

Imunitní systém

Marcela Vlková

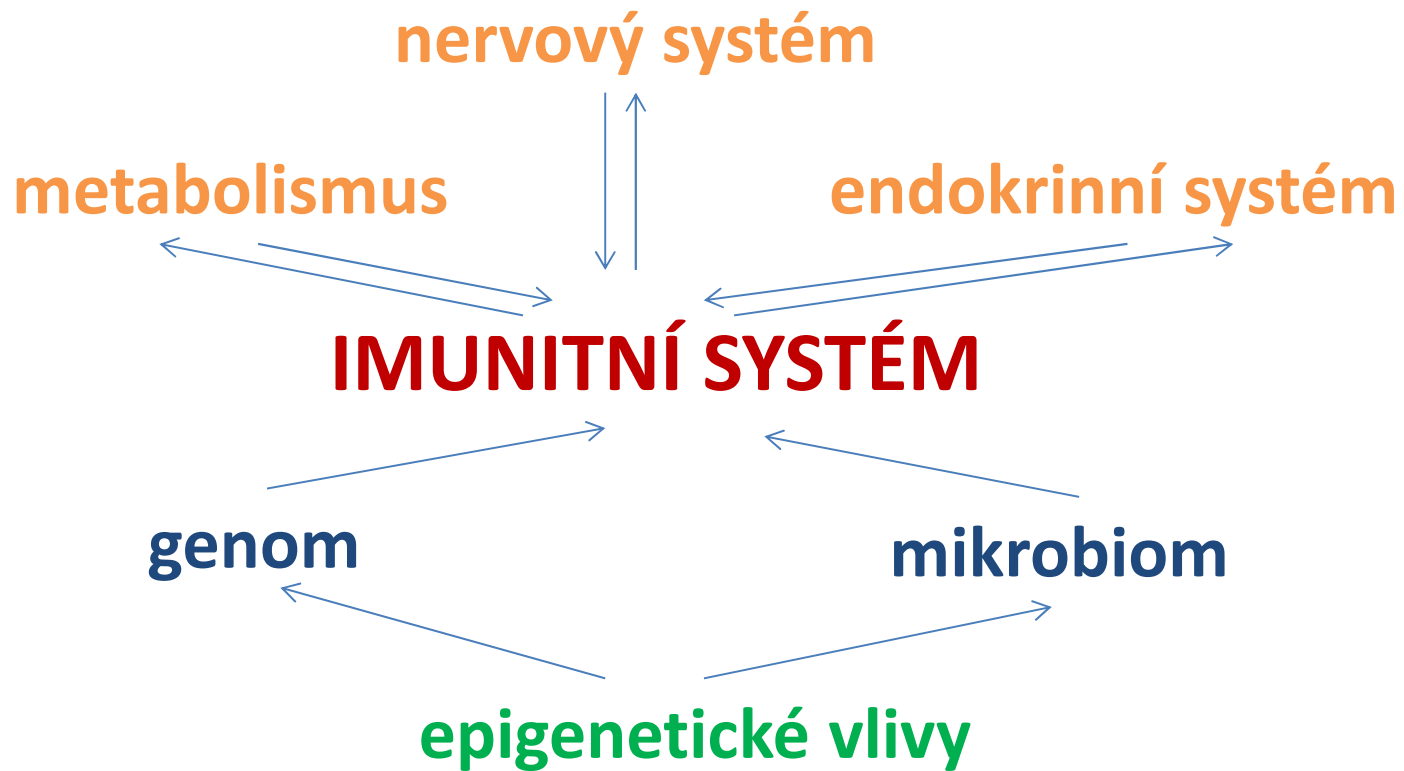
Imunitní systém

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

Imunitní systém – složka celotělového informačního systému

- Schopen přijímat podněty prostřednictvím receptorů
- Podněty kvalitativně a kvantitativně vyhodnocuje
- Na podněty reaguje efektorovou aktivitou
- Shodné rysy s hormonální a nervovou soustavou
- Vzájemně se funkčně i strukturně provazují
- Mají schopnost odpovídat na všechny druhy přicházejících podnětů

IMUNITNÍ SYSTÉM JAKO SOUČÁST ORGANISMU



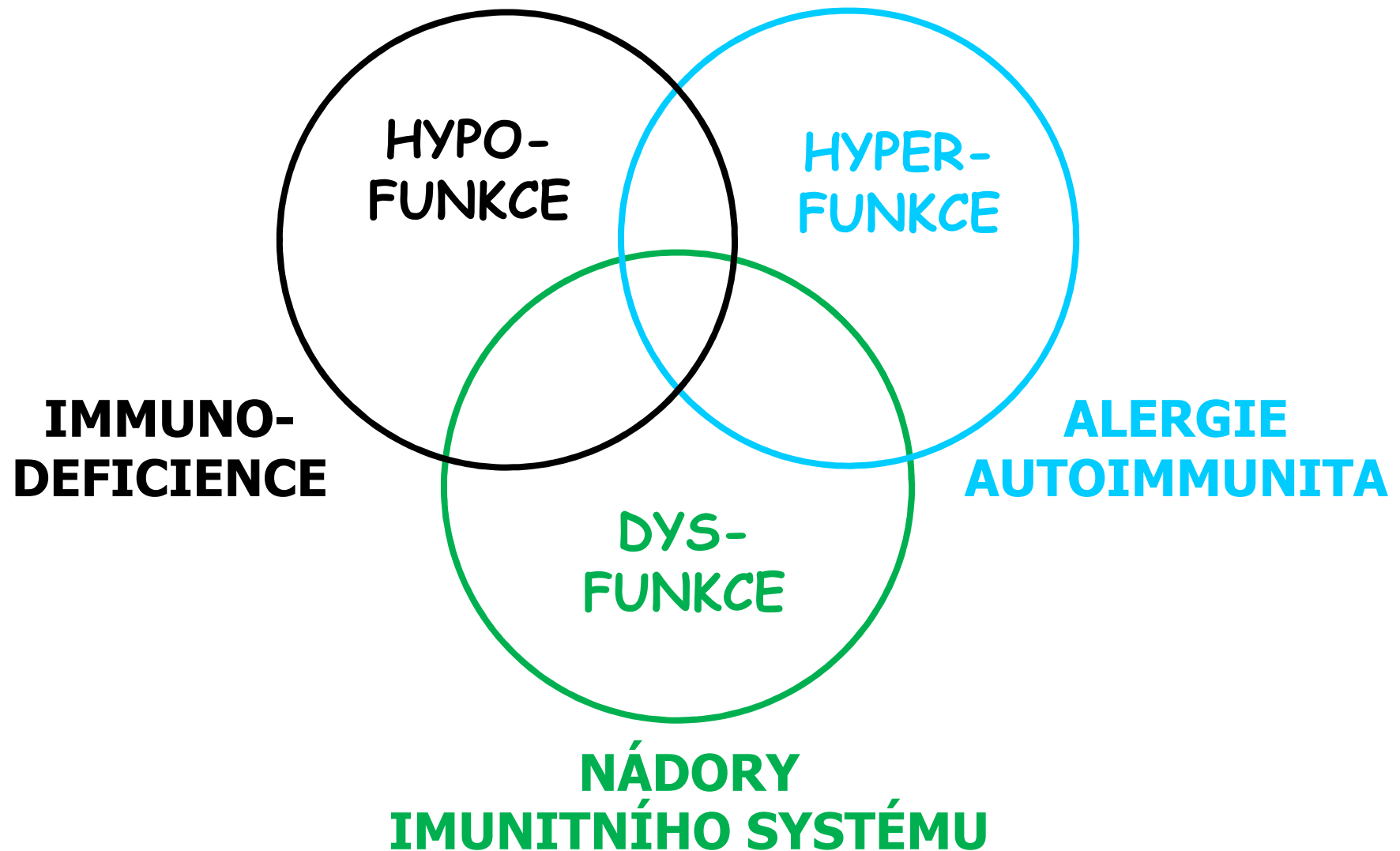
Úloha imunitního systému

- Reaguje s cizorodými/nebezpečnými substancemi z vnějšího prostředí (zejména antimikrobiální ochrana).
- Účastní se odstraňování starých a poškozených buněk vlastního těla.
- Napadá nádorové a viry infikované buňky vlastního těla.

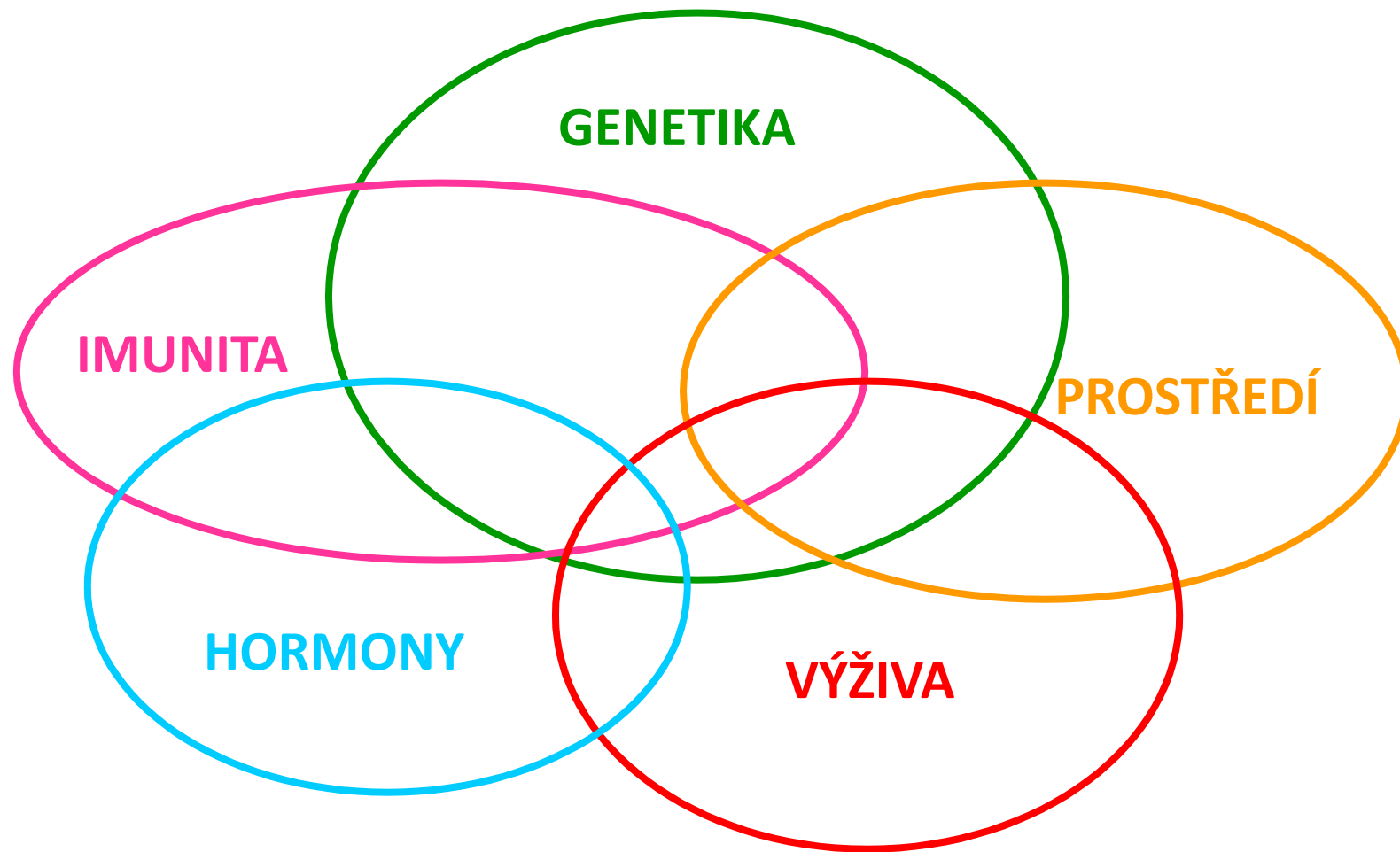
Přenos informací v imunitním systému

- Prostřednictvím membránových interakcí:
- Blízký kontakt buňka- buňka
- Membránové receptory na buňkách IS reagují s odpovídajícími ligandy na jiných buňkách IS nebo jiných buňkách - přenos aktivačního signálu
- Vzdálený kontakt: buňka – biologicky aktivní látka
- Kontakt je opět veden přes buněčný receptor – přenos aktivačního signálu

