

IMUNITA VROZENÁ

Marcela Vlková

Vrozená imunita

Fyzikální bariéry

Kůže
Sliznice
Respirační trakt
Močový trakt

Chemické bariéry

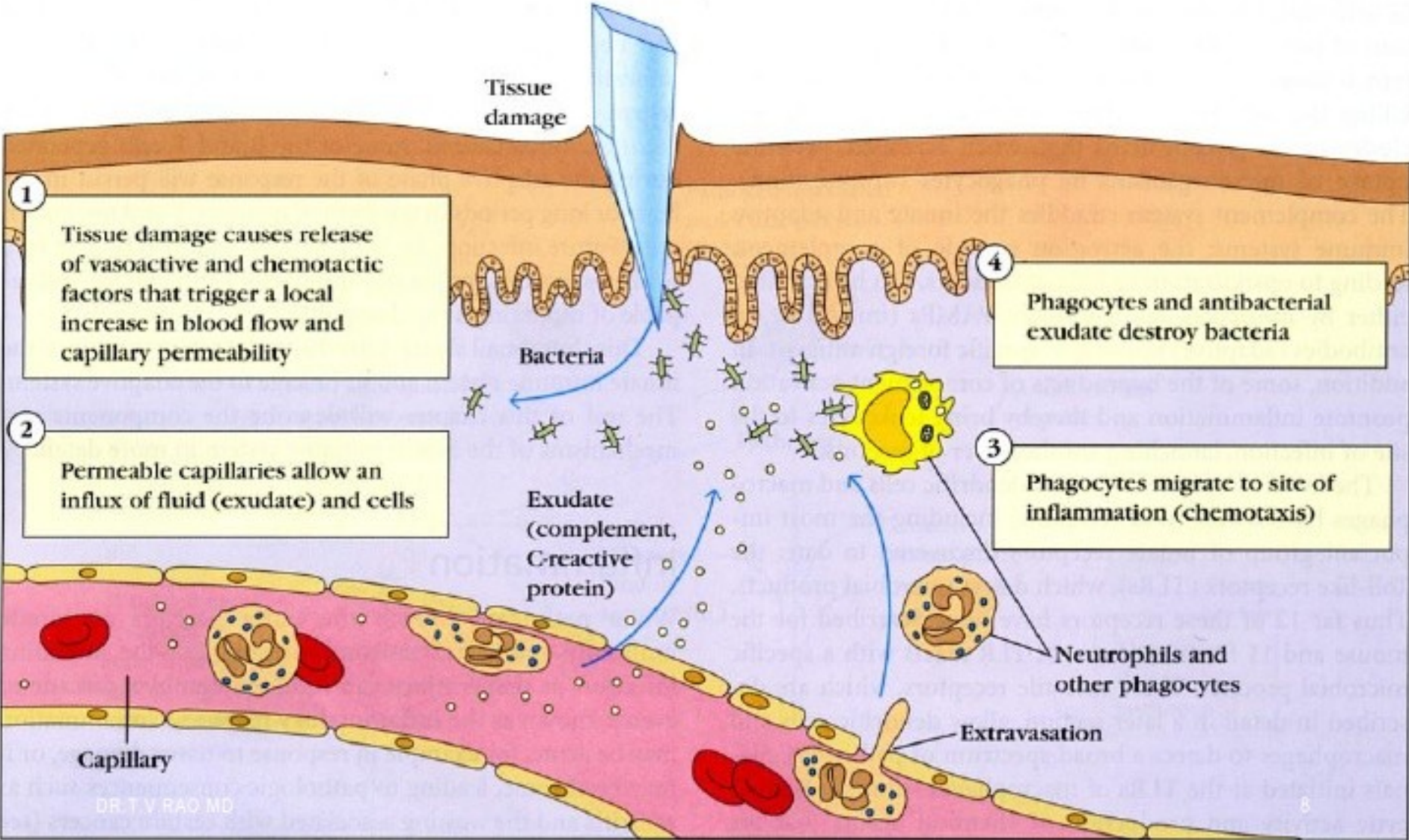
pH (kůže 5,5, žaludek 1-3, vagina 4,5)
sekrece
antimikrobiálních peptidů
(lysozym, defensiny, cathelicidiny...)

Biologické bariéry

Mikroorganismy
fyziologické
mikroflóry
(komensální
mikroorganismy)

Celulární složky

Makrofágy, neutrofily
Mastocyty, eosinofily,
bazofily
Epitelové a
endotelové
buňky,
erytrocyty,
destičky
NK-buňky
Dendritické buňky



Komplementový systém - funkce

Skupina proteinů – 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)

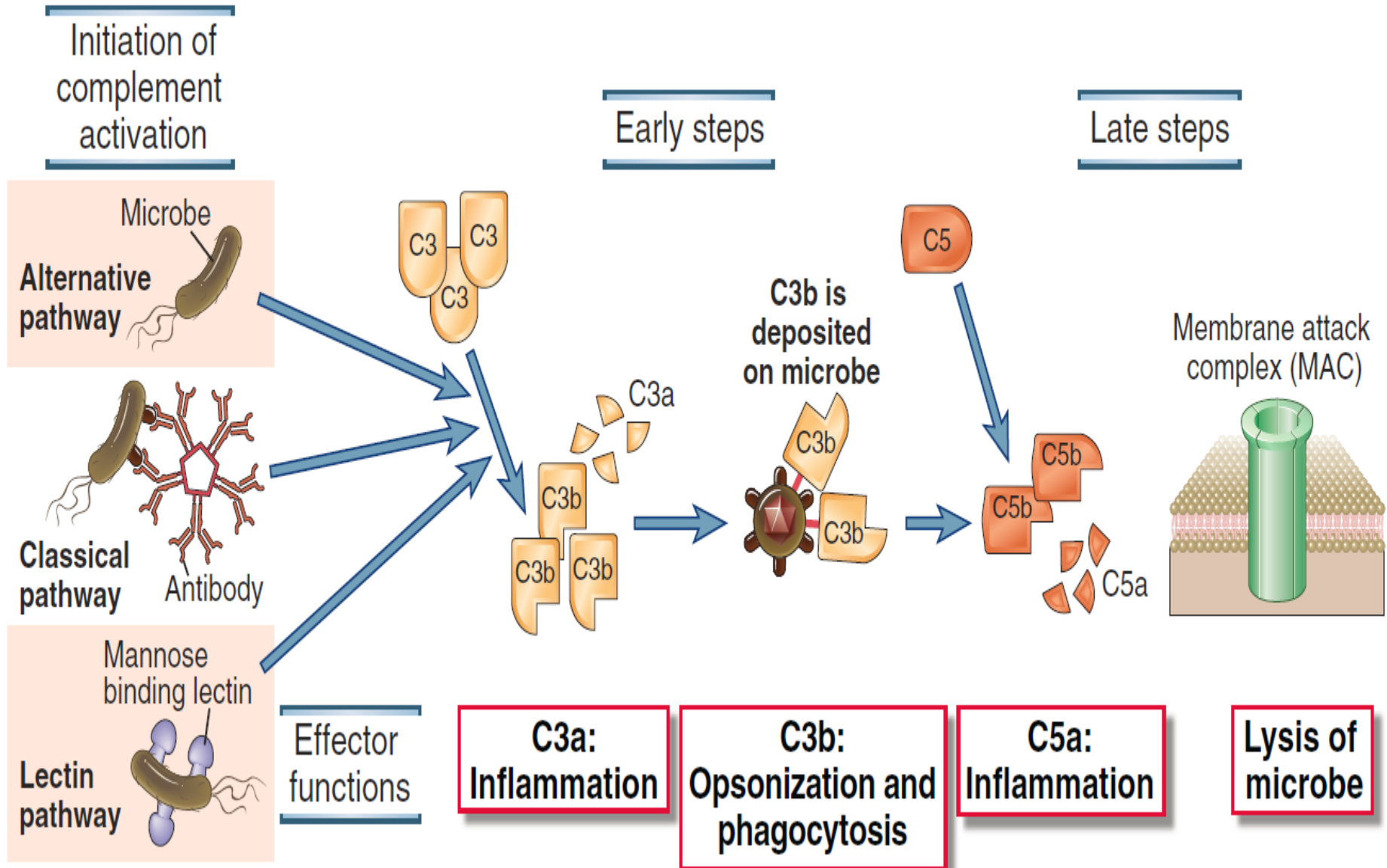
Komplementový systému

- Soustava asi 30 sérových a membránových proteinů
- Hlavní složky 9 sérových proteinů C1-C9
- Kaskádovitá aktivace
- C3 ústřední složka, C3b vazba na mikrobiální povrch
- Terminální produkt komplementové kaskády C5b, C6, C7, C8 a C9 (MAC membrane attack complex)

