

# Mechanismy nespecifické imunity

# Vrozená (nespecifická) imunita

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

# Vrozená (přirozená, nespecifická) imunita

- Přetrvává ve fylogenéze
- Poznávací receptory jsou fixovány v genomu
- Dokonale odlišuje vlastní od cizího
- Reakce na cizorodý materiál je bezprostřední
- Nevzniká (klasická) imunitní paměť
- Propojení s adaptivní imunitou
- První linie obrany proti patogenům
- Je možná reakce (indukce zánětu) i na některé autologní signály
- Účast v normálních fyziologických procesech

# “Trained immunity”

- Nově se ukazuje, že některé mechanismy nespecifické imunity mají schopnost po opakované stimulaci některými (nespecifickými) podněty reagovat intenzivněji, efektivněji.
- Lze prokázat u NK buněk, dendritických buněk, buněk myeloidní řady ale i některých buněk kmenových.
- Uplatňují se epigenetické mechanismy.
- Kromě obrany organismu se uvažuje i o účasti v patogenezi řady chorob doprovázených chronickým zánětem.

# Význam vrozené imunity

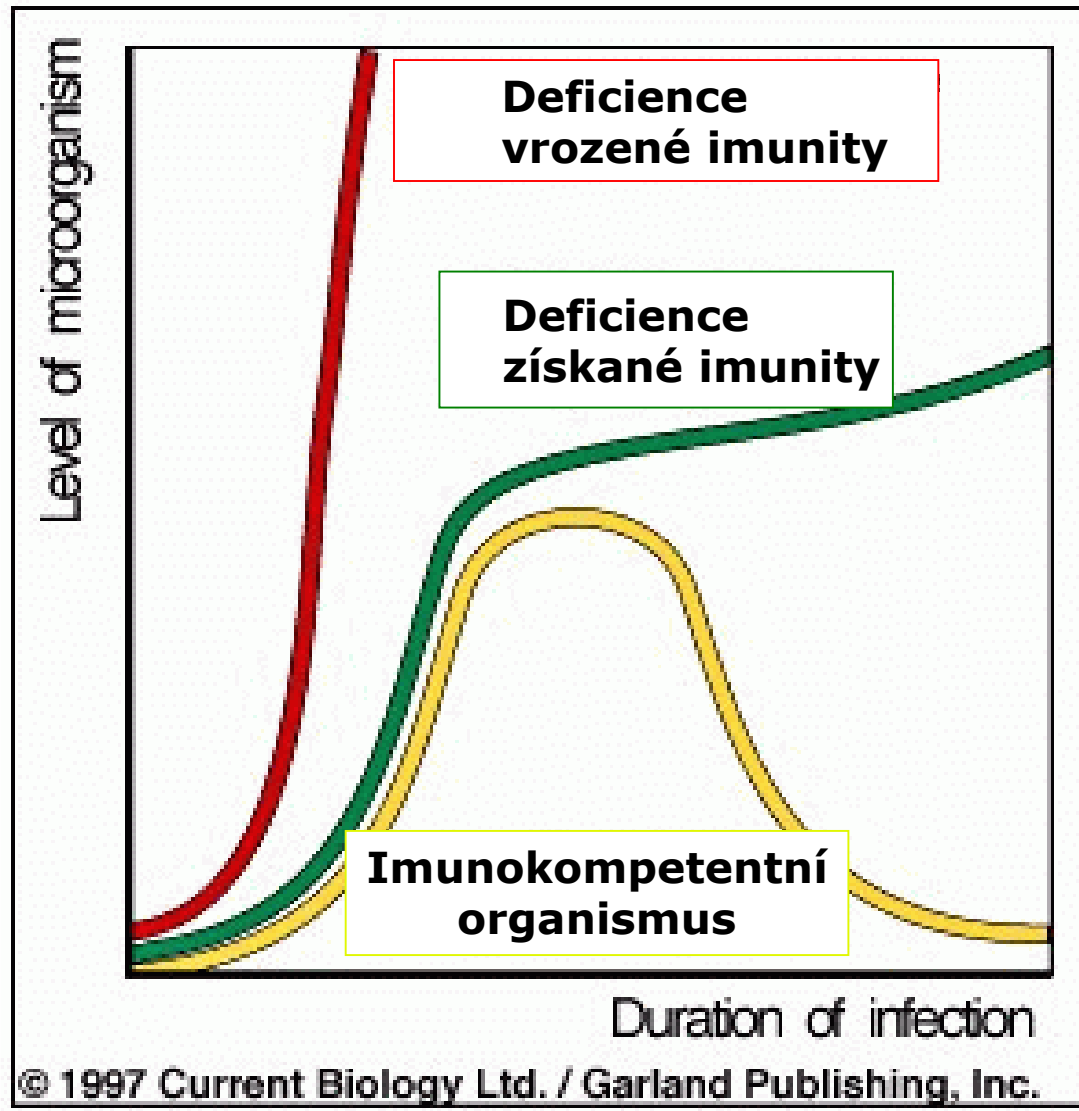
„... za přežití obratlovců při infekcích jsou převážně - tj. více než z 90% - odpovědny vrozené, elementární, mechanismy rezistence, mezi něž patří interferonem aktivované makrofágy, polymorfonukleární fagocyty a četné jiné faktory hostitele...“

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

## IMUNITA VROZENÁ A ZÍSKANÁ

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

# Průběh infekcí u poruch na úrovni vrozené a získané imunity



# SIGNÁLY NEBEZPEČÍ:

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



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

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

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

# Vrozená imunita – poznávané struktury (alarminy)

## Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP)

(C. A. Jeneway, Jr, 1989)

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

*např. lipopolysacharidy, lipopeptidy, peptidoglykany, manosa povrchových struktur bakterií a hub, nemetylované motivy CpG charakteristické*

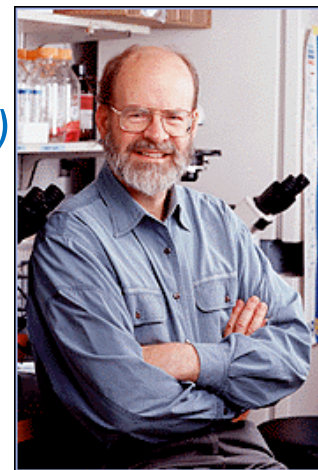
*pro bakteriální DNA, dsRNA reprezentující strukturální signaturu RNA-virů*

## Danger, Damage-Associated Molecular patterns (DAMP)

(Polly Celine Eveline Matzinger, 1994)

molekulární struktury hostitele

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



# Receptory vrozené imunity („PRR“)

## V cirkulaci, rozpustné, sekretované:

lektin vázající manózu ( MBL), C-reaktivní protein

## Na buňkách, membránové:

zprostředkovávající endocytózu ( např. pro manan na makrofázích)

signalizační „Toll-like receptory“, **TLR**

## Intracytoplazmatické:

„Nucleotide-binding oligomerization domain proteins“, **NOD**

„Retinoic acid inducible gene I“, **RIG**

## **PAMPs:**

lipopolysacharid (LPS)