Poruchy imunitního systému



Kombinace faktorů podmiňujících vznik autoimunitních chorob

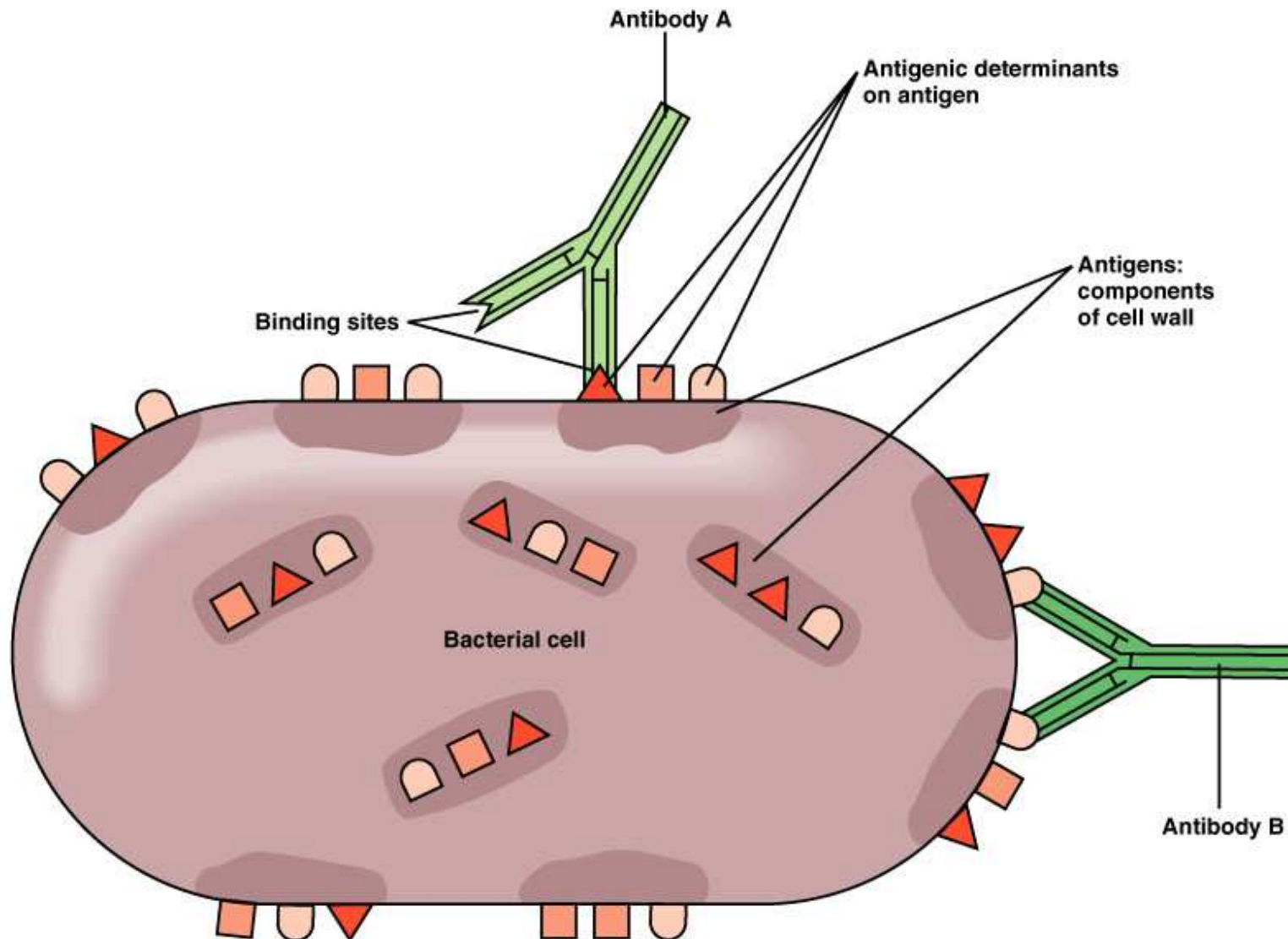


Imunitní systém - základní pojmy

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

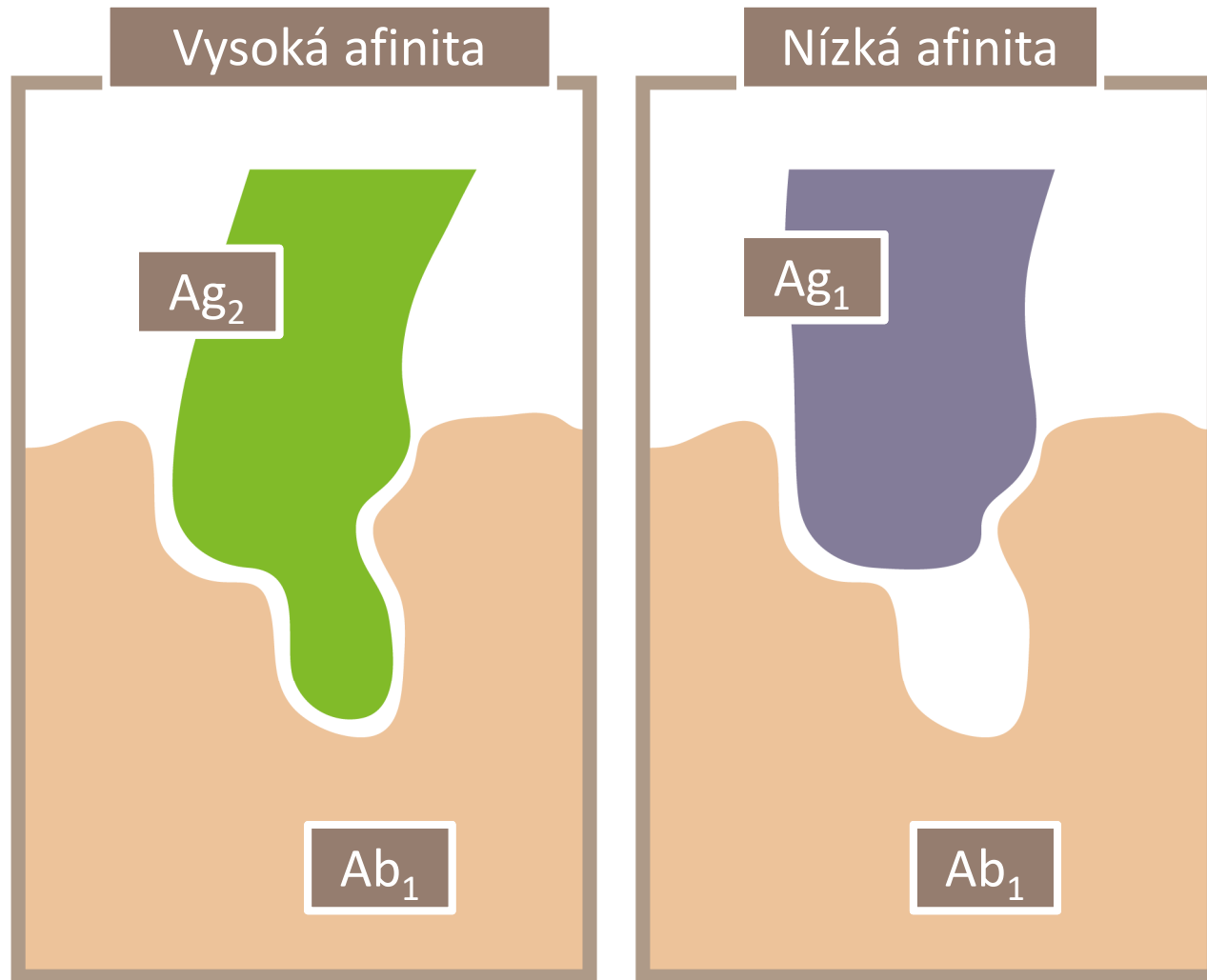
Chemické složení antigenů

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

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

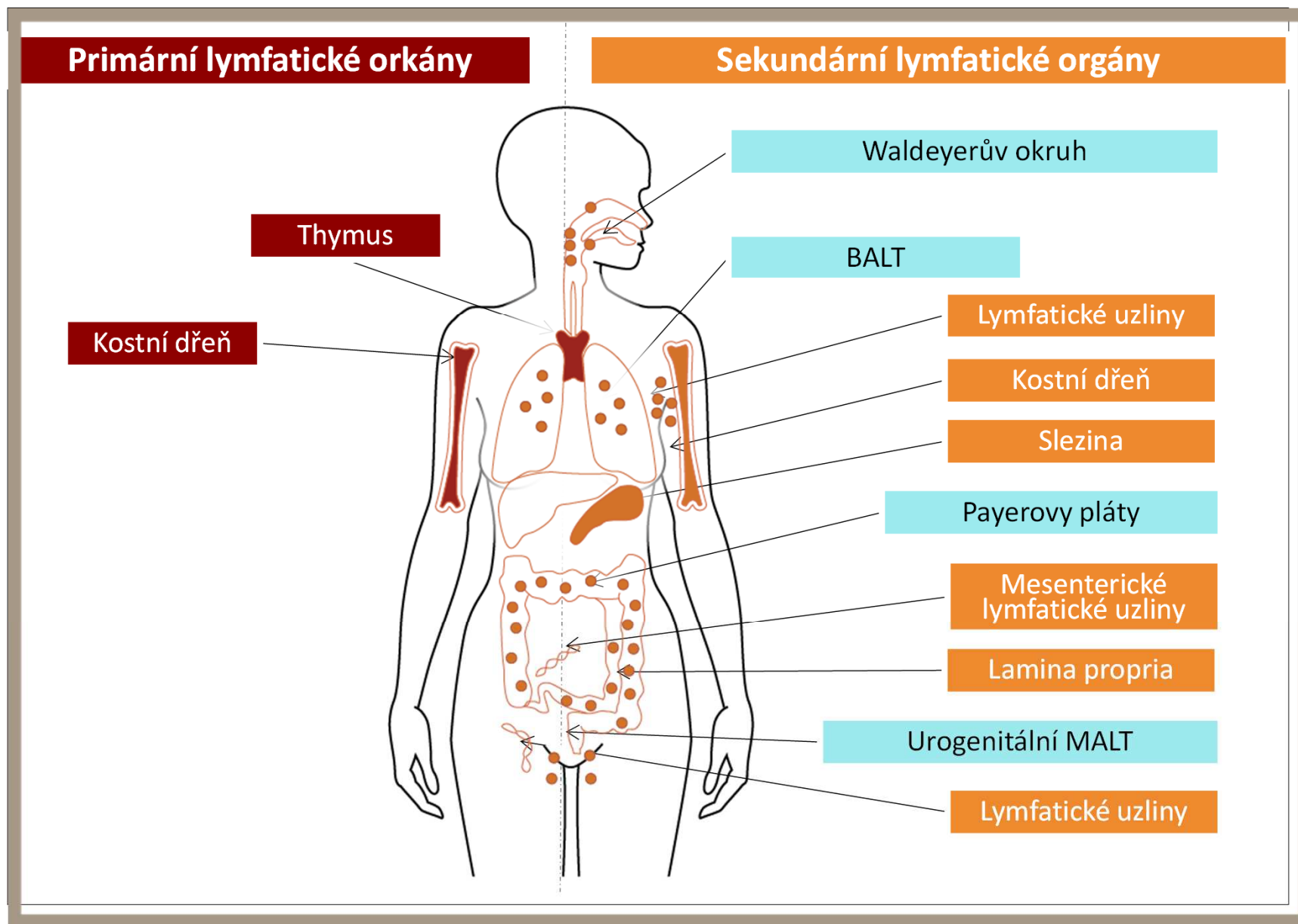
Složky imunitního systému

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

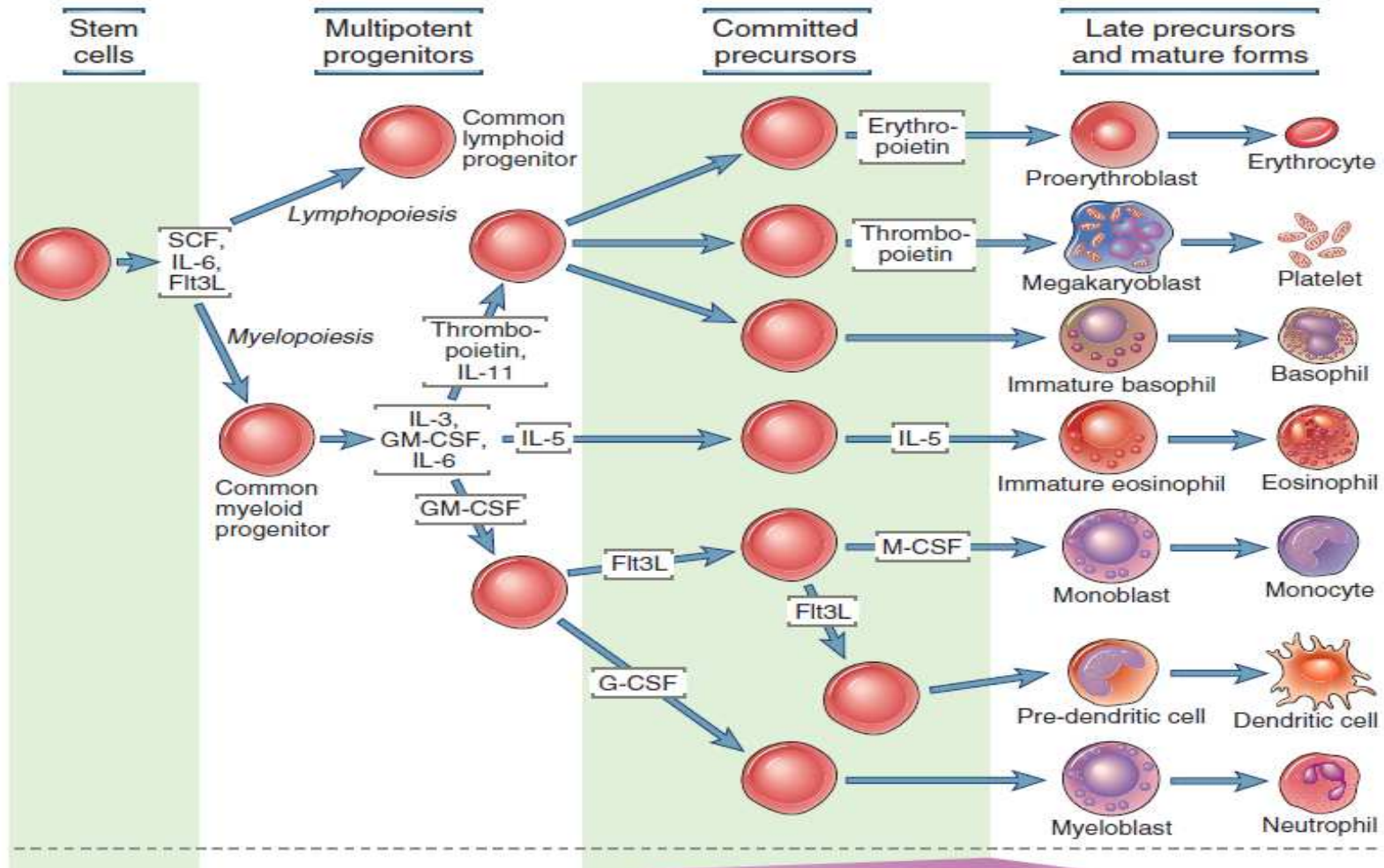
Lymfatické orgány

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

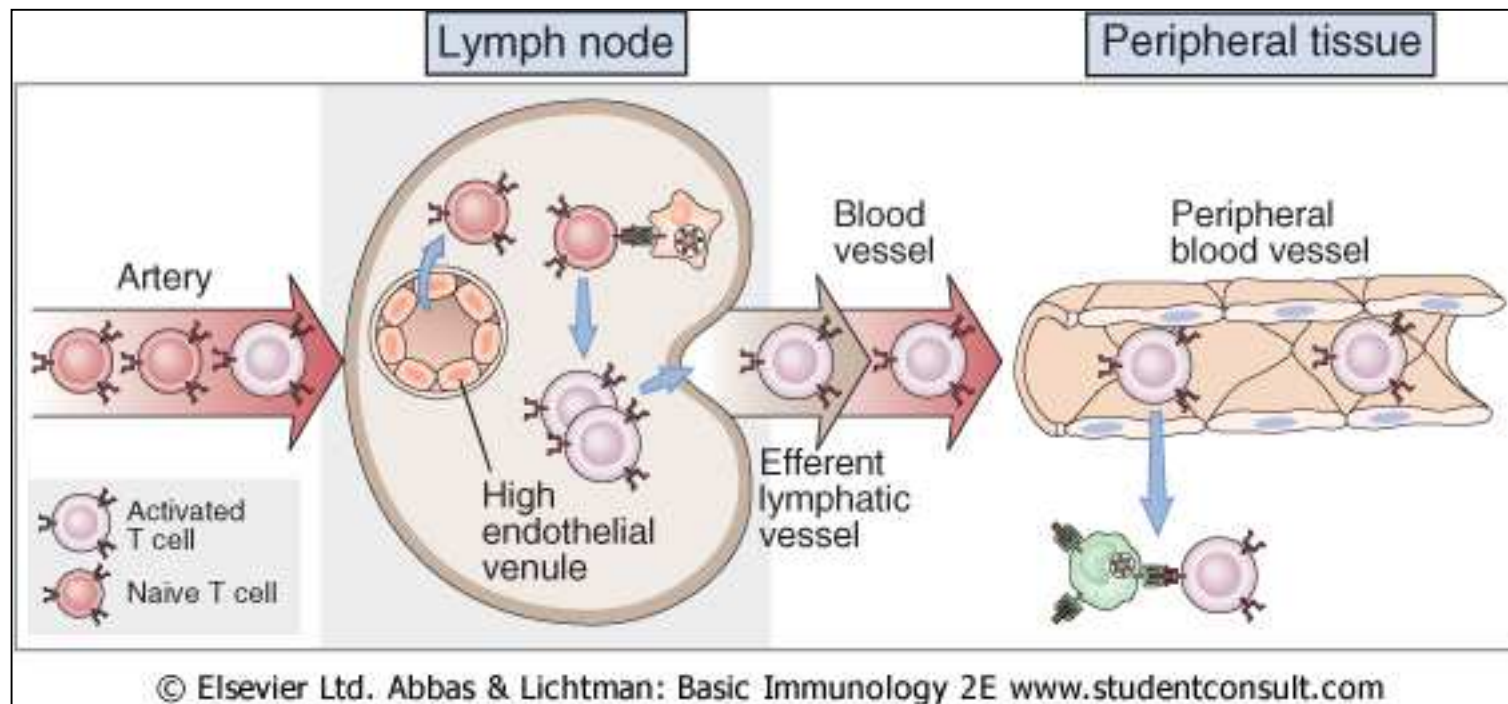
Primární a sekundární lymfatické orgány



Kostní dřeň - hematopoeza



Cirkulace lymfocytů



IMUNITA

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

Adaptivní = vzniklý adaptací

IMUNITA VROZENÁ

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 – antimikrobiální peptidy

(lysozym, defensiny, cathelicidiny...)

Vrozená imunita

Biologické bariéry

Mikroorganismy fyziologické mikroflóry
(komensální mikroorganismy)

Nespecifická imunitní odpověď

Pokud Ag pronikne přes fyzikální, chemickou a mikrobiální bariéru – dochází k rozvoji nespecifické imunitní odpovědi

- Nespecifická imunitní odpověď se rozvíjí v řádu minut v po vazbě Ag na tzv. pattern recognition receptory - PRR
- PRR jsou přítomny na buňkách přirozené imunity, ale mohou být i humorální

Vrozená imunita: charakteristické rysy

PRR - 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).

