

Imunologie v zubním lékařství

3/2018

Zánět jako komplexní reakce systému vrozené imunity

Indukce a rozvoj adaptivních imunitních reakcí

Imunologická paměť

(prof. J. Lokaj)

Tři fáze imunitní reakce

- Neindukovaná, nespecifická reakce

Bezprostřední, během 0-4 hodin: preformované faktory (kožní a slizniční bariéry, pH, lysozym a jiné enzymy)

- Indukovaná, omezeně specifická reakce

Odvíjí se během 4- 96 hodin: aktivace komplementového systému, fagocytóza, cytotoxicita, *zánětlivá reakce*

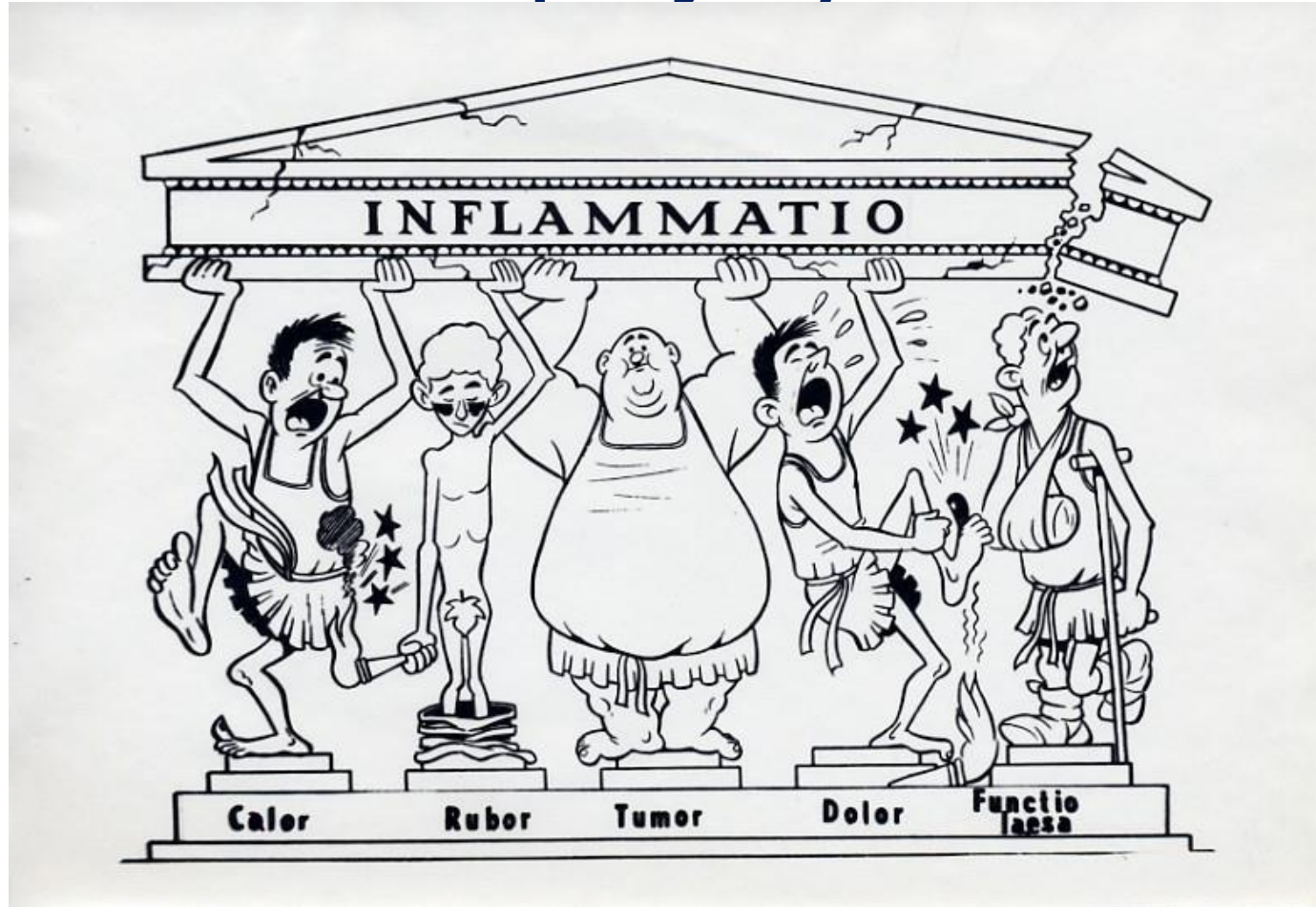
- Indukovaná adaptivní reakce-specifická

po 96 hodinách: tvorba protilátek, efektorové lymfocyty T (T_c, T_h)

Zánět

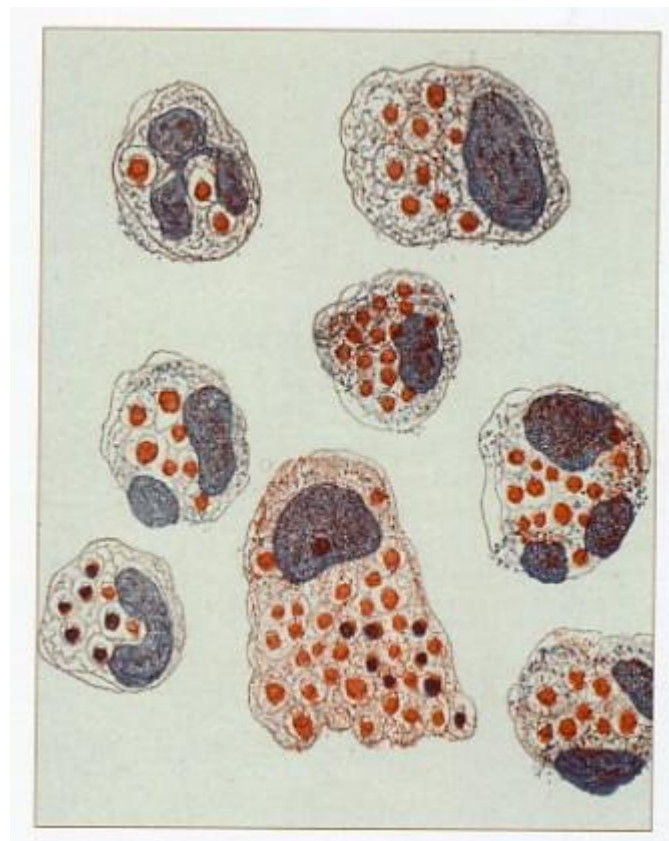
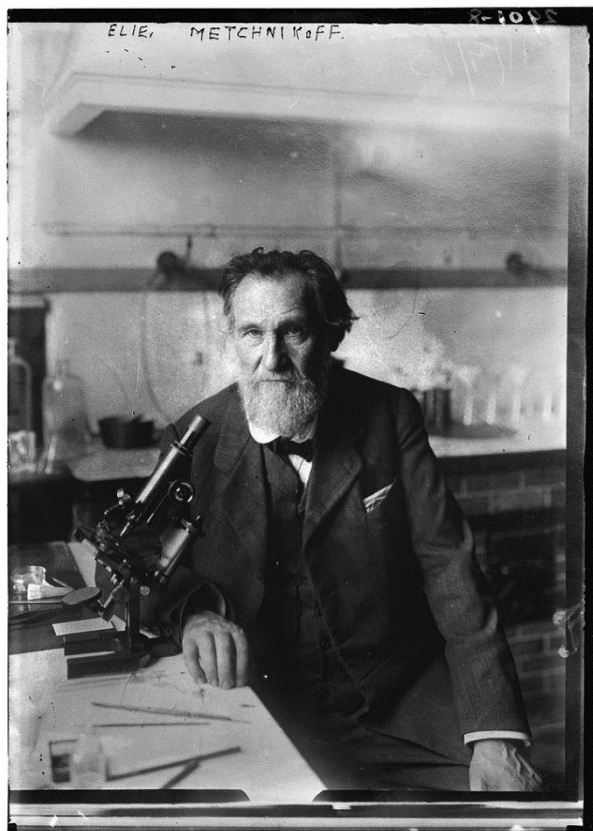
- základní, geneticky zakonzervovaná, obranná reakce mnohobuněčných organismů na infekční i jiné podněty, součást efektorových mechanismů adaptivní imunity.
- stereotypní v průběhu (*induktory – sensory – mediátory – efekторы*).
- univerzální ve svém směřování (*cílem je aktivovat děje, které směřují k likvidaci škodliviny, ale současně i k obnově poškozených struktur a funkcí*).
- při nadměrné aktivaci nebo abnormální regulaci dochází k poškození vlastních buněk, tkání, orgánů, systémů; zánět pak chorobnou změnu přímo vyvolává nebo k ní přispívá.

Klasické projevy zánětu



Aulus Cornelius CELSUS, Rudolf VIRCHOW

„bloudivé buňky mesodermální pohlcují jak zbytečné části samotného těla živočichů, tak cizí tělesa, která pronikla zvenku nebo, je-li to nemožné, aspoň je obklopují a zadržují“ (I.I.Mečnikov)

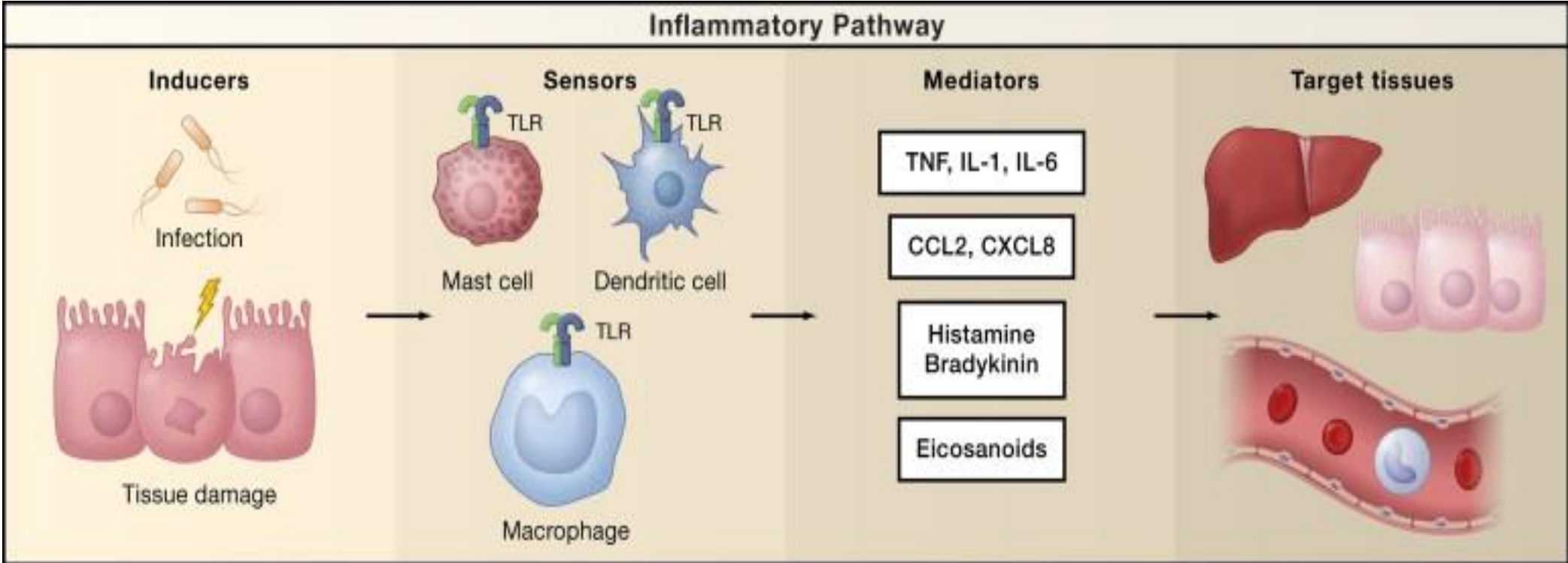


Fagocyty: makrofágy a mikrofágy

Mečnikovova koncepce „fyziologického zánětu“

- Zánět je způsobem a zárukou udržování identity a integrity organismu.
- Organismus je „dysharmonickou entitou“ a musí se snažit dosáhnout stavu „harmonie“, jejímž výrazem je zdraví.
- Harmonizujícím procesem je fyziologický zánět, výkonnými buňkami jsou fagocyty.

