

# Adaptivní imunita

Marcela Vlková

Major histocompatibility complex (MHC)

Human leukocyte antigens  
(HLA)

# MHC

- Receptory tvořené glykoproteiny
- Jsou exprimovány na povrchu všech jaderných buněk
- Slouží k rozpoznání „vlastního a cizího“ pro T, B a NK lymfocyty
- Hlavní funkce – nabídka zpracovaných peptidových fragmentů pro T-lymfocyty

# Charakteristika molekul (antigenů) MHC

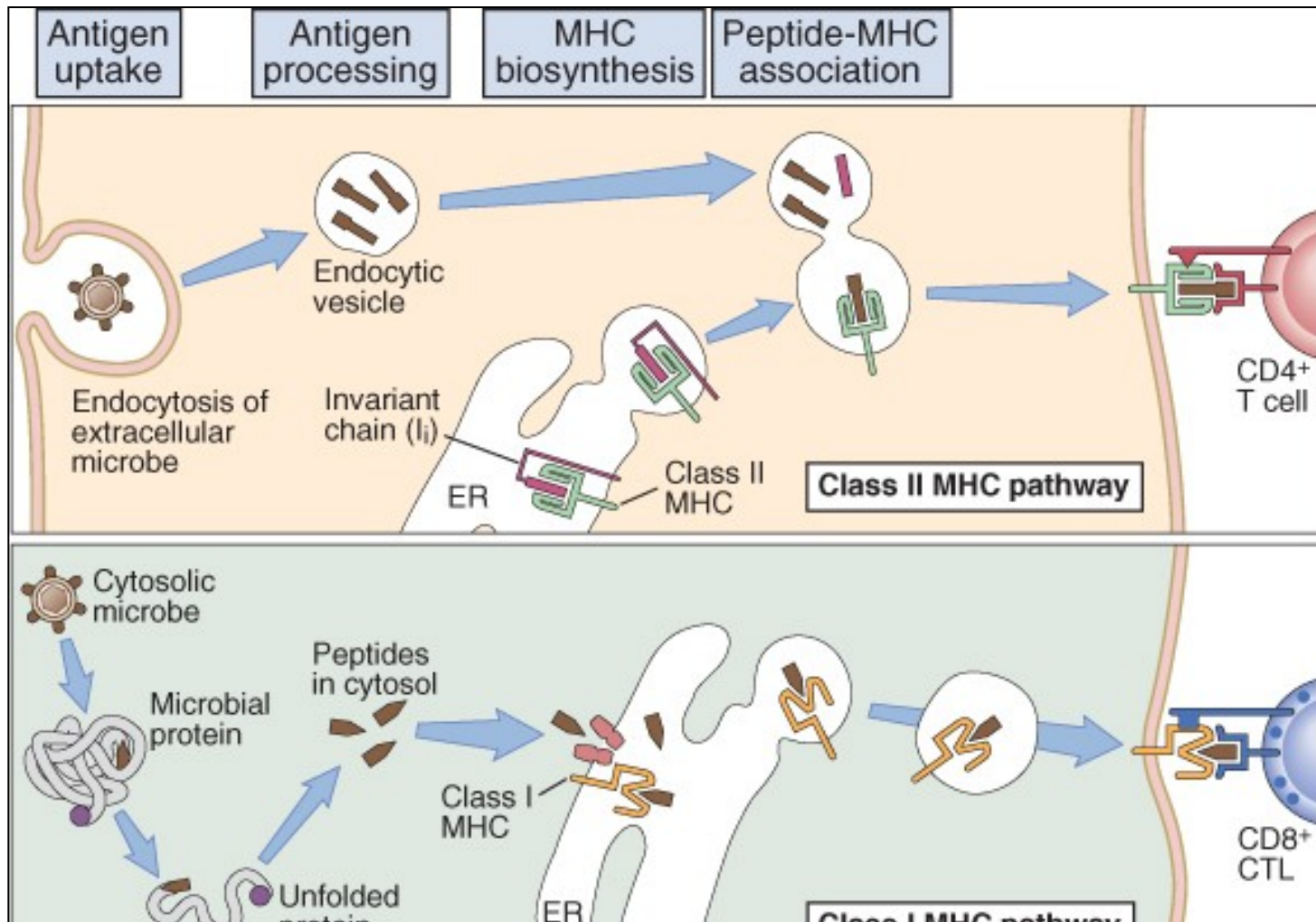
- Molekuly MHC I třídy jsou přítomny na všech jaderných buňkách (tedy ne na erytrocytech!)
- Molekuly MHC II třídy jsou přítomny na buňkách imunitního systému (buňky předkládající antigen – dendritické buňky, makrofágy, B-lymfocyty), dále na buňkách endotelových a na epitelu thymu.
- Expresi molekul 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) zvýšuje IFN $\gamma$



# HLA antigeny

- HLA – I
  - 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



# Vazba antigenu na HLA-I a HLA-II antigeny



# Charakteristika genů MHC

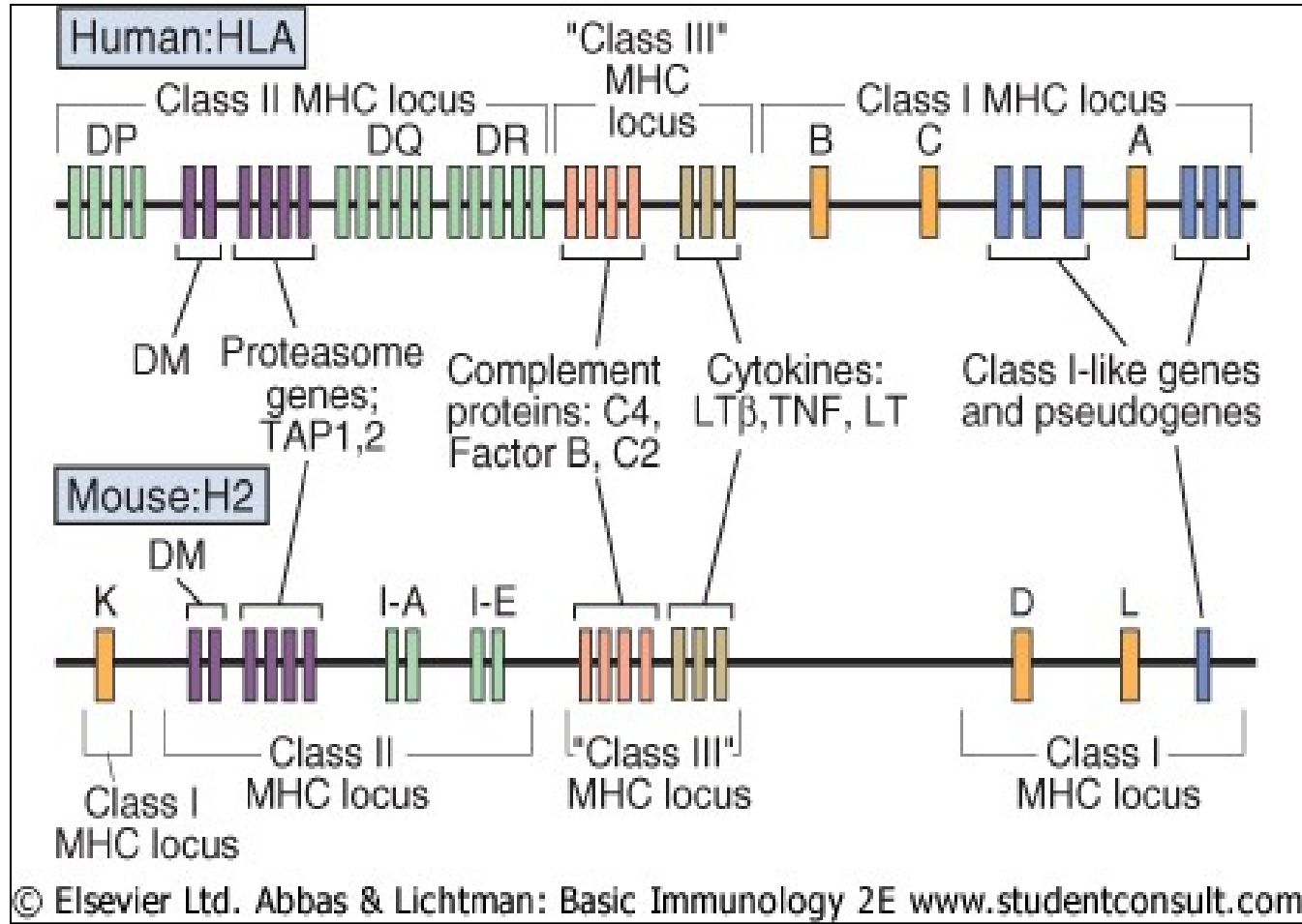
- Dvě třídy: **MHC I a MHC II (HLA I, HLA II)**  
(krátké raménko 6. chromosomu)
- Polymorfismus:  
Geny MHC jsou nejpolymorfnějšími geny v genomu
- Kodominantní exprese:  
Každý jedinec má dvě alely (od obou rodičů); označují se číslicemi (např. HLA-A2, HLA-B5, HLA-DR3 ...)
- Soubor MHC alel na chromosomu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

**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 $\alpha$ chain, $\beta_2$ -microglobulin, peptide Peptide  $\alpha$ $\beta_2$ -microglobulin	Polymorphic $\alpha$ and $\beta$ chains, peptide Peptide  $\alpha$ $\beta$
Types of APCs	All nucleated cells	Dendritic cells, mononuclear phagocytes, B lymphocytes; endothelial cells, thymic epithelium
Responsive T cells	CD8 <sup>+</sup> T cells	CD4 <sup>+</sup> 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.		

# 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 artritida: HLA-DR4 (50 – 19 – 4)

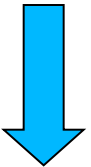
# Vyšetření HLA systému

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

# IMUNITA ADAPTIVNÍ

# Antigen prezentující buňky

- Dendritické buňky
- Monocyty, makrofágy
- B-lymfocyty

# Dendritické buňky

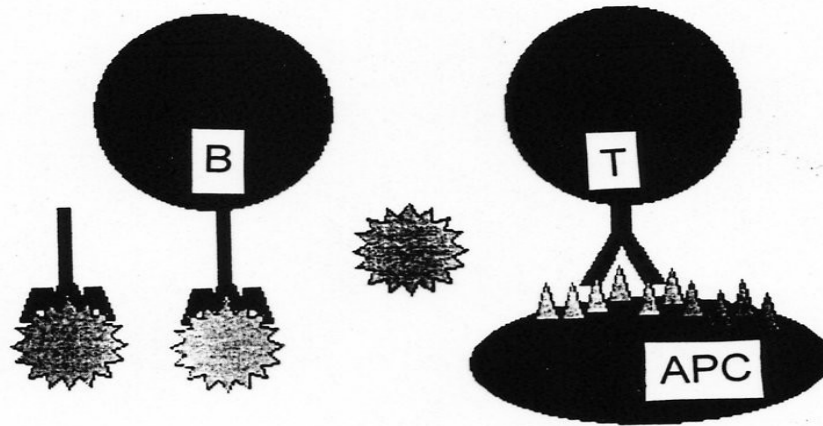
- Jsou mostem mezi přirozenou a adaptivní imunitou
- Presentace antigenů T lymfocytům – adaptivní imunitní reakce
- Zdroj kostimulačních signálů
- Podpora vrozené imunity (interakce s NK, NKT, Tlymfocyty gd)



# APC

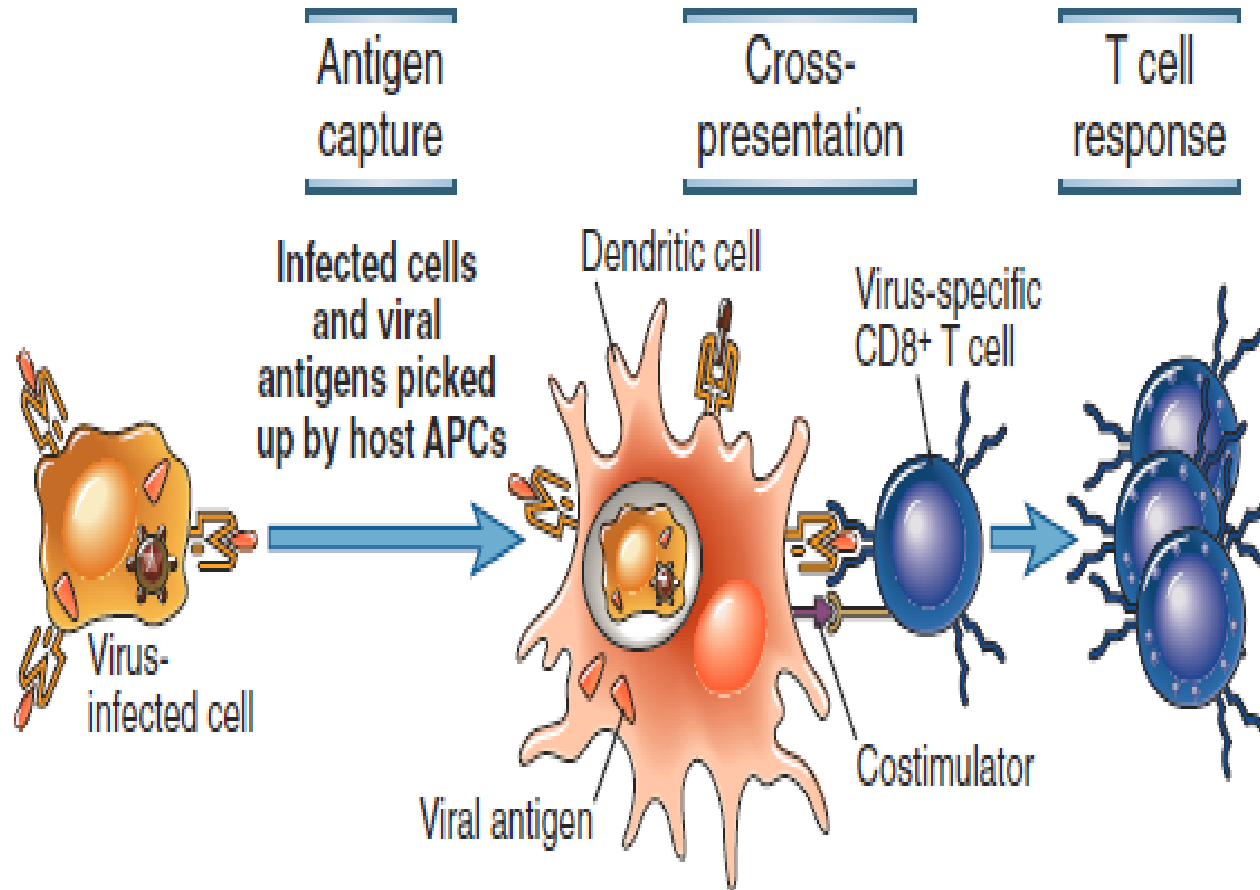
## Immunology: Antigen Processing

T cells do not recognise  
native antigens



The modification of antigen for recognition  
by T cells is called ANTIGEN PROCESSING

# APC



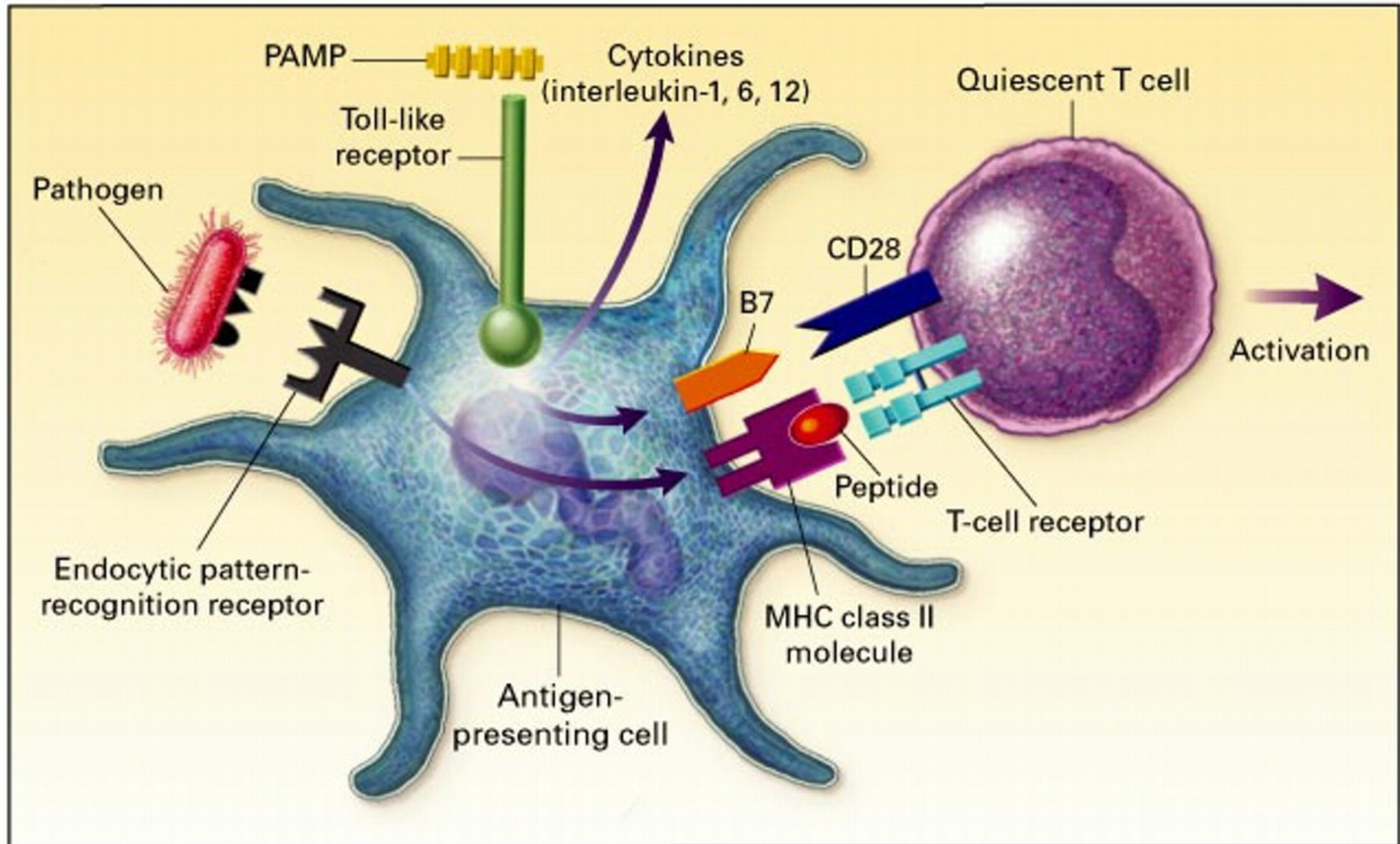
**TABLE 6–2 Properties and Functions of Antigen-Presenting Cells**

Cell Type	Expression of		Principal Function
	Class II MHC	Costimulators	
Dendritic cells	Constitutive; increases with maturation; increased by IFN- $\gamma$	Constitutive; increases with maturation; inducible by IFN- $\gamma$ , CD40-CD40L interactions	Initiation of T cell responses to protein antigens (priming)
Macrophages	Low or negative; inducible by IFN- $\gamma$	Inducible by LPS, IFN- $\gamma$ , CD40-CD40L interactions	Effector phase of cell-mediated immune responses (T cell–enhanced killing of phagocytosed microbes)
B lymphocytes	Constitutive; increased by IL-4	Induced by T cells (CD40-CD40L interactions), antigen receptor cross-linking	Antigen presentation to CD4 <sup>+</sup> helper T cells in humoral immune responses (cognate T cell–B cell interactions)
Vascular endothelial cells	Inducible by IFN- $\gamma$ ; constitutive in humans	Constitutive (inducible in mice)	May promote activation of antigen-specific T cells at site of antigen exposure
Various epithelial and mesenchymal cells	Inducible by IFN- $\gamma$	Probably none	No known physiologic function
IFN- $\gamma$ , interferon- $\gamma$ ; IL-4, interleukin-4; LPS, lipopolysaccharide.			

# Populace lidských dendritických buněk

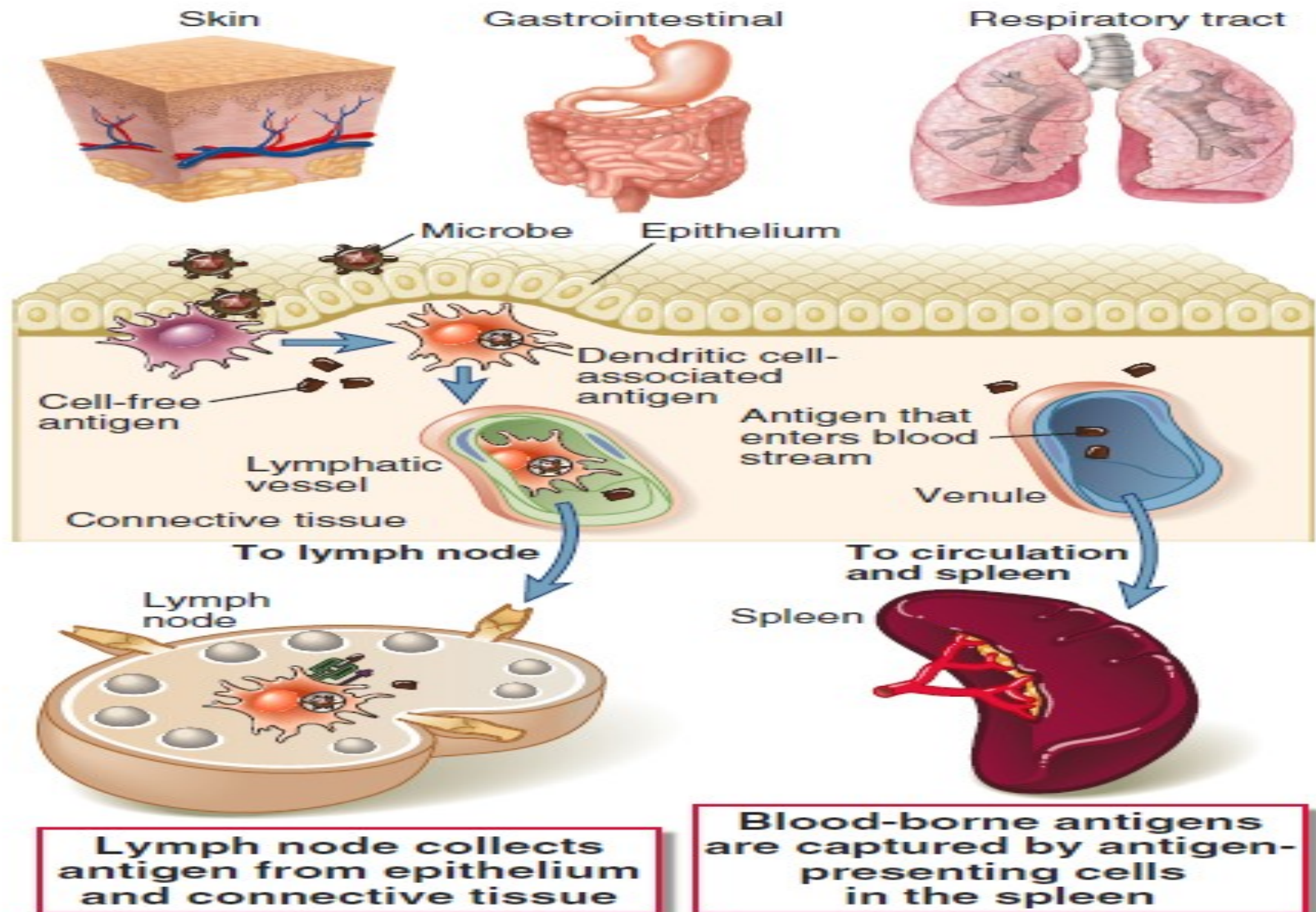
- Myeloidní (dermis, dýchací cesty, střevo, thymus, slezina, játra, lymfoidní tkáně)
- Plasmacytoidní (lymfoidní orgány, játra, plíce, kůže)
- Langerhansovy (epidermis, slizniční epitel)

# Dendritická buňka jako antigen prezentující buňka

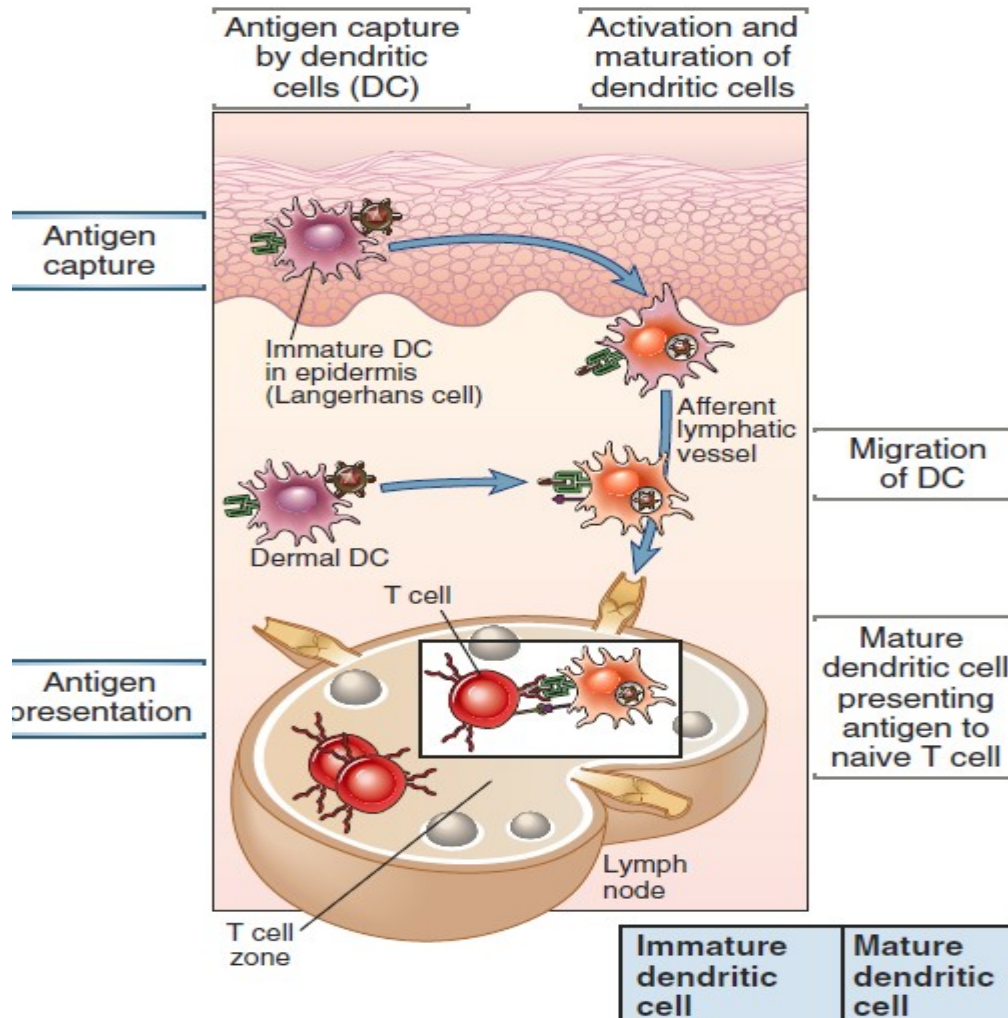




# Cesty antigenů



# Cesty antigenů

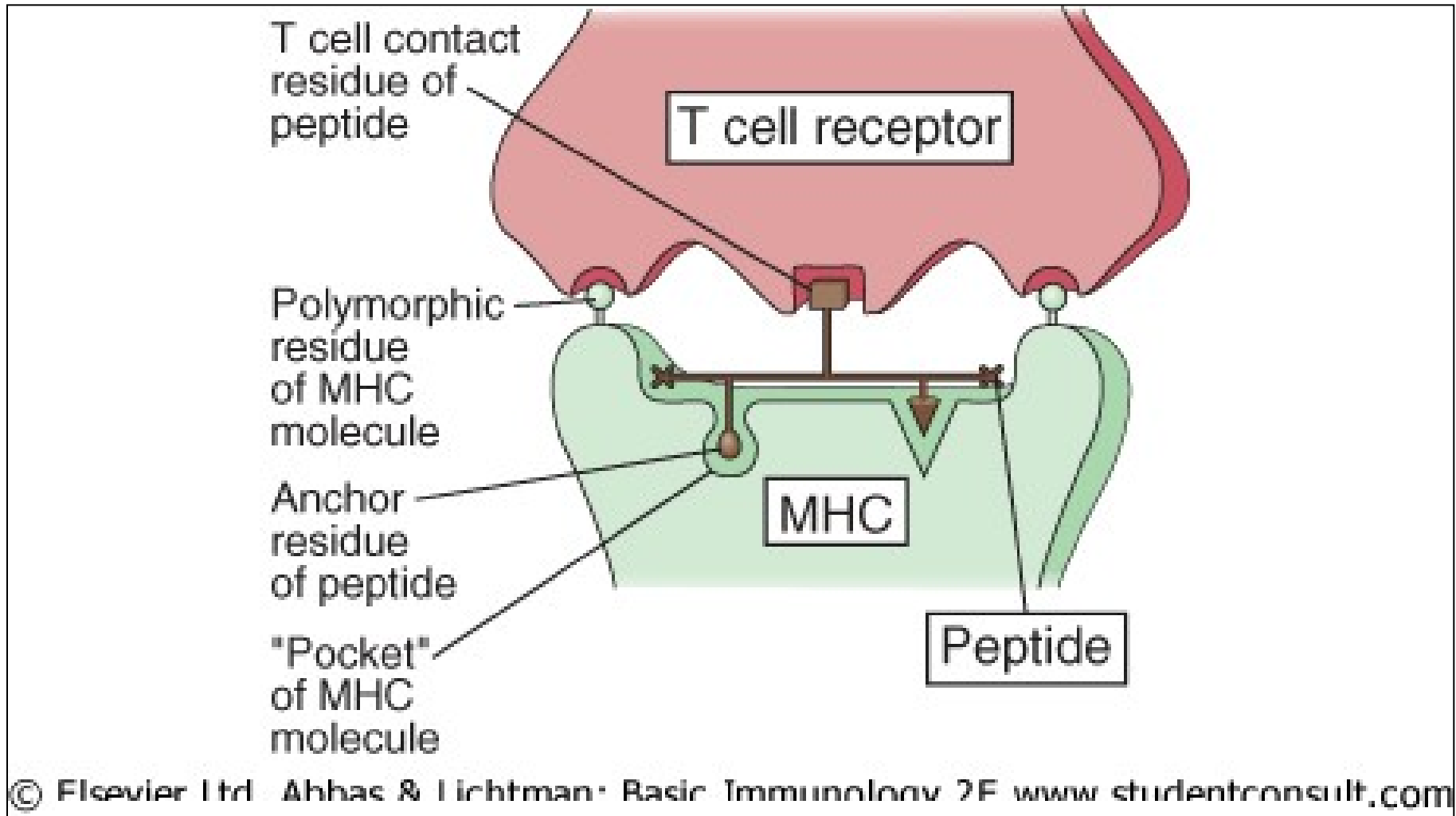


# Presentace antigenů lymfocytům T

- T-lymfocyty poznávají antigeny pouze ve formě peptidových fragmentů vázaných na MHC I nebo II.
- HLA antigeny musí být stejné, jako má příslušný konkrétní jedinec (*Fenomen MHC-restrikce*).
- Antigen musí být nejdříve v buňkách „zpracován“ (*processing*)-nativní protein je proteolyticky degradován na peptidy, které se (intracelulárně) váží na molekuly MHC. Tento komplex se dostává na buněčnou membránu, kde je schopen reagovat s TCR.
- T-lymfocyty jsou schopny poznávat i lipidové a glykolipidové struktury: je to populace NK-T, která poznává tyto antigeny „neklasickými molekulami MHC“ – CD1
- *Imunogennost proteinových antigenů je určena schopností buněk předkládajících antigen vytvořit peptidy, které se budou vázat na vlastní molekuly MHC.*



# Interakce TCR-polypeptid-HLA molekula



## Lymfocyty T a B jsou základními operačními jednotkami adaptivní imunity

- T-lymfocyty jsou zaměřeny na intracelulární antigeny
- B-lymfocyty na extracelulární antigeny
- T-lymfocyty neprodukují imunoglobuliny

# Charakteristika adaptivní imunity

**Specifičnost**

**Repertoár**

**Autotolerance**

**Paměť**

**Přiléhavé efektorové mechanismy**

# ANTIGEN – adaptivní imunita

(*Antibody generating substance*)

- Struktury, na něž reaguje adaptivní imunitní systém.
- Receptory lymfocytů B a T poznávají epitopy antigenů (epitopy B, epitopy T).
- Antigenní molekuly jsou proteiny, cukry, nukleové kyseliny a jejich komplexy, původu exogenního (mikroorganismy, alergeny, transplantované tkáně) i endogenního (krevně-skupinové substance, nádorové antigeny, „autoantigeny“).

