

Vybrané podklady pro praktika z imunologie

Adaptivní imunita

J. Lokaj, V. Thon, J. Litzman

Ústav klinické imunologie a alergologie

FN u sv. Anny v Brně

Lymfocyty T a B jsou základními operačními jednotkami adaptivní imunity



Buněčné základy adaptivní imunity

Lymfoidní orgány (lymfadenopatie, asplenie, splenomegalie)
(thymus)

Vyšetření funkce lymfocytů in vivo

tvorba protilátek po vakcinaci (imunoglobuliny v séru, ve slinách, v likvoru)

celulární imunita (indukce kontaktní přecitlivělosti, multitest CMI)

Vyšetření subpopulací lymfocytů in vitro

imunofenotypizace (CD)

funkční testy (proliferace, tvorba cytokinů, Ig)

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

Vyšetření sleziny

U zdravých osob slezinu nenahmatáme

Hyposplenismus: vrozená asplenie
stavy po splenektomii

Význam vakcinace proti pneumokokům!

Splenomegalie:

hyperplazie buněk imunitního systému (infekce)
porušení průtoku krve (cirhóza jater, trombózy)
maligní procesy (primární i sekundární)
autoimunitní procesy (RA-Felty, SLE, hematol.)
extramedulární hematopoéza

Diferenciální krevní obraz

Odběr krve do EDTA (nesrážlivá)