R.Medzhitov: Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame



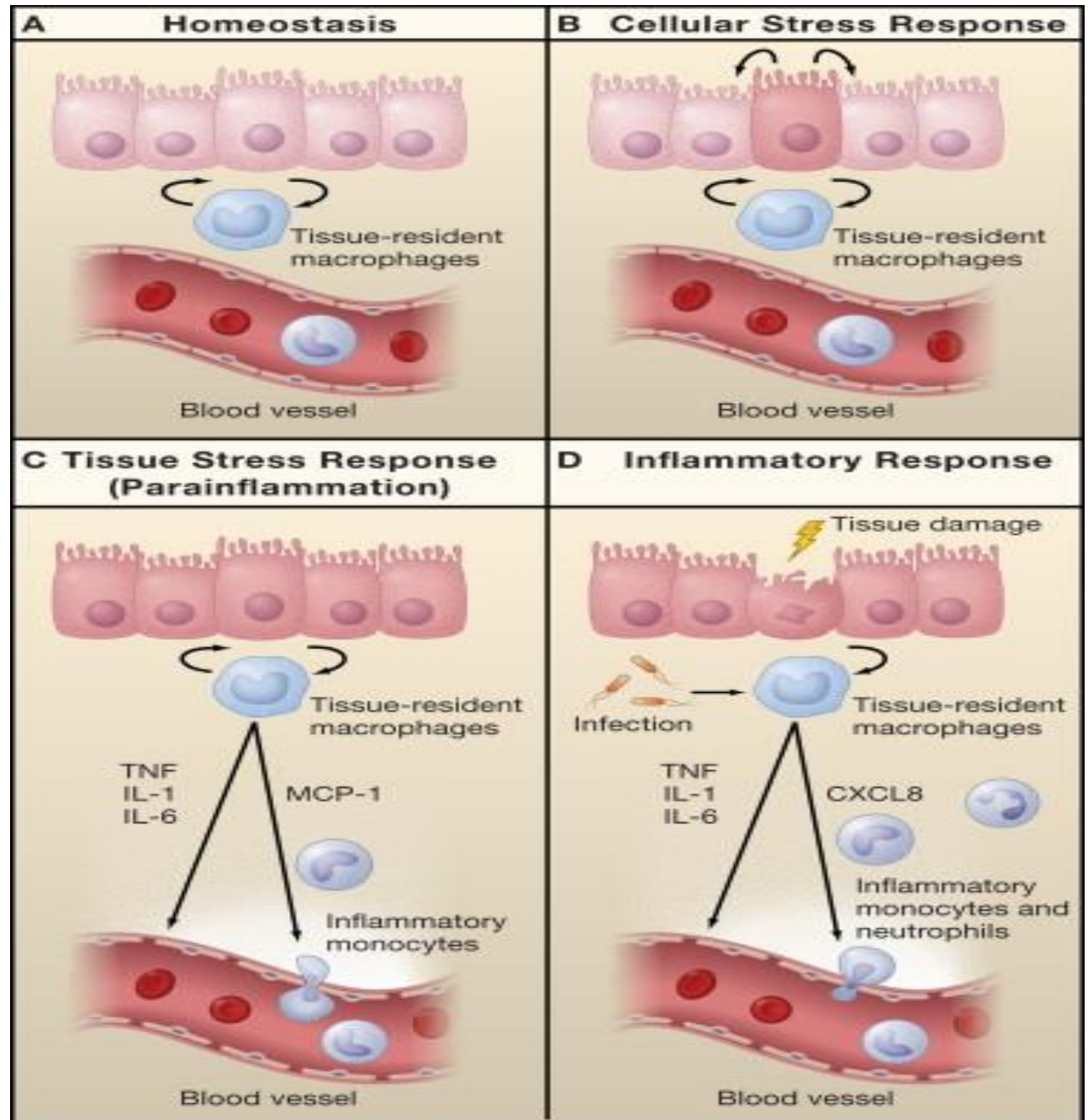
Zánětlivá reakce při udržování stálosti vnitřního prostředí organismu

- Fyziologický stav tkáně: **homeostáza**
- Stres, malfunkce: **parainflamace**
- Poškození, infekce: **inflamace**

(Medzhitov,R: Nature 2008; 454: 428-435)



Ruslan Medzhitov,
původem Taškent, Uzbekistan,
žák prof. Janewaye



ZÁNĚT

Indukce zánětu:

infekce

poškození tkání

stres nebo funkční porucha buněk

ZÁNĚT

Induktory:

exogenní:

mikrobiální (PAMP, faktory virulence)

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

endogenní:

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

ZÁNĚT

Fyziologický účel:

Obrana hostitele proti infekci

Reparace poškozené tkáně

Adaptace na stres, obnovení homeostázy

ZÁNĚT

Patologické následky:

Zánětlivé poškození tkání, systémová zánětlivá reakce autoimunizace.

Fibróza, metaplazie, růst tumoru.

Autoinflamace.

Mediátory zánětlivé reakce

- IL-1, IL-6, TNF- α – celkové zánětlivé příznaky
- IL-1, TNF- α , IL-18 - lokální aktivace buněk imunitního systému
- IL-8, leukotrieny, prostagladiny, C5a- chemotaxe.
- Histamin, serotonin, metabolity kys. arachidonové - vazodilace, ovlivnění permeability.

Celkové příznaky zánětu

- Uplatňuje se zejména vliv IL-1, IL-6 a TNF- α .
- Ovlivněním hypotalamického centra se zvyšuje tělesná teplota.
- Zvyšují se hladiny plazmatických “proteinů akutní fáze”.
- Klesá sérová hladina Fe a Zn.
- Objevuje se únavnost, nechutenství.

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”

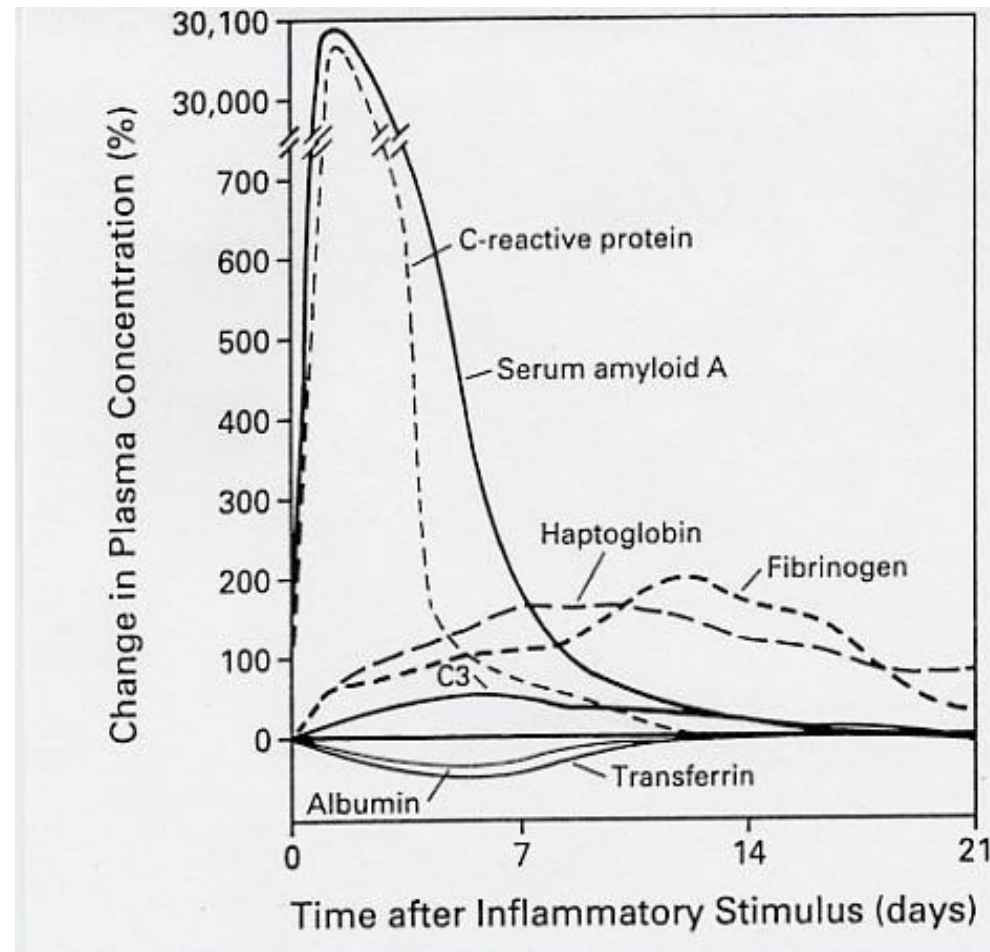
Proteiny “akutní fáze”

*Produkovány játry po stimulaci prozánětlivými cytokiny
(IL-1, IL-6, TNF α)*

- C-reaktivní protein (CRP)
- Sérový amyloid A
- Alfa-1-antitrypsin
- Orosomukoid (alfa1- kyselý glykoprotein)
- Prealbumin
- Prokalcitonin
- Fibrinogen
- Složky komplementového systému

Změny v koncentraci proteinů akutní fáze při zánětu

(N E J Med 1999;340(6):448-454)



Farmakologické ovlivnění zánětlivé odpovědi

- Blokáda tvorby metabolitů kyseliny arachidonové: nesteroidní antiflogistika
- Blokáda tvorby cytokinů, odpovědávosti na cytokiny, exprese adhezivních molekul: glukokortikoidy
- Ovlivnění chemotaxe a dalších stádií fagocytózy: antimalarika
- Blokáda TNF- α monoklonálními protilátkami

Molekulární podstata rozvoje zánětu

- **INFLAMASOM**

multiproteinový komplex tvořený NLRP3 (PRR), adaptorovým proteinem ASC a proteolytickým enzymem, kaspázou-1, aktivujícím IL-1beta a IL-18

- **KOMPLOSOM**

intracelulární složky komplementu (C3, C3a, C5, C5a, C3aR, C5aR) interagují s inflamasomem

Arbore G, Kemper C, Kolev M:

Intracellular complement- the complosome – in immune regulation.

(Molecular Immunology 2017; 89: 2-9)

IMUNITA VE STÁŘÍ

Biologický proces stárnutí je provázen poklesem imunity, zvýšeným výskytem běžných infekčních nemocí, vyšší prevalencí maligních nádorů, chorob autoimunitních a chronických, slabší odpovědí při vakcinaci.