*Antigennost vs. imunogenost*

# Adaptivní imunita: charakteristické rysy

## Specifičnost:

Přirozená imunita: Jsou rozeznávány struktury, které jsou stejně u řady cizorodých agens (PAMP)

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

# Adaptivní imunita: specifičnost

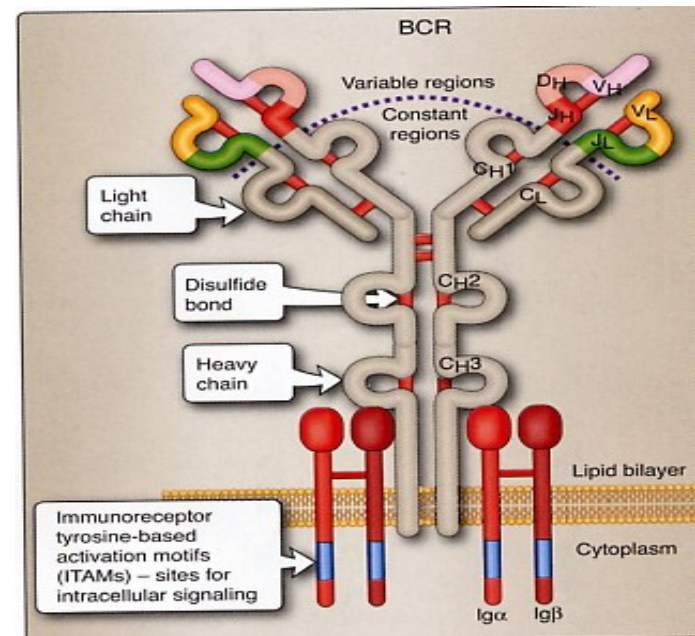
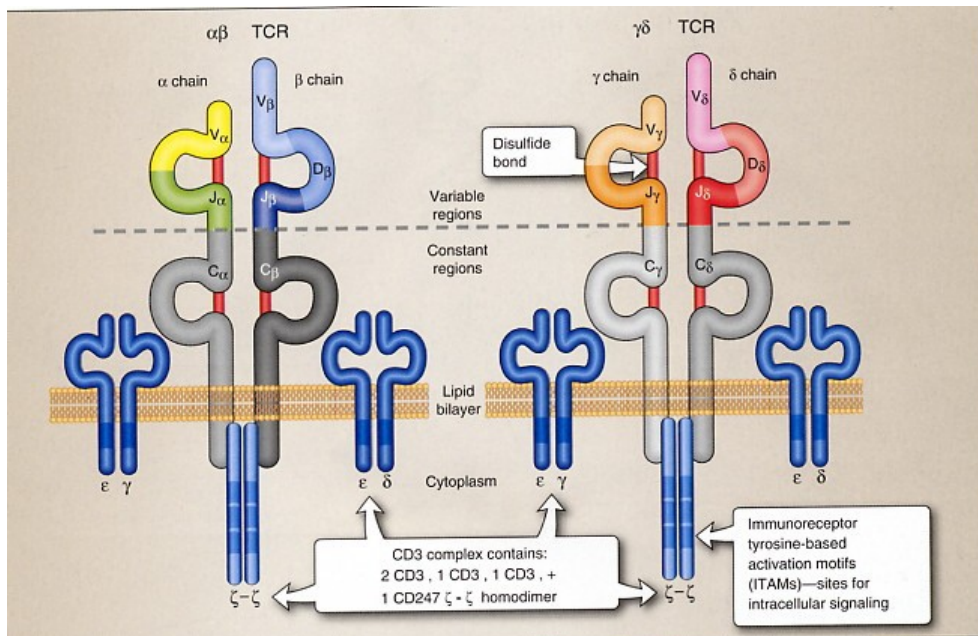
Všechny fáze adaptivní imunitní reakce (poznání antigenu, aktivace lymfocytu, efektorové mechanismy) jsou zaměřeny na konkrétní antigenní determinantu (epitop)

Lymfocyt má genetickou informaci pro jeden „antigenní receptor“ zajišťující tvorbu tisíce identických kopií tohoto receptoru.

# Adaptivní imunita: charakteristické rysy

## Receptory:

*U adaptivní imunity receptory lymfocytů T a B vznikají somatickým přeskupováním genů.*



# Adaptivní imunita: charakteristické rysy

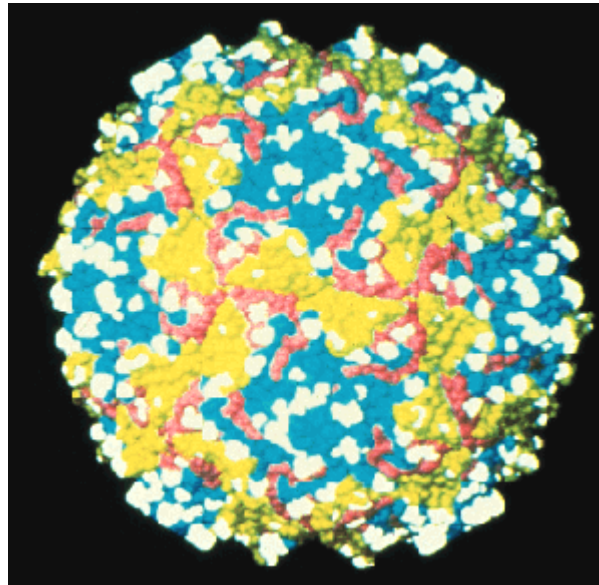
## Rozsah repertoáru:

*Adaptivní imunitní systém je schopen odlišit (TCR, BCR lymfocytů) více než  $10^{7-8}$  epitopů antigenů.*

- Schopnost poznat různé antigeny je takřka
- neomezená. Odhaduje se, že adaptivní imunitní systém dokáže odlišit cca  $10^{12-15}$  epitopů.
- Příčiny diverzity:
- Somatické rekombinace (somatické přeskupování genů).
- Mutační mechanismy.



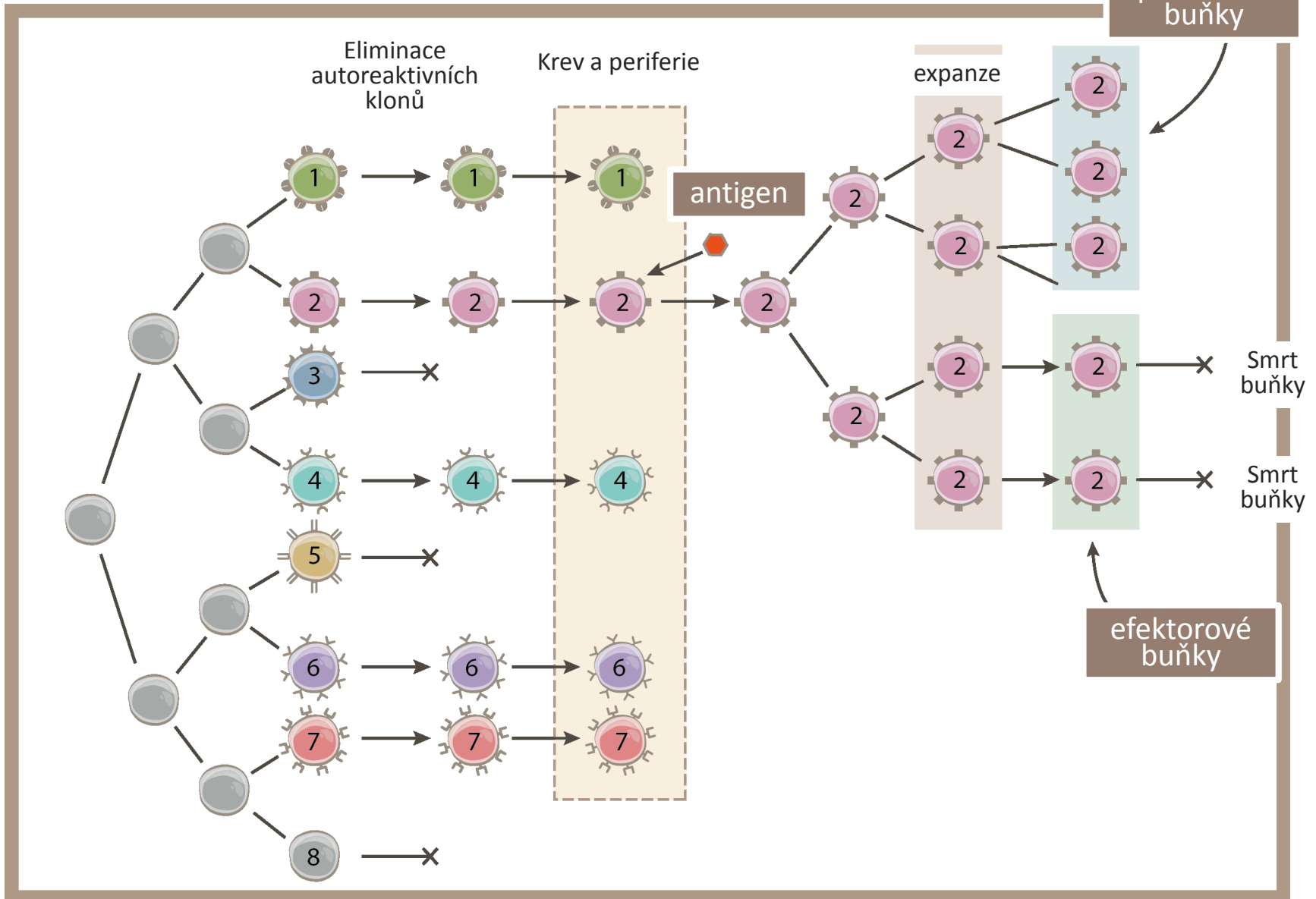
Lymfocyty B a T poznávají odlišné epitopy antigenních molekul (epitopy B lymfocytu: sekvenční i konformační na *nativní* molekule, epitopy T lymfocytu: většinou lineární peptidy tvořené intracelulárně při přípravě antigenu k prezentaci)  
Imunodominantní epitopy



# Postuláty klonální selekční teorie (*Macfarlane Burnet*)

- Každý lymfocyt má jeden typ receptoru s jedinečnou specificitou
- Interakce mezi epitopem antigenu a receptorem schopným ji vázat vede k aktivaci lymfocytu
- Buňky, které vznikly z aktivovaných lymfocytů proliferací a diferenciací mají receptory stejné specificity.
- Lymfocyty, které mají receptory pro tělu vlastní antigeny jsou v časném stadiu vývoje lymfoidních buněk odstraněny a tudíž v repertoáru zralých lymfocytů chybí („forbidden clones“)

# Klonálně selekční teorie



# Vrozená imunita: charakteristické rysy

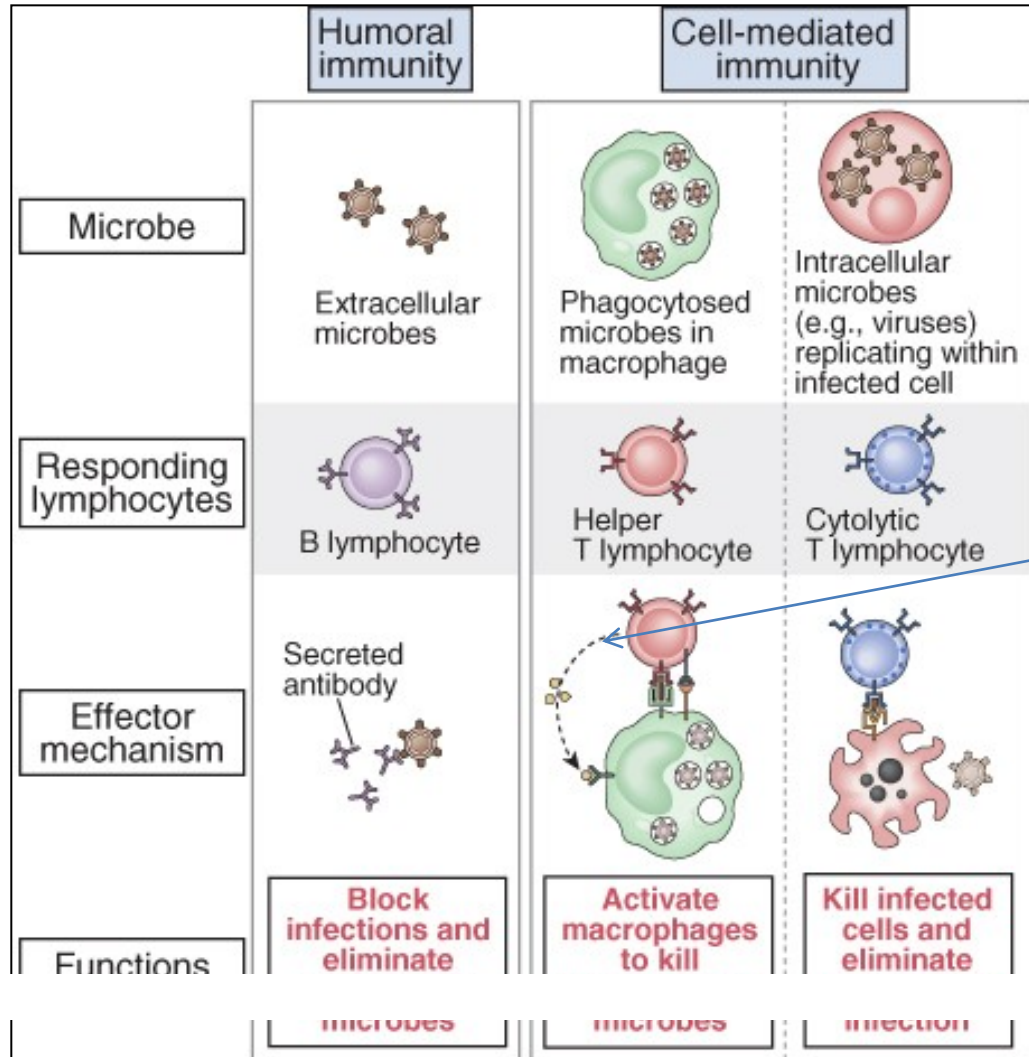
## Autoreaktivita:

*Adaptivní imunita se vytvořila k poznávání „cizích“, mikroorganismů, ale také vlastních molekul.*

## Paměť:

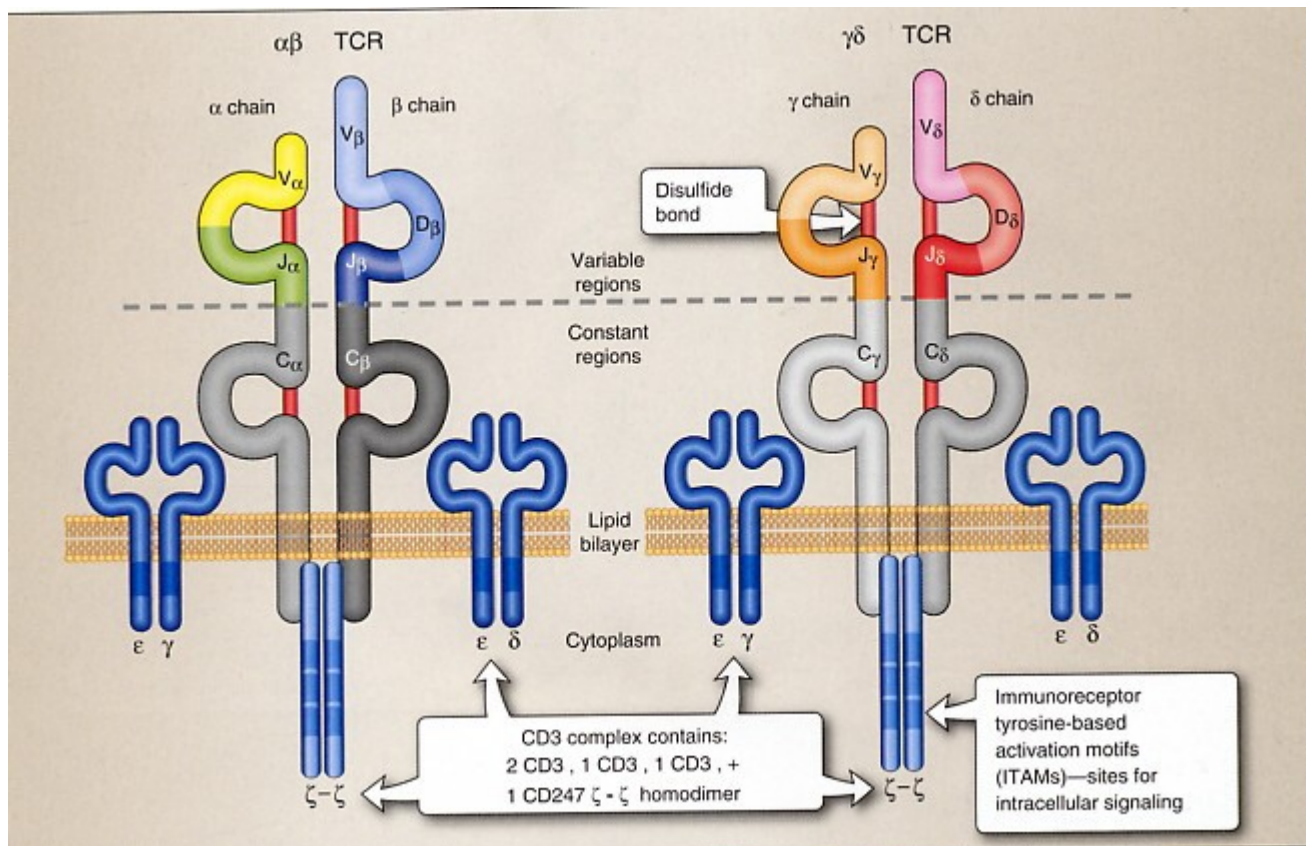
*Vytvoření imunologické paměti je pro adaptivní imunitu příznačné – primární a sekundární reakce, „booster“.*

# Dvě větve adaptivní imunity



Produkce cytokinů

# Receptor lymfocytů T (TCR $\alpha\beta$ , TCR $\gamma\delta$ )



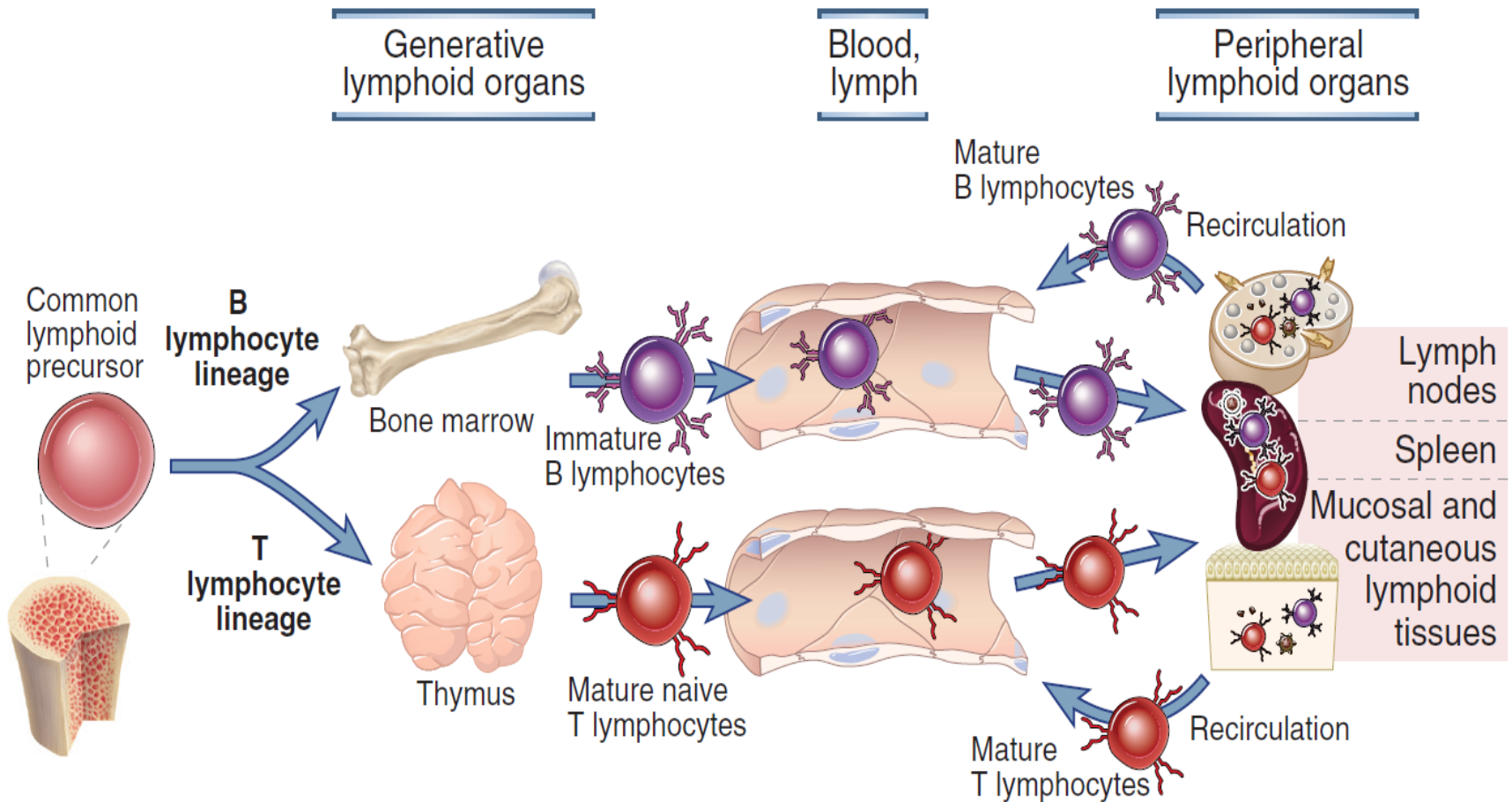
T-lymfocyty

# Základní subpopulace T-lymfocytů

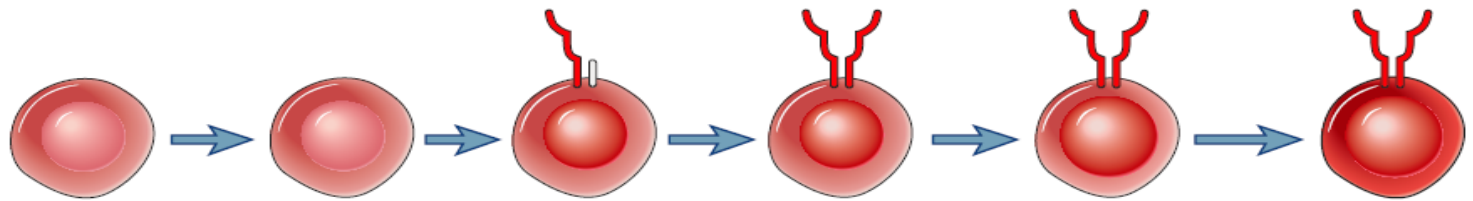
- Cytotoxické T-lymfocyty (CD8+): zabíjejí cílové buňky. Rozeznávají komplex HLA-I-antigenní polypeptid.
- Pomocné T-lymfocyty (CD4+): produkcí pomocných signálů umožňují aktivaci a diferenciaci B-lymfocytů a aktivaci makrofágů. Rozeznávají komplex HLA-II-antigenní polypeptid.
- Regulační T-lymfocyty (CD4+): účastní se udržování imunitní tolerance



# Vývoj T a B lymfocytů



# Vývoj T-lymfocytů

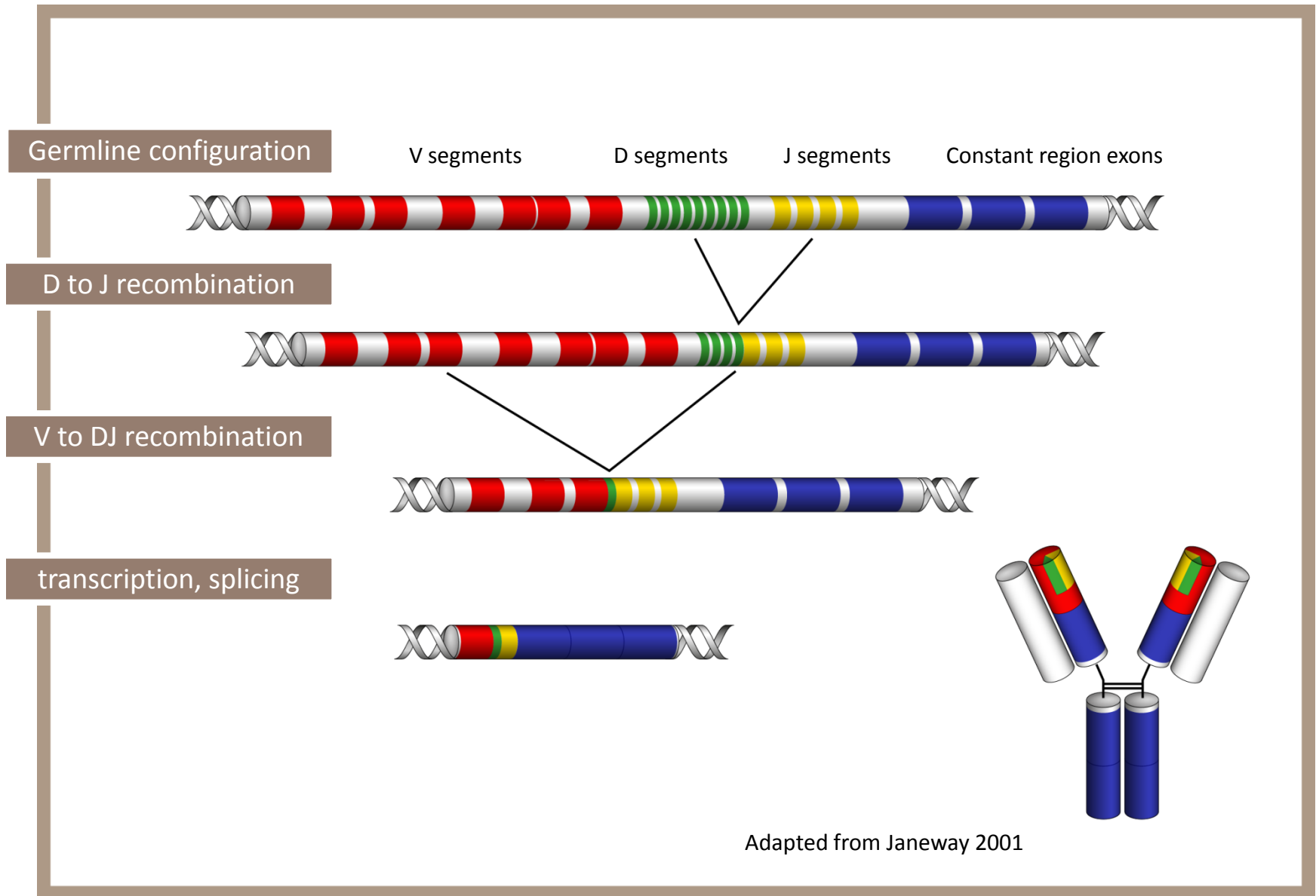


<b>Stage of maturation</b>	Stem cell	Pro-T	Pre-T	Double positive	Single positive (immature T cell)	Naive mature T cell
<b>Proliferation</b>	[Grey bar]		[Grey bar]			
<b>RAG expression</b>			[Grey bar]	[Grey bar]		
<b>TdT expression</b>		[Grey bar]				
<b>TCR DNA, RNA</b>	Unrecombined (germline) DNA	Unrecombined (germline) DNA	Recombined $\beta$ chain gene [V(D)J-C]; $\beta$ chain mRNA	Recombined $\beta$ , $\alpha$ chain genes [V(D)J-C]; $\beta$ and $\alpha$ chain mRNA	Recombined $\beta$ , $\alpha$ chain genes [V(D)J-C]; $\beta$ and $\alpha$ chain mRNA	Recombined $\beta$ , $\alpha$ chain genes [V(D)J-C]; $\beta$ and $\alpha$ chain mRNA
<b>TCR expression</b>	None	None	Pre-T receptor ( $\beta$ chain/pre-T $\alpha$ )	Membrane $\alpha\beta$ TCR	Membrane $\alpha\beta$ TCR	Membrane $\alpha\beta$ TCR
<b>Surface markers</b>	$c\text{-kit}^+$ $\text{CD44}^+$ $\text{CD25}^-$	$c\text{-kit}^+$ $\text{CD44}^+$ $\text{CD25}^+$	$c\text{-kit}^+$ $\text{CD44}^-$ $\text{CD25}^+$	$\text{CD4}^+\text{CD8}^+$ $\text{TCR}/\text{CD3}^{\text{lo}}$	$\text{CD4}^+\text{CD8}^-$ or $\text{CD4}^-\text{CD8}^+$ $\text{TCR}/\text{CD3}^{\text{hi}}$	$\text{CD4}^+\text{CD8}^-$ or $\text{CD4}^-\text{CD8}^+$ $\text{TCR}/\text{CD3}^{\text{hi}}$
<b>Anatomic site</b>	Bone marrow	Thymus				Periphery
<b>Response to antigen</b>	None	None	None	Positive and negative selection		Activation (proliferation and differentiation)