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

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

PRR- Pattern Recognition Receptors

- Váží PAMP a DAMP
- Exprese PRR není klonální – receptory přítomné na stejném typu buněk mají stejnou identitu
- Připraveny okamžitě reagovat - rychlá odpověď
- Schopny diskriminace mezi patogenními a nepatogenními mikroorganismy
- Při vazbě patogenu nevzniká imunologická paměť

PRP buněk přirozené imunity

PRP fungují jako

- Receptory pro fagocytózu, kde stimulují pohlcení Ag
- Chemotaktické receptory zajišťující postup fagocytujících buněk do místa zánětu
- Stimulancia - stimulují produkci efektorových molekul a cytokinů, které pomáhají rozvoji přirozené imunitní odpovědi a následně i adaptivní imunitní odpovědi

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 α, β, γ , $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6, chemokiny)

Molekuly buněčných interakcí

Cytokiny

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

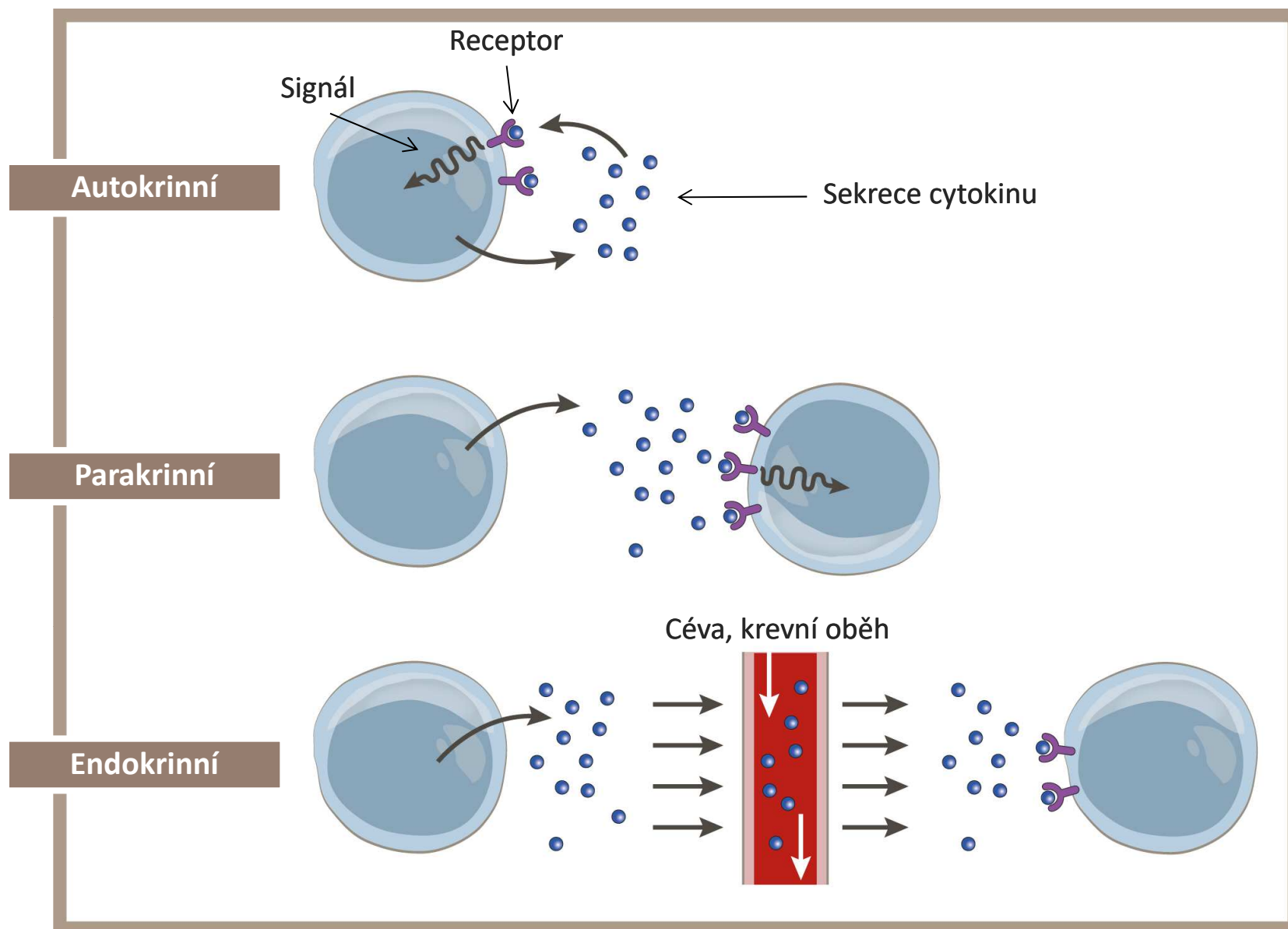
Chemokiny (C, CC, CXC, CX3C)

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

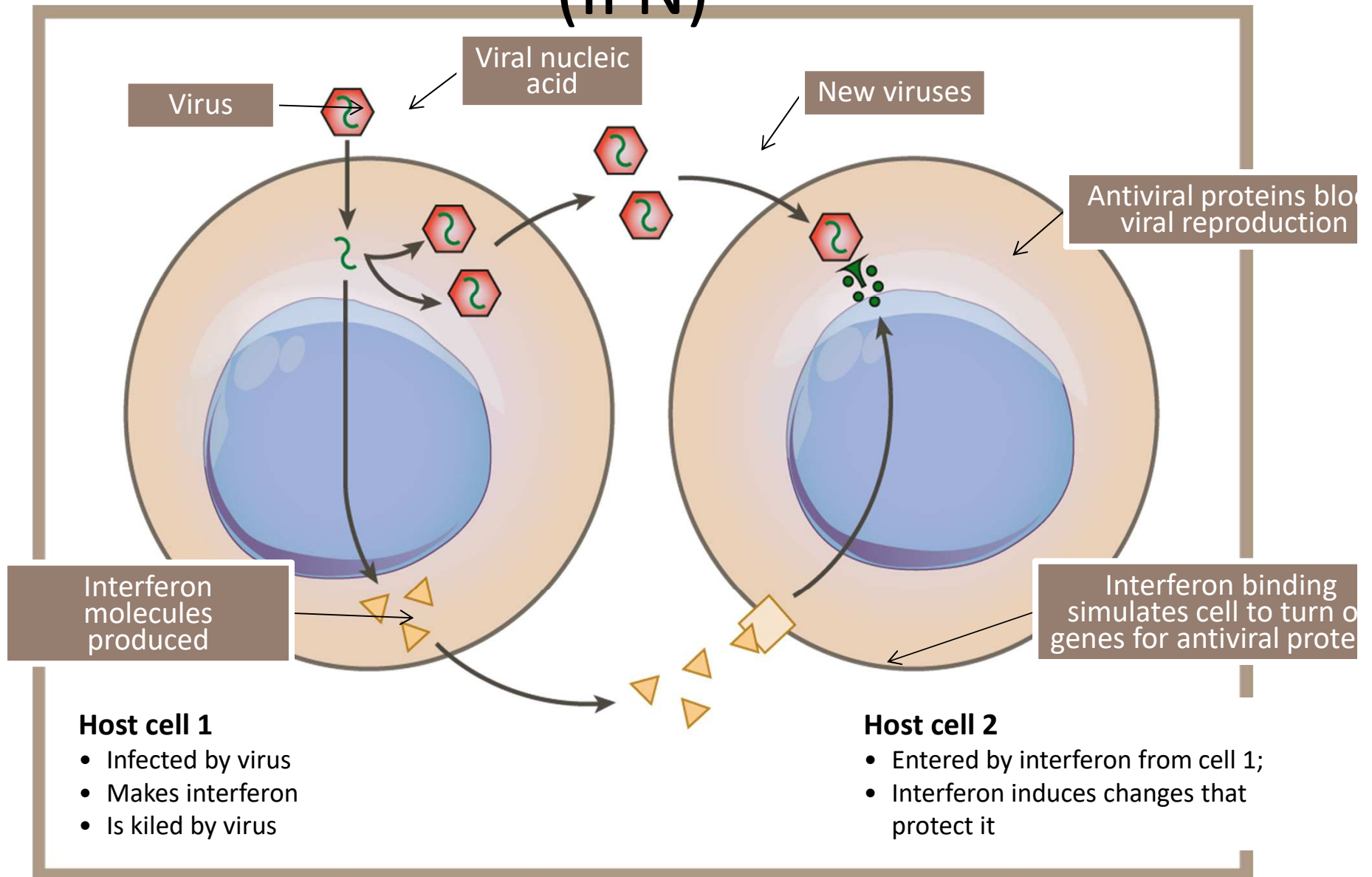
Funkce cytokinů

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

Interferony

- Typ I: IFN α , IFN β : jsou produkovány některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, makrofágy). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.
- Typ II „Imunní“: IFN γ : 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- α)
 - Imunodeficiency (defekt produkce IFN γ , IL-12)
- Ale lze je využít i terapeuticky
 - protinádorová léčba (IL-2, IFN- α)
 - Léčba sklerózy multiplex (IFN- β)
 - Léčba některých imunodeficitů (IFN- γ)

Komplementový systému

- Soustava asi 30 sérových a membránových proteinů, některé z nich jsou latentní enzymy
- Po zakotvení některých složek na povrchu buňky dochází ke štěpení navázaných složek a získání enzymatické aktivity - konvertázy
- Kaskádovitě štěpí další složky a posouvají reakci k vytvoření membranolýtického komplexu
- Odštěpené části složek, které nemají enzymatickou aktivitu, slouží především k opsonizaci
- Hlavní složky 9 sérových proteinů C1-C9
- C3 ústřední složka, C3b vazba na mikrobiální povrch,
- Terminální produkt komplementové kaskády C5b, C6, C7, C8 a C9 (MAC membrane attack complex)

Komplementový systém - funkce

- 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)

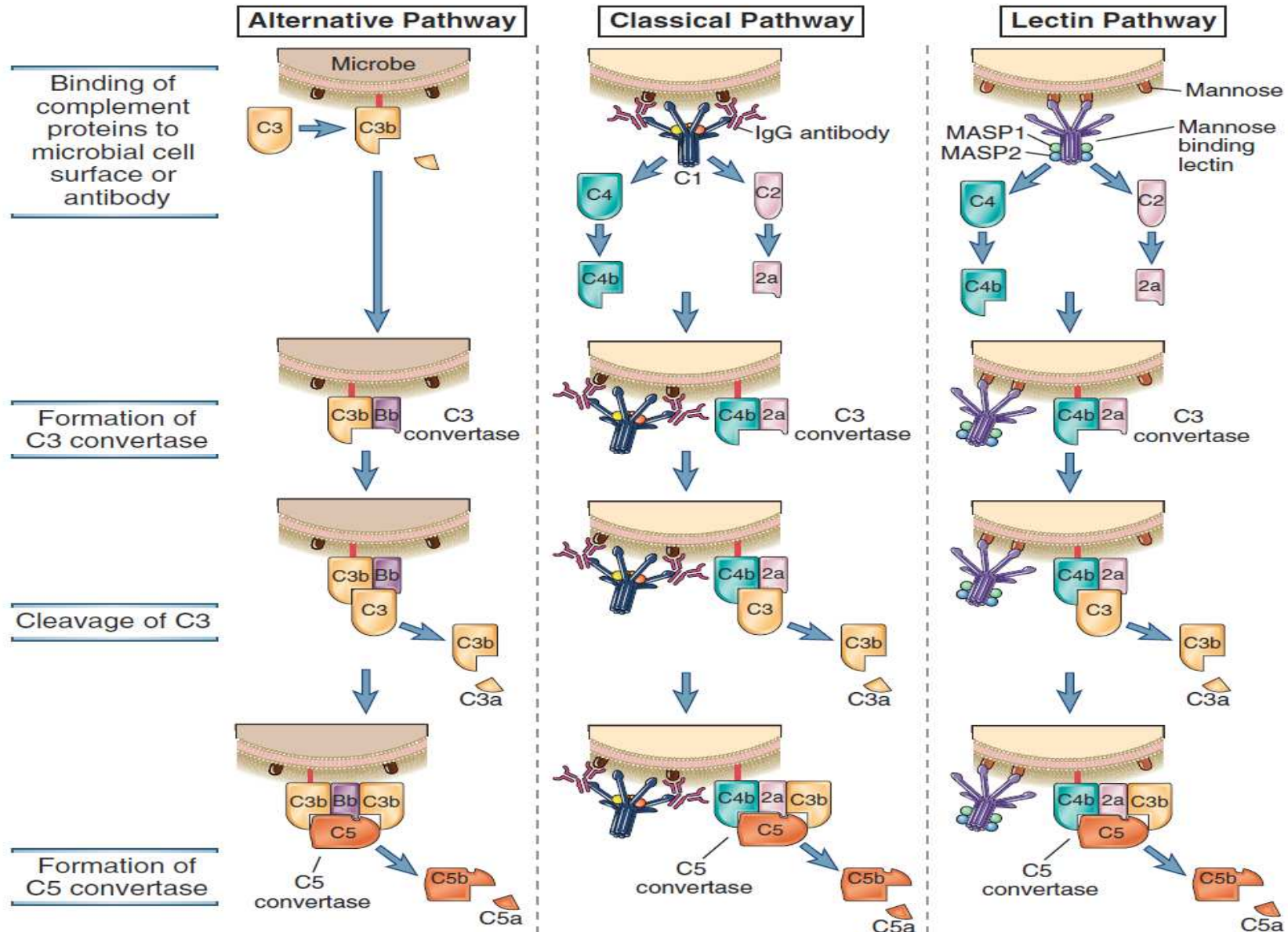
Aktivace komplementového systému

- Do úrovně složky C5b probíhá cestou enzymatické kaskády
- Od aktivované složky C5b dochází k neenzymatickému sestavení komplexu napadajícího membránu - MAC = Membrane Attact Complex
- Výsledkem je lýza buňky

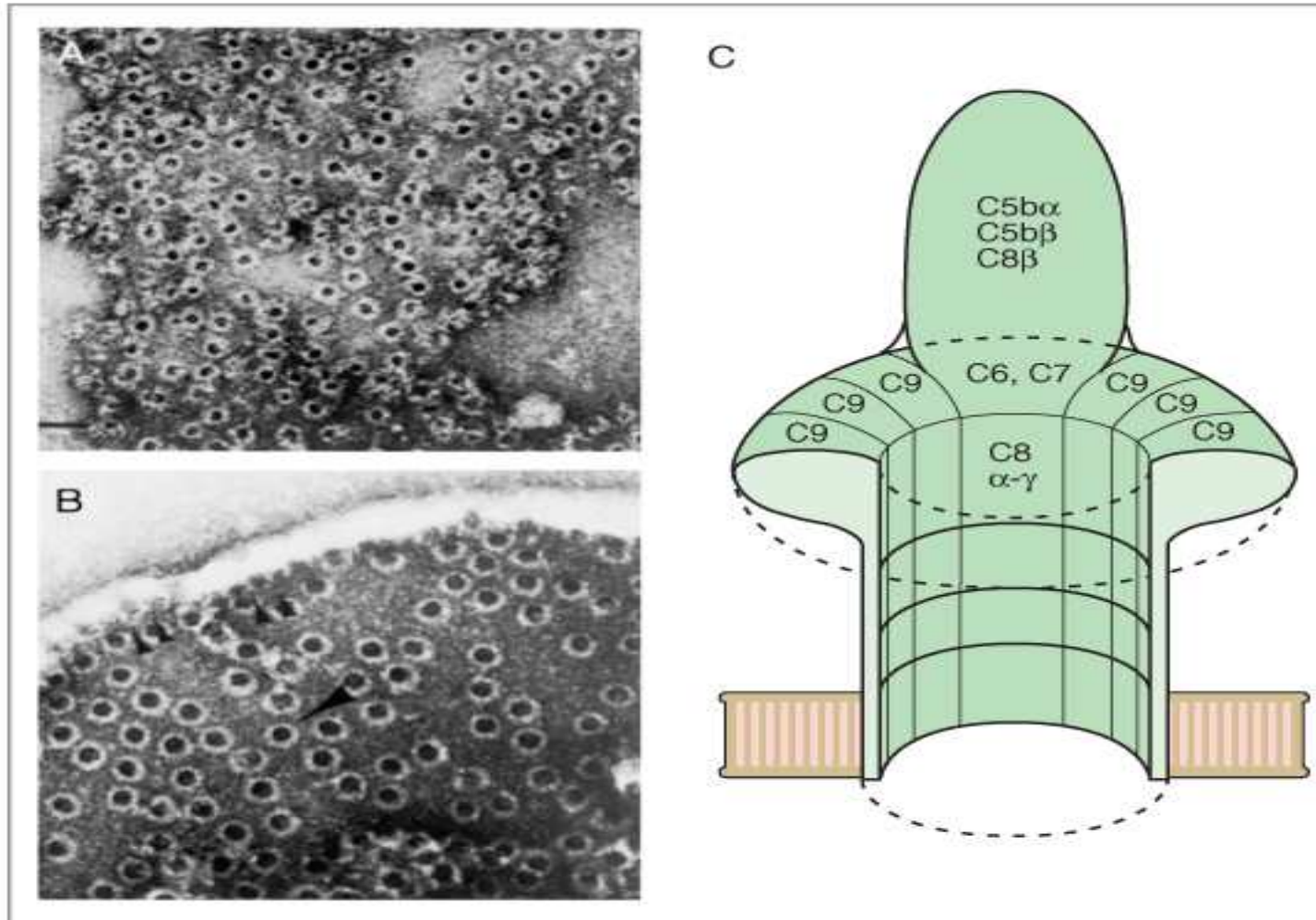
Aktivace aneb cesty komplementového systému

- ☞ klasická - spouštěna vazbou C1q na Fc úsek molekuly IgG nebo IgM, nebo C-reaktivní protein
- ☞ 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
- Různorodost aktivačních drah je výsledkem evolučního procesu
- Zajištění obranného potenciálu komplementového systému na přítomnost biologicky rozmanitých mikroorganismů

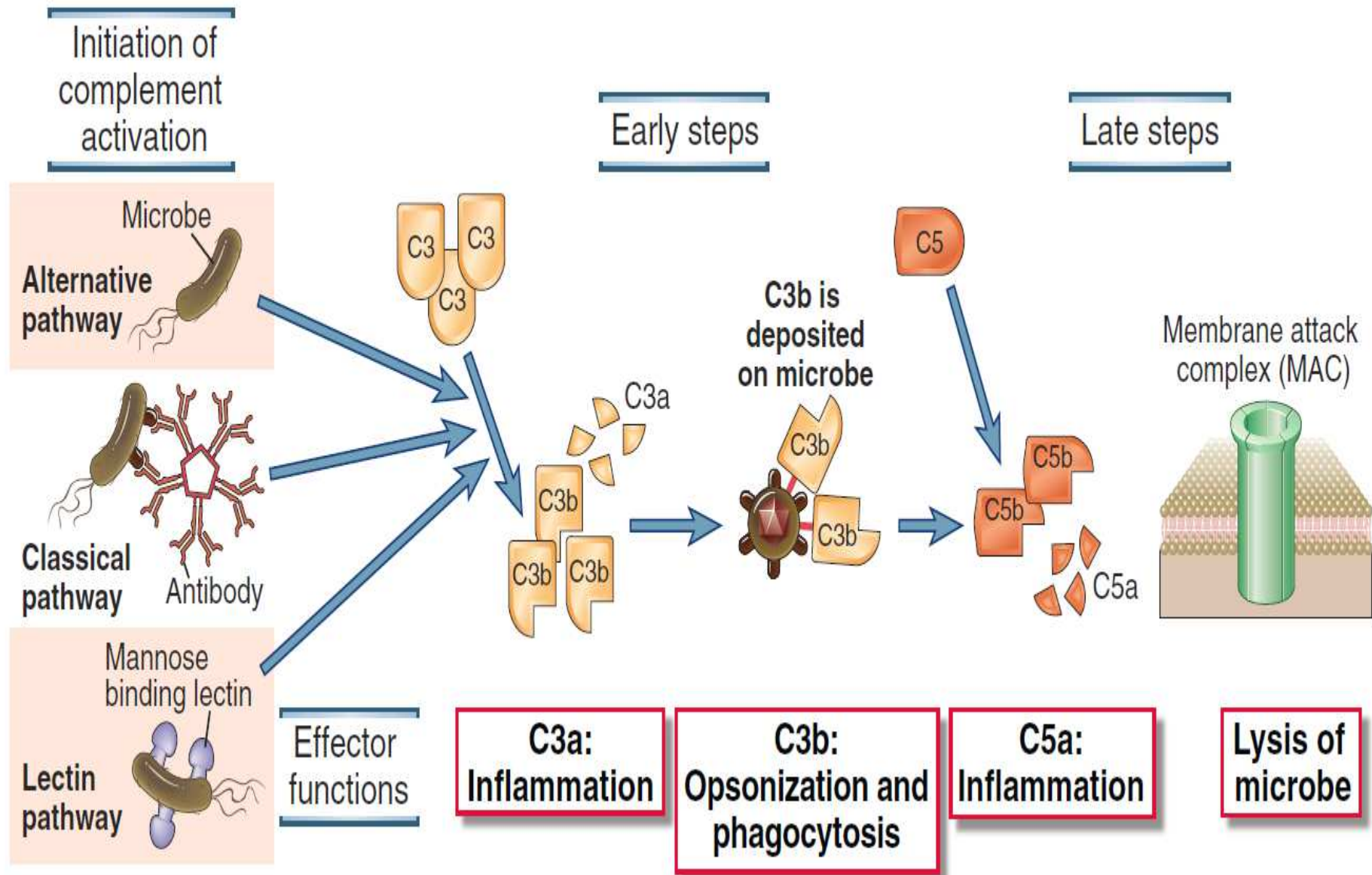
Aktivace komplementového systému



Membranolytický komplex



Aktivace komplementového systému



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.

