

Úvod do imunologie Vrozená (nespecifická) inmunita

Jiří Litzman

Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU
Brno

Imunitní systém

- Jeden ze základních homeostatických mechanismů organismů.
- Jeho funkcí je udržení integrity organismu rozpoznáním cizorodého /škodlivého pro vlastní organismus.
- Imunitní systém má schopnost rozpoznané cizorodé/nebezpečné látky eliminovat.

Imunitní systém

- Reaguje s cizorodými/nebezpečnými substancemi z vnějšího prostředí (zejména antimikrobiální ochrana).
- Účastní se odstraňování starých a poškozených buněk vlastního těla.
- Napadá nádorové a viry infikované buňky vlastního těla.

Antigen

- Látka rozpoznaná imunitním systémem vyvolávající imunitní reakci – imunogennost (imunogen)
- Produkty imunitní reakce (protilátky, T-lymfocyty) mají schopnost s antigenem specificky reagovat.

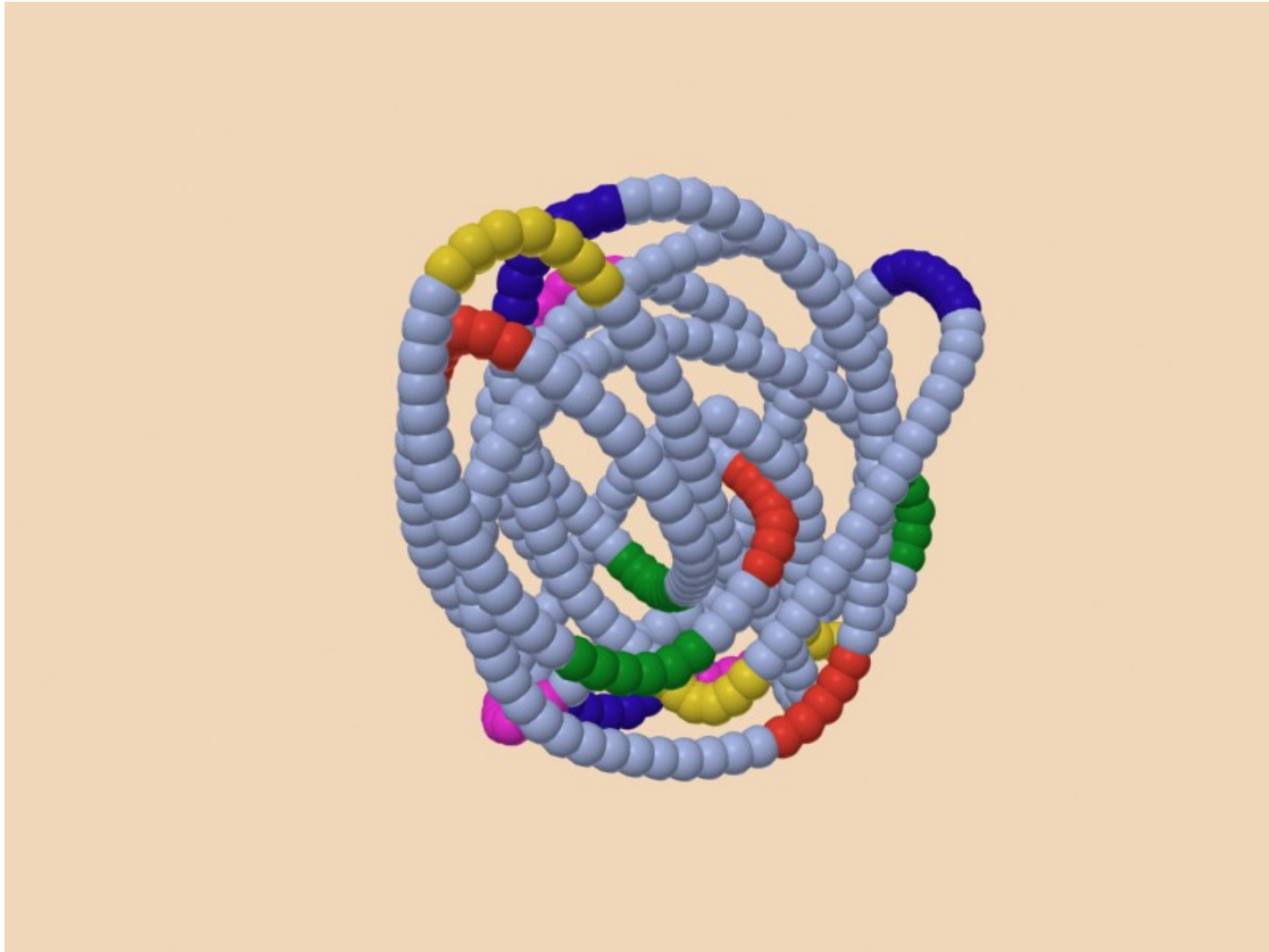
Podmínky imunogenicity

- Cizorodost
- Dostatečná molekulová hmotnost (> 6 kDa)
- Komplexní struktura

Antigen – základní složení

- Nosičská část molekuly
- Antigenní determinanty (epitopy)
(cca 5-7 aminokyselin!)

Vztah antigenu a epitopu, nosičská část



Chemické složení antigenů

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

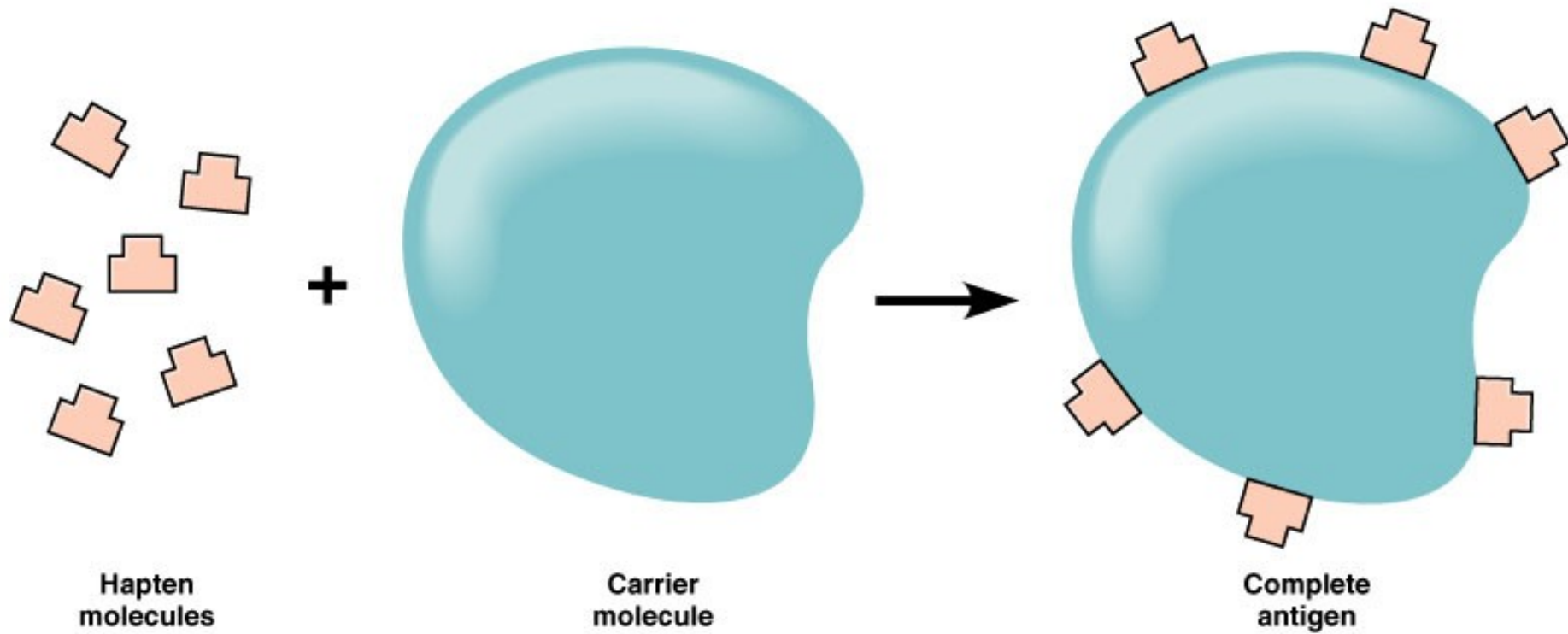
Protektivní a neprotektivní antigen

- Protektivní antigen – vyvolává protektivní imunitní reakci.
- Neprotektivní antigen – sice vyvolá imunitní reakci, ale ta nevede k eliminaci antigenu (např. protilátky při HIV infekci).