peptidoglykany

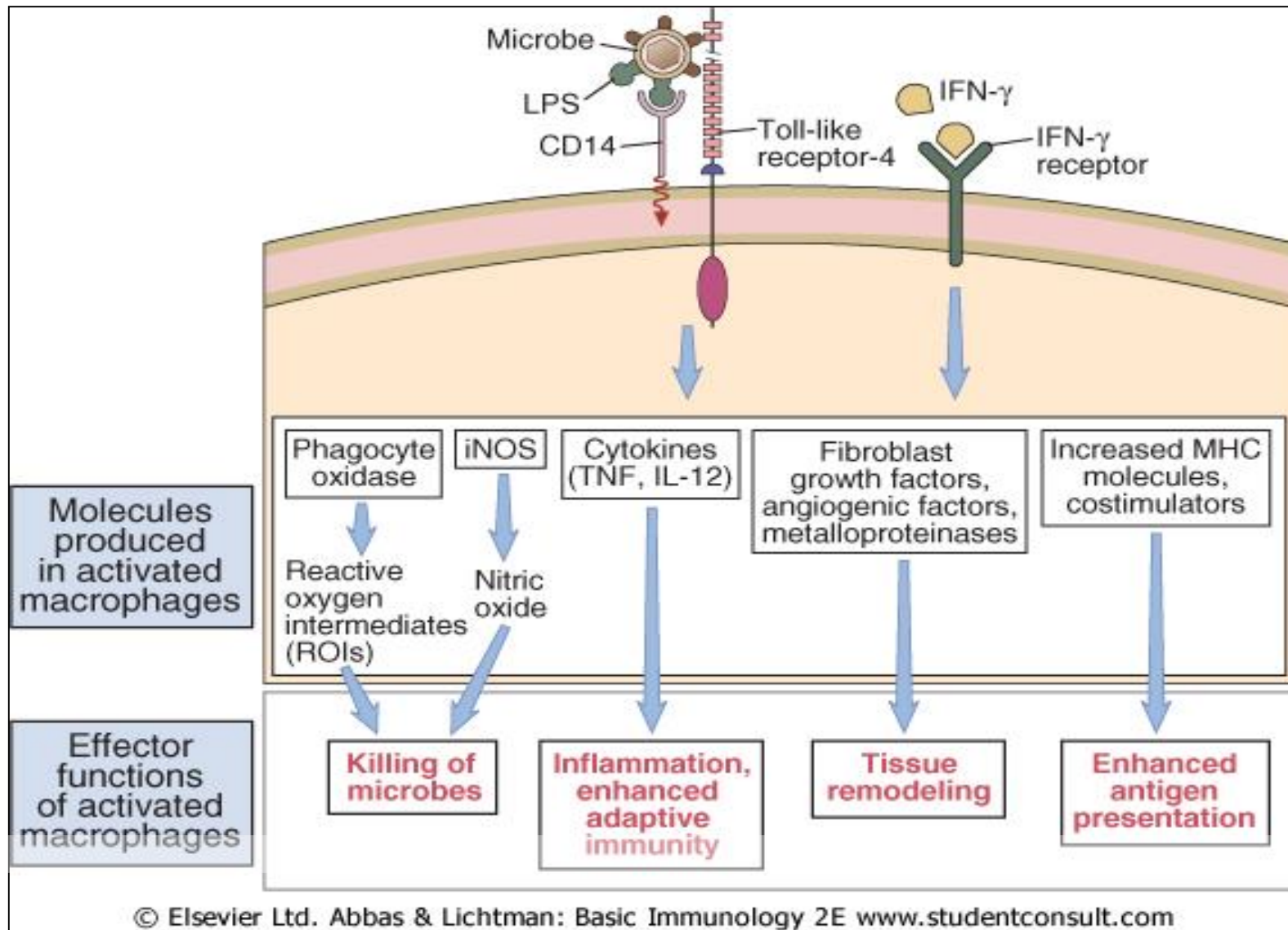
lipoproteiny

manany

glukany

bakteriální DNA

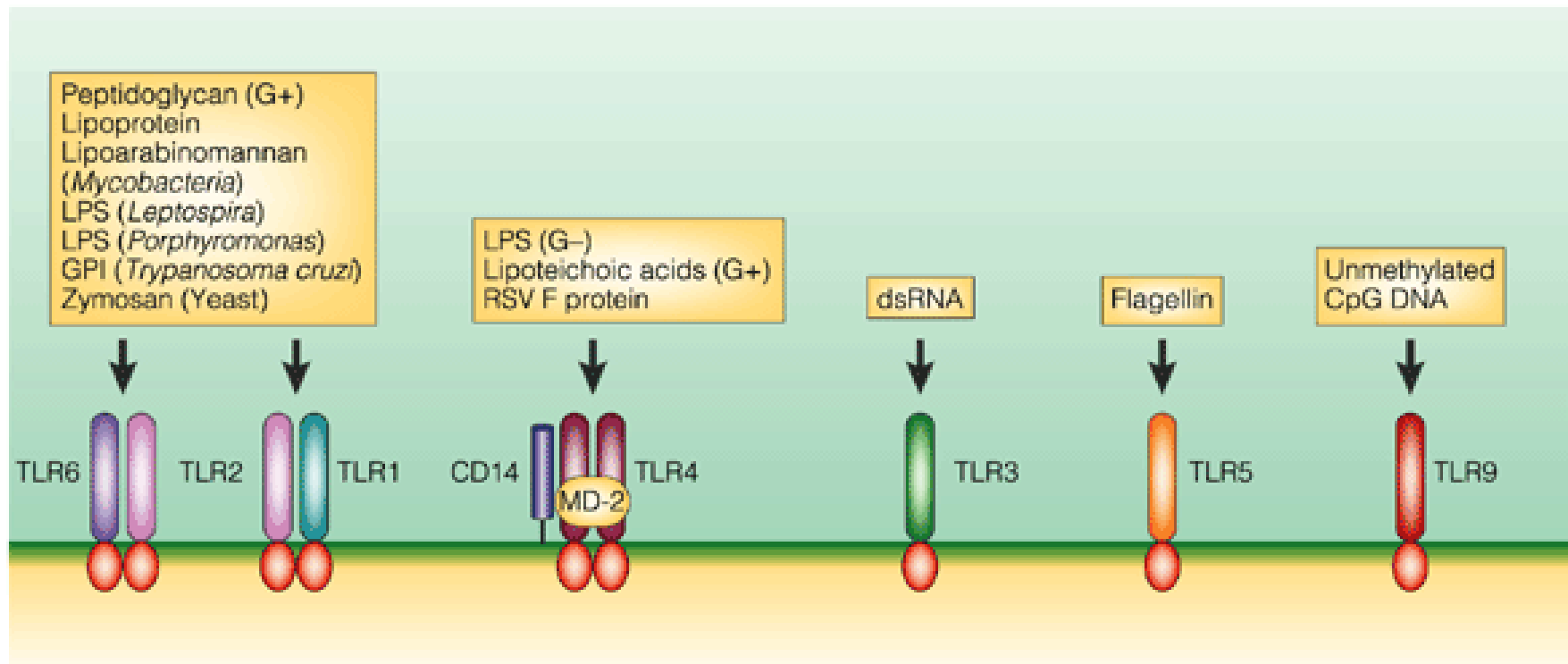
# Aktivace buněk cestou TLR a cytokinových receptorů



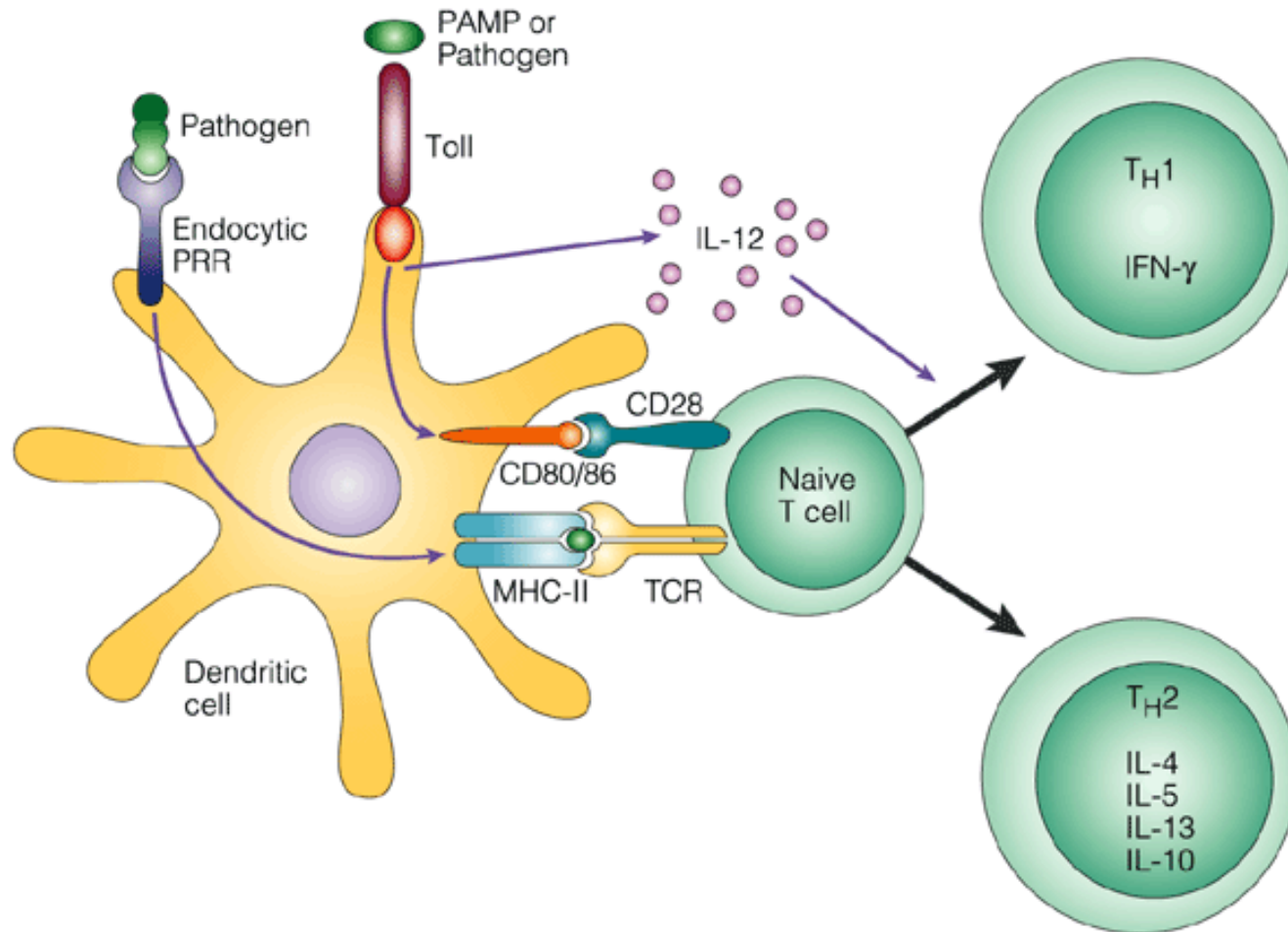
# Signalizace receptory PAMPS

- TLR (stejně jako signalizace cestou IL-1R ) vede k aktivaci signalační dráhy → aktivace transkripčního faktoru NF $\kappa$ B → transkripce několika desítek genů asociovaných s aktivací imunitního systému, především se zánětem.
- NOD receptory – aktivace inflamasomu → aktivace kaspázy 1 → proteolytické štěpení inaktivní formy IL-1 $\beta$  a IL-18, tvorba IFN $\gamma$ .