Odhaduje se, že v roce 2050 bude v rozvinutých zemích 25% lidí nad 65 let; světová populace dosáhne počtu 9 miliard.



IMUNOSENESCENCE

S věkem imunitní systém postupně chřadne. Podstatou „**imunosenescence**“ je dysregulace imunitního systému, na níž se podílí involuce primárních imunologických orgánů i vnitřní defekty tvorby, zrání, migrace, homeostázy buněk imunity a jejichž příčinou jsou i změny epigenetické. Stárnutí je spojeno s chronickým prozánětlivým stavem („**inflammaging**“).

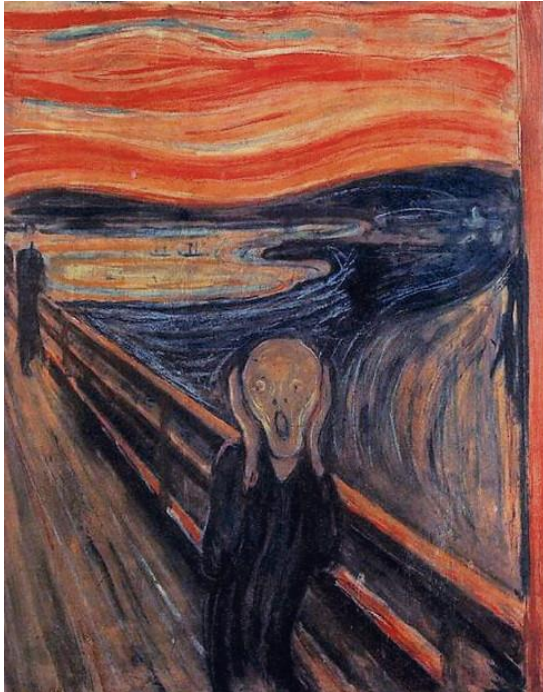
Inflammaging

- Charakteristický znak immunosenescence.
- Chronický, mírný, sterilní zánět; význam zmnožení „DAMP“.
- Zvýšení produkce pro- i protizánětlivých cytokinů (*IL-6*, *TNF α* , *IL-1 β* , *IFN γ* , *IL-10*) především mononukleárními fagocyty, ale též buňkami svalové a tukové tkáně a v neposlední řadě starými buňkami s charakteristickým, se senescencí asociovaným sekrečním fenotypem.

Franceschi C et al: Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. (Ann NY Acad Sci 2000; 908: 244- 254)

Franceschi C et al: Inflammaging and „Garb-aging“. (Trends Endocrinol Metab 2017; 28: 199-212)

Autoinflamace



Edward Munch:
„The Scream“
1893–1910

Horror

autoinflammaticus

McDermott MF et al.: (Cell 1999; 97: 133- 144)

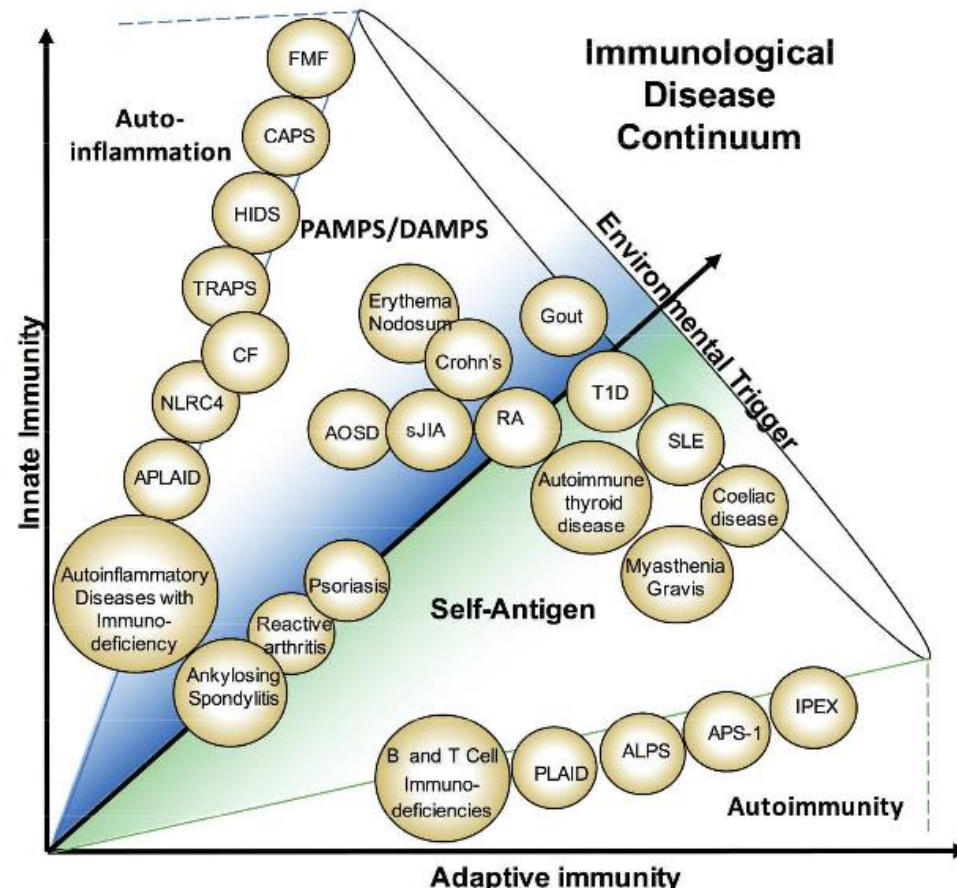
Manthiram K et al.: The monogenic autoinflammatory diseases define new pathways in human innate immunity and inflammation (Nature Immunology 2017; 18: 832- 842)

Autoinflamační syndromy

- Onemocnění s abnormálně vysokou zánětlivou reakcí, která je důsledkem geneticky podmíněných dysregulací v systému vrozené imunity. V poslední době jsou řazeny mezi primární imunodeficience.
- Jsou to vzácná onemocnění začínající většinou v dětském věku a projevují se kolísavými nebo opakujícími se epizodami horečky a zánětů serózních povrchů, kloubů, kůže, očí – infekční příčina není zjištěna, autoprotilátky nejsou přítomny.
- *Př.: familiární středomořská horečka, syndrom hyperimmunoglobulinemie D (deficience mevalonát kinázy), periodická horečka s afty, faryngitidou a krční adenitidou (PFAPA) a další.*
- U řady těchto chorob jsou též orální manifestace (aftózní ulcerace).

Autoinflamace a autoimunizace v patogenéze chorob

(Peckham D et al.: The burgeoning field of innate immune-mediated disease and autoinflammation. J Pathol 2017; 241: 123 – 139)



Syndrom PFAPA: „periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis syndrome“ (*Marshallův syndrom*)

Ataky začínají zpravidla před 5. rokem, častěji jsou u chlapců. Horečky v měsíčních intervalech (39 st. C, trvají 3-6 dnů). Exudativní faryngitida a tonsilitida s negativním nálezem bakteriologickým (72%).

Cervikální lymfadenitida (88%).

Aftózní stomatitida (u 40-70% pacientů).

Mezi epizodami úplně asymptomatické období.

Rychlá odpověď na jednu dávku glukokortikoidů (60 mg prednisonu), příznivý terapeutický účinek má i cimetidin (H2-antihistaminikum) nebo tonsilektomie.

Zánět a nemoci parodontu

- **Gingivitis:** zánět dásní, pojivová tkáň přiléhající k zubům zůstává intaktní
- **Parodontitis:** zánět podpůrných pojivových tkání zubů s progresivním uvolněním a destrukcí kosti

Iniciální zánět v parodontu je fyziologickým obranným mechanismem namířeným proti mikroorganismům. Destruktivní fáze znamená přechod gingivitidy v parodontitidu.

Sepse

- Celosvětově velmi závažný zdravotnický problém (odhaduje se, že je ve světě ročně 31,5 milionů pacientů se sepsí, 19,4 milionů s těžkou sepsí a že v důsledku sepse zemře 5,3 milionů osob (*Fleischmann C. et al. 2016*)).
- Ústředním patofyziologickým mechanismem je silná aktivace systému vrozené imunity a nadměrná zánětlivá reakce, uvolnění cytokinů, chemokinů, aktivace fagocytů, komplementového systému, koagulačního systému a současně výrazná imunoprese na úrovni fagocytů, buněk předkládajících antigenů i lymfocytů CD4+ a CD8+.
- Výzkumné projekty k terapii sepse jsou zaměřeny jak na protizánětlivé tak na imunostimulační preparáty.

Definice sepse

(2016 Third International Concensus for Sepsis and Septic Shock)

SEPSE:

- život ohrožující dysfunkce orgánů, která je způsobena dysregulací reakce hostitele na infekci
- dysfunkce orgánů může být učena jako akutní změna celkového skóre SOFA (*the sequential organ failure assesment*) o 2 body a více.

SEPTICKÝ ŠOK:

- sepse, kdy základní cirkulační a buněčné nebo metabolické abnormality výrazně zvyšují mortalitu
- klinicky definován jako sepse s přetrvávající hypotenzí, která vyžaduje vasopresory udržující arteriální tlak na 65 a více mmHg, a koncentrací laktátu v séru nad 2mmol/L.

Indukce a rozvoj adaptivních imunitních reakcí

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.

Rozpoznávání cizorodých struktur imunitním systémem

Vrozená imunita:

- receptory rozeznávající molekulární
- signaturu („archetopy“, např. PAMPs) –
- „*pattern recognition receptors*“ (*PRR*)

Adaptivní imunita:

- molekuly MHC I. a II. třídy (*HLA*)
- receptory lymfocytů T (*TCR*)
- receptory lymfocytů B (*BCR*)