# Molekulárně genetická podstata specifičnosti

- Geny pro TCR (BCR) větší počet genových segmentů, které se při vývoji T- nebo B-lymfocytů přeskupují
- Jsou složeny z Varibilních segmentů, Diversitních segmentů a Konstantních segmentů
- Na koncích V, D a J jsou krátké sekvence nukleotidů, které jsou rozeznávány Rekombinázami RAG1 a RAG2, probíhá vyštěpení segmentů mezi vybranými D a J segmenty a poté dochází ke spojení odstřižených konců D a J nově syntetizovaným úsekem N působením terminální transferázy a dalších enzymů
- Nejprve dochází k D-J přeskupení, poté následuje V-D přeskupení

# VDJ rekombinace při vzniku variabilního místa



# Co zvyšuje variabilitu specifických vazebných míst

- Pro jednotlivé řetězce TcR je různý počet kombinací VDJ genových segmentů
- Spojovací variabilita: po vyštěpení genových úseků během DJ a VD přeskupení – zbývající konce nejsou odstřiženy přesně a spojují se nově syntetizovaným úsekem N s náhodnou sekvencí nukleotidů
- Vznik TcR řetězců s odlišnou sekvencí aminokyselin ve vazebném místě pro antigenní fragment prezentovaný v kontextu HLA molekul

# Vývoj lymfocytů v thymu

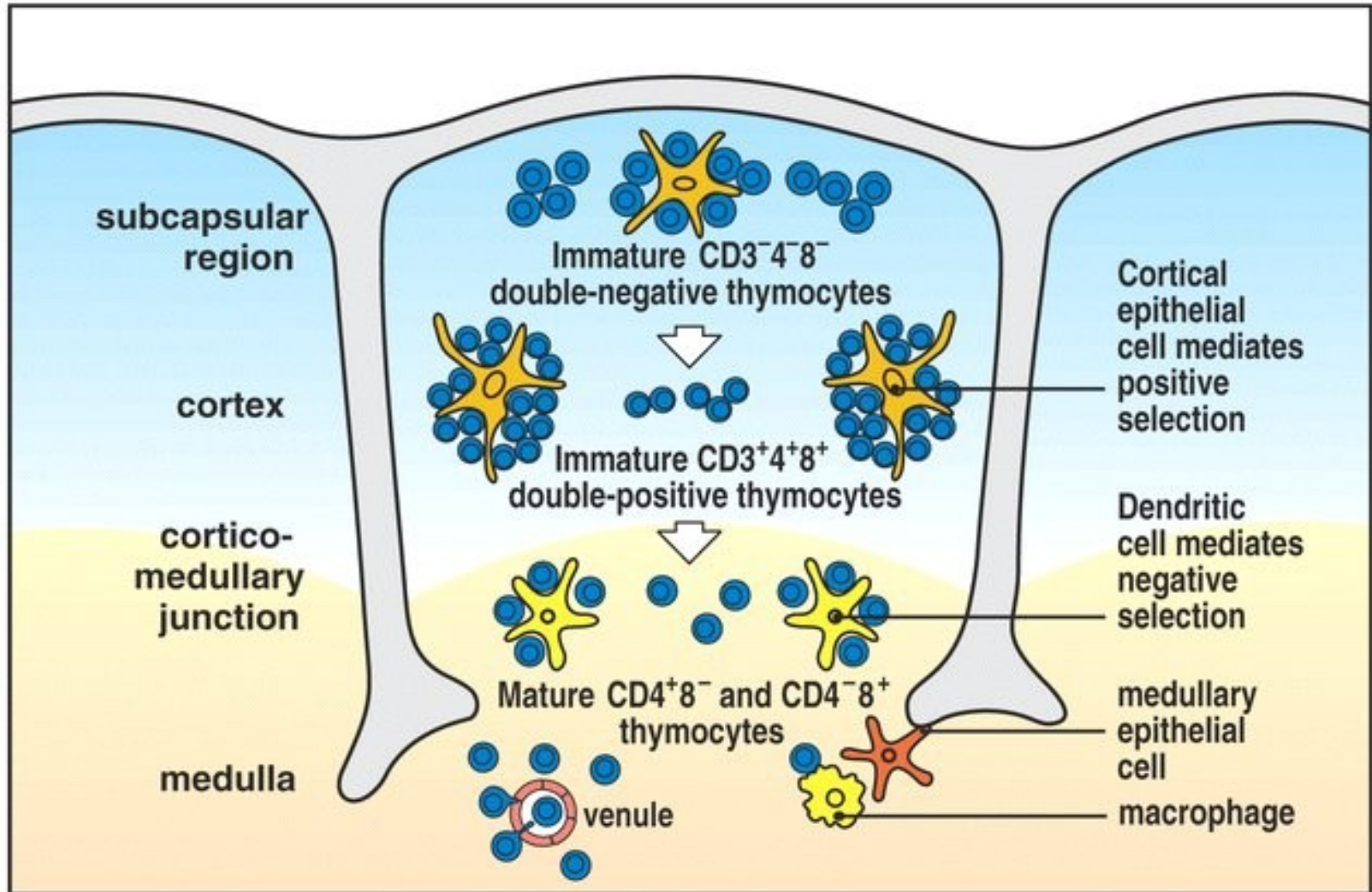


Figure 5-13 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

# Vývoj T lymfocytů v thymu $\alpha\beta$

- Dvojitě negativní pro-T lymfocyty (CD4-CD8-) přeskupují genové segmenty pro řetězce  $\gamma\delta$  a pro řetězec  $\beta$  a preT $\alpha$
- Vznik 2 heterodimerů na povrchu  $\gamma\delta$  a  $\beta$  preT $\alpha$
- Reakce s  $\beta$  preT $\alpha$  vypnutí genu pro TCR  $\gamma\delta$ , přeskupení genů pro TCR $\alpha$
- další maturace - vznik TcR  $\alpha\beta$
- Počátek exprese CD3
- Dvojitě pozitivní pre-T lymfocyty (CD4+CD8+)

# Thymová výchova T-lymfocytů

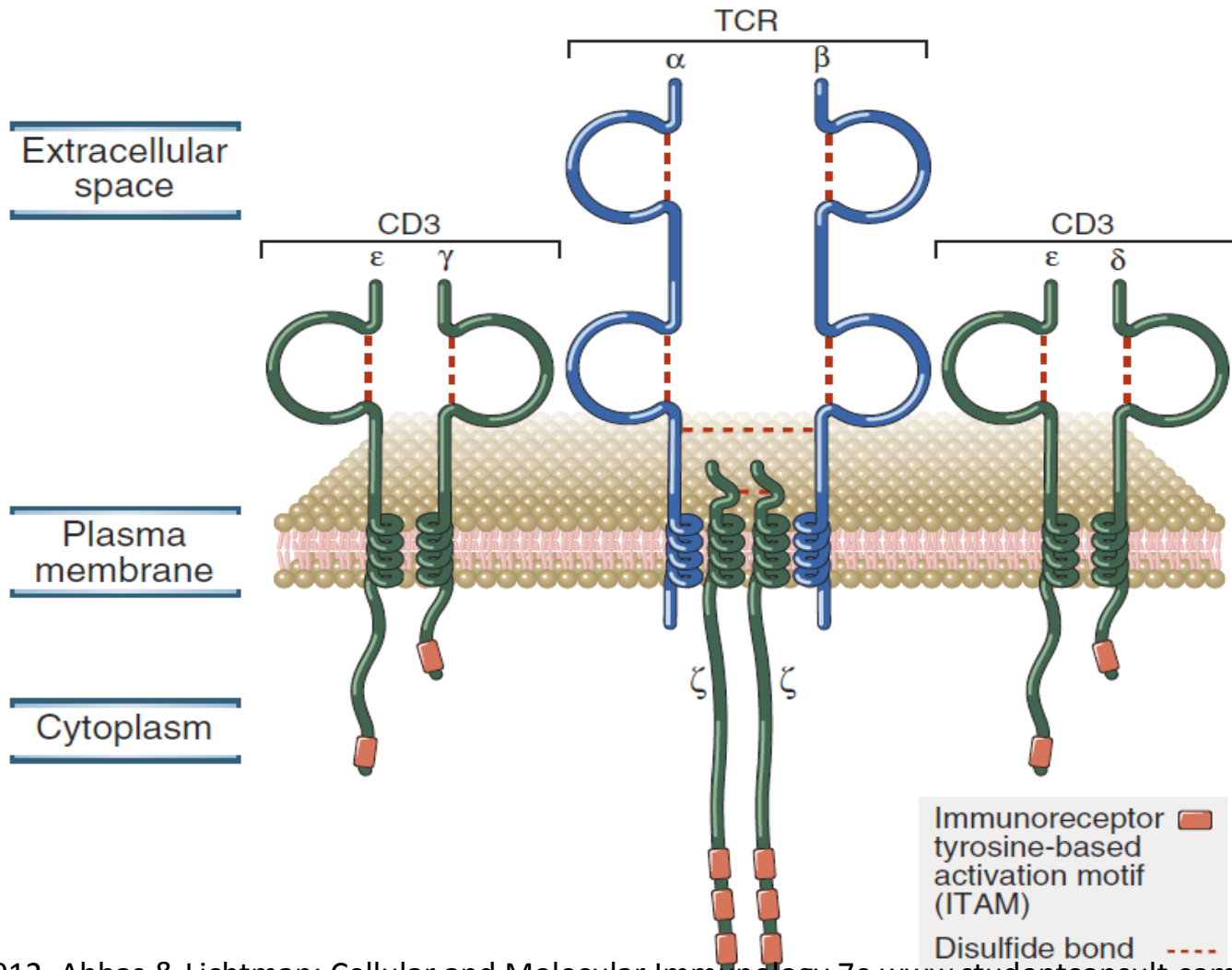
- Pozitivní selekce buněk reagujících s nízkou afinitou s HLA antigeny na povrchu antigen- prezentujících buněk. Probíhá v kortikální oblasti. Zajišťuje přežití jen těch thymocytů, které později rozpoznají komplex antigen-HLA.
- Negativní selekce – apoptózou hynou thymocyty reagující s vysokou afinitou s komplexem HLA-autoantigeny. Probíhá zejména v subkortikální oblasti thymu. Zajišťuje odstranění autoreaktivních klonů.
- V průběhu obou procesů hyne více než 85% thymocytů.



# Vývoj T lymfocytů v thymu $\alpha\beta$

- Dvojitě pozitivní pre-T lymfocyty (CD4+CD8+)
- Pozitivní selekce – interakce s HLA kortikálních buněk thymu
- Negativní selekce – rozpoznání komplexů Ag-HLA I.třídy (nebo II) prezentovaných dendr. b., makrofágy.
- Pre -T lymfocyty, které reagují s molekulami HLA I.třídy postupně snižují expresi CD4 a ponechávají si CD8+ se stávají CD8+ T lymfocyty
- Pre -T lymfocyty, které reagují s molekulami HLA II.třídy postupně snižují expresi CD8 a ponechávají si CD4+ se stávají CD4+ T lymfocyty

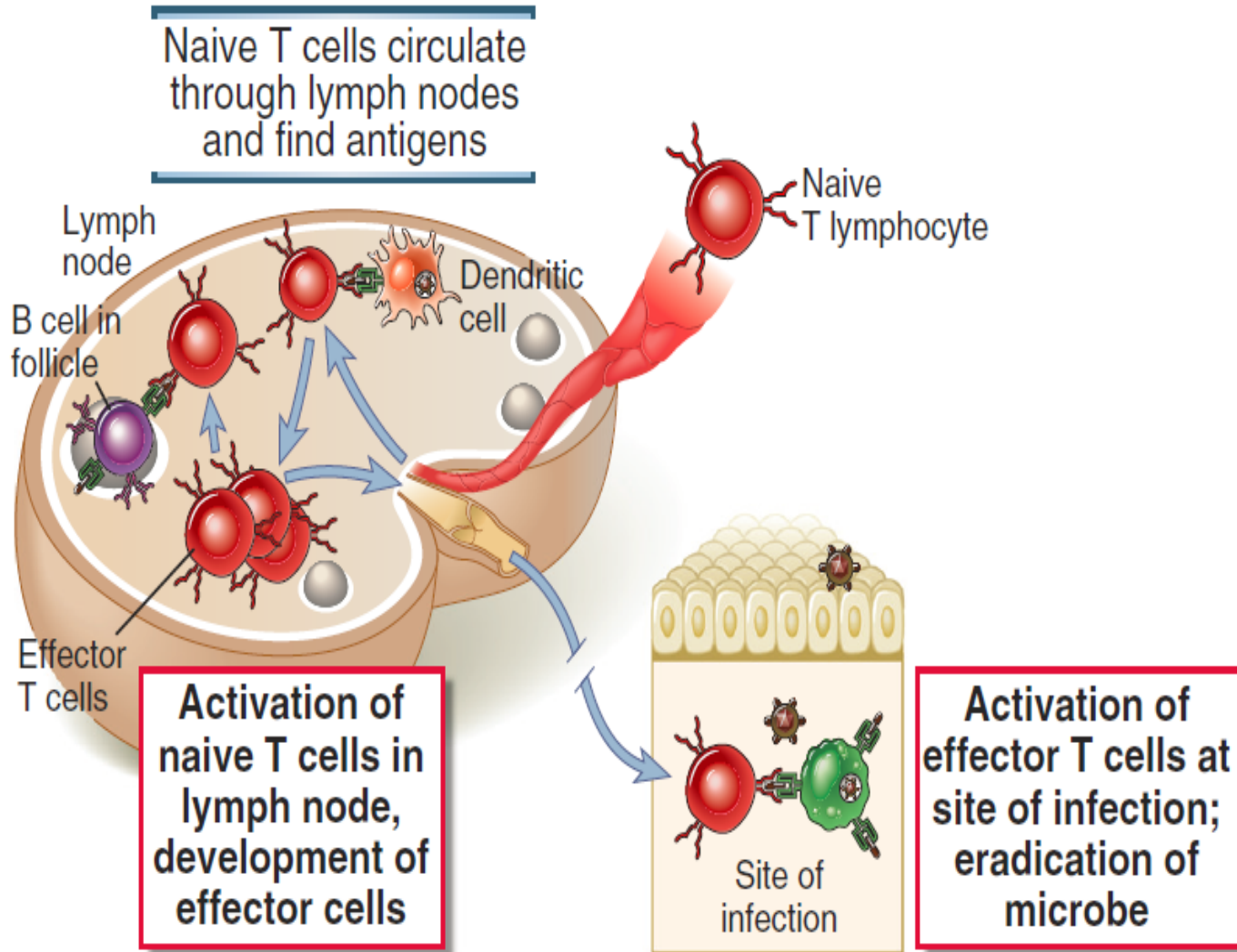
# TCR receptor



# Alelická exkluze

- T lymfocyt, který prodělal přeskupení - všechny TcR na jeho povrchu rozpoznává jediný Ag fragment
- U heterozygotních jedinců přeskupení genových segmentů pouze na 1 chromosomu, na druhém se přeskupovat nemůže

# Aktivace T lymfocytů



# Aktivace T-lymfocytů

- T-lymfocyty mohou být stimulován pouze komplexy antigen-HLA.
- HLA antigeny musí být stejné, jaké má příslušný konkrétní jedinec = fenomén HLA restrikce (syngenní preference).

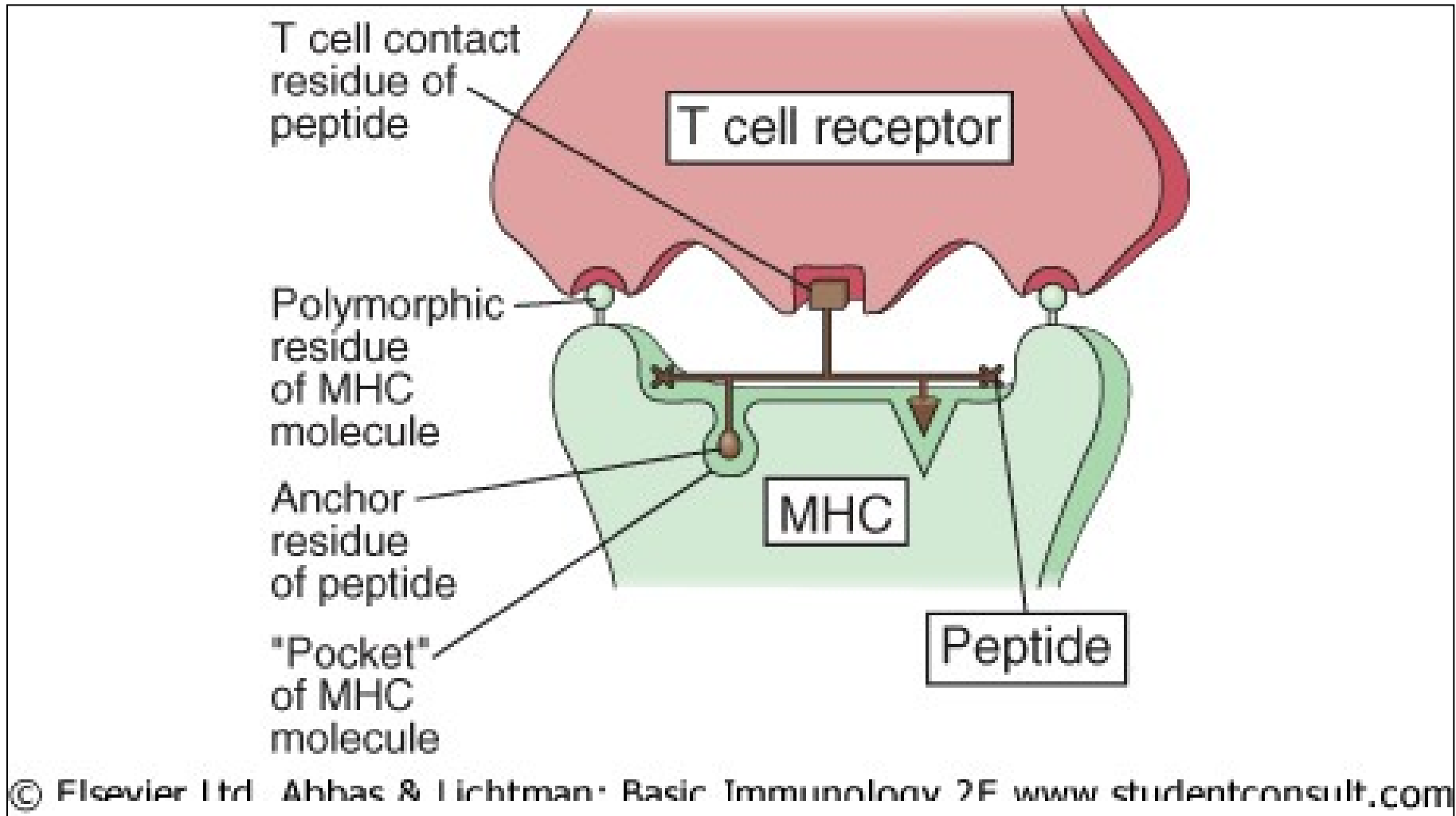
# Presentace antigenů lymfocytům T

- T-lymfocyty poznávají antigeny pouze ve formě **peptidových fragmentů vázaných na MHC I nebo II**. (*Fenomen MHC-restrikce*).
- Antigen musí být nejdříve v buňkách „zpracován“ (*processing*)-nativní protein je proteolyticky degradován na peptidy, které se (intracelulárně) váží na molekuly MHC. Tento komplex se dostává na buněčnou membránu, kde je schopen reagovat s TCR.
- T-lymfocyty jsou schopny poznávat i lipidové a glykolipidové struktury: je to populace NK-T, která poznává tyto antigeny „neklasickými molekulami MHC“ – CD1
- *Imunogennost proteinových antigenů je určena schopností buněk předkládajících antigen vytvořit peptidy, které se budou vázat na vlastní molekuly MHC.*

# Aktivace T lymfocytů

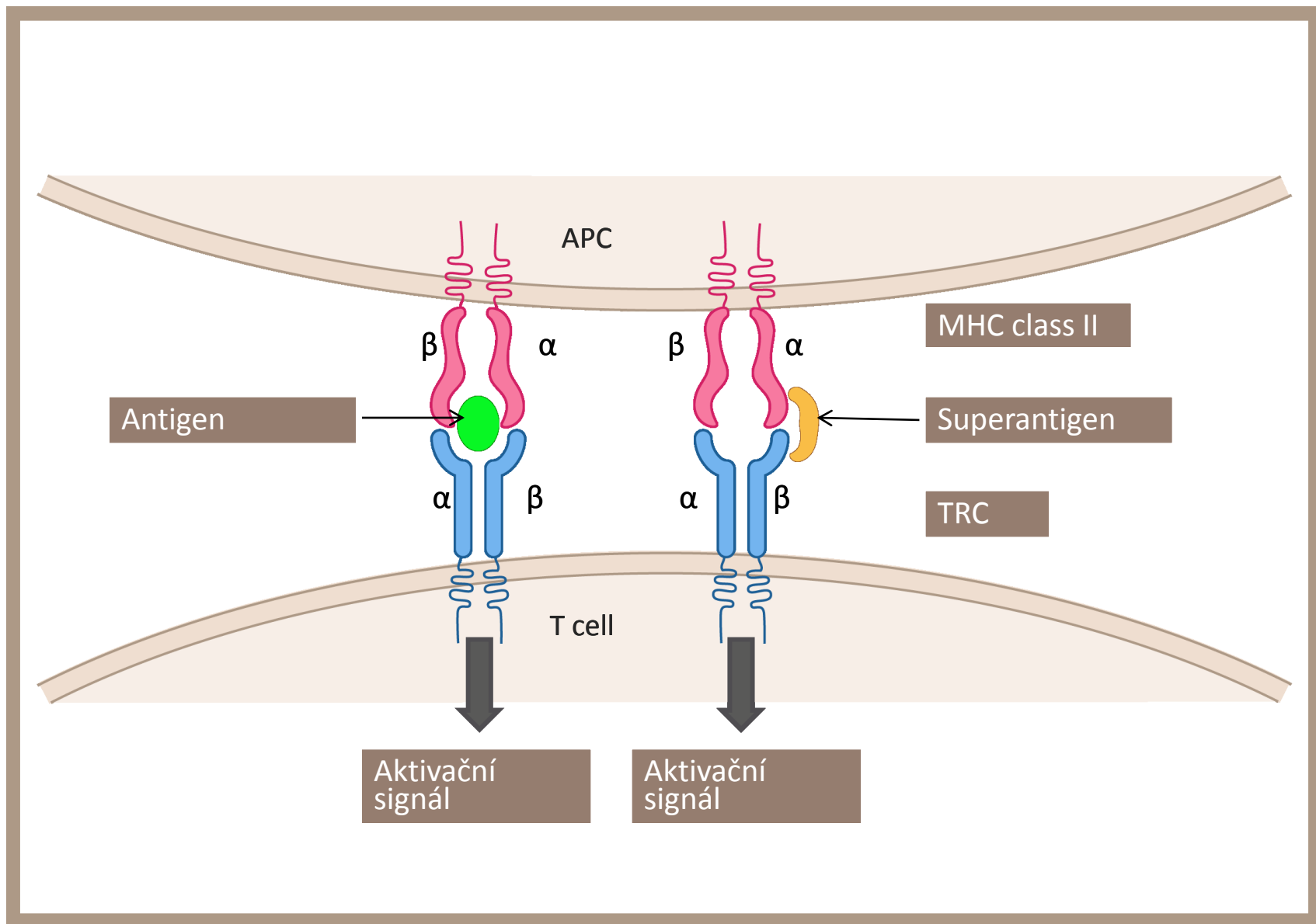
- Naivní T lymfocyt putuje krevním řečištěm do sekundárních lymfatických orgánů
- Reakce TCR s HLA Antigen prezentující buňky
- + další kostimulační signály – vedou k aktivaci T lymfocytu, k jeho proliferaci a vzniku efektorových buněk
- Ef T lymfocyty putují do místa infekce kde pak reagují s dalšími APC prezentujícími Ag, kterým byly aktivovány