# TOLL-LIKE RECEPTOR

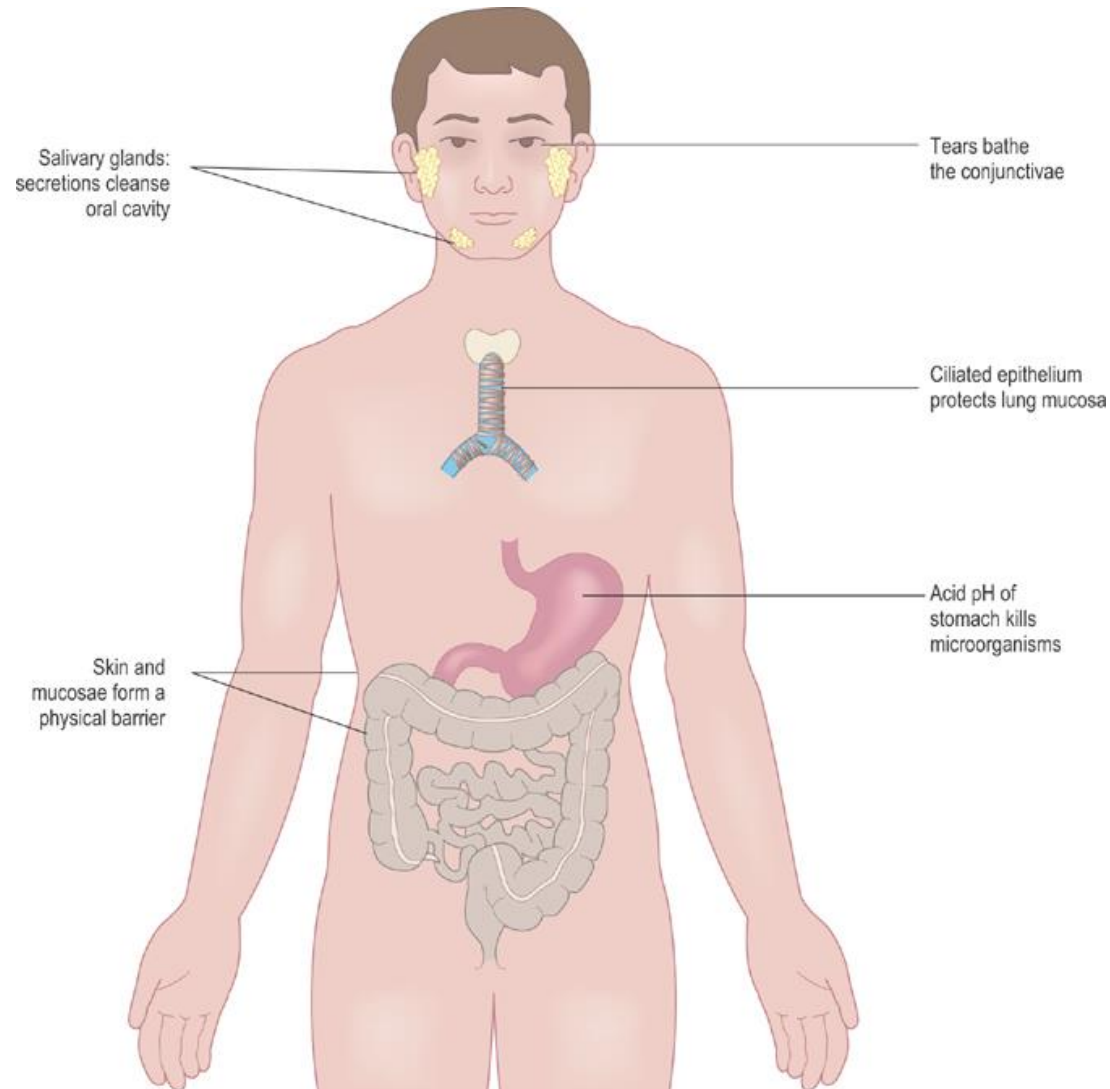


# PAMP jsou důležité v aktivaci dendritických buněk





# Nespecifické ochranné bariéry lidského těla



# Epitelové buňky – první linie imunity

- Mechanická a chemická bariéra
- Pohyb řasinek
- Hlen –muciny
- Lysozym, fosfolipáza A,
- Defensiny ( $\alpha$ , $\beta$ )
- Surfaktantové proteiny (A,D)

Poznávání nebezpečí, poškození (PRR), uvolnění cytokinů, chemokinů, zánětlivých mediátorů-  
ovlivnění imunitních reakcí

# System vrozené imunity

## Celulární složky

Epitelové buňky (antimikrobiální peptidy, cytokiny)

Mastocyty (farmakologicky aktivní)

Profesionální fagocyty (neutrofilní leukocyty, mononukleární fagocyty)

NK buňky (natural killer)

Dendritické buňky (prezentace antigenů)

Innate lymphoid cells

# System vrozené imunity

## Humorální složky

Mikrobicidní faktory (lysozym, defensiny, kathericidiny a další)

Histamin, eikosanoidy

Komplementový systém

Pentraxiny (CRP, SAP, PTX3)

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

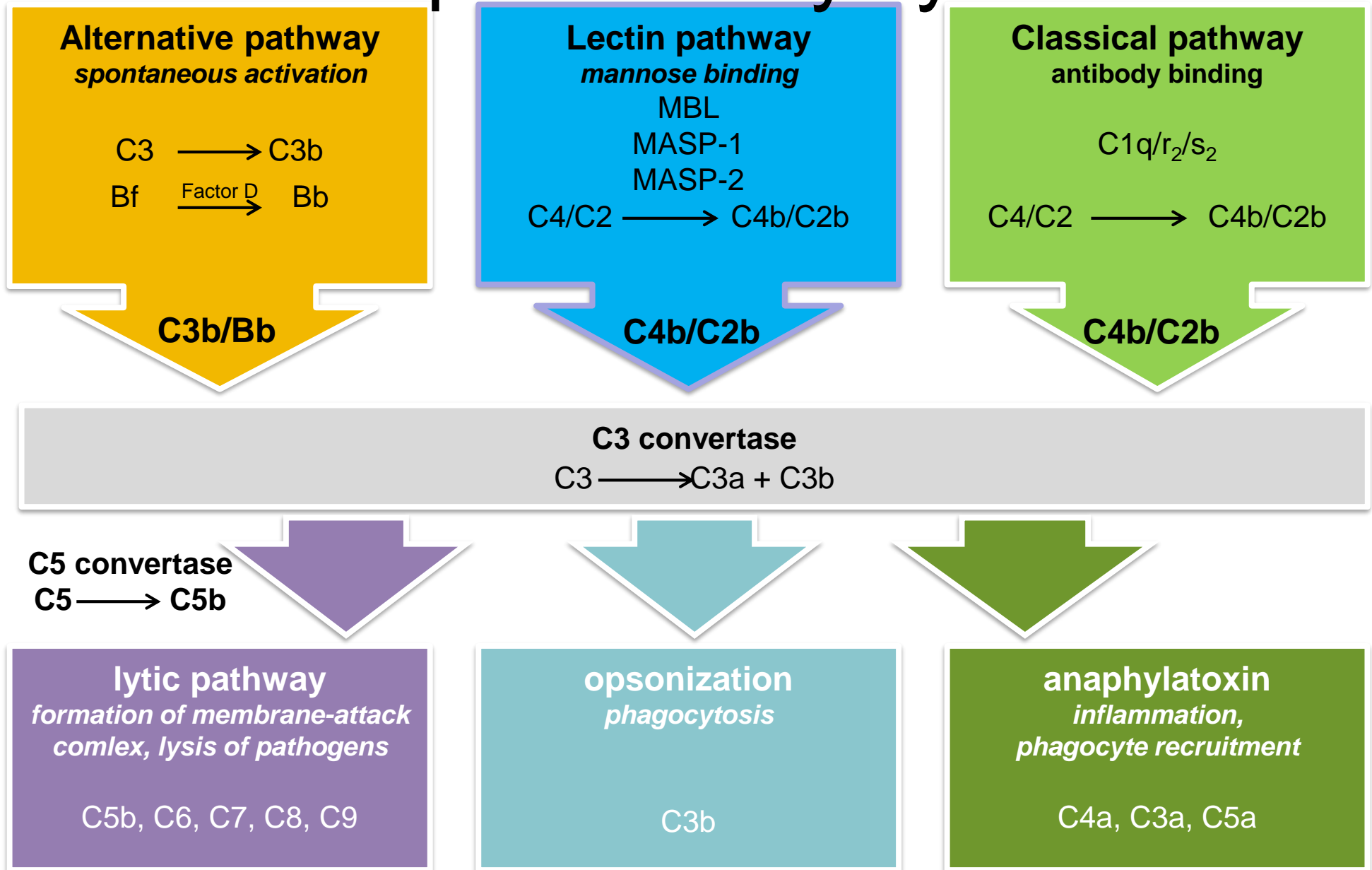
Cytokiny (Interferony  $\alpha, \beta, \gamma$ ,  $\text{TNF}\alpha$ , IL-1, IL-6, chemokiny)