ANTIGEN – adaptivní imunita

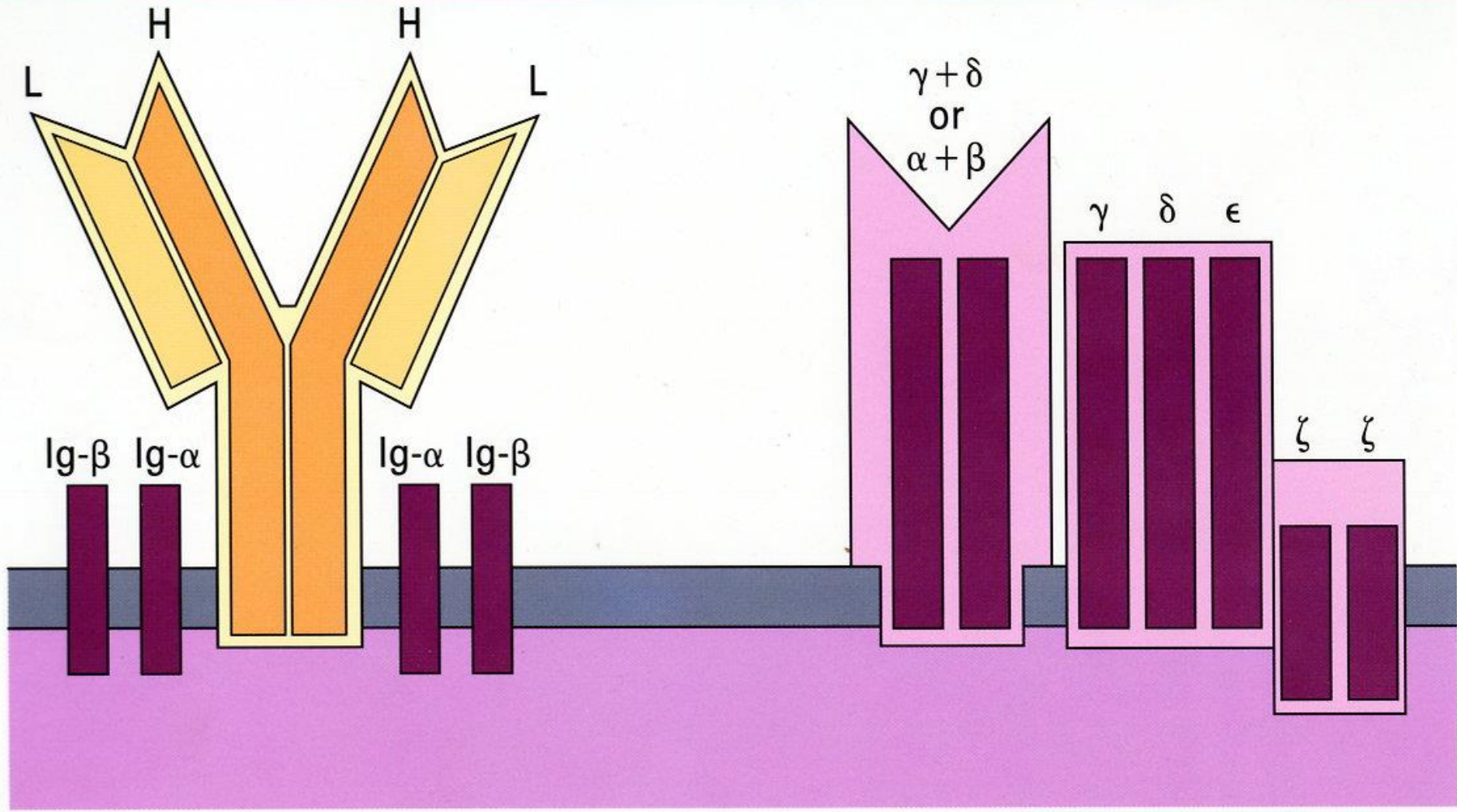
(*Antibody generating substance*)

- Struktury, na něž reaguje adaptivní imunitní systém.
- Receptory lymfocytů B a T poznávají epitopy antigenů. epitopy B: sekvenční i konformační na nativní molekule, epitopy T: většinou lineární peptidy tvořené intracelulárně.

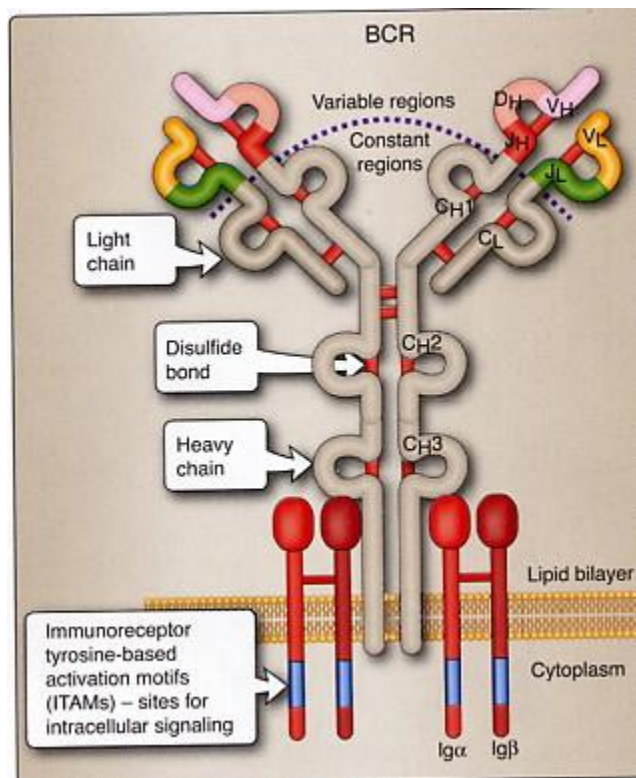
Antigennost vs. imunogenost

**antibody
B cell antigen receptor**

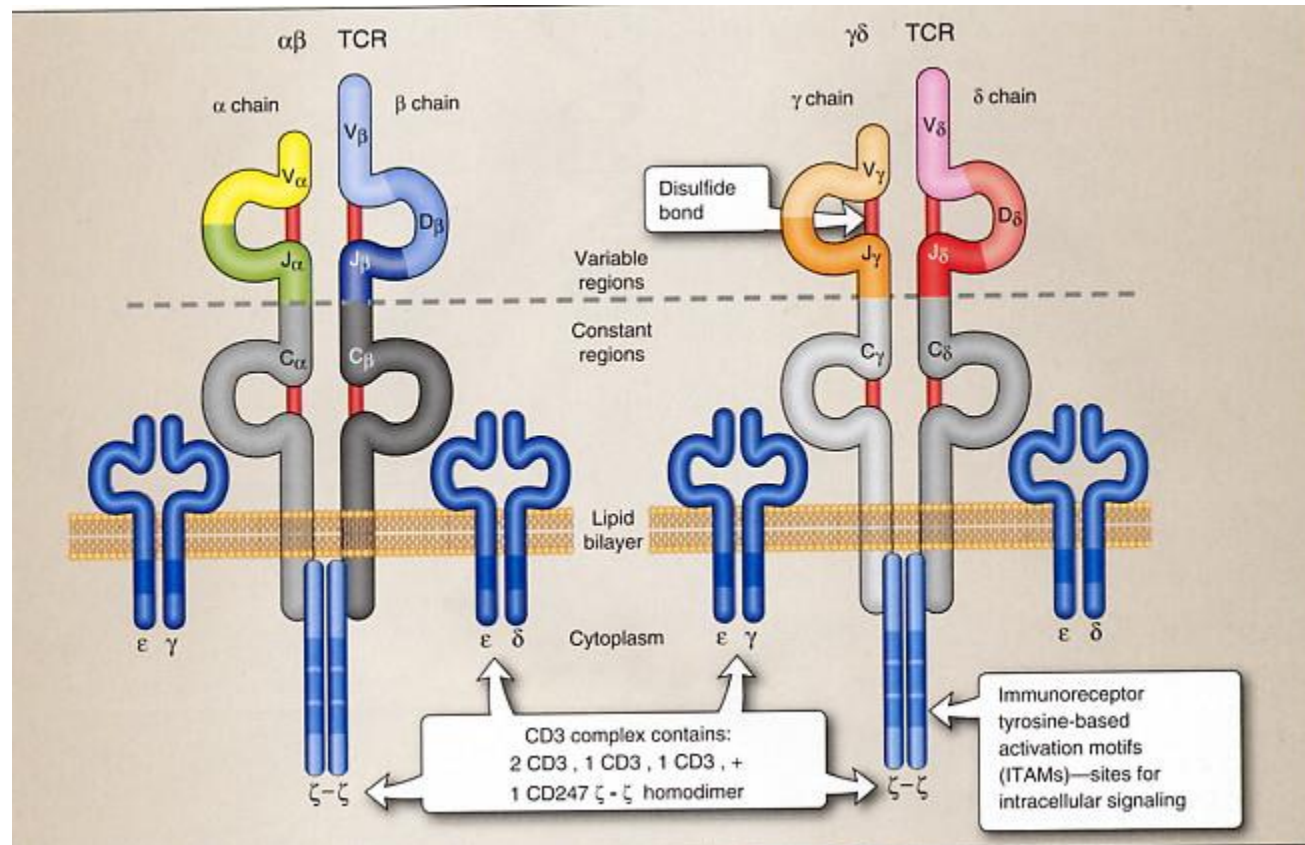
**T-cell
antigen receptor**



Receptor lymfocytů B (BCR) (IgM, IgD)



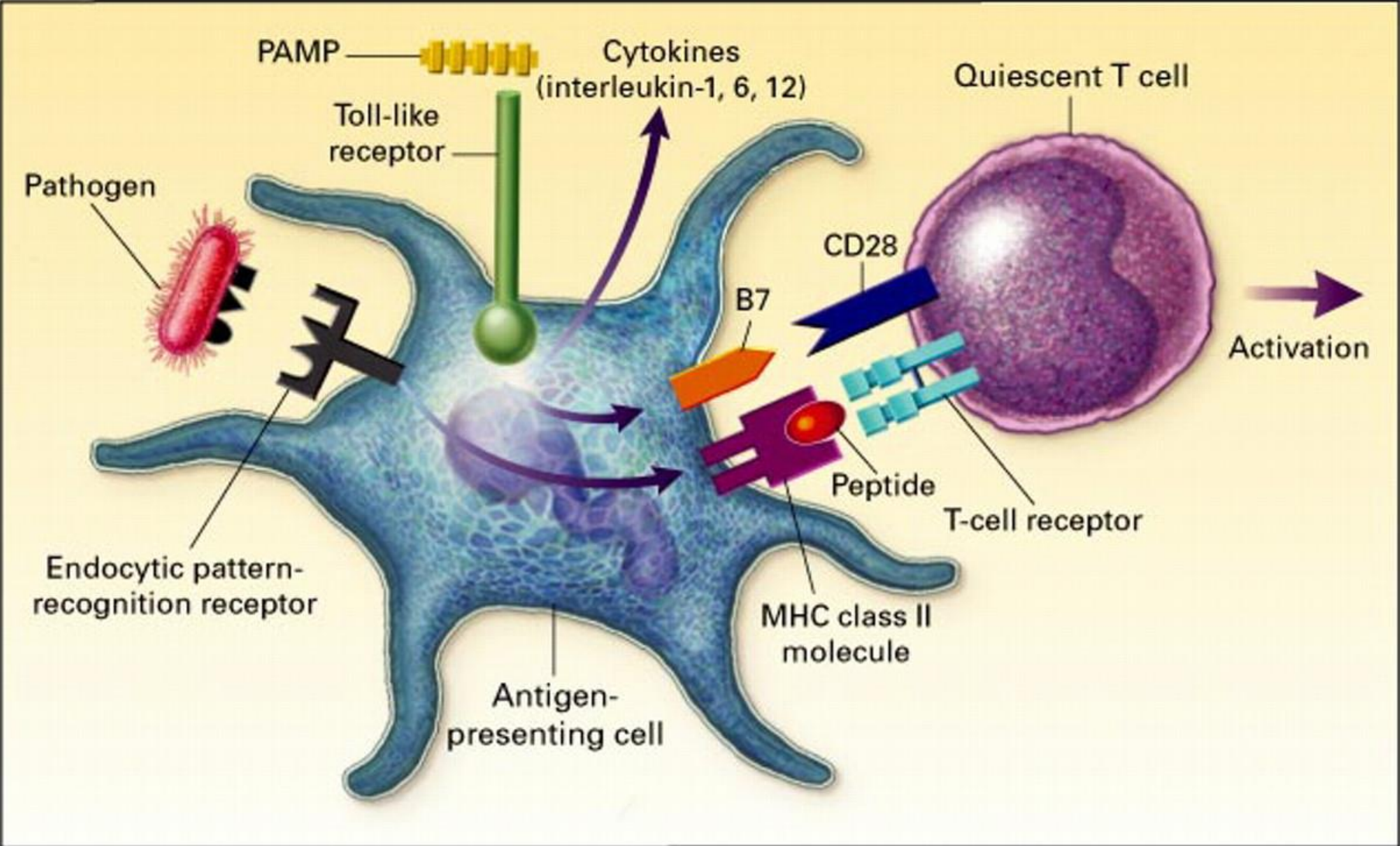
Receptor lymfocytů T (TCR $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$)