# Interakce TCR-polypeptid-HLA molekula

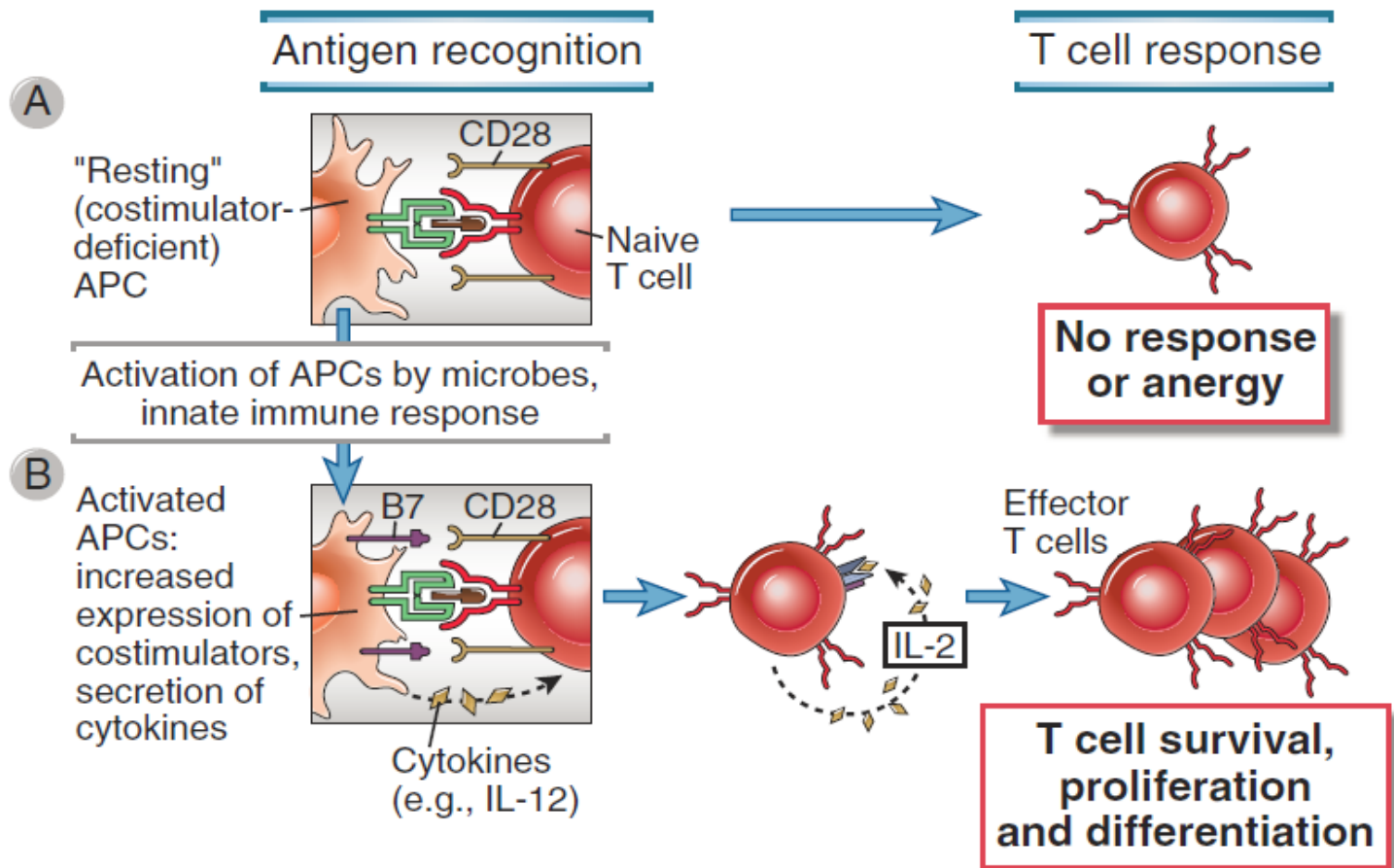




# Aktivace TCR antigenem a superantigenem



# Kostimulační signály nutné pro aktivaci T lymfocytu

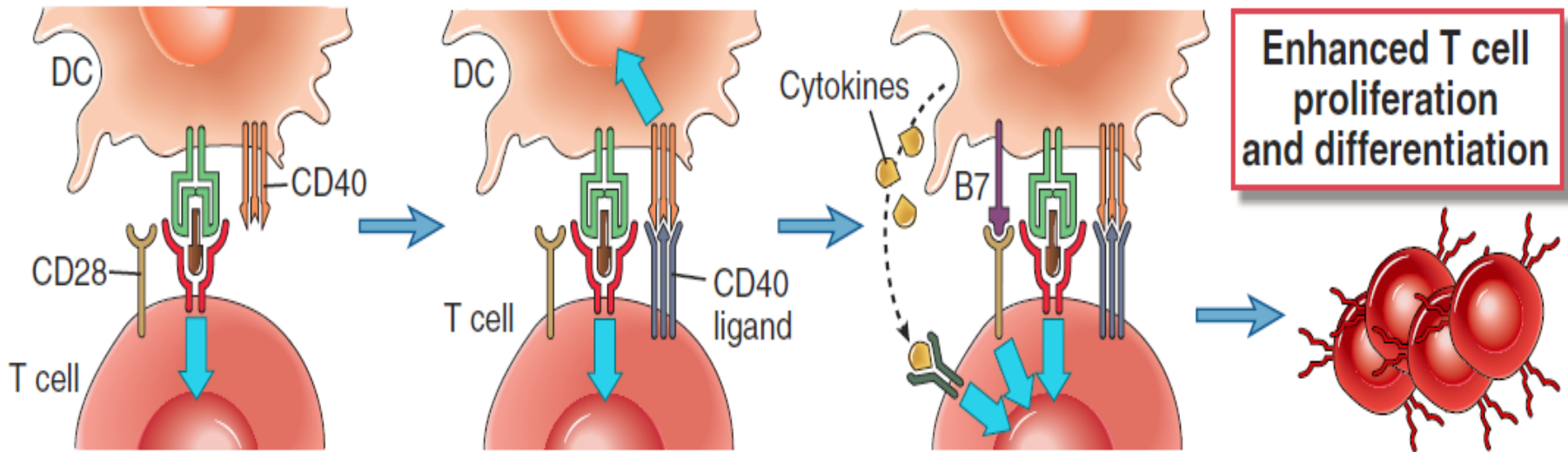


# Vazba CD40 – CD40L

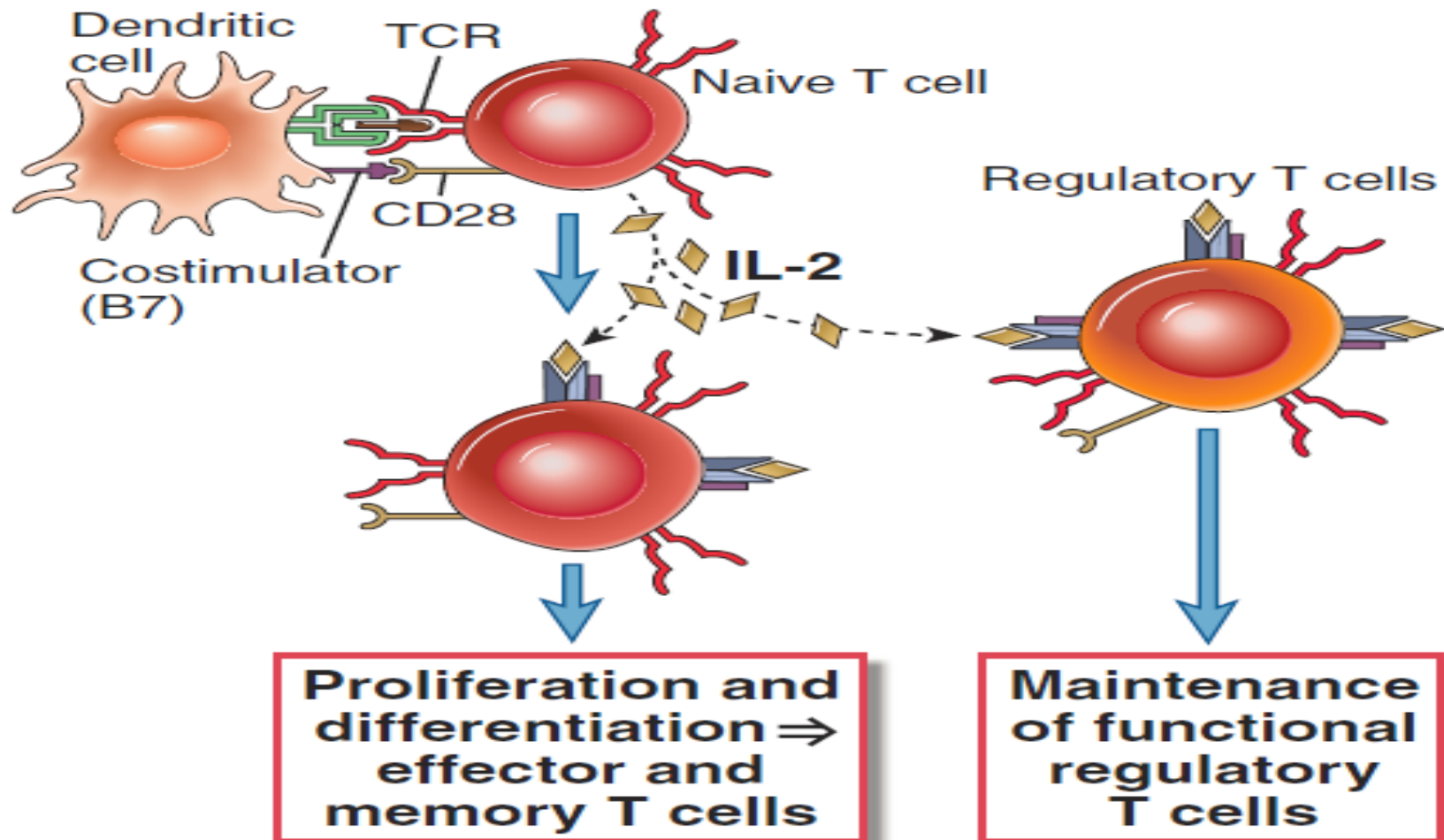
T cells recognize antigen (with or without B7 costimulators), causing expression of CD40L on T cells

CD40L binds to CD40 on DC; leads to DC expression of B7; secretion of cytokines

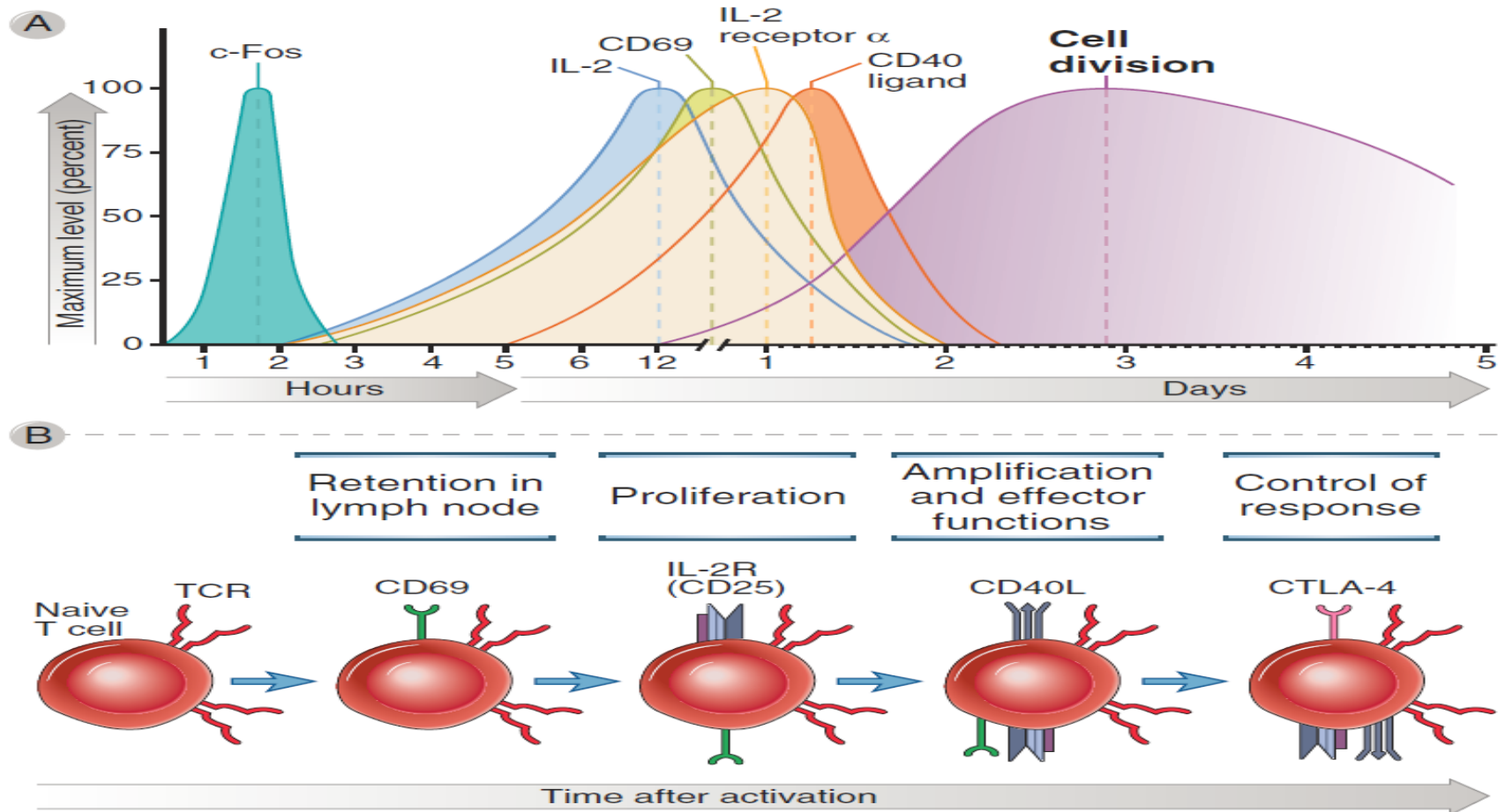
Activated DCs stimulate T cell proliferation and differentiation

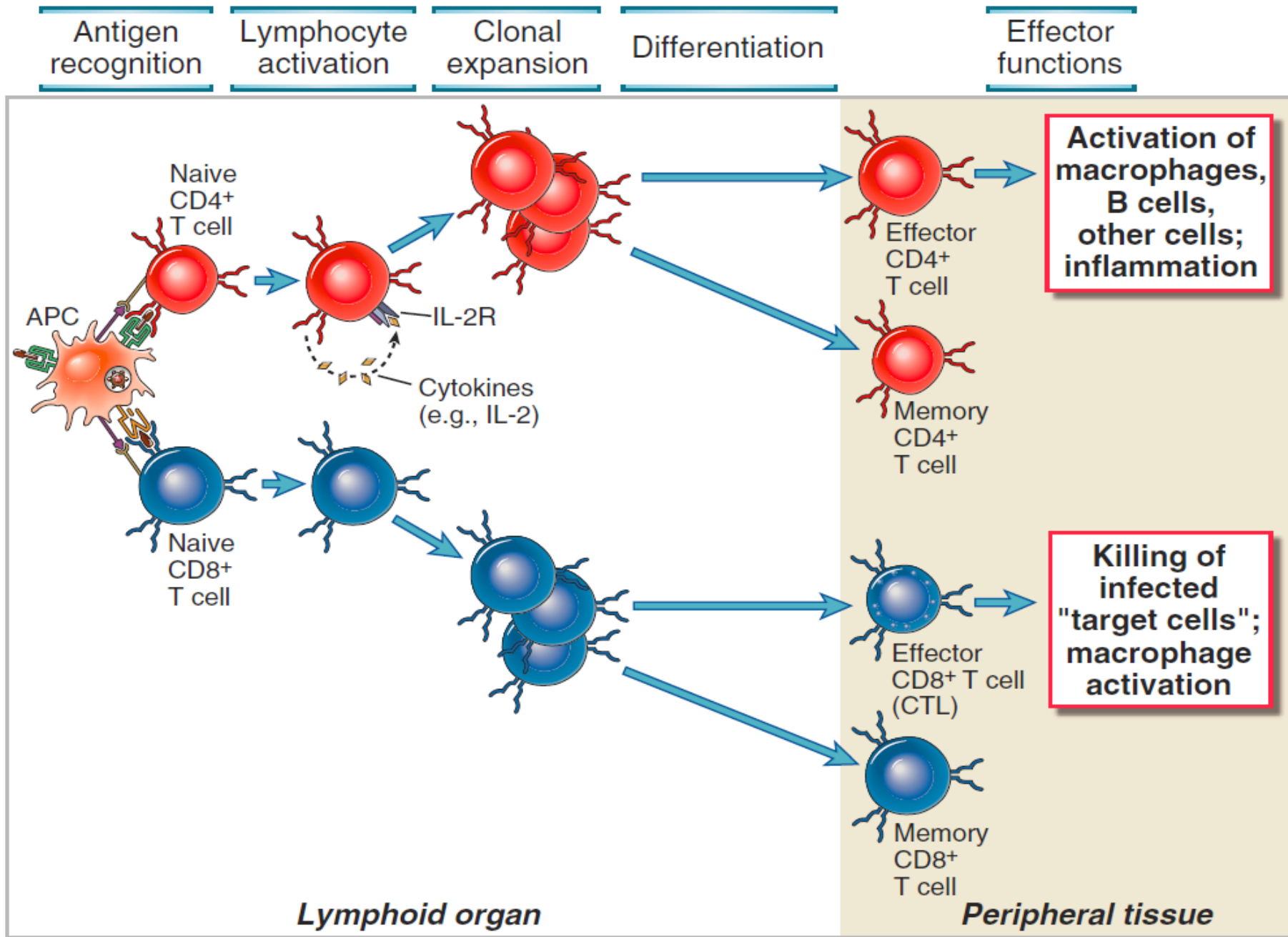


# Role IL-2



# Změny povrchových molekul během aktivace





# Vývoj CD4+ lymfocytárních populací

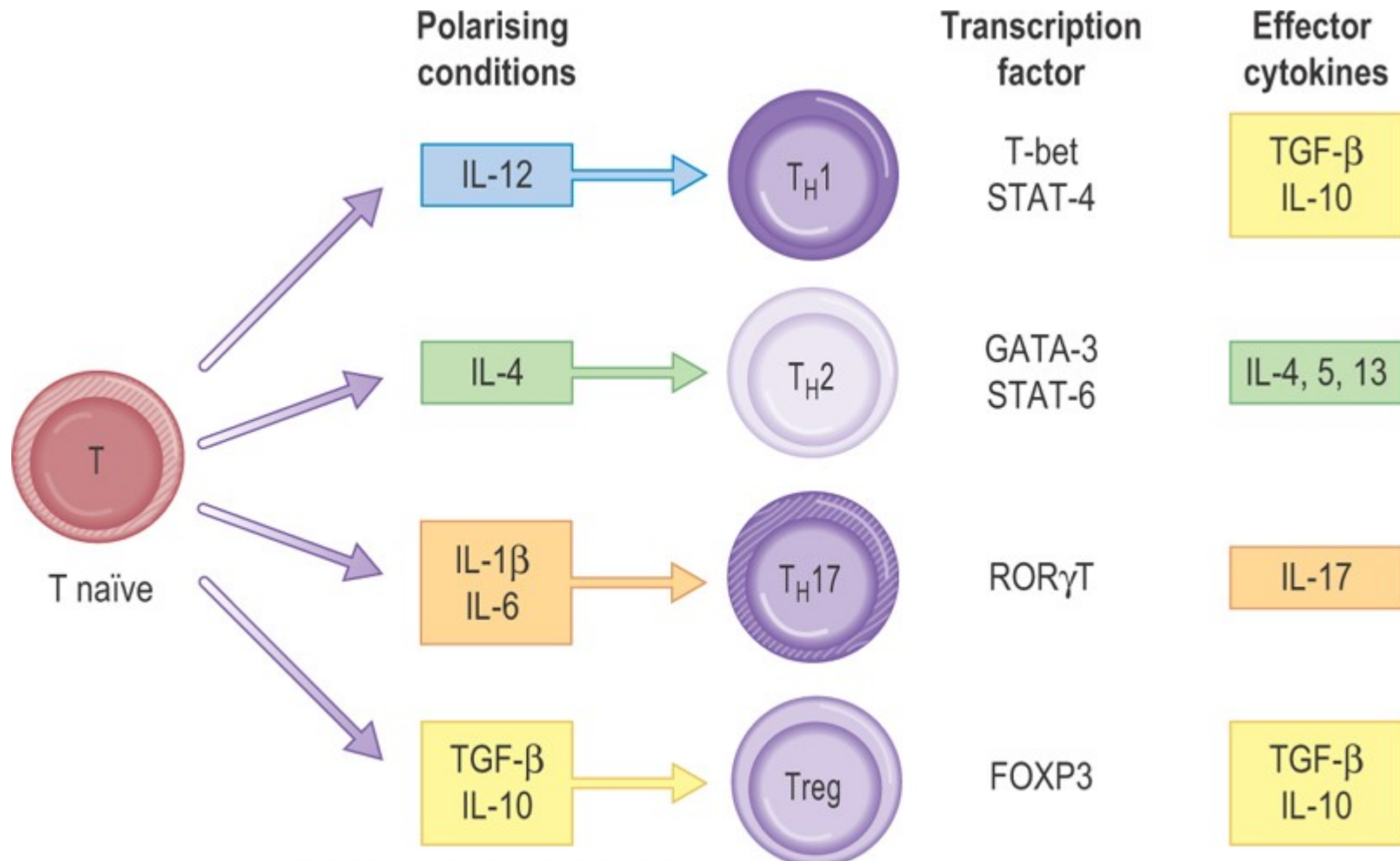
- Dendritické buňky předkládají Ag a zároveň produkují cytokiny
- Různé mikroorganismy mohou stimulovat DB k produkci různých cytokinů
- Další cytokiny produkují NK buňky a žírné buňky

# Efektorové CD4+ T lymfocyty

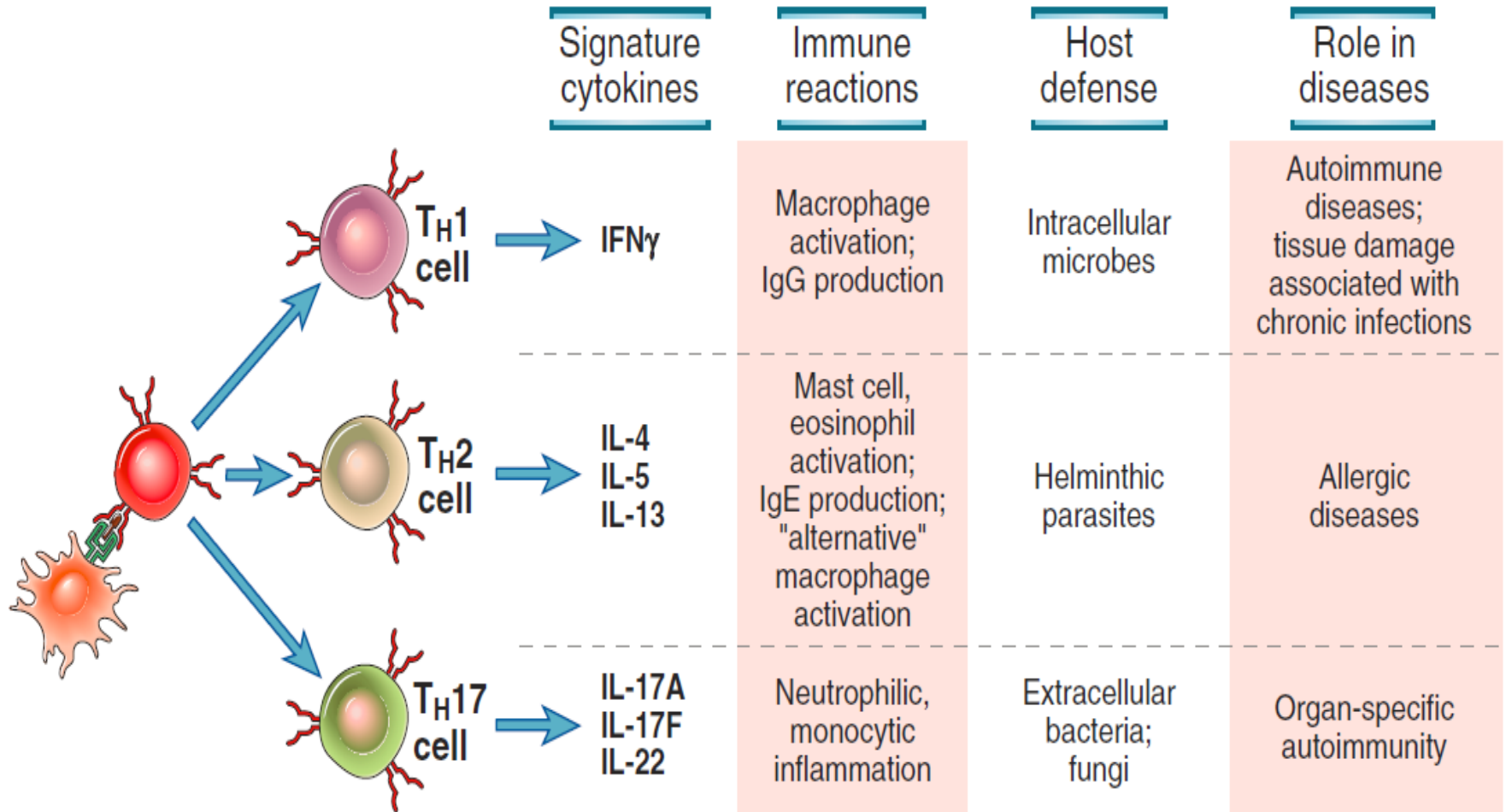
- Efektorové CD4+ Th lymfocyty jsou rozděleny do několika subpopulací na základě svého cytokinového profilu a funkcí



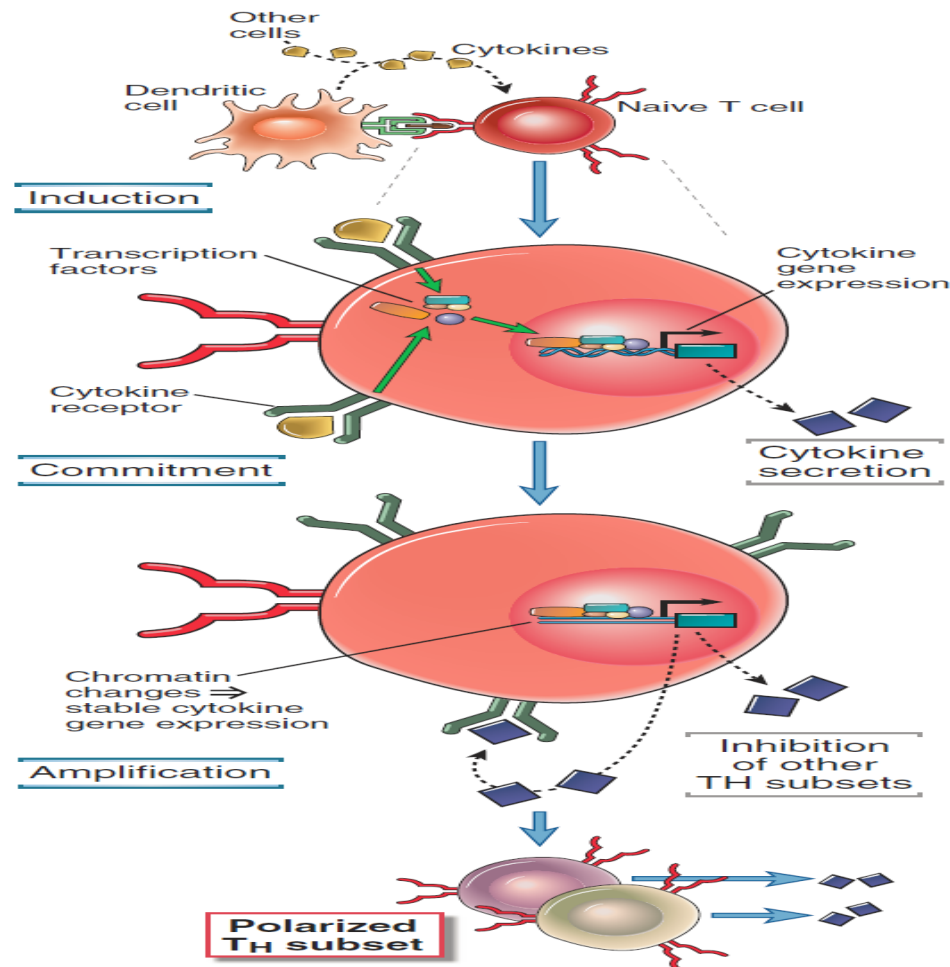
# O vývoji efektorových Th.. lymfocytů rozhoduje cytokinové prostředí



# Th1, Th2 a Th17 lymfocyty

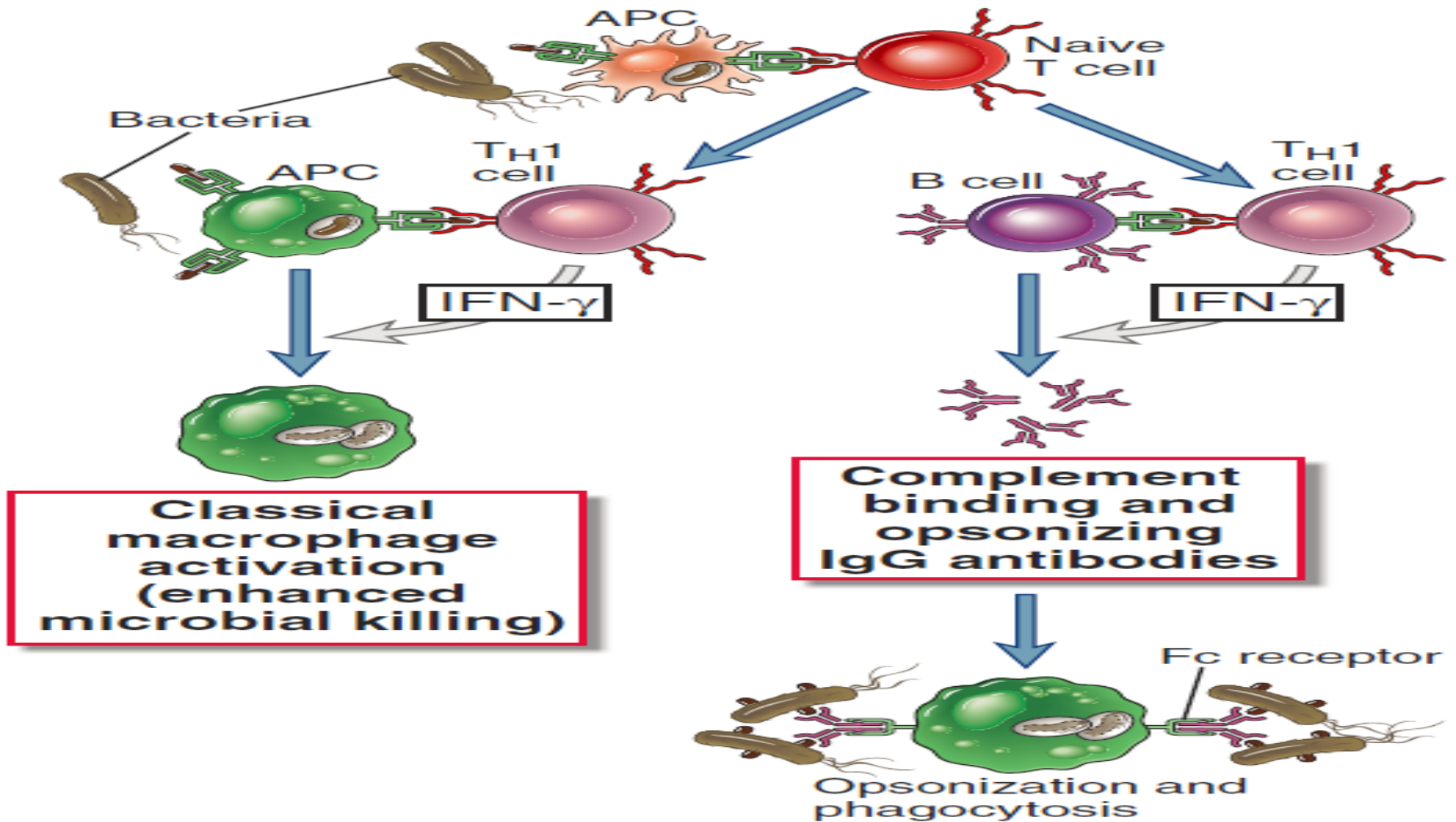


# Vývoj Th1, Th2 a Th 17 lymfocytů



- Aktivace transkripčních faktorů stimulujících produkci cytokinů pro daný subset
- Tyto produkované cytokiny pak ovlivňují další produkci cytokinů stejného druhu a podporují vývoj pouze těchto buněk
- Ostatní Th subpopulace lymfocyty jsou suprimovány

# Th1 odpověď



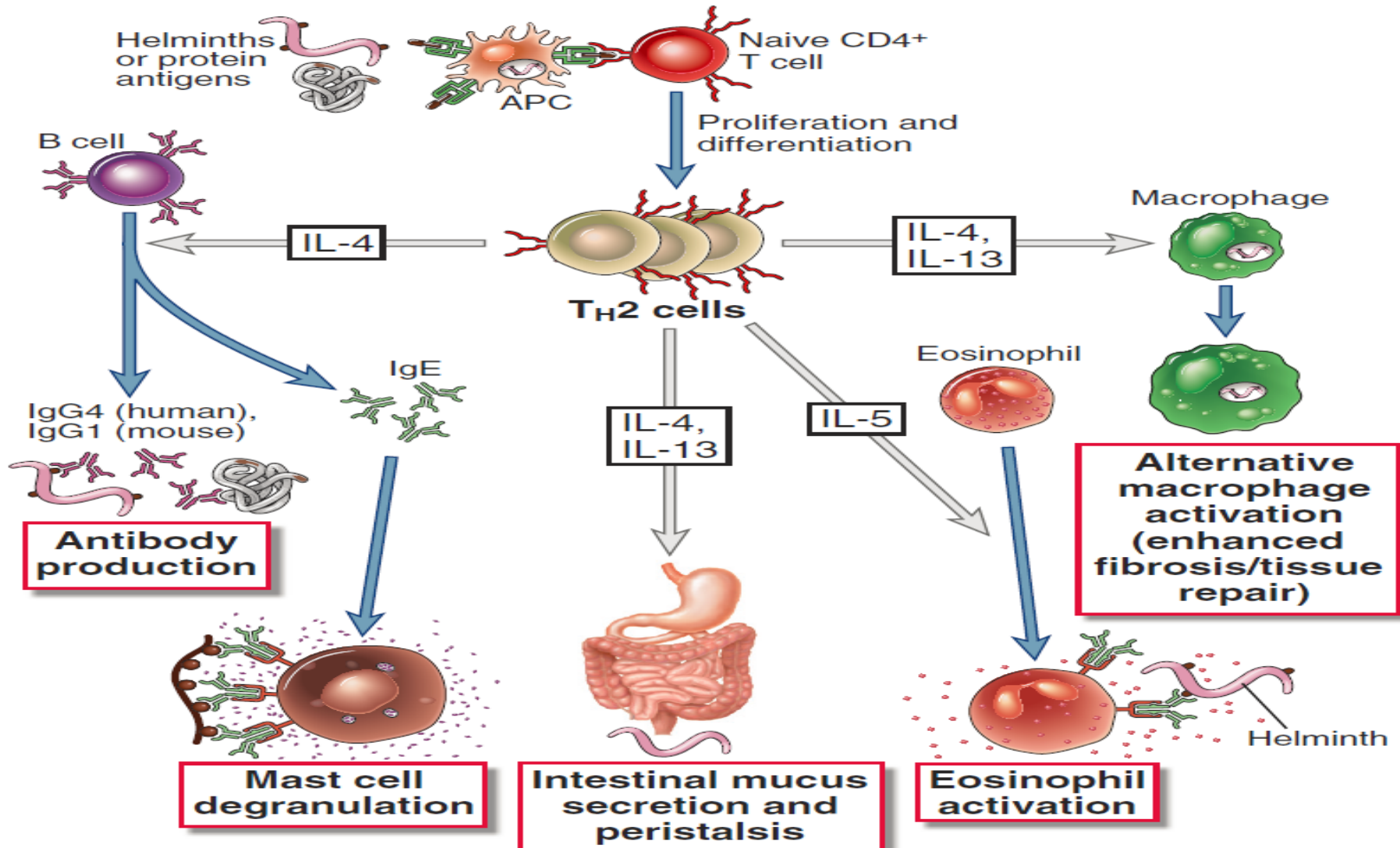
# Th1 lymfocyty

- CD4+ Th1 lymfocyty rozeznávají Ag zpracované fagocytujícími buňkami
- Aktivují makrofágy k zabití mikrobů
- Aktivace makrofágů je zprostředkována IFNgama a CD40L – CD40 interakcí
- Aktivované makrofágy
  - zabíjejí fagocytované mikroby za pomoci reaktivního kyslíku, dusíku a enzymů
  - Stimulují zánět a mohou poškozovat tkáň