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



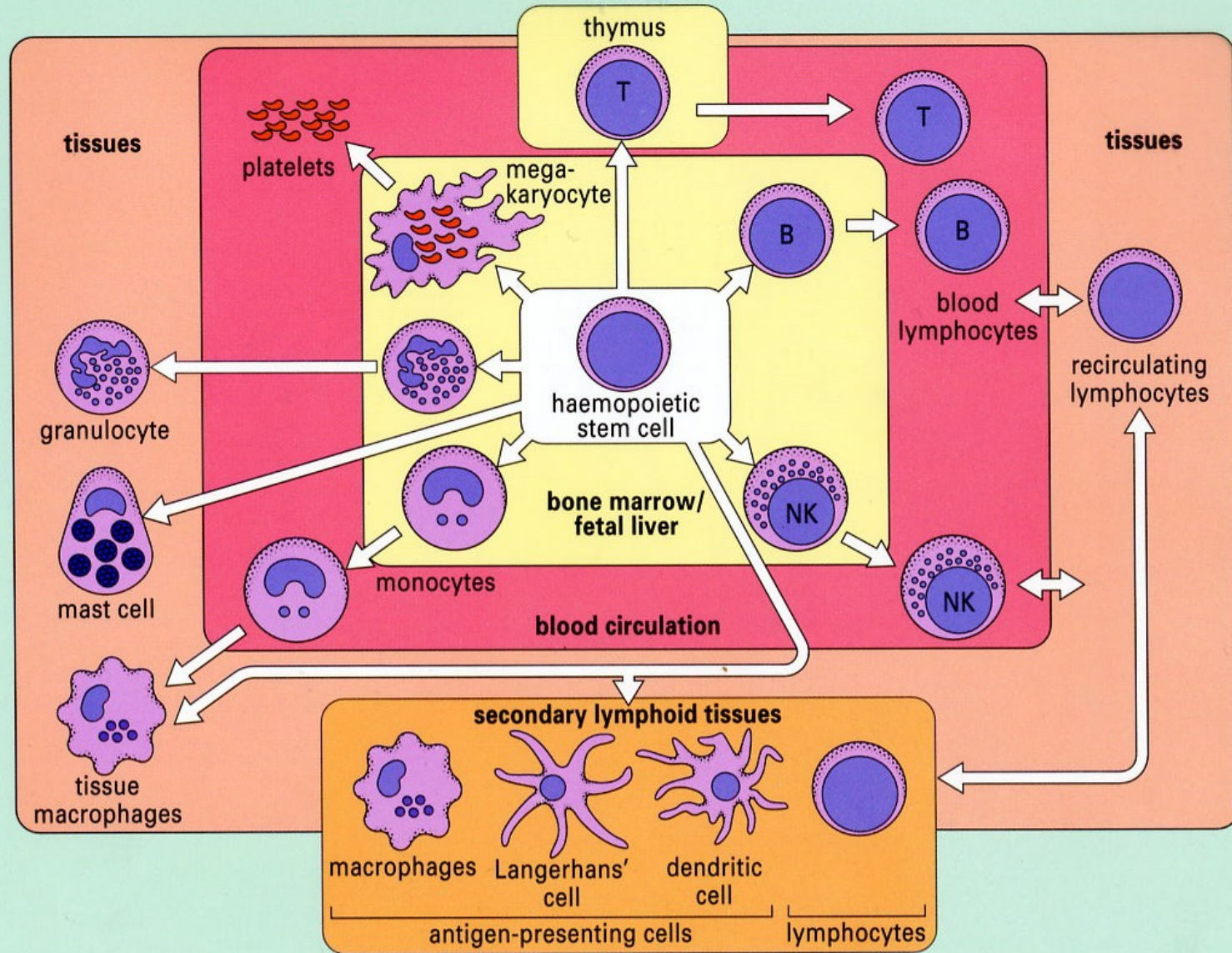
Zkřížená reaktivita antigenů

- Produkty imunitní reakce mohou někdy reagovat se substancemi odlišnými než byly spouštěče vlastní reakce.
- Imunologická „podobnost“ nemusí vyjadřovat „podobnost“ chemickou.
- Stupeň zkřížené reaktivity může být různý.
- Zkřížená reaktivita se uplatňuje při patogenezi některých autoimunitních chorob (např. revmatická horečka).
- Významně se uplatňuje zkřížená reaktivita alergenů.
- Jedná se o obecný biologický fenomén, ne pouze o „vysvětlení revmatické horečky“!

Buňky imunitního systému

- Hlavní buňky imunitního systému
 - Lymfocyty (T a B)
- Vedlejší buňky imunitního systému
 - Granulocyty
 - Monocyty
 - Tkáňové makrofágy
 - Mastocyty
 - Dendritické buňky
 - NK buňky
 - Endotelie
 - Trombocyty, erytrocyty, fibroblasty, epiteliální buňky

Kostní dřeň jako místo vzniku buněk imunitního systému

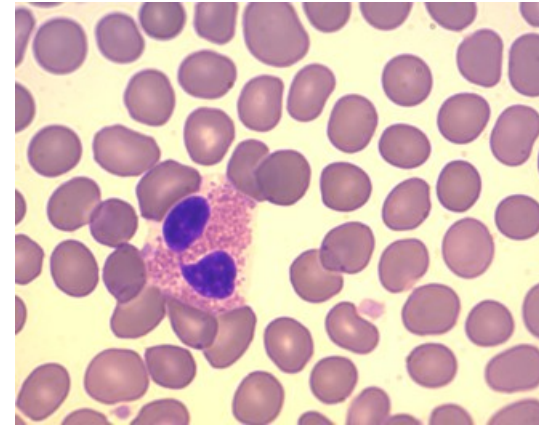


Polymorfonukleární (neutrofilní) granulocyty



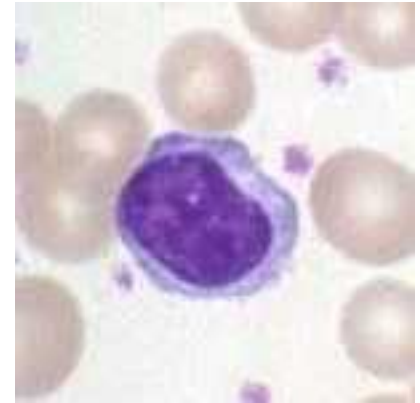
- U dospělých tvoří asi 60%-70% leukocytů periferní krve.
- Vykytují se v krvi ale především v tkáních (asi 90%).
- Poločas v krvi je pouze několik hodin.
- Jsou důležitými fagocytujícími buňkami objevujícími se v prvních fázích zánětu
- Jsou i důležitými producenty prozánětlivých cytokinů.
- Odumřelé neutrofilny jsou nejpodstatnější součástí hnisu.
- **Nepatří mezi antigen prezentující buňky.**

Eozinofilní granulocyty



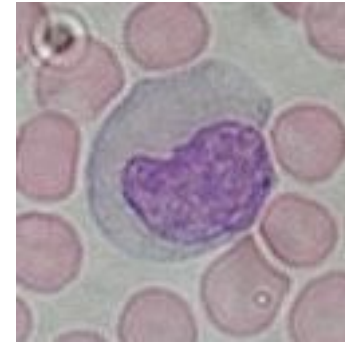
- U zdravých jedinců tvoří asi 1-3% leukocytů.
- Hrají důležitou roli v obraně proti mnohobuněčným parazitům.
- Tvoří řadu toxických produktů poškozujících eukaryontní buňky.
- Nejdůležitějším cytokinem stimulujícím jejich tvorbu je IL-5
- Jsou fagocytujícími ale ne antigen-prezentujícími buňkami.
- Jejich počet je zvýšen u pacientů s parazitózami a u alergiků.
- Významně se patogeneticky uplatňují při alergickém zánětu jak tvorbou cytokinů, tak ničením buněk vlastního organismu.
-

Lymfocyty



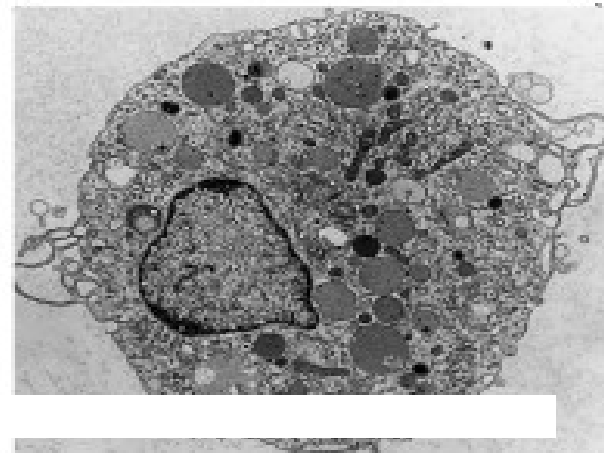
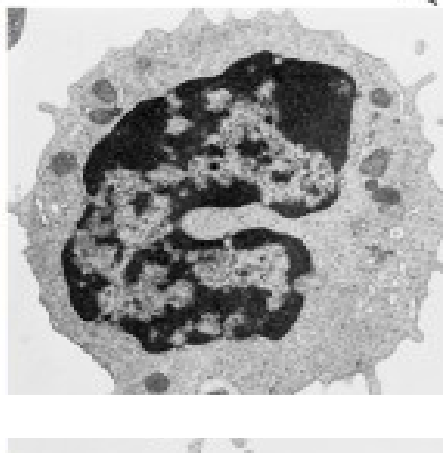
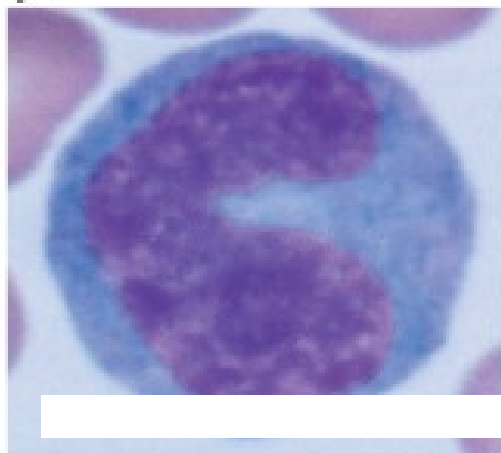
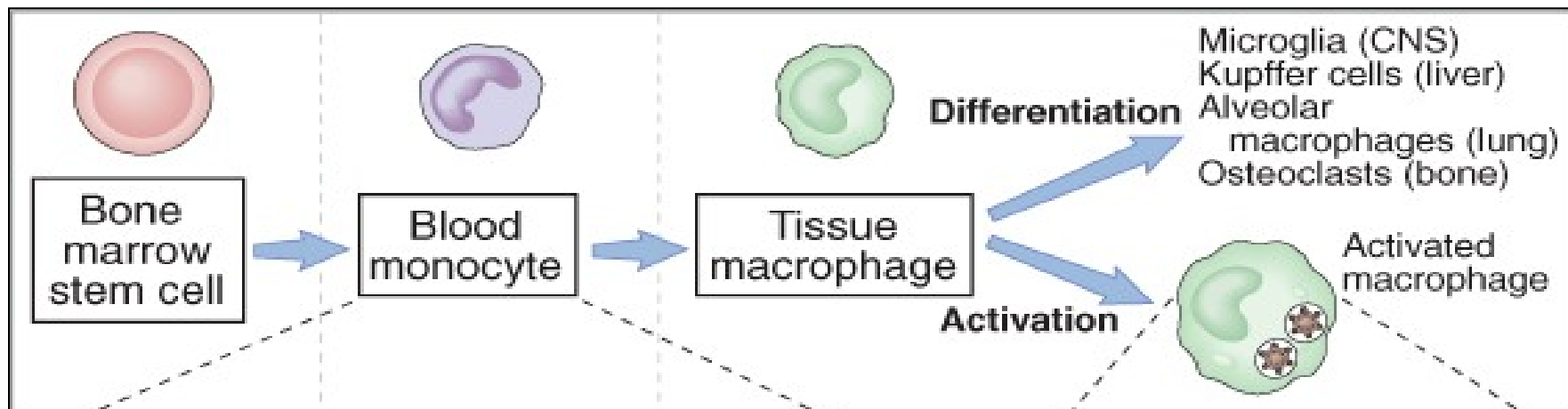
- U dospělých tvoří asi 20-40% leukocytů.
- T- a B- lymfocyty jsou hlavními buňkami imunitní odpovědi.
- Jako lymfocyty morfologicky vypadají i NK buňky (velké granulované lymfocyty).
- Nemají schopnost fagocytózy ale B-lymfocyty patří mezi antigen-prezentující buňky.