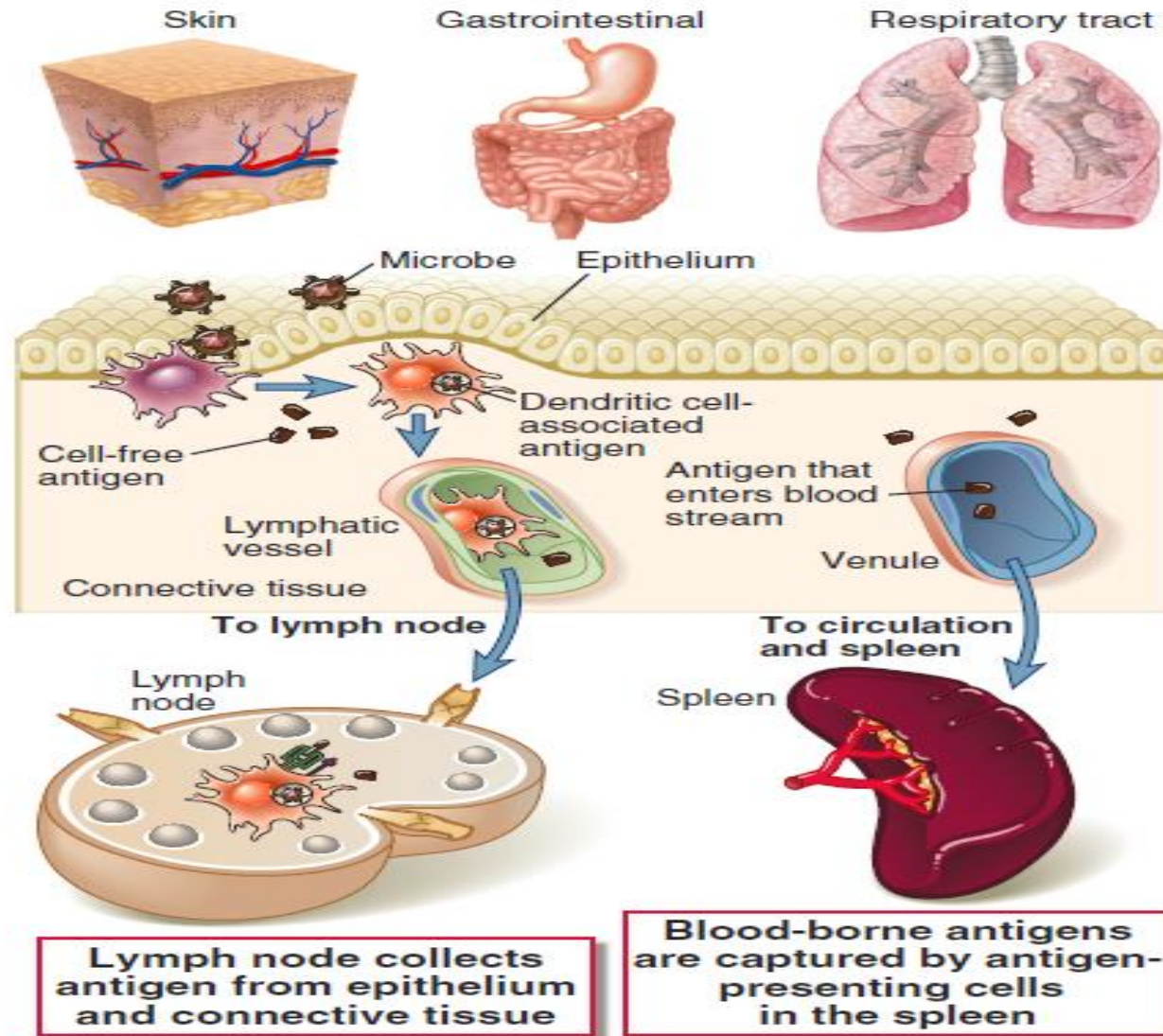
Populace lidských dendritických buněk

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

*presentace antigenů – adaptivní imunitní reakce,
podpora vrozené imunity (interakce s NK, NKT, $T\gamma\delta$)*



Transport antigenů dendritickými buňkami



Indukce imunitní reakce závisí na tom, zda se antigen dostane do lymfoidních orgánů v dostatečném množství a zůstane tam dostatečně dlouhou dobu.

Jestliže se antigen do lymfoidních orgánů nedostane, je imunitními buňkami ignorován.

Pro transport antigenu z periferie do lokálních organizovaných lymfoidních tkání jsou kriticky významné buňky předkládající antigen.

Rolf M. Zinkernagel et al.:

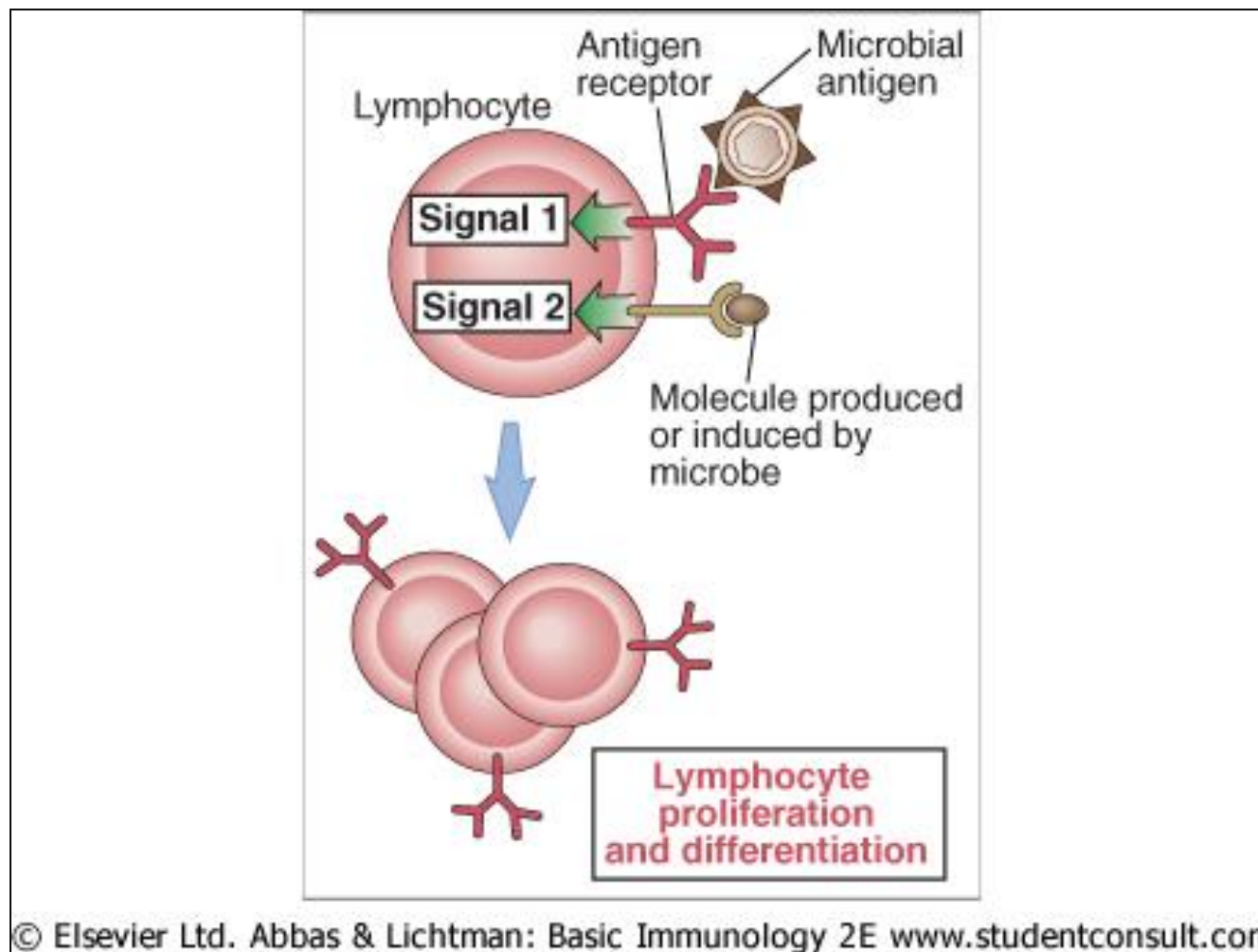
**Antigen localization regulates immune responses in a dose- and time- dependent fashion:
a geographical view of immune reactivity**

Immunological Reviews 1997; 156: 199-209

Imunizace

Antigennost vs. imunogenost

1. *Signál* : Epitop – receptor buněk B, T (BCR,TCR)
2. *Signál* : „kostimulace“, „kosignály“
adhesivní molekuly,
cytokiny – (fagocyty, APC, lymfocyty T)
fragmenty komplementu - C3d



Imunologické adjuvans

- Zesiluje, udržuje a směřuje imunogennost antigenů.
- Účinně moduluje imunitní reakci.
- Redukuje potřebné množství antigenu i nutnost opakovaného podání.
- Zvyšuje účinnost vakcín, především u novorozenců, starých osob i nemocných s podlomenou imunitou.
- Má ale také schopnost prolomit přirozenou imunologickou toleranci