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)

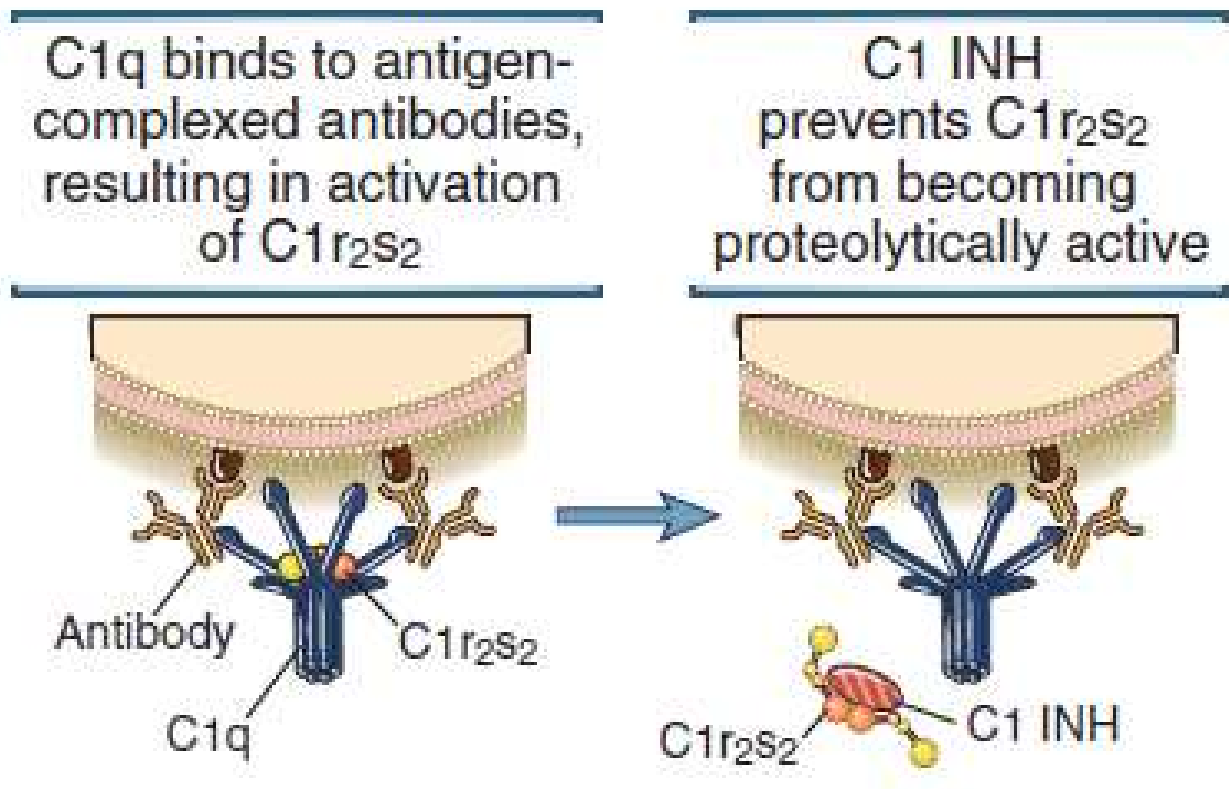
Základní indikace vyšetření složek komplementového systému

- **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.

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



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

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)

Celulární složky vrozené imunity



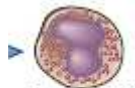
Erythrocyte

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 cytoplasmě 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 cytoplasmě četná granula obsahující kationické proteiny (ECP), cytokiny (IL-3,IL-5, TNF-alfa...) chemokiny, úloha v časně fázi zánětu

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.

NK (Natural Killer) buňky

1. jsou morfoloicky podobné lymfocytům ,nefagocytují, nemají aderenční schopnosti

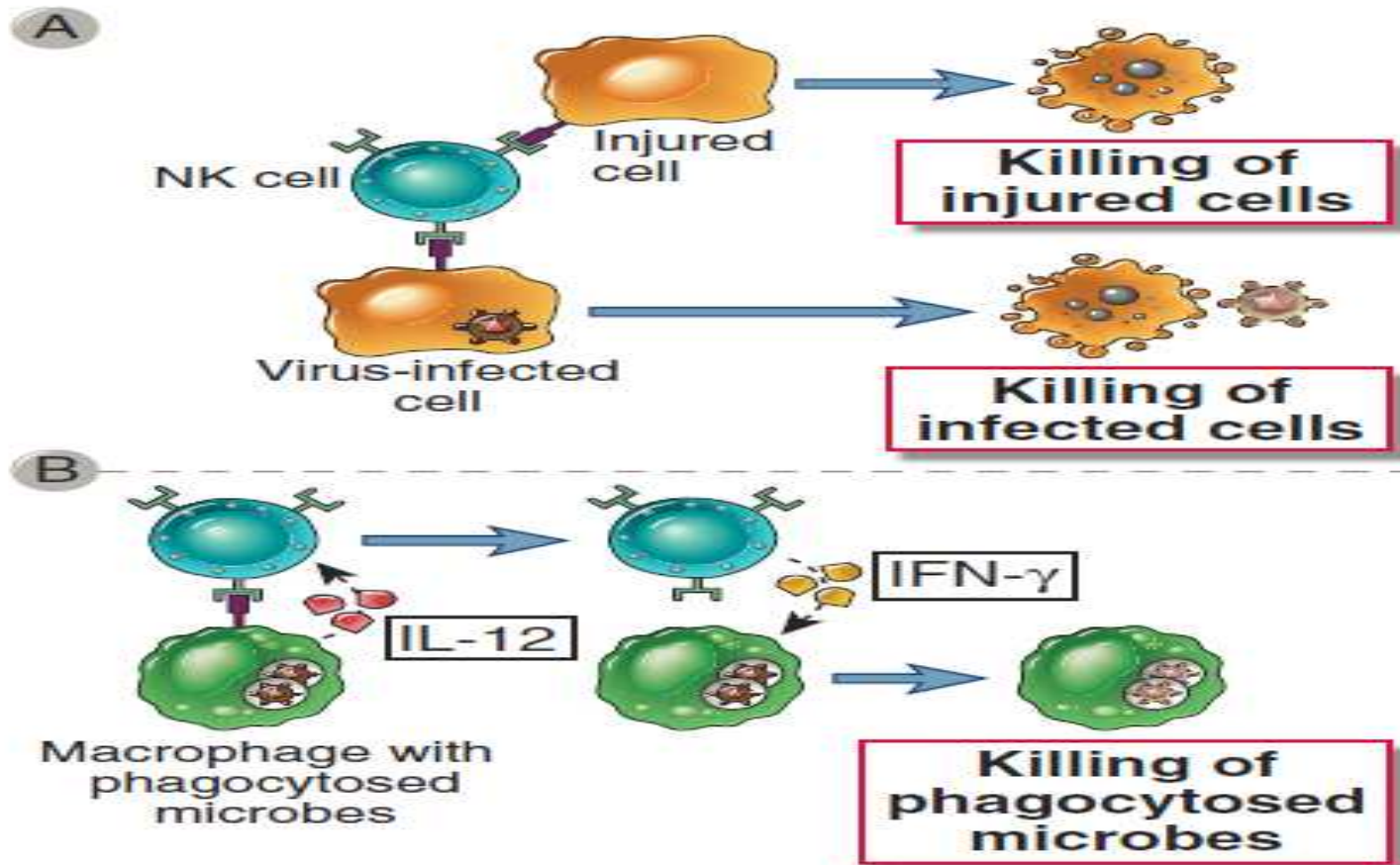
specializují se na zabíjení abnormálních vlastních buněk organismu nápadných nízkou expresí MHC molekul (např. infikovaných viry, intracelulárními bakteriemi, nádorové buňky)

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 γ a TNF α

Funkce NK buněk



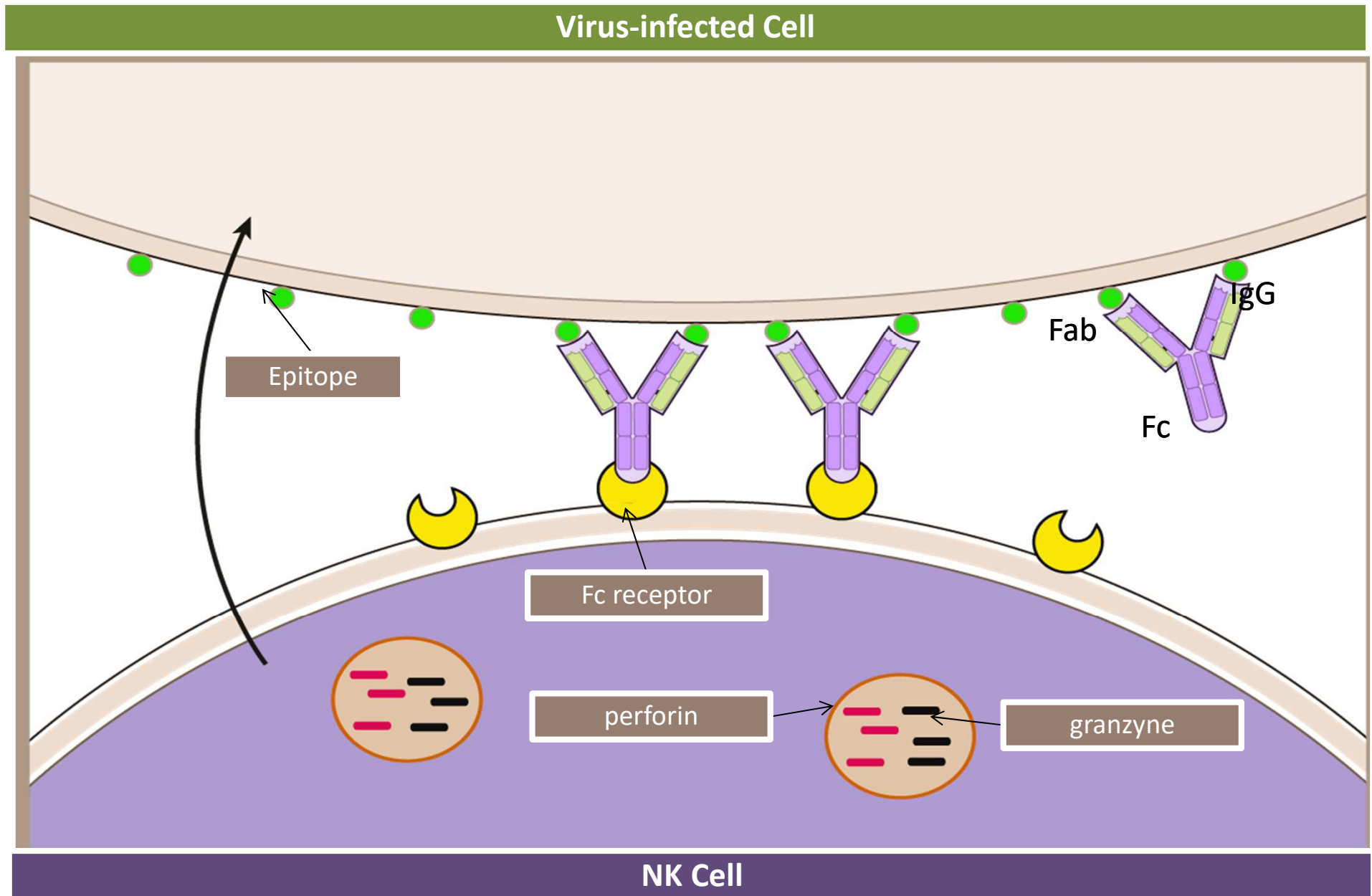
Buňky NK

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)



PROFESIONÁLNÍ FAGOCYTY

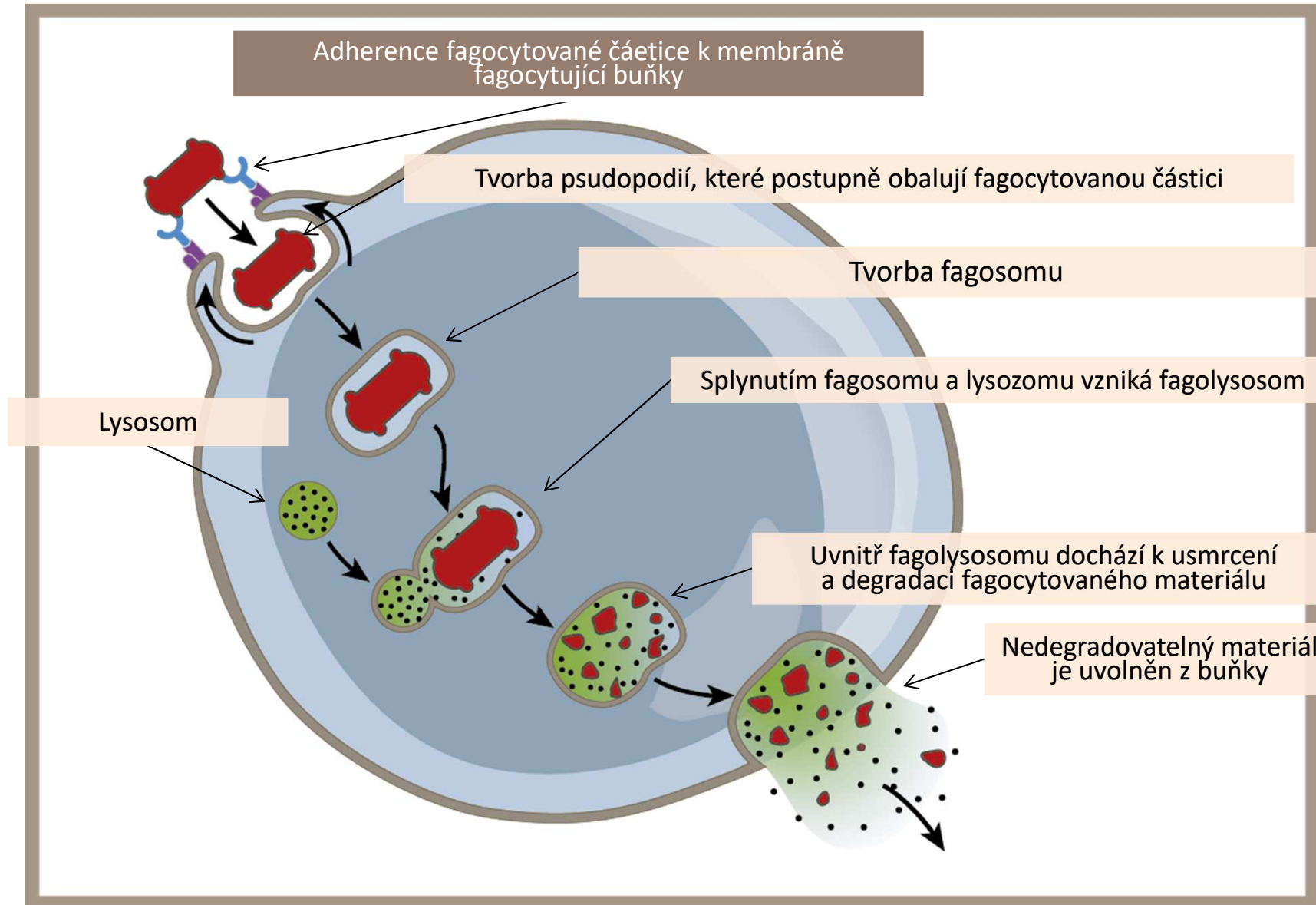
Polymorfonukleární leukocyty
(neutrofilní granulocyty)
„mikrofágy“ (I. Mečnikov, 1845-1916)

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

Fagocytóza



Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

1. závislý na kyslíku

Reaktivní metabolity kyslíku (H_2O_2 , HOCl^- , hydroxylový radikál, superoxidový aniont, singletový kyslík(O_2))

Reaktivní dusíkové metabolity (NO , NO_2)

Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy, RNAsy

2. nezávislý na kyslíku

Nízké pH

Lysozym

Lactoferin

Defenziny – antimikrobiální polypeptidy

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).