# Komplementový systém

# Všeobecná charakteristika aktivace komplementového systému

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

# Komplementový systém

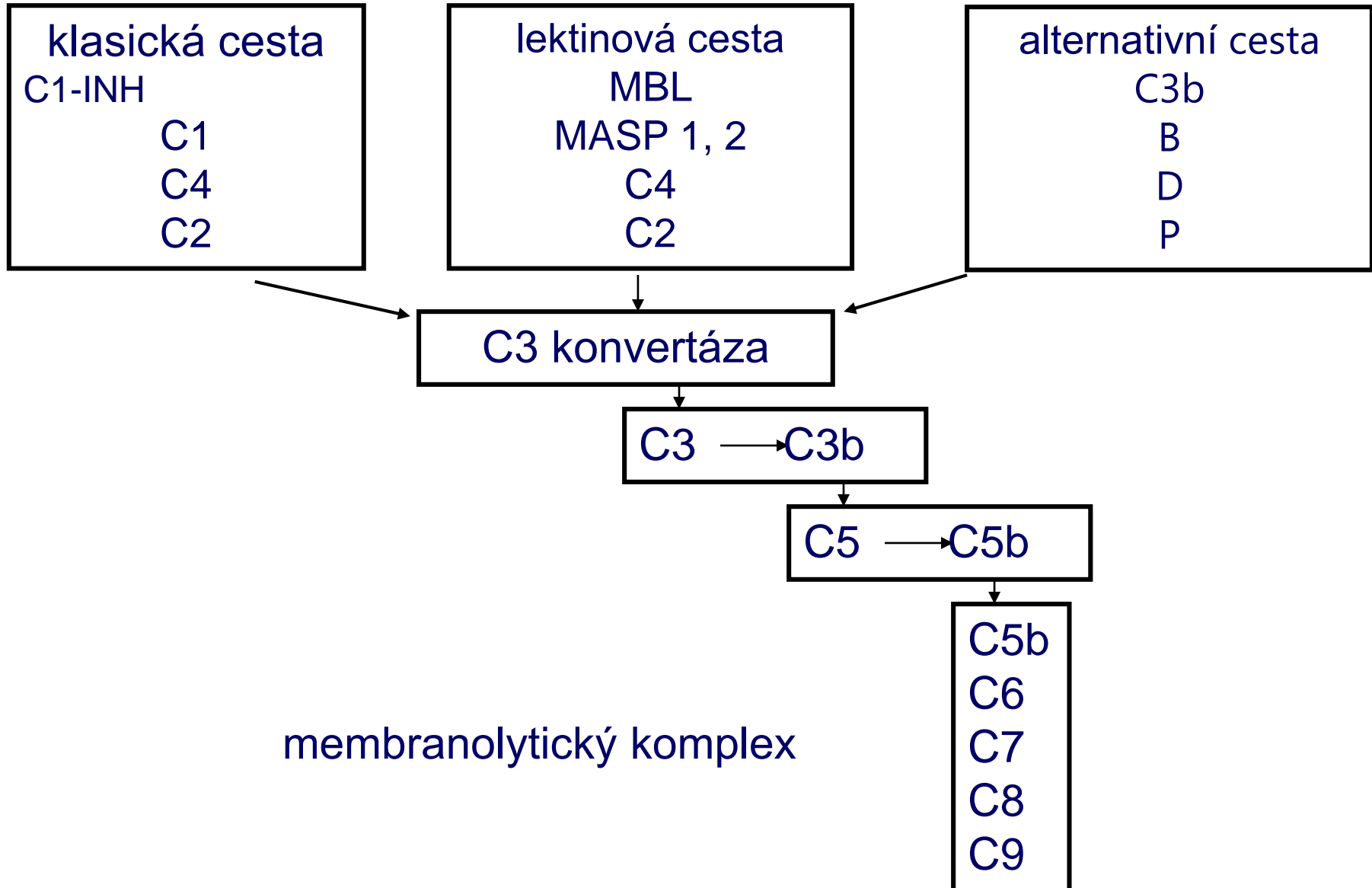


# Aktivace komplementového systému

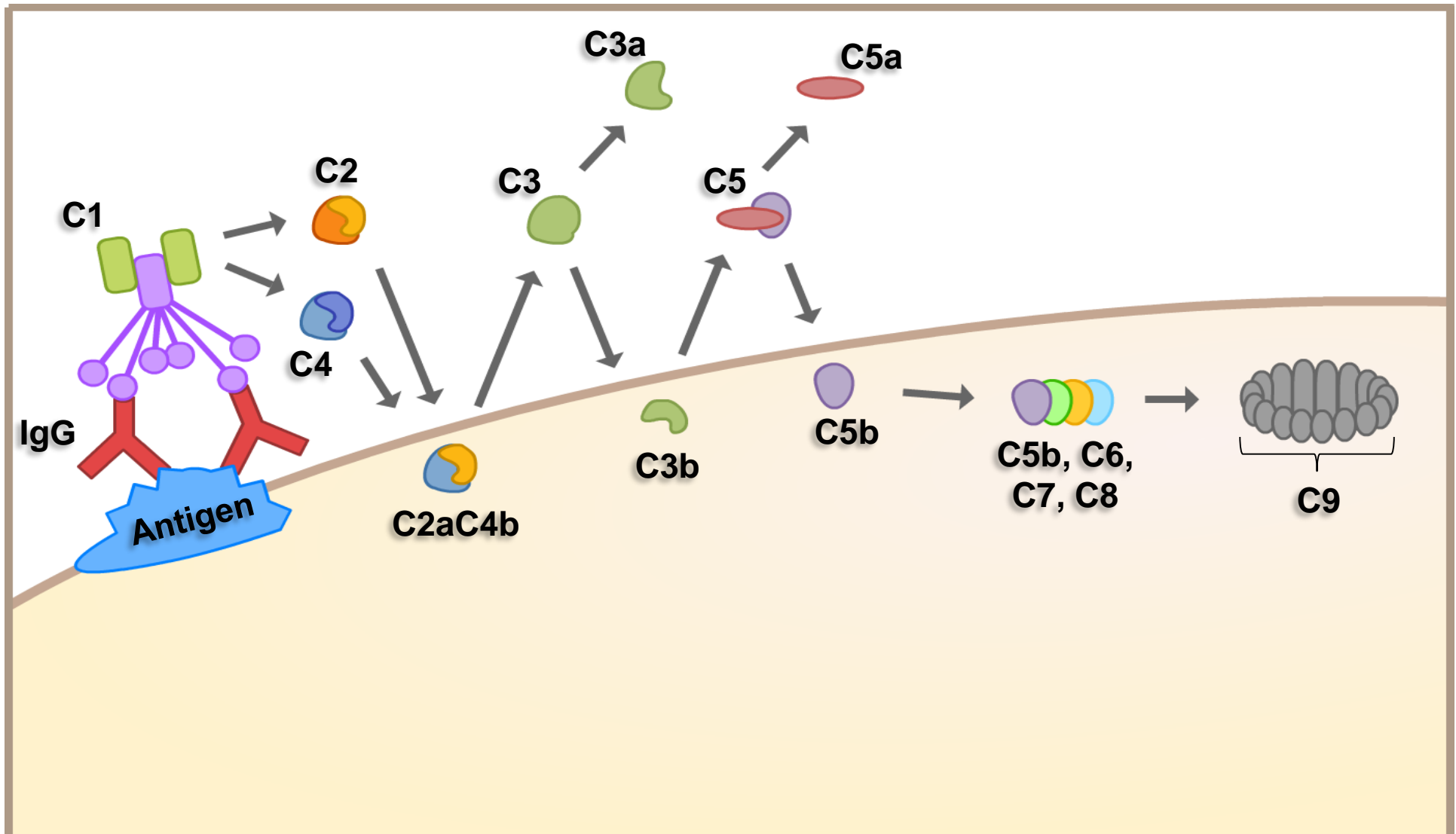
- Klasická cesta:
  - Komplexy IgG-antigen, IgM-antigen,
  - C-reaktivní protein
- Alternativní cesta
  - Lipopolysacharid G- bakterií
  - Buněčná stěna některých bakterií
  - Buněčná stěna kvasinek (zymozan)
  - Agregovaný IgA
- Lektinová cesta
  - Manóza a další sacharidy



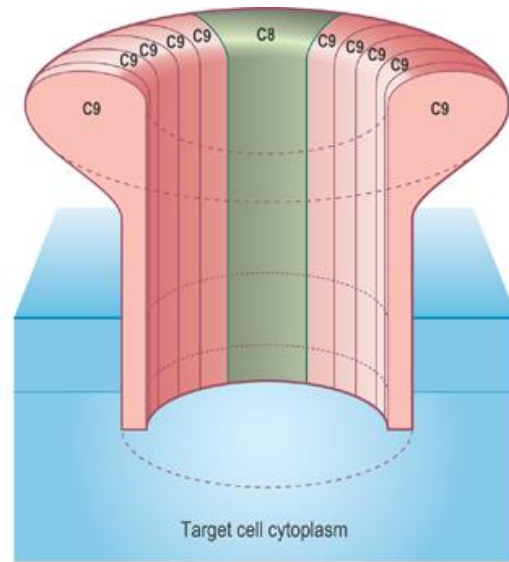
# Aktivace komplementu



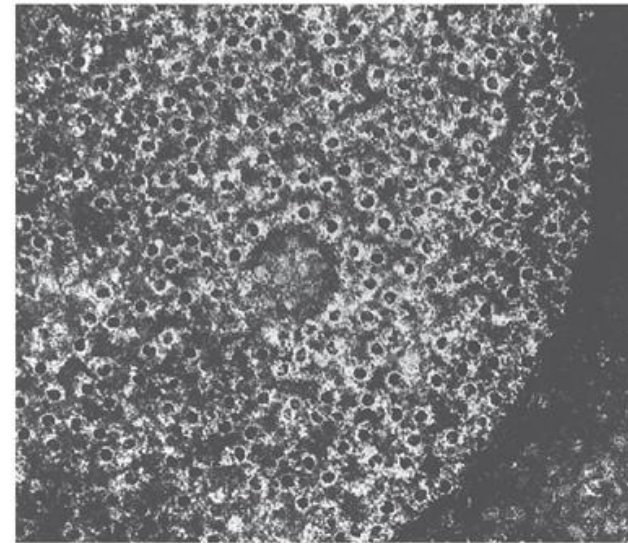
# Aktivace klasické cesty komplementového systému



# Účinek C9 na buněčnou membránu



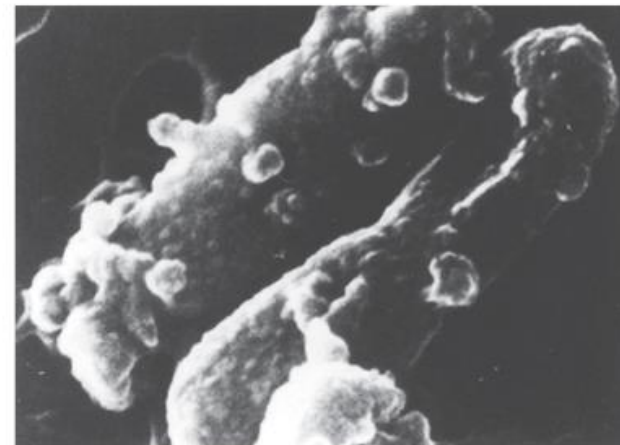
(a)



(b)



(c)