# T<sub>h</sub>1 lymfocyty

- Produkují zejména IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-3.
- Diferencují se pod vlivem IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$
- Působí prozánětlivě, stimulují funkci makrofágů.
- Snad se spolupodílejí se na patogenezi autoimunitní thyreoiditidy, roztroušené mozkomíšní sklerózy.
- Produkci IFN- $\gamma$ , tlumí funkci T<sub>h</sub>2 lymfocytů.
- Hrají důležitou roli v akutní reakci štěpu

# Th2 odpověď



# Th2 lymfocyty

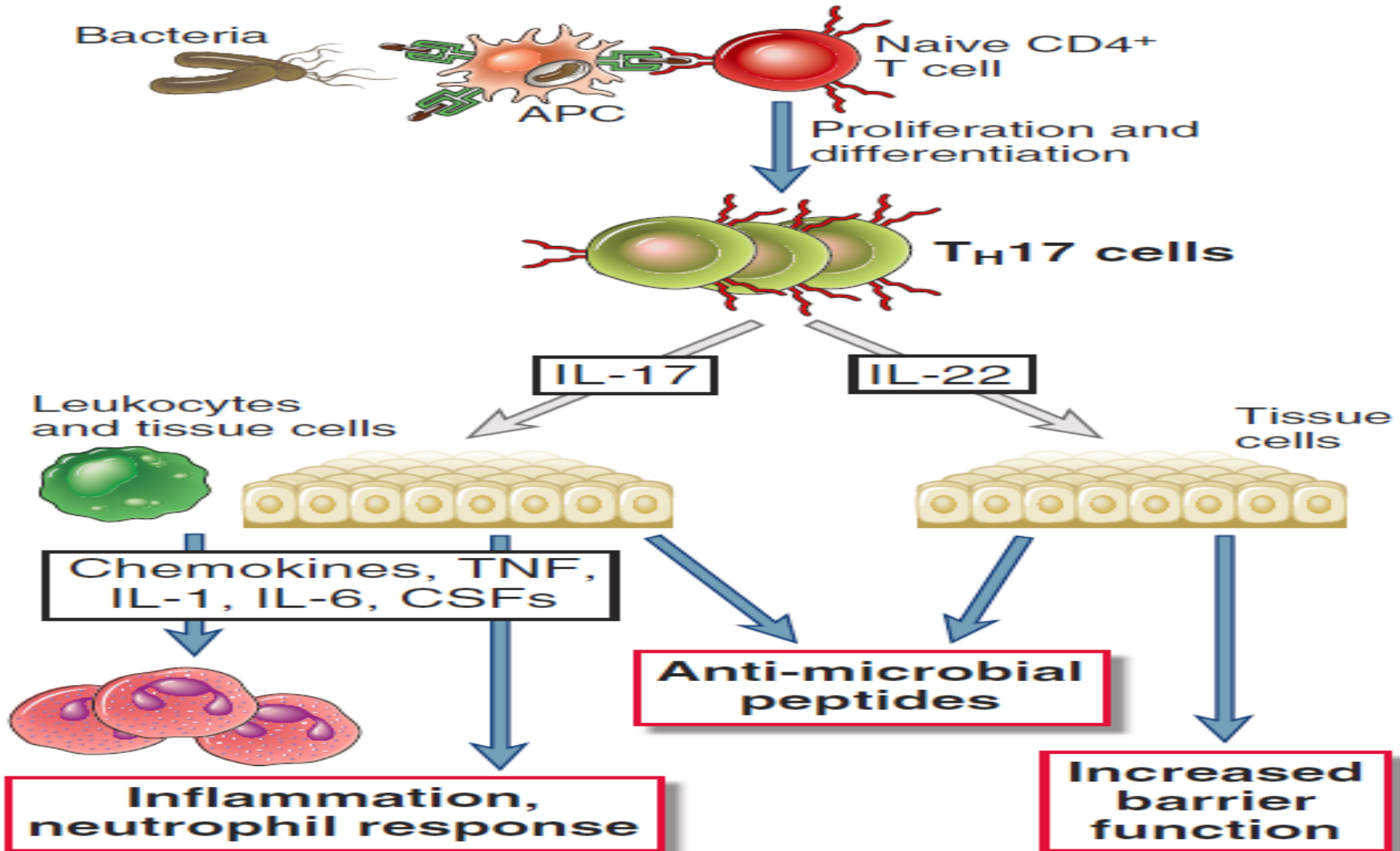
- Rozeznávají antigeny produkované parazity a další mikroby a alergeny
- IL-4 sekretovaný aktivovanými Th2 lymfocyty
  - podporují Izotypové přepnutí B-lymfocytů a produkci IgE, které může pokrýt parazity
  - Ovlivňuje degranulaci žírných buněk a zánět
- IL-5 aktivuje eosinofily k uvolnění obsahu granulí ke zničení parazitů
- IL-4 a IL-13 stimulují ochranu epitelové bariery



# T<sub>h</sub>2 lymfocyty

- Produkují zejména IL-3, IL-4, IL-5, IL-10.
- Diferencují se pod vlivem IL-4
- Stimulují tvorbu protilátek.
- Spolupodílejí se na patogenezi atopických chorob.
- Jejich predominance se objevuje během těhotenství.
- Produkci IL-10 a IL-4 tlumí funkci T<sub>h</sub>1 lymfocytů.

# Th17 odpověď



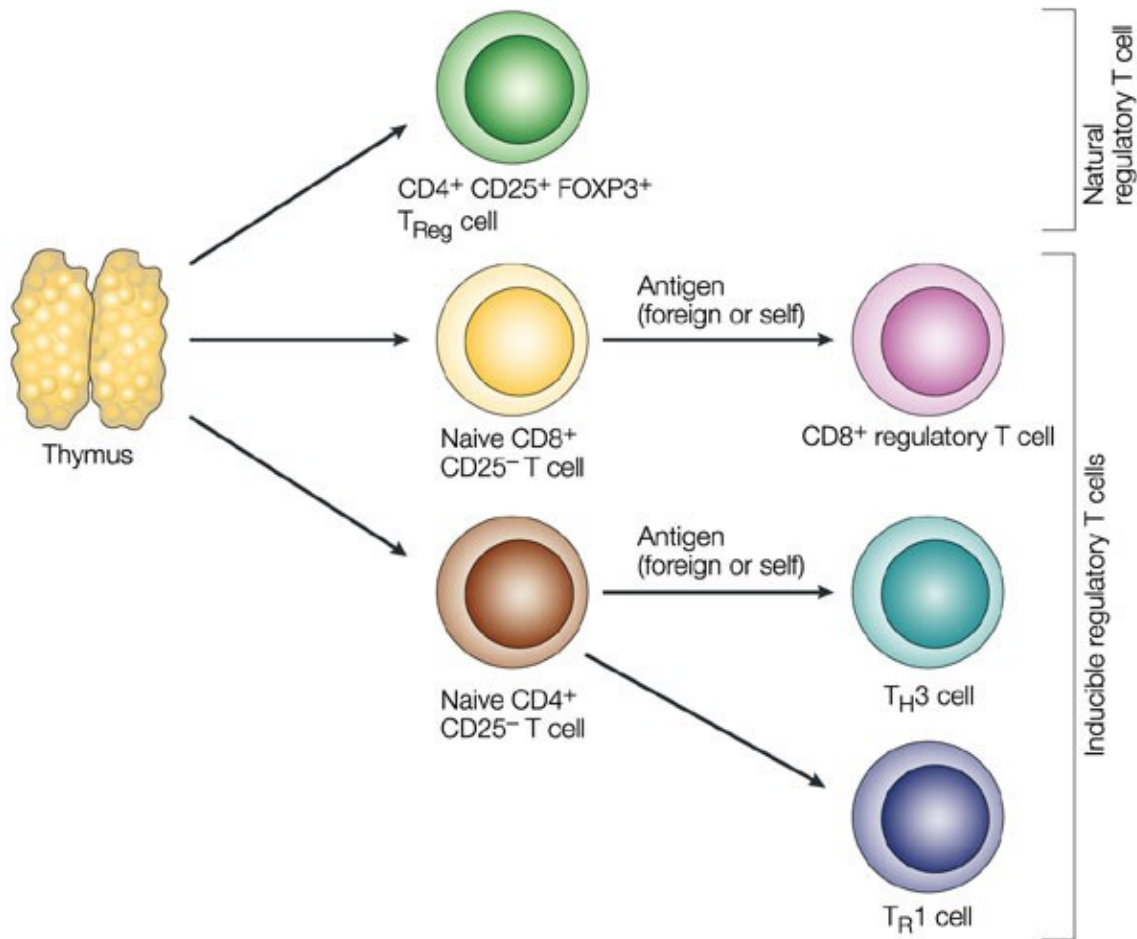
# T<sub>h</sub>17 lymfocyty

- Vznikají z antigenem-stimulovaných T-lymfocytů v prostředí TGF- $\beta$  a IL-6.
- Produkuji IL-17A , IL-17F a IL-23.
- Mají význam v obraně proti extracelulárním patogenům.
- Patogeneticky se uplatňují při chronických zánětlivých procesech a vzniku některých autoimunitních chorob ( ?Crohnova choroba, ?RA).

# Th17 T lymfocyty

- Stimulují zánětlivou odpověď bohatou na neutrofily ničící extracelulární bakterie a houby
- Může být důležitá u poškození tkání u autoimunitních chorob

# Základní typy regulačních T-lymfocytů



# T<sub>reg</sub> lymfocyty

- Samostatná subpopulace přirozeně regulačních buněk.
- Vývoj v thymu.
- Jsou CD4+CD25+.
- Přímě působí na jiné T-lymfocyty prostřednictvím molekuly CTLA-4 a snad i membránovou formou TGF- $\beta$ .
- Tvoří asi 5-10% CD4+ lymfocytů.
- Je možná i indukce těchto buněk na periferii.

# TR-1 lymfocyty

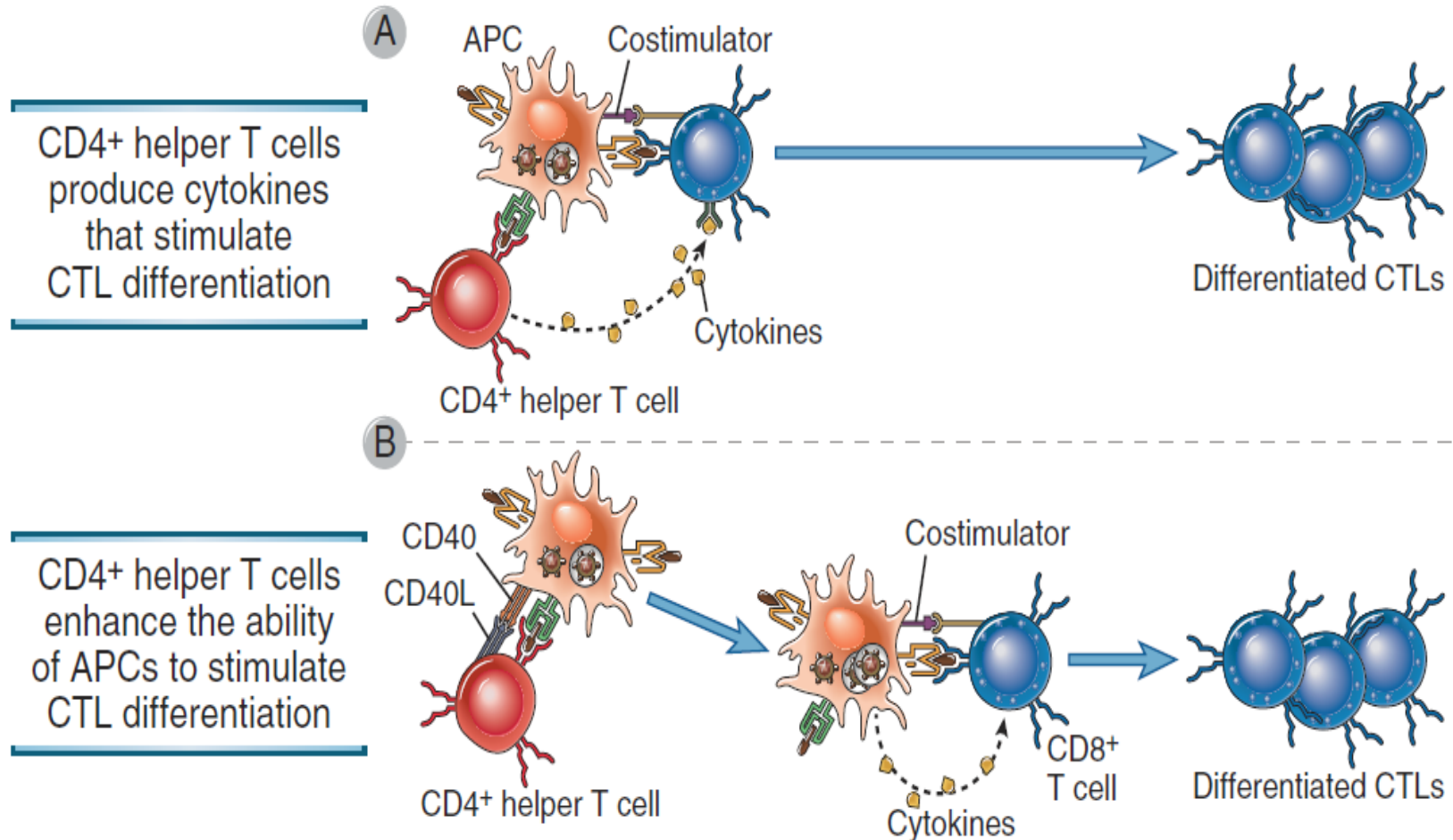
- Jedná se o indukované regulační CD4+ buňky.
- Vznikají z aktivovaných T-lymfocytů působením IL-10.
- Produkuje vysoké hladiny IL-10, IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , ne však IL-2.
- Není jasný vztah k obdobným tzv. Th3 buňkám.

# Cytotoxické T-lymfocyty

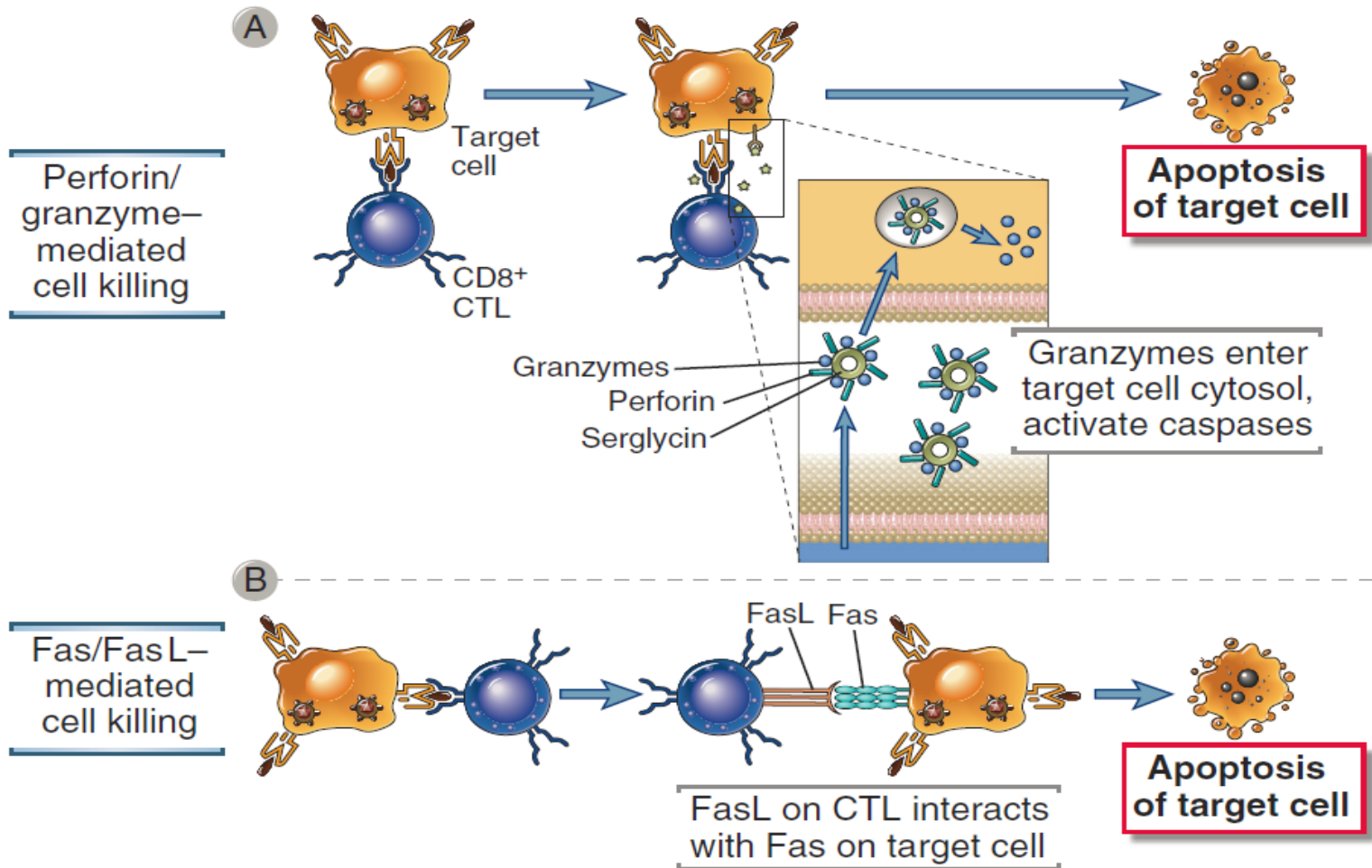
- Jsou CD8+
- Rozeznávají cizorodý antigen prezentovaný na HLA-I antigenech.
- Cytotoxicky působí perforin, dále různé mechanismy indukující apoptózu cílové buňky (granzymy, FasL, lymfotoxin).
- Jsou i důležitými producenty cytokinů (Tc1 a Tc2 buňky)



# Diferenciace efektorových cytotoxických T lymfocytů



# Mechanismy „zabíjení“ cytotoxických T lymfocytů



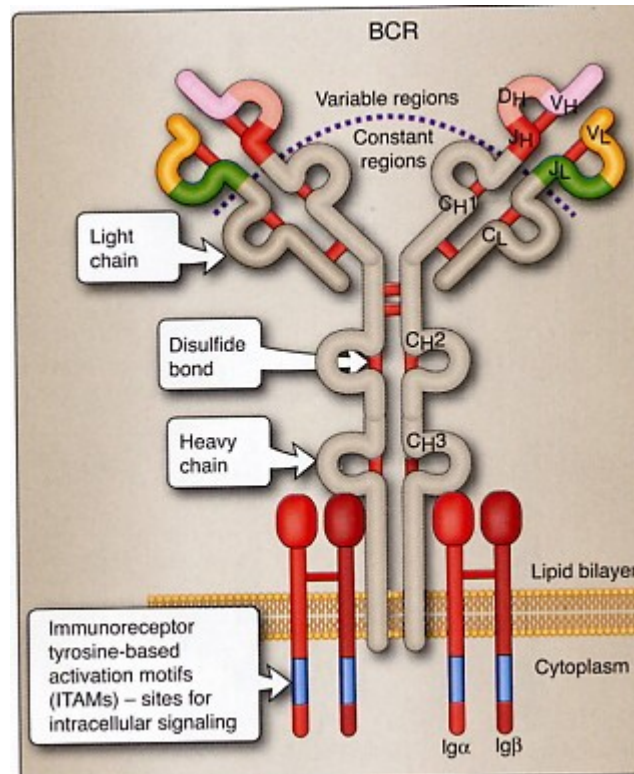
# Cytotoxické CD8+ T lymfocyty

- Zabíjejí buňky exprimující peptidy virových antigenů, které jsou asociovány s molekulami MHC I. Třídy
- Zabíjeno je pomocí granulí, které obsahují granzym a perforin
- Perforin usnadňuje granzymu vstup do cytoplasmy cílové buňky a granzym iniciuje několik cest apoptózy
- CD8+ dále sekretuje IFN gama

# Gama delta T lymfocyty a NKT buňky

- Malé populace lymfocytů (5% periferní krev), častější výskyt mezi epteliemi
- Nerozeznávají MHC asociované peptidové Ag
- rozeznávají širokou škálu Ag zahrnující peptidy i nebílkovinné antigeny: malé fosforylované molekuly, alkyl aminy, stresové proteiny a lipidy
- Část těchto buněk je přítomno v kůži a ve sliznicích
- Určeny k obraně proti konzervovaným Ag strukturám (např. u mykobakterií)

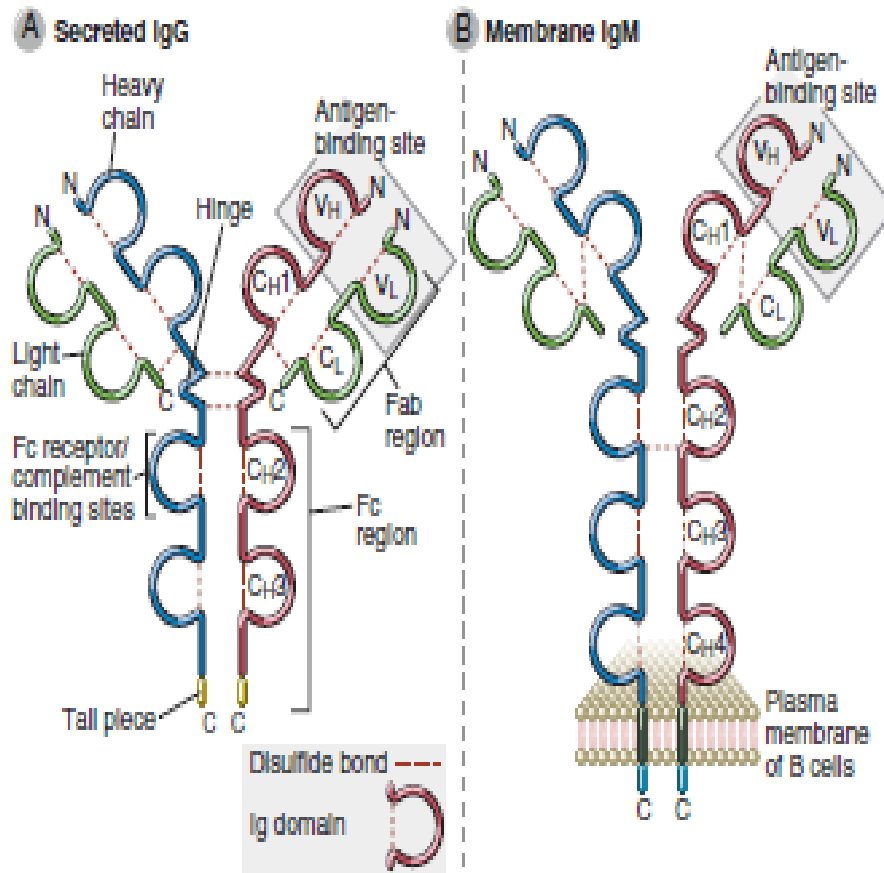
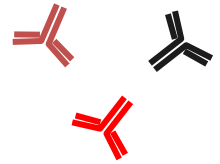
# Receptor lymfocytů B (BCR) (IgM, IgD)



# B lymfocyty

- základními buňkami specifické humorální imunity
- primární funkce - produkce protilátek – imunoglobulinů (Ig)
- Ig- zaměřeny proti mikroorganismům nebo jejich toxinům působících v tělních tekutinách či dutinách tj. mimo buňky

# BCR receptor



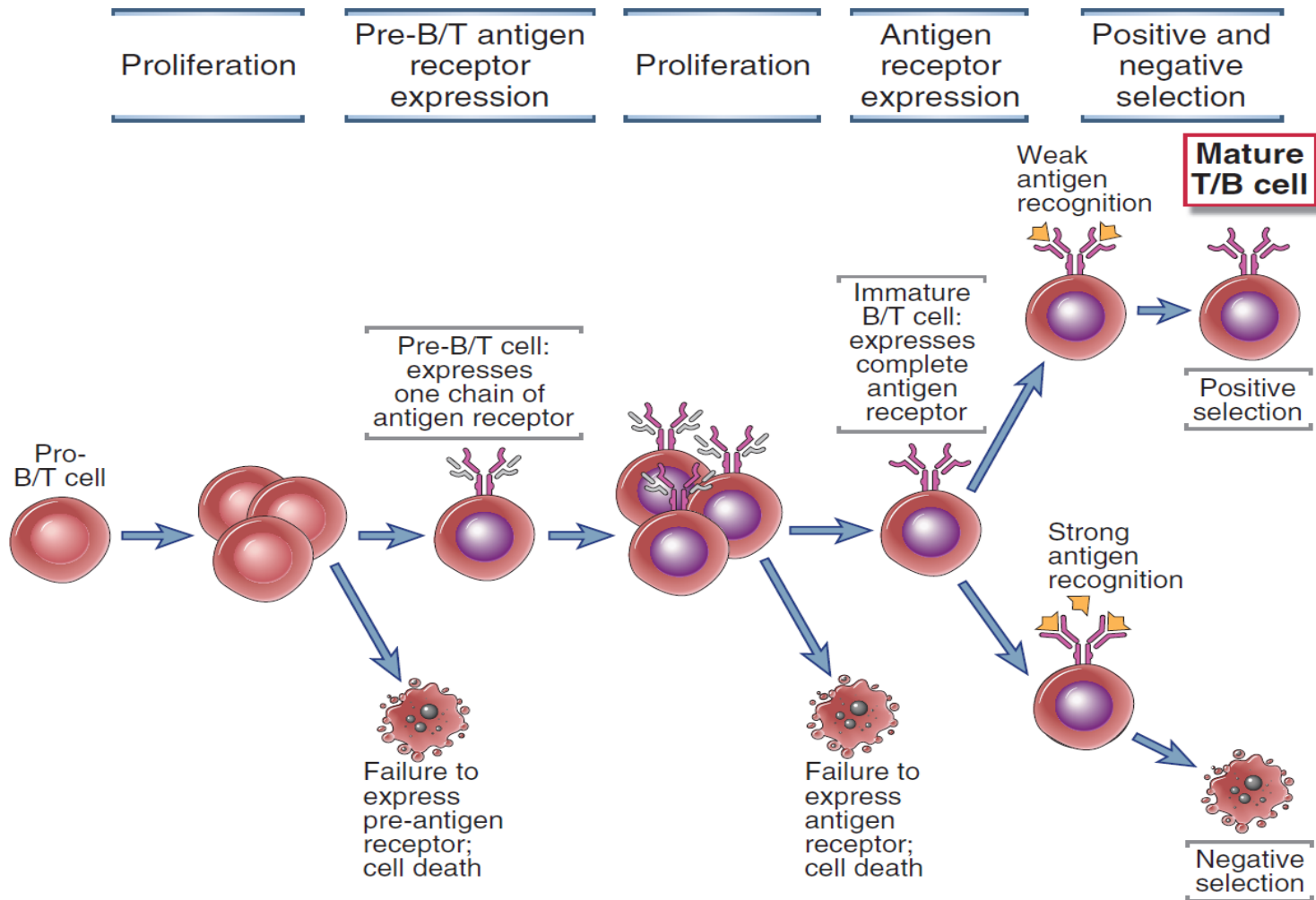
- Skládá se ze dvou identických těžkých řetězců a dvou identických lehkých řetězců
- Na každém řetězci jsou variabilní a konstantní oblasti

