

# Vrozená imunita

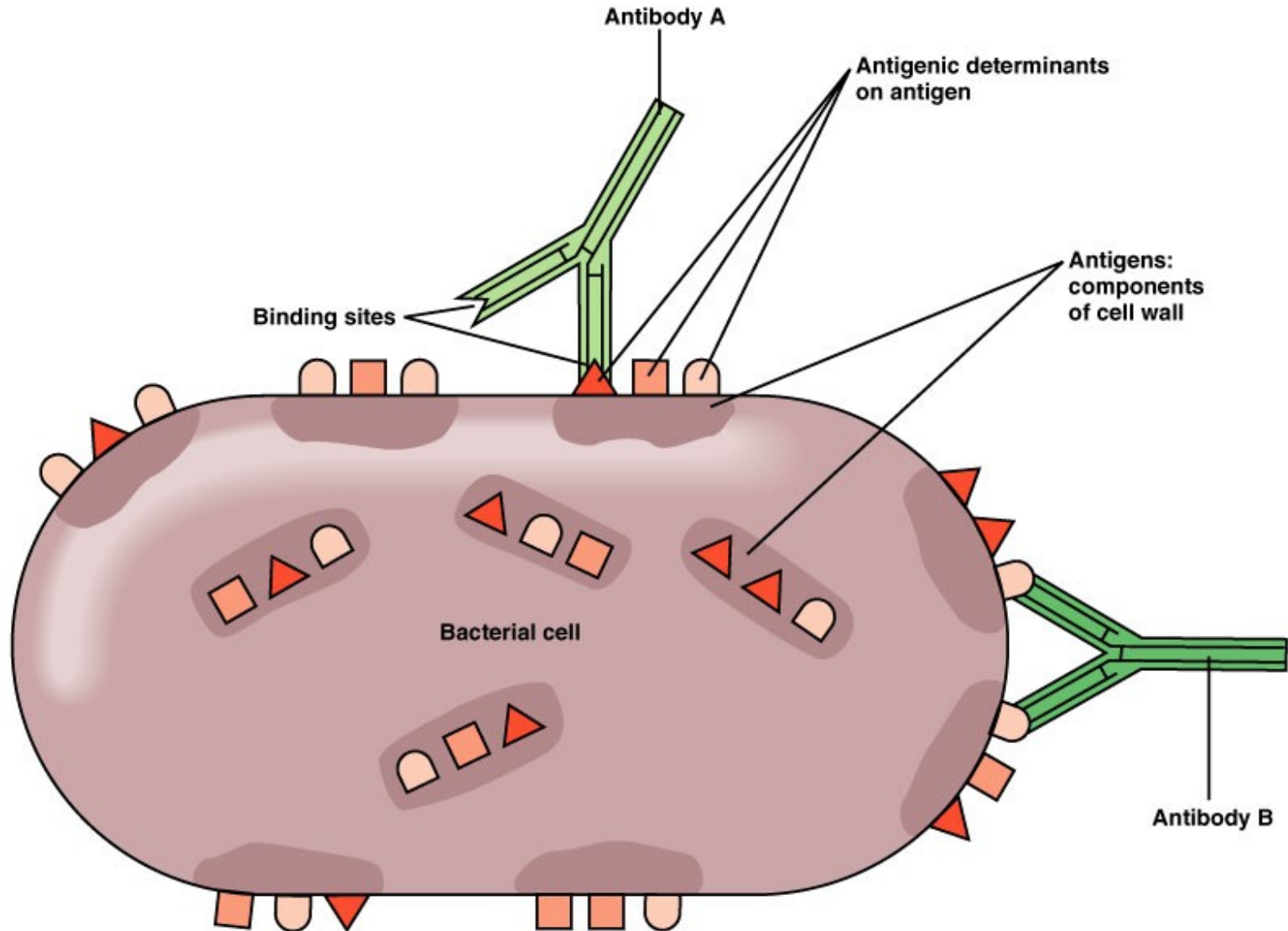
Marcela Vlková

# Základní pojmy

# Antigen

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

# Vztah antigenu a epitopu



# Immunogennost

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

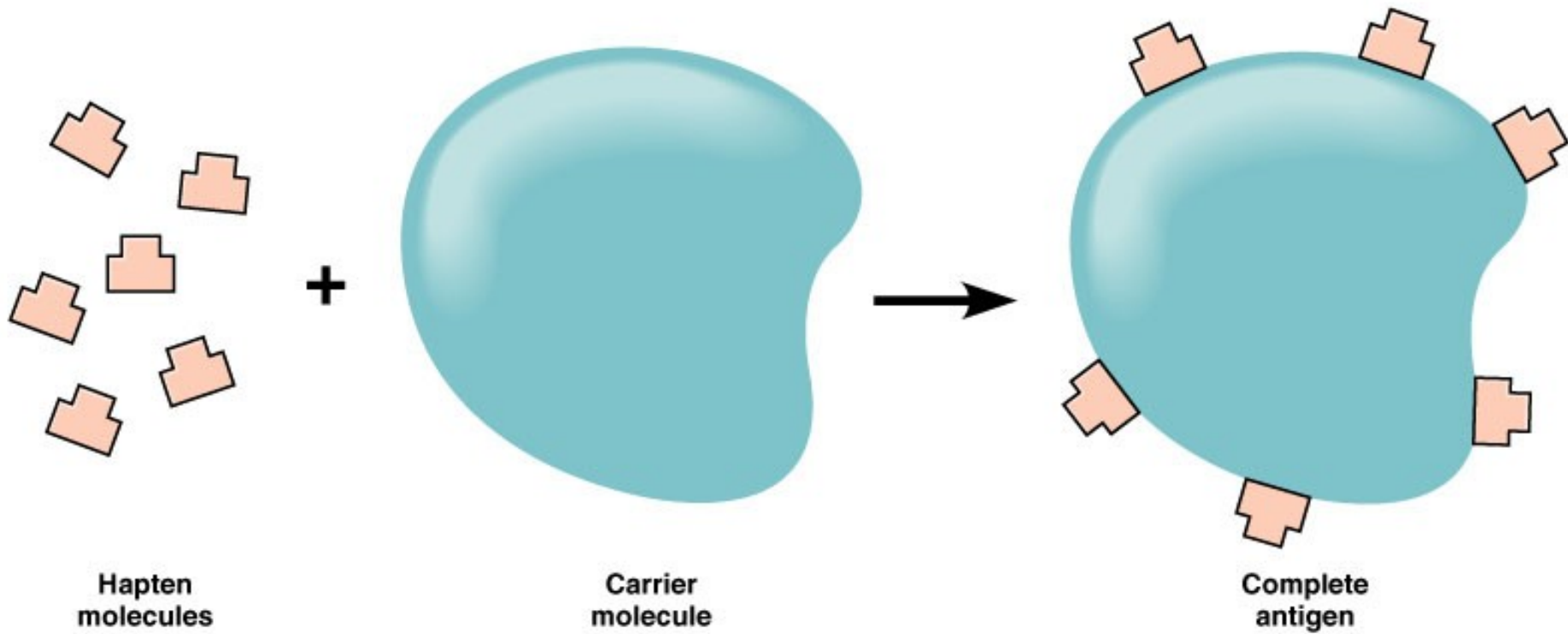
# Chemické složení antigenů

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

# Hapten

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

# Imunogenicitata haptenu

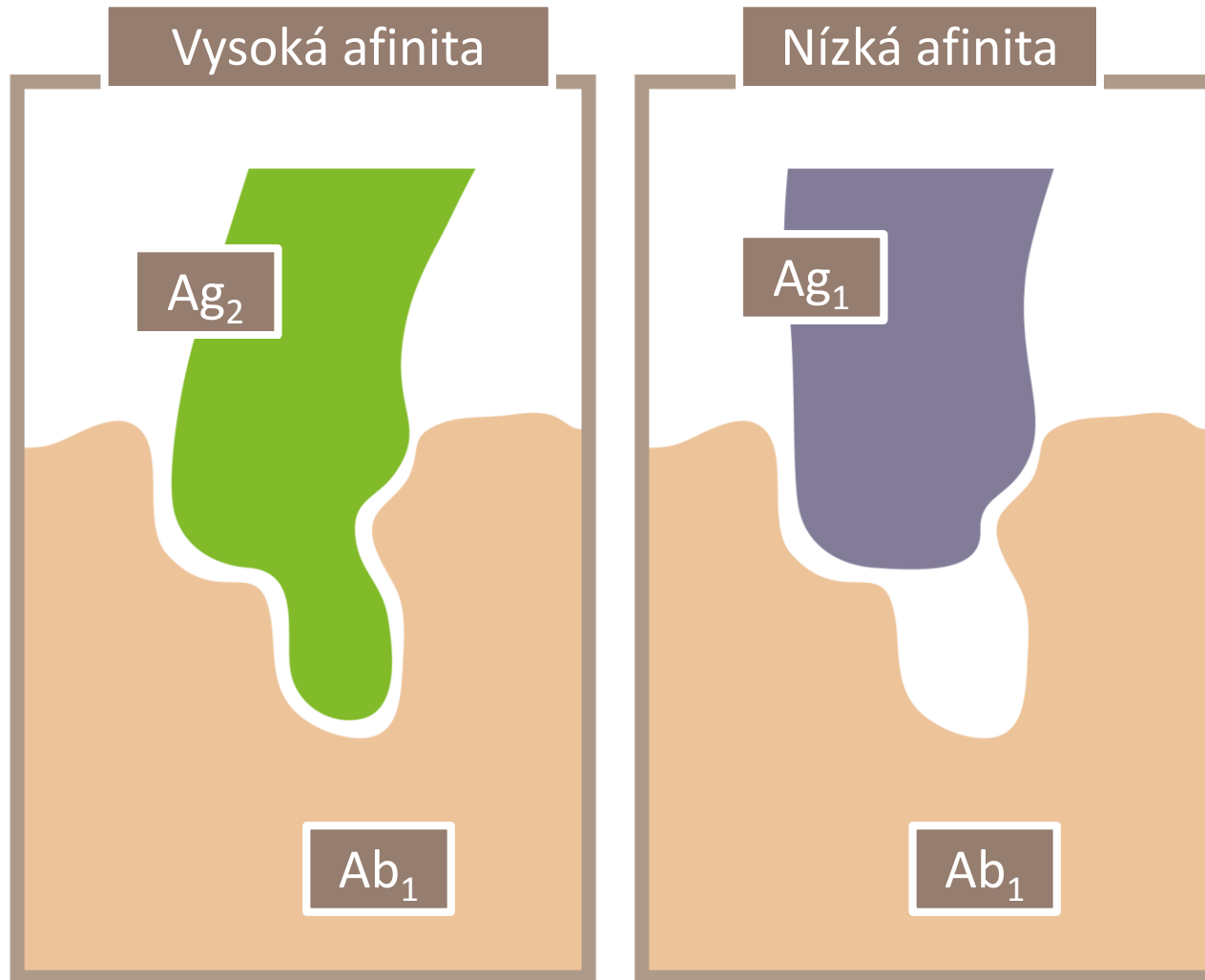




# Zkřížená reaktivita antigenů

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

# Zkřížená reaktivita antigenů



# Imunitní systém

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

# Základ imunitního systému

- Lymfatická tkáň a lymfatické orgány
- Buňky imunitního systému

# Složky imunitního systému

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

# Mízní cévy

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

# Míza, lymfa

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