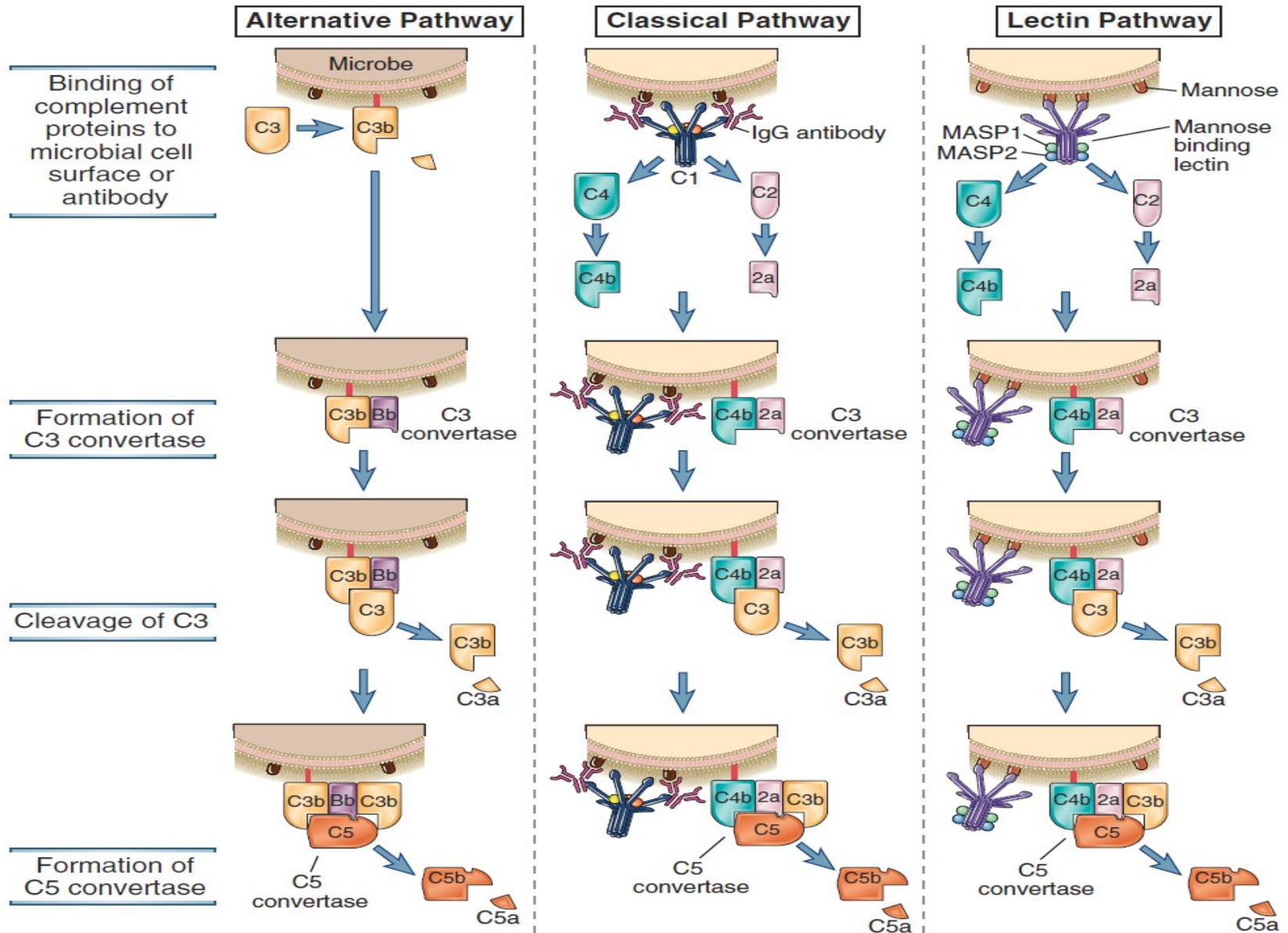
Aktivace aneb cesty komplementového systému

- ☞ klasická - spouštěna vazbou C1q na Fc úsek molekuly IgG nebo IgM
- ☞ 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

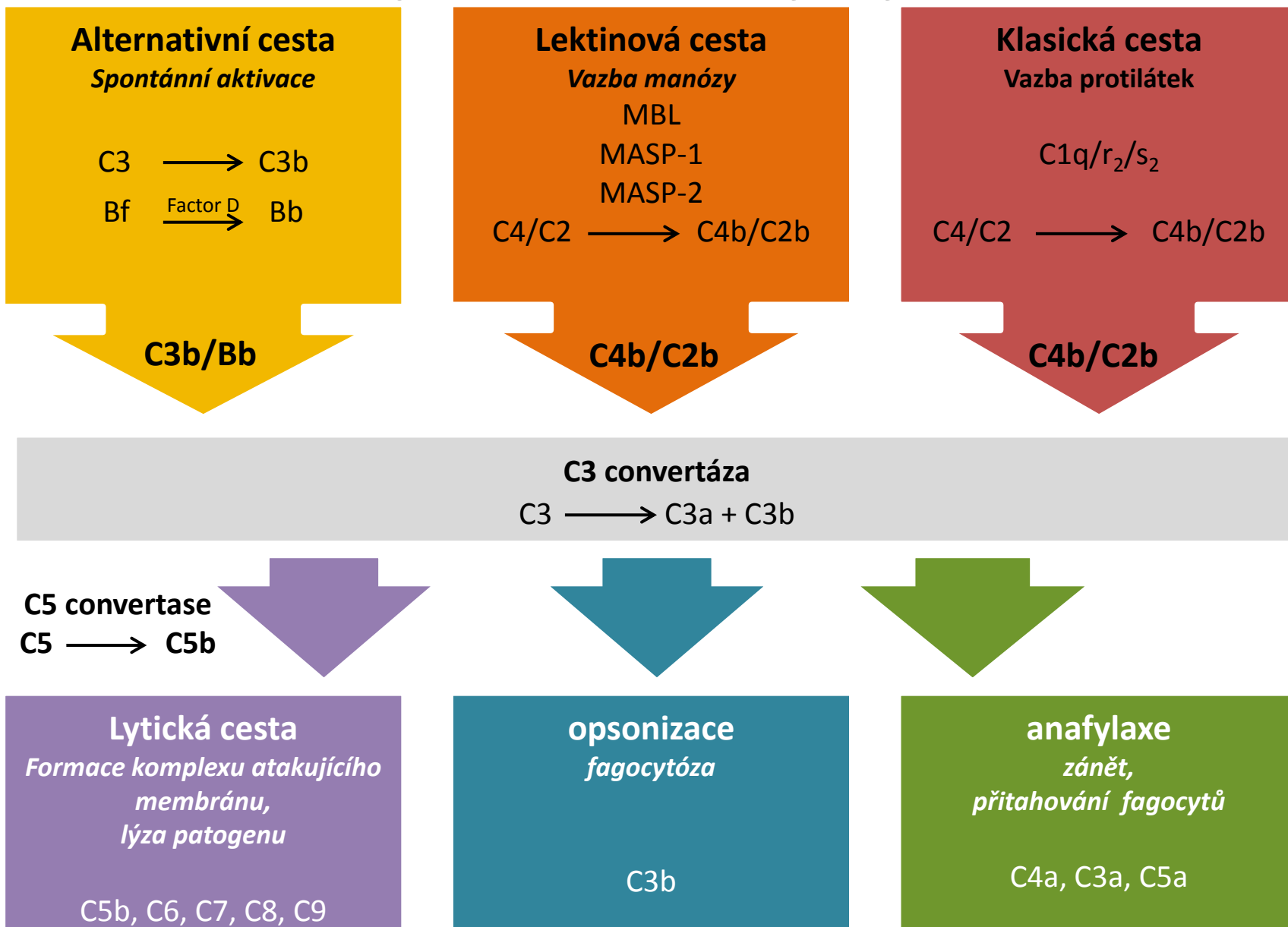
Aktivace komplementového systému



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

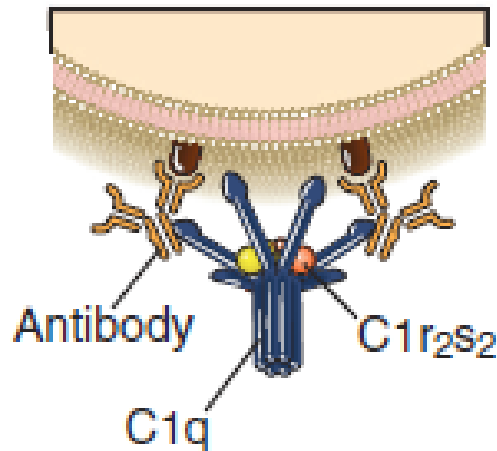
- **C3** (0,7 – 1,5 g/L)
- **C4** (0,1 – 0,4 g/L)
- **C1-INH** (210-390 mg/L); + funkční test
- **C1q** (100-250 mg/L), **C2** (10 – 30 mg/L), **C5** (80 – 170 mg/L)
- **MBL** (0,3 – 3,5 mg/L)

Lektin vázající manózu (MBL)

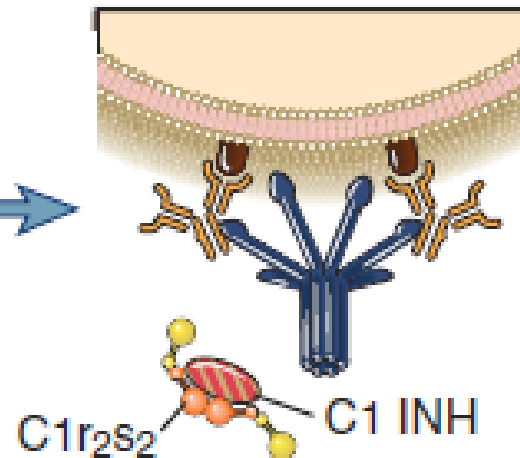
- Po vazbě na manózové zbytky na povrchu bakterií aktivuje C2 a C4.
- Asi u 25% populace lze prokázat heterozygótní deficit.
- Deficit MBL je asociován s vyšší frekvencí banálních infekcí a komplikací při cytostatické léčbě.