Monocyty



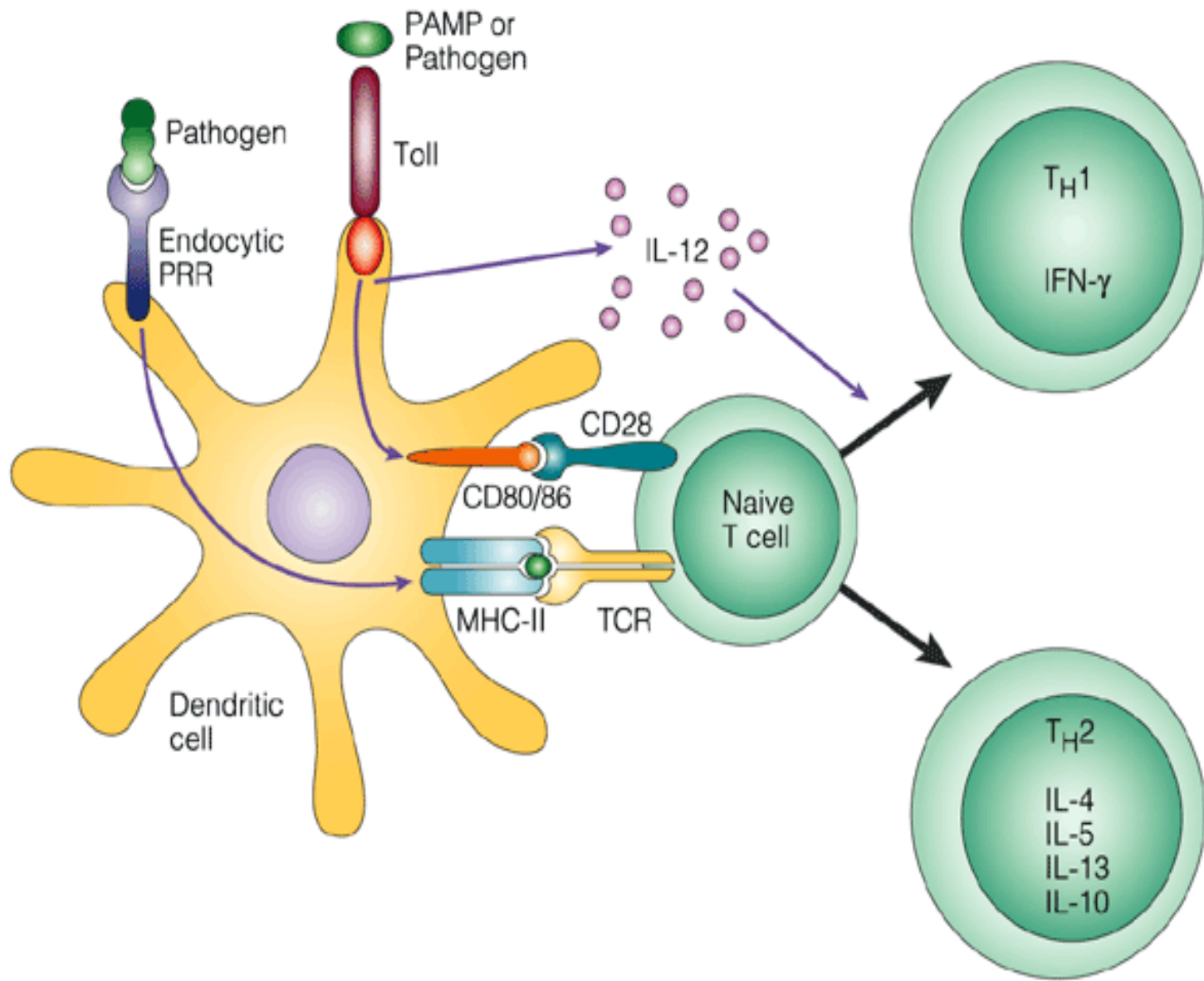
- Tvoří 3-8% leukocytů.
- Jedná se o cirkulující prekurzory tkáňových makrofágů, případně i některých forem dendritických buněk.
- Ve své cirkulující formě se jedná o velmi málo aktivní buňky.

Vývoj makrofágů z monocytů



Dendritické buňky

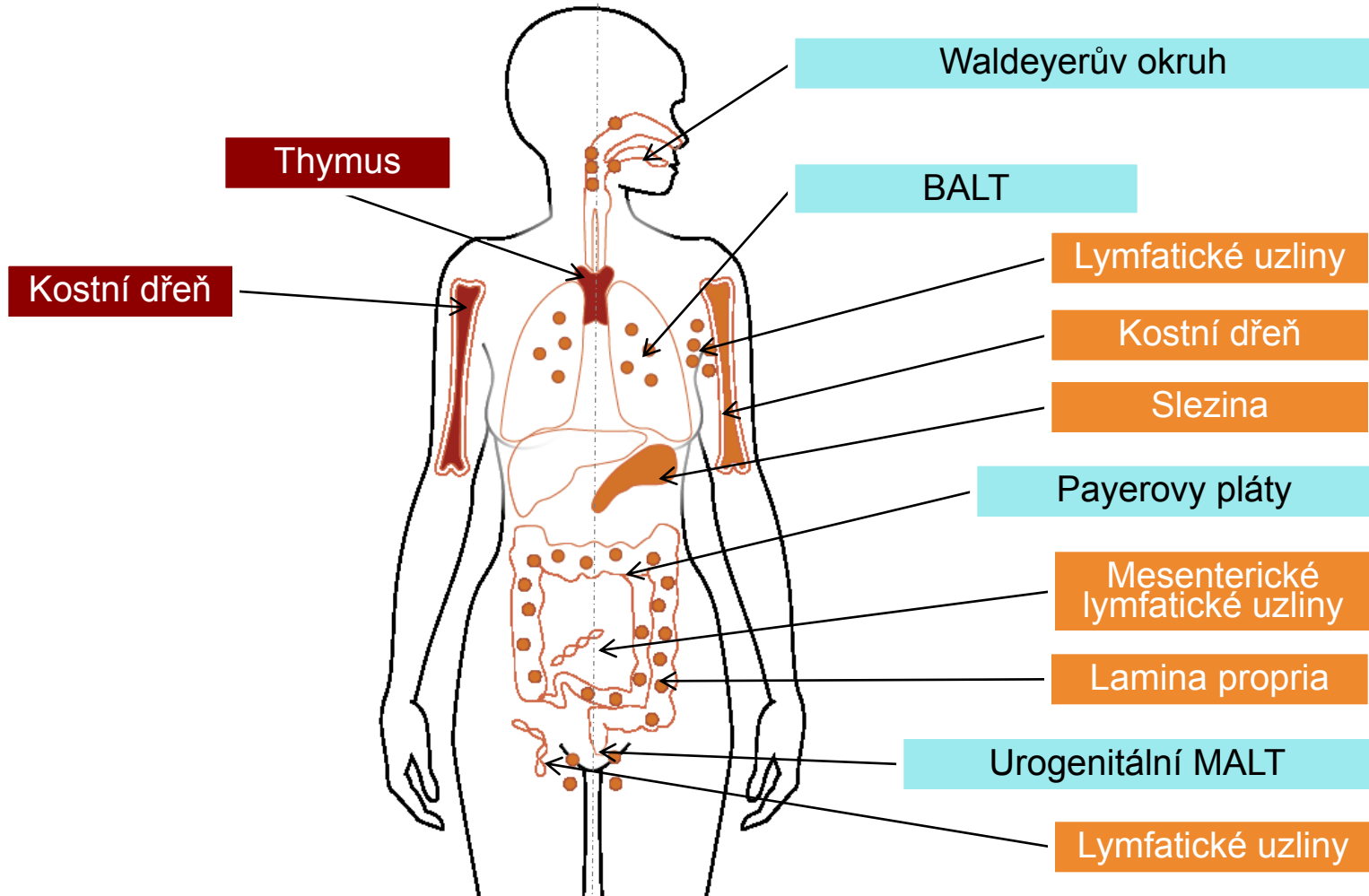
- Důležitá složka vrozené imunity účastnící se aktivace buněk imunity získané.
- Hlavní funkcí je zpracování antigenu a jeho prezentace T-lymfocytům.
- Jsou i důležitým zdrojem kostimulačních signálů.
- Langerhansovy dendritické buňky se významně uplatňují v přenosu antigenů z epidermis kůže.
- Neaktivované dendritické buňky mají i výraznou fagocytární schopnost.



Orgány imunitního systému

Primární lymfatické orgány

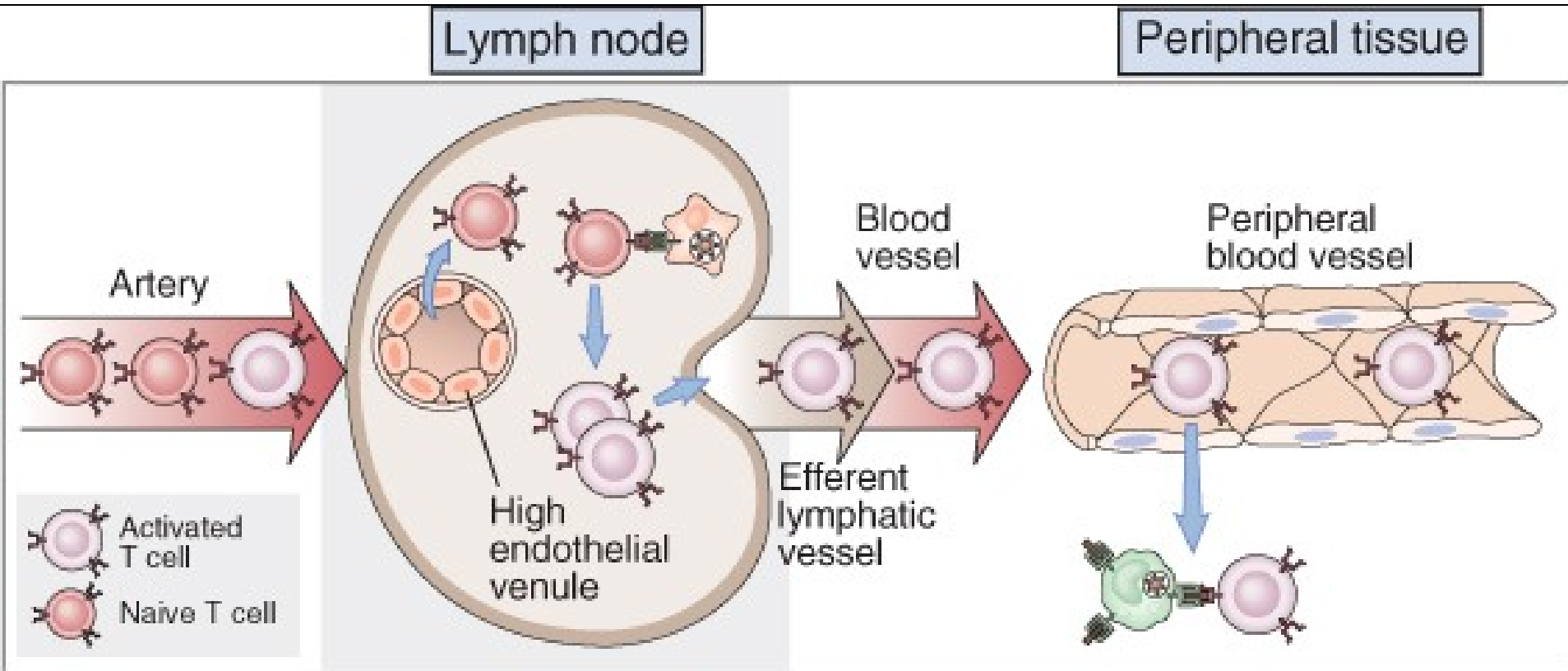
Sekundární lymfatické orgány



High endothelial venules

- Specializované venuly, jsou místem kde lymfocyty pronikají z krevního oběhu do stromatu lymfatických uzlin nebo do slizničního imunitního systému.
- Jsou na nich adhezivní molekuly umožňující vazbu zejména „naivních“ (panenských) T- lymfocytů.

Řízená migrace lymfocytů do lymfatické uzliny a do tkání



© 2005 Elsevier. All rights reserved. For more information on this product please go to the Elsevier website at www.elsevier.com

Mechanismy nespecifické imunity

Imunitní systém člověka

SYSTEM VROZENÉ IMUNITY



SYSTEM ADAPTIVNÍ IMUNITY

Vrozená (nespecifická) imunita

- Stále připravena rozpoznat eliminovat mikroby (PAMPs).
- Většinou eliminuje mikroby dříve než se rozvinou mechanismy specifické imunity.
- Receptory jsou přímo geneticky determinovány, nejsou produkty rekombinace genů.
- Za určitých okolností mohou i vlastní antigenní signály (DAMPs) vyvolat zánětlivou reakci.