# Míza, lymfa

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



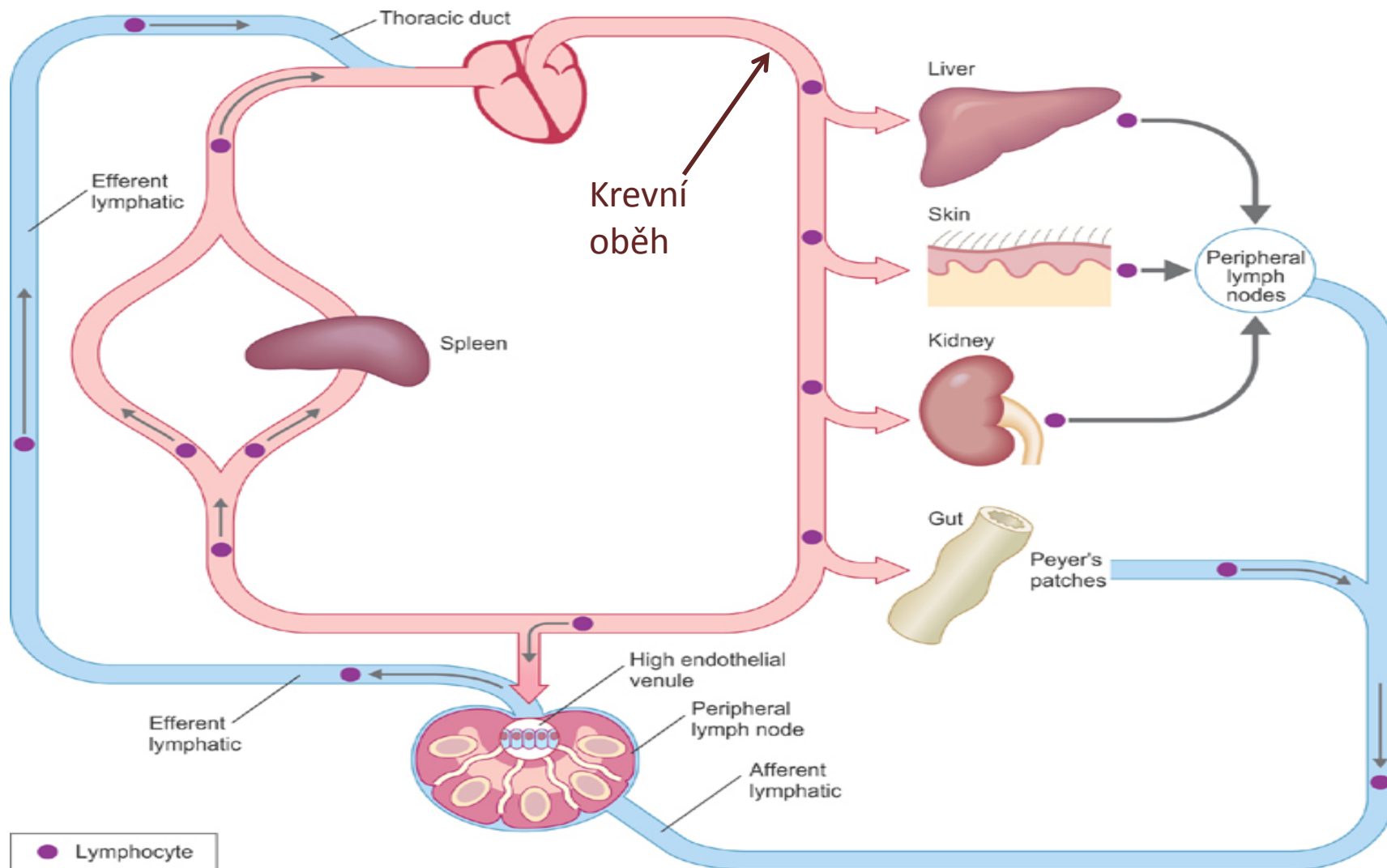
# Složení lymfy

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

# Složení lymfy

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

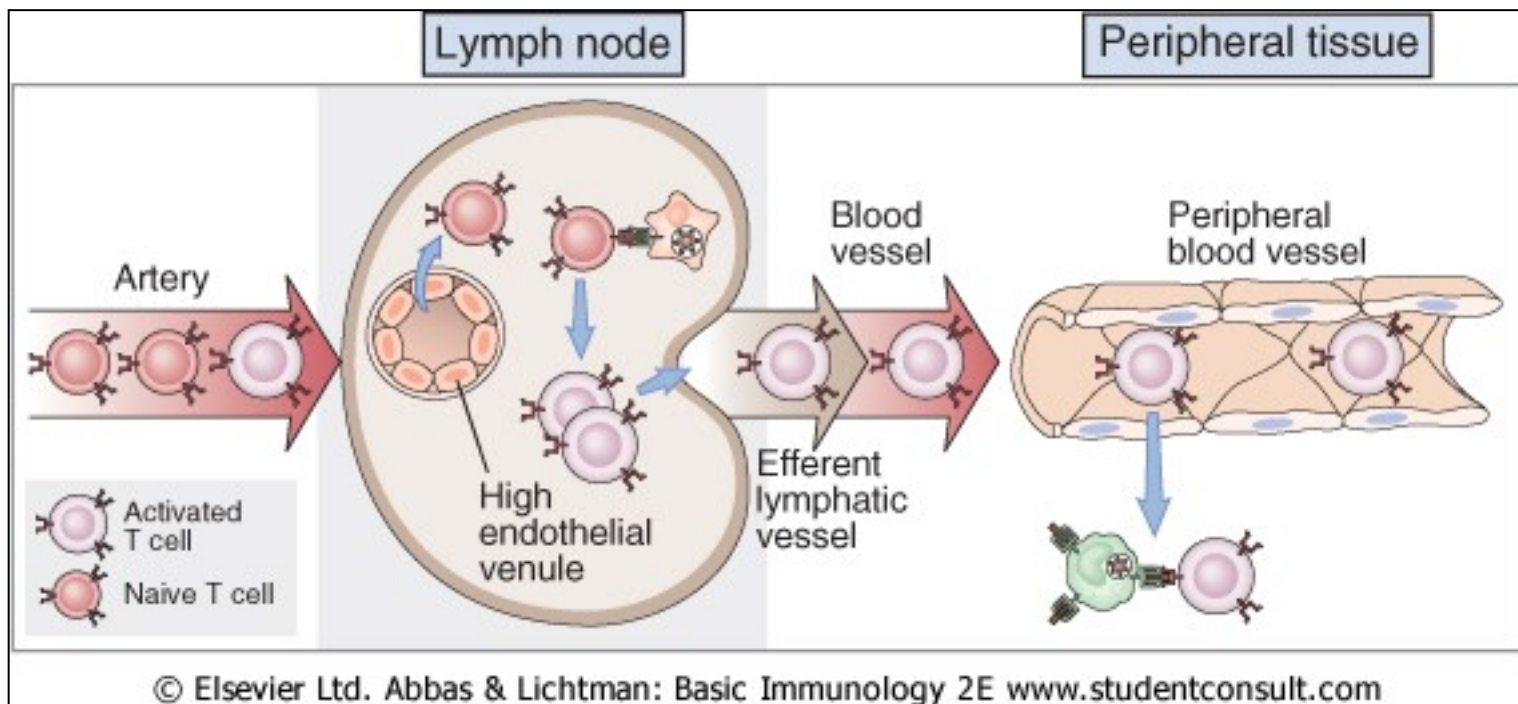
# Cesty lymfocytů v těle



# High endothelial venules

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

# Cirkulace lymfocytů



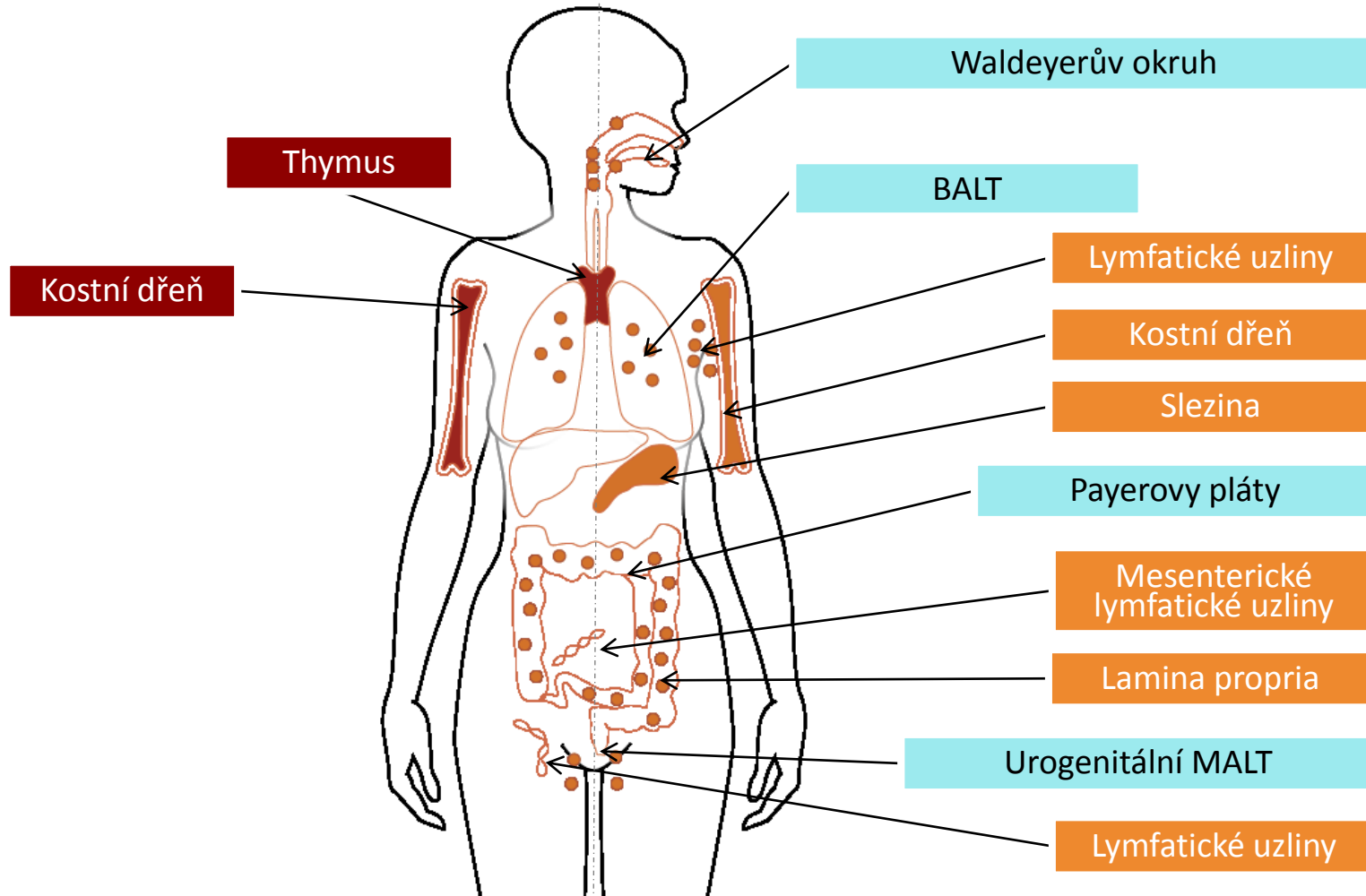
# Lymfatické orgány

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

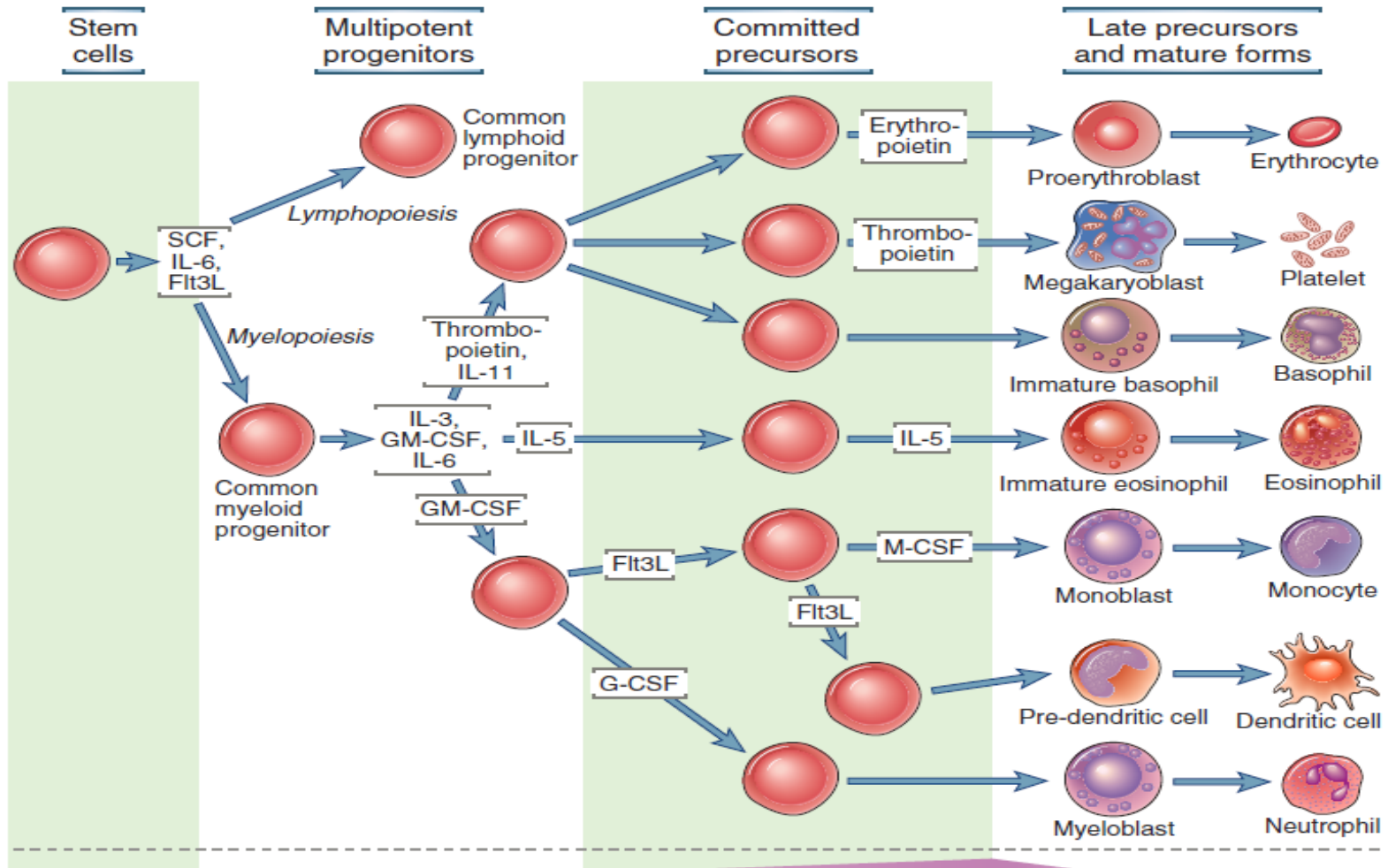
# Primární a sekundární lymfatické orgány

## Primární lymfatické orgány

## Sekundární lymfatické orgány



# Kostní dřeň - hematopoeza



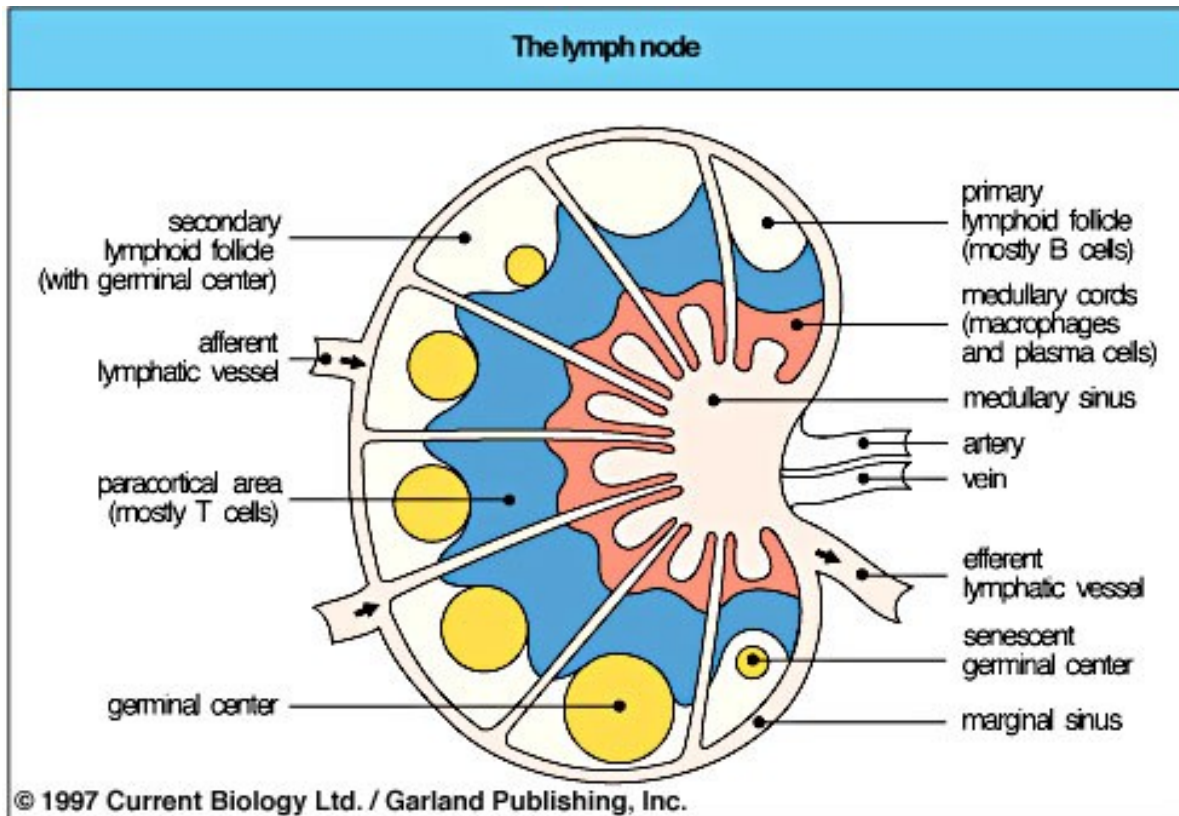


# Propojení lymfatických orgánů

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

# Lymfatická uzlina

Místo, kde probíhají specifické imunitní reakce



# Vyšetření lymfatických uzlin

## Zvětšení lymfatických uzlin

v důsledku imunitní reakce na antigen

infiltrace zánětlivými buňkami (lymphadenitis)