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

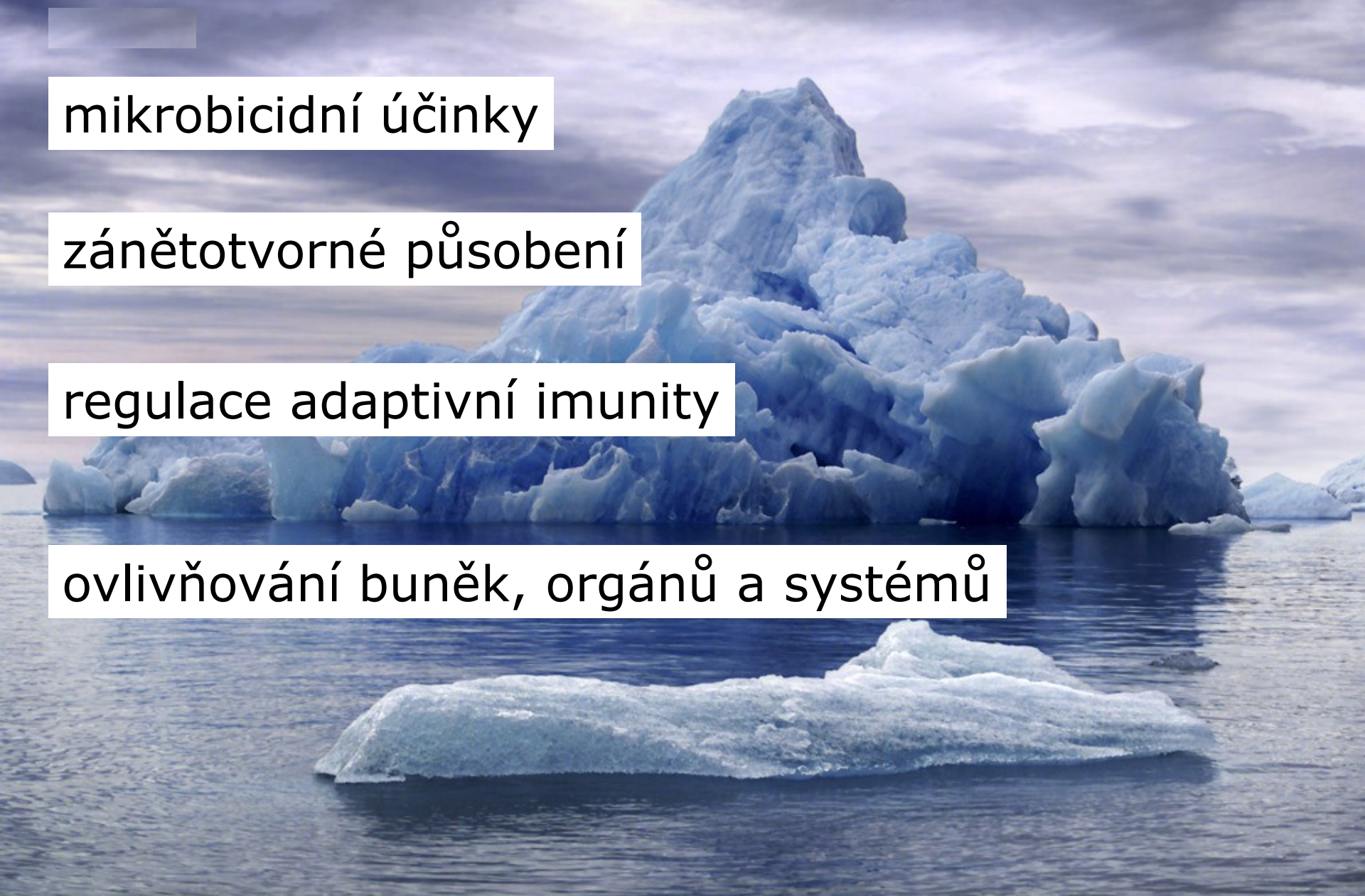
Komplementový systém je pilířem imunity

mikrobicidní účinky

zánětotvorné působení

regulace adaptivní imunity

ovlivňování buněk, orgánů a systémů



Vrozená imunita – charakteristické rysy

- Vytvořila se k rozpoznávání cizích mikroorganismů, nikoliv vlastních molekul
- Aktivace reakce nastává během několika minut po rozpoznání patogenu
- Nevytváří imunologickou paměť
- Je závislá na zárodečně kódovaných receptorech rozeznávajících struktury společné mnoha patogenům

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:

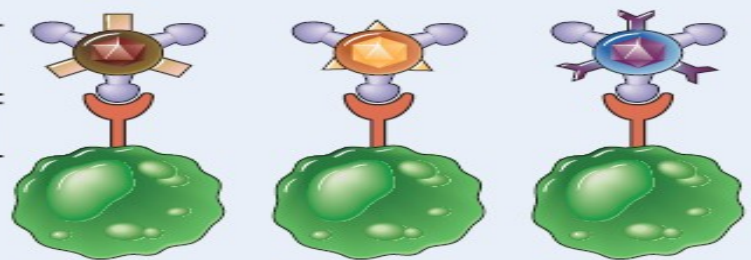
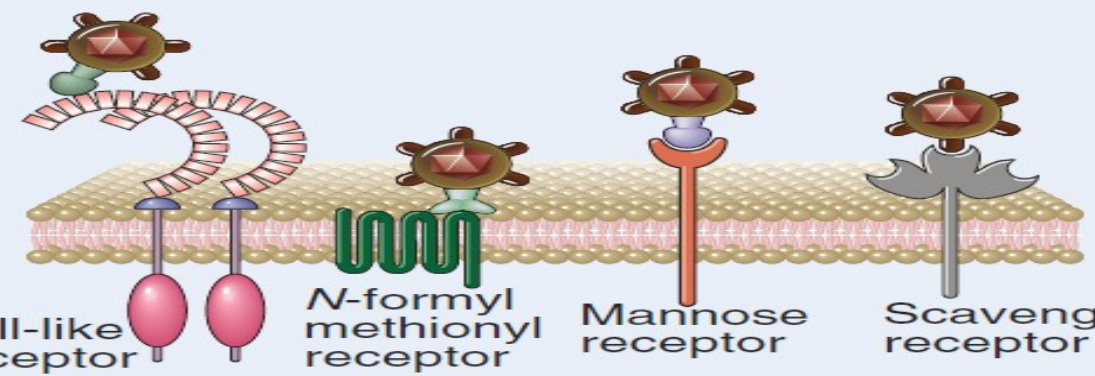
Poznávací schopnost PRR je omezená, odhaduje se na cca 10^3 „molekulárních vzorců“, zatímco *adaptivní imunitní systém je schopen odlišit (TCR, BCR lymfocytů) více než 10^{7-8} epitopů antigenů.*

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

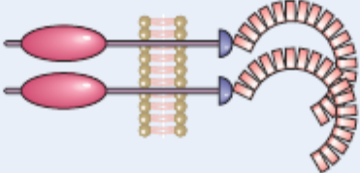


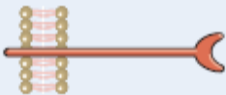
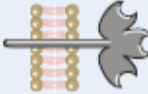

PRR- Pattern Recognition Receptors

- 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

Vrozená imunita

Humorální složky

Mikrobicidní faktory (lysozym, defensiny, katherlicidiny a další)

Histamin, eikosanoidy


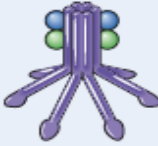


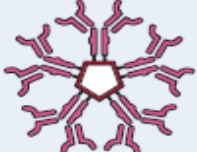
Komplementový systém

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 plísňí 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

Celulární složky vrozené imunity



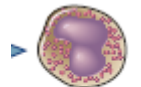
Erythrocyte

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



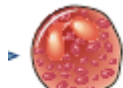
Platelet

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

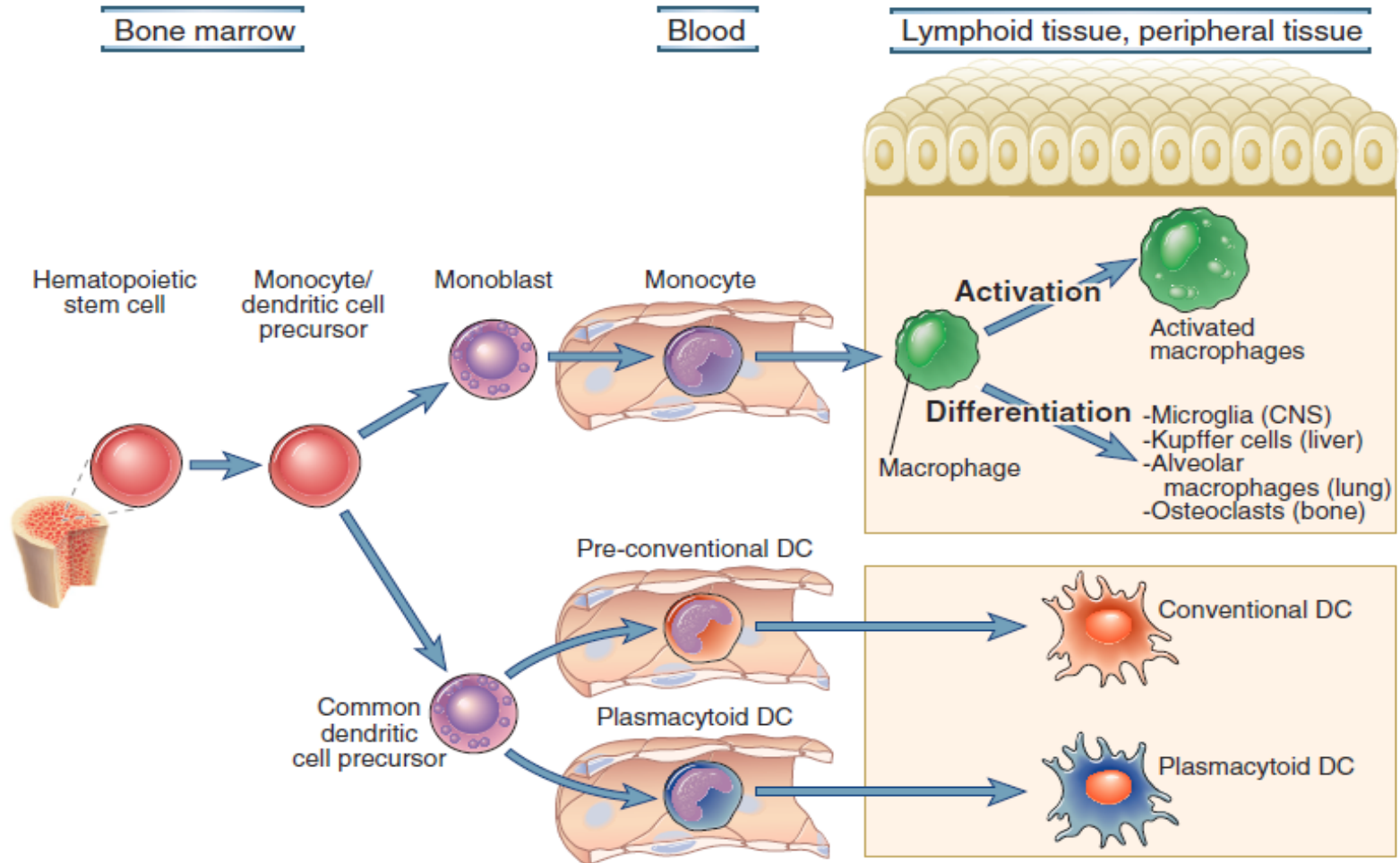
Celulární složky vrozené imunity

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.