Význam vrozené imunity

„... za přežití obratlovců při infekcích jsou převážně - tj. více než z 90% - odpovědny vrozené, elementární, mechanismy rezistence, mezi něž patří interferonem aktivované makrofágy, polymorfonukleární fagocyty a četné jiné faktory hostitele...“

(Rolf M. Zinkernagel: On differences between immunity and immunological memory, 2002)

IMUNITA VROZENÁ A ZÍSKANÁ

Vlastnost	Imunita vrozená	Imunita získaná
Specifičnost	struktury společné pro různá agens (molekulární znaky patogenů – „PAMP“ – dsRNA, CpG, LPS, manany, glykany, fosforylcholin...)	strukturální detaily antigenů (antigenní determinanty, epitopy)
Receptory	zakódované v genomu buněk zárodečné linie, není nutné přeskupování genů	vytvářejí se během vývoje somatickými rekombinacemi, přeskupování genů nutné
Distribuce receptorů	neklonální: všechny buňky dané skupiny jsou identické	klonální: klony buněk odlišné specifičnosti mají odlišné receptory
Odlišení vlastního od cizorodého	perfektní vyselektováno v evoluci	ano, ale není perfektní (autoimunizace)
Nástup reakce	bezprostřední (0-4-96 hod)	s latencí (> 96 hod)
Paměť	nevzniká	vzniká

SIGNÁLY NEBEZPEČÍ:

- EXOGENNÍ (PAMPs)
- ENDOGENNÍ (např. STRESOVÉ PROTEINY UVOLNĚNÉ Z NEKROTICKÝCH BUNĚK)

Vrozená imunita – poznávané struktury

Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP)

(C. A. Jeneway, Jr, 1989)

stejné pro skupiny mikroorganismů,
konservované, nevariabilní molekulární „motivy“, „signatury“,
„vzorce“, nezbytné pro životnost a patogenitu mikroorganismů,
odlišné od molekulárních struktur hostitele

*např. lipopolysacharidy, lipopeptidy, peptidoglykany, manosa
povrchových struktur bakterií a hub, nemetylované motivy CpG charakteristické
pro bakteriální DNA, dsRNA reprezentující strukturální signaturu RNA-virů*

Danger, Damage-Associated Molecular patterns (DAMP)

(Polly Celine Eveline Matzinger, 1994)

molekulární struktury hostitele

*např. HSP60, HSP70, fragmenty fibrinogenu, fibronectin,
hyaluronan..*



PAMPs - Pathogen-associated molecular patterns
tj. molekulární motivy (vzory) asociované
s patogenitou

DAMPs- Damage (Danger) associated molecular
patterns – molekulární vzory asociované s
postižením buněk těla

PRRs - Pattern recognition receptors
tj. Receptory na buňkách hostitele, rozeznávající
PAMPs, DAMPs

PAMPs:

lipopolysacharid (LPS)