infiltrace a proliferace maligních buněk

při imunologických (SLE, RA) a metabolických chorobách

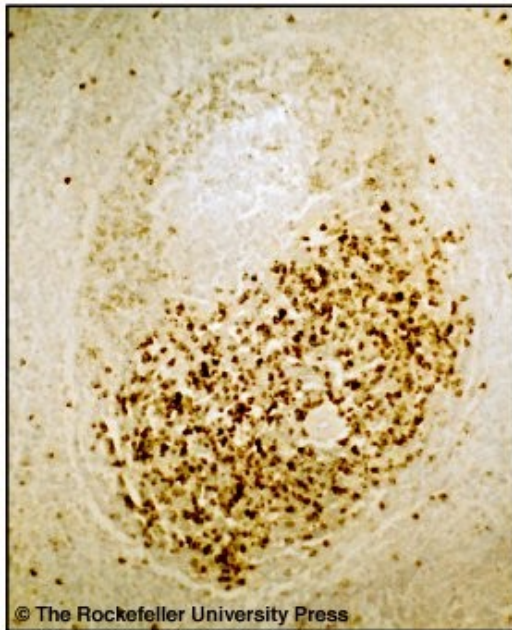
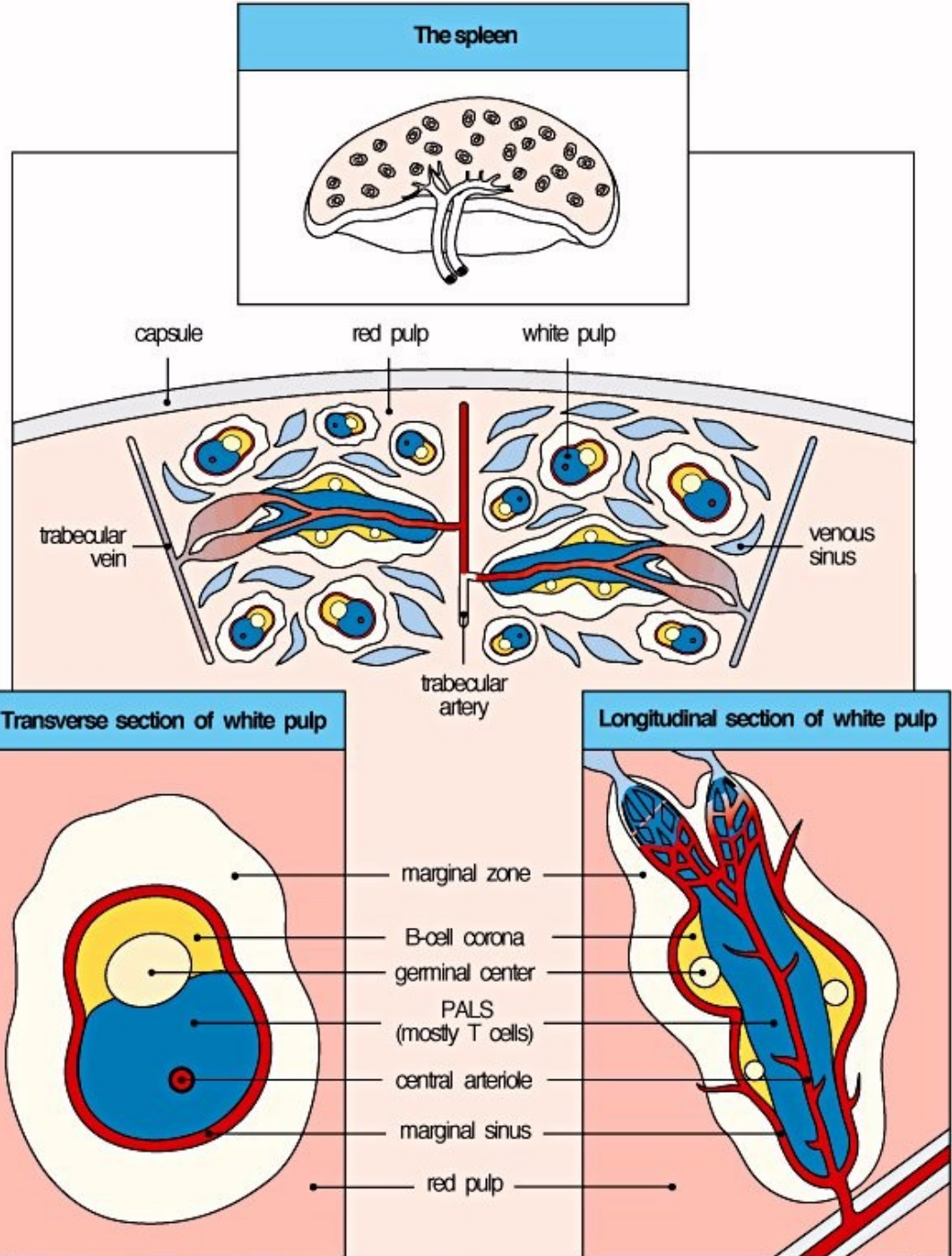
*U zdravých dospělých osob bývají axilární a inguinální uzliny hmatné (v průměru 1 cm).*

*V dětství je reakce lymfatických uzlin běžná.*

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

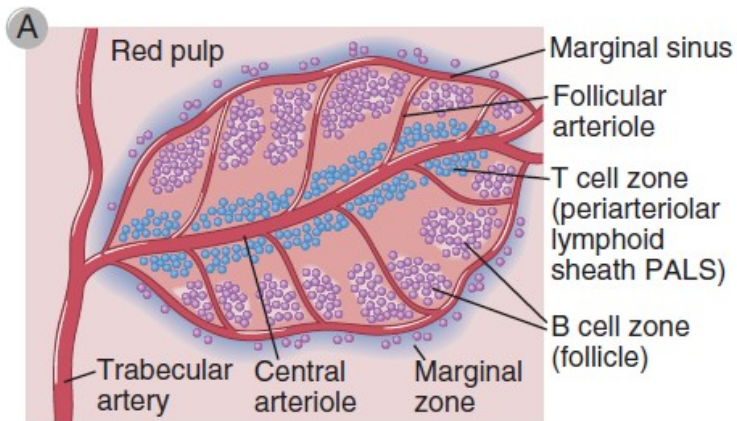
*Diagnostický význam při infekci HIV*

# Slezina



# Slezina

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





# Vyšetření sleziny

U zdravých osob slezinu nenahmatáme

Hyposplenismus: vrozená asplenie

stavy po splenektomii

*Význam vakcinace proti pneumokokům!*

Splenomegalie:

hyperplasie buněk imunitního systému (infekce)

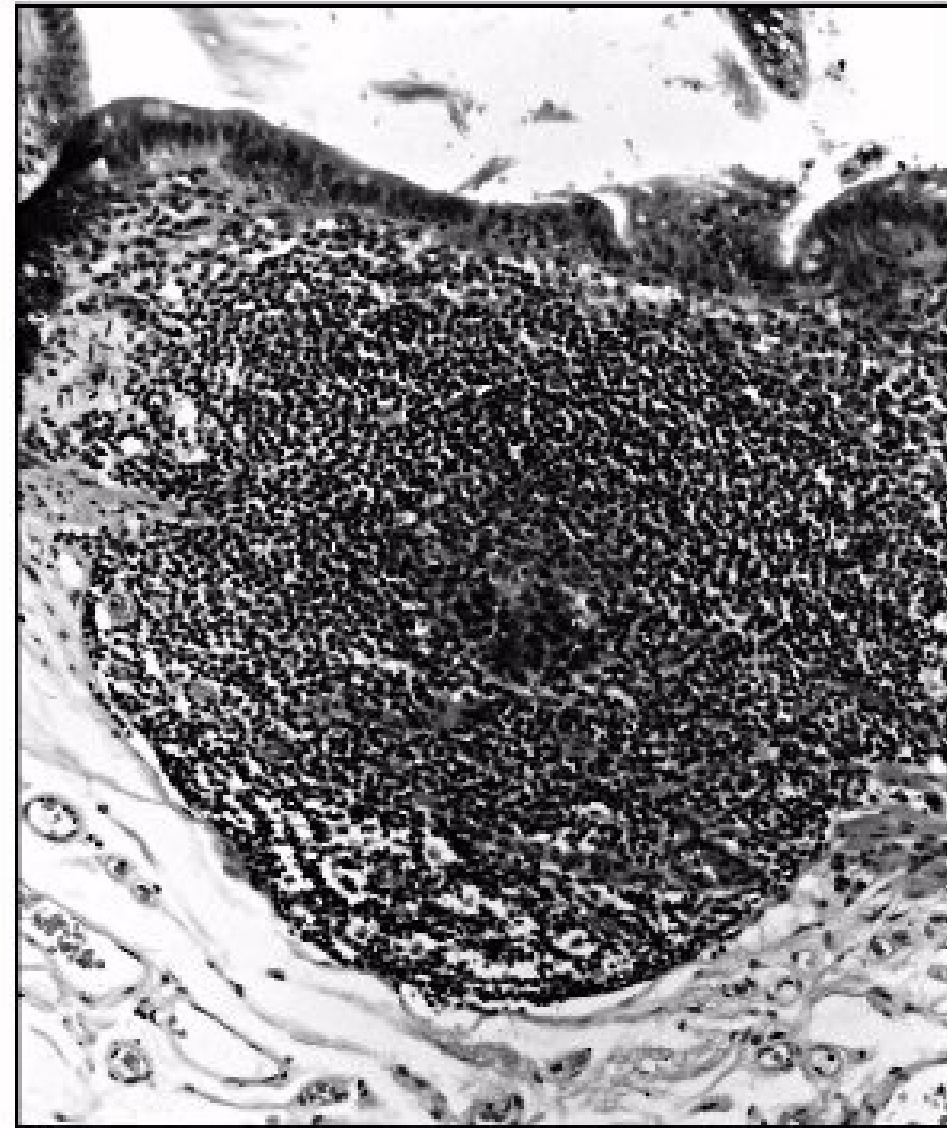
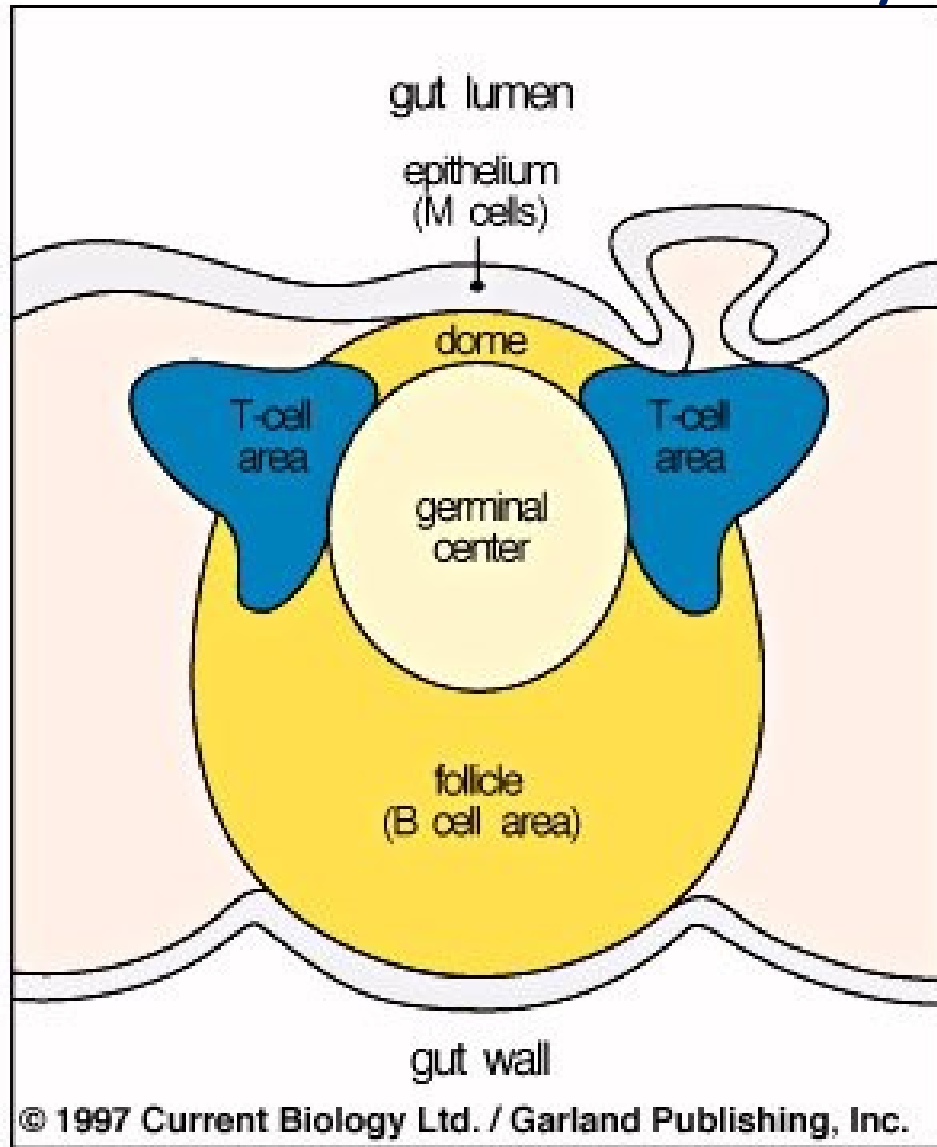
porušení průtoku krve (cirhóza jater, trombózy)

maligní procesy (primární i sekundární)