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

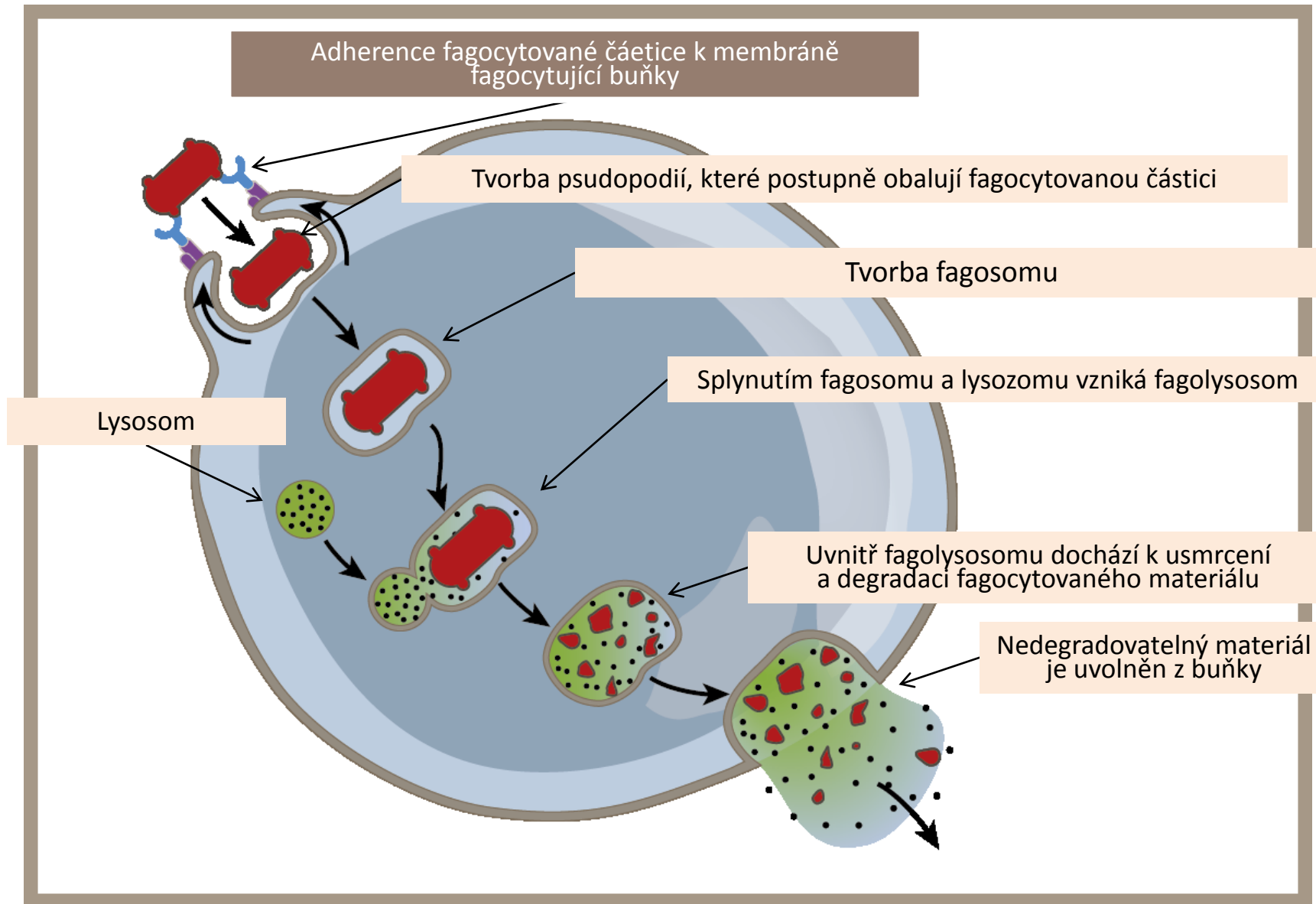
Nízké pH

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

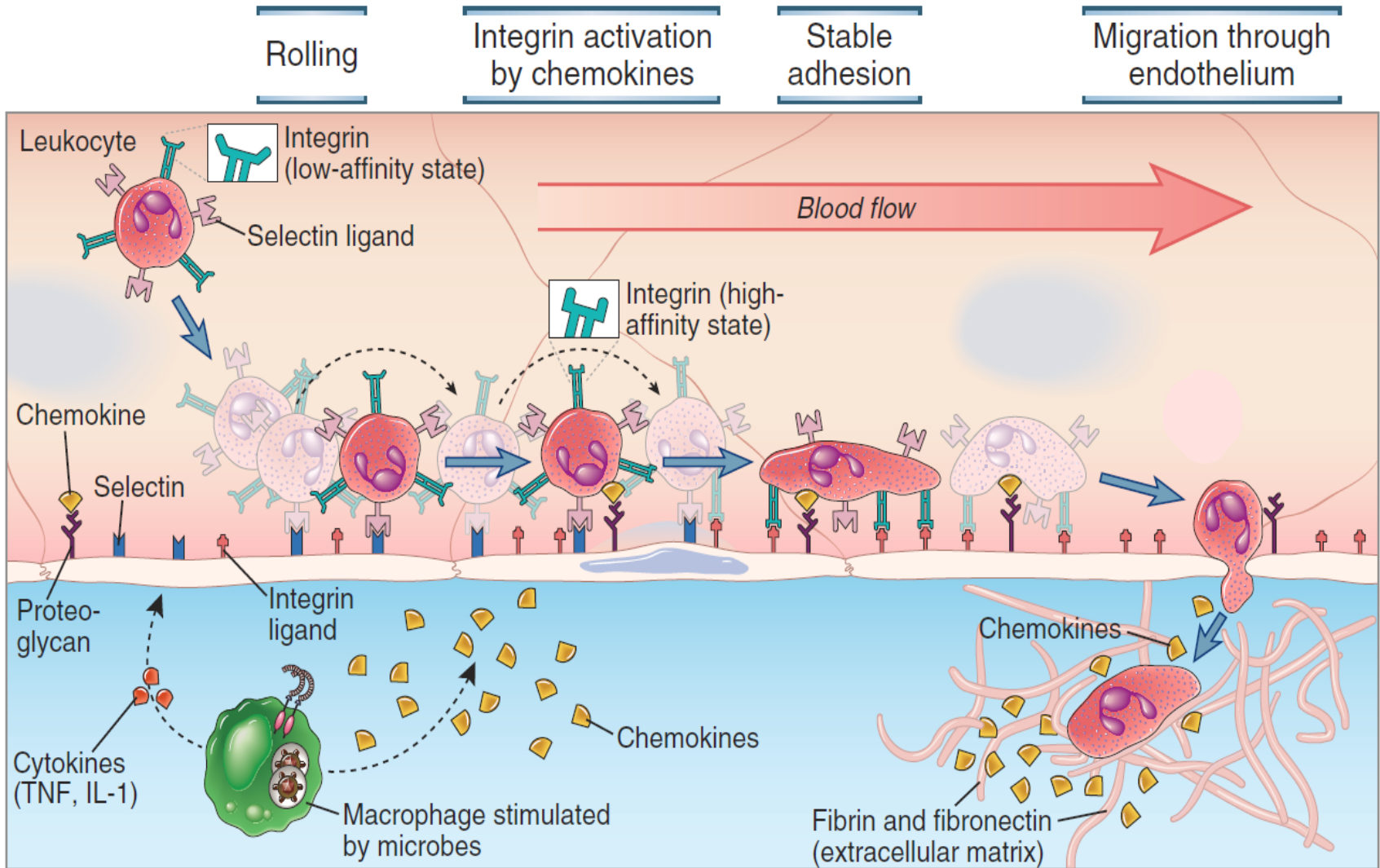
Indikace k vyšetření fagocytárních schopností granulocytů

- 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.

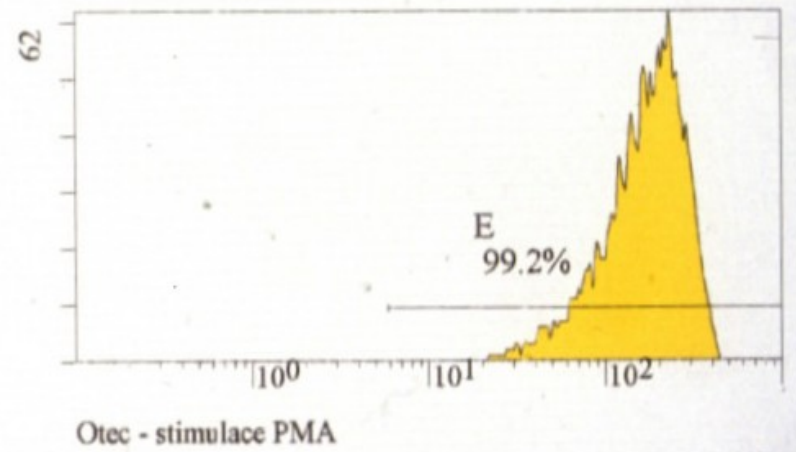
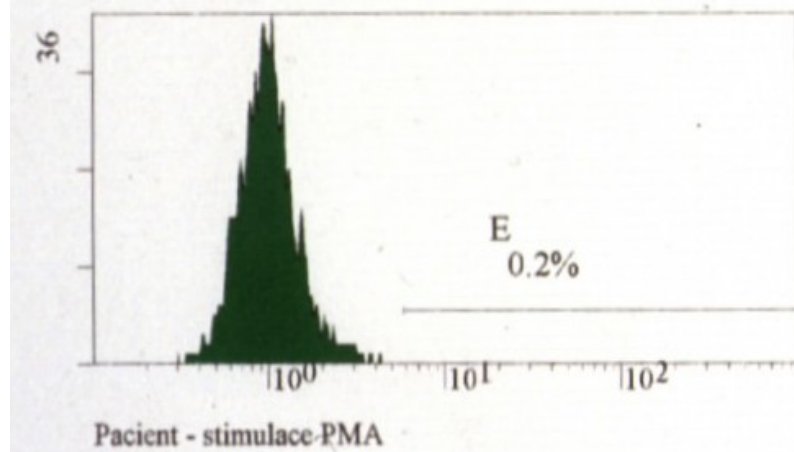
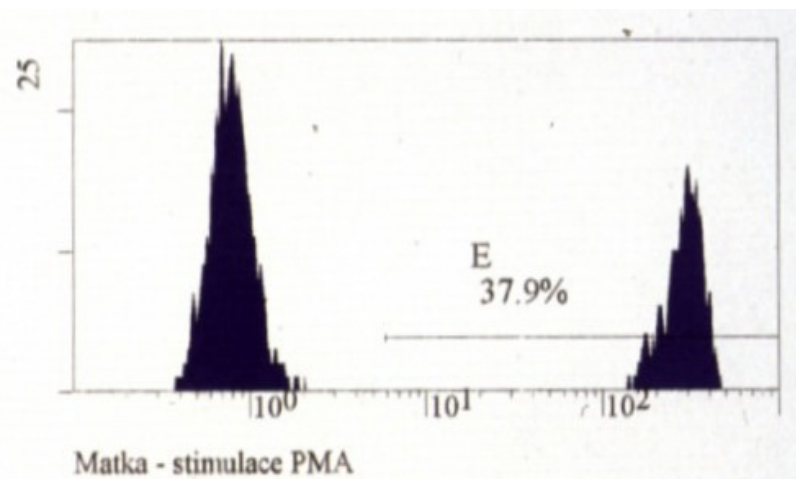
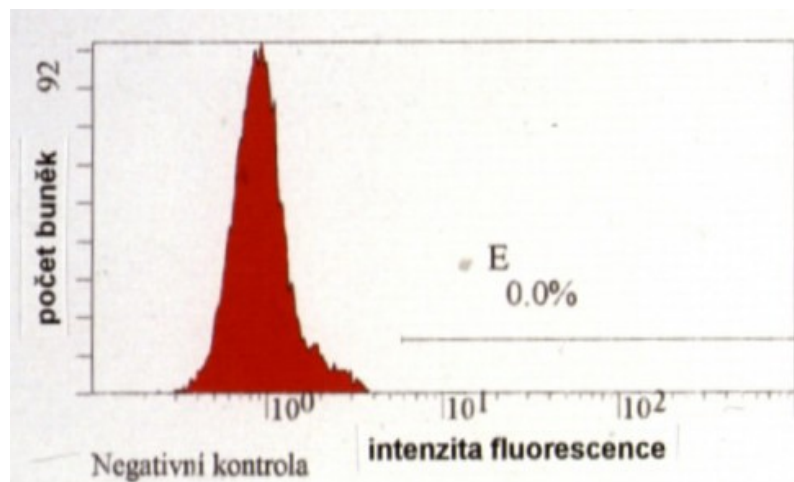
Cesta leukocytů do místa zánětu