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

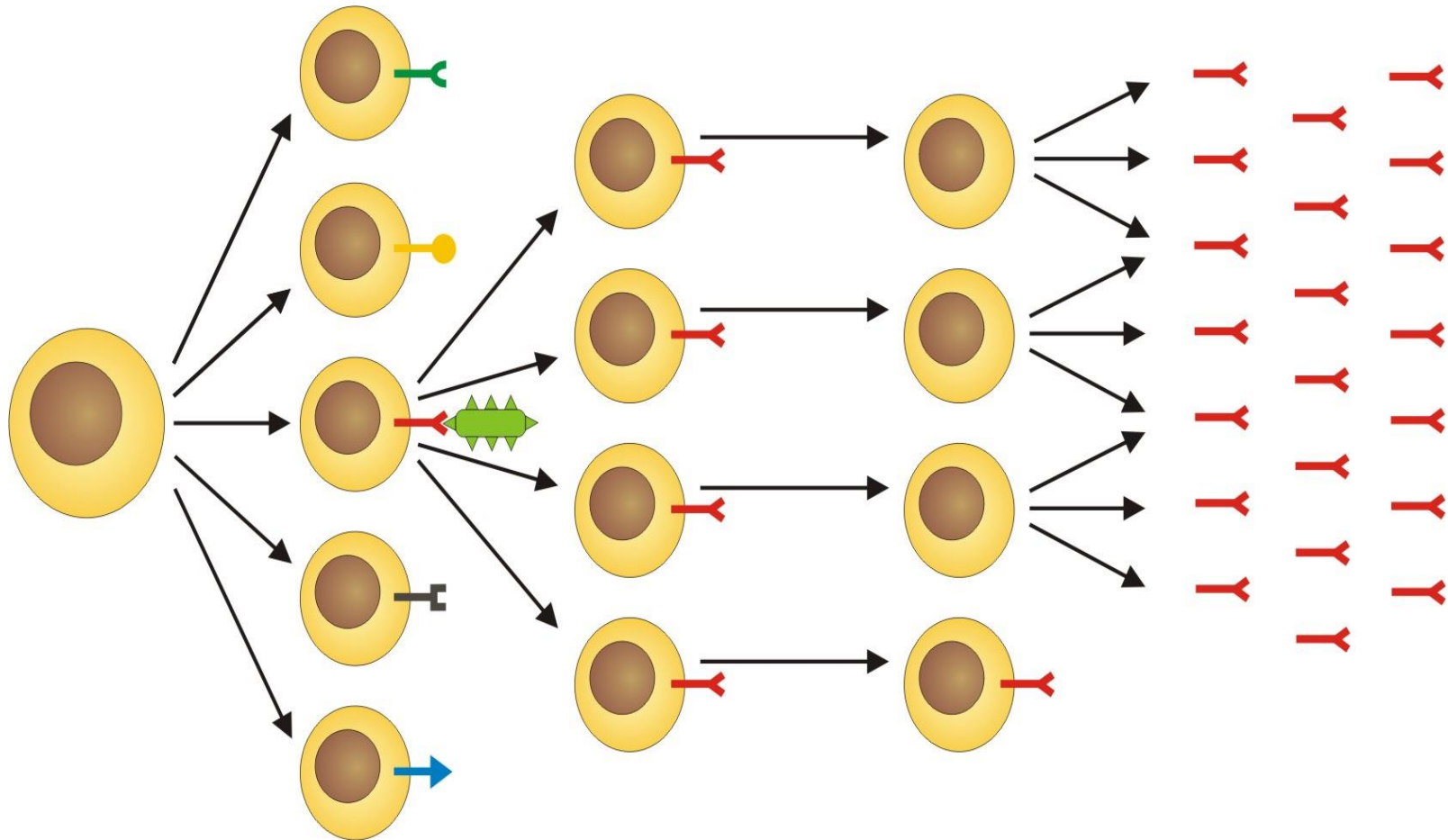
Proteiny, glykoproteiny. Vyžadují kooperaci T-B.