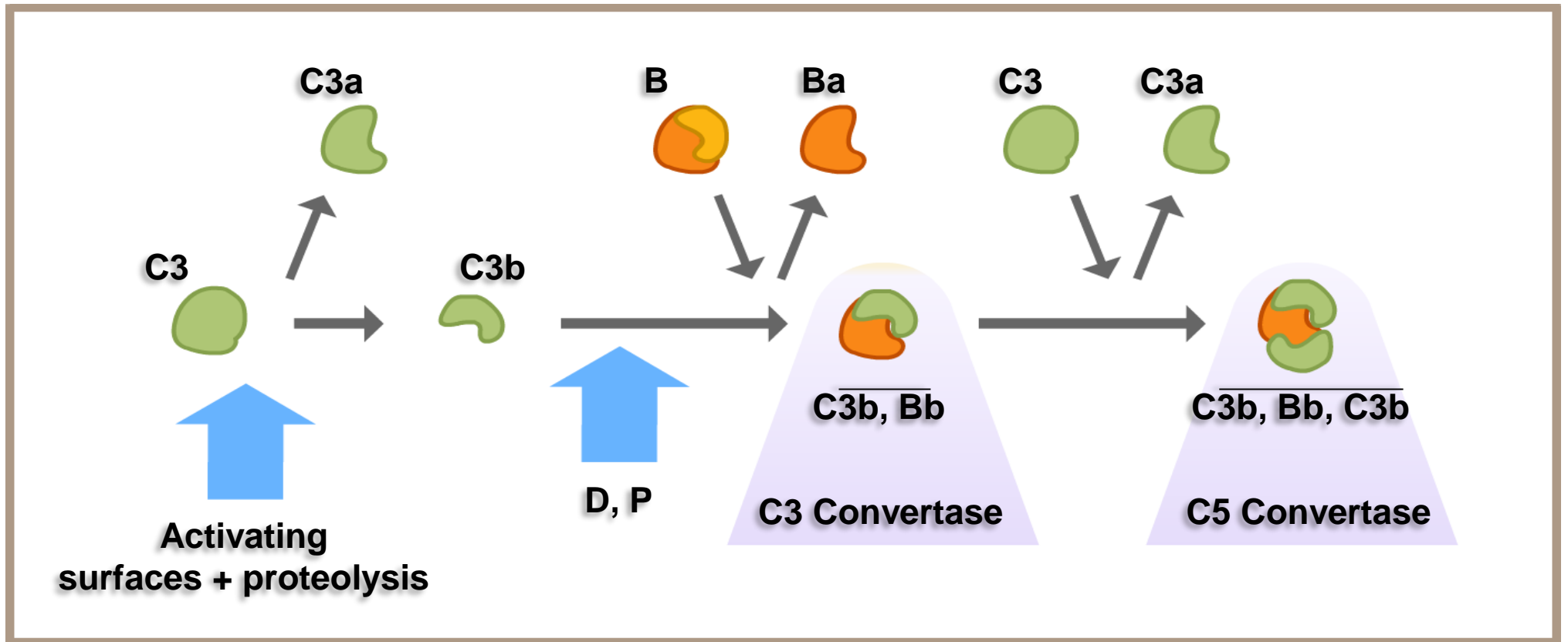


(d)

# Alternativní cesta aktivace komplementového systému

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

# Aktivace alternativní dráhy komplementového systému



# Lektinová (třetí) cesta aktivace komplementového systému.

- Manózu vážící lektin ( MBL) se váže na některé polysacharidy buněčných povrchů.
- Navázaný MBL aktivuje C2 a C4.
- MBL je polymer skládající se ze tří podjednotek.
- Některé polymorfismy exonu i promotoru vedou k velmi nízké hladině („deficitu“) MBL (5-10% populace).
- Většina osob s deficitem MBL nemá žádné imunodeficitní příznaky.

# Regulace aktivity komplementového systému

- Plasmatické faktory
  - Klasická cesta – zejména C1-INH (deficit vede k hereditárnímu angioedému).
  - Alternativní cesta – faktor H (polymorfismy vázány na vznik makulární degenerace sítnice, mutace u části pacientů s hemolyticko-uremickým syndromem), faktor I
- Faktory vázané na buňky:
  - CD59 (brání polymerizaci C9), CD55 (DAF - decay accelerating factor) - inaktivuje C4b a C3b, CD46 – zabraňuje vazbě C3 na buňky.

# Biologické funkce aktivovaných složek komplementového systému

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



# Biologické efekty aktivovaného komplementového systému

- C9 - cytolytický effect
- C3b - opsonizace
- C3a, C5a – anafylotoxiny, histaminoliberace
- C5a - chemotaxin

# Patogenetický význam komplementového systému

- **Deficity složek klasické a alternativní cesty** – náchylnost k bakteriálním infekcím, sklon k systémovým autoimunitním chorobám.
- **Deficit C1-INH:** hereditární angioedém.
- **Mutace regulačního faktoru H** – některé formy atypického hemolyticko-uremického syndromu.
- **Některé polymorfismy faktoru H jsou** vázány s makulární degenerací retiny.
- Paroxysmální noční hemoglobinurie – je způsobena **mutací genu PIG-A** - tento gen kóduje protein potřebný k vytvoření membránové struktury vážící CD 55 a CD 59 - ty chrání chránící membránu před lytickým účinkem komplementu.

# Komplementový systém a klinická medicína

- Sledování hladiny složek C- systému ( C3 a C4) v rámci monitorace zánětlivého procesu, zejména u systémových imunokomplexových chorob ( třeba SLE).
- Monoklonální protilátka proti C5 – **eculizimab** – je používána k léčbě atypického hemolyticko-uremického syndromu, paroxysmální noční hemoglobinurie, je zkoušena u dalších stavů s aktivací komplementového systému.
- Substituce C1 INH je využívána v terapii atak hereditárního angioedému.

# Lysozym

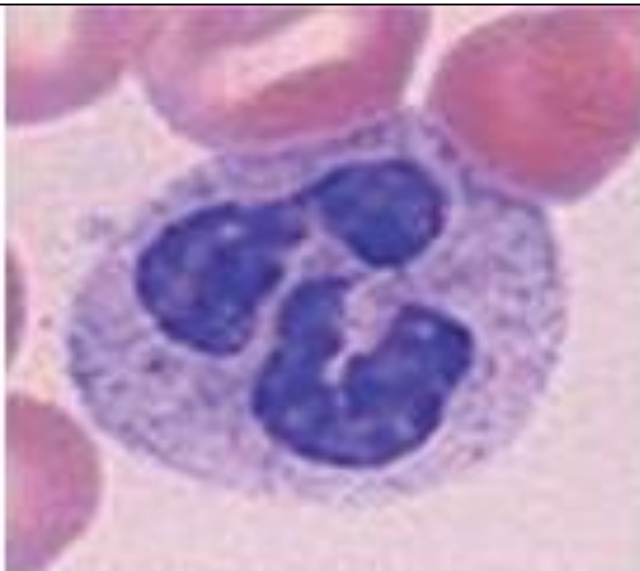
- Enzym katalyzující rozklad polysacharidových řetězců v buněčných stěnách G+ bakterií.
- Přítomen v granulích granulocytů, plazmě, sekretech

# Defensiny

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

# Fagocytóza

# Polymorfonukleární granulocyt



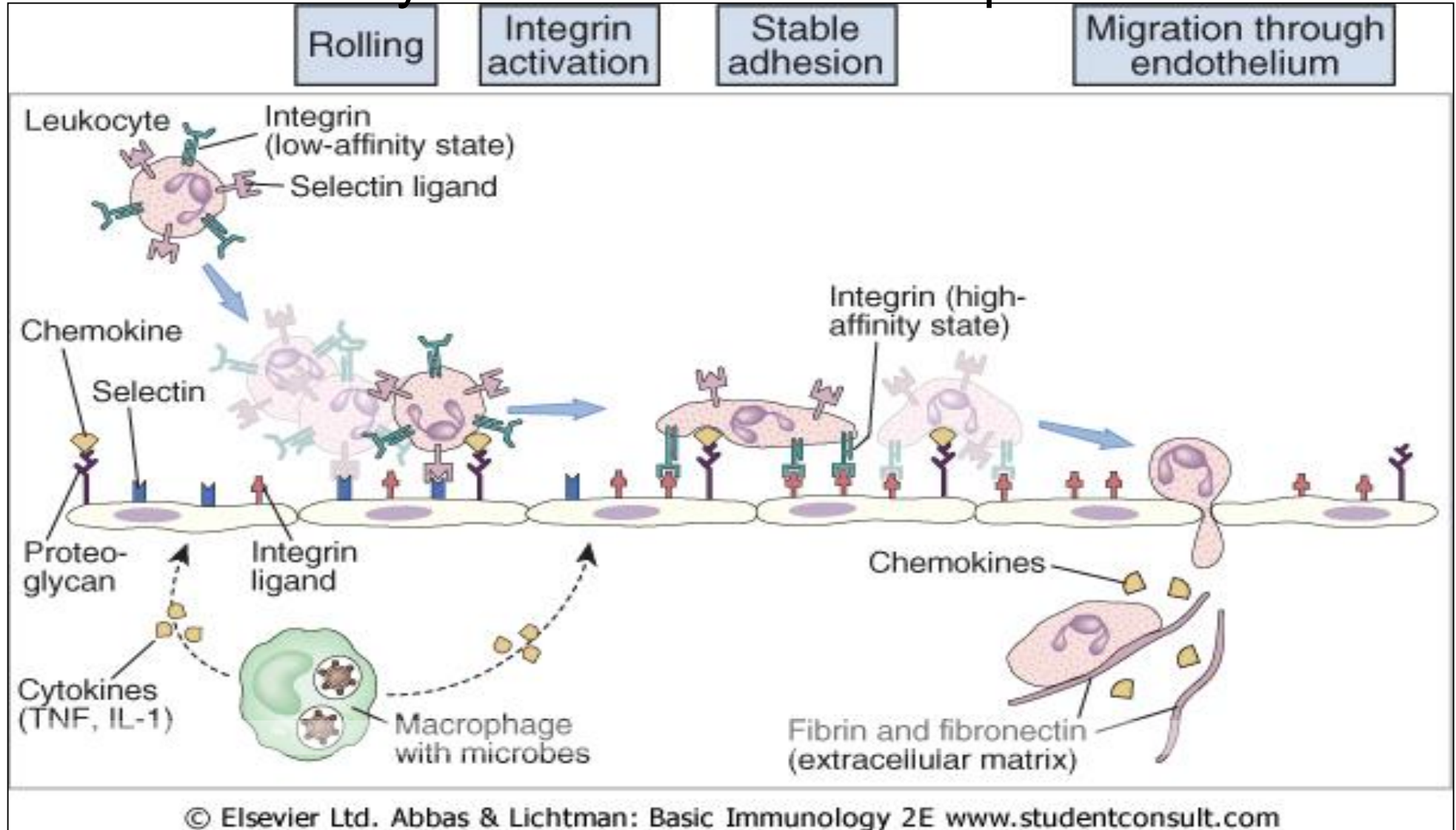
© Elsevier Ltd. Abbas & Lichtman: Basic Immunology 2E [www.studentconsult.com](http://www.studentconsult.com)