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)



NK (Natural Killer) buňky

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

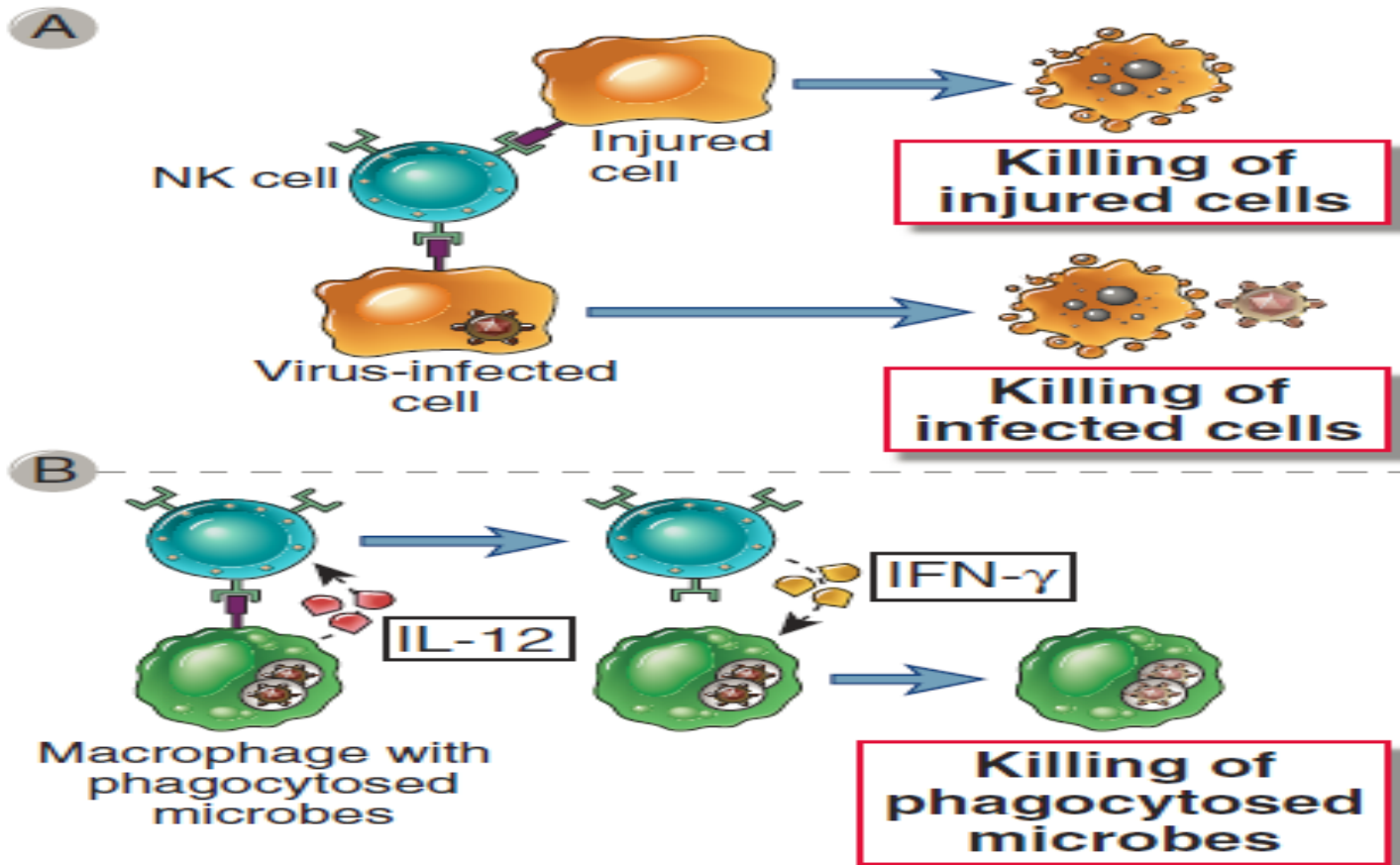
specializují se na zabíjení abnormálních vlastních buněk organismu nápadných nízkou expresí MHC molekul (např. infikovaných viry, intracelulárními bakteriemi, nádorové buňky)

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



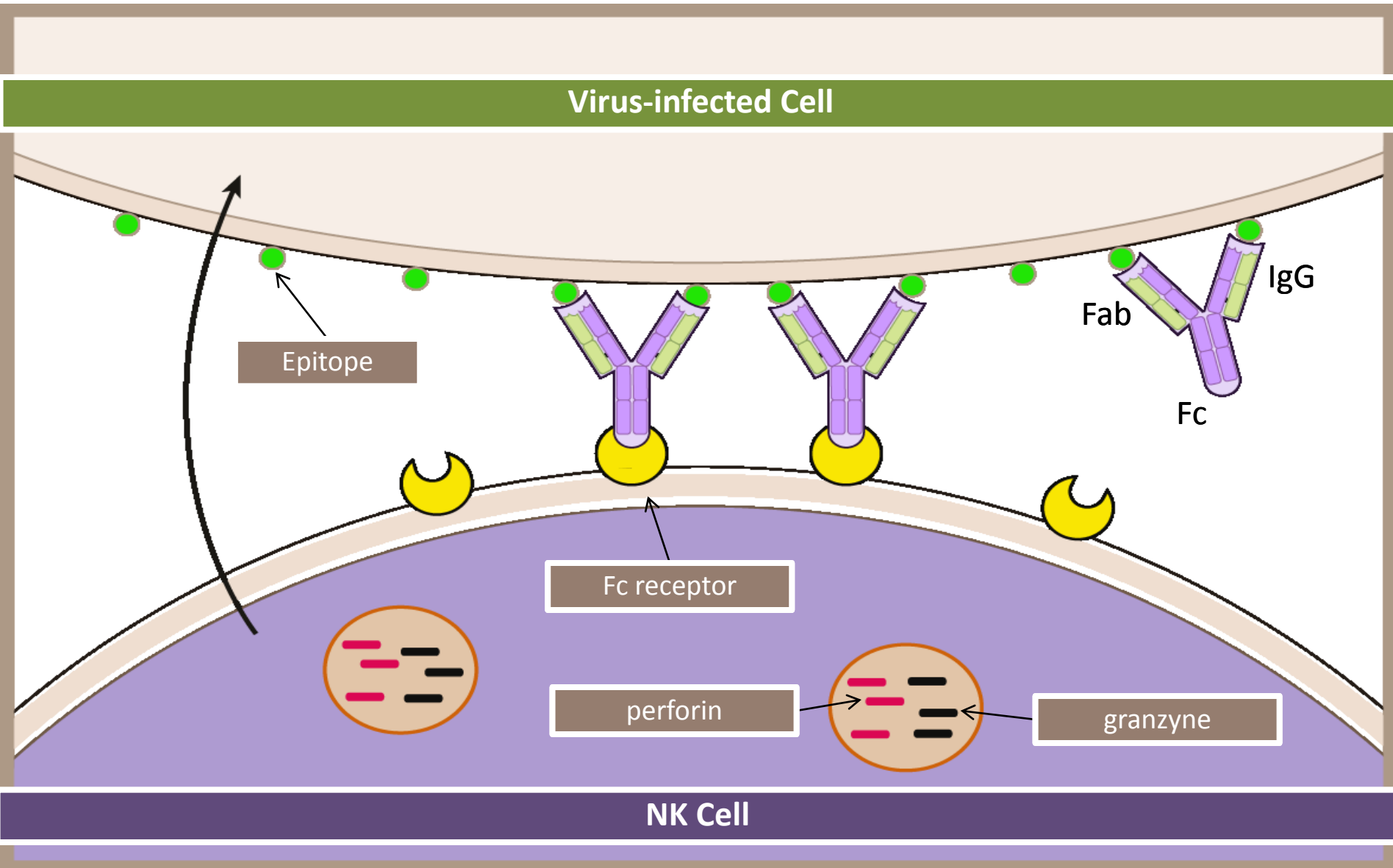
Buňky NK

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“)