Možnosti vyšetření fagocytárních funkcí

Chemotaxe: vyšetření chemotaxe pod agarózou

Ingesce: ingesce metakrylátových partikulí

Tvorba reaktivních metabolitů kyslíku:

NBT test (nitro-blue-tetrazolium test),
chemiluminiscence, redukce tetraarhodamidu –
cytometrické stanovení

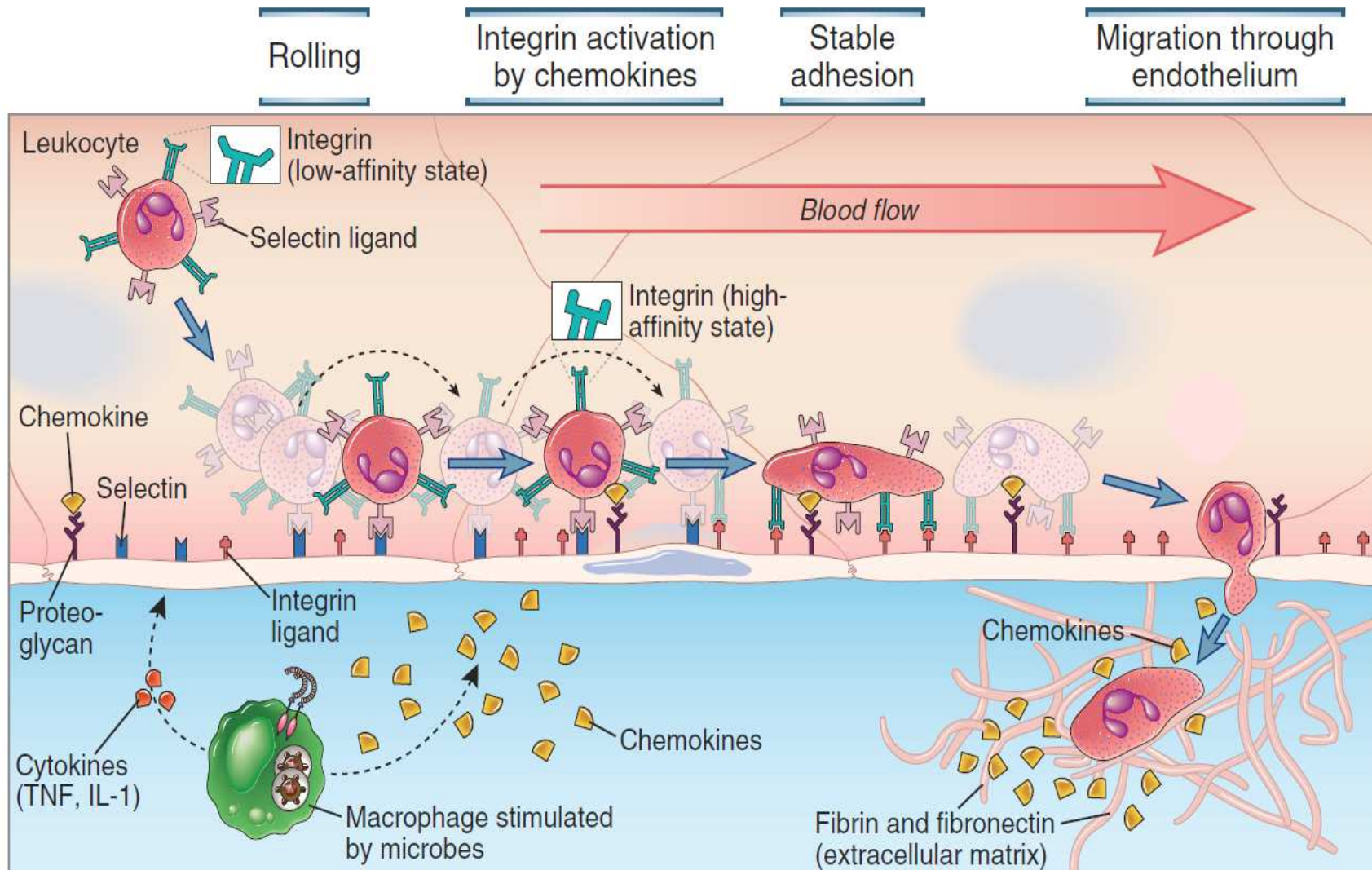
Vyšetření exprese β 2-integrinů

Komplexní vyšetření: mikrobicidie

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.

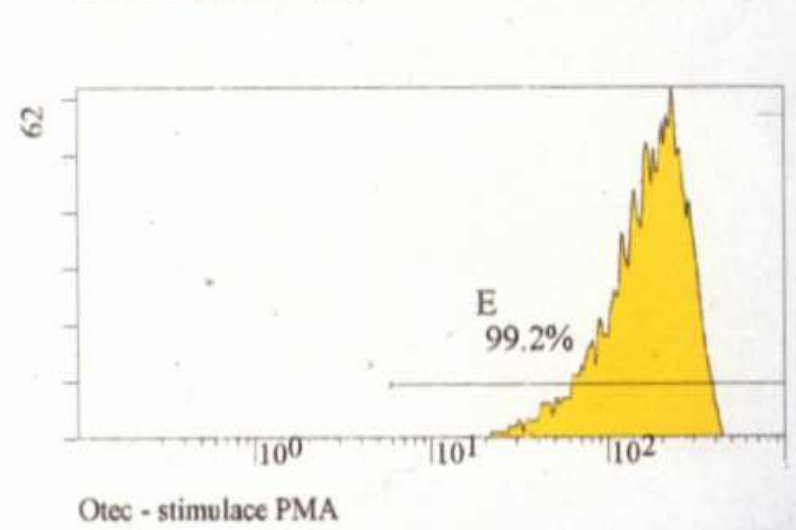
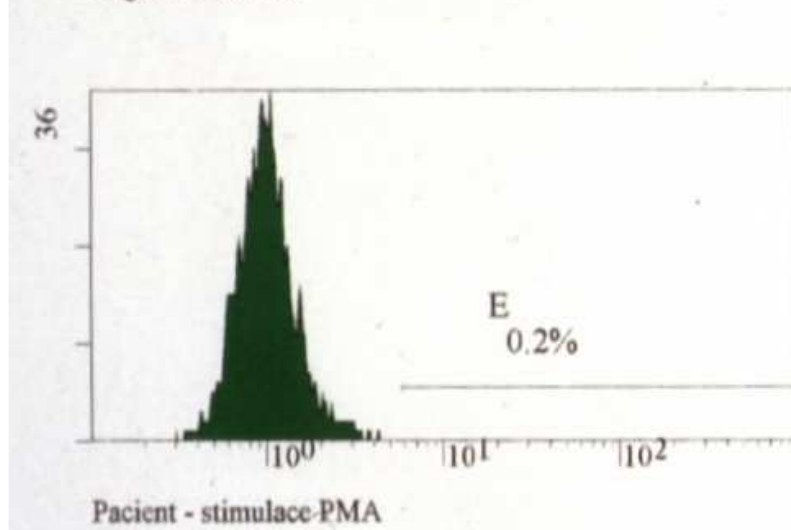
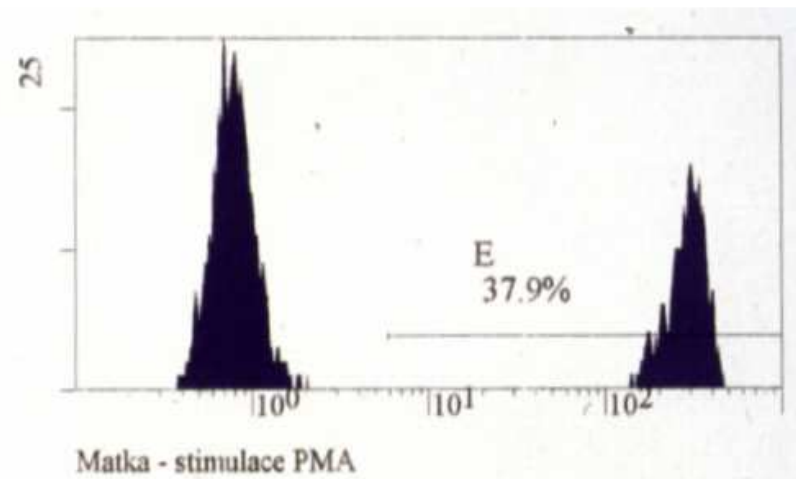
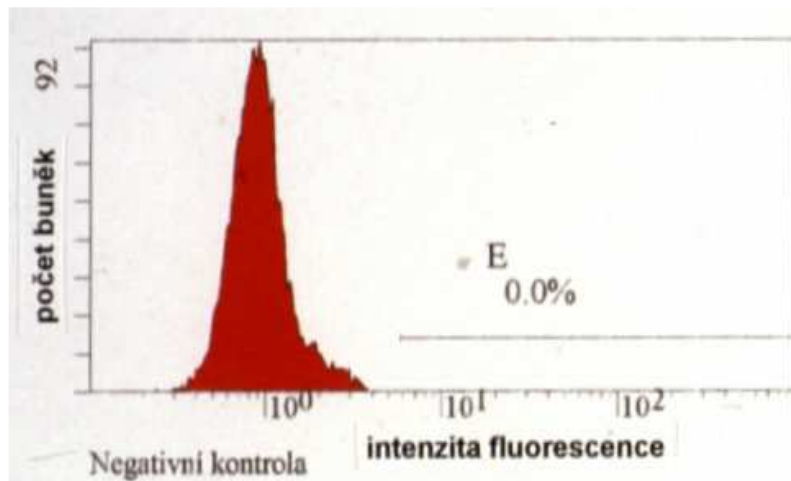
Cesta leukocytů do místa zánětu



Chronická granulomatózní choroba

- Opakované abscesy nejčastěji postihující játra, periproktální oblast, plíce, objevují se hnisavé lymfadenitidy, osteomyelitidy.
- Granulomy mohou působit útlak, například žlučvodů.
- 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)



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

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)

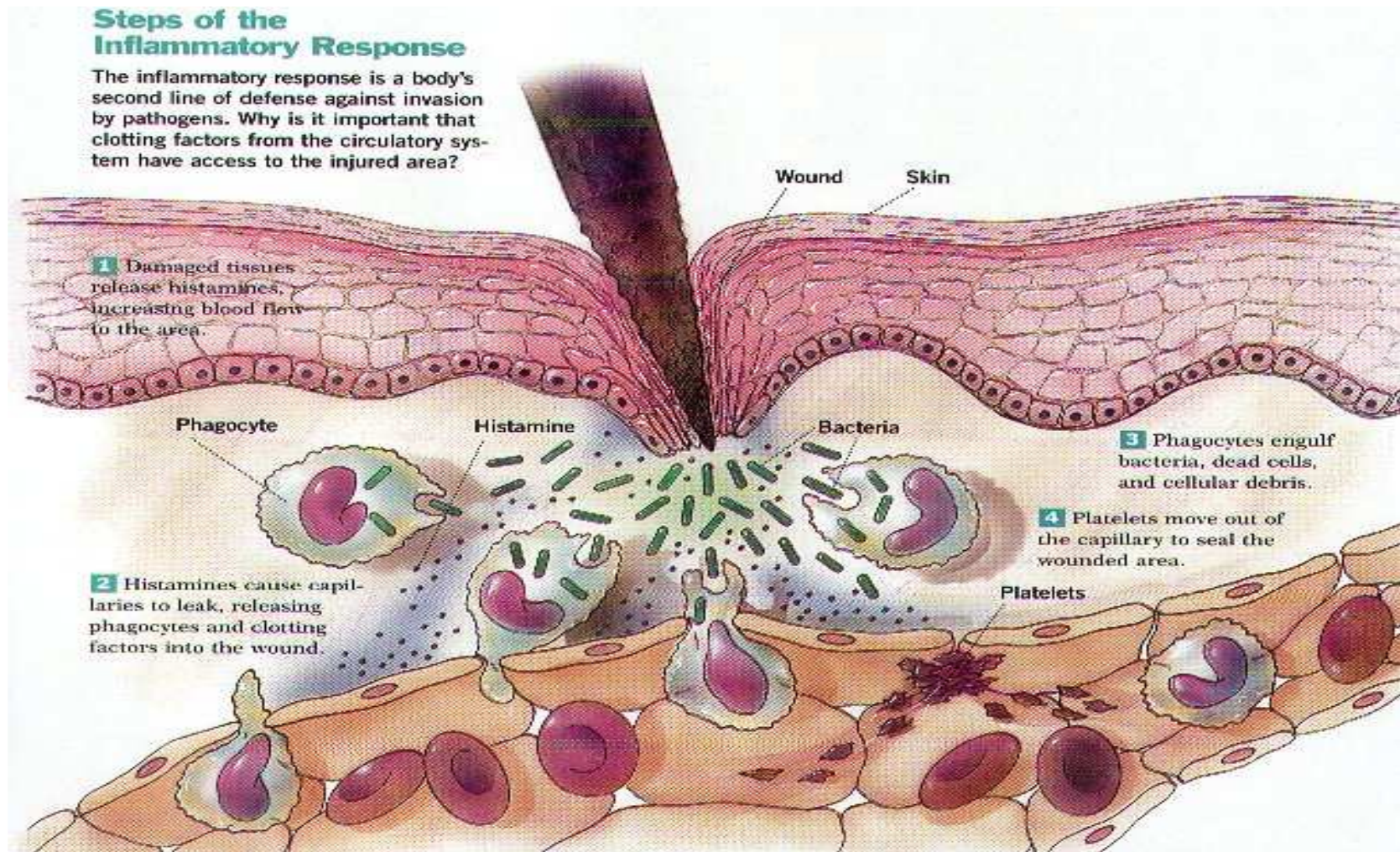
Vliv prozánětlivých cytokinů

- Uplatňuje se zejména IL-1, IL-6 a TNF- α .
- 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



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- α
- 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

Mediátory zánětlivé odpovědi

- 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.

Monitorování akutního zánětlivého procesu

Tělesná teplota

Sedimentace erytrocytů (FW)

Počet leukocytů v krvi

Změny spektra sérových bílkovin

v elektroforéze (pokles albuminu, vzestup α 1 a α 2 globulinů)

Sledování hladin proteinů “akutní fáze”

Prezentace Ag

- Antigeny jsou molekuly, které vyvolají imunitní odpověď.
- Antigeny jsou většinou proteiny či glykoproteiny, nebo polysacharidy.
- Antigeny pocházející z vnějšího prostředí se do organismu dostanou přes gastrointestinální trakt, respirační trakt, kůži nebo arteficiálně např. injekčně.
- Antigeny vnitřní se nacházejí přímo v buňkách, může se jednat např. o proteiny kódované virovými geny nebo proteiny kódované mutovanými geny v nádorově změněných buňkách.