# Profesionální fagocyty imunitního systému

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



# Interakce leukocytů s endoteliem při přechodu leukocytu z cévy do extravaskulárního prostoru



# Dvě fáze interakce mezi fagocyty a cévní stěnou

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

# Leukocyte adhesion deficiency (LAD)

- Velmi vzácné primární poruchy fagocytózy (primární imunodeficience)
- Příčinou je porucha interakce granulocyt-endotelie.
- LAD-I je působen deficitem intergrinů ( $\beta$ -2 integriny)
- LAI-II porucha sialyl-Lewis<sup>x</sup>
- Závažné nekrotizující flegmonosní záněty, poruchy hojení ran, porucha odhojování pupečníku
- Granulocyty nejsou přítomny v exudátu, naopak v cirkulaci je výrazná granulocytóza.

# Natalizumab

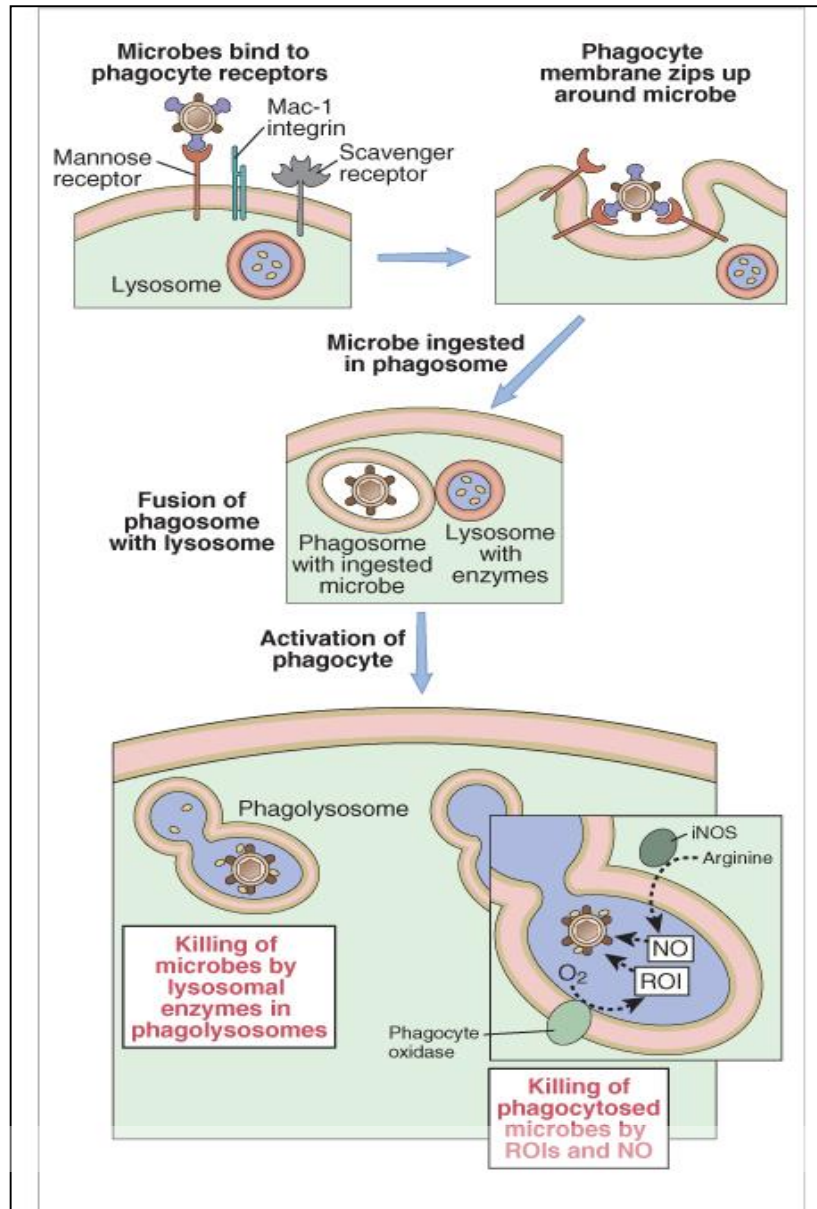
- Humanizovaná monoklonální protilátka vážící se na  $\alpha_4$  integrin (ten se váže se na integrinový receptor VCAM-1).
- Dochází k blokaci adheze a následného přestupu leukocytů (hlavně T-lymfocytů) do extravaskulárních prostor.
- Využíváno v léčbě roztroušené mozkomíšní sklerózy, nově i Crohnovy choroby.

# Chemotaxiny

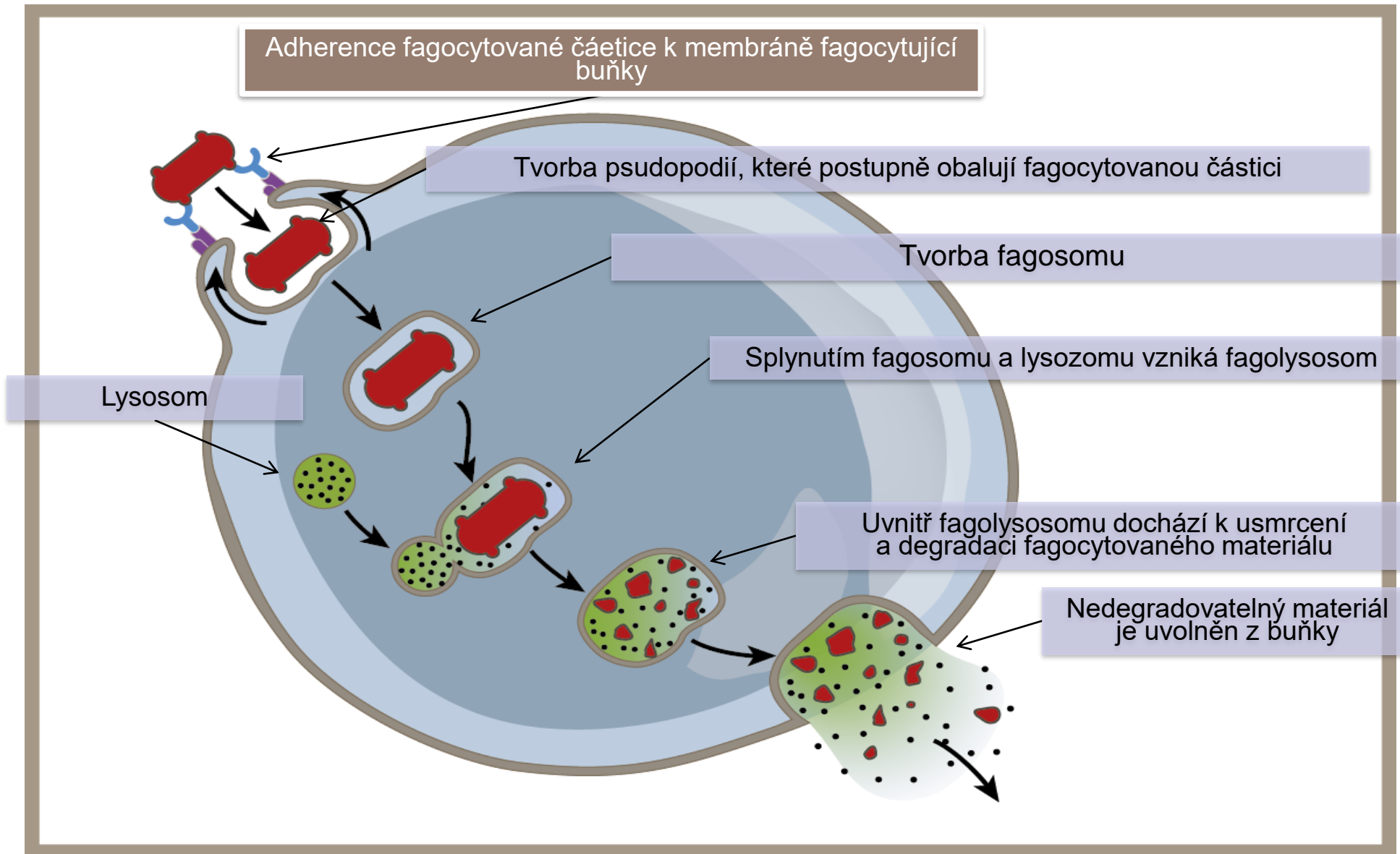
- Produkty rozpadu buněk
- C5a
- IL-8, IL-1
- Leukotrieny
- Destičky aktivující faktor (PAF)