# Protilátky

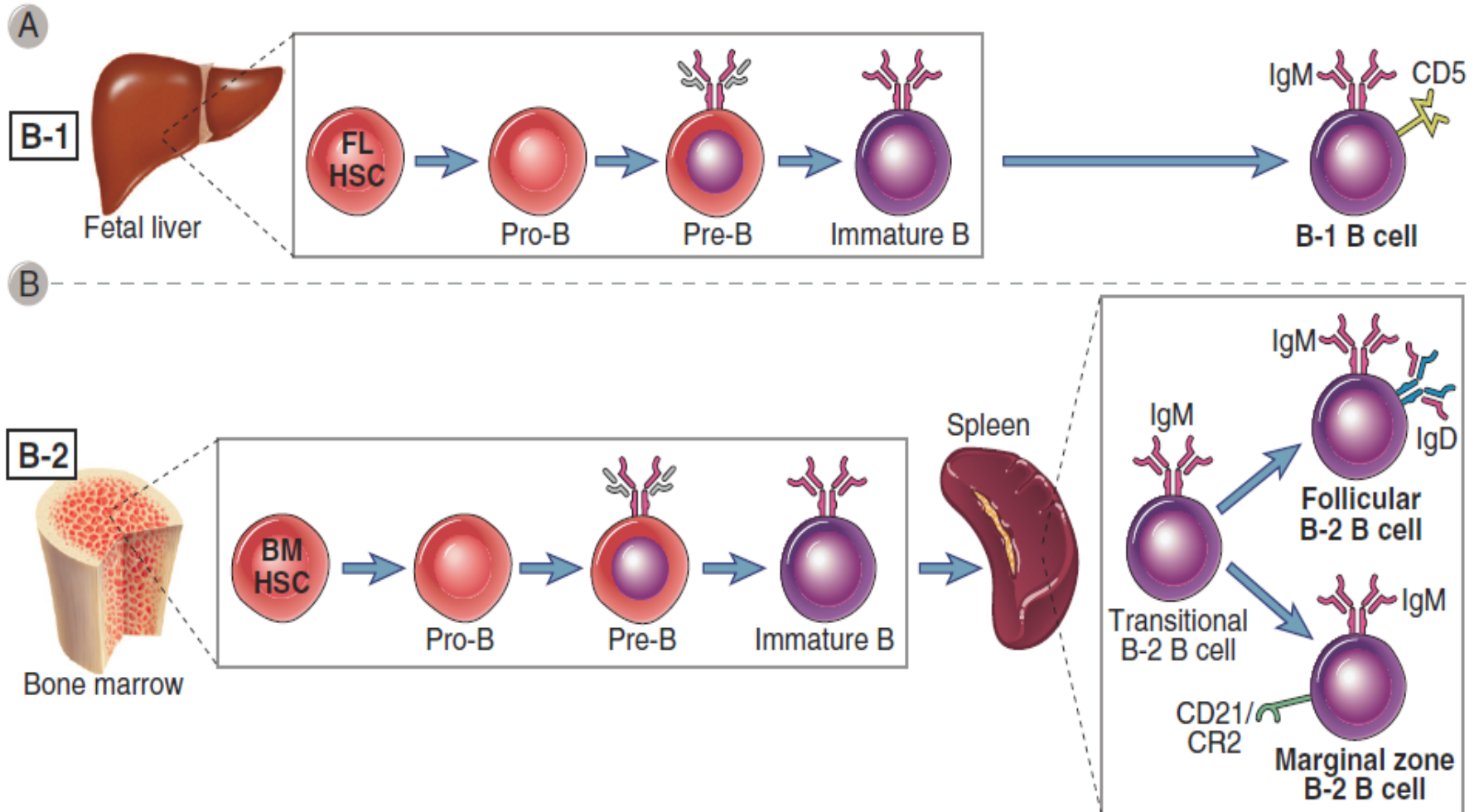
- Ig existují ve dvou formách:
  - membránově vázané na povrchu B-lymfocytu , kde fungují jako receptor pro antigen
  - sekretované , které jsou v cirkulaci, tkáních, mukóze
  - jsou sekretovány plazmatickými buňkami, které vznikají z B-lymfocytu po jeho aktivaci a další diferenciaci
  - Vážou se na Ag a aktivují efektorové mechanismy vedoucí k eliminaci Ag



# Vývoj B lymfocytů



# Diferenciace subpopulací B lymfocytů



# Antigeny aktivující lymfocyty B

## Thymus-independentní, typ 1 a 2

Typ 1: polyklonální aktivátory, mitogeny,  
stimulují B-bb nespecificky

Typ 2: polysacharidy bakterií, aktivace je  
specifická

*(především IgM, nízká afinita, krátká paměť)*

## Thymus-dependentní

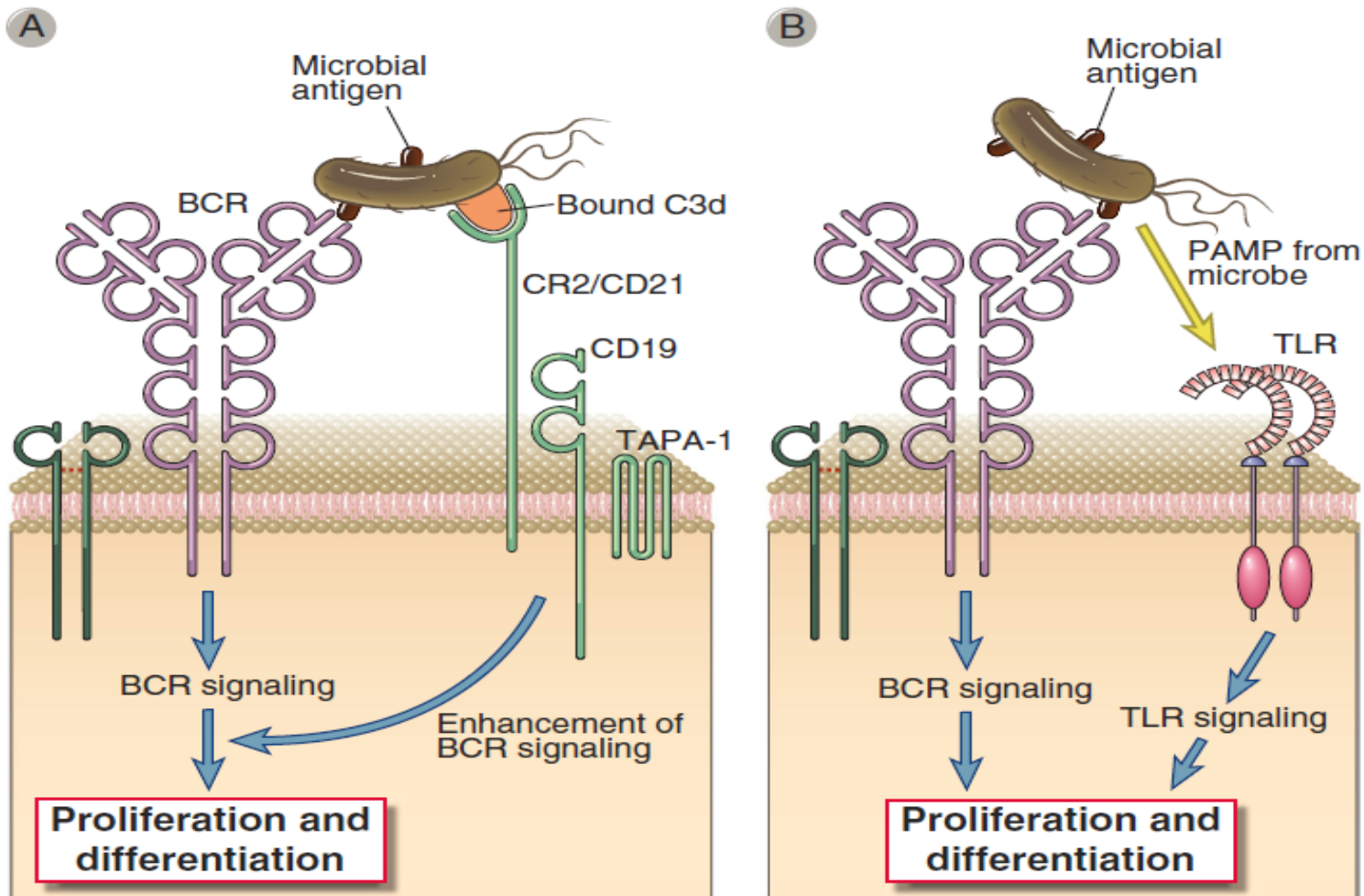
Proteiny, glykoproteiny. Vyžadují kooperaci T-B.

*(IgM, IgG, IgA, vysoká afinita, dlouhodobá paměť)*

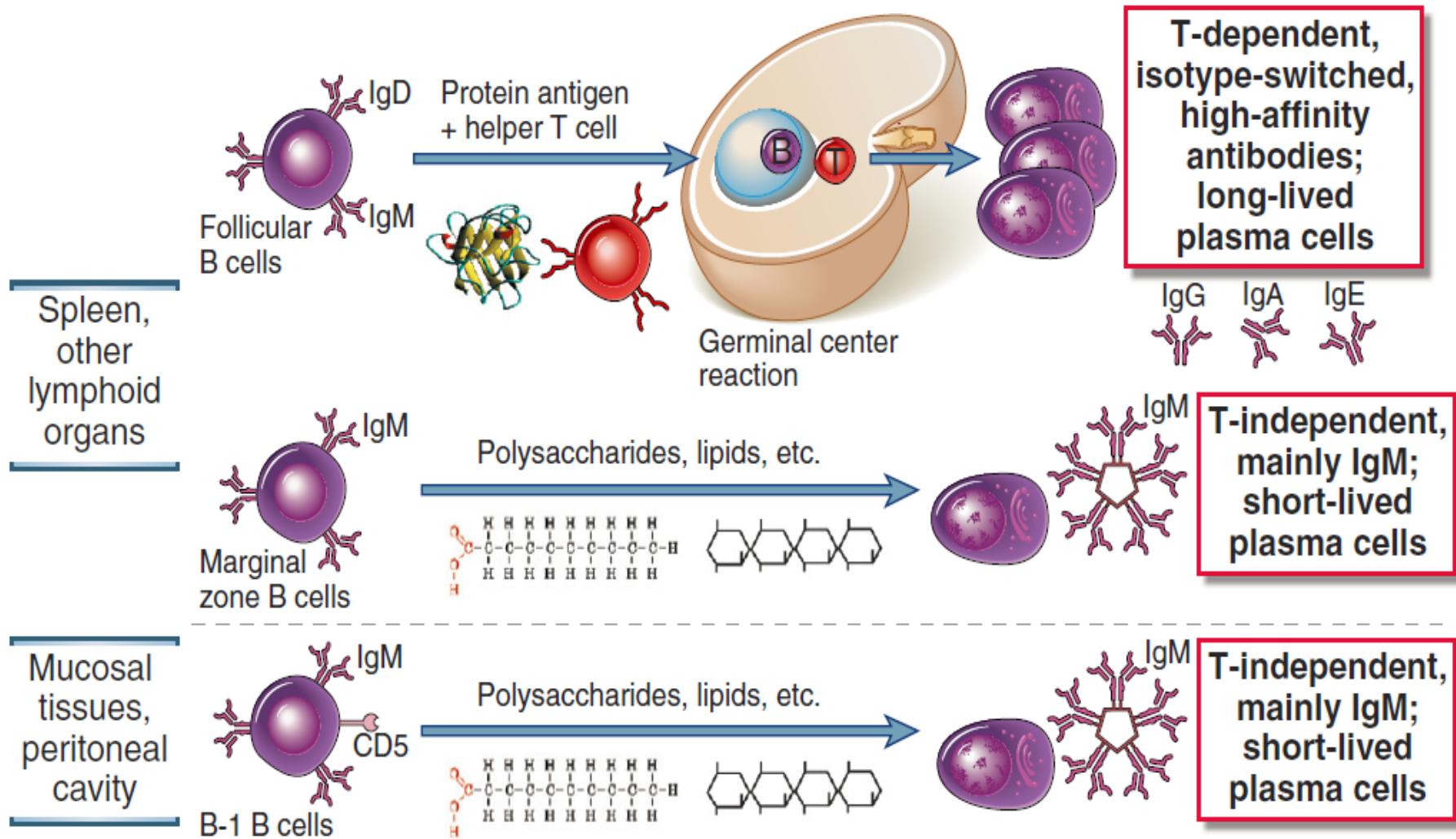
# Aktivace B lymfocytů a produkce Ig

- Ag se váže na membránový IgM a IgD receptor zralého naivního B-lymfocytu – aktivaci buňky
- Aktivace vede k proliferaci Ag specifických B-lymfocytů, k jejich diferenciaci a vzniku paměťových a plazmatických buněk
- Jediná buňka během jednoho týdne může vyprodukovat více než 5000 plazmatických buněk, které sekretují více než  $10^{12}$  molekul Ig za den

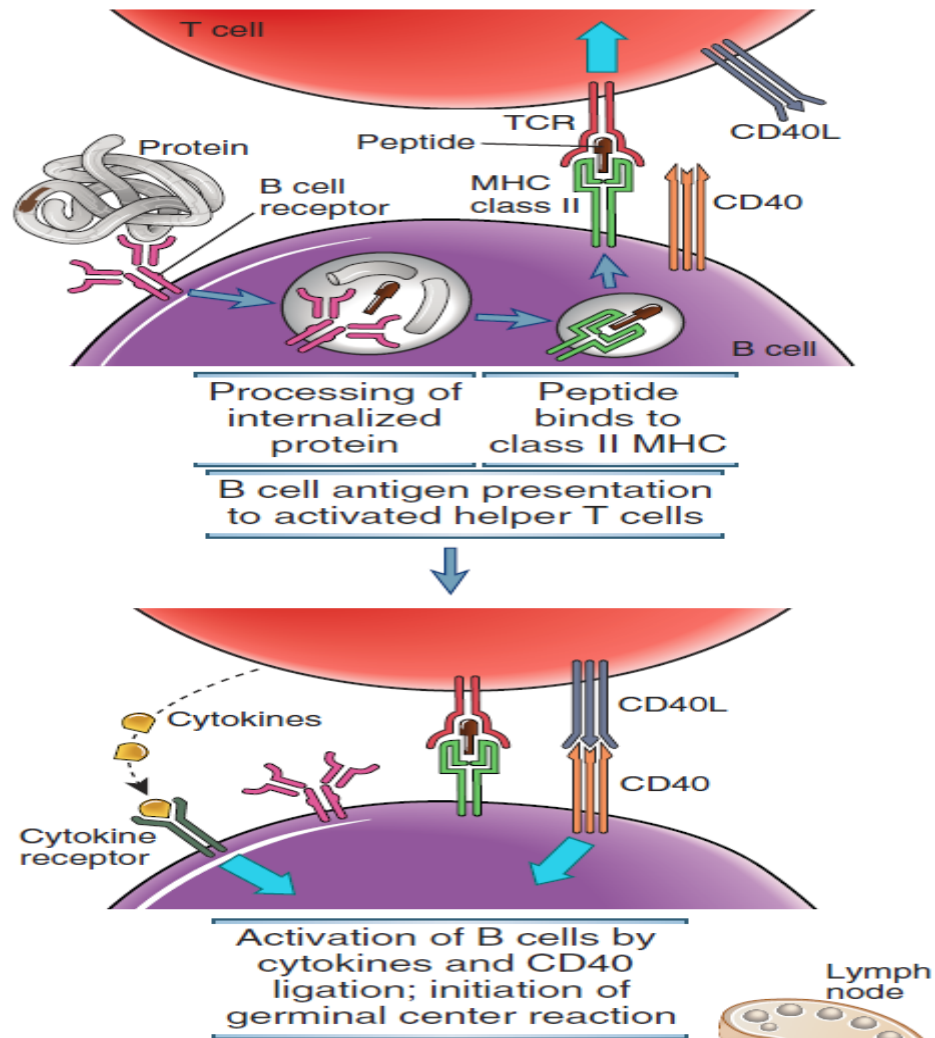
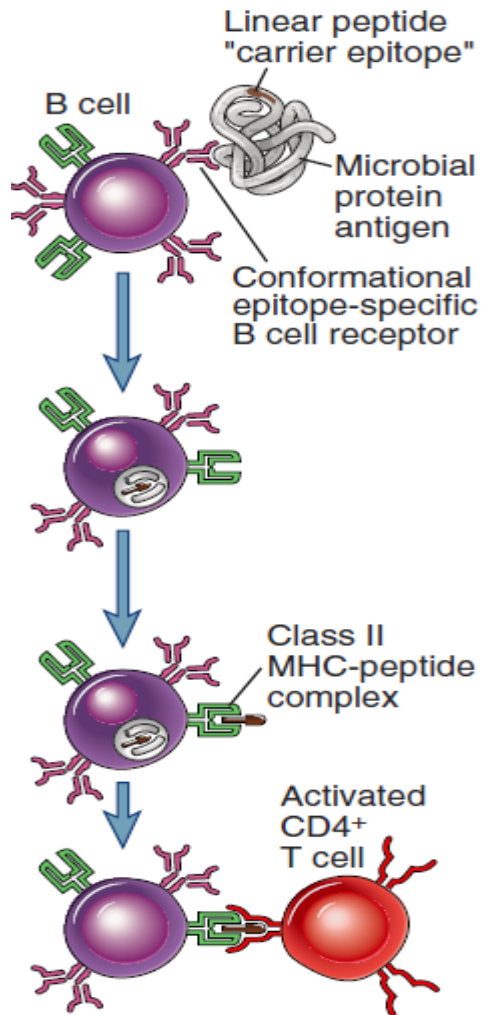
# Aktivace B lymfocytu