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

extramedulární hematopoéza

# Mucosa-associated lymphoid tissues (MALT)



# IMUNITA

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

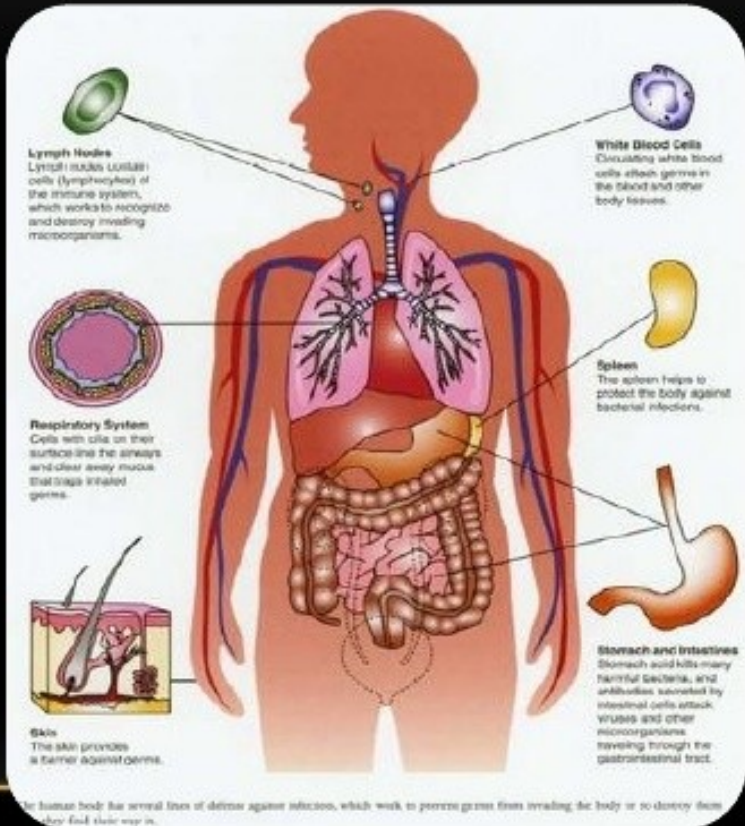
---

*Adaptivní = vzniklý adaptací*



# THE IMMUNE SYSTEM

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

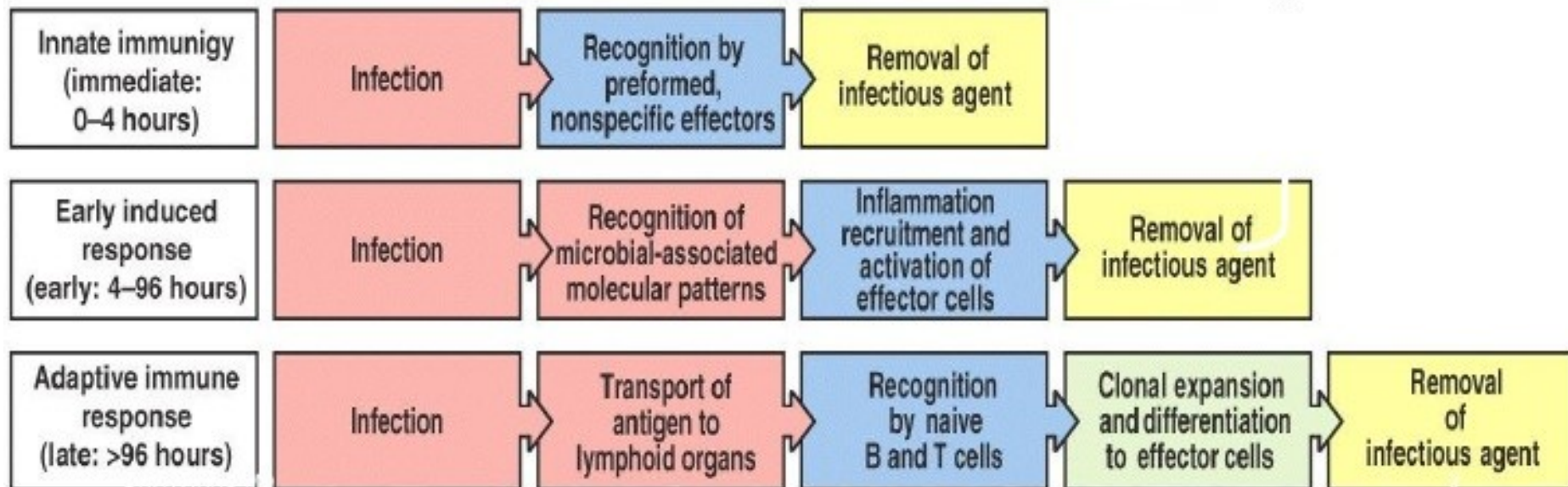


# IMUNITA VROZENÁ

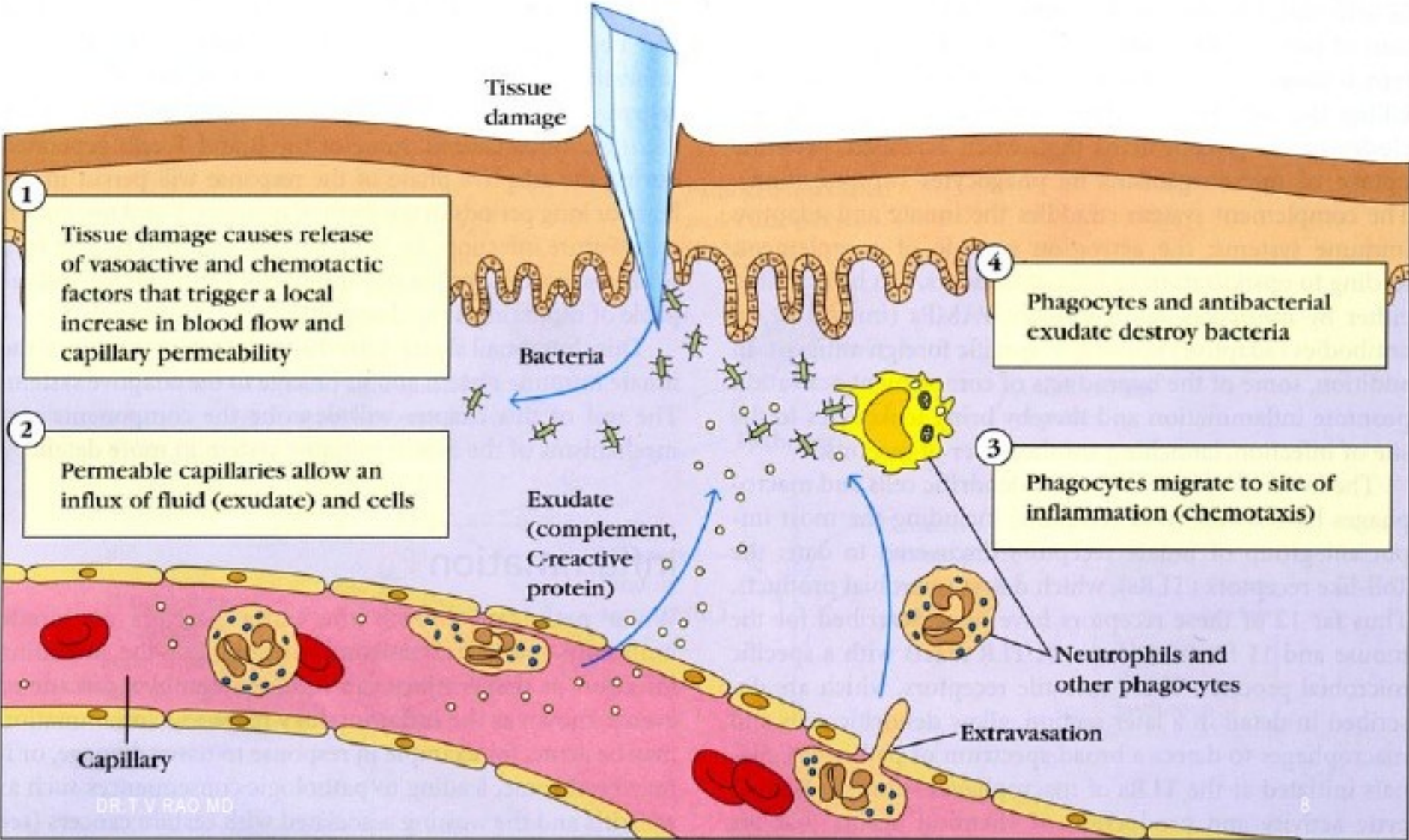
# Innate Immunity- First Line of Defense

## Characteristics:

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







# Vrozená imunita

## Fyzikální bariéry

Kůže

Sliznice

Respirační trakt

Močový trakt

# Vrozená imunita

## Chemické bariéry

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

mikrobicidní substance

(lysozym, defensiny, cathelicidiny...)

# Vrozená imunita

## Biologické bariéry

Mikroorganismy fyziologické mikroflóry  
(komensální mikroorganismy)

# Vrozená imunita

## Celulární složky

Epitelové a endotelové buňky, erytrocyty, destičky

Mastocyty, eosinofily, basofily

**NK buňky** (natural killer cells)

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

**Dendritické buňky** (buňky prezentující antigeny)



# The Innate Immune System composed of ?

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

# Vrozená imunita: charakteristické rysy

## Specifičnost:

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

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

# PAMP „ Pathogen Associated Molecular Pattern“

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

# DAMP „Damage Associated Molecular Patterns“

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

# PAMPs and DAMPs

<b>TABLE 4–2 Examples of PAMPs and DAMPs</b>		
<b>Pathogen-Associated Molecular Patterns</b>		<b>Microbe Type</b>
Nucleic acids	ssRNA dsRNA CpG	Virus Virus Virus, bacteria
Proteins	Pilin Flagellin	Bacteria Bacteria
Cell wall lipids	LPS Lipoteichoic acid	Gram-negative bacteria Gram-positive bacteria
Carbohydrates	Mannan Dectin glucans	Fungi, bacteria Fungi
<b>Damage-Associated Molecular Patterns</b>		
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.*

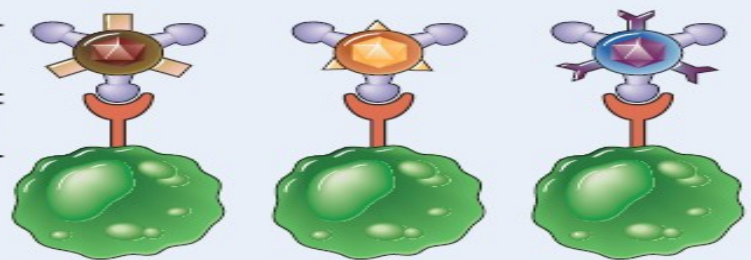
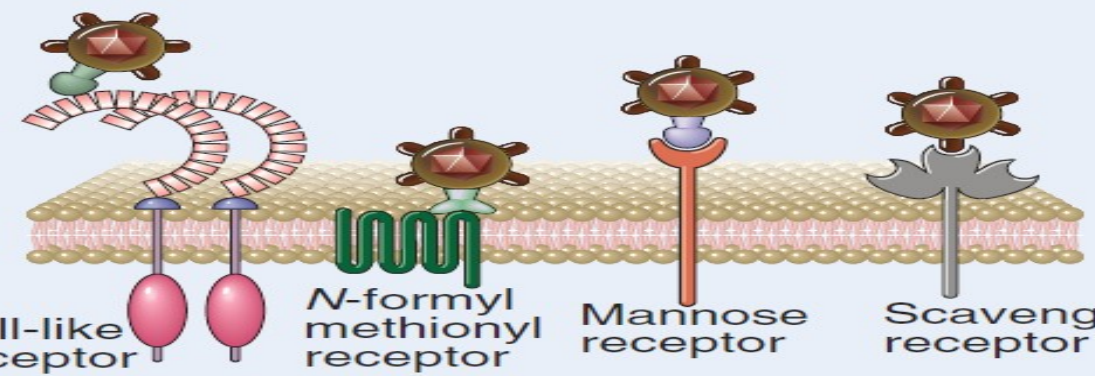
Kromě součástí mikroorganismů poznává vrozený imunitní systém také alterované buňky hostitele (prostřednictvím např. heat shock proteinů, membránových fosfolipidů, MHC)

# PRR- Pattern Recognition Receptors

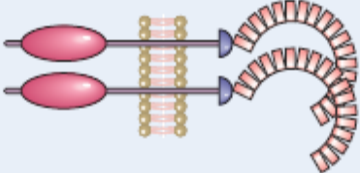


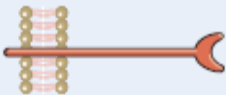
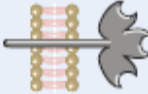

- Identifikace PAMP a solubilních složek imunity
- Exprese receptorů není klonální – receptory přítomné na stejném typu buněk mají stejnou identitu
- Připraveny okamžitě reagovat – není potřeba proliferace – rychlá odpověď
- Schopny diskriminace mezi patogenními a nepatogenními mikroorganismy



# 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

$\beta$ -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 $\alpha$ )
- **NLR** (Nod-like receptors): např. NOD2, NALP3
  - v cytoplasmě, složky inflamasomů
- **CLR** (C-type lectin receptor)
  - poznávají nekrotické buňky, manosové zbytky

# Innate Immune Receptors

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

# Vrozená imunita: charakteristické rysy

## Autoreaktivita:

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

## Paměť:

Po reakci na cizorodý podnět nevzniká.

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

# Mastocyty

Lokalizovány perivaskulárně a v blízkosti neuronů

Dlouhožijící buňky

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

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

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

Účast v reparačních procesech

**Jsou jednou z nejvýznamnějších součástí vrozených obranných imunitních mechanismů.**

# Celulární složky vrozené imunity



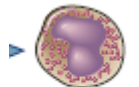
Erythrocyte

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



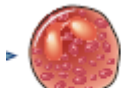
Platelet

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



Basophil

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



Eosinophil

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



# NK (Natural Killer) buňky

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

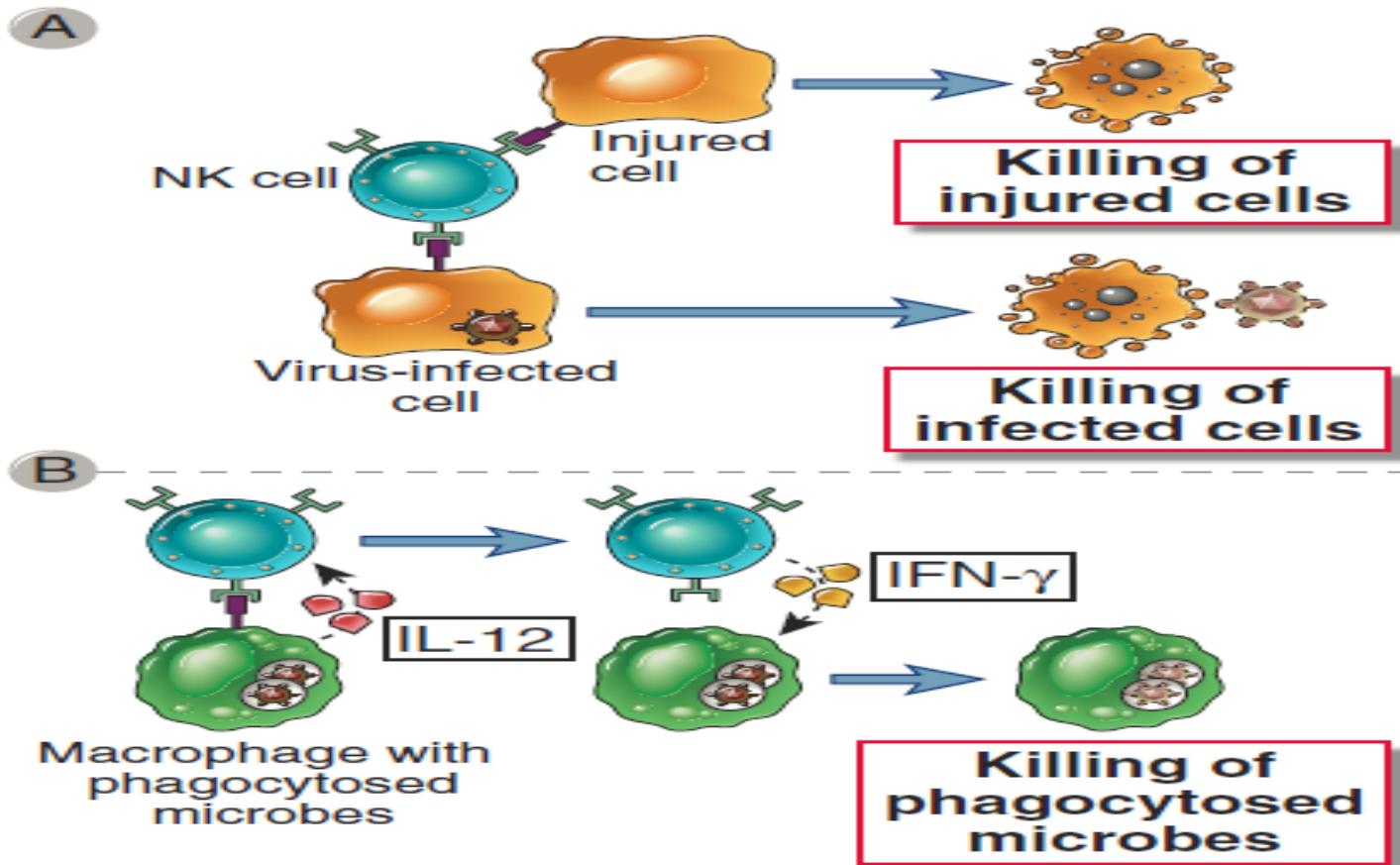
specializují se na zabíjení abnormálních vlastních buněk organismu nápadných nízkou expresí MHC molekul (např. infikovaných viry, intracelulárními bakteriemi, nádorové buňky)