# Opsoniny

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



# Jednotlivá stadia fagocytózy





# Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

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

# Přirození zabíječi (NK buňky)

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

# Přirození zabíječi (NK buňky)

aktivační receptory poznávají proteinové a sacharidové struktury patogenů na povrchu terčových buněk a neklasické molekuly MHC

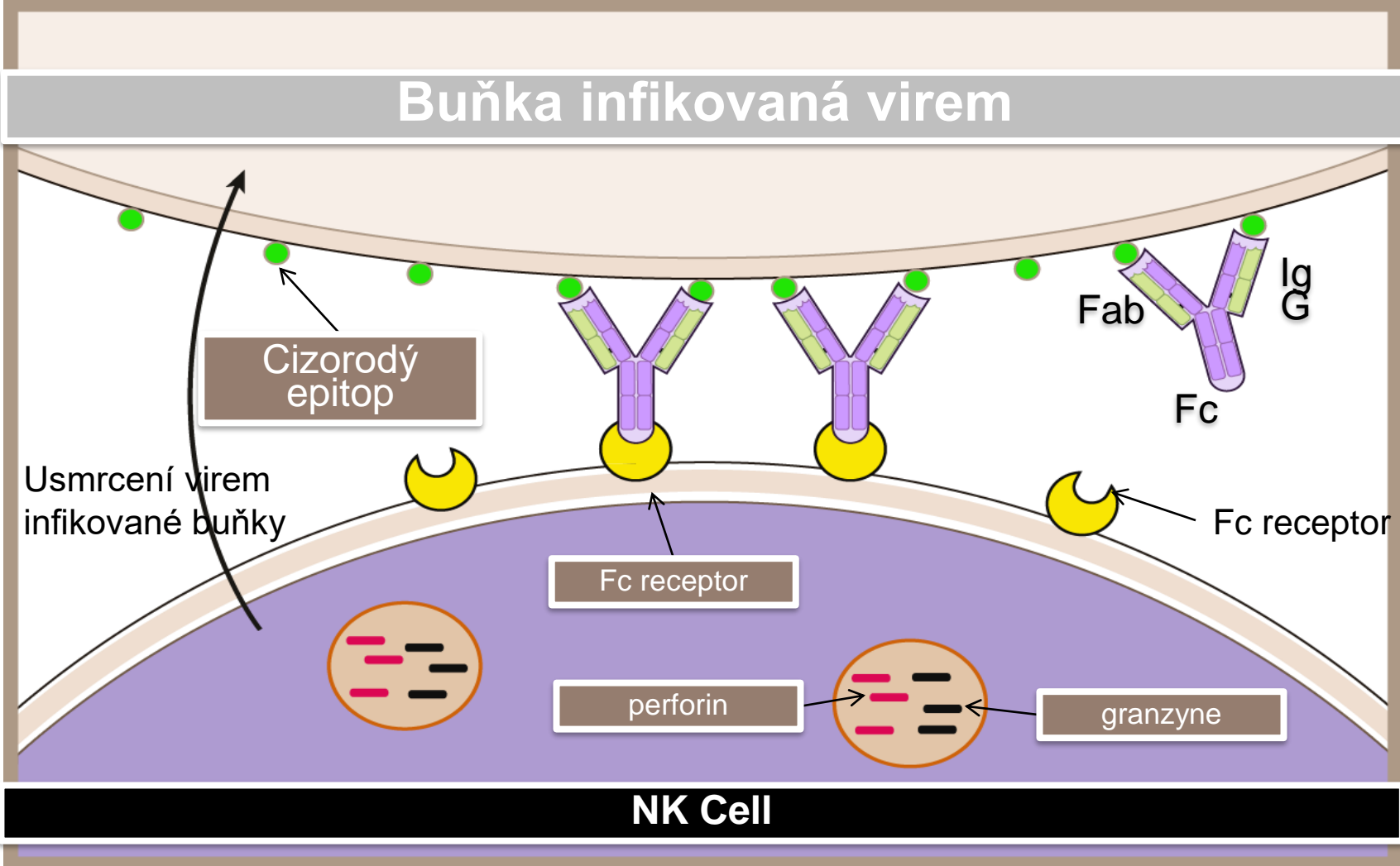
inhibiční receptory poznávají klasické molekuly MHC I bez ohledu na identitu peptidů, které jsou na ně vázány

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

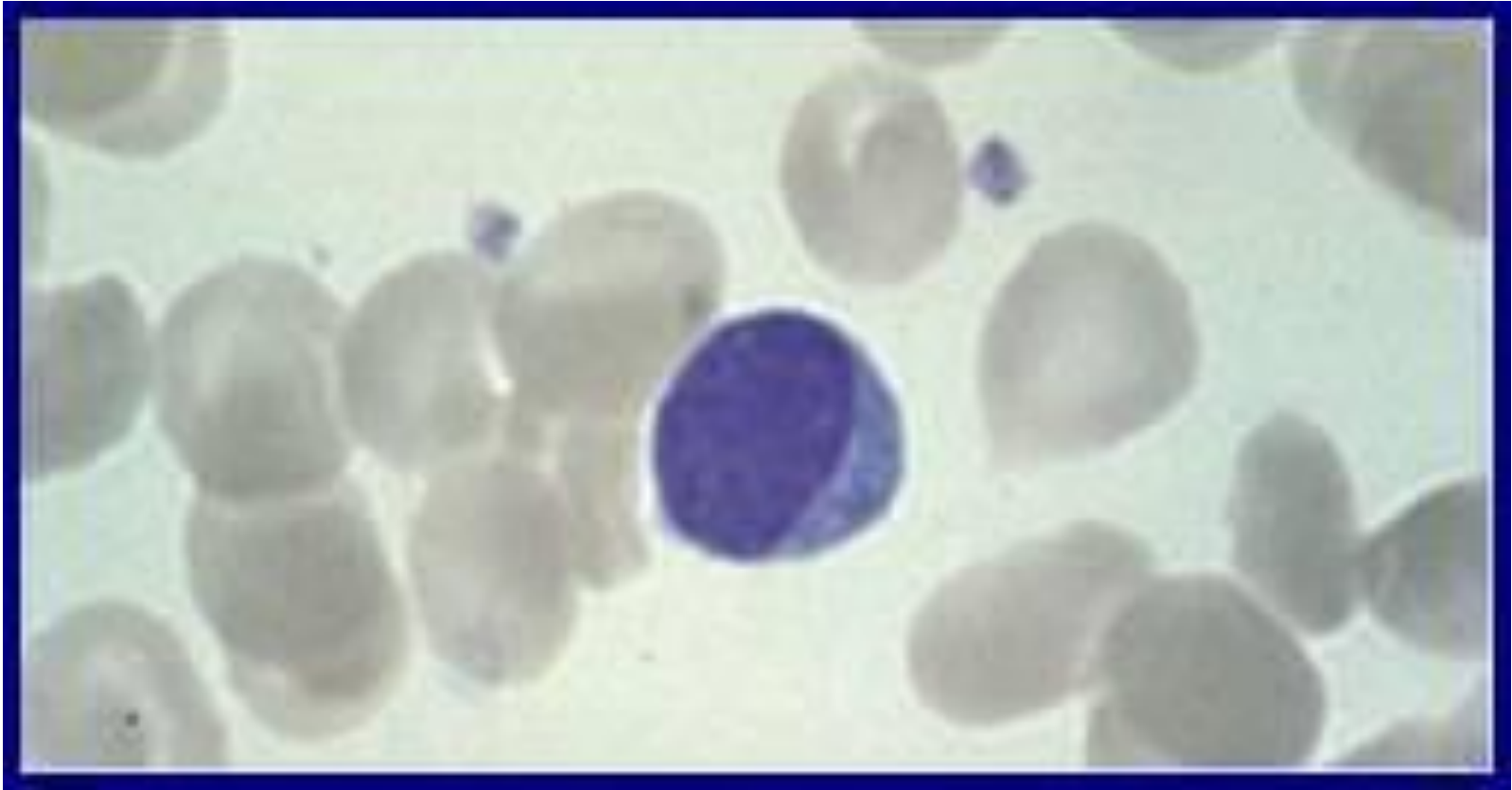
# Přirození zabíječi (NK buňky)