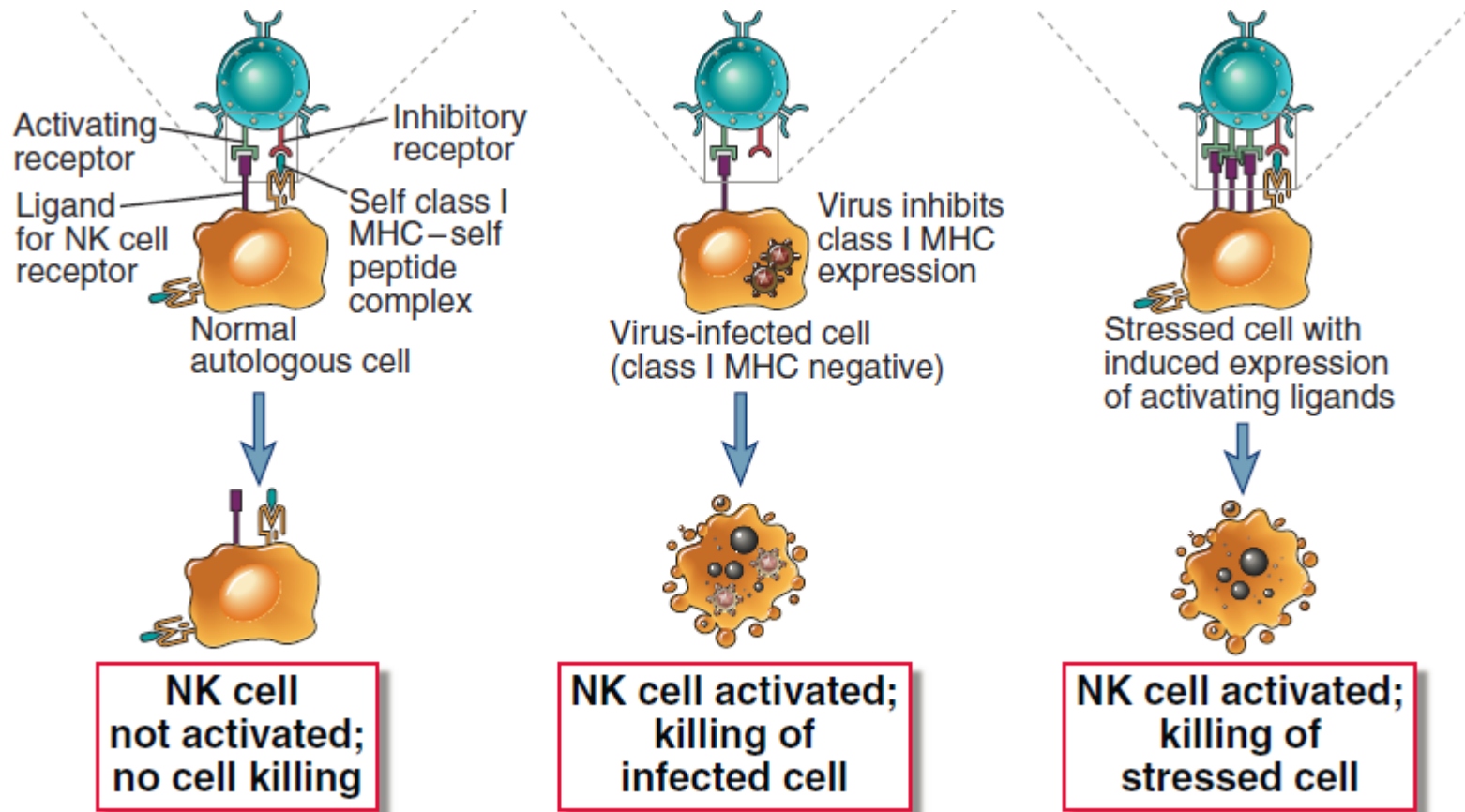
Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



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)**

Molekuly buněčných interakcí

Cytokiny

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

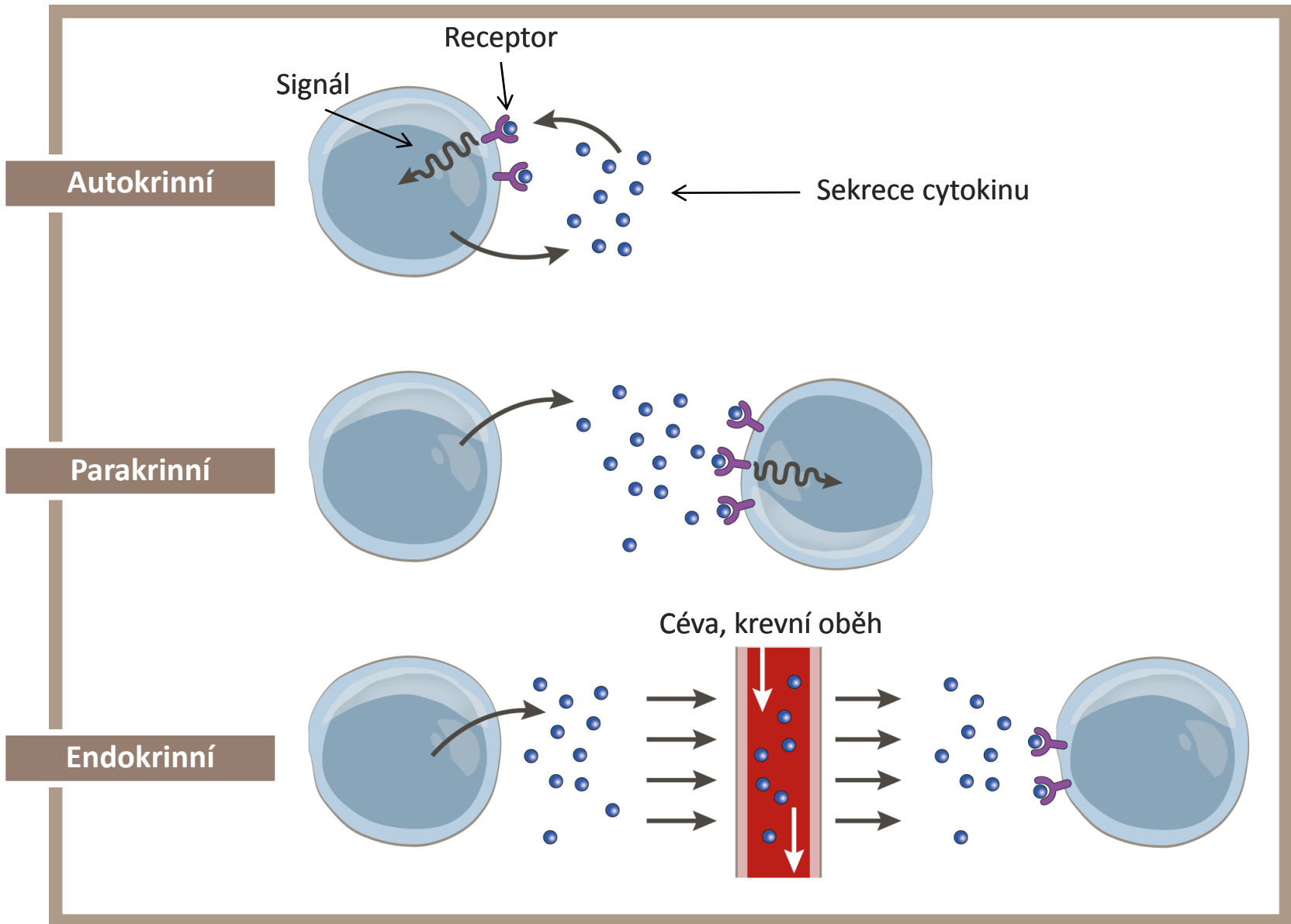
Chemokiny (C, CC, CXC, CX3C)

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



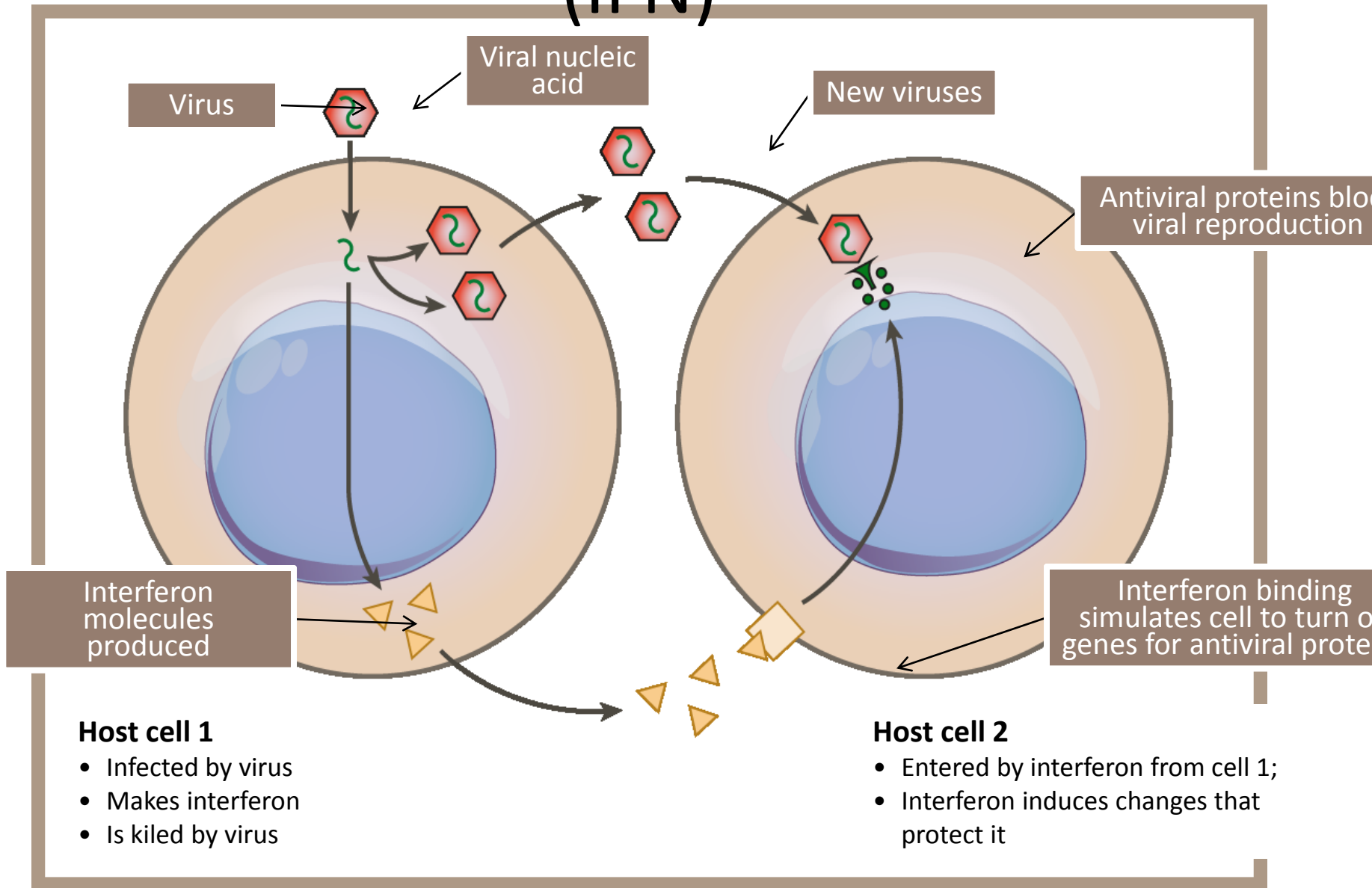
Cytokiny

- 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

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)

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

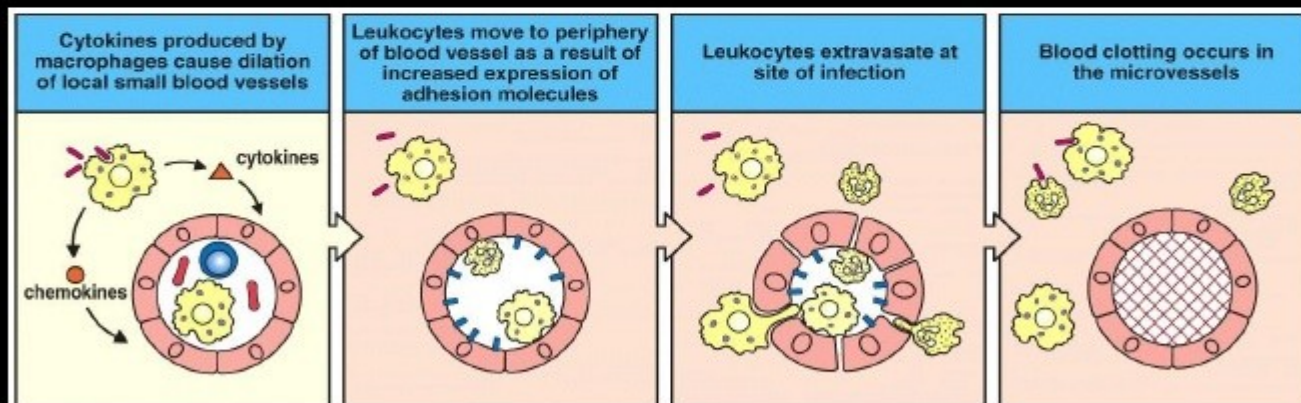


Figure 2-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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.