peptidoglykany

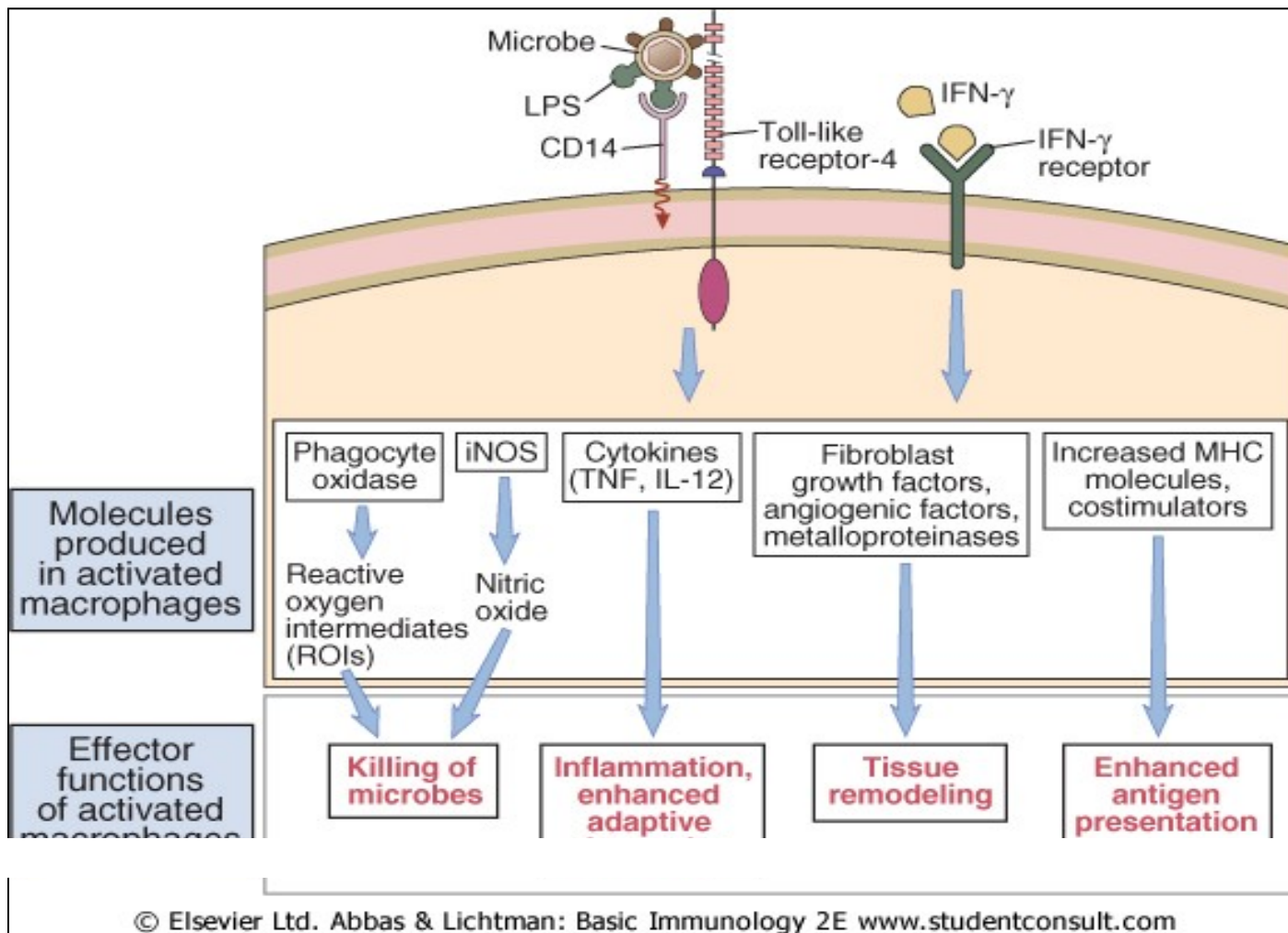
lipoproteiny

manany

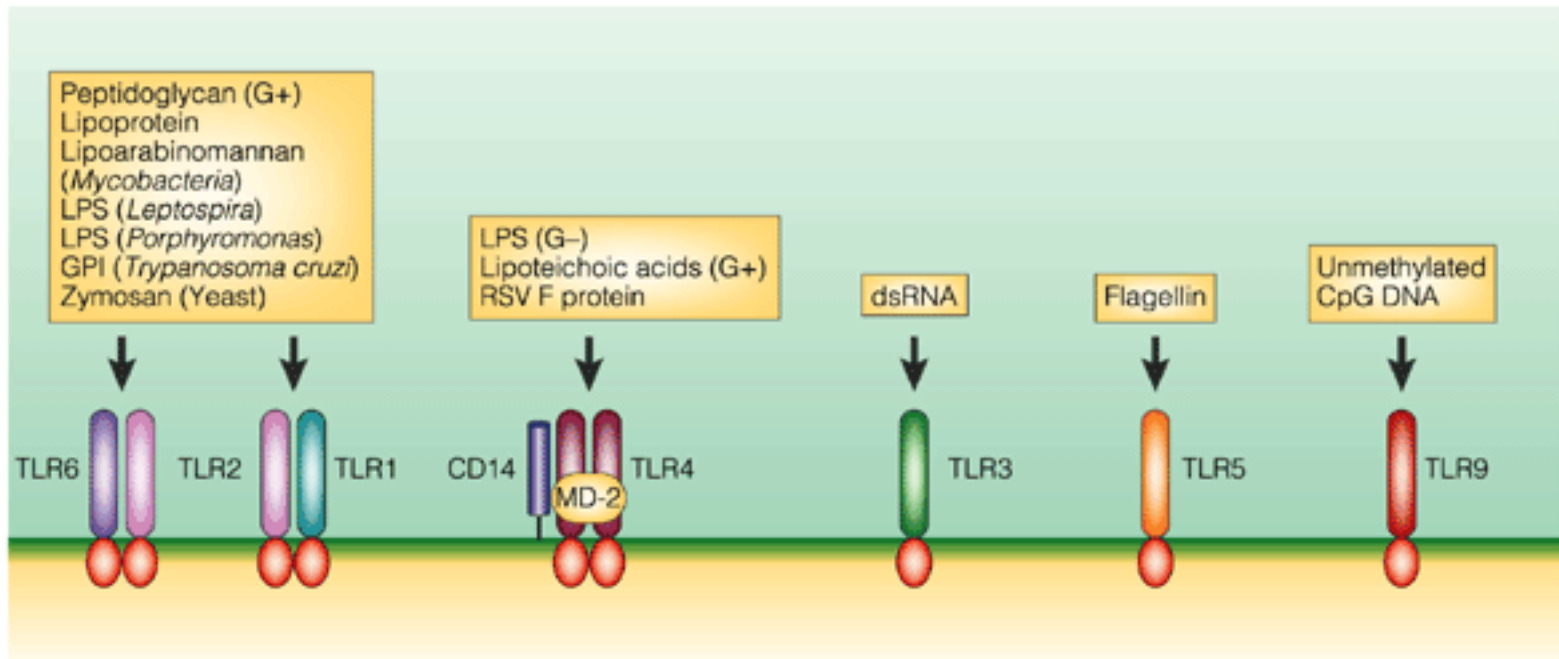
glukany

bakteriální DNA

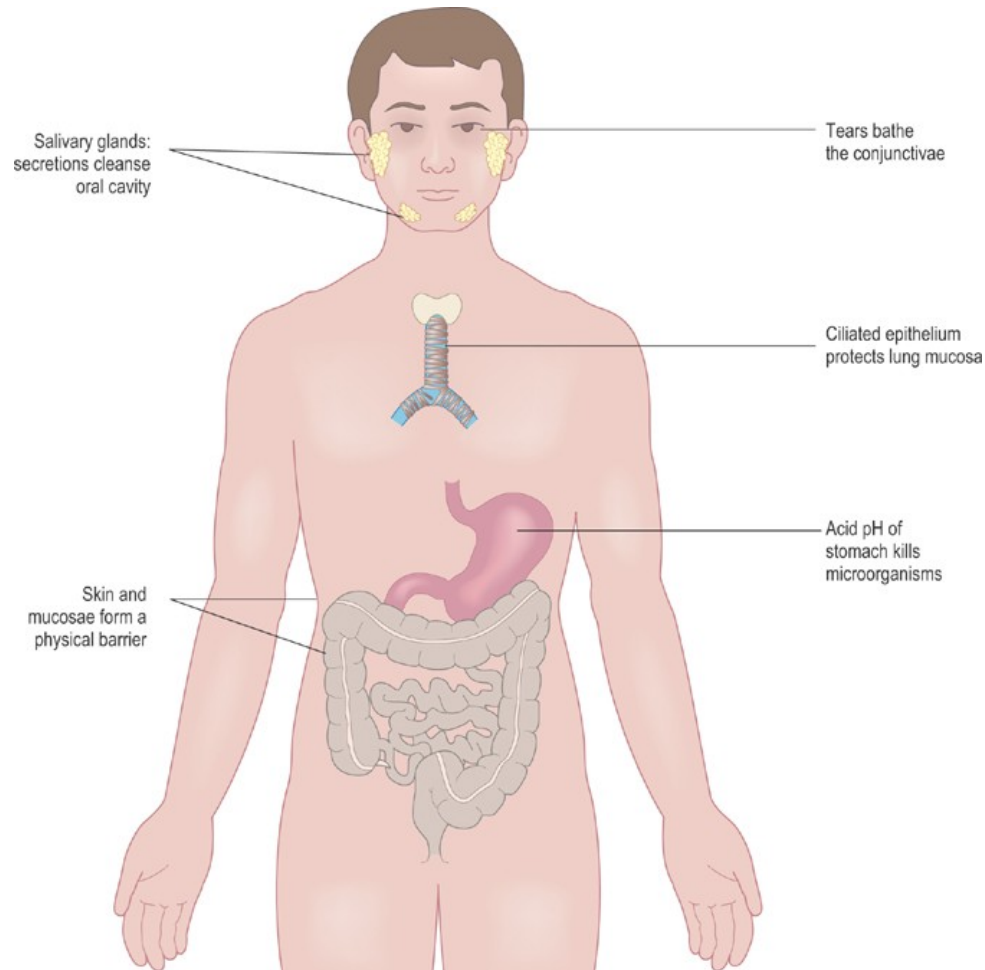
Aktivace buněk cestou TLR a cytokinových receptorů



TOLL-LIKE RECEPTORY



Nespecifické ochranné bariéry lidského těla



Komplementový systém

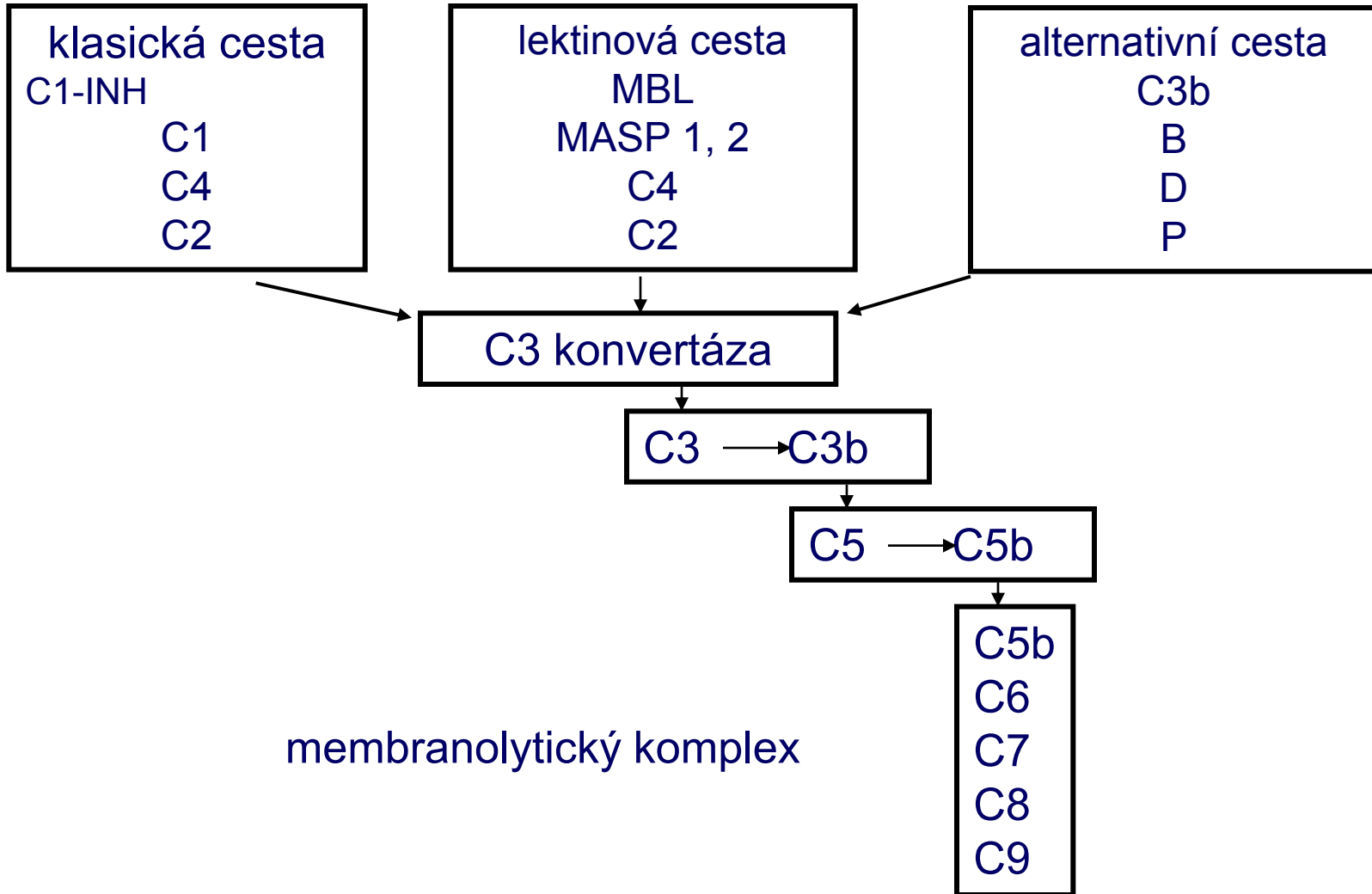
Všeobecná charakteristika aktivace komplementového systému

- Jednotlivé složky jsou v plazmě přítomny v inaktivní formě, jsou aktivovány svým proteolytickým štěpením.
- Štěpí se na menší část (označovaná jako a) a větší část (označovaná jako b).
- Obvykle část b má také proteolytickou aktivitu, část a zajišťuje další funkce C-systém (chemotaxi, prozánětlivý efekt).
- Složky C6-C9 nejsou štěpeny, pouze se vzájemně váží na sebe.

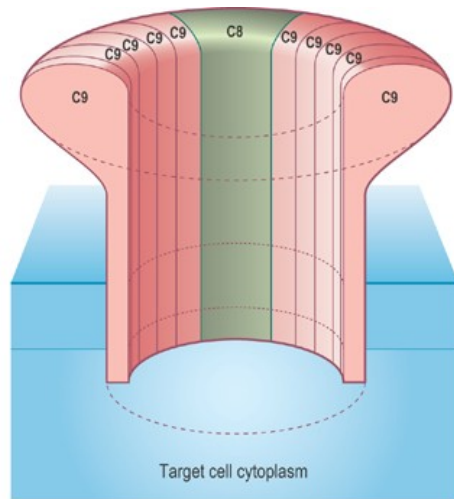
Aktivace komplementového systému

- Klasická cesta:
 - Komplexy IgG-antigen, IgM-antigen,
 - C-reaktivní protein
- Alternativní cesta
 - Lipopolysacharid G- bakterií
 - Buněčná stěna některých bakterií
 - Buněčná stěna kvasinek (zymozan)
 - Agregovaný IgA
- Lektinová cesta
 - Manóza a další sacharidy

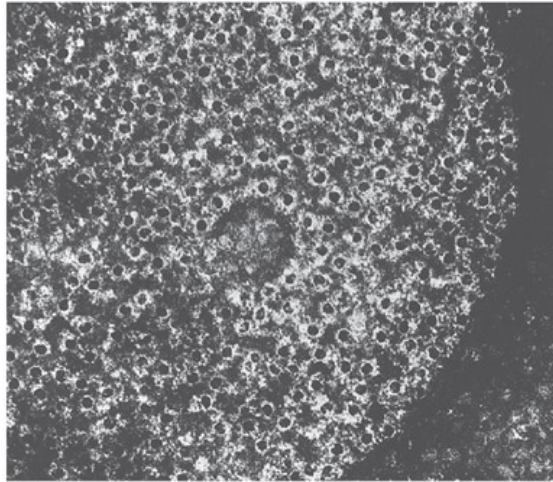
Aktivace komplementu



Účinek C9 na buněčnou membránu



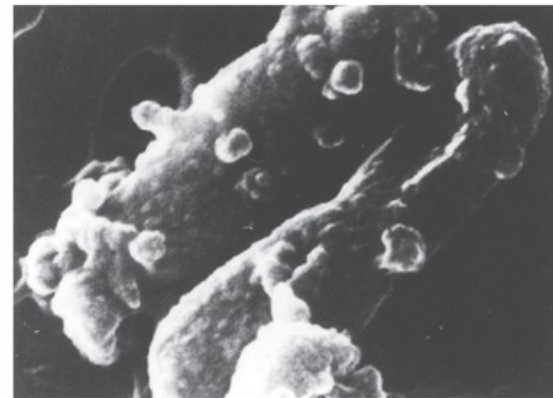
(a)



(b)



(c)