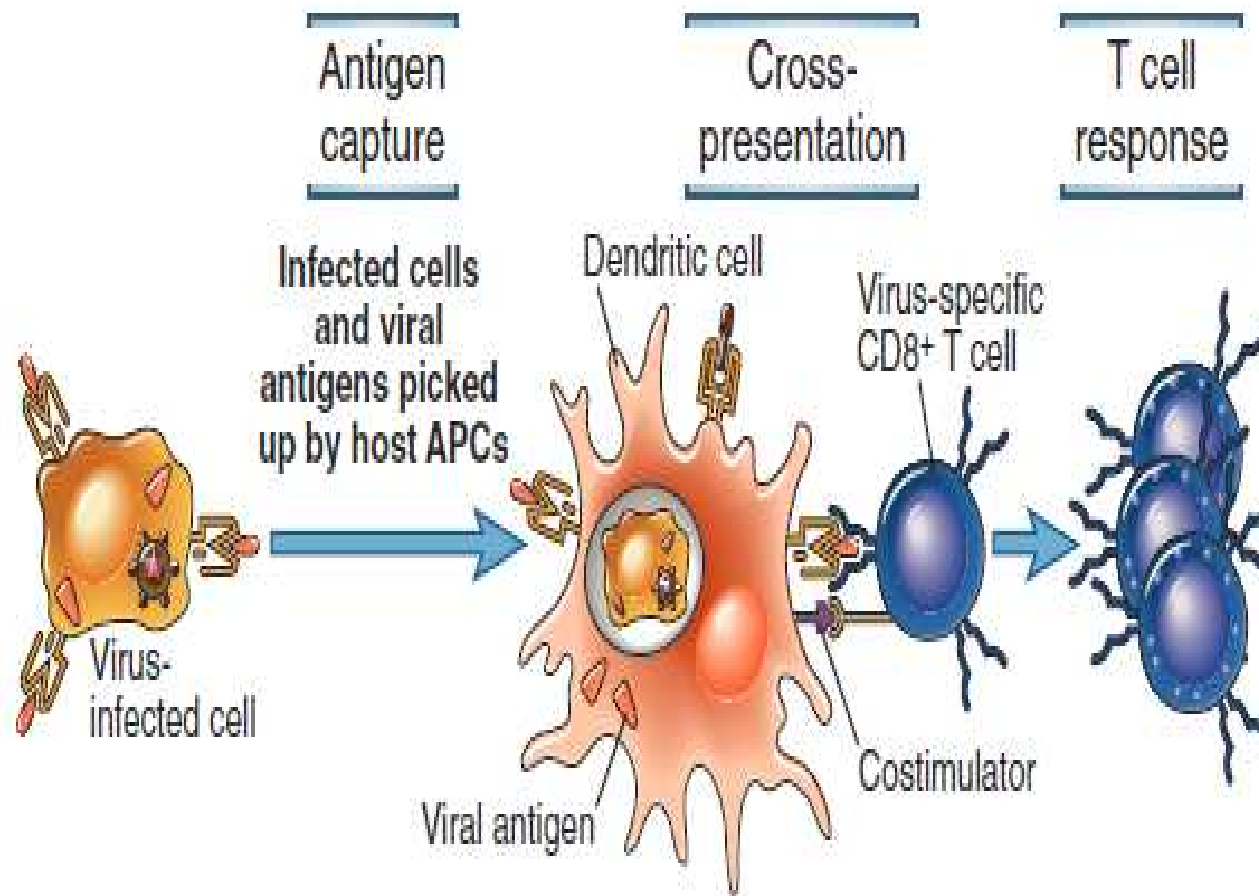
Antigen prezentující buňky

- Konstitutivní:
 - Dendritické buňky
 - Monocyty, makrofágy
 - B-lymfocyty
- Inducibilní:
 - Vaskulární endotelové buňky
 - Epitelové a mezenchymální buňky

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, NK-T, T-lymfocyty $\gamma\delta$)

APC



Adaptivní imunita: charakteristické rysy

Specifičnost:

Přirozená imunita: Jsou rozeznávány struktury, které jsou stejné 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

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.

Vrozená imunita: charakteristické rysy

Autoreaktivita:

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

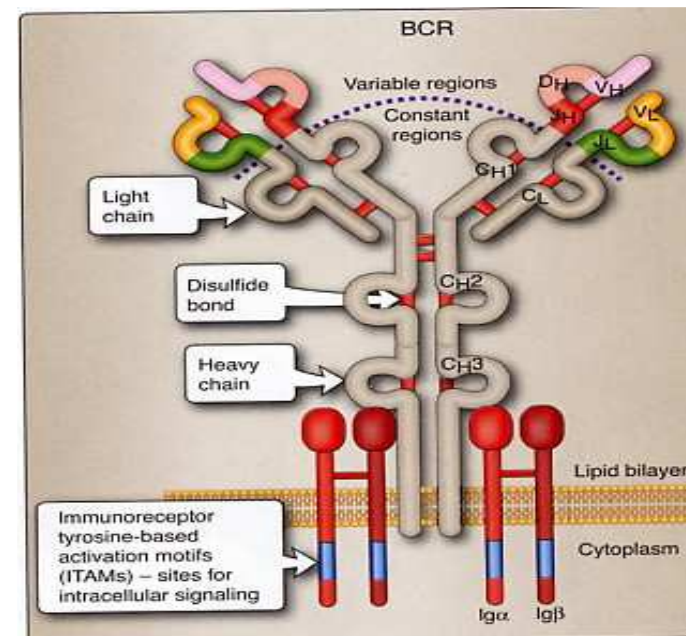
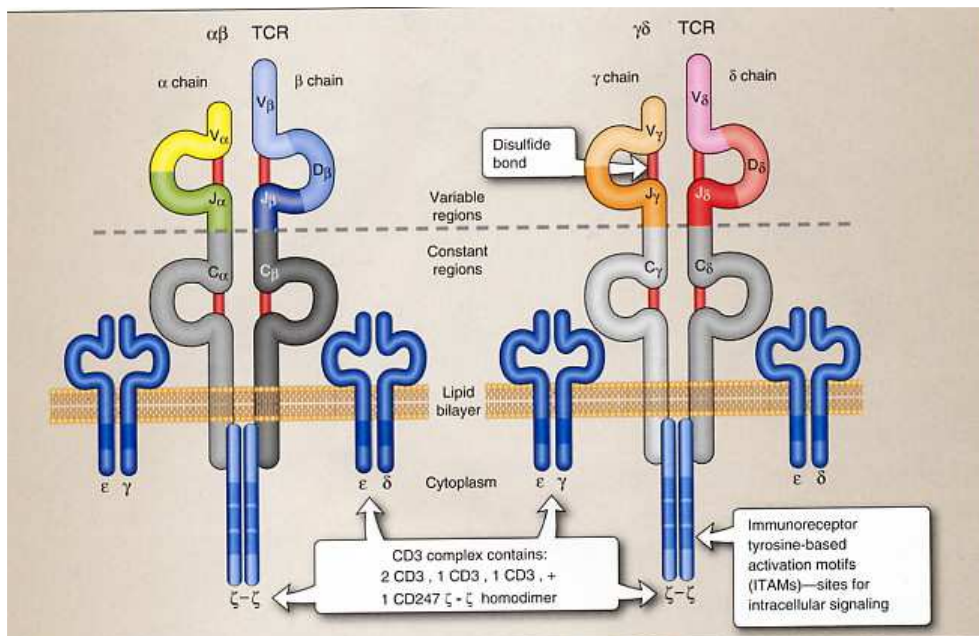
Paměť:

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

Adaptivní imunita: charakteristické rysy

Receptory:

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



Lymfocyty T a B jsou základními operačními jednotkami adaptivní imunity

- T-lymfocyty jsou zaměřeny na intracelulární antigeny
- T-lymfocyty ovlivňují další buňky především působením cytokinů
- B-lymfocyty na extracelulární antigeny
- B-lymfocyty produkují imunoglobuliny

Vývoj lymfocytů v thymu

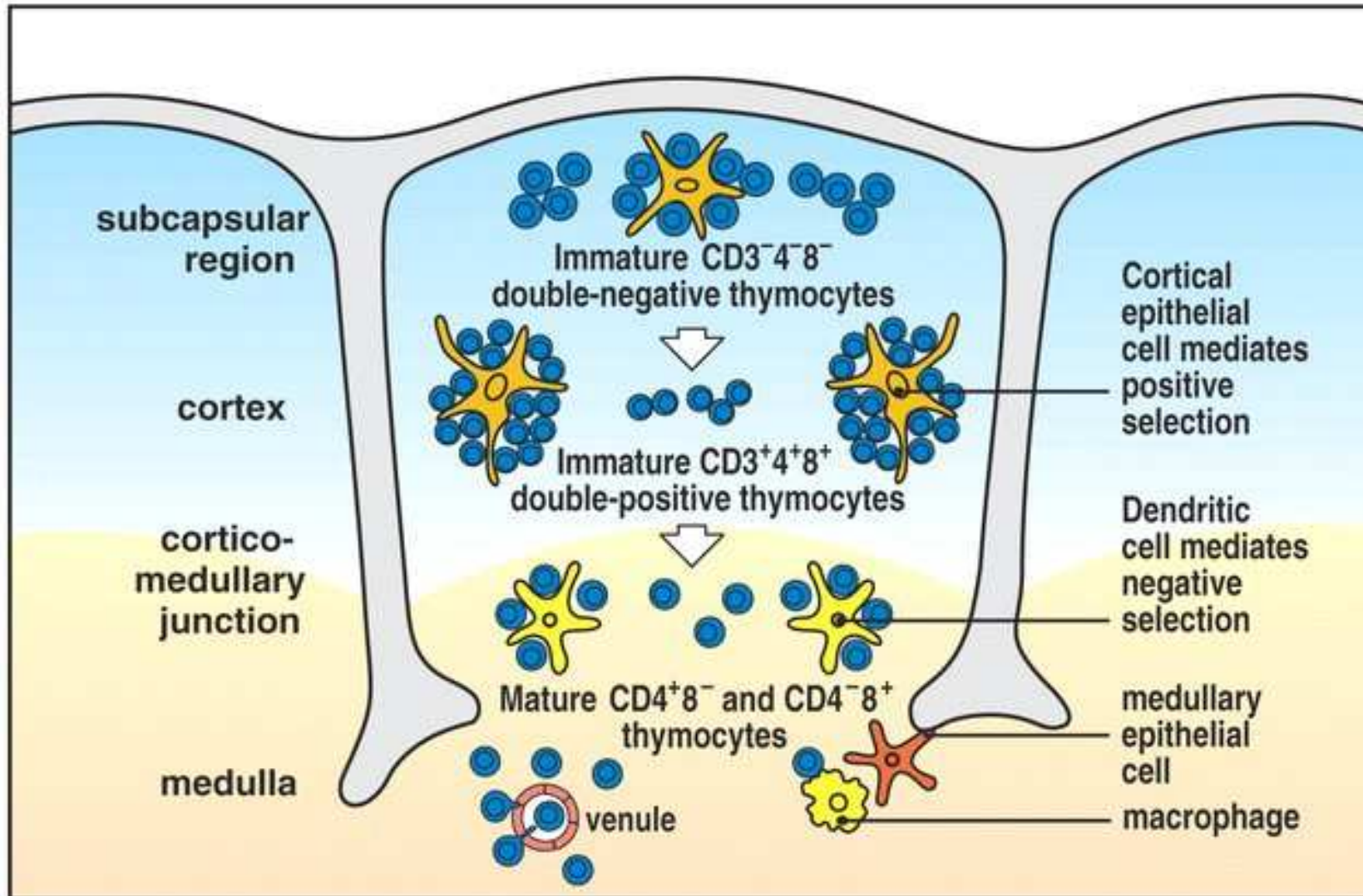
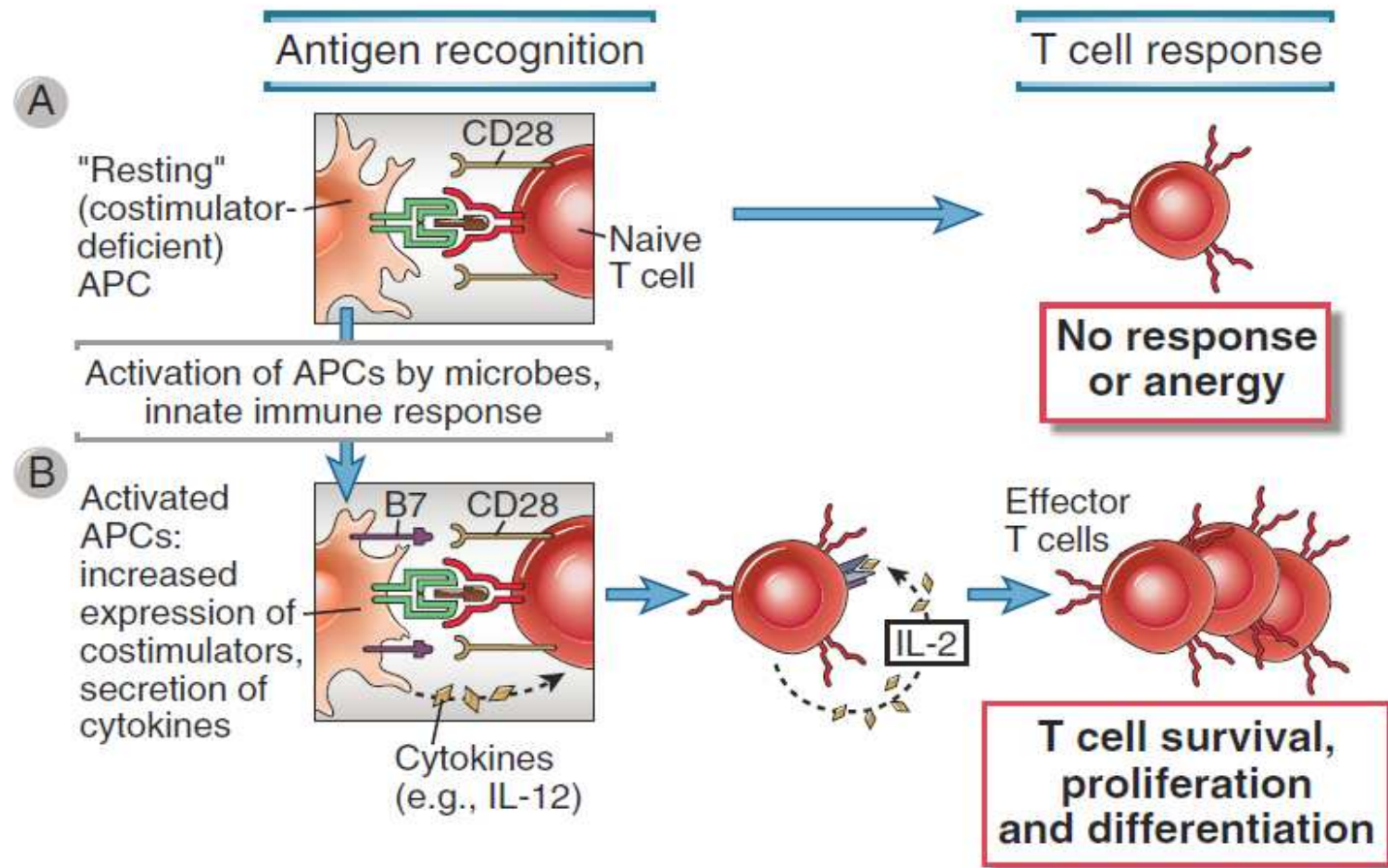
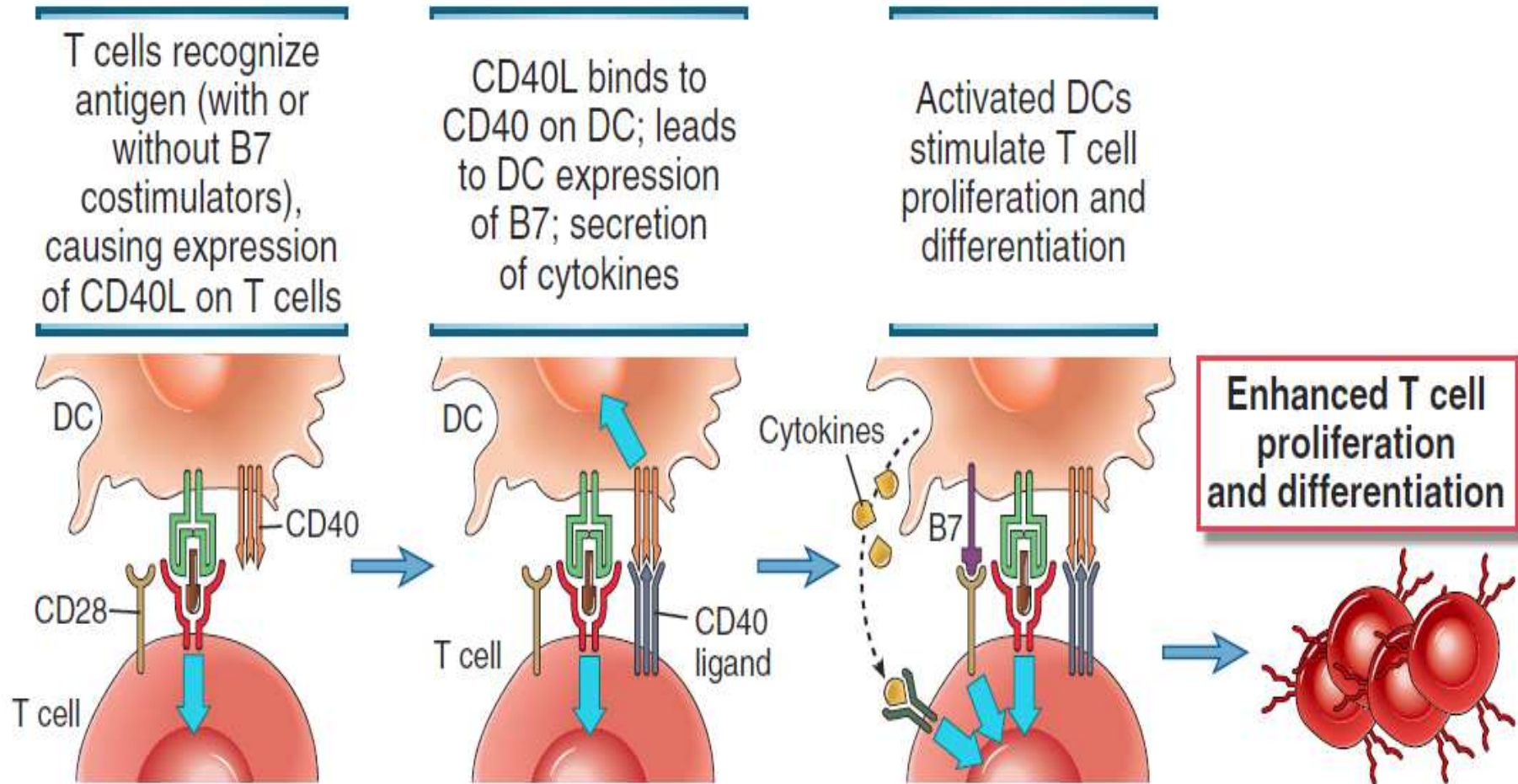