# B-lymfocytární subpopulace

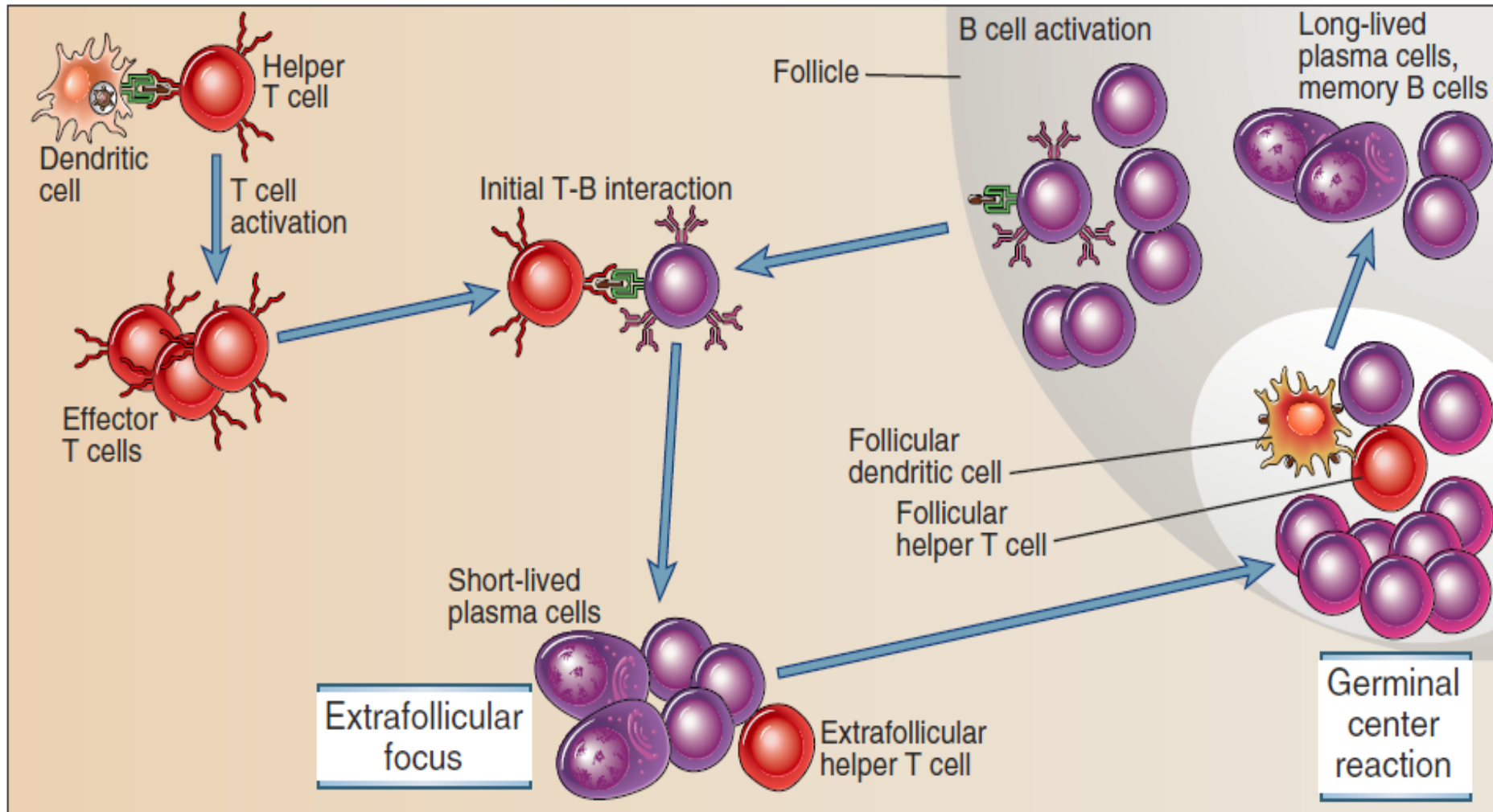


# B lymphocyte as APC and its stimulation by T lymphocyte

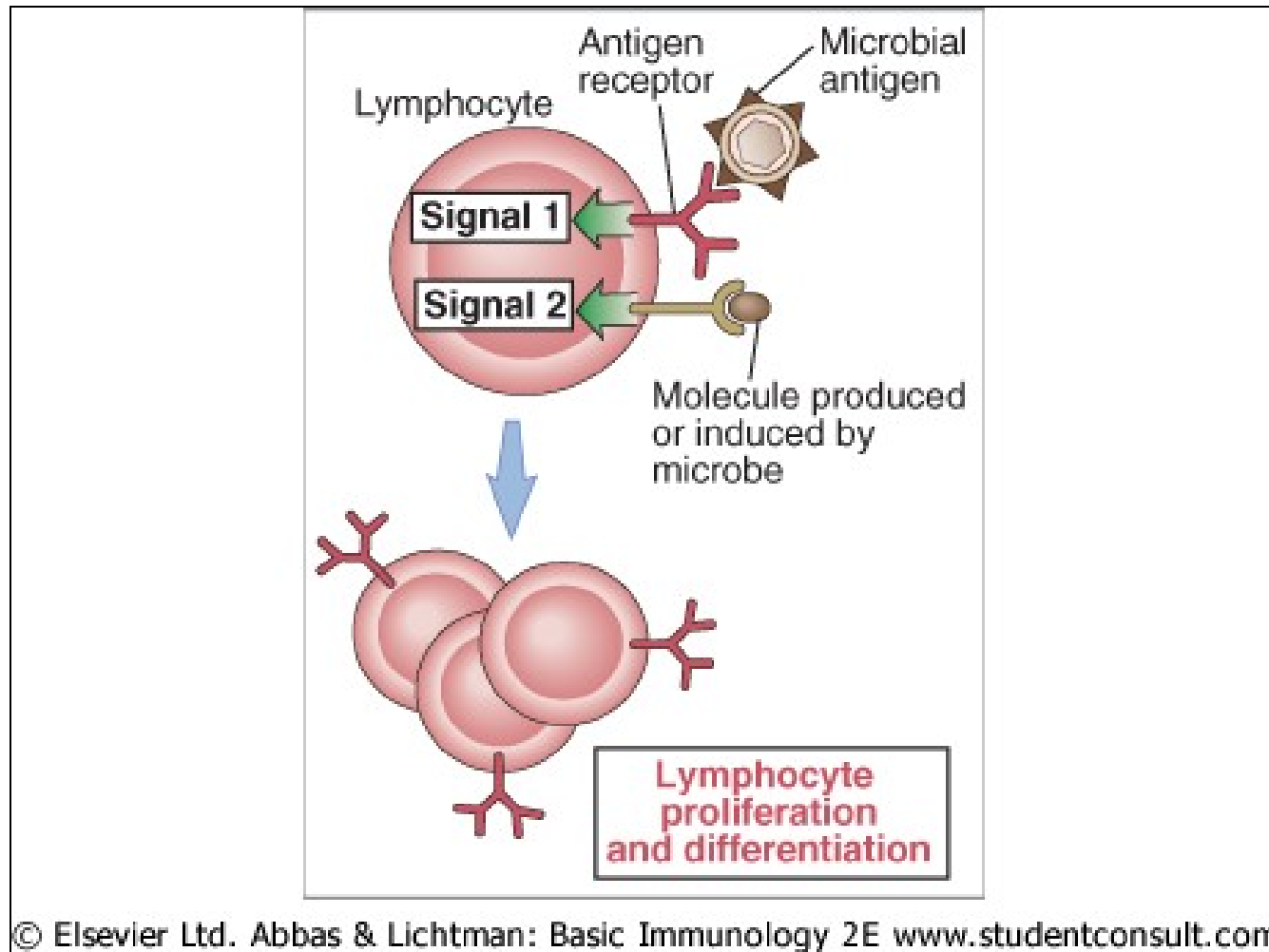


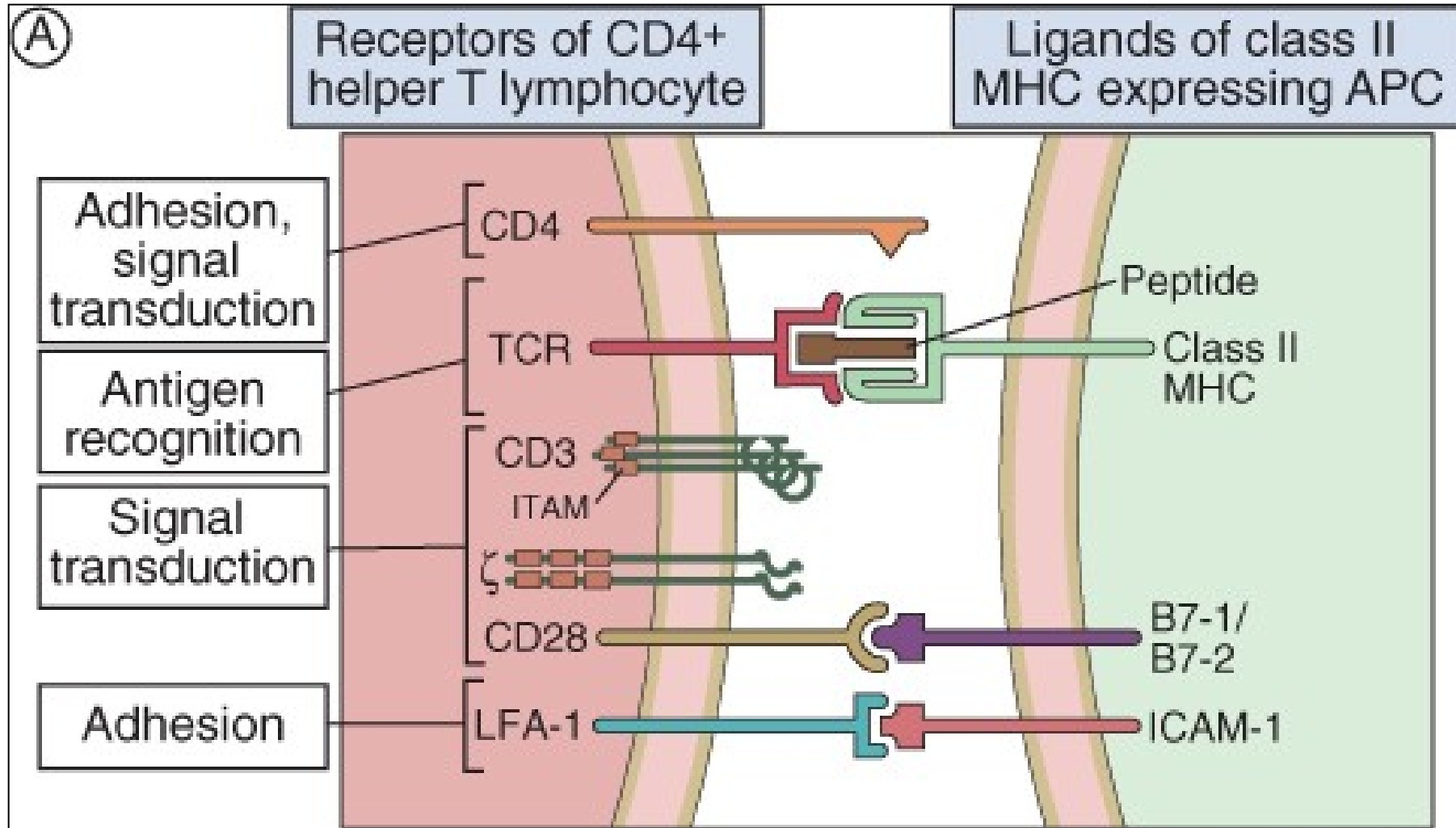


# Protilátková odpověď – T dependentní





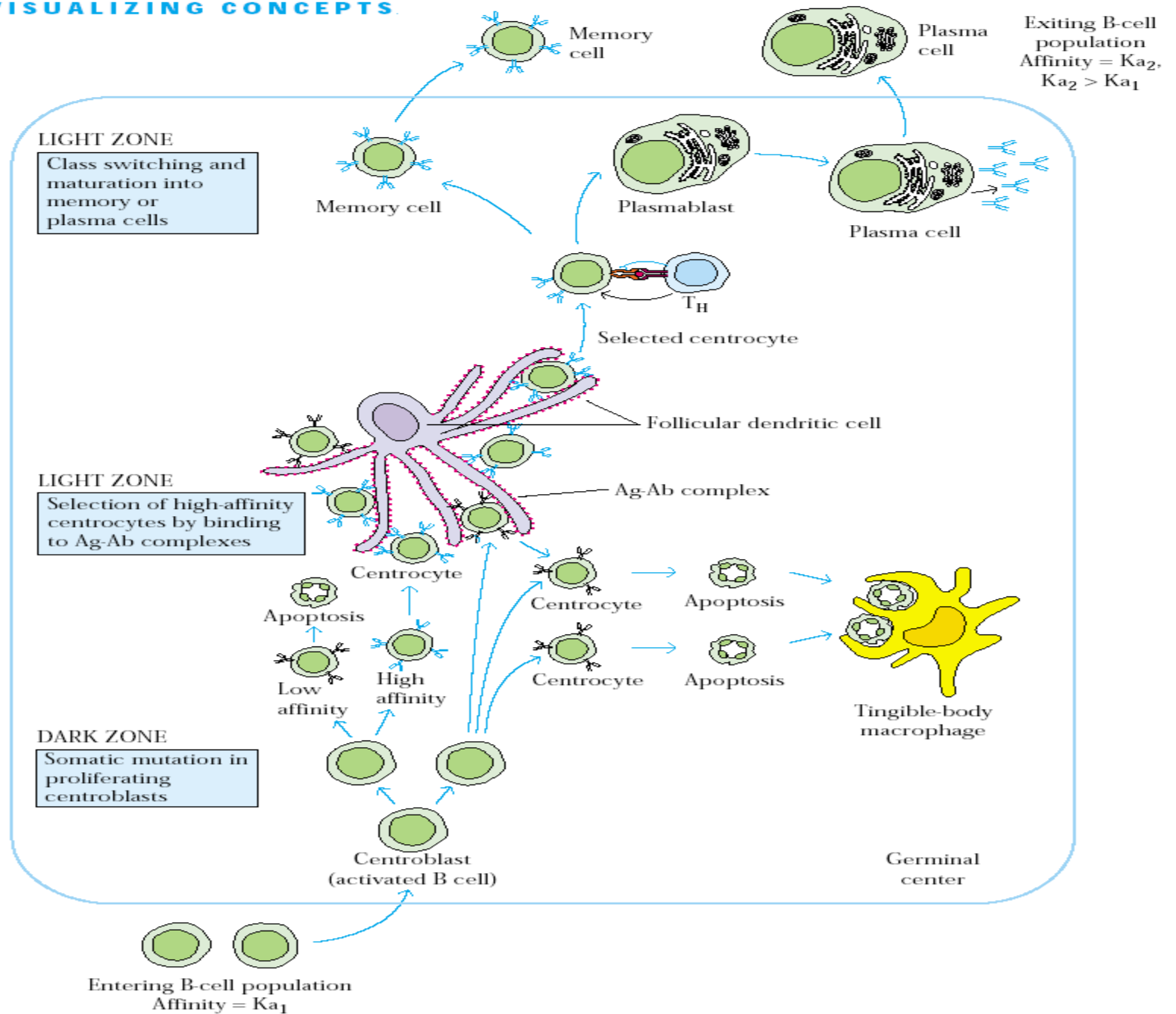




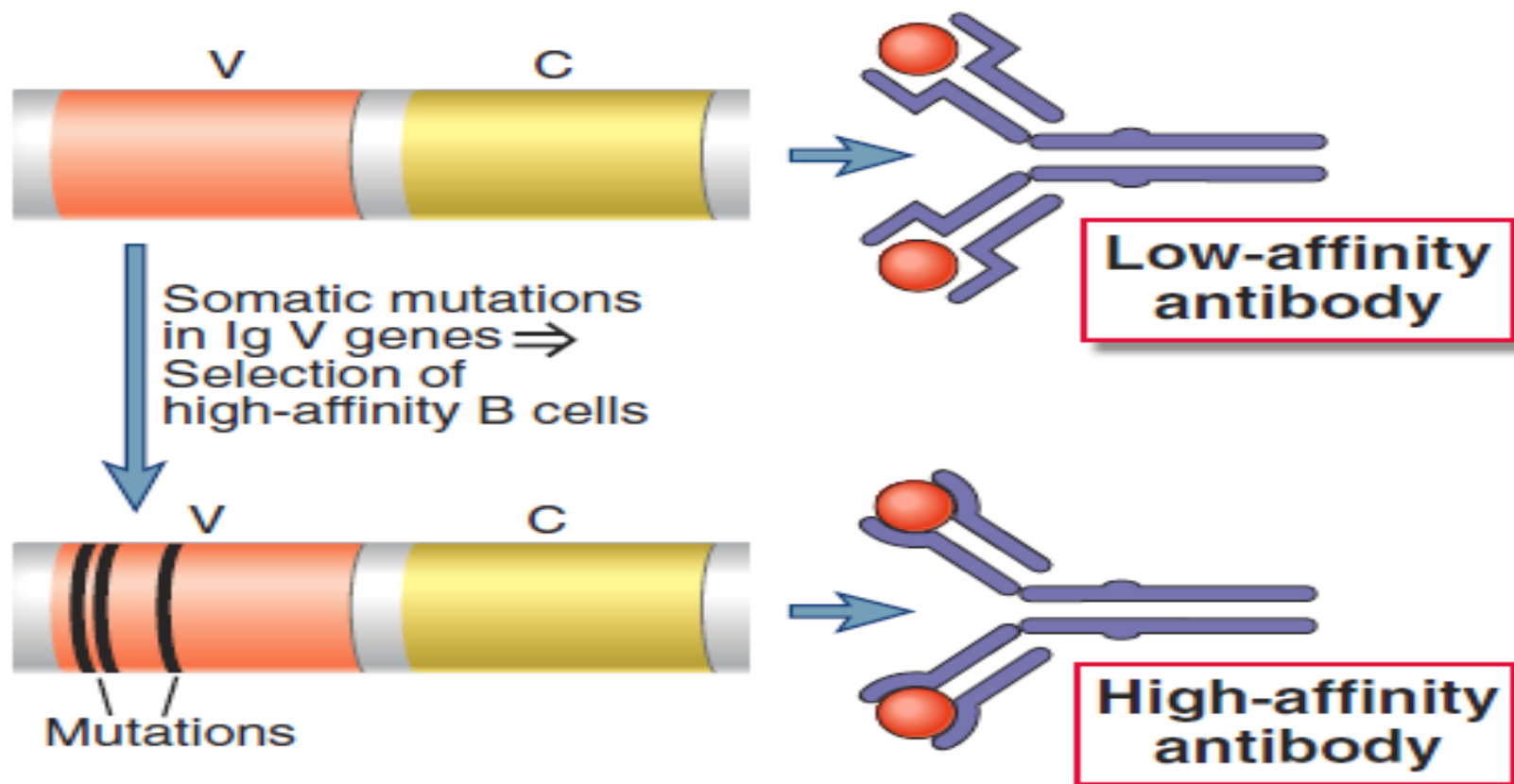
© 2005 Elsevier. All rights reserved. For more information on this article please go to the Elsevier website at [www.elsevier.com](http://www.elsevier.com)



# VISUALIZING CONCEPTS



# Somatic hypermutation

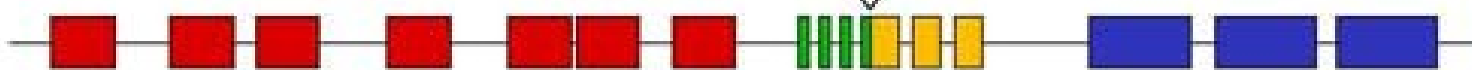


# Figure 5: V(D)J Recombination

Germline configuration



D to J recombination



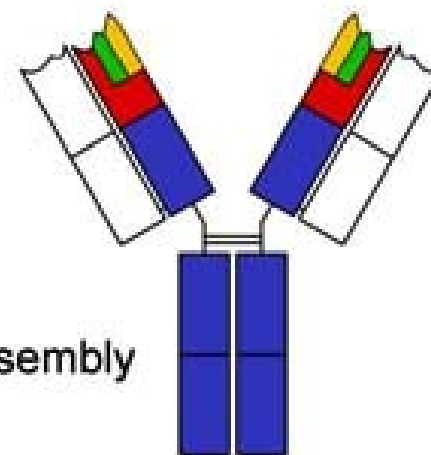
V to DJ recombination



transcription, splicing

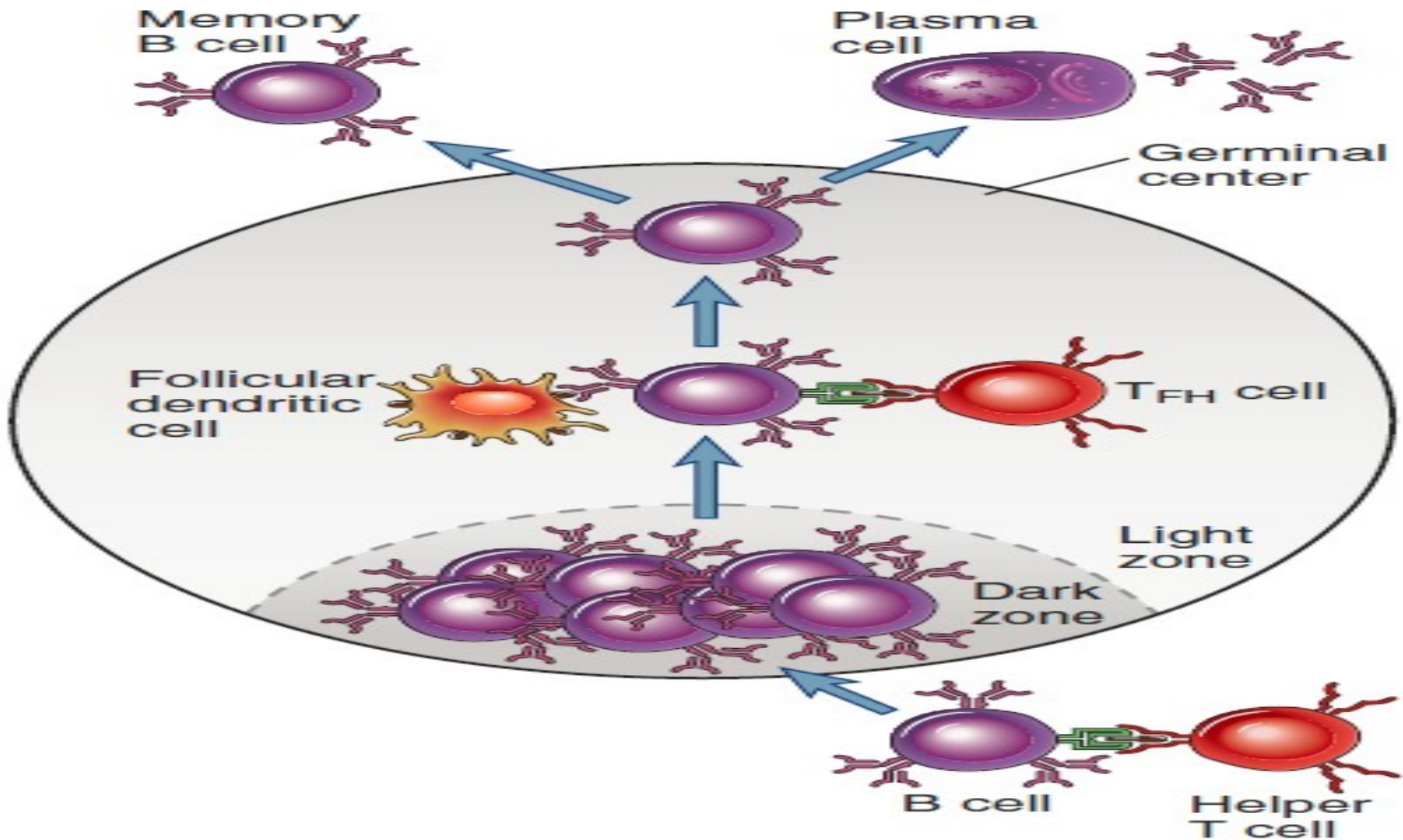


translation, assembly

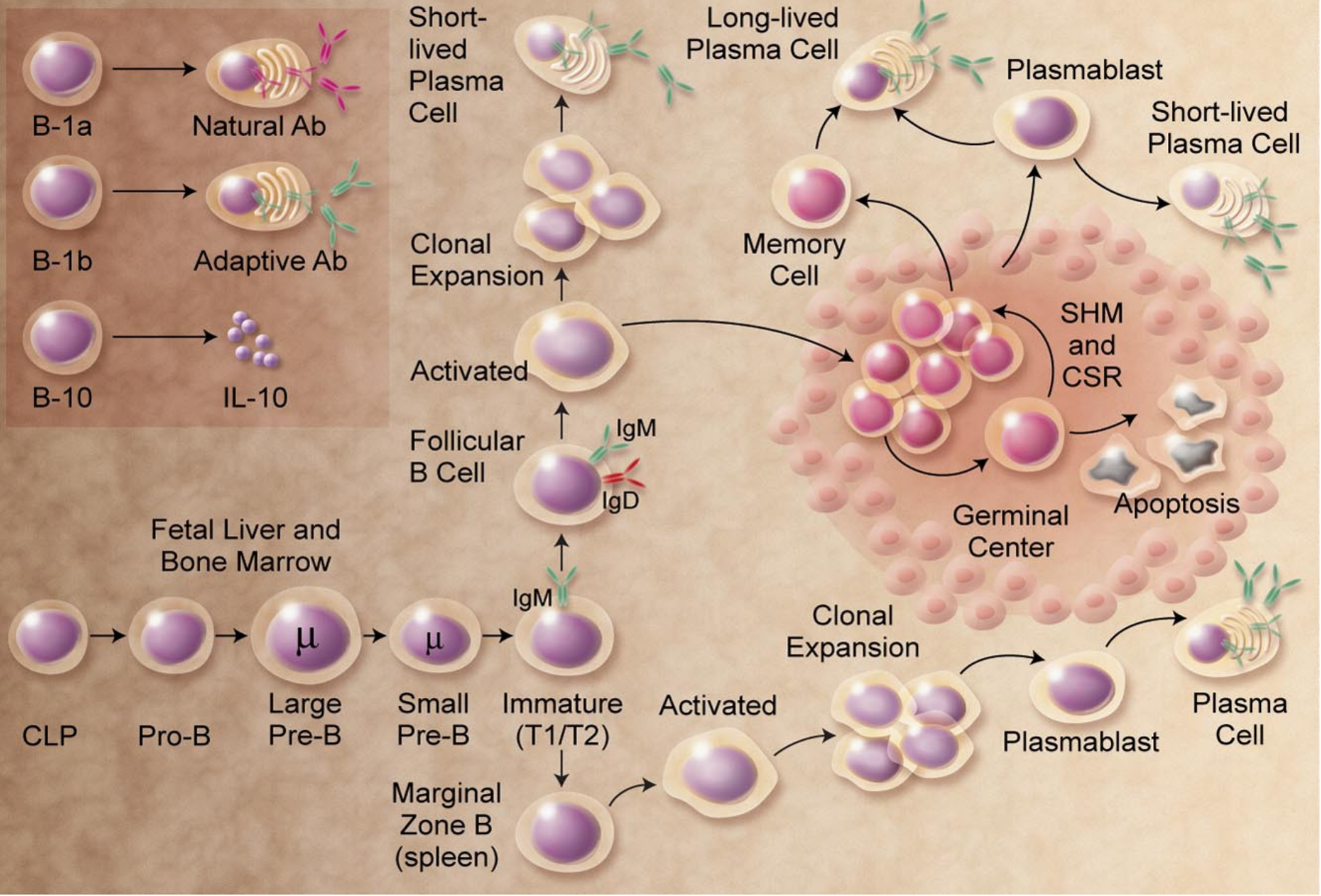


(adapted from Janeway 2001)

# Germinální centrum

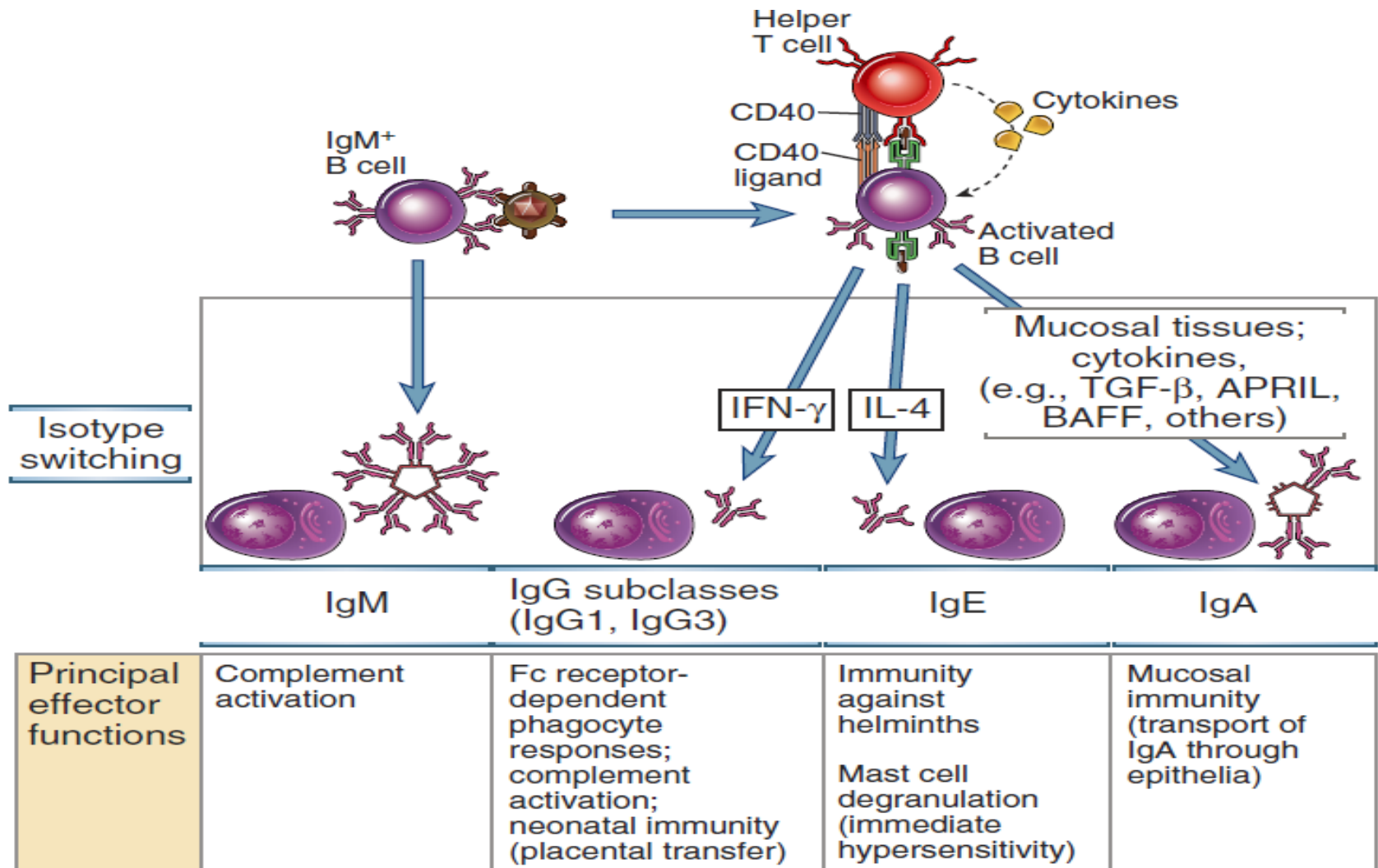






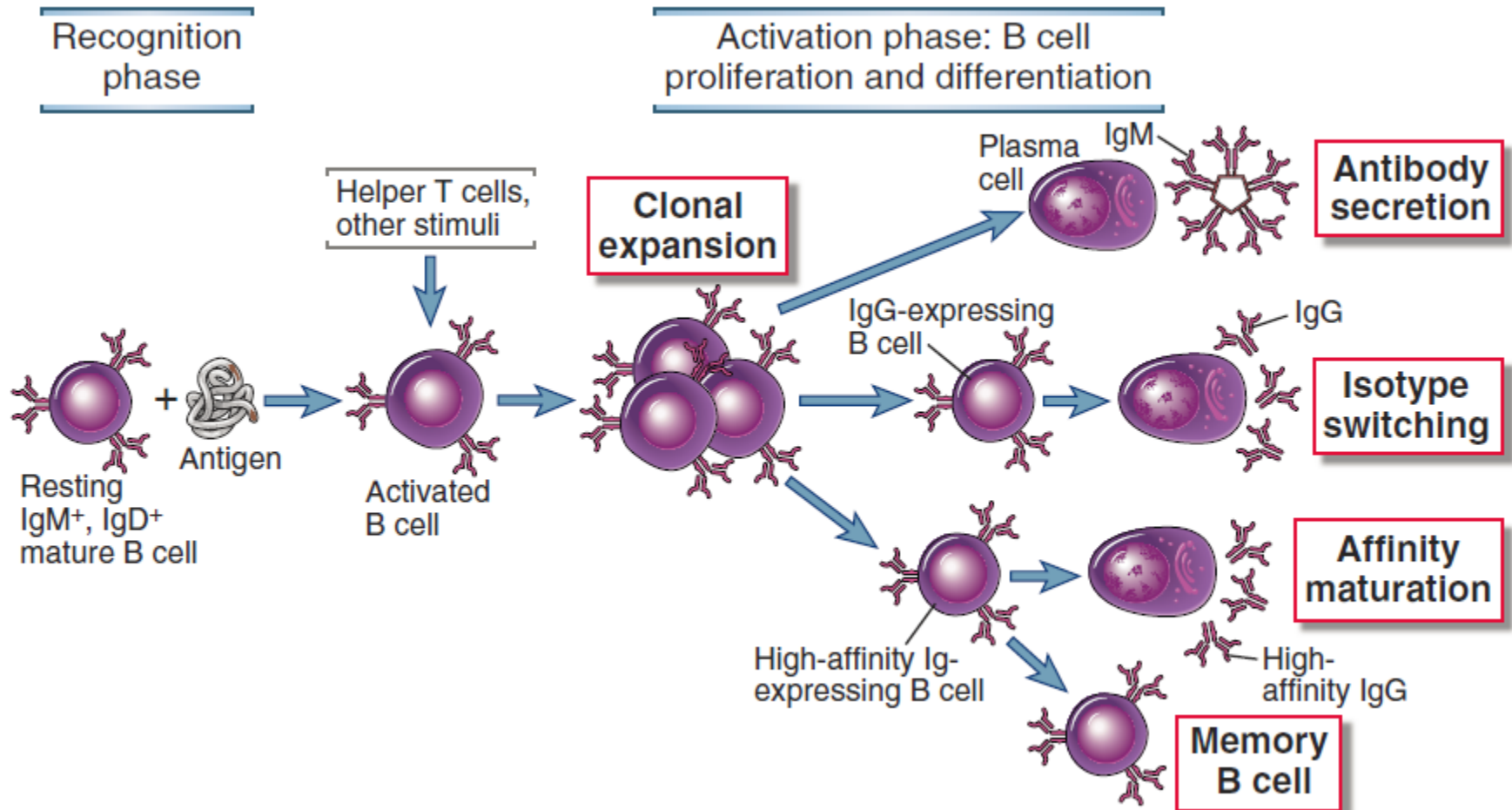
Tucker W. LeBien and Thomas F. Tedder. Blood 2008; 112: 1570-1580

# Izotypový přesmyk a funkce jednotlivých Ig



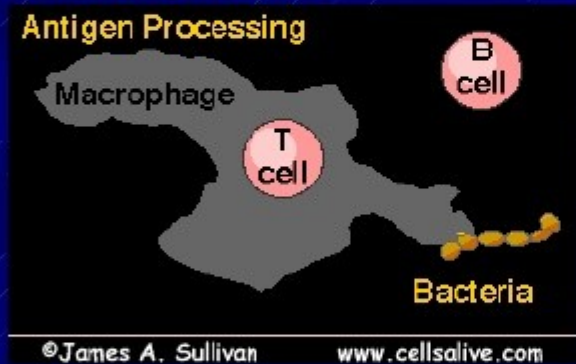


# B-buněčná aktivace a produkce Ig u B2 lymfocytů

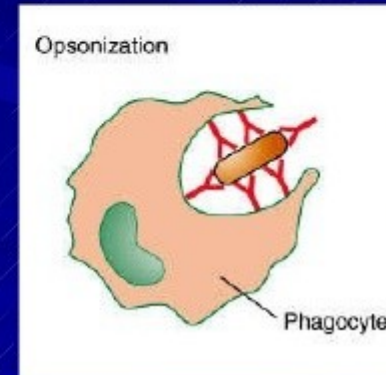
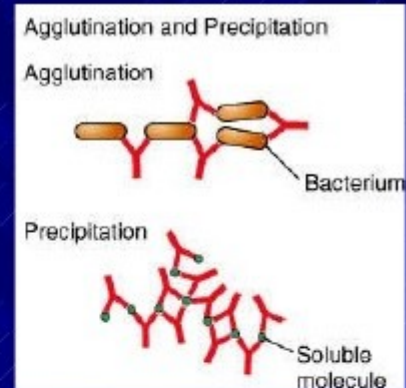


# Antibodies

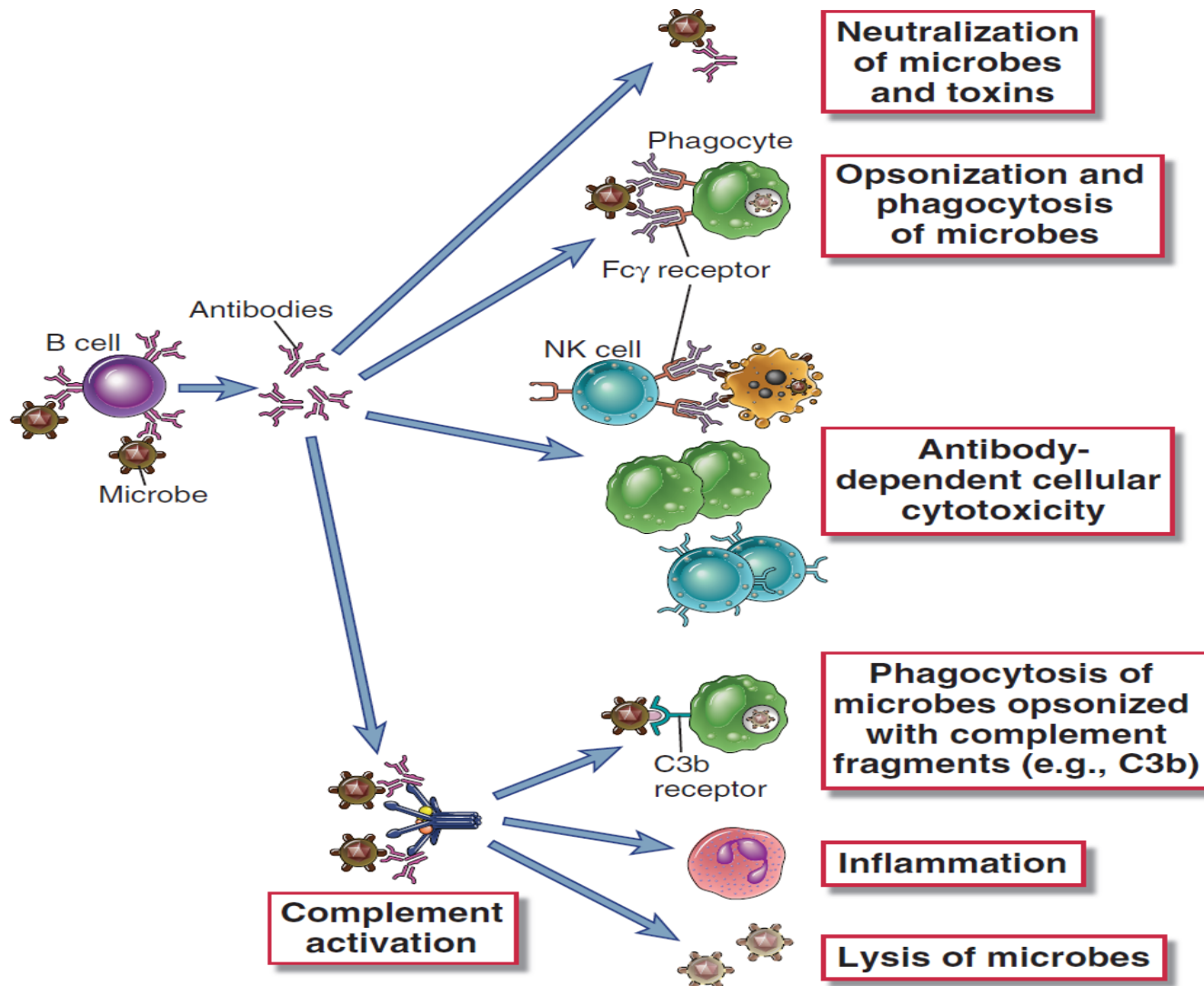
- agglutination and precipitation
  - enhances phagocytosis by gathering antigens into clumps



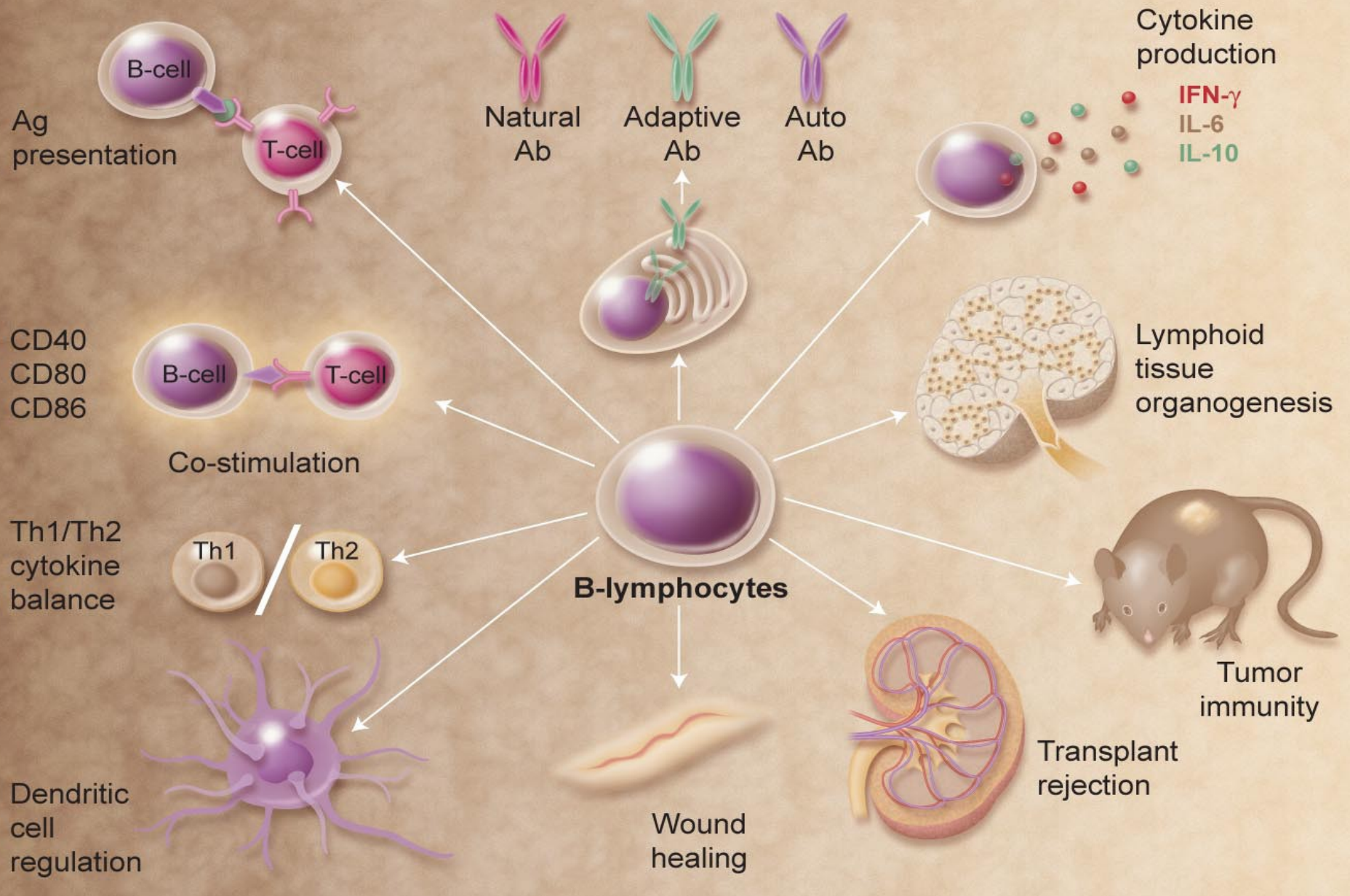
- opsonization
  - coating an antigen with antibody enhances phagocytosis



# Efektorové funkce protilátek







Tucker W. LeBien and Thomas F. Tedder. Blood 2008; 112: 1570-1580

# Adaptivní imunita: paměť

Zvýšení imunitní reakce po opakovaném setkání s původním antigenem.