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

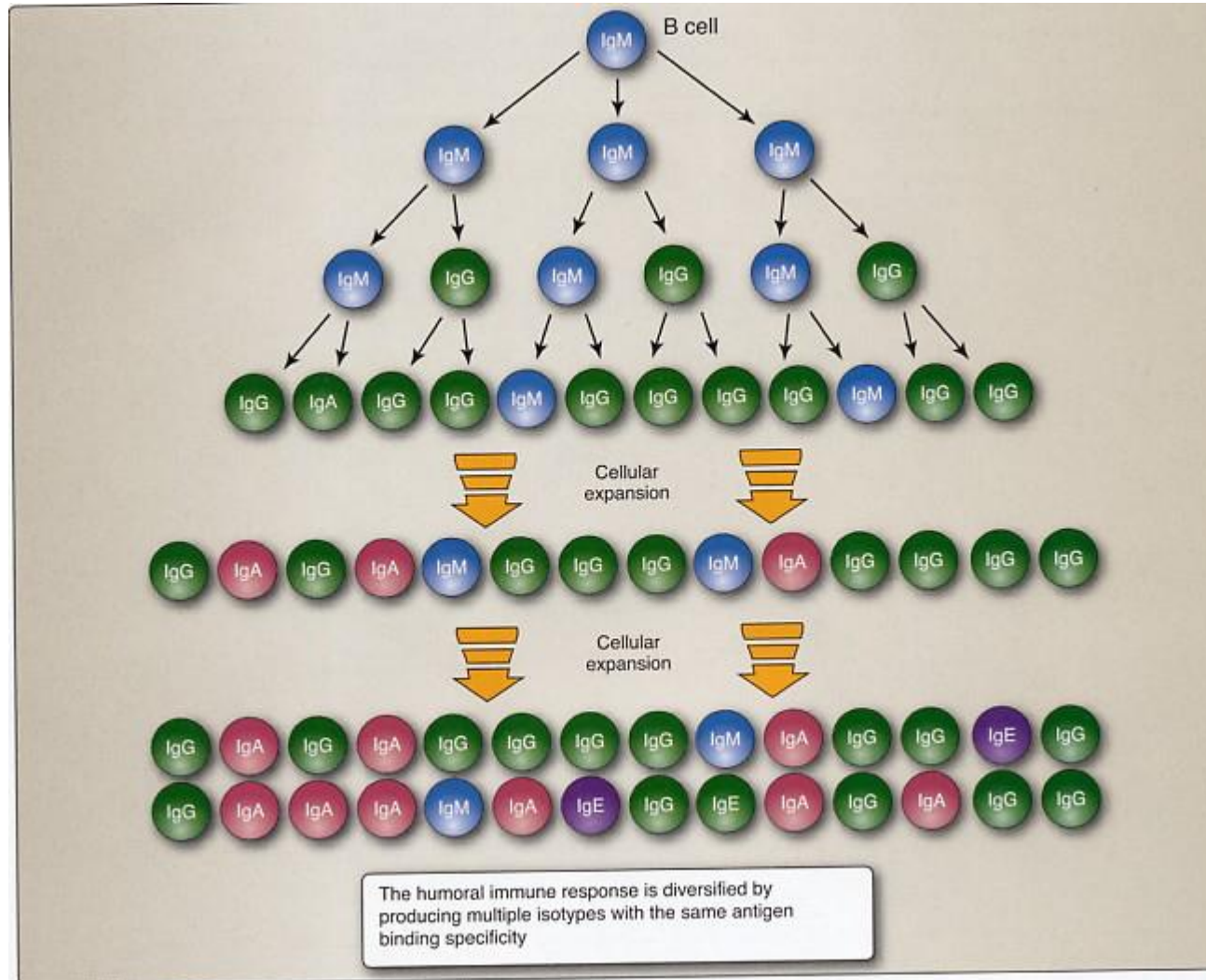
Aktivace B lymfocytů a produkce Ig

- 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

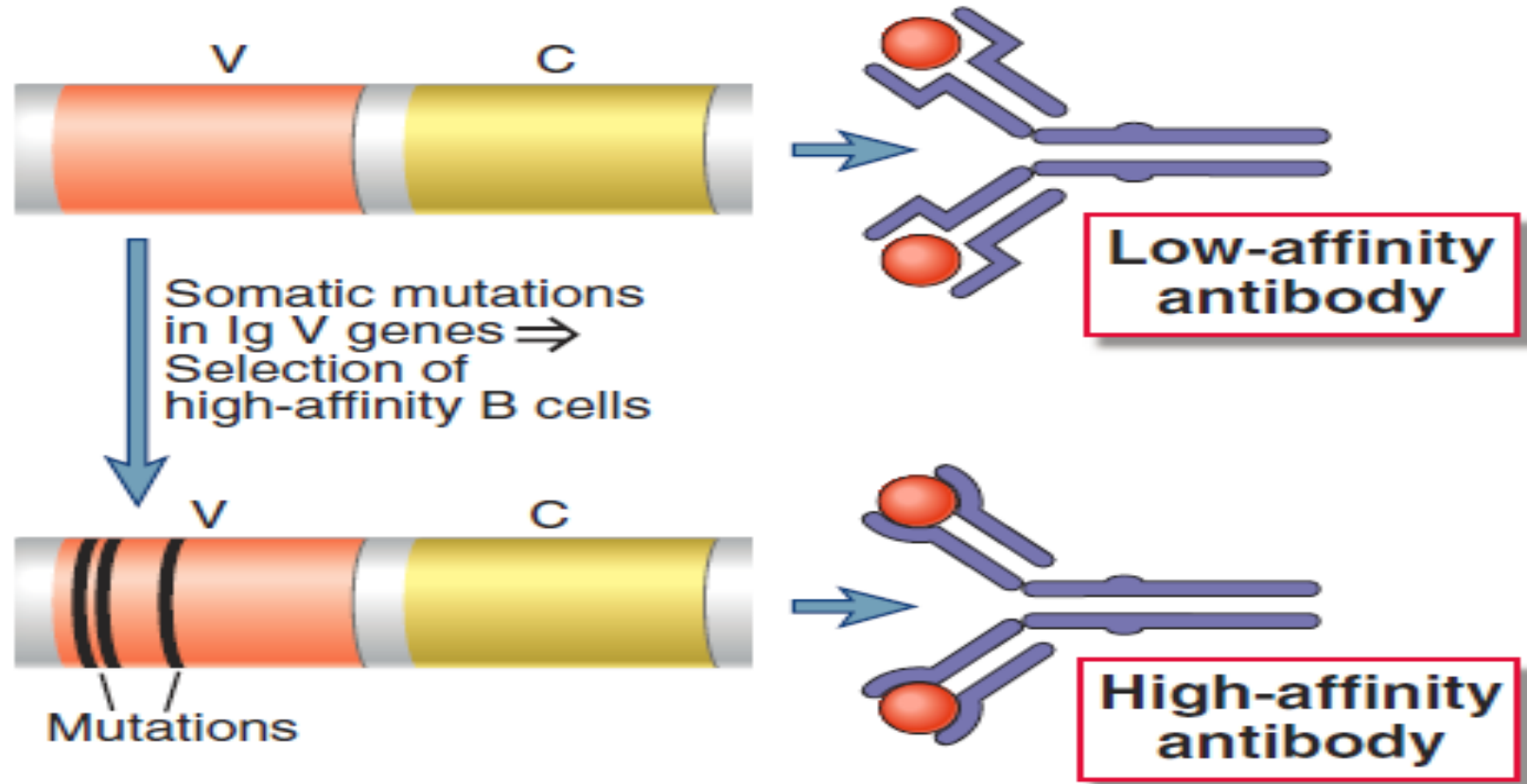
PROLIFERACE A DIFFERENCIACE LYMFOCYTŮ B



Isotypový přesmyk

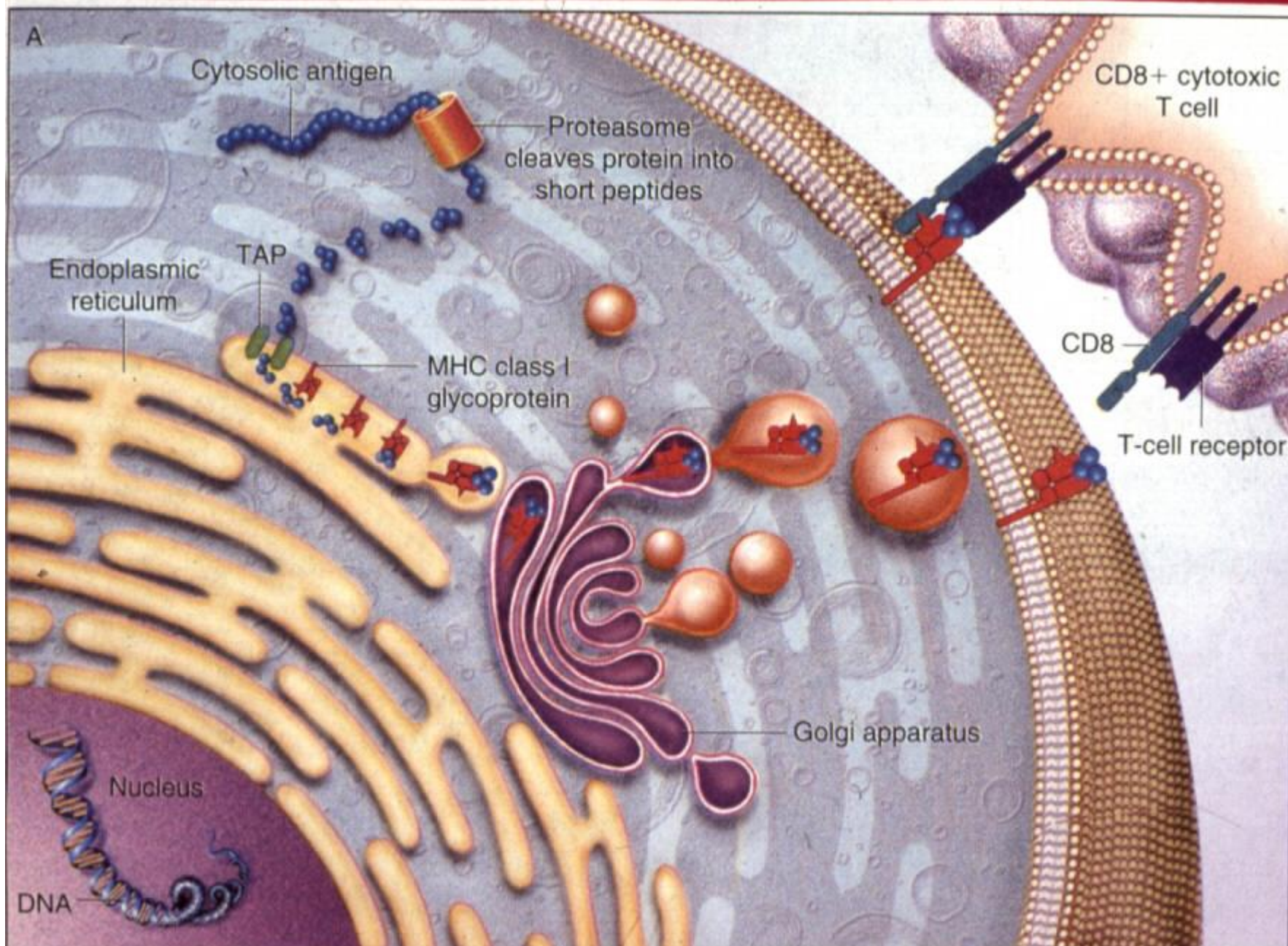


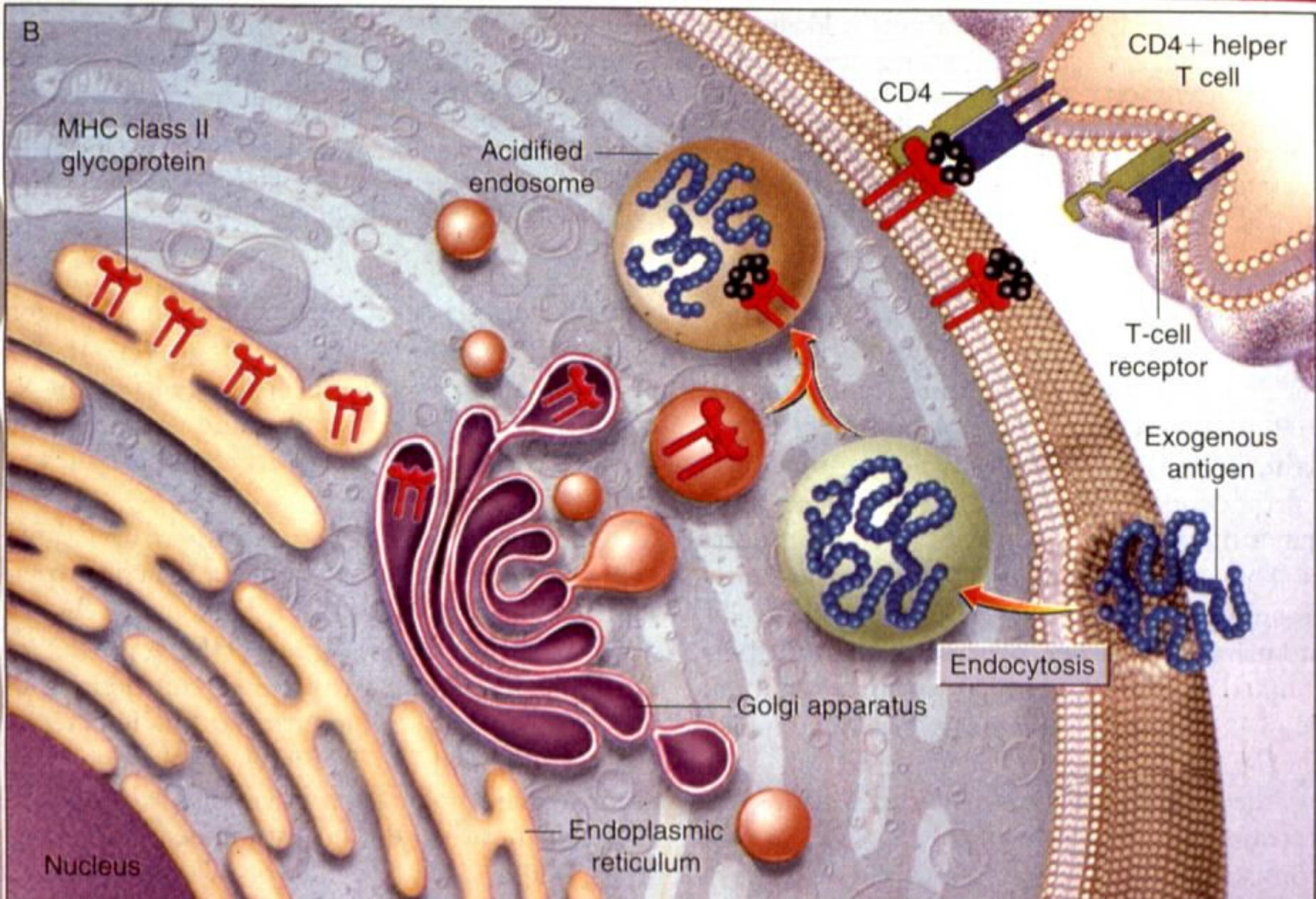
Somatic hypermutation

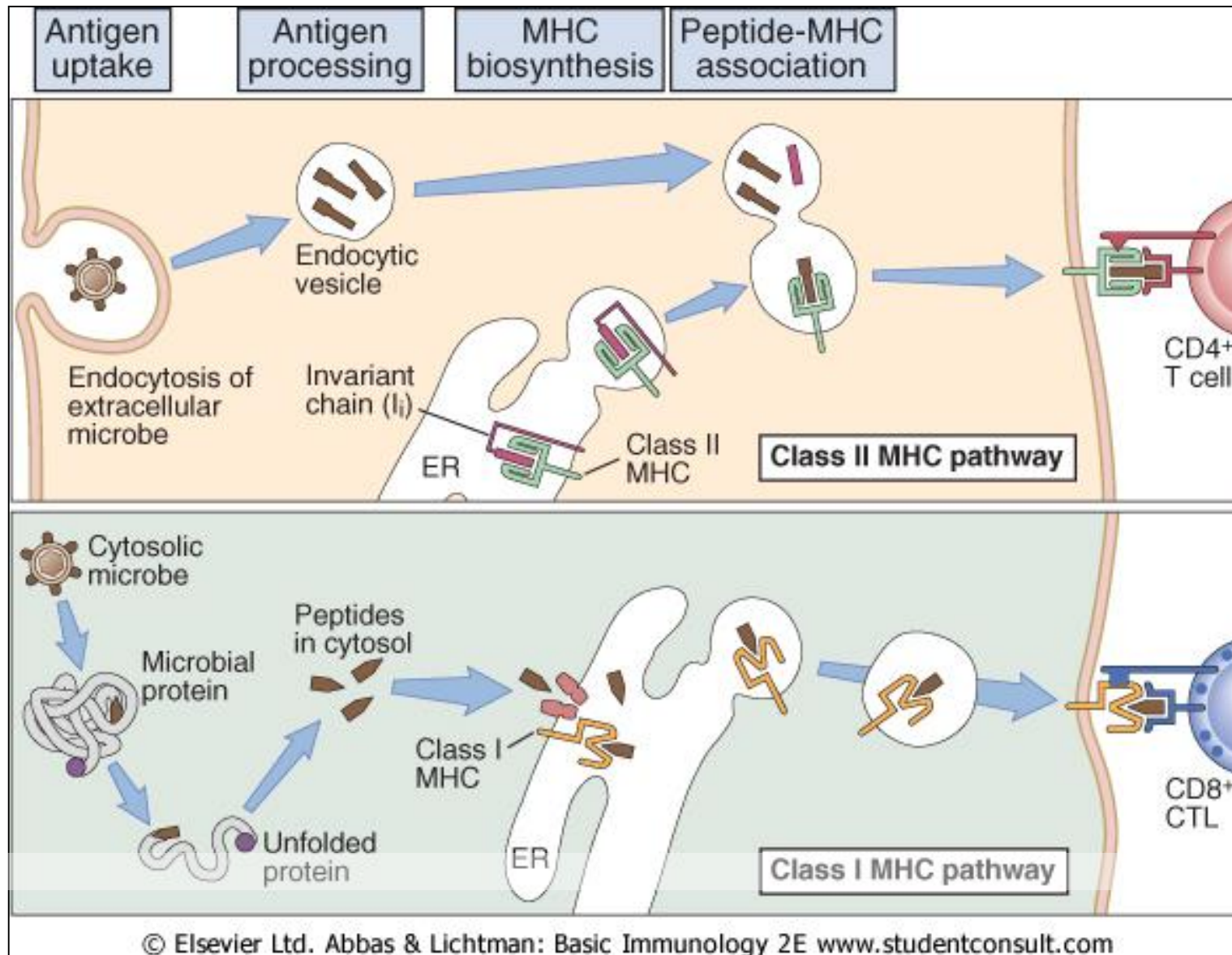


Presentace antigenů lymfocytům T

- T-lymfocyty poznávají antigeny pouze ve formě **peptidových fragmentů vázaných na MHC I nebo II** (*fenomen MHC-restrikce neboli syngenní preference*).
- Antigen musí být nejdříve v buňkách prezentujících antigen „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 lymfocytů T.
- 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 podmíněna schopností buněk předkládajících antigen vytvořit peptidy, které se budou vázat na vlastní molekuly MHC.*







Imunologická paměť



Jaroslav Šterzl 1925-2012

„Adaptivní změny jsou vázány s obecnou schopností biologických systémů zapamatovat si prožitou zkušenost a účinněji reagovat na opakované podněty kvantitativní i kvalitativní změnou“.

*Jaroslav Šterzl: Imunitní systém a jeho fyziologické funkce
(Česká imunologická společnost, Praha, 1993)*

**Obsah a rozsah pojmu „*imunologická paměť*“ se vyvíjí –
imunologická paměť se netýká pouze adaptivní imunity,
jisté rysy paměti lze vidět i u imunity vrozené.**

*Farber DL, Netea MG, Radbruch A, Rajewsky K, Zinkernagel RM:
Immunological memory: lessons from the past and a look to the future
(Nature Reviews Immunology 2016; 16: 124 -128)*

Chester KS: The problem of acquired physiological immunity in plants. (Q Rev Biol 1933; 8: 275 - 324)

„Paměťové stopy“ v systému vrozené imunity

Trained immunity Innate immune memory Inflammatory memory

Hromadí se důkazy, že buňky systému vrozené imunity (makrofágy, buňky NK) po infekci nebo vakcinaci mění své funkční programy; vykazují vyšší a dlouhodobější odpovídavost na sekundární stimuly. Tedy i komponenty systému vrozené imunity mají adaptivní schopnosti.