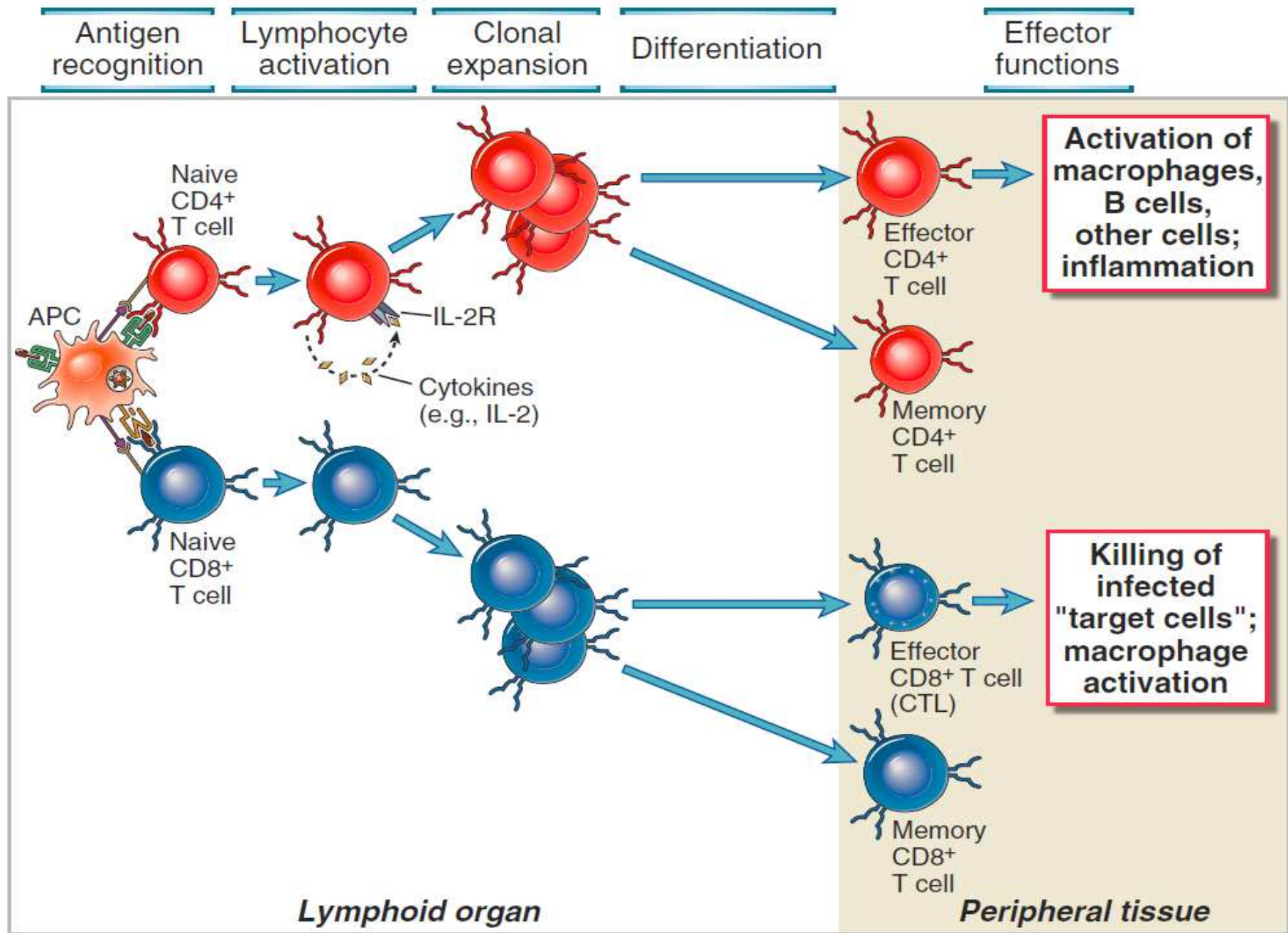
Figure 5-13 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Kostimulační signály nutné pro aktivaci T lymfocytu

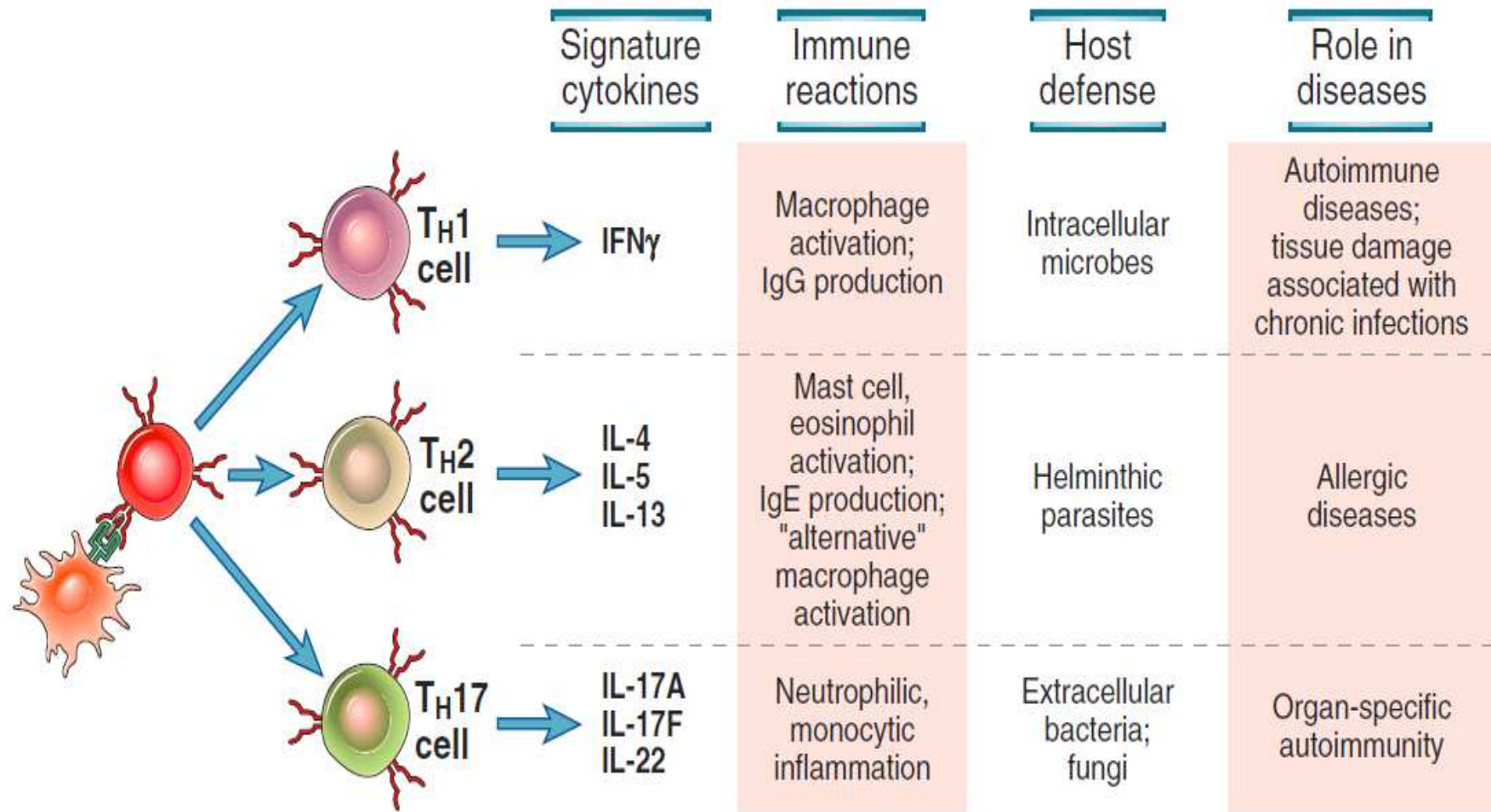


Vazba CD40 – CD40L





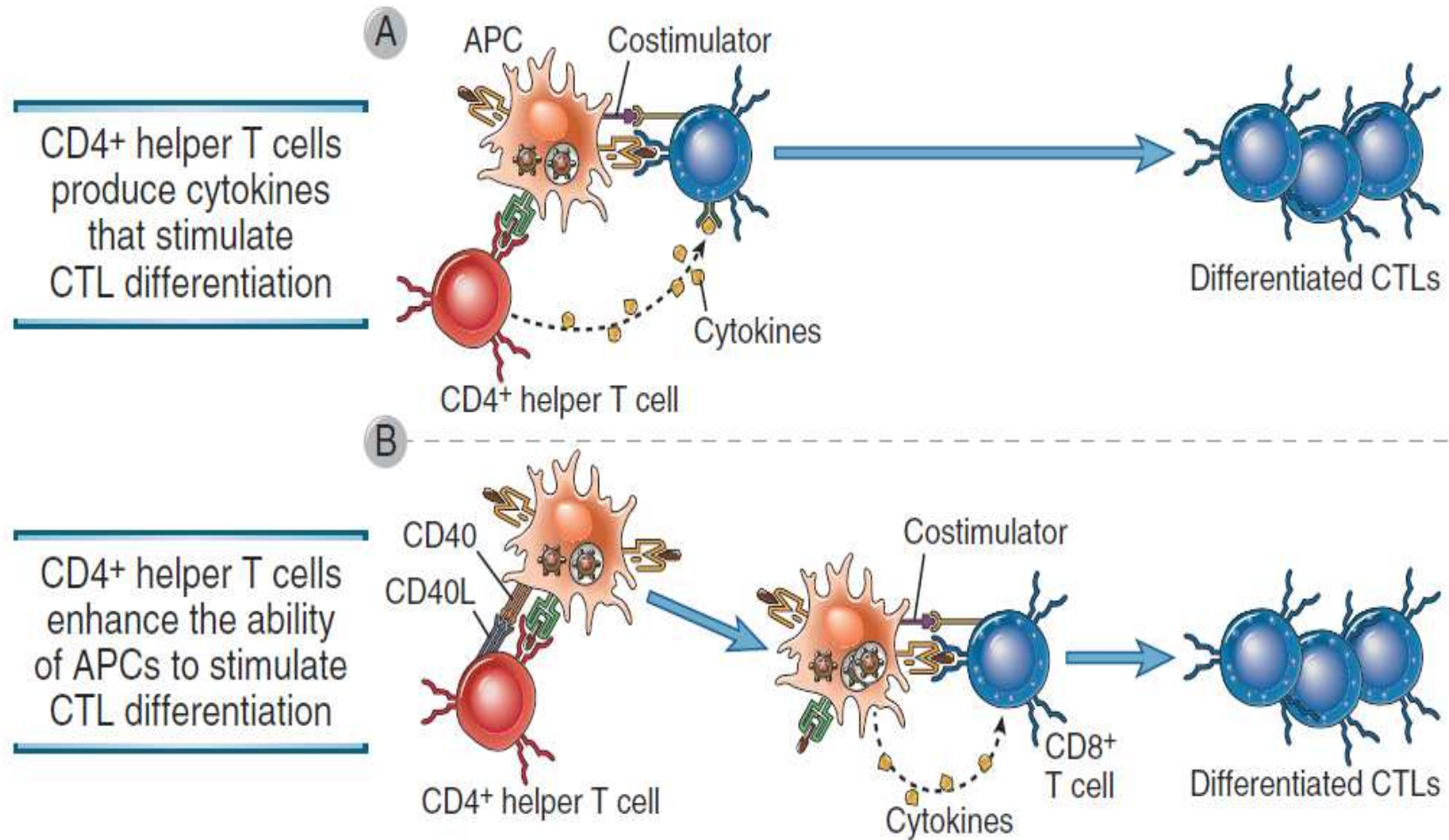
Th1, Th2 a Th17 lymfocyty



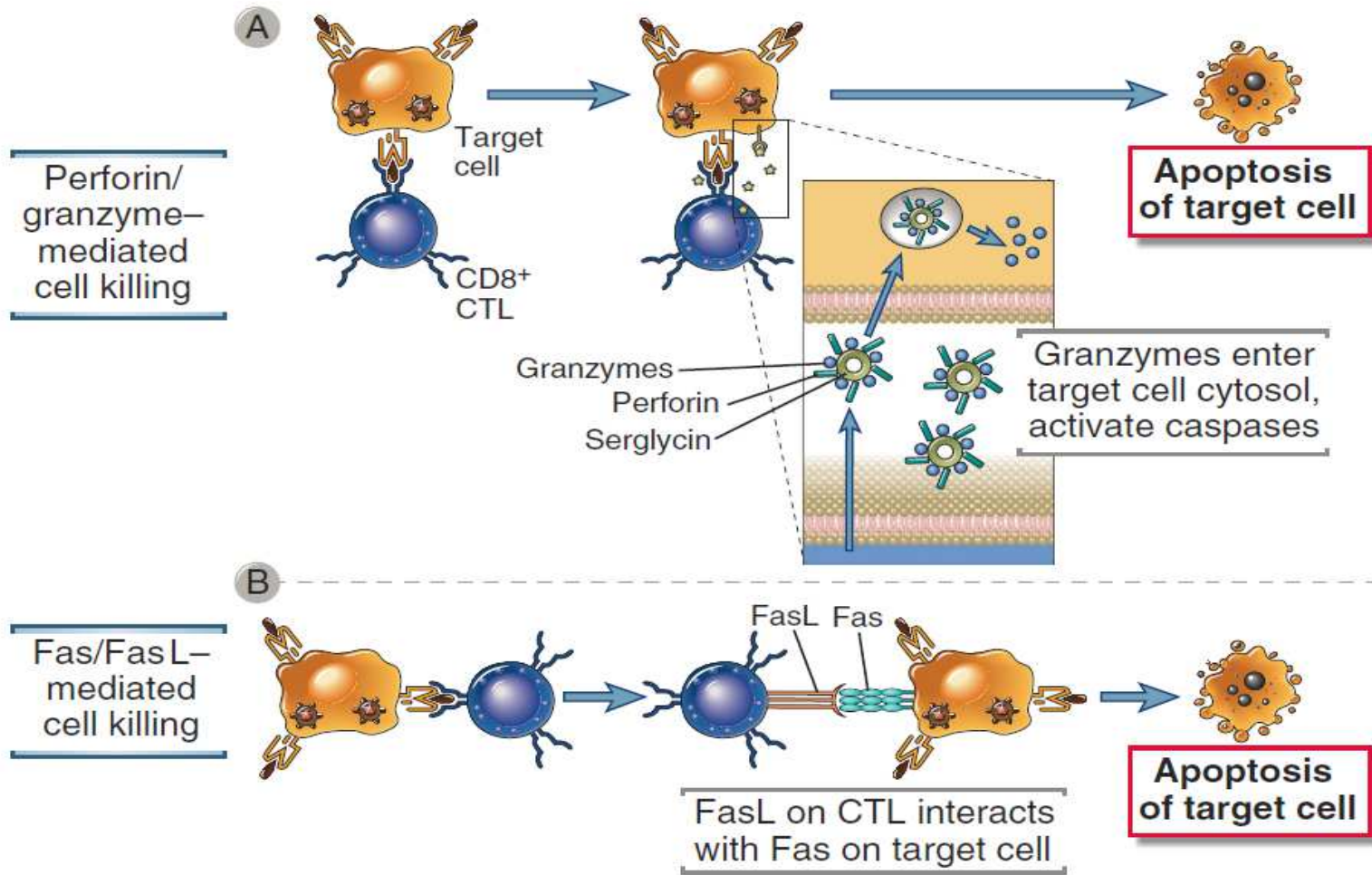
Cytotoxické T-lymfocyty

- 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



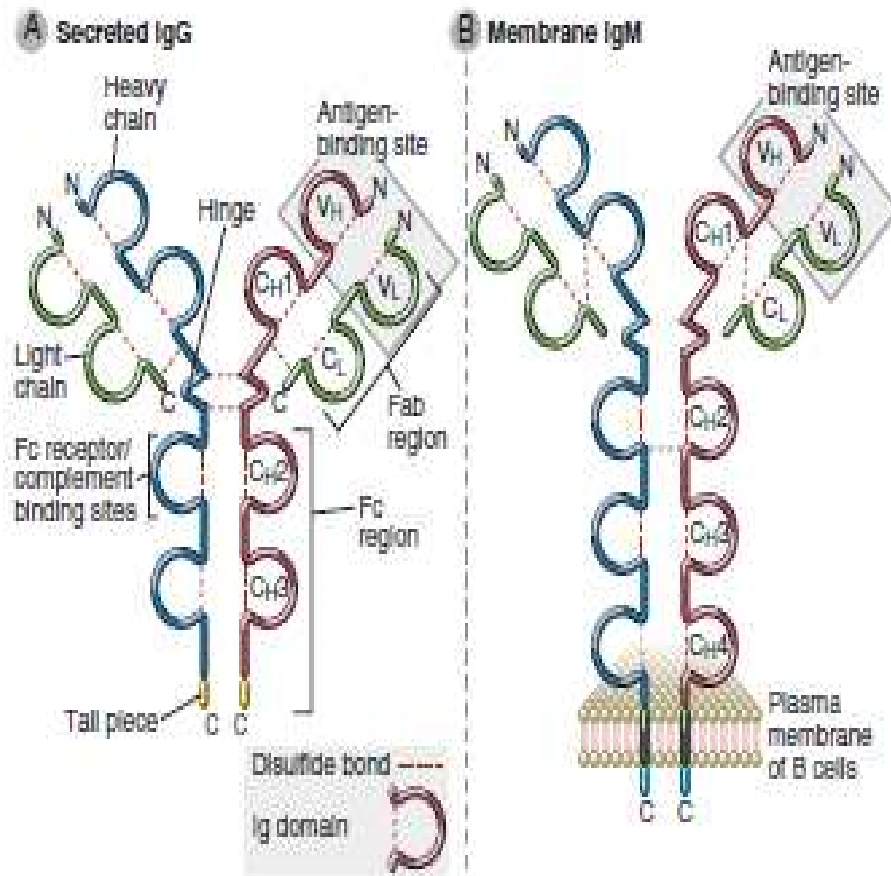
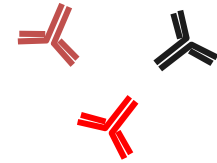
Mechanismy „zabíjení“ cytotoxických T lymfocytů