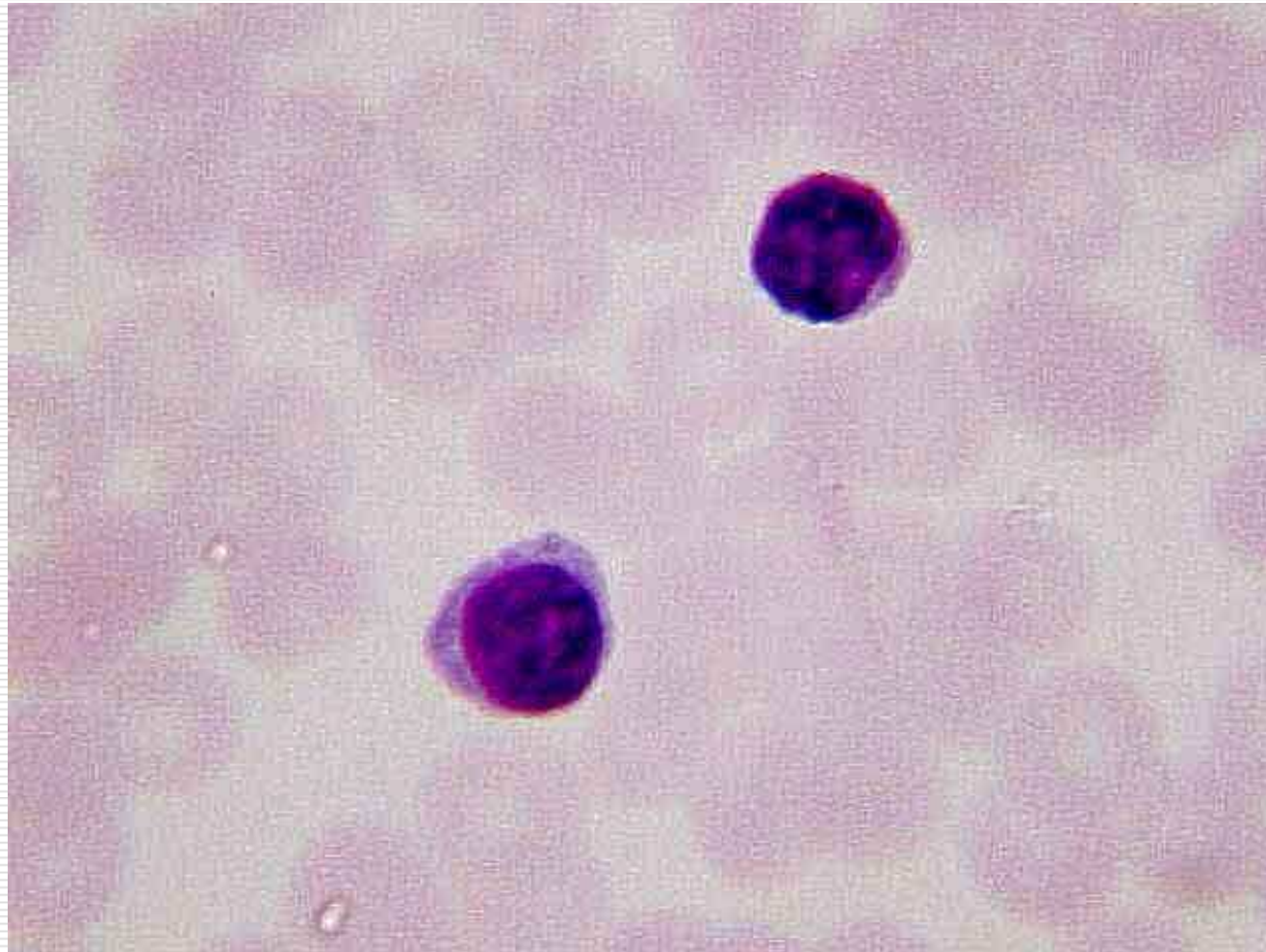
Leukocyty

dospělí:	4,0 – 9,0 x 10 ⁹ /L
4-7 let:	5,5 – 15,5 x 10 ⁹ /L
novorozenci:	9,0 – 30,0 x 10 ⁹ /L