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

# Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



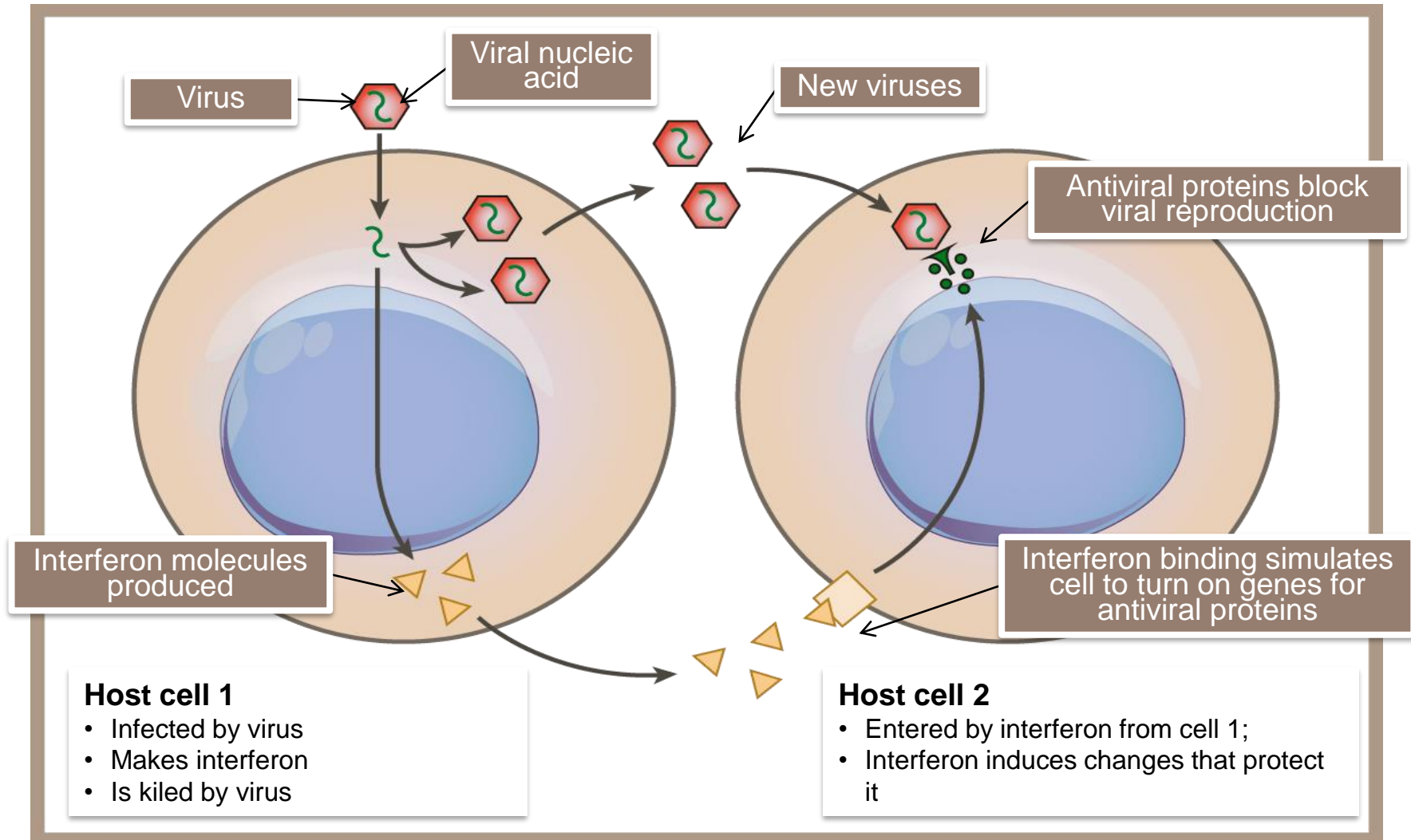
# Large granulated lymphocyte



# Interferony (IFN)

- Typ 1: IFN  $\alpha$ , IFN  $\beta$  – jsou produkována některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, granulocyty). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.
- Typ 2 - „Imunní“: IFN  $\gamma$ : produkován aktivovanými  $T_H1$  buňkami, NK buňkami, způsobuje především aktivaci makrofágů.
- Interferony 3. typu - IFN  $\lambda$  – podobné IFN-I

# Mechanismus účinku interferonu





# Antivirový efekt interferonů typu 1

- Vazba na specifický receptor (heterodimer) infikovaných i dosud zdravých buněk.
- Aktivace řady protivirvých mechanismů:
  - IF-2 proteinkináza – fosforyluje (tím deaktivuje) iniciační faktor IF-2 – nutný pro proteosyntézu.
  - 2'5' oligoadenylát syntetáza – aktivace ribonukleáz štěpících virovou RNA.

# Innate lymphoid cells (ILC)

- Vznikají ze společného lymfoidního prekurzoru.
- Nemají antigen-specifické receptory.
- Nejsou aktivovány v lymfoidních orgánech ale přímo v tkáních ( kůže, sliznice...).
- Po různých aktivačních stimulech produkují řadu cytokinů.
- Odpověď je rychlá, nedochází ke klonální expanzi.

# Innate lymphoid cells (ILC)

- NK buňky – tvorba IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$
- ILC1 – transkripční faktor T-bet, produkce IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  (analog TH1)
- ILC2 – transkripční faktor GATA3, produkce IL-5, IL-13, IL-6 ( analog Th2)
- ILC3 – transkripční faktor ROR $\gamma$ C, tvorba IL-17, IL-22 (analog Th17)

Zánět

# ZÁNĚT

- **Základní obranná reakce organismu na infekční i neinfekční podněty, vedoucí k poškození buněk, tkání, orgánů.**
- **Součást efektorových mechanismů adaptivní imunity.**
- **Zánětlivá reakce je primárně prospěšná. Pokud je dysregulována, způsobuje poškození lokálně i celkově.**
- ***Zánětlivá dráha:***  
***induktory – sensory – mediátory***

# ZÁNĚT

Fyziologický účel:

Obrana hostitele proti infekci

Reparace poškozené tkáně

Adaptace na stres, obnovení homeostázy

# Zánět (akutní)

- Jedná se o rychlou odpověď organismu na poškození tkání nebo infekci
- Hlavní roli hrají složky nespecifické imunity
- Hlavní události v místě zánětu
  - Vznik vasoaktivních a chemotaktických látek, často produktů aktivace komplementového systému.
  - Zvýšený přítok krve do místa zánětu.
  - Příliv zánětotvorných buněk, zejména granulocytů a makrofágů.
  - Zvýšená cévní permeabilita vede k přechodu bílkovin do extravaskulárních prostorů.

# ZÁNĚT

Induktory:

exogenní:

mikrobiální (PAMP, faktory virulence)

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

endogenní:

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

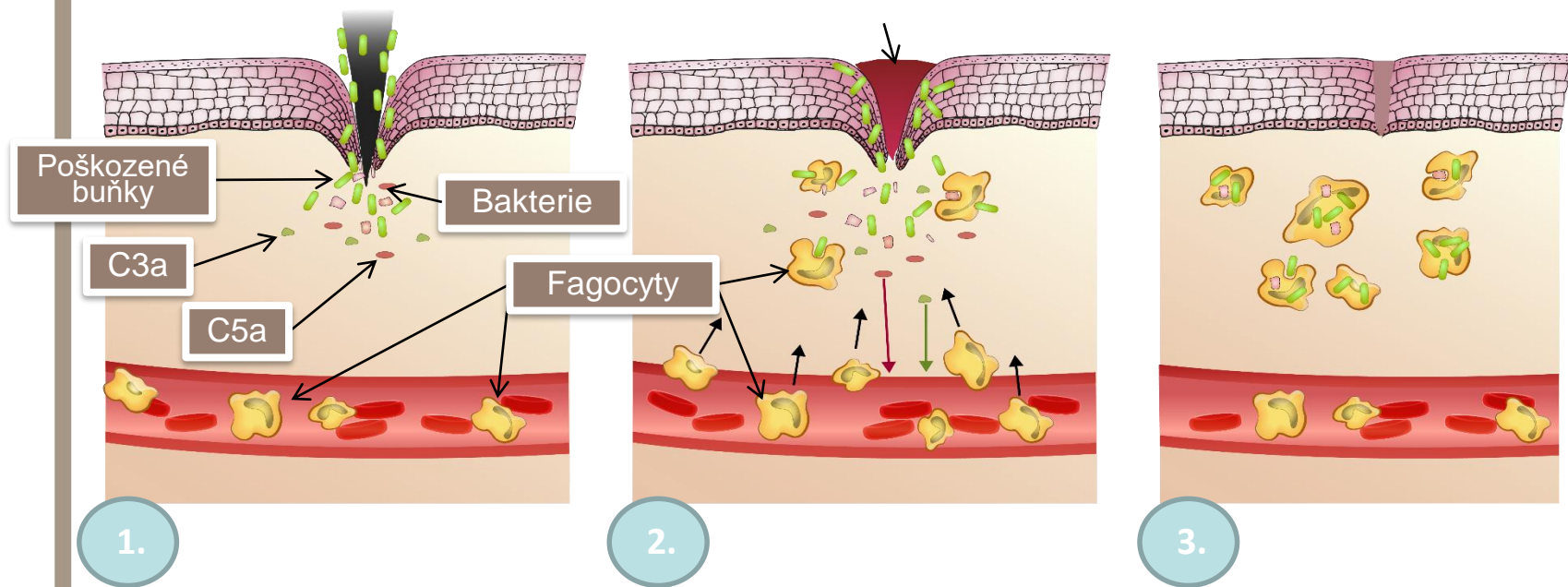


# Iniciace zánětlivé odpovědi

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

Histamin způsobuje zvýšenou permeabilitu kapilár a následný průnik fagocytujících buněk

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



# Lokální mediátory zánětu

- Produkty kininového systému, komplementového systému, koagulačního systému. Obvykle C3a a C5a hrají velmi důležitou roli.
- Vasoaktivní aminy – histamin, serotonin - uvolněné z poškozených buněk, stimulovaných mastocytů.
- Metabolity kyseliny arachidonové leukotrieny, prostaglandiny 5-HETE
- Platelet activating factor
- Produkty mononocytů, neutrofilů: IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-18, chemokiny, NO,
- Produkty aktivovaných lymfocytů - TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , chemokiny

# Celkové příznaky zánětu

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

# Proteiny akutní fáze

- Jejich hladina se zvyšuje v 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...

# C-reaktivní protein

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

# ZÁNĚT (chronický)

Patologické následky:

Zánětlivé poškození tkání, autoimunitisace,  
systémová zánětlivá reakce.

Fibrosa, metaplasie, růst tumoru.

Změna homeostatického nastavení,  
autoinflamace

# **AUTOINFLAMACE**

**patologický důsledek dysregulace zánětlivé reakce**

**Skupina onemocnění, kdy dysregulace zánětlivé odpovědi vede nejčastěji ke vzniku periodických horeček a dalších příznaků asociovaných se zánětlivou odpovědí.**

**Nejznámější je středozevní periodická horečka.**

**V současné době jsou známy desítky dalších onemocnění způsobených poruchou regulace inflammasomu, receptorů pro zánětlivé cytokiny, tvorby zánětlivých cytokinů a dalších genů účastnících se zánětlivé reakce.**

# Nejdůležitější léky využívané k tlumení zánětlivých procesů

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