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

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

ovlivňují vrozenou i adaptivní imunitu svými cytokiny, především IFN $\gamma$  a TNF $\alpha$

# Funkce NK buněk



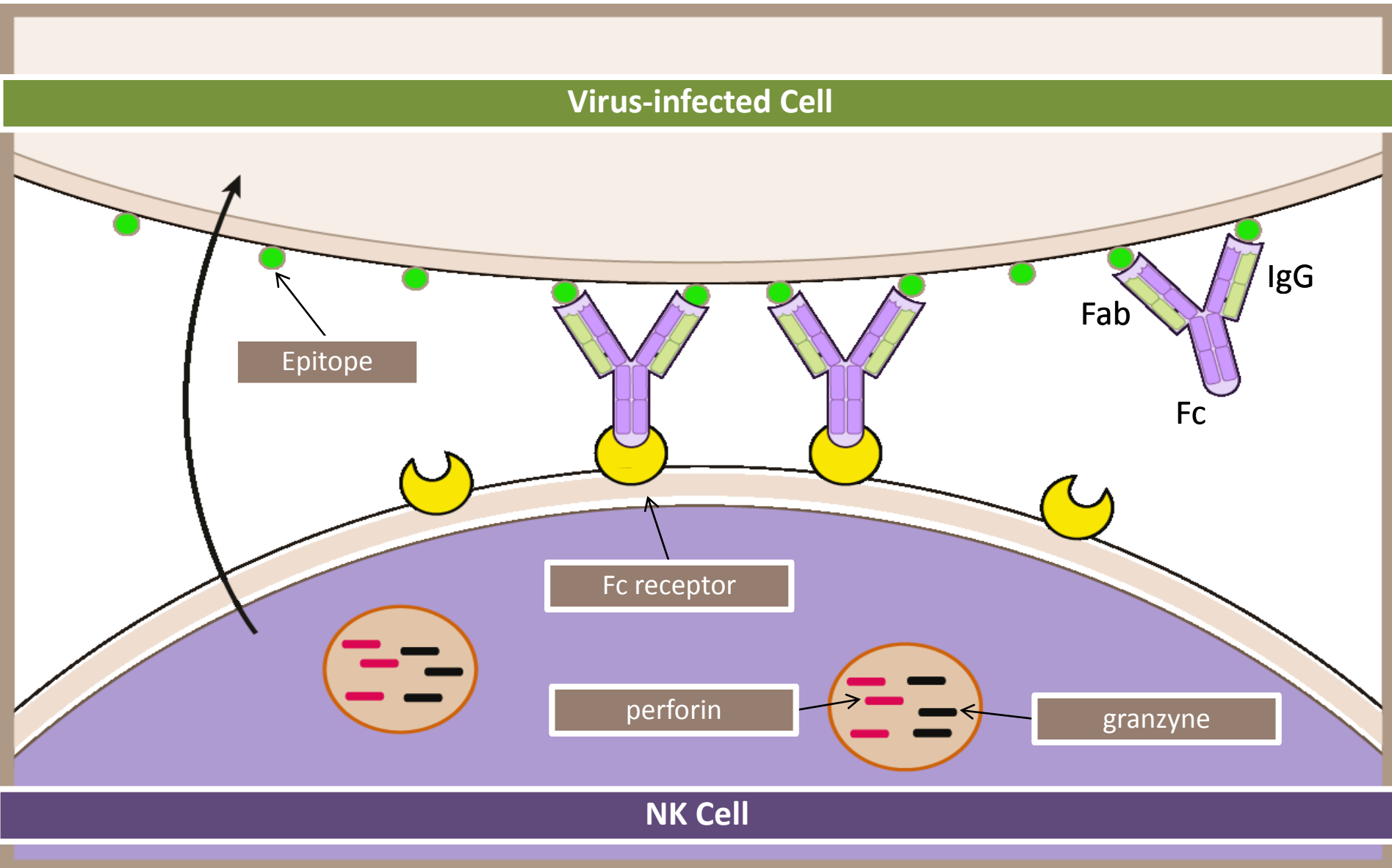
# Buňky NK

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

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

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

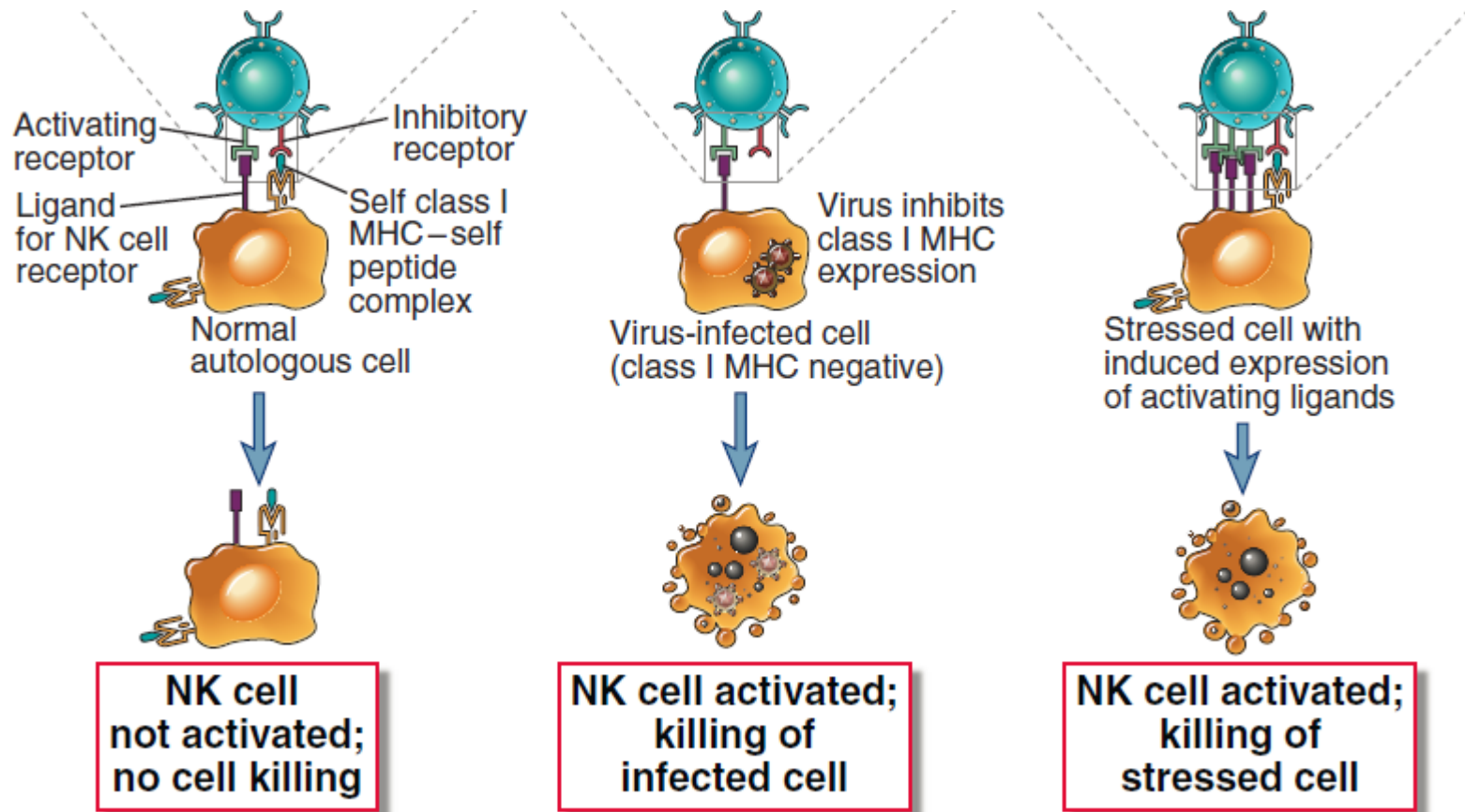
# Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



# Interferony (IFN)

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

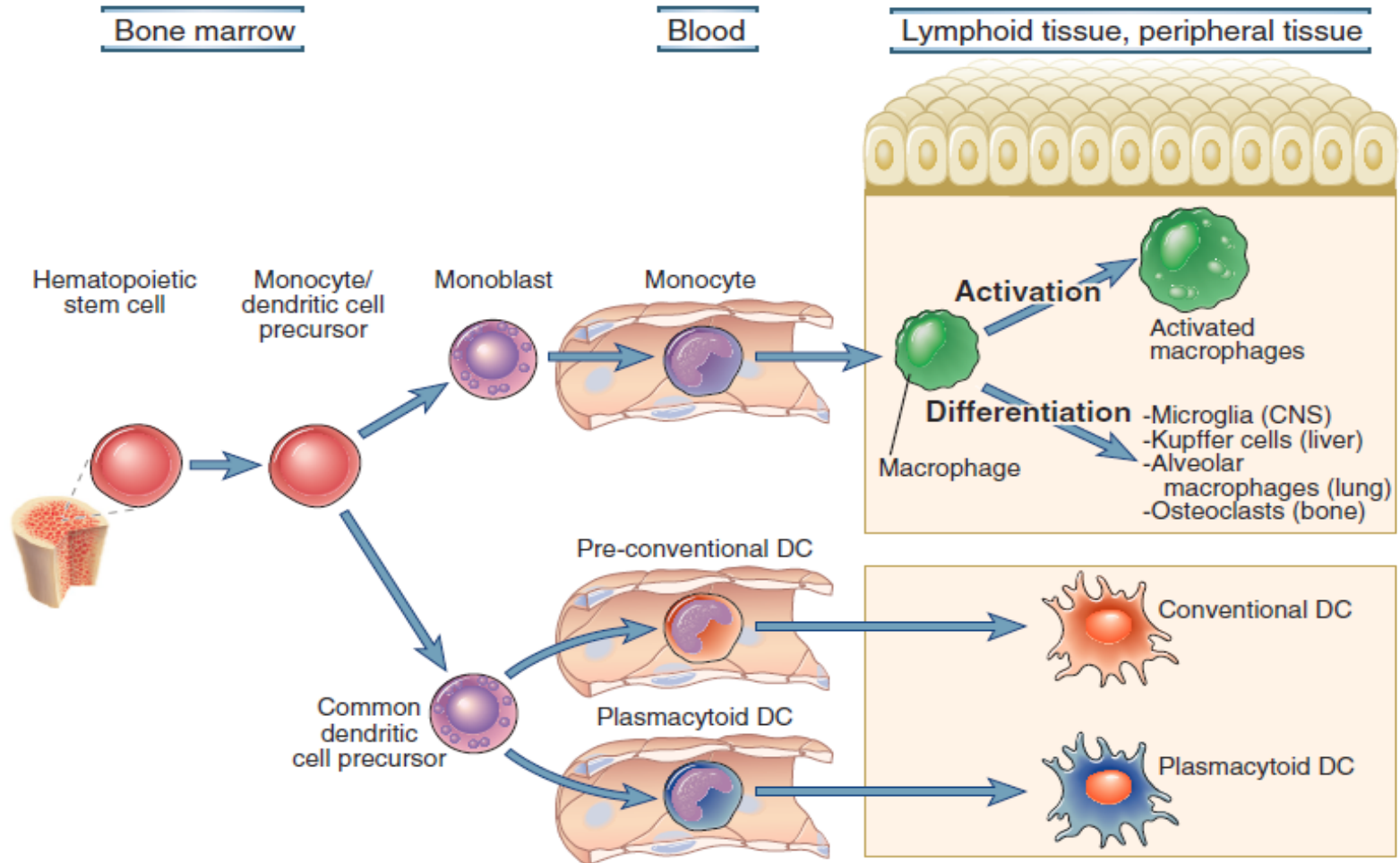
# Reakce NK buněk



# Buňky NKT

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

# Buňky imunitního systému – monocyty, makrofágy, dendritické buňky





# PROFESIONÁLNÍ FAGOCYTY

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

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

# Fagocytóza

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

# Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

## 1. závislý na kyslíku

Reaktivní metabolity kyslíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HOCl}^-$ , hydroxylový radikál, superoxidový aniont, singletový kyslík( $\text{O}_2$ ))

Reaktivní dusíkové metabolity ( $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ )

Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy, RNAsy

## 2. nezávislý na kyslíku

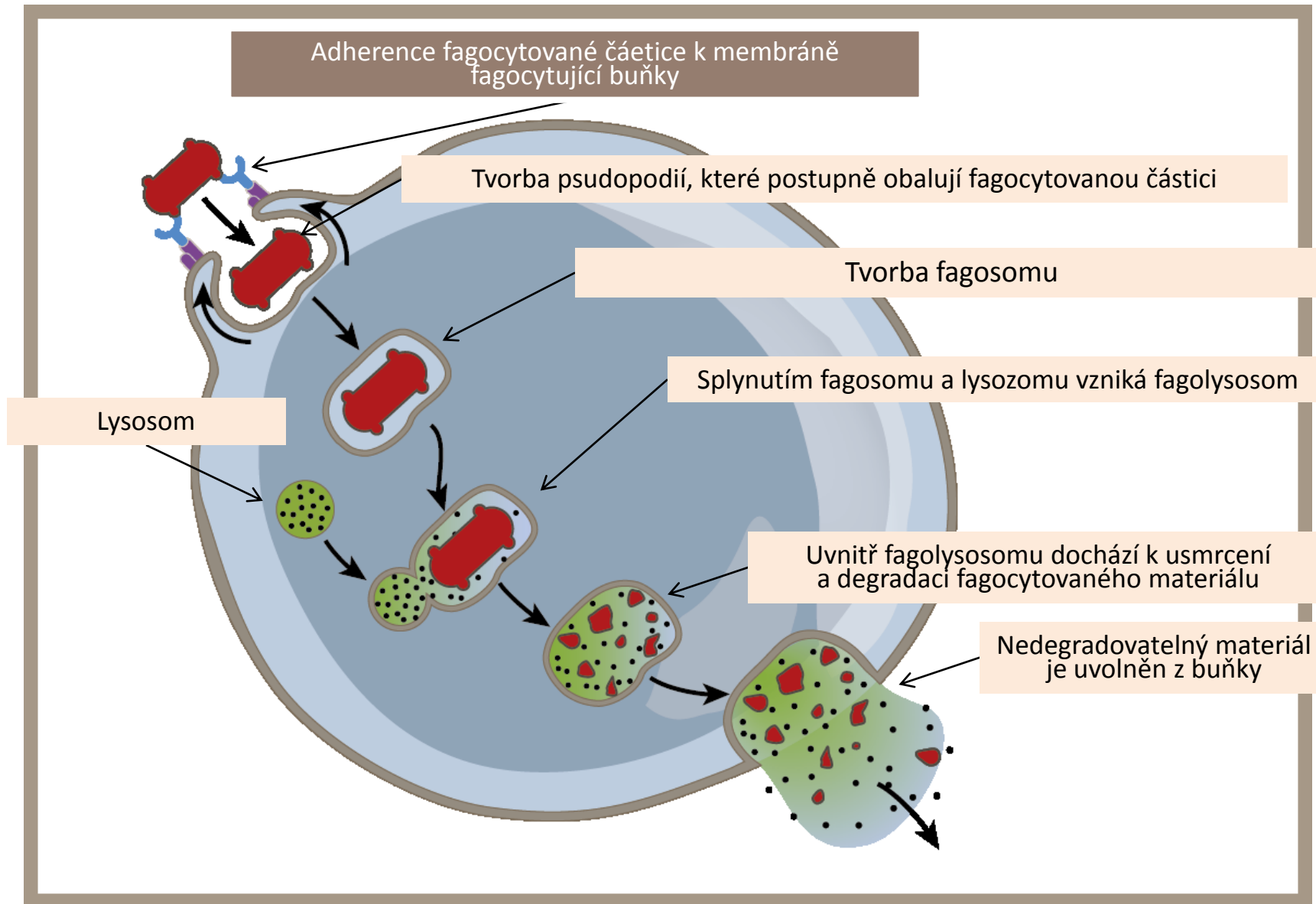
Nízké pH

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  $\beta$ 2-integrinů

Komplexní vyšetření: mikrobicidie

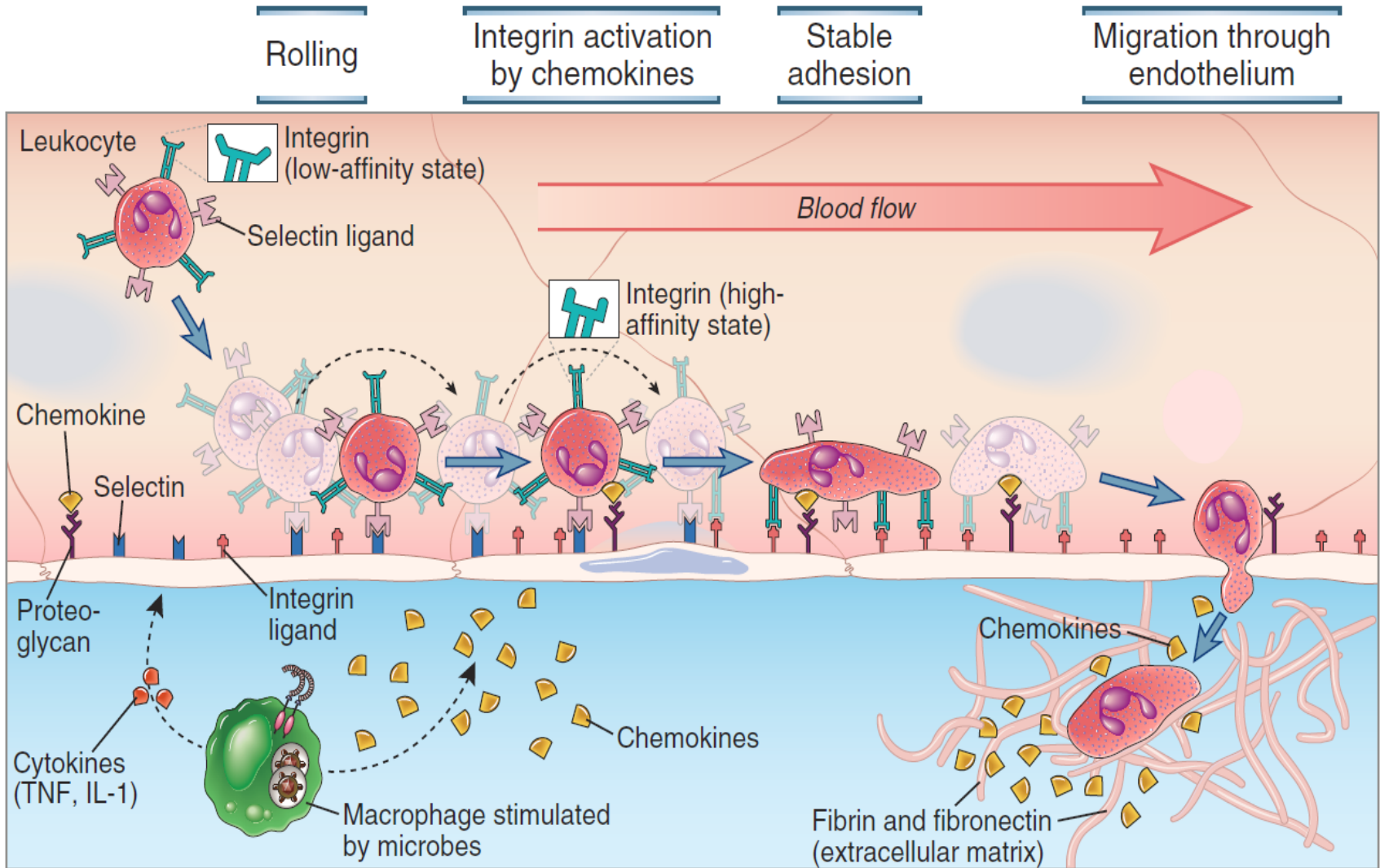
# Indikace k vyšetření fagocytárních schopností granulocytů

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

# Deficit leukocytárních integrinů (LAD-I)

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

# Cesta leukocytů do místa zánětu

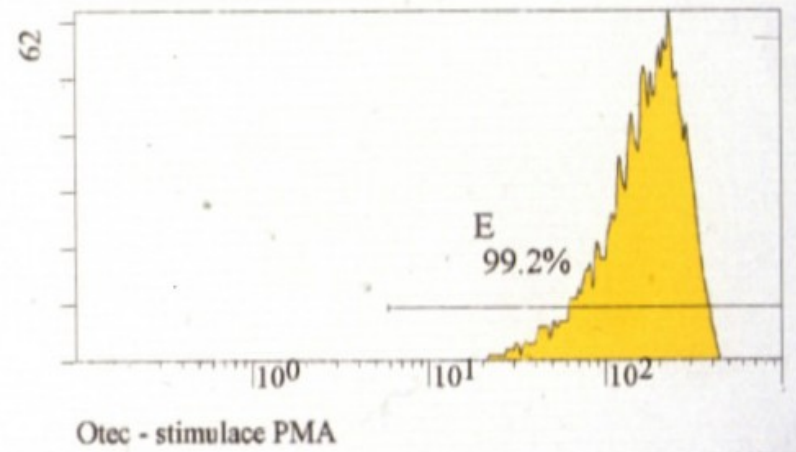
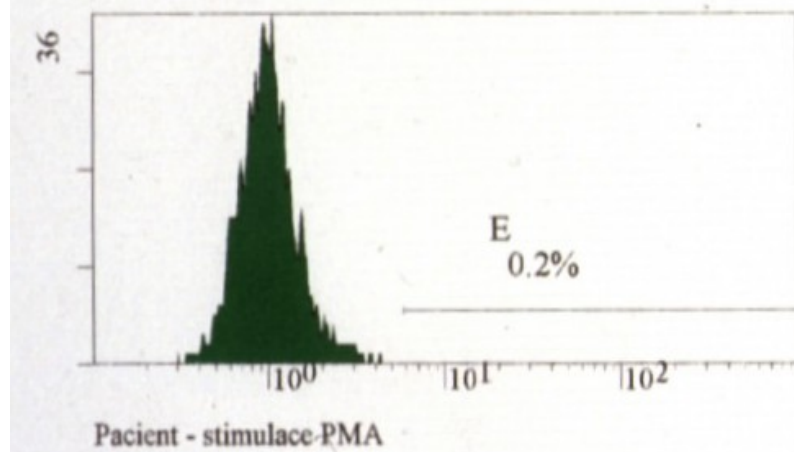
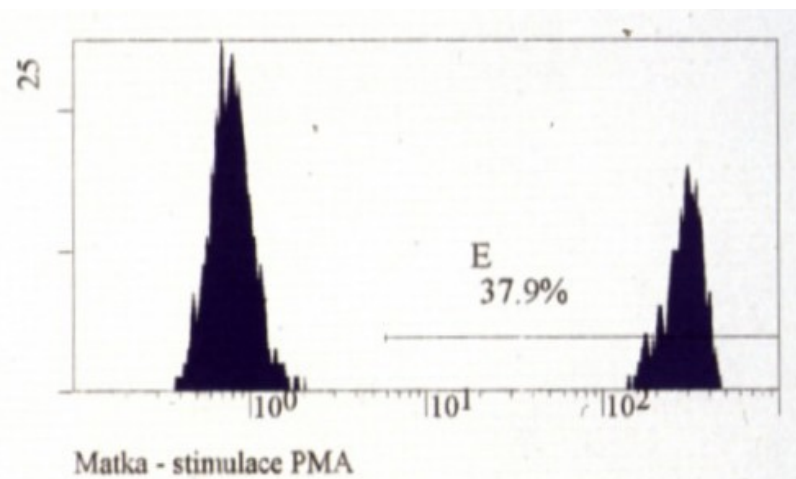
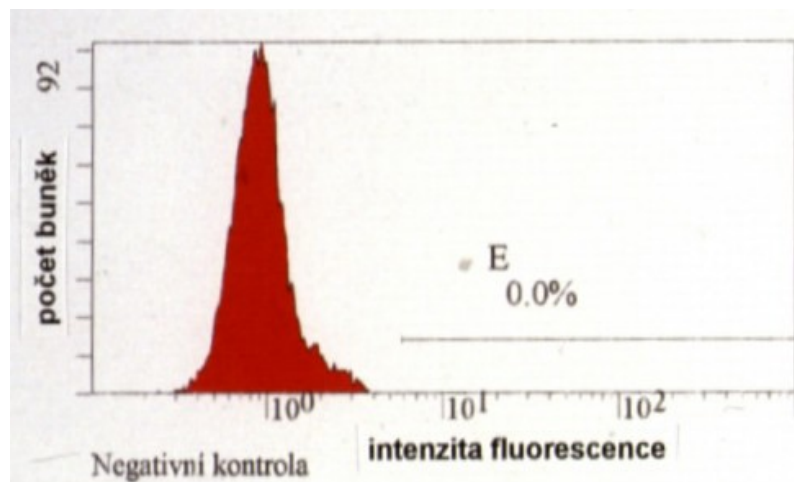




# Chronická granulomatózní choroba

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

# Chronic Granulomatous Disease (X-linked)



# Vrozená imunita

## Humorální složky

Mikrobicidní faktory (lysozym, defensiny, katherlicidiny a další)

Histamin, eikosanoidy


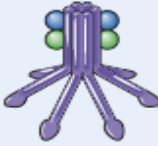


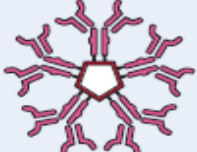
## **Komplementový systém**

Pentraxiny (CRP, SAP, PTX3)

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

Cytokiny (Interferony  $\alpha, \beta, \gamma$ ,  $\text{TNF}\alpha$ , IL-1, IL-6, chemokiny)

# Solubilní PRR

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

# Vrozená imunita

## Humorální složky

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

CRP a SAP – produkovány buňkami jater

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

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

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

Všechny tři aktivují komplement vazbou na složku C1q

# Vrozená imunita

## Humorální složky

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

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

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

Funkce – inhibice růstu bakterií, spolupráce s alveolárními makrofágy

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

Cytokiny (Interferony  $\alpha, \beta, \gamma$ ,  $\text{TNF}\alpha$ , 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*

$\beta$  - defensiny (HBD - 2, HBD - 3)

*keratinocyty*

dermcidiny (DCD)

*ekkrinní potní žlázy*



# Molekuly buněčných interakcí

## Cytokiny

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

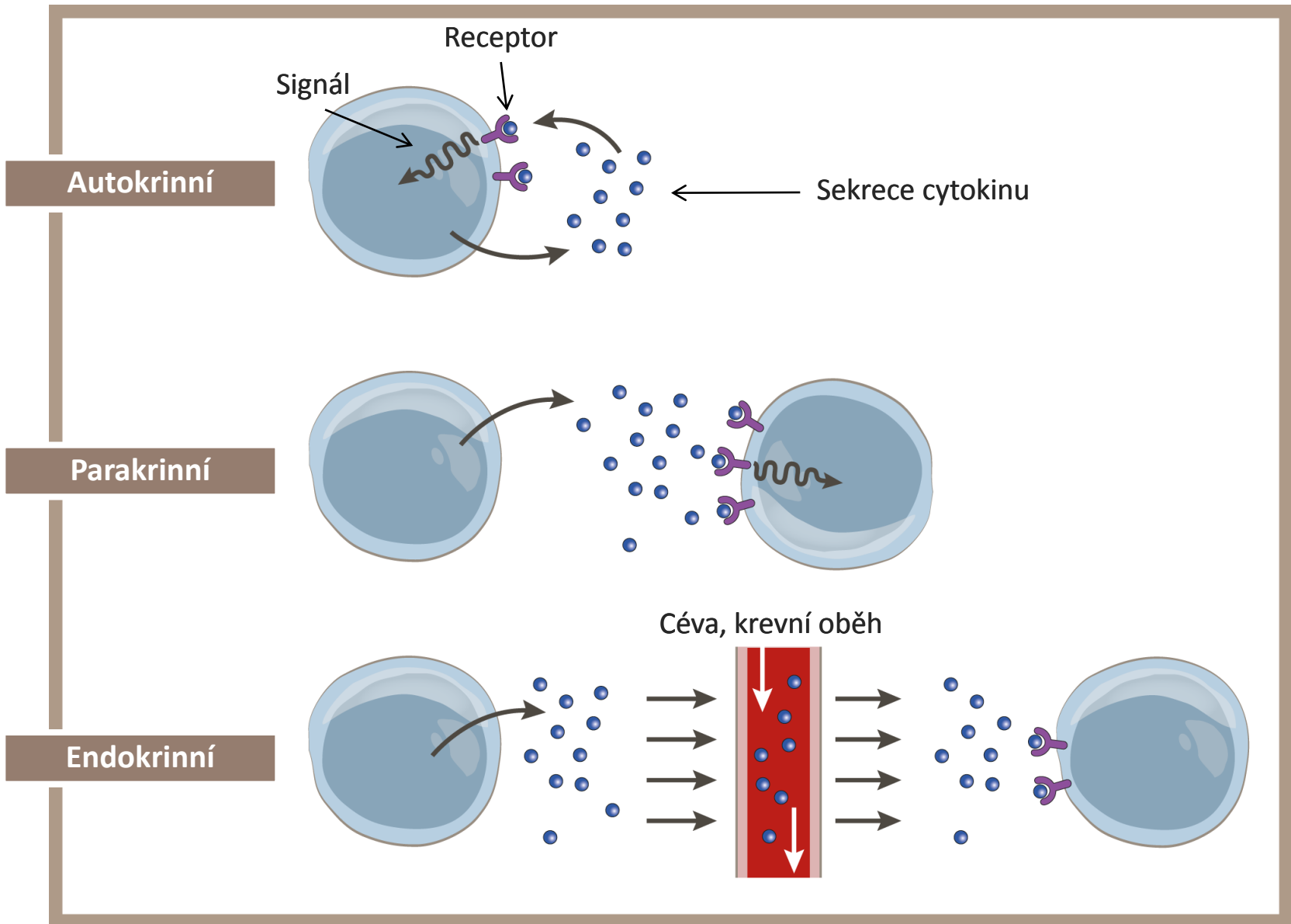
Chemokiny (C, CC, CXC, CX3C)