Klonální selekce – klonální expanze

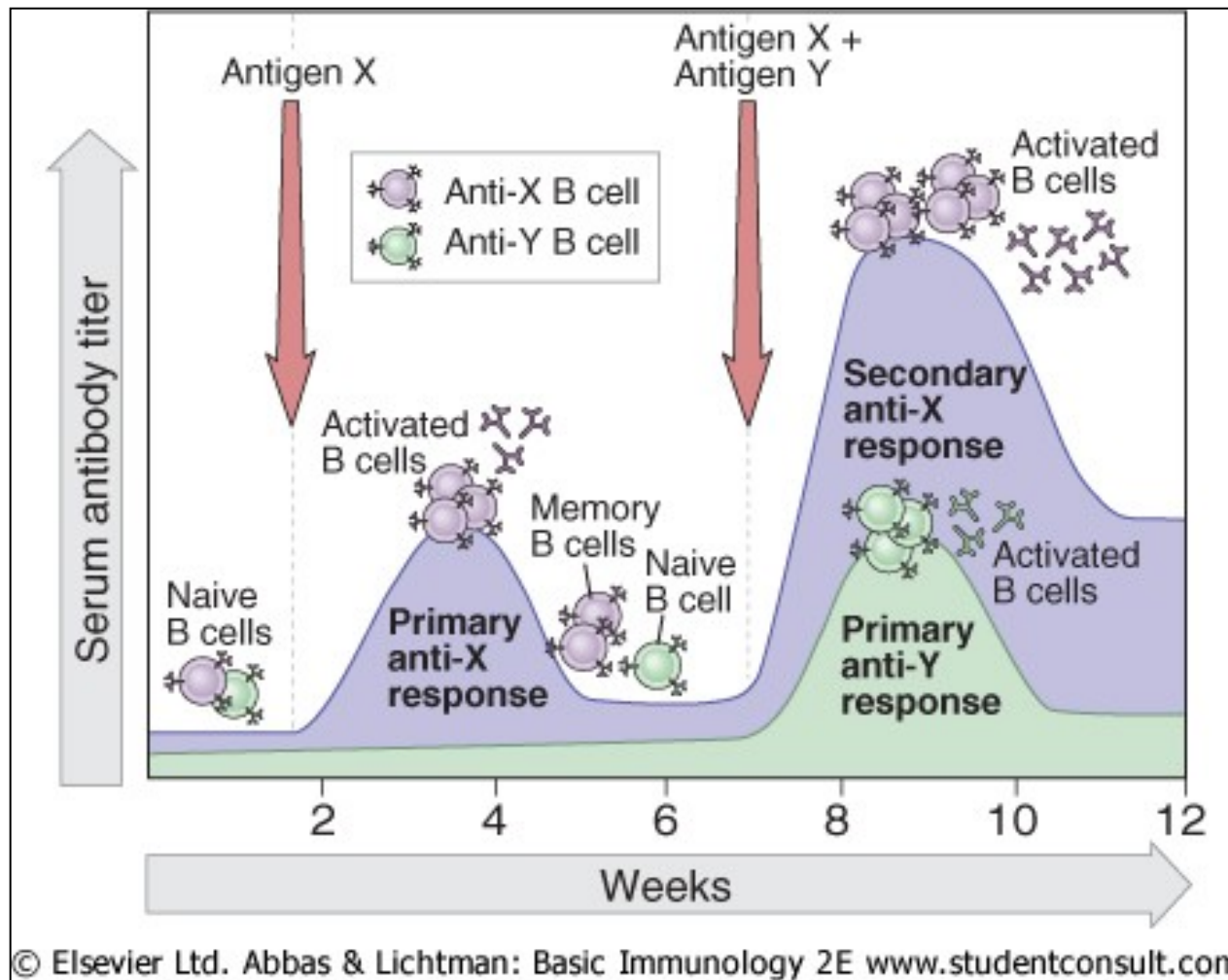
Diferenciace: terminální efektorové buňky

dlouze žijící paměťové buňky

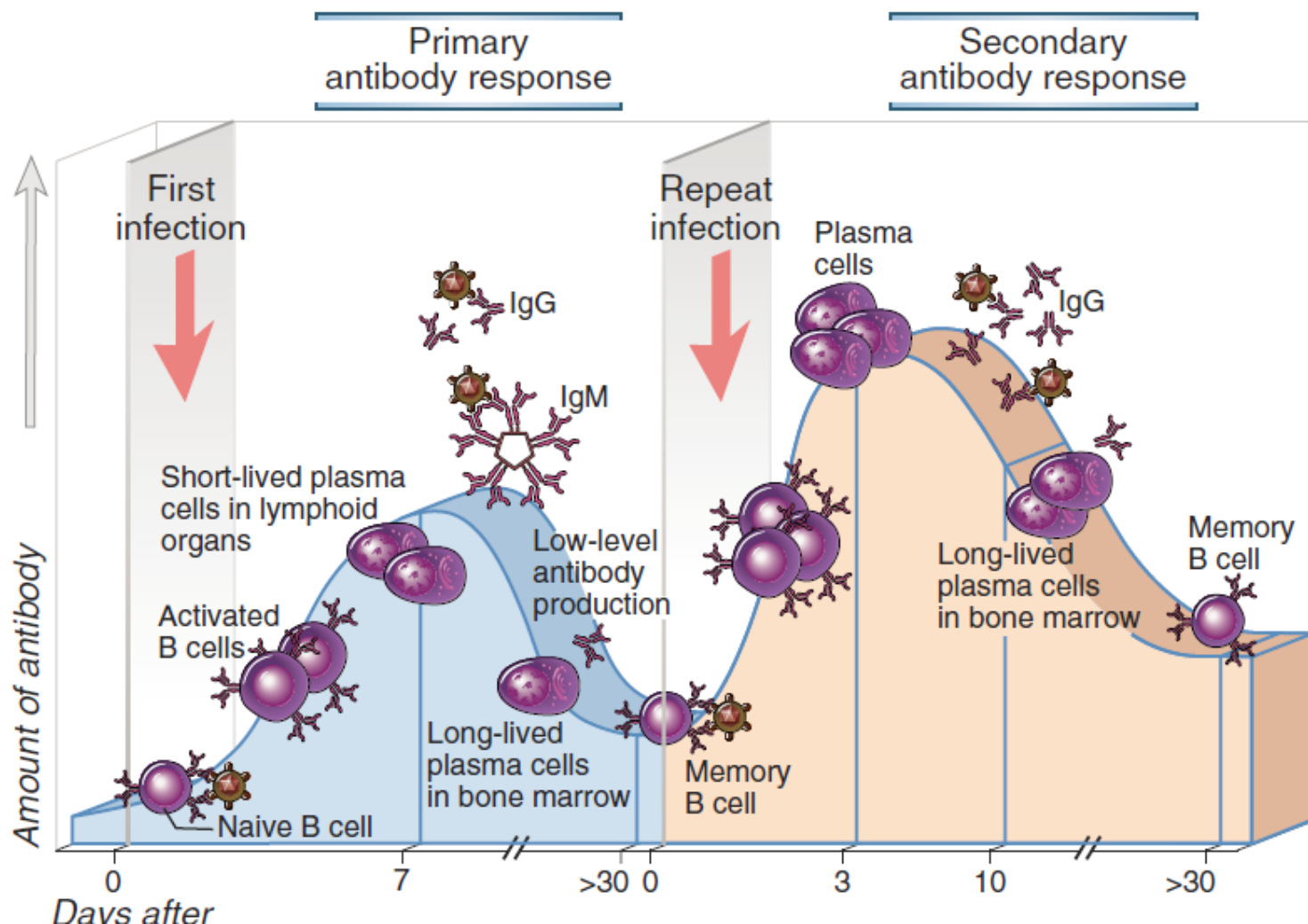
Imunitní reakce

primární

sekundární (anamnestická, “booster“)

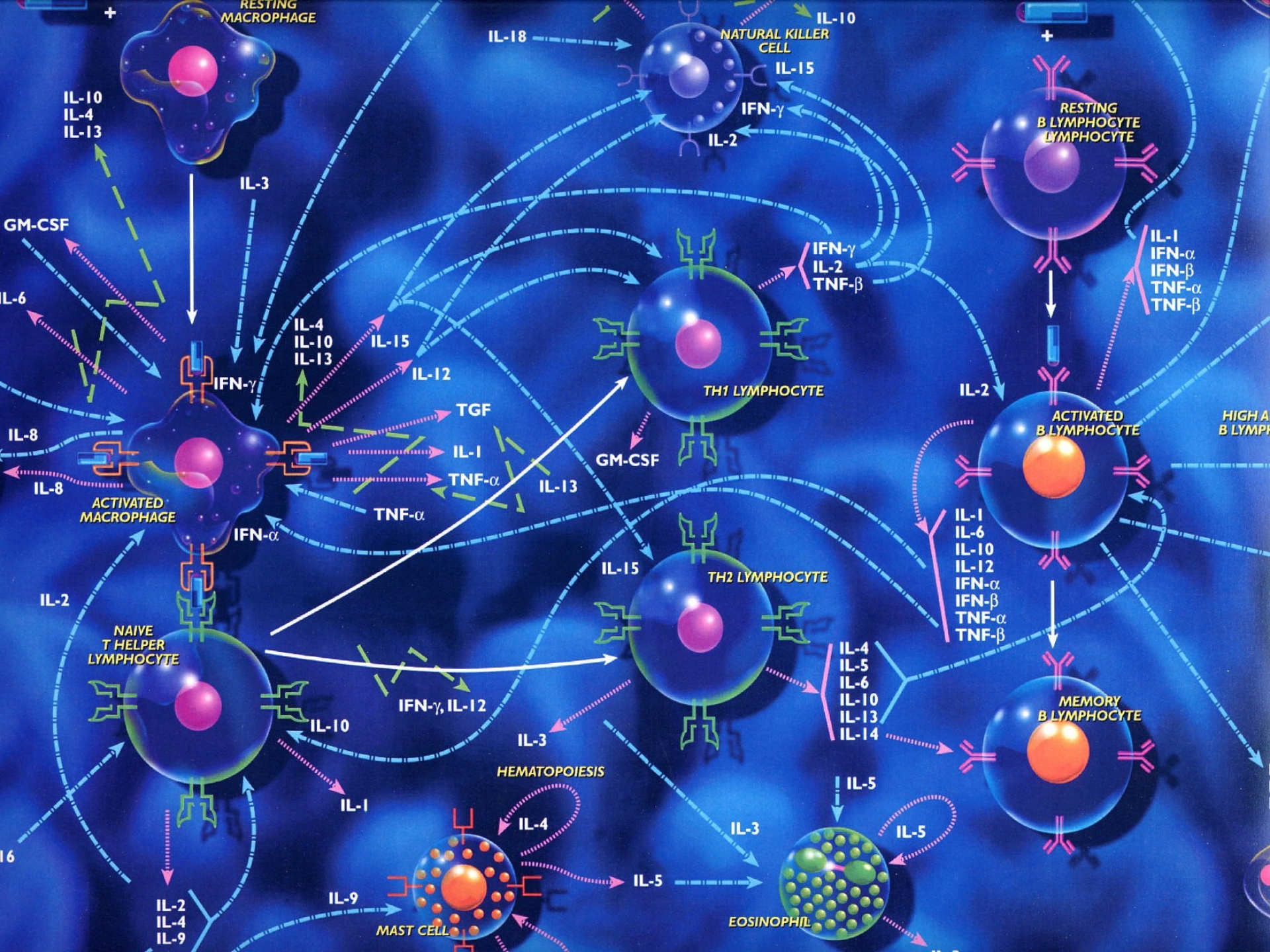


# Imunitní protilátková odpověď



# Regulace v imunitním systému





# Regulace imunitní odpovědi

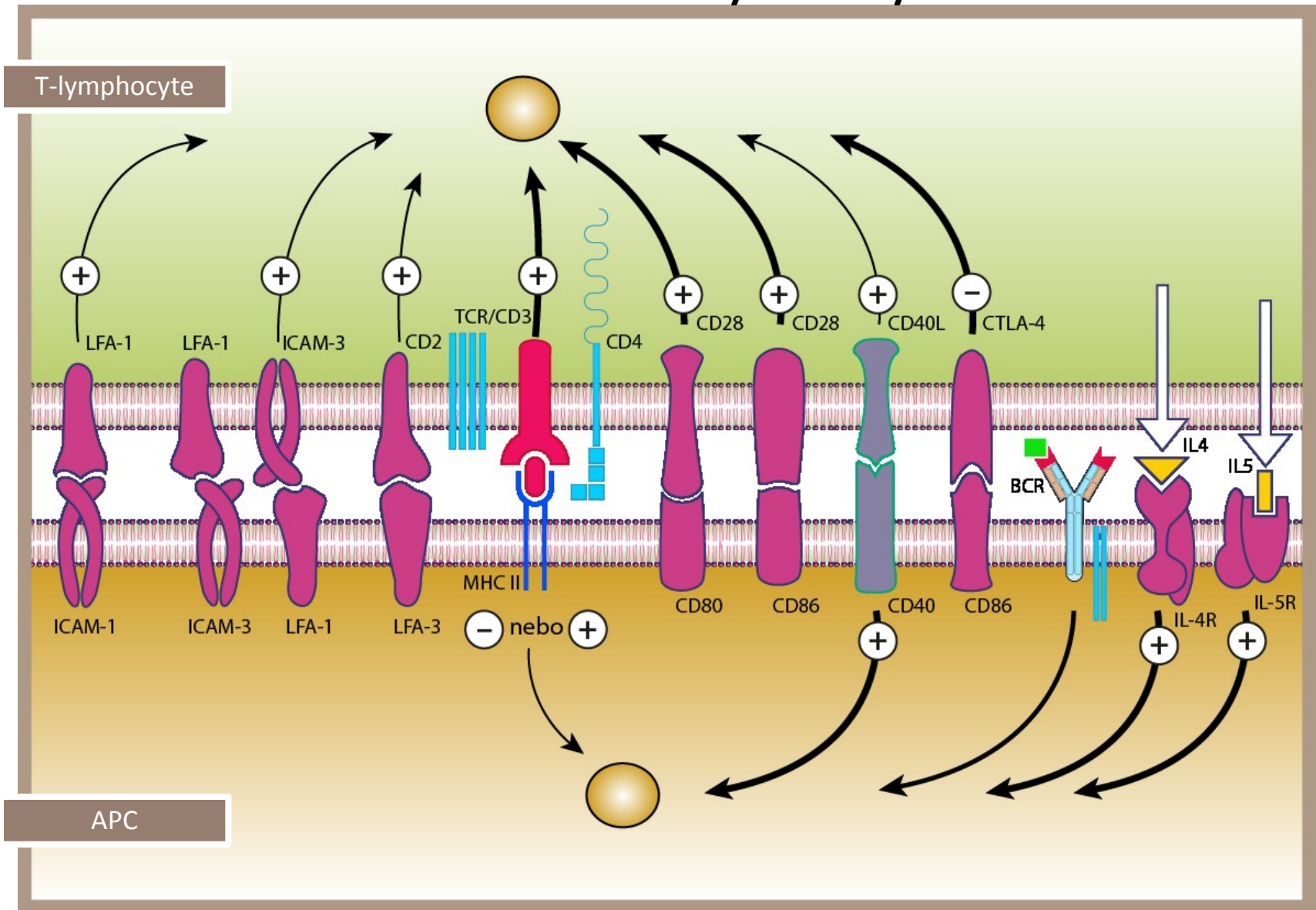
- Uskutečňuje se:
  - Interakcí složek imunitního systému.
  - Vlastnostmi a kvantitou antigenu a dalších vnějších aktivačních signálů (PAMP).
  - Prostřednictvím neuroendokrinních vlivů: inervace orgánů imunitního systému, vlivem hormonů na funkci imunitního systému.

# Regulace uvnitř imunitního systému

- Uskutečňuje se především
  - Fyzikálními mezibuněčnými interakcemi – účastní se řada aktivačních povrchových molekul přenášejících pozitivní nebo negativní signál.
  - Prostřednictvím produkce řady cytokinů.



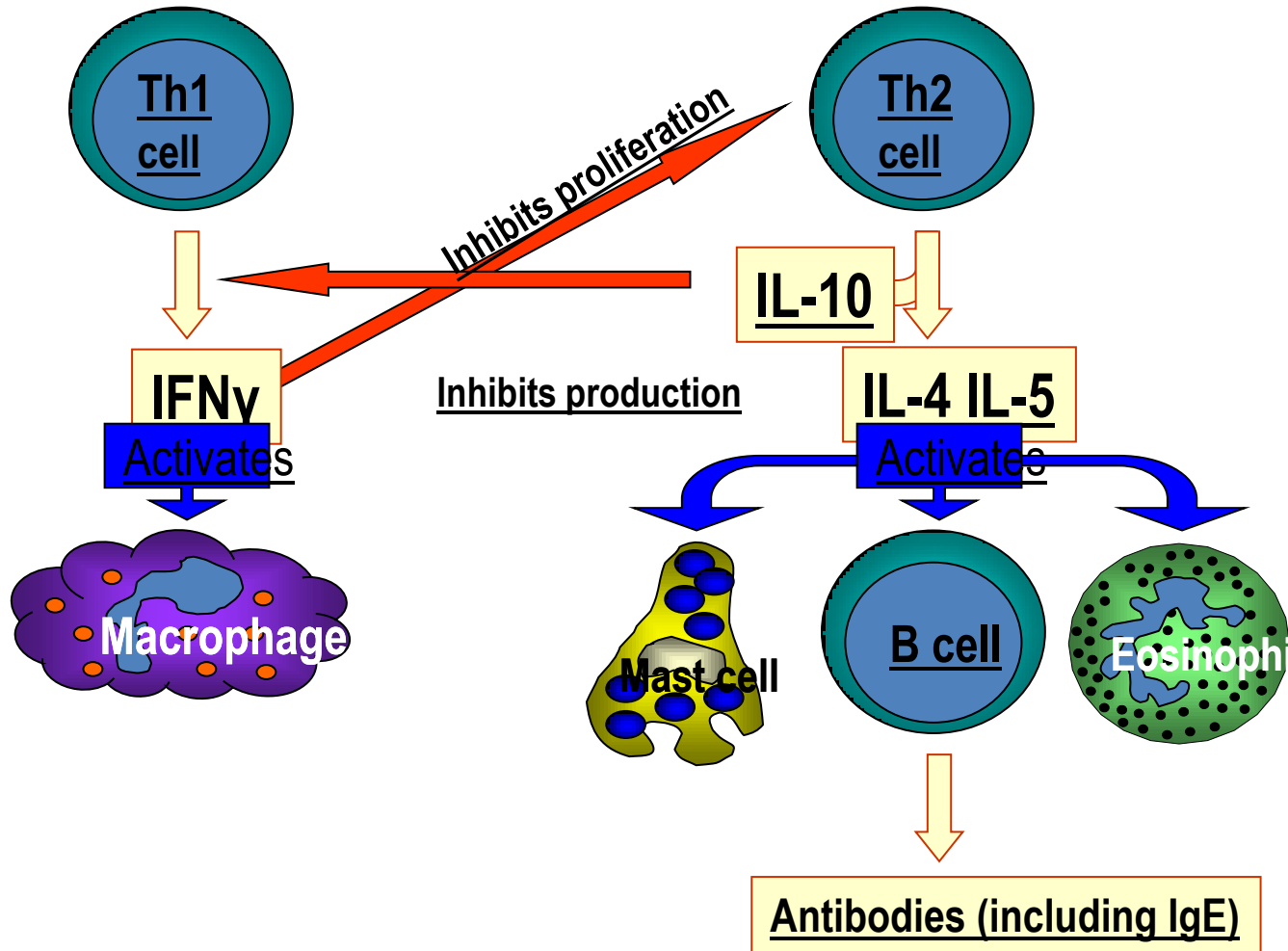
# Kostimulační molekuly při aktivaci a inhibici T-lymfocytů



# Regulace T-lymfocyty

- Antagonistický vztah Th1 a Th2 lymfocytů
- Různé typy regulačních T-lymfocytů inhibují imunitní reakci, jsou zodpovědné za vrozenou i získanou toleranci.

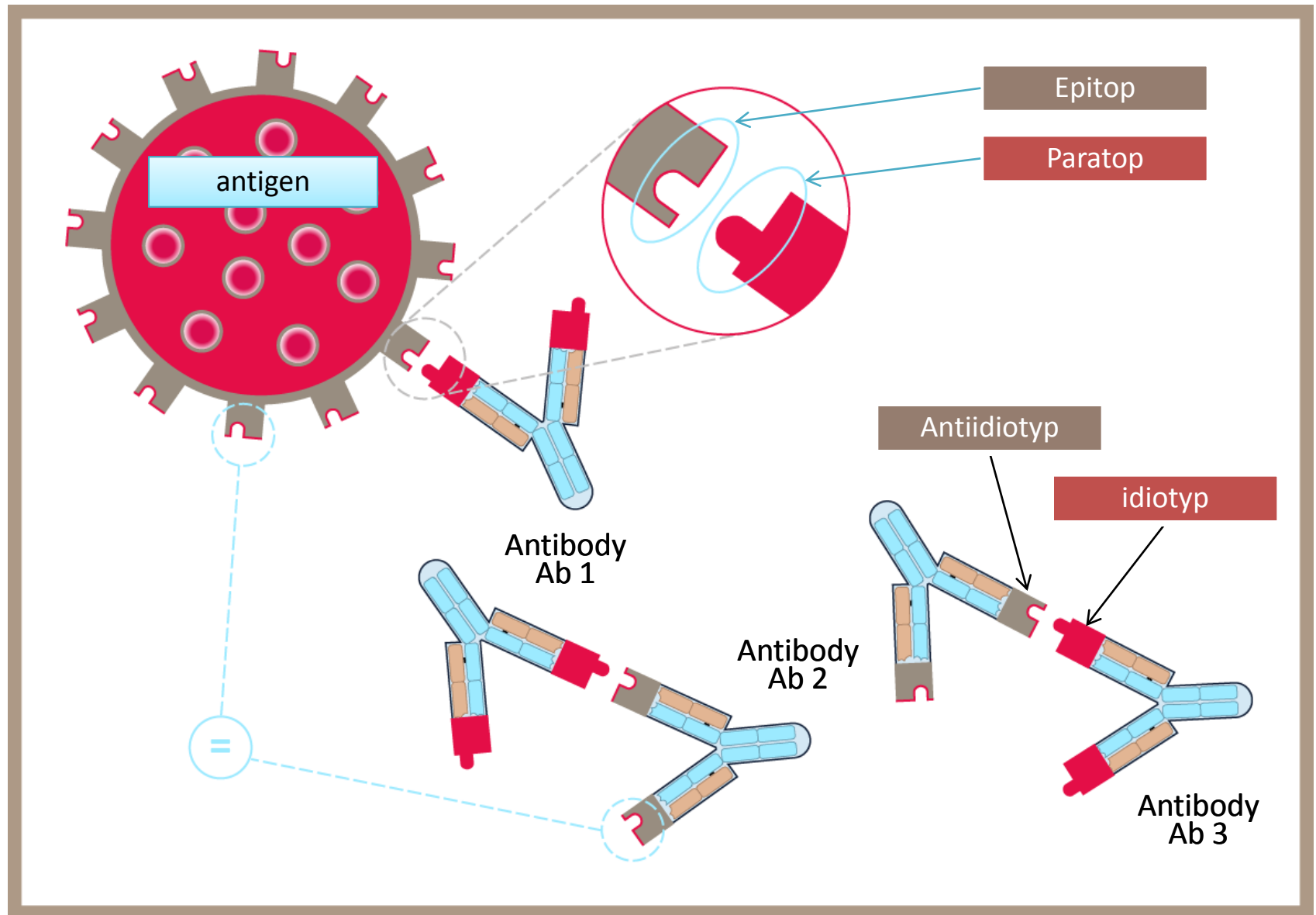
# Funkce Th1 and Th2 lymfocytů



# Regulace protilátkami

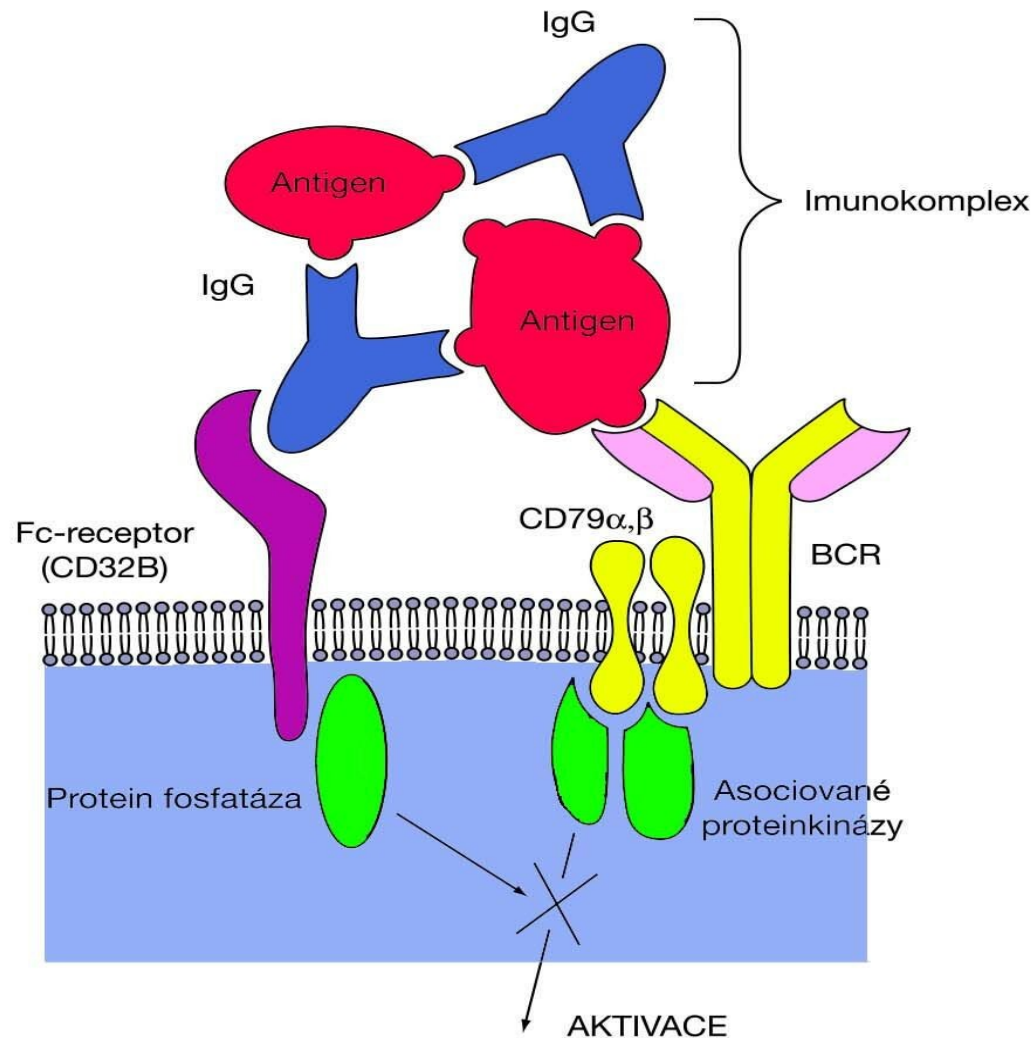
- Idiotyp-antiidiotypové interakce.
- Negativní regulace po vazbě protilátky na Fc $\gamma$ RII.
- Vazba imunitního komplexu při prezentaci antigenů dendritickými folikulárními buňkami v zárodečných centrech výrazně zvyšuje imunogenicitu.
- C3dg (štěpný produkt C3) vázaný na antigen vazbou na receptor CD21 má pozitivní stimulační efekt na B-lymfocyty.

# Interakce idiotyp-antiidiotyp





# Inhibiční vliv IgG na aktivaci B-lymfocytů



# Adaptivní imunita: autotolerance

Lymfocyty, které by poznávaly „vlastní“ antigeny jsou buď odstraněny nebo inaktivovány.

Imunologická tolerance centrální.

Imunologická tolerance periferní.

*Prolomení tolerance – autoimunizace.*

# IMUNOLOGICKÁ TOLERANCE

Destrukce nebo inaktivace lymfocytů s BCR nebo TCR,  
které poznávají a váží epitopy vlastních antigenů

## CENTRÁLNÍ

- T lymfocyty
  - thymus
    - negativní selekce
- B lymfocyty
  - kostní dřeň
    - negativní selekce

## PERIFERNÍ (T- i B-)

### Anergie

k úplné aktivaci lymfocytů chybí druhé, kostimulační signály

### Suprese

reaktivita lymfocytů je tlumena tzv. Treg

# *Lymfocyty T i B primárně neodlišují vlastní a cizí*



thymus



kostní dřeň

lymfocyty namířené proti vlastním antigenům jsou odstraněny při „negativní selekci“ apoptózou



centrální tolerance

lymfocyty namířené proti vlastním antigenům proniknuvší do periferie jsou utlumeny (anergie, suprese)



periferní tolerance



## prolomení tolerance



### nevhodné geny

determinující specifickou  
reaktivitu na autoantigeny  
i obecnou vnímavost  
k autoimunitním reakcím



### nevhodné prostředí

zevní i vnitřní



# AUTOIMUNITNÍ CHOROBA