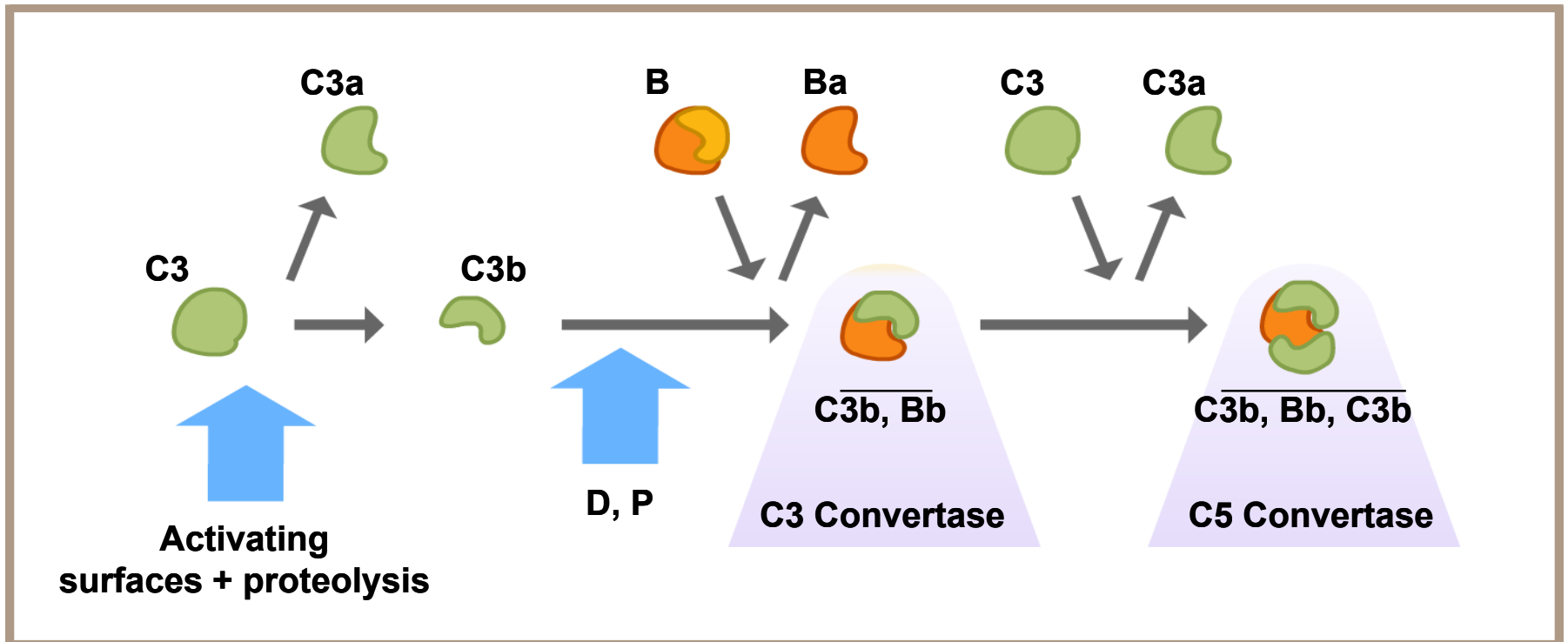


(d)

Alternativní cesta aktivace komplementového systému

- Iniciována spontánní aktivací C3 na povrchu některých bakterií (např vlivem LPS) nebo kvasinek (např vlivem zymozanu)
- Aktivována složka B
- Stabilizace komplexu se účastní složky D a P (properdin)
- Vzniká alternativní C3 konvertáza (C3bBb)

Aktivace alternativní dráhy komplementového systému



Lektinová (třetí) cesta aktivace komplementového systému

- Manózu vážící lektin (MBL) se váže na některé cukry na povrchu buněk (např. manózu).
- Aktivovaný MBL aktivuje C2 a C4 za tvorby C2aC4b – tj aktivovaný MBL působí jako aktivovaná C1 klasické cesty aktivace komplementu.

(pozn. lektin = protein s vysokou vazebnou silou k sacharidům)

Regulace aktivity komplementového systému

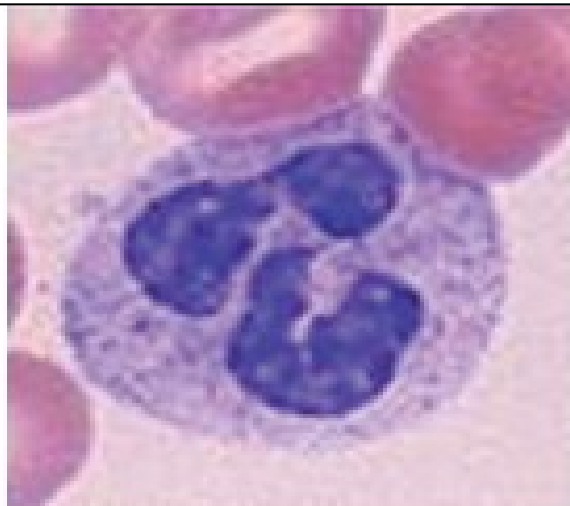
- Plasmatické faktory
 - Klasická cesta – zejména C1-INH (deficit vede k hereditárnímu angioedému).
 - Alternativní cesta – faktor H (polymorfismy vázány na vznik makulární degenerace sítnice, mutace u části pacientů s hemolyticko-uremickým syndromem), faktor I
- Faktory vázané na buňky:
 - CD59, CD55, CD46 různým způsobem, brání aktivaci komplementového systému.

Biologické funkce aktivovaných složek komplementového systému

- lýza buněk (mikroorganismů) (MAC)
- opsonizace (C3b)
- chemotaxe (C5a, C3a)
- prozánětlivá aktivita (C3a, C5a)
- přenos imunokomplexů (C3b, C4b)
- regulace paměťové odpovědi (C3b, C3d)

Fagocytóza

Polymorfonukleární granulocyt

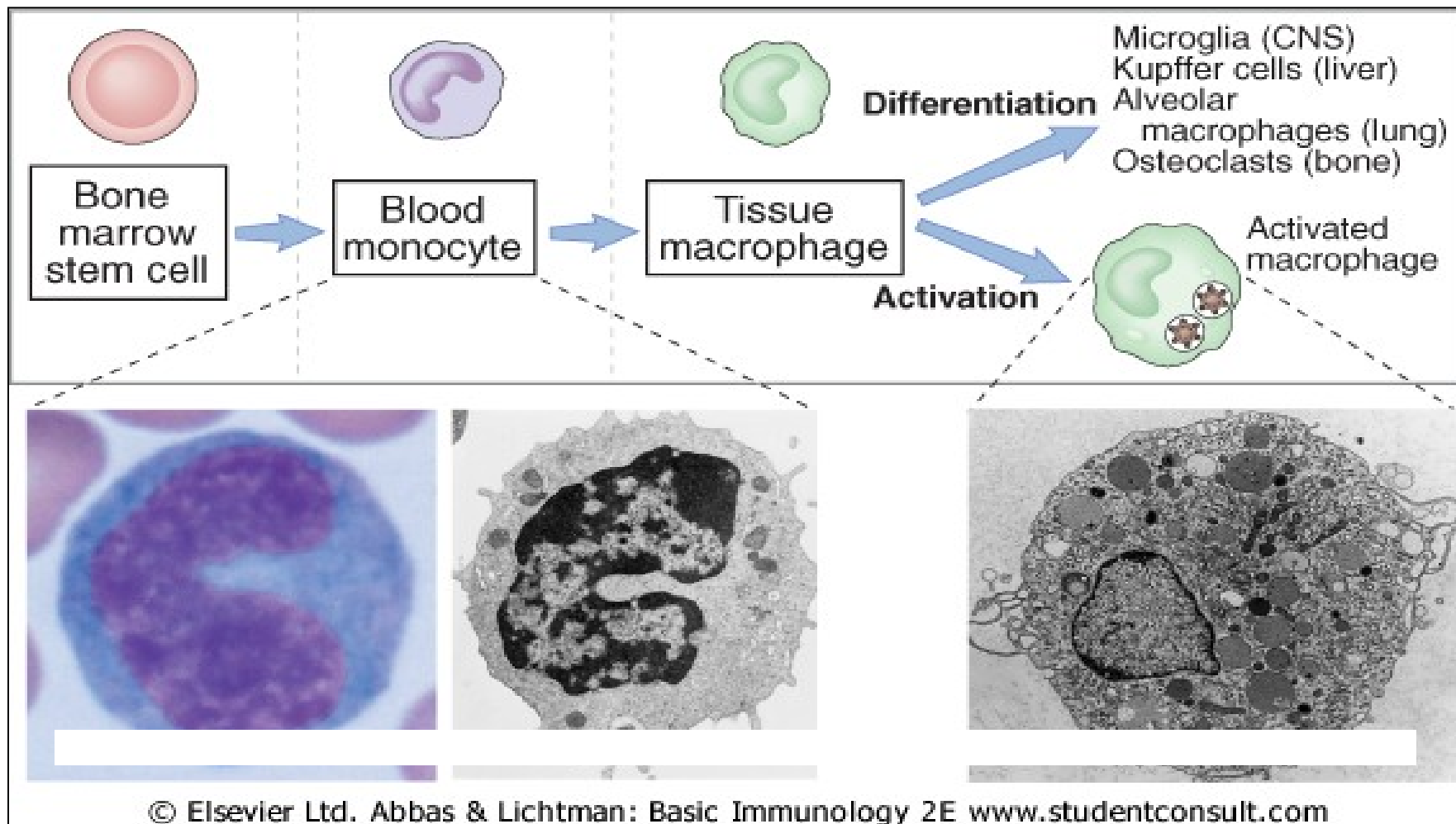


© Elsevier Ltd. Abbas & Lichtman: Basic Immunology 2E www.studentconsult.com

Profesionální fagocyty imunitního systému

- Granulocyty – neutrofilní, částečně i eozinofilní
- Monocyty makrofágy:
 - Kupfferovy buňky,
 - Mikroglie
 - Osteoklasty
 - Makrofágy sleziny, alveolů, vazivové tkáně, sinusů..
- Dendritické buňky (neaktivované)

