená syntéza sérových transportních proteinů (ceruloplazmin, feritin)

Antimikrobiláních proteinů – hepcidin

Snižuje se tvorba albuminu, prealbuminu, transferinu

Nejdůležitější léky využívané k tlumení zánětlivých procesů

- Nesteroidní antiflogistika (antirevmatika): kyselina acetylosalicylová, paracetamol...
- Glukokortikoidy
- Antimalarika
- Koloidní zlato
- Monoklonální protilátky proti prozánětlivým cytokinům a adhezivním molekulám.

Reparace poškozené tkáně

- Eliminace poškozených buněk makrofágy
- Aktivace fibroplastických mechanismů
- Aktivace angiogeneze
- Regenerace a remodelace tkání
- Kontrolováno hormony enzymy a cytokiny
- U chronického zánětu zvýšená sekrece TGF beta – aktivace fibroblastů – vznik fibrotické tkáně

Mediátory zánětlivé odpovědi

- IL-1, IL-6, TNF- α – celkové zánětlivé příznaky
- IL-1, TNF- α , IL-18 - lokální aktivace buněk imunitního systému
- IL-8, leukotrieny, prostagladiny, C5a- chemotaxe.
- Histamin, serotonin, metabolity kys. arachidonové - vazodilace, ovlivnění permeability.

Monitorování akutního zánětlivého procesu

Tělesná teplota

Sedimentace erytrocytů (FW)

Počet leukocytů v krvi

Změny spektra sérových bílkovin

v elektroforéze (pokles albuminu, vzestup $\alpha 1$ a $\alpha 2$ globulinů)

Sledování hladin proteinů “akutní fáze”