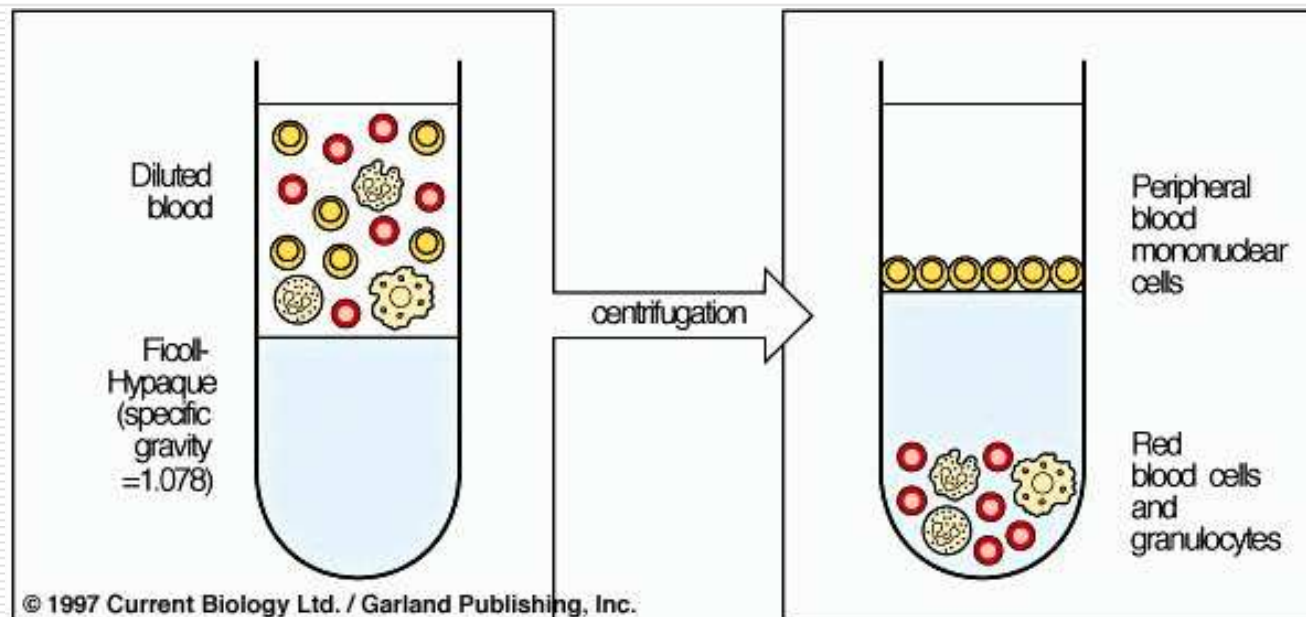
Diferenciální krevní obraz

	<u>Dospělí</u>	<u>Děti</u>	<u>Kojenci</u>
Tyčky	do 5%	do 6%	do 8%
Granulocyty neutrofilní	40–70%	25-60%	17-60%
eosinofilní	do 4%	1-5%	1-5%
basofilní	do 1%	do 1%	do 1%
Monocyty	do 7%	1-6%	1-6%
Lymfocyty	25-45%	25-50%	20-70%

Lymfocyty v periferní krvi



Isolace mononukleárních buněk z krve



CD klasifikační systém (Paříž 1982)

CD= cluster of differentiation

Molekuly buněčných membrán prokazované monoklonálními protilátkami (metodikou průtokové cytometrie)

Odběr nesrážlivé krve (EDTA)

Lymfocyty T: CD3+(58-85%)

Th: CD3+CD4+ (30-60% z CD3+)

Tc: CD3+CD8+ (15-35% z CD3+)

Lymfocyty B: CD19+ (7-23%)

Buňky NK: CD16+CD56+ (6-20%)

(tč. asi 200 CD znaků, umožňujících posouzení vývojového stadia buněk a jejich aktivace).

Základní subpopulace lymfocytů B

BCR: IgM – Ig α , Ig β – CD19

B-1B buňky

(minoritní subpopulace B-buněk v pleurální a peritoneální dutině, částečně ve střevě, tvoří „přirozené protilátky“)

B-2B buňky

(predominantní populace B-buněk přítomná ve slezině a v lymfatických uzlinách tvořená v kostní dřeni v průběhu života)

ZÁKLADNÍ SUBPOPULACE BUNĚK T

Th (CD3/CD4+)

Th1 (IFN γ , TNF, LT, IL-2, IL-3, GM-CSF)

Th2 (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13)

Tc (CD3/CD8+)

NKT (V α 24-J α 18 a V β 11)

poznávají glykolipidové antigeny s CD1

aktivované produkují cytokiny (vč. IFN γ a IL-4)

PAMĚŤOVÉ BUŇKY T

Centrální paměťové buňky (CCR7+, CD62L+)

jsou v sekundárních lymfatických orgánech, vykazují nízkou cytolytickou aktivitu a omezenou schopnost migrace; jsou nejúčinnější při systémových infekcích

Periferní (efektorové) paměťové buňky (CCR7-, CD62-)

jsou v nelymfoidních tkáních (plíce, kůže, tuková tkáň), jsou cytolytické a mají výrazný cirkulační potenciál; jejich lokalizace umožňuje bezprostřední reakci na infekce v periferních tkáních

REGULAČNÍ BUŇKY T

Konstituční Treg (CD4+CD25+)

neproliferují při polyklonální stimulaci, tlumí reakce T-buněk přímým kontaktem

Indukované Tr1 a Th3 (CD4+, IL-10, TGF- β)

tlumí buňky Th1, Th2, ale i jiné buňky prostřednictvím cytokinů

Průtokový cytometr (FACS)