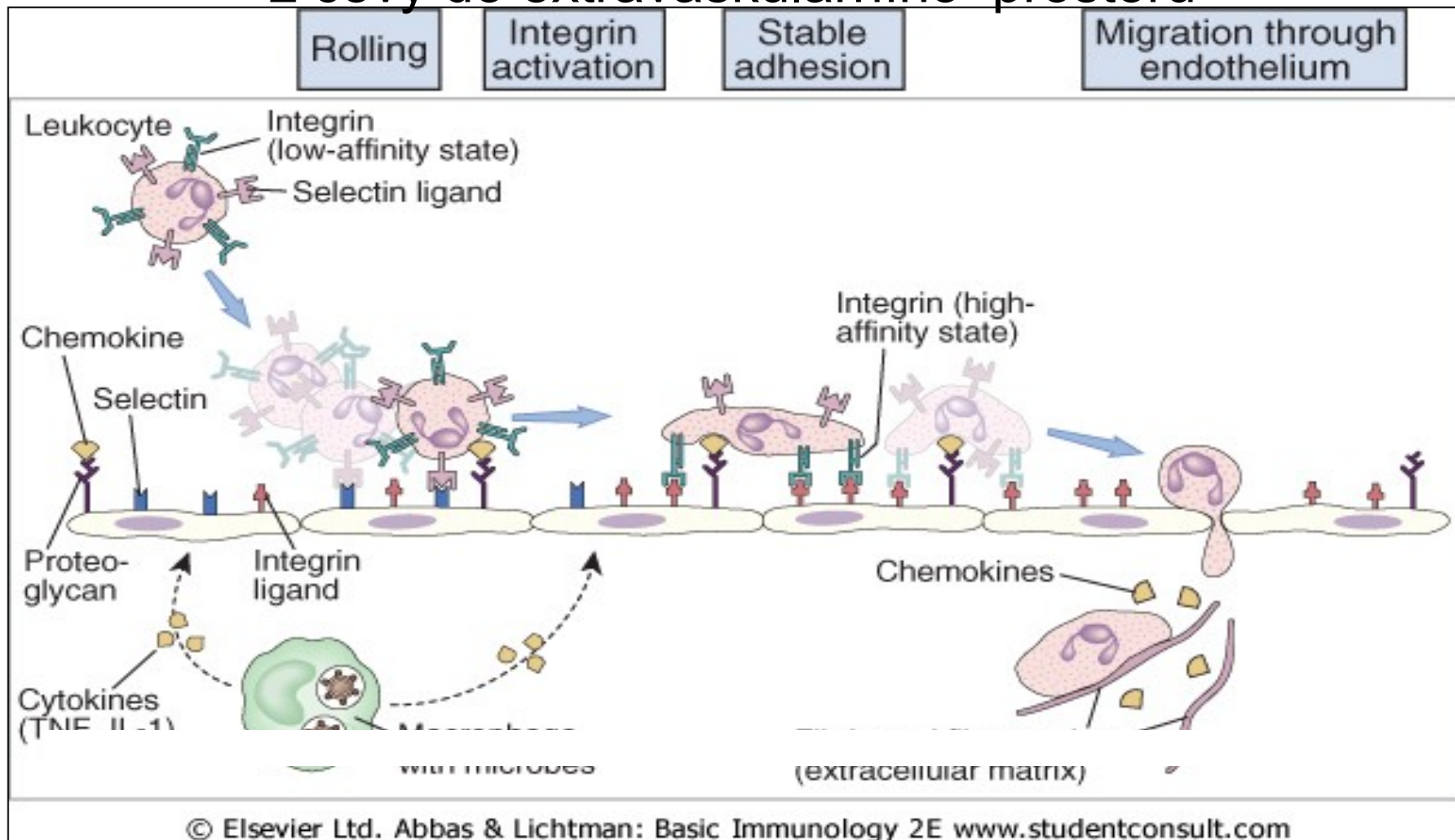
Vývoj makrofágů z monocytů



Dvě fáze interakce mezi fagocyty a cévní stěnou

- Rolling – reverzibilní interakce daná vazbou mezi endoteliálními **selektiny** a jejich ligandy na povrchu leukocytů (např sialyl-Lewis^X)
- stabilní vazba – vytváří se po aktivaci prozánětlivými faktory. Je dána interakcí mezi leukocytárnými **integriny** a jejich ligandami na endoteliích – např. ICAM-1.

Interakce leukocytů s endoteliemi při přechodu leukocytu z cévy do extravaskulárního prostoru



“Klasické“ fáze fagocytárního procesu

- Chemotaxe cílený pohyb buněk proti směru koncentrace chemotaktických faktorů (chemotaxinů)
- Adheze
- Ingesce –pohlčení, vytváření fagosomu. Ten poté splývá s lysosomem za vzniku fagolysosom.
- Intracelulární degradace – po zabití následuje destrukce fagocytovaného materiálu

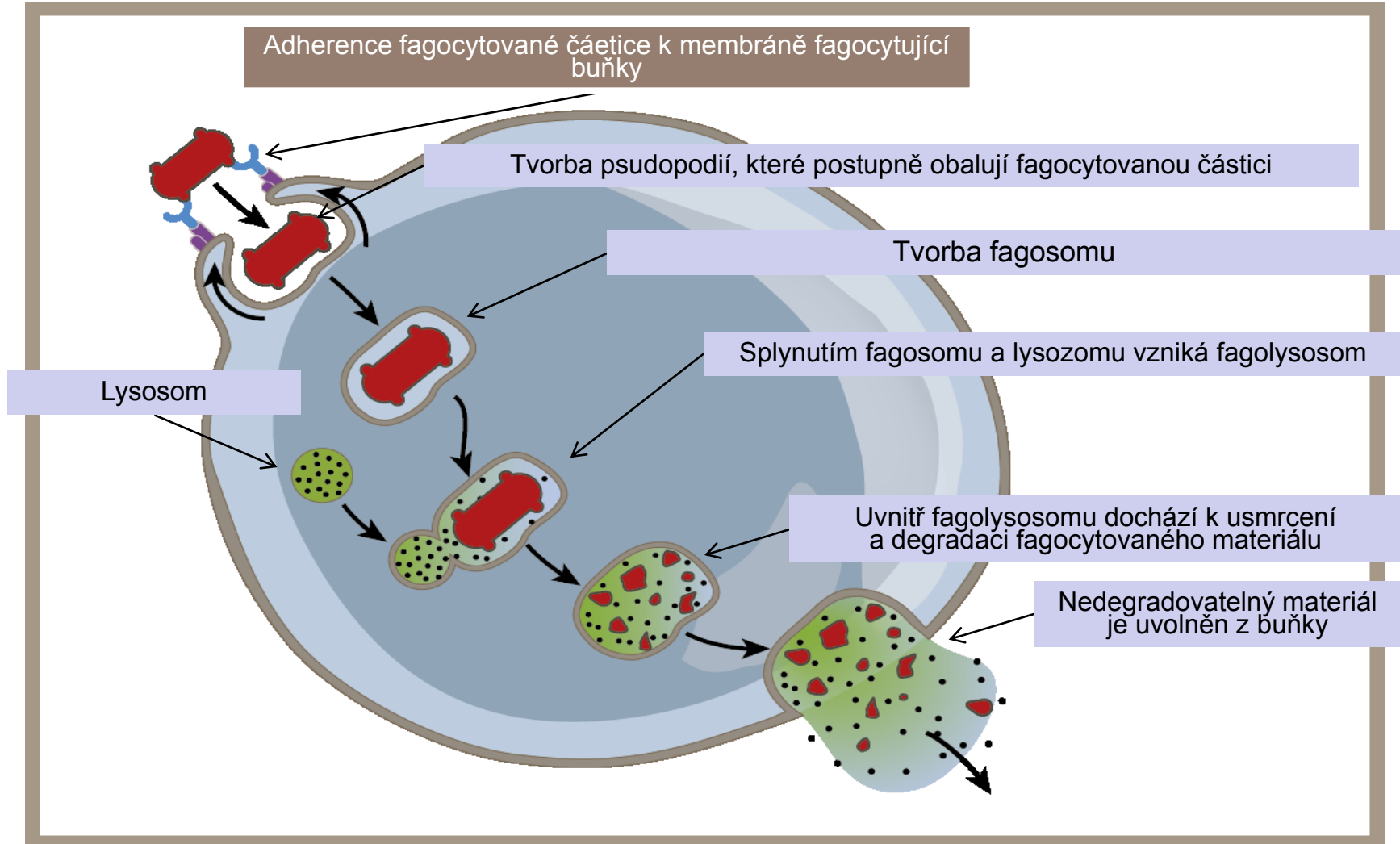
Chemotaxiny

- Produkty rozpadu buněk
- C5a
- IL-8, IL-1
- Leukotrieny
- Destičky aktivující faktor (PAF)

Opsoniny

- Látky zlepšují adhezi fagocytující buňky k fagocytované částici.
- Specifické: IgG, (IgM pouze nepřímo aktivací komplementového systému)
- Nespecifické: C3b, fibronectin, CRP, MBL.....

Jednotlivá stadia fagocytózy



Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

- Reaktivní metabolity kyslíku (H_2O_2 , hydroxylový radikál ($\cdot\text{OH}$), superoxidový aniont (O_2^-), singletovaný kyslík ($\cdot\text{O}_2$)
- Reaktivní dusíkové metabolity (NO , NO_2)
- Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy
- Nízké pH
- Lysozym
- Lactoferin
- Defenziny – antimikrobiální polypeptidy

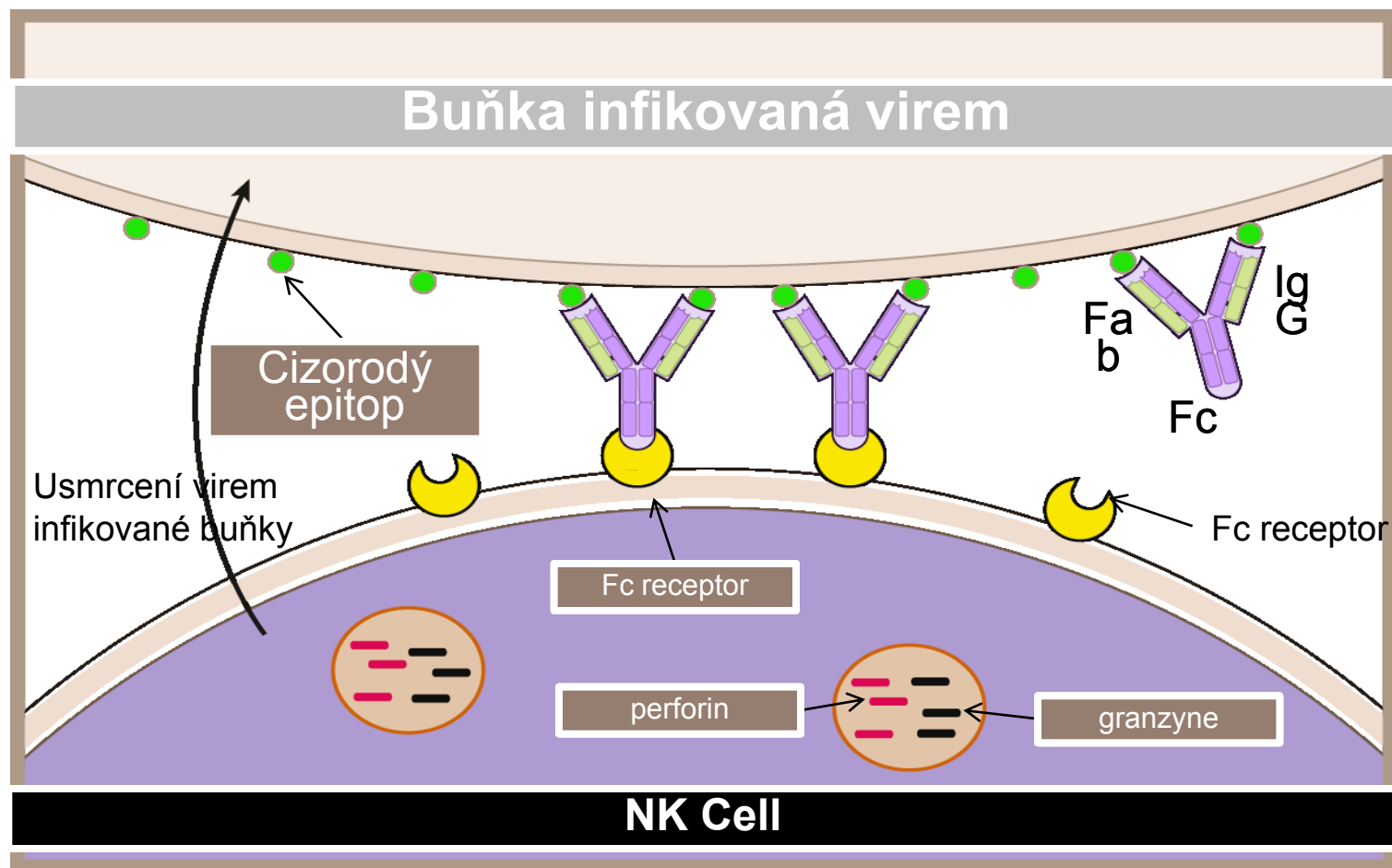
Přirození zabíječi (NK buňky)

- Morfologicky se jedná o velké granulované lymfocyty (LGL).
- Vznikají v odlišné linii než T a B- lymfocyty.
- Rozpoznání cílové buňky je antigen nespecifické. Záleží na vzájemném poměru aktivačních a inhibičních signálů na povrchu cílové buňky.
- Nejdůležitějším negativním signálem stimulace **KIR – killer inhibitory receptors**.
- Nejdůležitějším ligandem KIR je exprese (nepozměněných) HLA-I antigenů na povrchu cílové buňky.
- Aktivační stimuly: například adhezivní (např. lektiny), receptor FcγIII receptor (CD16).