Adhezivní molekuly: integriny, selektiny, adresiny

# Cytokiny

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

# Schéma typů působení cytokinů na druhé buňky



# Cytokiny

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

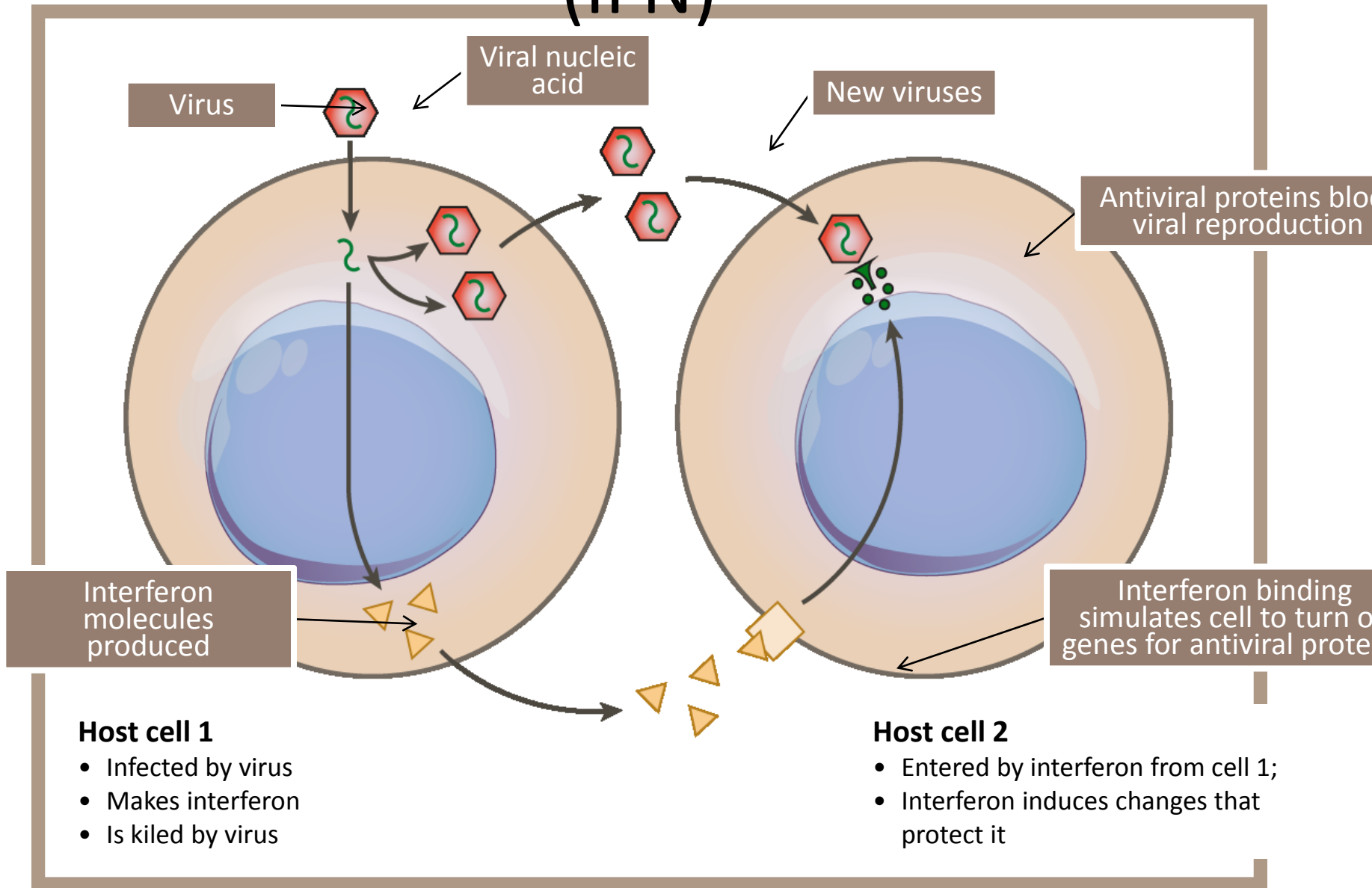
# Funkce cytokinů

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

# Interferony

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

# Mechanismus účinku interferonu (IFN)



# Cytokiny

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



# 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)

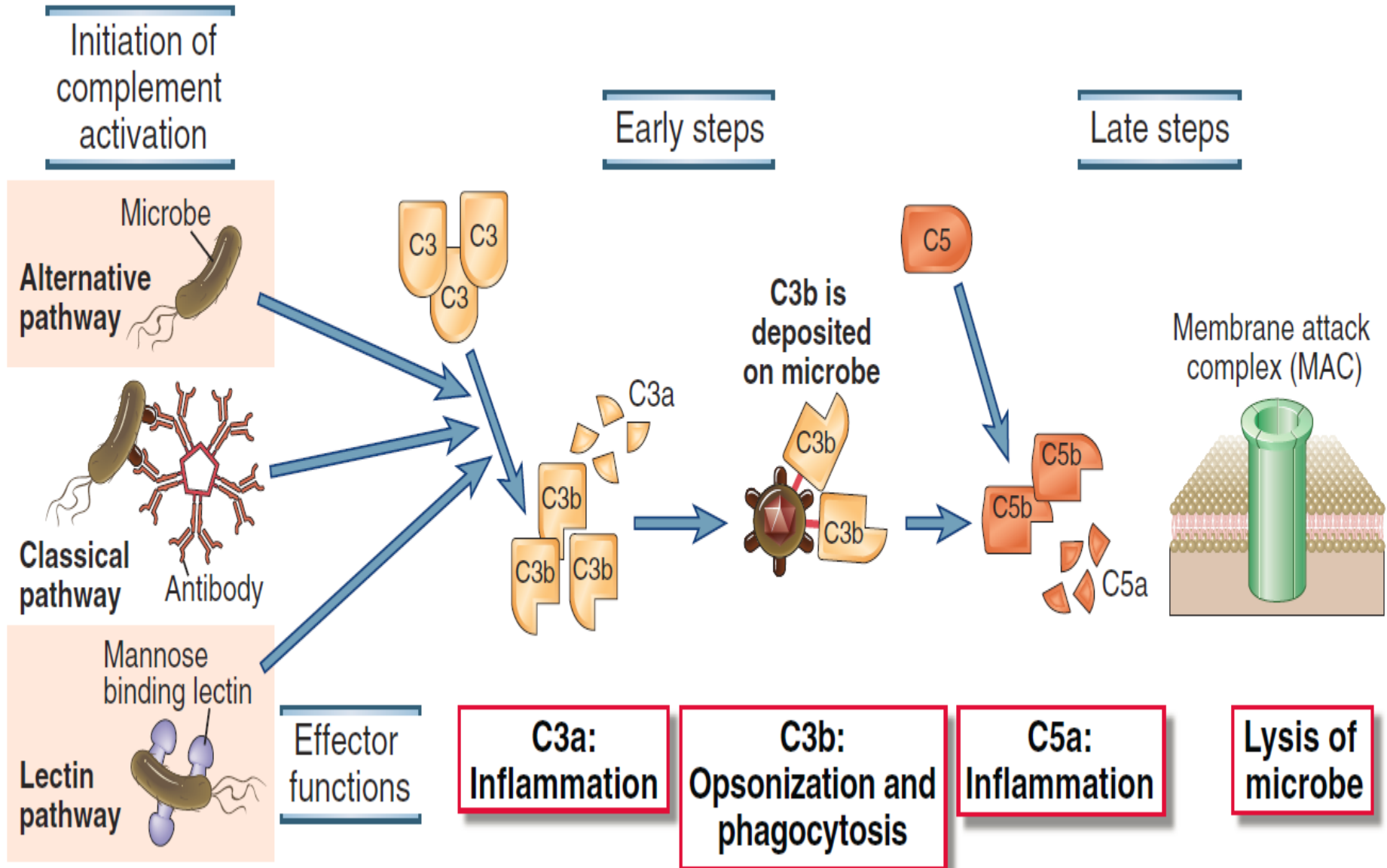
# Komplementový systému

- 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)

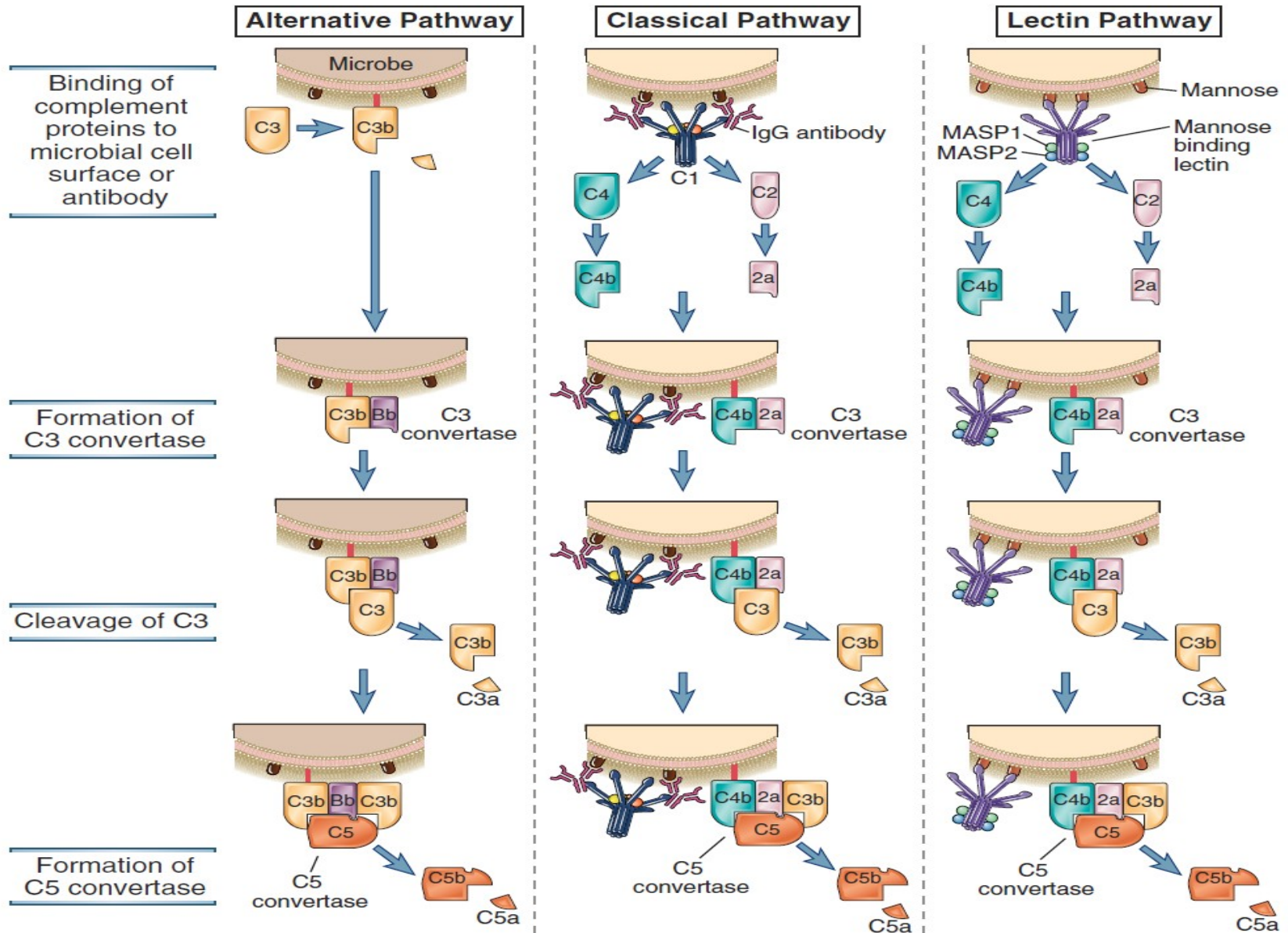
# Aktivace aneb cesty komplementového systému