FS

1023

velikost

granulocyty

monocyty

A
29.9%

lymfocyty

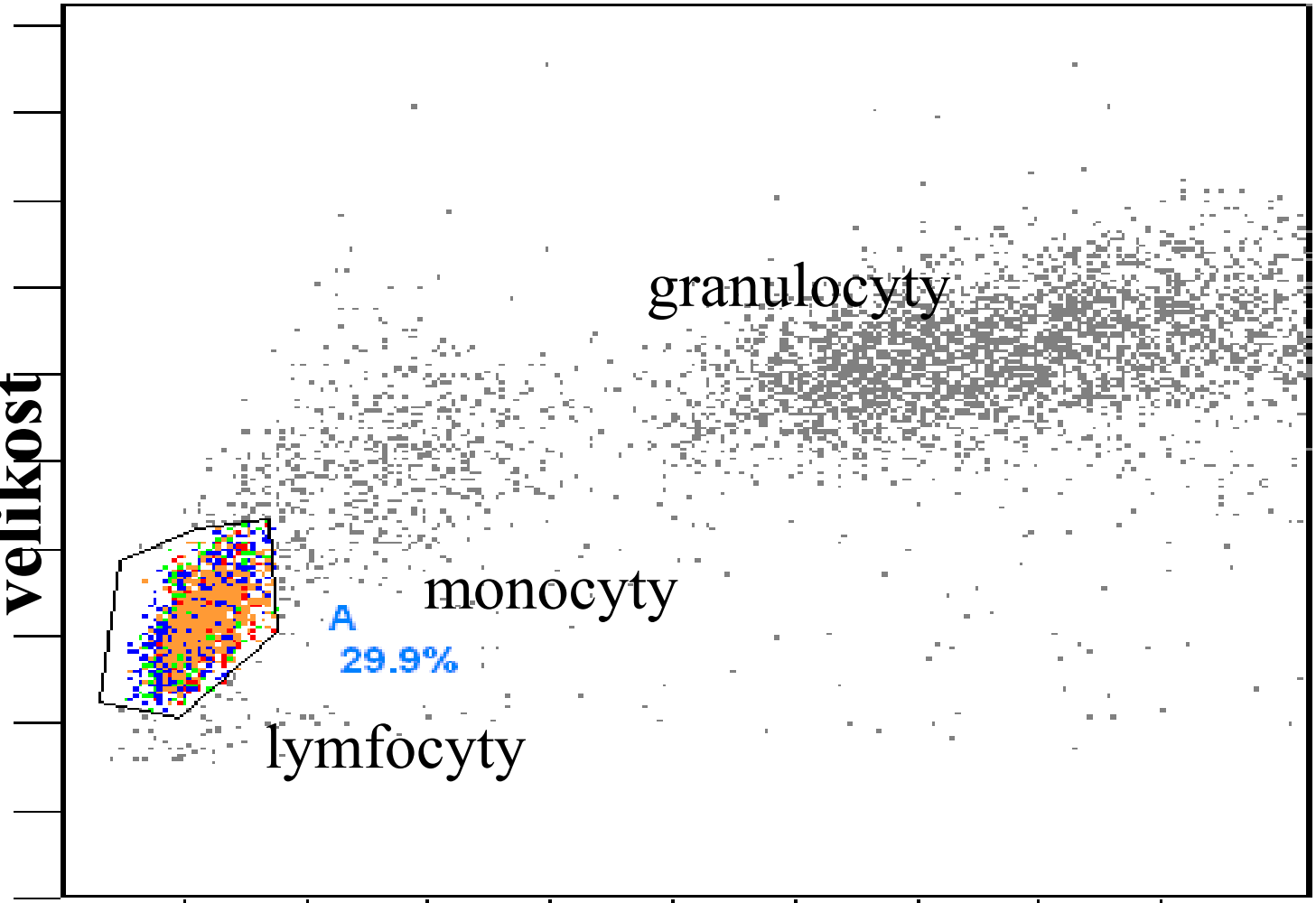
0

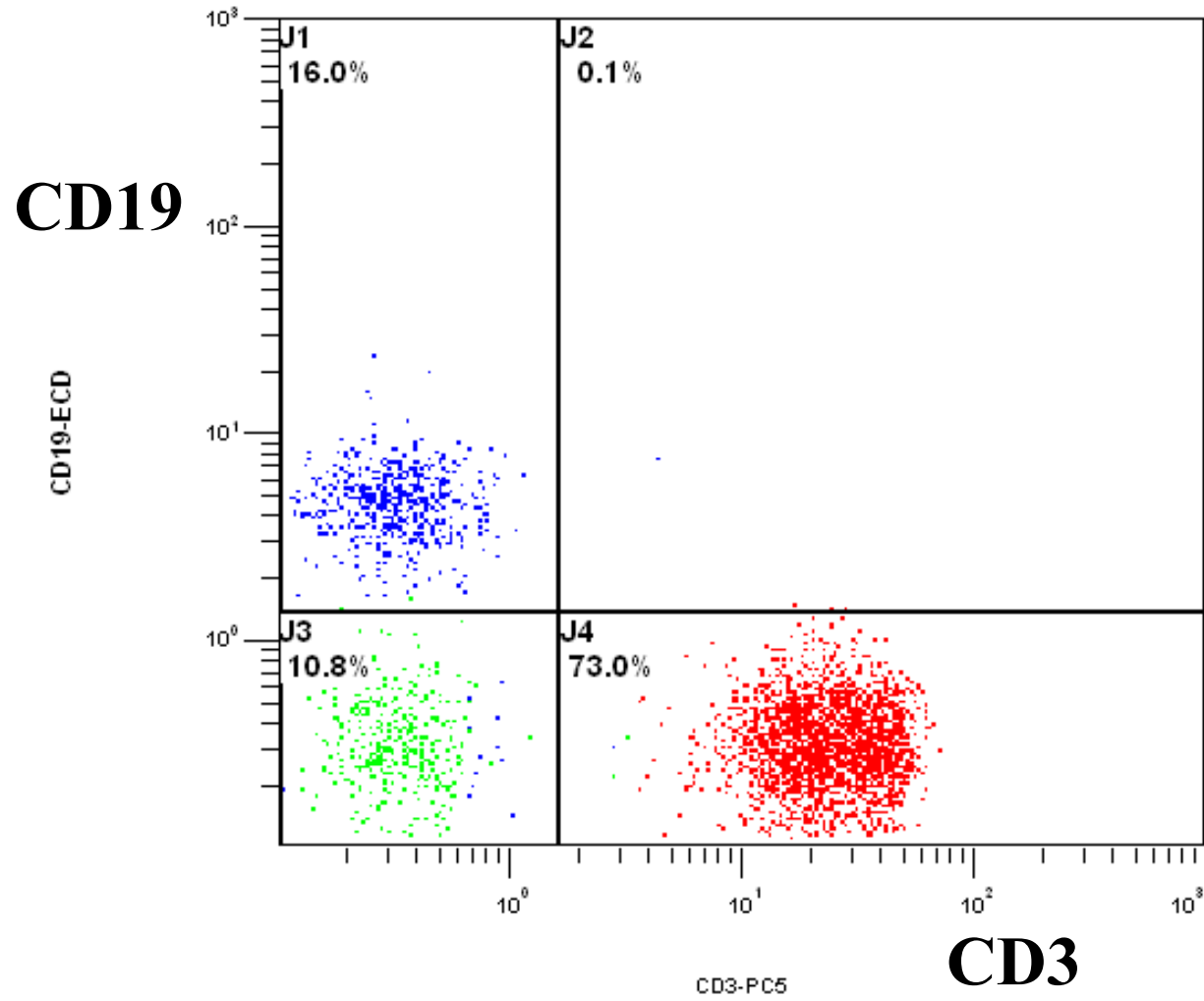
0

granularita

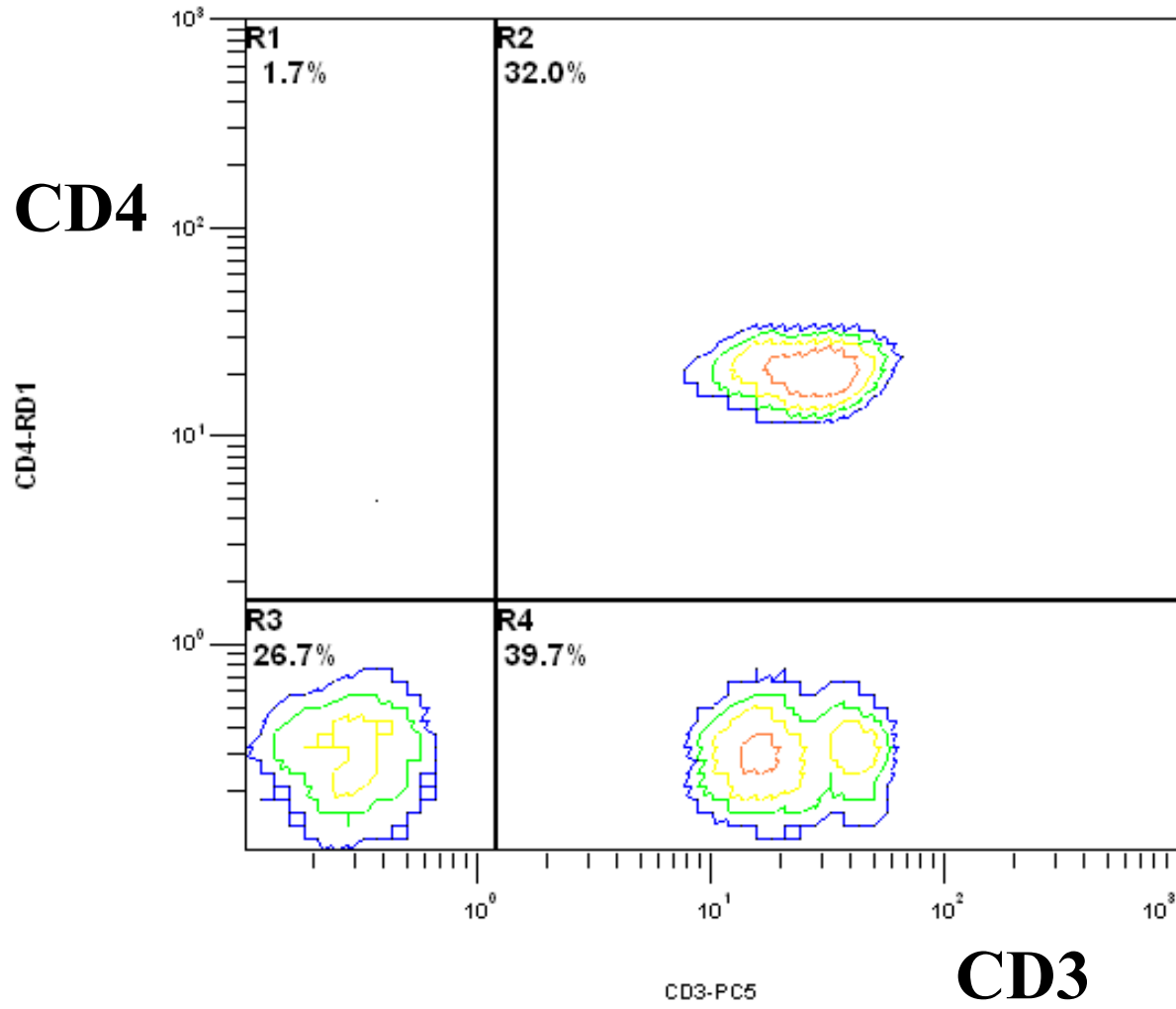
1023

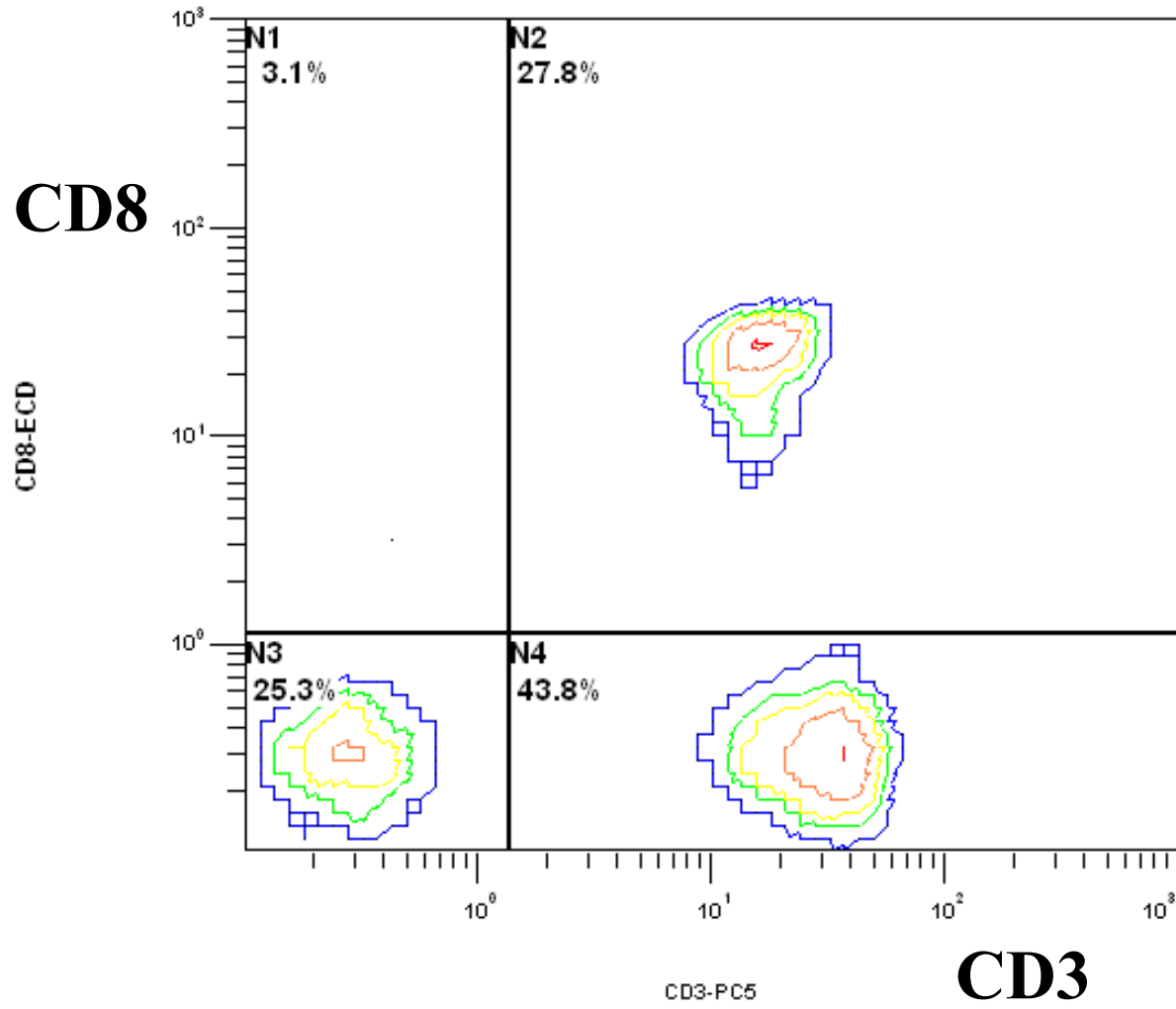
SS





(F1)[A] Z0051674.LMD : FL4 LOG/FL2 LOG





Proliferace lymfocytů in vitro (polyklonální mitogeny, specifické antigeny)

Mitogen	Abbreviation	Source	Responding cells
Phytohemagglutinin	PHA	<i>Phaseolus vulgaris</i> (red kidney beans)	T cells
Concanavalin A	ConA	<i>Canavalia ensiformis</i> (Jack bean)	T cells
Pokeweed mitogen	PWM	<i>Phytolacca americana</i> (pokeweed)	T and B cells
Lipopolysaccharide	LPS	<i>Escherichia coli</i>	B cells (mouse)

© 1997 Current Biology Ltd. / Garland Publishing, Inc.

Inkorporace ^3H thymidinu do DNA (beta-counter)

Tvorba imunoglobulinů in vitro

Stimulace: polyklonálními mitogeny
antigeny

Detekce: průkaz Ig v kultivační tekutině
průkaz Ig na buněčné úrovni
(ELISPOT)

Intradermální aplikace diagnostických antigenů



Pozitivní tuberkulinový test („pozdní“ – za 24 hod.-, indurace



Reakce pozdní přecitlivělosti (IV. typ hypersenzitivity)