Přirození zabíječi (NK buňky)

- NK buňky jsou namířeny zejména proti nádorovým a viry infikovaným buňkám.
- Vrchol odpovědi NK-buněk je již během několika hodin po primární infekci jako součást indukované vrozené imunitní reakce
- Mechanismy cytotoxicity jsou stejné jako u Tc lymfocytů.
- Důležitým stimulačním cytokinem je IL-12 (iako produkt aktivovaných makrofágů) IFN- α , β , IL-2, IL-18
- Jsou důležitým zdrojem prozánětlivých cytokinů – IFN γ , IL-3, TNF- α

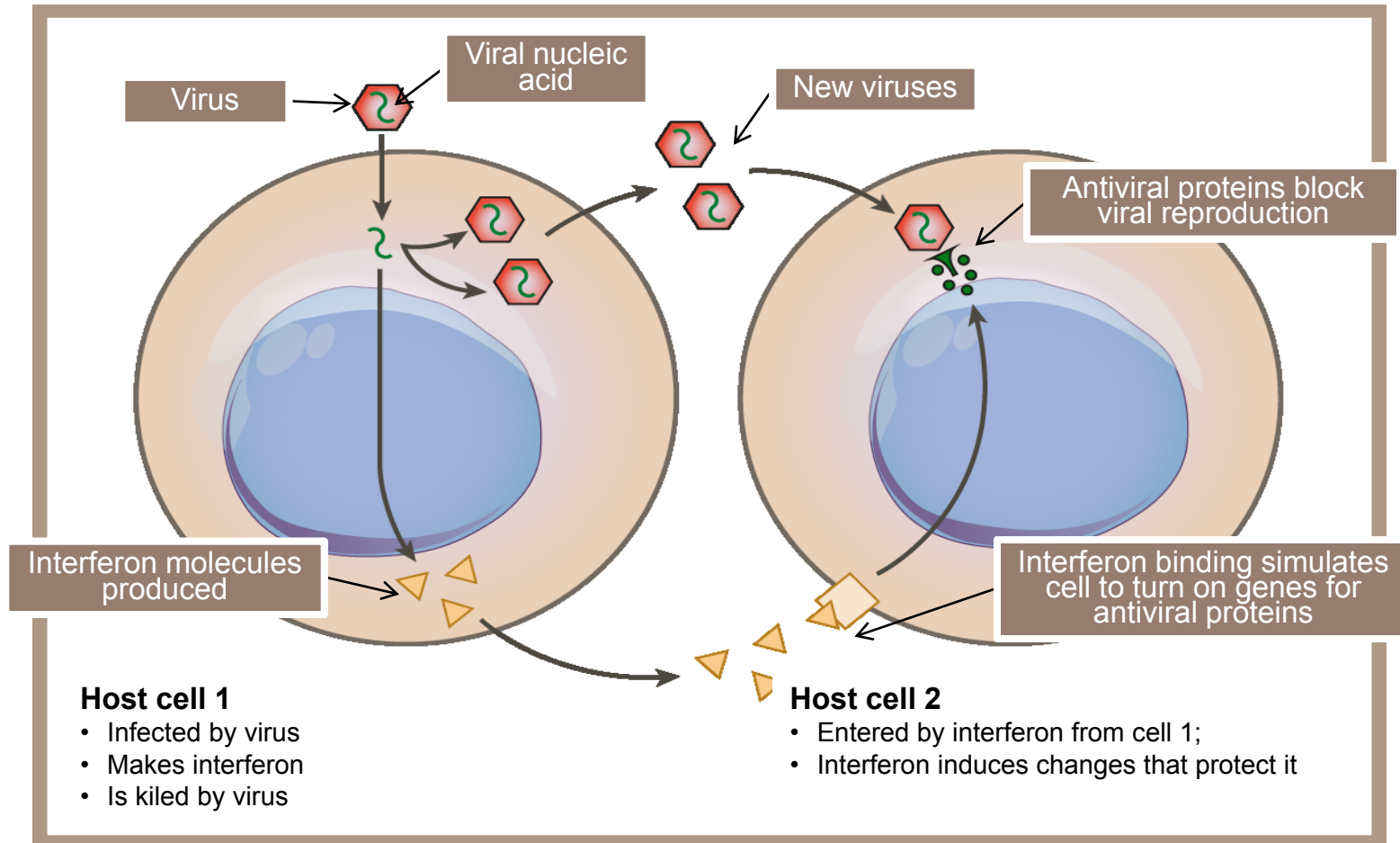
Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



Interferony (IFN)

- Typ 1: IFN α , IFN β – jsou produkována některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, granulocyty). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.
- Typ 2 - „Imunní“: IFN γ : produkován aktivovanými T_H1 buňkami, NK buňkami, způsobuje především aktivaci makrofágů.
- Interferony 3. typu - IFN λ – IL28A,B, IL-29 – podobné IFN-I

Mechanismus účinku interferonu (IFN)



Defensiny

- Malé (18-45 aminokyselin) kationické proteiny, bohaté na cystein.
- Polypeptidy účinné proti řadě bakterií, plísní ale i některým virům.
- Jsou produkovány především neutrofilními granulocyty a epiteliálními buňkami.
- Nacházejí se v řadě extracelulárních tekutin, včetně např. mateřského mléka.
- Hlavním mechanisme je porušení integrity buněčné membrány, včetně tvorby pórů v membráně.
- Dělí se na skupiny defensinů α a β .

Lysozym

- Enzym katalyzující rozklad polysacharidových řetězců v buněčných stěnách G+ bakterií.
- Přítomen v granulích granulocytů, plazmě, sekretech (významný ve slinách!)

Zánět

Zánět

- Jedná se o rychlou odpověď organismu na poškození tkání nebo infekci
- Hlavní roli hrají složky nespecifické imunity
- Hlavní události v místě zánětu
 - 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.

ZÁNĚT

Induktory:

exogenní:

mikrobiální (PAMP, faktory virulence)

nemikrobiální (alergeny, iritancia, cizí materiály, toxické sloučeniny)

endogenní:

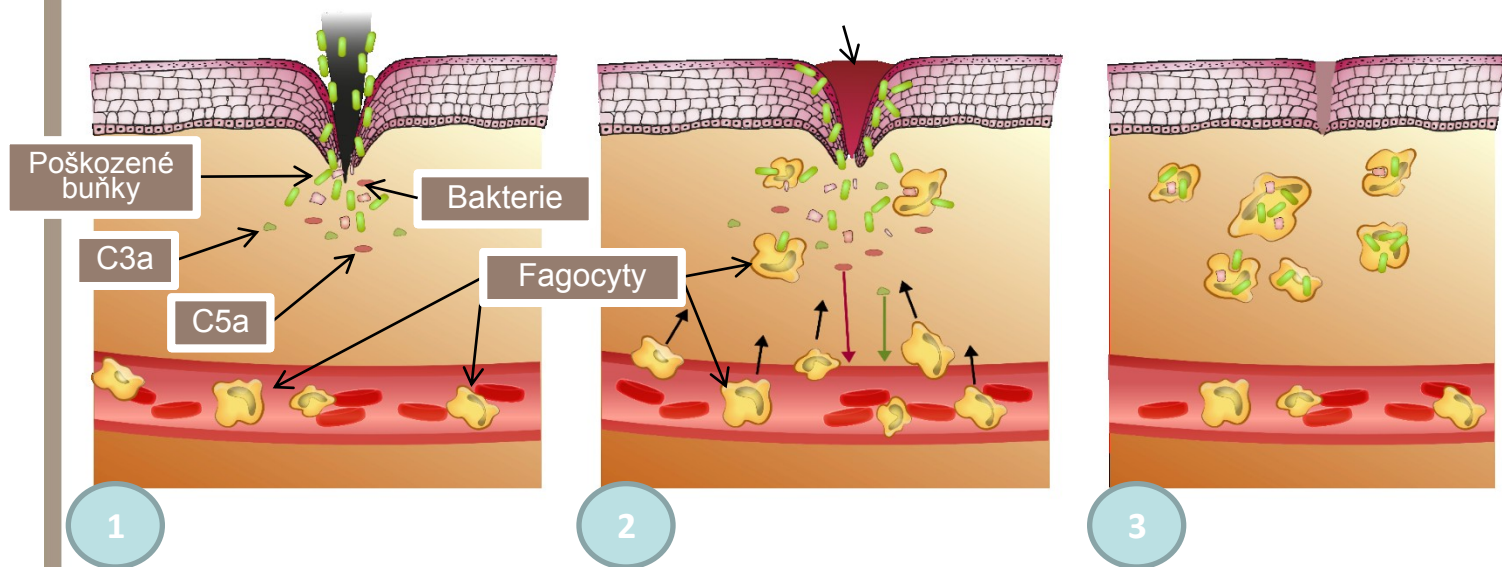
signály ze stresovaných, malfunkčních, poškozených tkání, produkty rozkladu extracelulární matrix (DAMP)

Iniciace zánětlivé odpovědi

Poškození buněk a aktivace komplementu vede k uvolnění chemotaktických a vasoaktivních substancí a přílivu krve do místa poškození

Histamin způsobuje zvýšenou permeabilitu kapilár a následný průnik fagocytujících buněk

Fagocytující buňky ničí bakterie, mrtvé buňky a buněčnou drť, což postupně vede k tkáňové reparaci



Lokální mediátory zánětu

- Vasoaktivní aminy – histamin, serotonin - uvolněné z poškozených buněk, stimulovaných mastocytů.
- Produkty kininového systému, komplementového systému, koagulačního systému.
- Metabolity kyseliny arachidonové leukotrieny, prostaglandiny 5-HETE
- Produkty mononocytů, neutrofilů: IL-1, TNF- α , IL-6, IL-18, chemokiny, NO,
- Produkty aktivovaných lymfocytů - TNF- α , IL-6, IFN- γ , chemokiny

Celkové příznaky zánětu

- Vznikají zejména pod působením IL-1, IL-6, TNF- α
- Teplota
- Únava, ospalost, ztráta chuti k jídlu
- Laboratorní známky: leukocytóza, zvýšená FW, zvýšené hladiny reaktantů akutní fáze, snížené hladiny železa a zinku v plazmě.

Proteiny akutní fáze

- Jejich hladina se zvyšuje v době 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...

C-reaktivní protein

- Váže se na fosfatidylcholin buněčných membrán.
- Aktivuje klasickou cestu komplementu, působí opsonizačně.
- Produkován po zánětlivém stimulu zejména játry.
- Rychlý vzestup (1-2 dny), poločas kolem 24 hodin – je dobrým monitorem zánětlivého procesu.
- Hladiny jsou zvýšeny při infekčních (hlavně bakteriálních) ale i neinfekčních zánětech (operace, úraz, infarkt myokardu...!)

ZÁNĚT

Patologické následky:

Zánětlivé poškození tkání, autoimunitisace,
systémová zánětlivá reakce.

Fibrosa, metaplasie, růst tumoru.

Změna homeostatického nastavení,
autoinflamace

Nejdůležitější léky využívané k tlumení zánětlivých procesů

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