Tyto vlastnosti jsou podmíněny jejich epigenetickým reprogramováním po stimulaci exogenními i endogenními faktory.

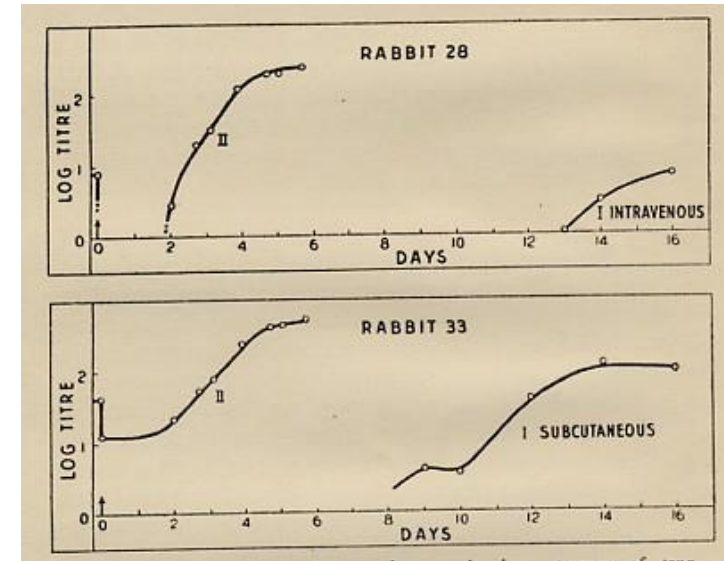
Biologický význam: např. nespecifické protekční účinky (vakcinací), poškozující důsledky nepatřičné aktivace (imunologická paralýza, autoinflamační procesy, ateroskleróza).

Imunologická paměť

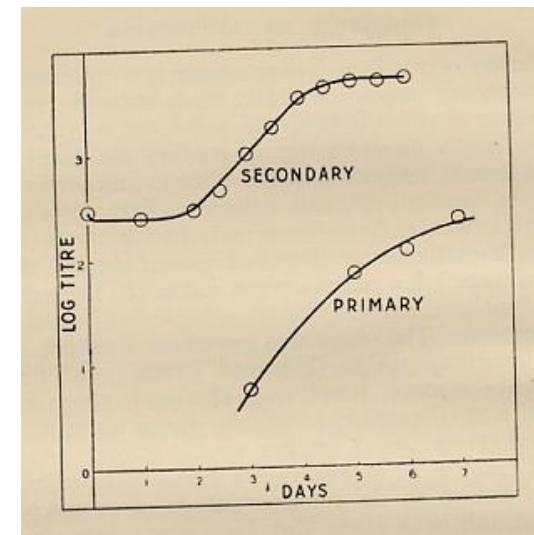


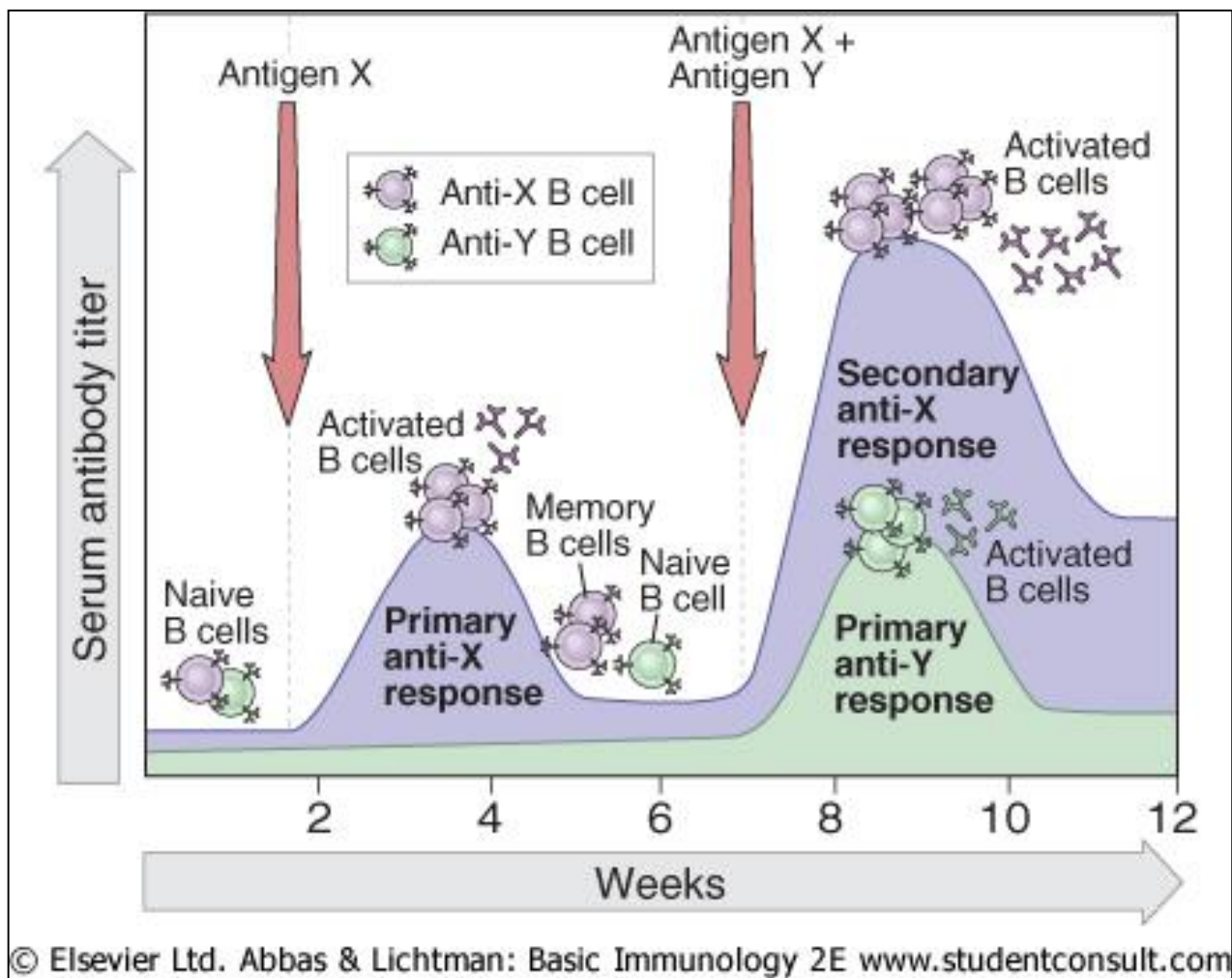
F.M. Burnet, F. Fenner:
The production of antibodies
(Macmillan, Melbourne, 1949)

Staphylococcal toxoid



Phage C16 (rabbit – i.v.)





Paměť lymfocytů B

Aktivace lymfocytů B:

- v lymfoidních folikulech sekundárních lymfatických orgánů se diferencují krátce žijící plasmatické buňky, které se dostávají do kostní dřeně a do sleziny, kde tvorí a produkuje specifické protilátky
- v zárodečných centrech lymfatických orgánů se zároveň formují buňky paměťové. Především to jsou dlouho žijící plasmatické buňky, které se dostávají do kostní dřeně a kontinuálně tvoří protilátky. Druhým typem paměťových buněk jsou centrální paměťové buňky, které zůstávají v sekundárních lymfatických orgánech, mírně proliferují, netvoří protilátky, ale mohou nahrazovat hynoucí dlouho žijící plasmatické buňky a po setkání se specifickým antigenem rychle přecházejí do stadia krátce žijících plasmatických buněk.

Paměť lymfocytů T

Aktivace lymfocytů T:

- naivní T-lymfocyty jsou aktivovány, prolifерují a diferencují se jako efektorové lymfocyty T, které v tkáních působí proti specifickému antigenu jednak přímo, jako cytotoxické lymfocyty T, jednak nepřímo, prostřednictvím cytokinů; asi 90% z nich pak podlehne apoptóze
- některé z efektorových lymfocytů T zůstávají v tkáních v blízkosti místa vniku antigenu, jsou schopny rychlé reaktivace, proliferace a účinku – označují se jako efektorové paměťové buňky.
- část z aktivovaných T-lymfocytů zůstává v sekundárních lymfatických orgánech jako tzv. centrální paměťové buňky T. Po opakovaném střetu s antigenem jsou rychle aktivovány, prolifерují a diferencují se v efektorové elementy, některé v lymfatických orgánech zůstávají.

PAMĚŤOVÉ BUŇKY T

- Centrální paměťové buňky (CCR7+, CD62L+)
jsou v sekundárních lymfatických orgánech, vykazují nízkou cytolytickou aktivitu a omezenou schopnost migrace; jsou neúčinnější při systémových infekcích
- Efektorové paměťové buňky (CCR7-, CD62-)
jsou v nelymfoidních tkáních (plíce, tuková tkáň), jsou cytolytické a mají výrazný cirkulační potenciál; jejich lokalizace umožňuje bezprostřední reakci na infekce v periferních tkáních

Vlastnosti adaptivních paměťových buněk

- Množství antigen-specifických paměťových buněk je asi tisíckrát vyšší než původních (z $1:10^6$ na $1:10^3$)
- Paměťové buňky T i B jsou snadněji aktivovatelné
- Paměťové buňky B nesou isotypový přesmyk (IgM-IgG, IgA, IgE) a jejich receptory vykazují vyšší afinitu způsobenou somatickou hypermutací
- V populaci buněk T není ekvivalent dlouho žijících paměťových buněk B
- Receptory buněk T nepodléhají somatickým hypermutacím

Paměť adaptivního imunitního systému je „osobní“:

každý z nás si zapamatoval jen to, s čím se setkal

Imunologická paměť a vakcinace

The Global Alliance for Vaccines and Immunization (GAVI)

- Více než 10 milionů dětí zemře do svých pěti let; z nich 1,5 milionu na choroby, jimž lze zabránit vakcinací.
- Ve všech věkových skupinách zemře 2 miliony lidí na choroby, kterým lze předejít vakcinací.
- Meningokokové, pneumokokové a rotavirové infekce, proti nimž se vakcíny v současné době vyvíjejí, jsou příčinou smrti 2 milionů lidí.

(údaje z WHO, 2002)

Vakcinace je hodnocena z medicínského i ekonomického pohledu jako jeden z nejefektivnějších způsobů prevence vzniku a šíření infekčních chorob.

Na individuální úrovni chrání jedince před onemocněním.

Na populační úrovni (kolektivní imunita daná vysokou proočkovaností populace) brání šíření infekčních agens a ochrání i neočkované osoby.

Za počátek imunologie lze označit objevnou metaforu s generativní schopností: lidskou tvář s jizvami po černých neštovicích.

Bylo nápadné, že jizvy jsou odrazem stavu odolnosti proti nové atace onemocnění.

**Ali Maov Maalin,
Merka Town, Somalia**

26. 10. 1977

**Poslední nemocný
na světě s přirozeně
vzniklou variolou.**



On 9th December 1979, the W.H.O. officially declared smallpox to be completely eradicated