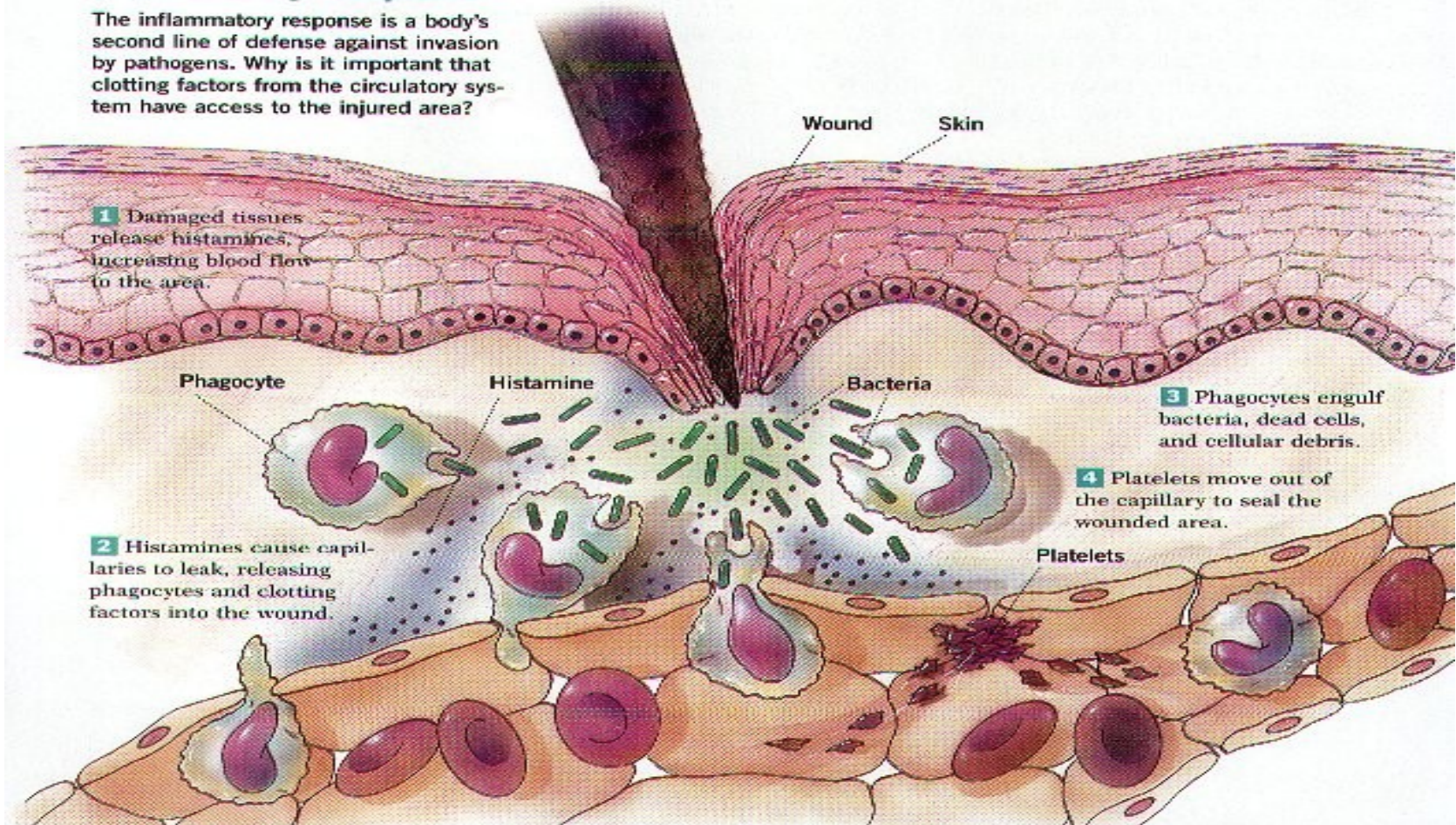
Hlavní události v místě zánětu

- 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”

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

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

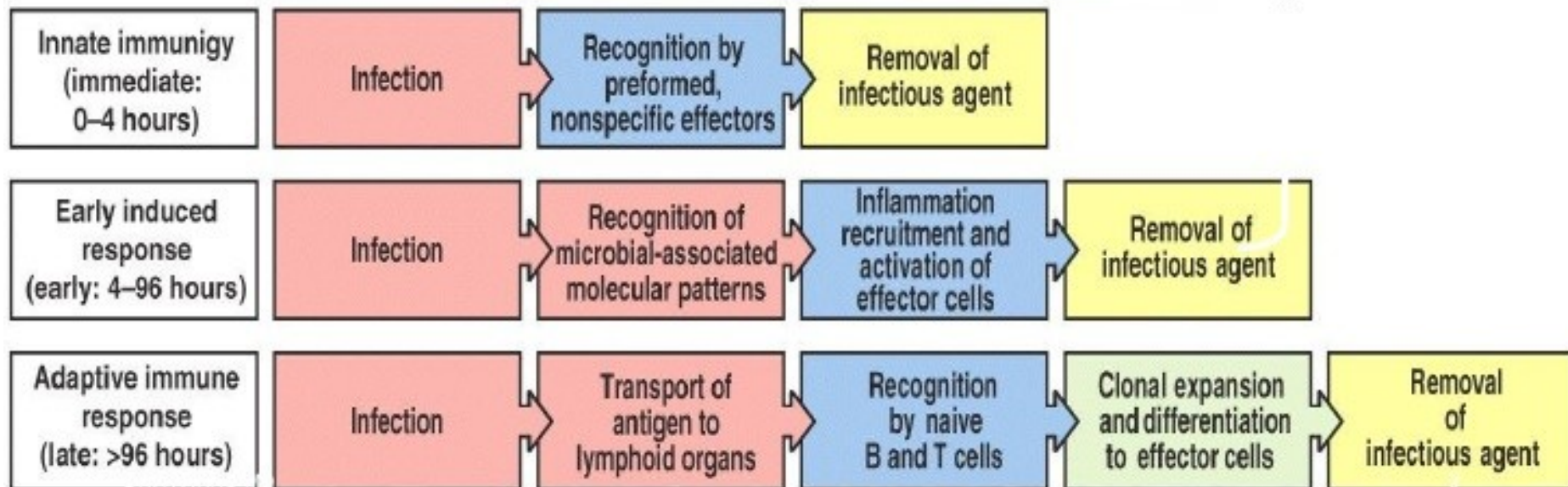


Figure 2-1 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Major histocompatibility complex (MHC)

Human leukocyte antigens
(HLA)

Charakteristika molekul (antigenů) MHC

- Molekuly MHC I třídy jsou přítomny na všech jaderných buňkách (tedy ne na erytrocytech!)
- Molekuly MHC II třídy jsou přítomny na buňkách imunitního systému (buňky předkládající antigen – dendritické buňky, makrofágy, B-lymfocyty), dále na buňkách endotelových a na epitelu thymu.
- Exprese molekul MHC I je na většině buněk zvýšena působením IFN, TNF, LT (tedy při vrozených imunitních reakcích)
- Expresi molekul MHC II na buňkách prezentujících antigen, vaskulárních endotelových buňkách, ale i na jiných buňkách (ne však na neuronech) zvyšuje IFN γ

Charakteristika genů MHC

- Dvě třídy: **MHC I a MHC II (HLA I, HLA II)**
(krátké raménko 6. chromosomu)
- Polymorfismus:
Geny MHC jsou nejpolymorfnějšími geny v genomu
- Kodominantní exprese:
Každý jedinec má dvě alely (od obou rodičů); označují se číslicemi (např. HLA-A2, HLA-B5, HLA-DR3 ...)
- Soubor MHC alel na chromosomu se nazývá
haplotyp