- ☞ 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

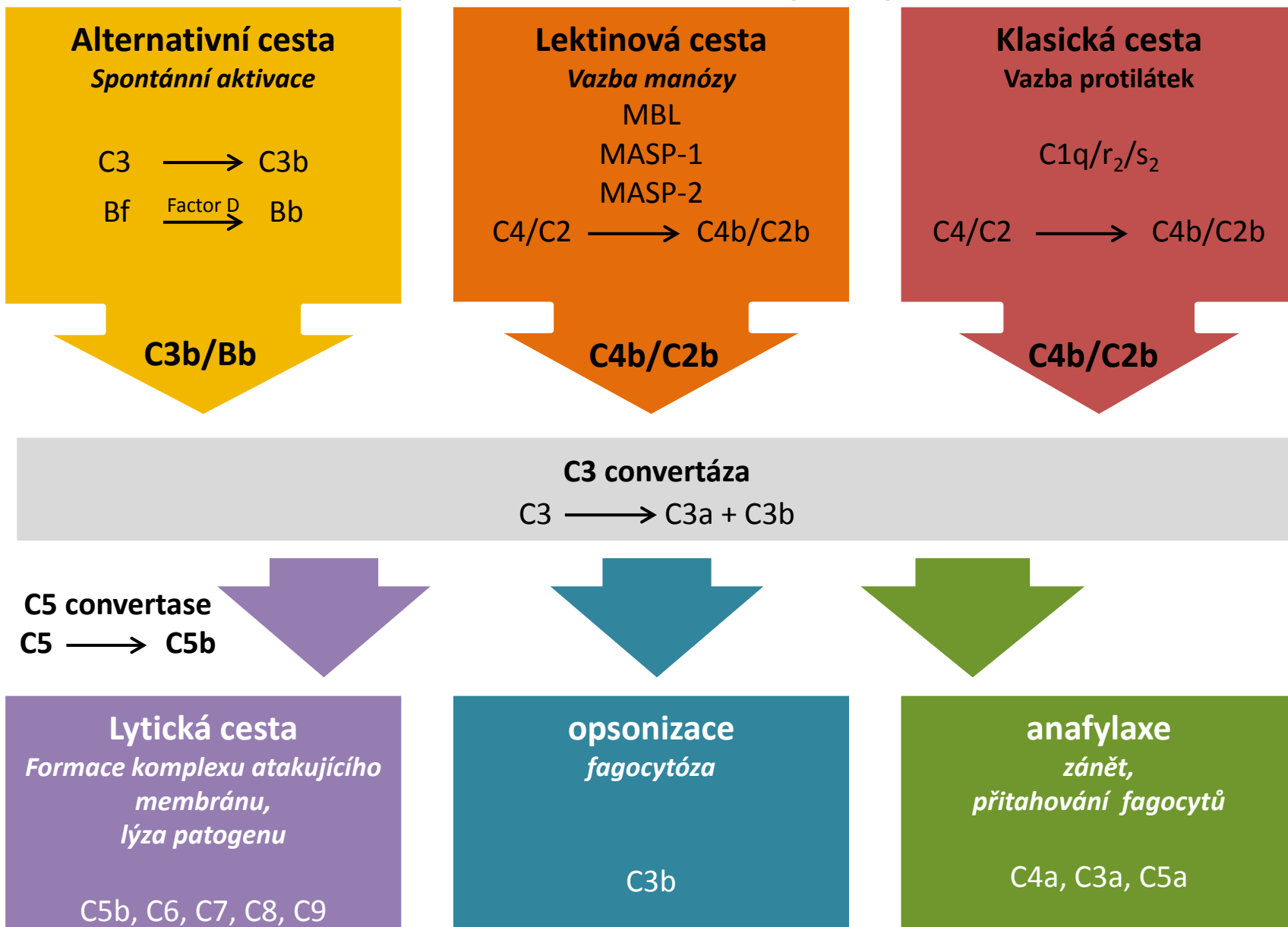
# Aktivace komplementového systému



# 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

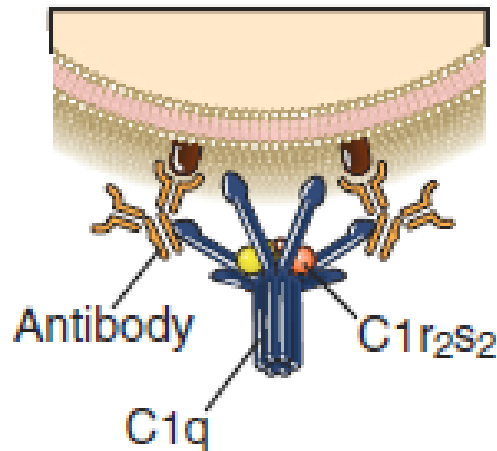
- **C3** (0,7 – 1,5 g/L)
- **C4** (0,1 – 0,4 g/L)
- **C1-INH** (210-390 mg/L); + funkční test
- **C1q** (100-250 mg/L), **C2** (10 – 30 mg/L), **C5** (80 – 170 mg/L)
- **MBL** (0,3 – 3,5 mg/L)

# Lektin vázající manózu (MBL)

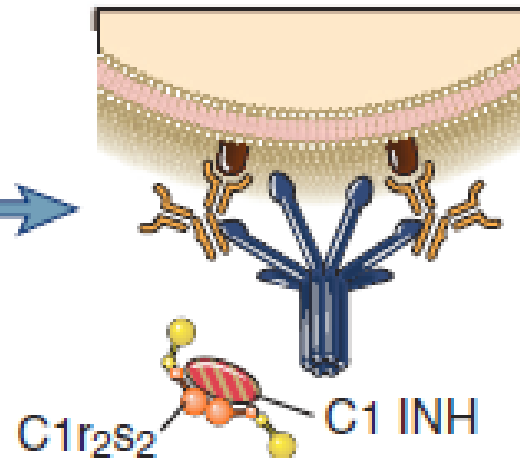
- Po vazbě na manózové zbytky na povrchu bakterií aktivuje C2 a C4.
- Asi u 25% populace lze prokázat heterozygótní deficit.
- Deficit MBL je asociován s vyšší frekvencí banálních infekcí a komplikací při cytostatické léčbě.

# Funkce C1-INH

C1q binds to antigen-complexed antibodies, resulting in activation of C1r<sub>2</sub>s<sub>2</sub>



C1 INH prevents C1r<sub>2</sub>s<sub>2</sub> from becoming proteolytically active



# Hereditární angioedém

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

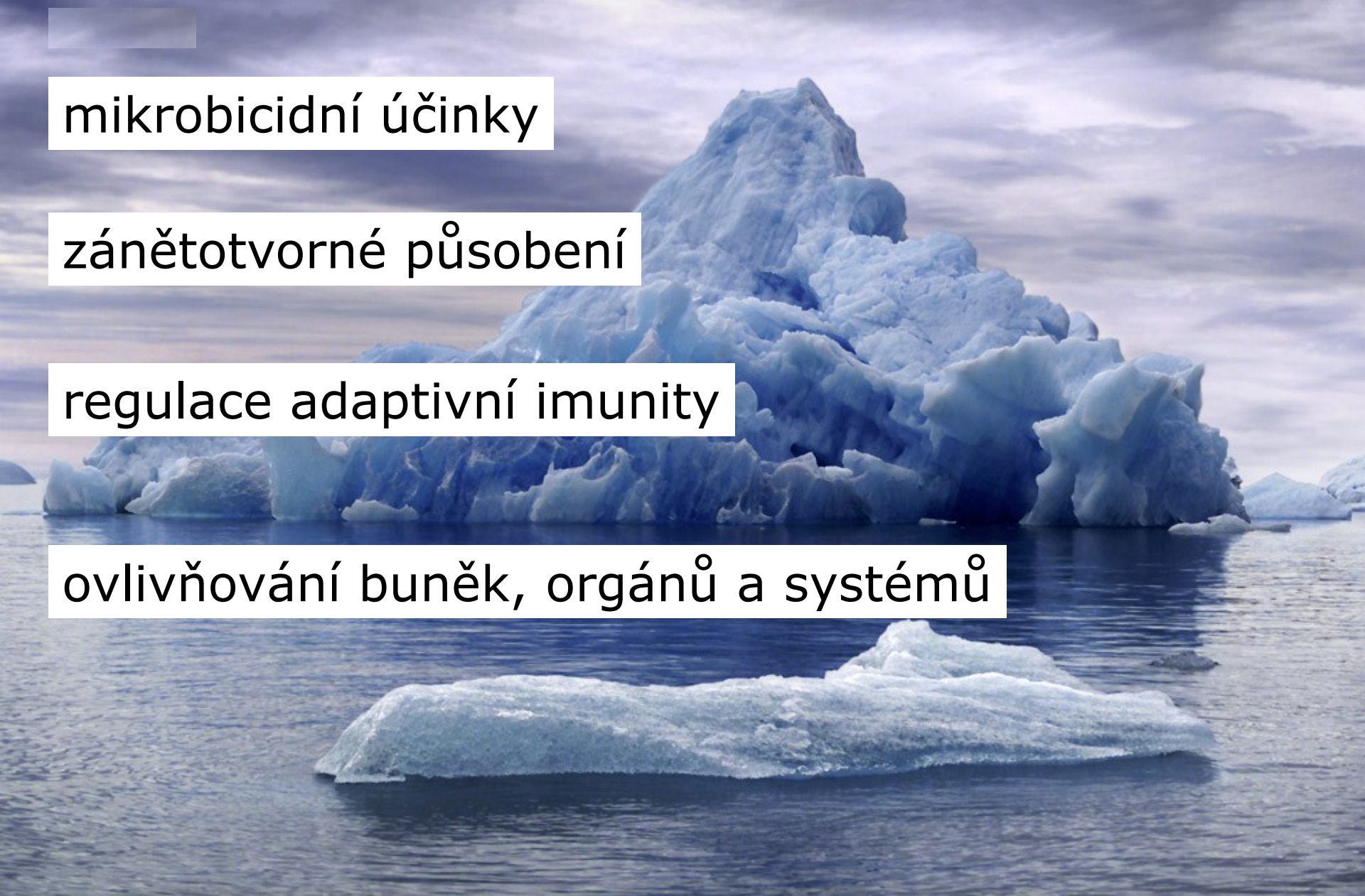
# Komplementový systém je pilířem imunity

mikrobicidní účinky

zánětotvorné působení

regulace adaptivní imunity

ovlivňování buněk, orgánů a systémů



# Zánět

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



# **Zánět- komplexní obranná reakce systému vrozené imunity**

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

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

# Zánět

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

# Dva druhy zánětu

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

# Průběh zánětlivé reakce

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

# Klasické známky zánětu

- Bolest
- Zarudnutí
- Otok
- Horečka

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

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

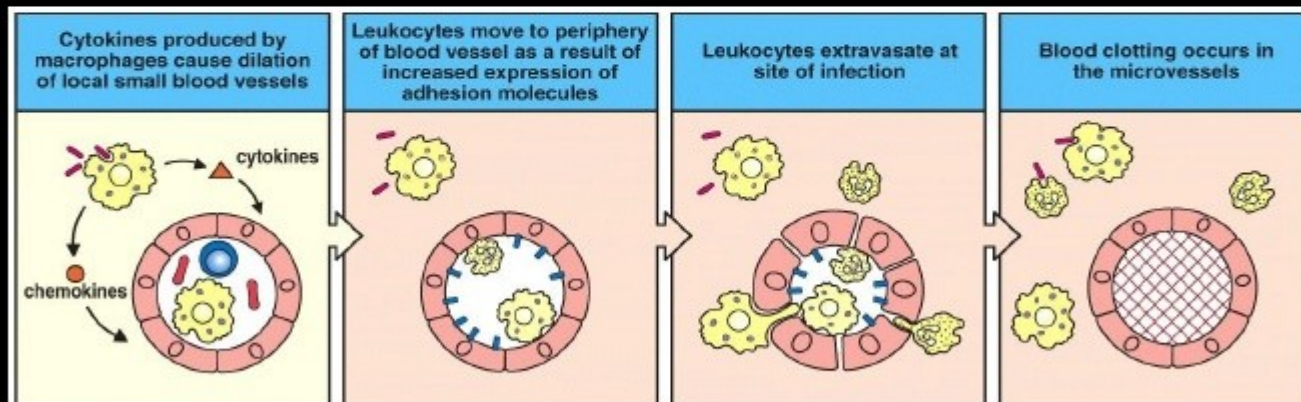


Figure 2-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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

# Zánět - průběh

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

# Vliv prozánětlivých cytokinů

- Uplatňuje se zejména IL-1, IL-6 a TNF- $\alpha$ .
- 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.



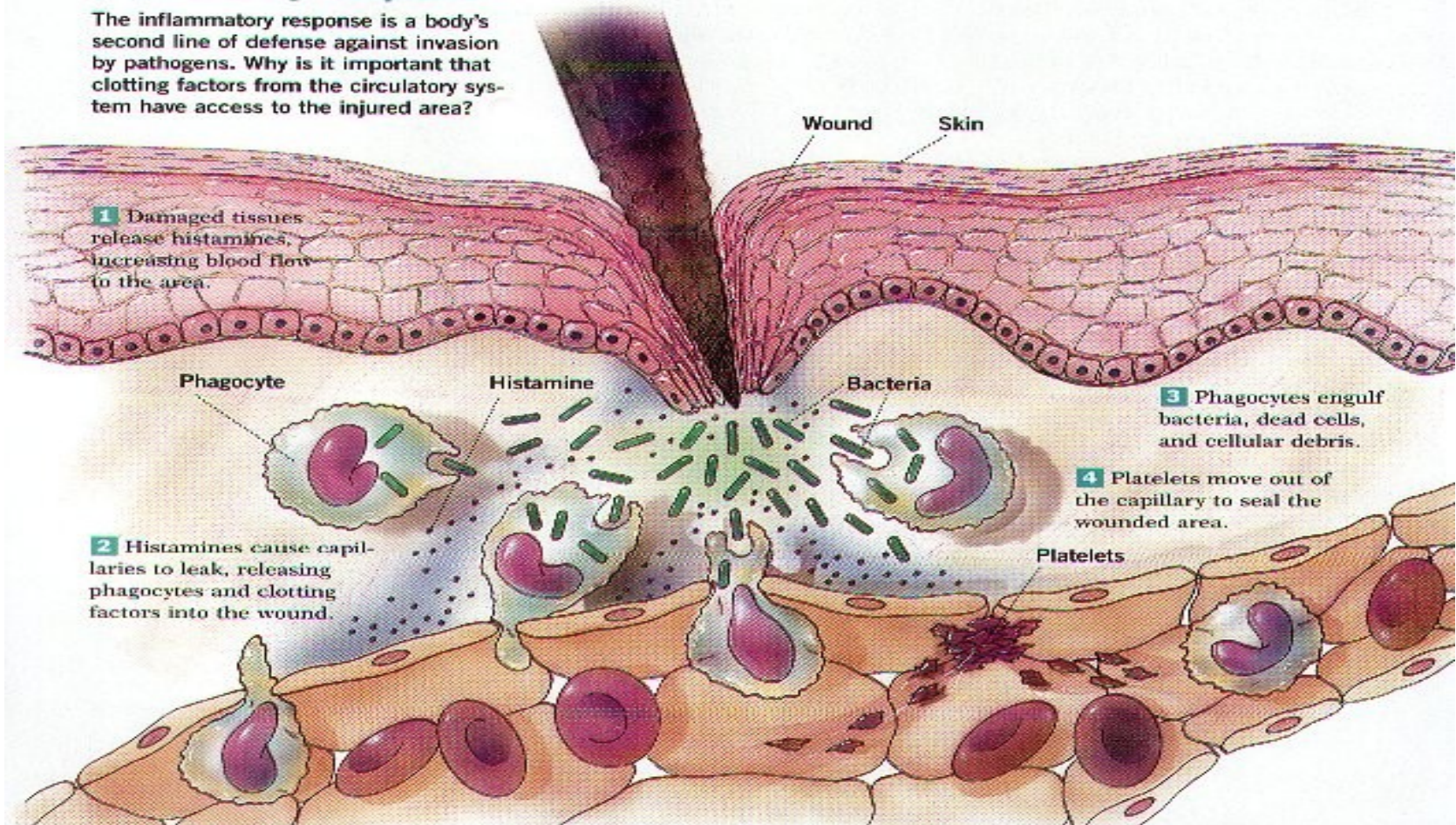
# Hlavní události v místě zánětu

- 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- $\alpha$
- 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- $\alpha$  – celkové zánětlivé příznaky
- IL-1, TNF- $\alpha$ , 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”