Vazba antigenu na HLA-I a HLA-II antigeny

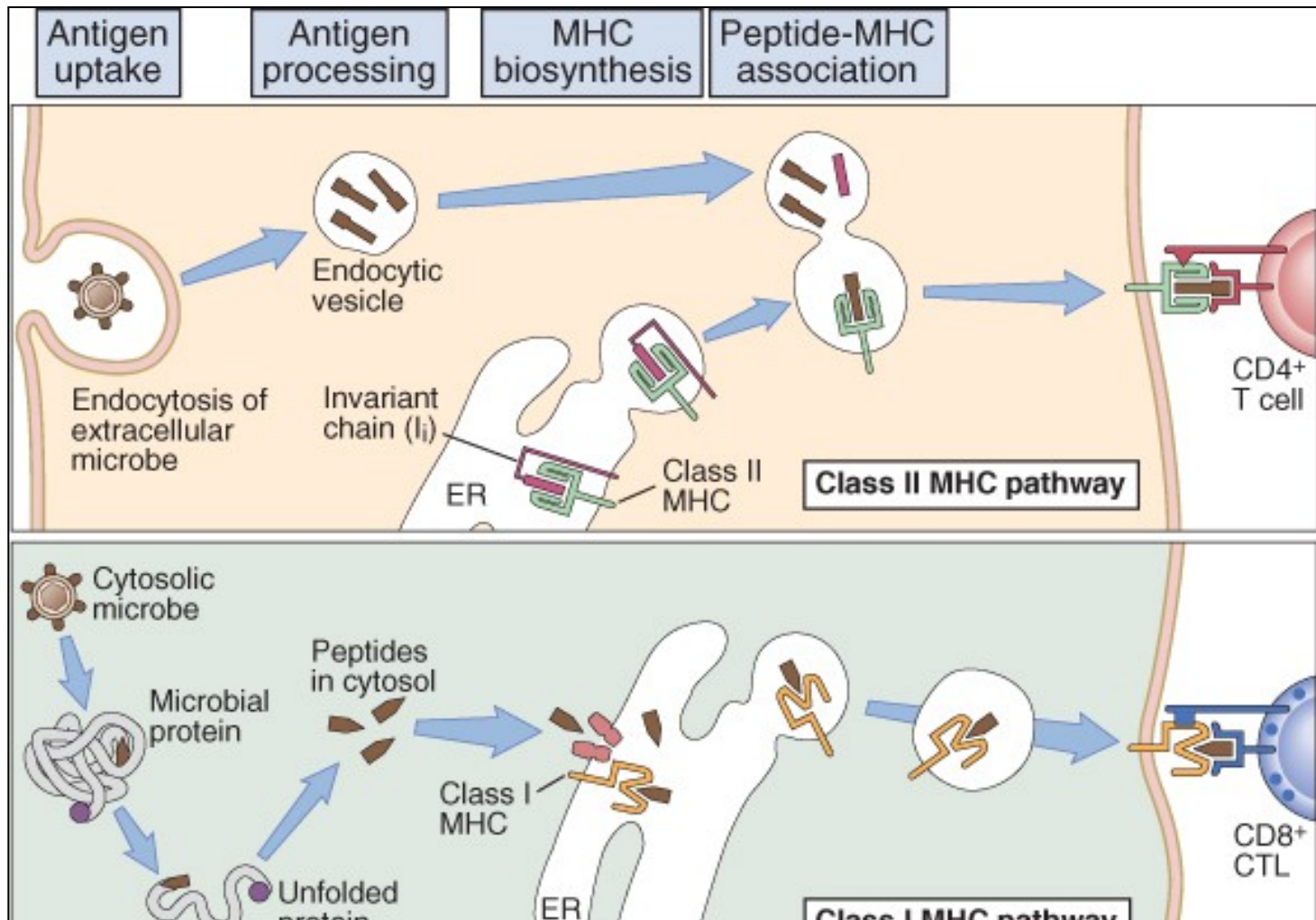




TABLE 6–5 Comparative Features of Class I and Class II MHC Pathways of Antigen Processing and Presentation

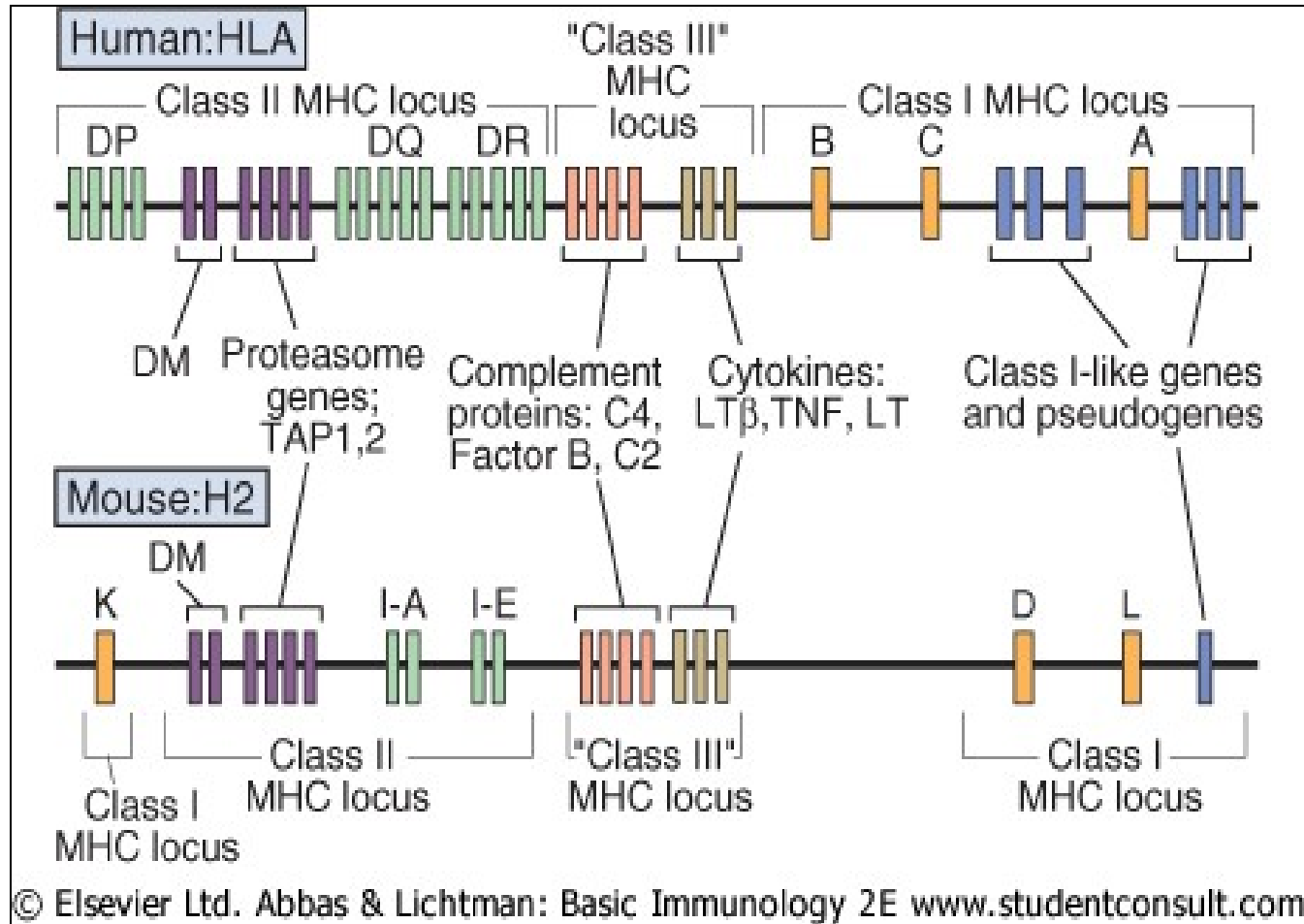
Feature	Class I MHC Pathway	Class II MHC Pathway
Composition of stable peptide-MHC complex	Polymorphic α chain, β_2 -microglobulin, peptide Peptide  α β_2 -microglobulin	Polymorphic α and β chains, peptide Peptide  α β
Types of APCs	All nucleated cells	Dendritic cells, mononuclear phagocytes, B lymphocytes; endothelial cells, thymic epithelium
Responsive T cells	CD8 ⁺ T cells	CD4 ⁺ T cells
Source of protein antigens	Cytosolic proteins (mostly synthesized in the cell; may enter cytosol from phagosomes)	Endosomal and lysosomal proteins (mostly internalized from extracellular environment)
Enzymes responsible for peptide loading of MHC	Cytosolic proteasome	Endosomal and lysosomal proteases (e.g., cathepsins)
Site of peptide loading of MHC	Endoplasmic reticulum	Specialized vesicular compartment
Molecules involved in transport of peptides and loading of MHC molecules	Chaperones, TAP in ER	Chaperones in ER; invariant chain in ER, Golgi and MIIC/CIIV; DM
APC, antigen-presenting cell; CIIV, class II vesicle; ER, endoplasmic reticulum; MHC, major histocompatibility complex; MIIC, MHC class II compartment; TAP, transporter associated with antigen processing.		

HLA antigeny

- HLA – I
 - Exprese na všech jaderných buňkách
 - Prezentace antigenu CD8+ T lymfocytům
 - Prezentované antigeny jsou produktem buněčné proteosyntézy
- HLA-II
 - Prezentace na APC
 - Antigeny předkládány CD4+ T lymfocytům
 - Antigeny jsou exogenního původu

Charakteristika interakcí mezi MHC a peptidy

- MHC molekuly neodlišují peptidy vlastní a cizí
- MHC molekuly vážou řadu strukturálně podobných peptidů (**x** TCR-epitop)
- Vazba je nekovalentní, ligand pro MHC I sestává z 8-11 aminokyselin, pro MHC II cca z 10-30



Nomenklatura HLA systému (WHO)

Sérologická (HLA antigeny):

Např.:

HLA-A2

HLA-DR3

HLA-B27

Molekulárně genetická (DNA) nomenklatura (HLA alely)

Např.:

HLA-A*0201

*HLA-A*02 alelická skupina*

*HLA-A*0201 alela*

Vztah antigenů HLA k chorobám

- Choroby s imunologickou patogenezí (např. autoimunitní, jako revmatoidní artritida, juvenilní diabetes, celiakie..)
- Choroby s etiopatogenezí nejasnou (psoriasis vulgaris, m. Bechterev)
- Choroby, u nichž se imunopatogenetický mechanismus neuplatňuje (narkolepsie, idiopatická hemochromatóza, adrenogenitální syndrom)

Možné příčiny: HLA antigen je znakem přítomnosti patognostického genu, HLA antigeny jsou receptory pro mikroby, fenomen molekulárního mimikry a zkřížená reaktivita

Vztah antigenů HLA k chorobám

(pacienti v %, kontroly v %, relativní riziko)

M. Buc, 1997

- Narkolepsie: HLA-DQ6 (100 – 25 - 297,0)
- M. Bechterev: HLA-B27 (96 – 9 – 87,4)
- Celiakie: HLA-DR7/DR3 (34 – 1 - 60,0)
HLA-DQ2 (100 – 72 – 38,5)
- Juvenilní diabetes mellitus: HLA-DR3/4 (32 – 1 – 47,0)
- Revmatoidní arthritida: HLA-DR4 (50 – 19 – 4)

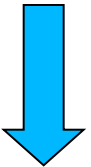
Vyšetření HLA systému

HLA typizace - stanovení HLA výbavy (antigenů, alel) konkrétního jedince

DNA (HLA gen)



mRNA



protein (HLA antigen)

Mol. genetické techniky

Sérologické techniky

SÉROLOGICKÉ *versus* DNA TECHNIKY

Sérologie (mikrolymfocytotoxický test):

typizace HLA I. třídy (rozlišení př. HLA-A2)

crossmatch

screening anti-HLA protilátek

relativně rychlá a levná

DNA techniky:

typizace HLA I. a II. třídy (nízké i vysoké rozlišení)

vyšší přesnost a spolehlivost typizace

lze i statim vyšetření

vyšší náklady

HLA typizace - DNA techniky

Nejčastěji používané techniky:

PCR-SSP

(Polymerase chain reaction with sequence specific primers)

PCR-SSO

(Polymerase chain reaction with sequence specific oligoprobes)

SBT

(Sequence based typing)

Využití HLA typizace

- transplantace
 - PBSCT – vysoké rozlišení
 - ledviny – nízké rozlišení

- asociace HLA s určitými chorobami
 - ankylozující spondylitida
 - celiakie