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

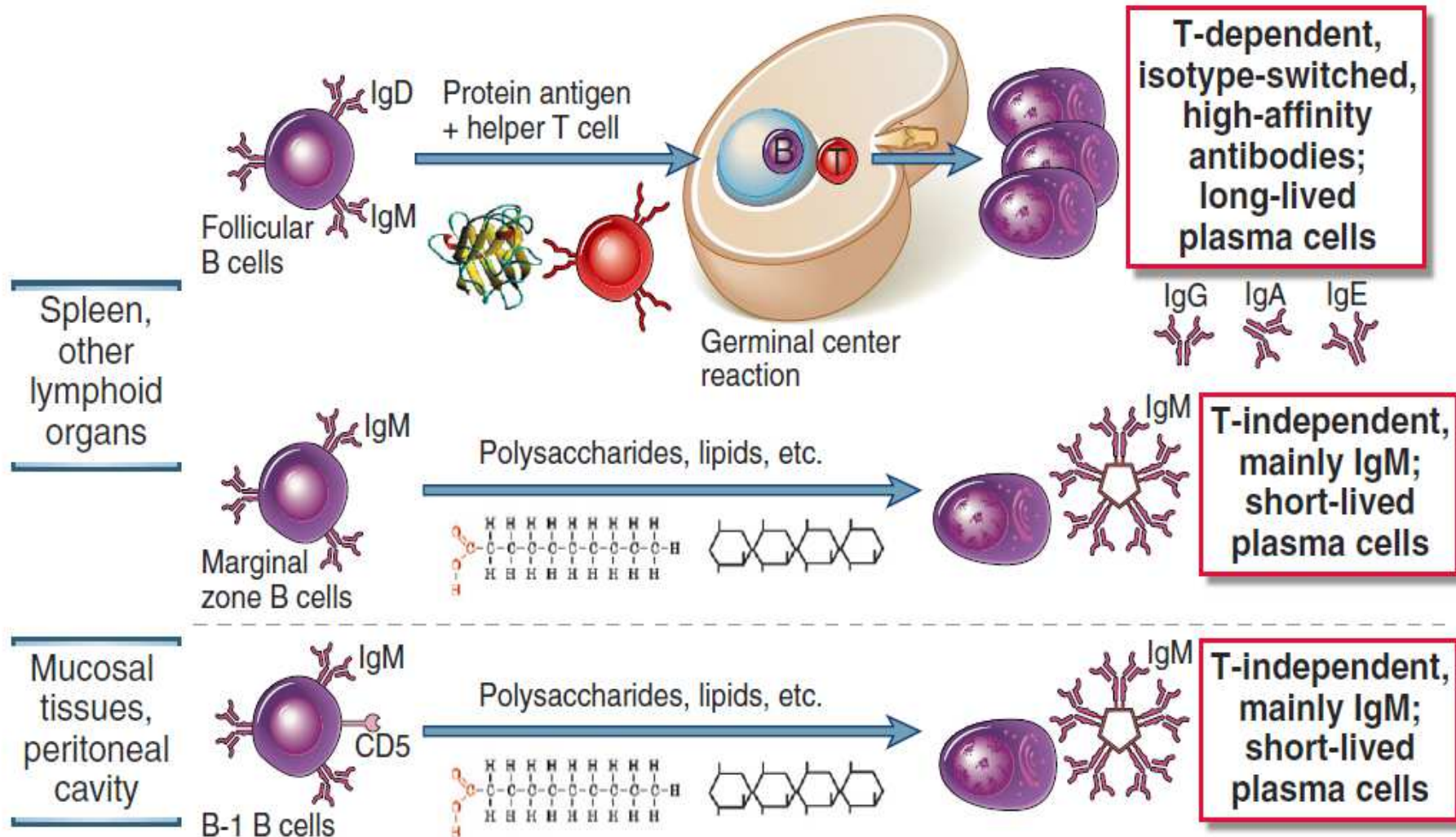


- Skládá se ze dvou identických těžkých řetězců a dvou identických lehkých řetězců
- Na každém řetězci jsou variabilní a konstantní oblasti

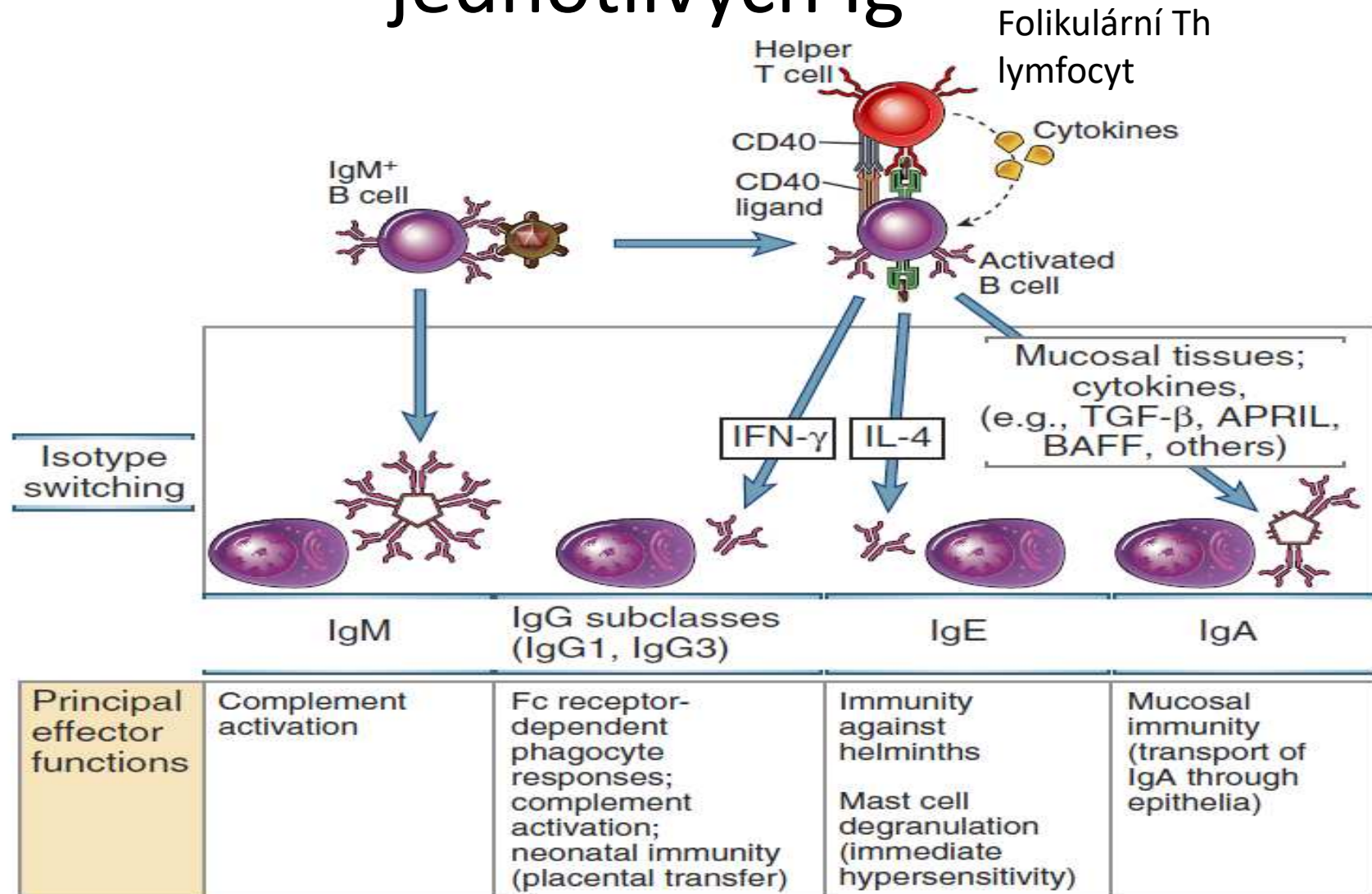
Protilátky

- 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

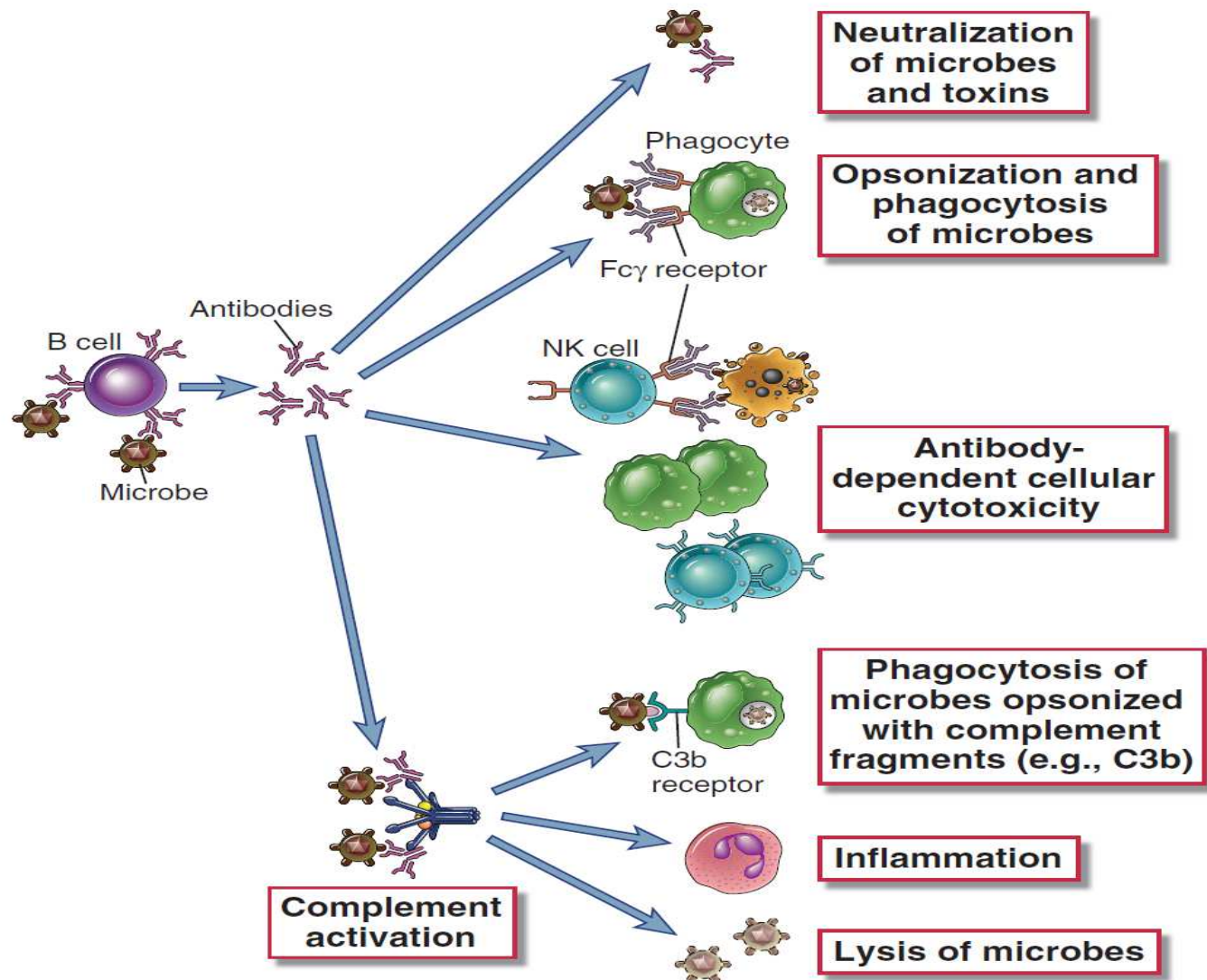
B-lymfocytární subpopulace



Izotypový přesmyk a funkce jednotlivých Ig



Efektorové funkce protilátek



Adaptivní imunita: paměť

Zvýšení imunitní reakce po opakovaném setkání s původním antigenem.

Klonální selekce – klonální expanze

Diferenciace: terminální efektorové buňky

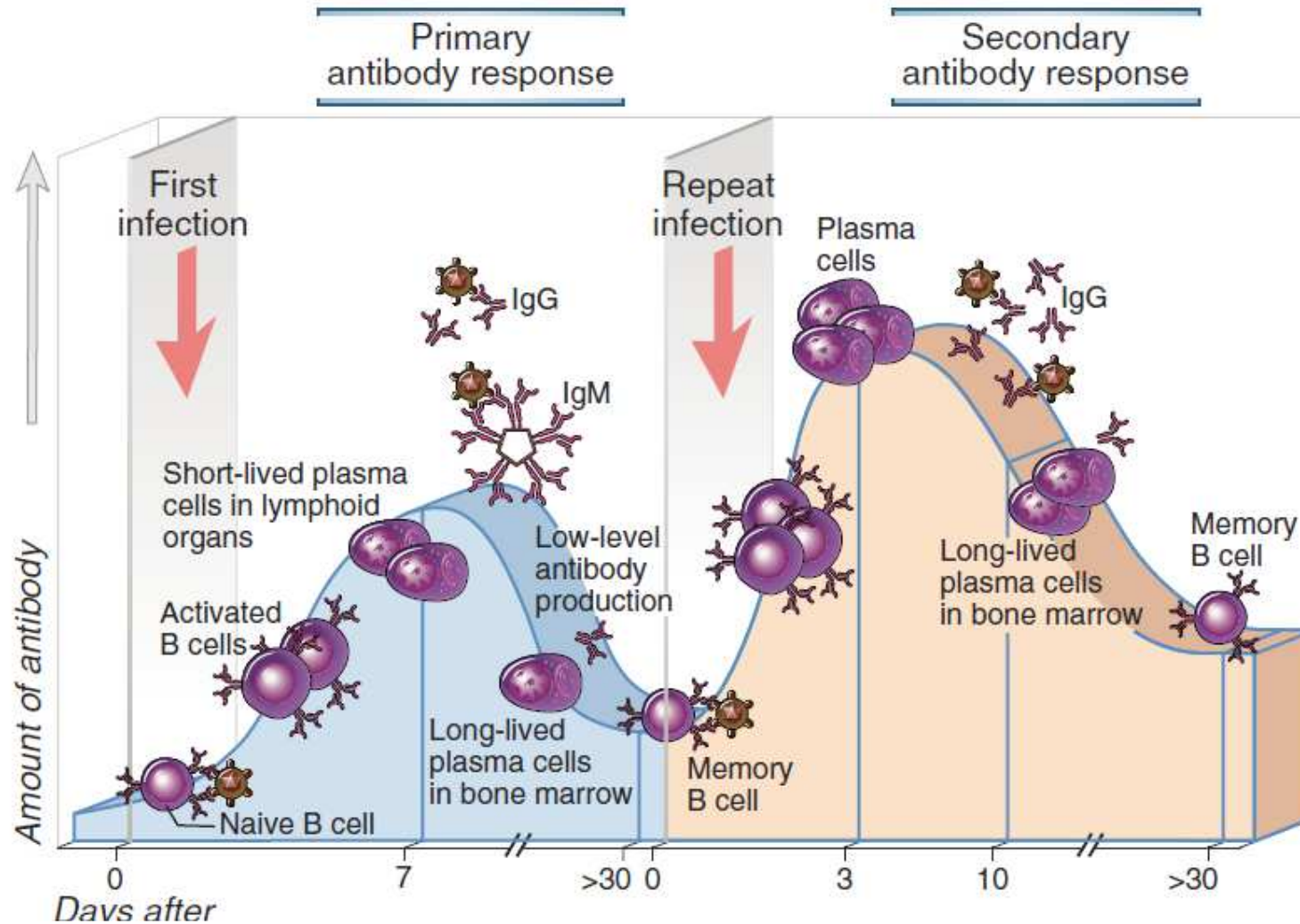
dlouze žijící paměťové buňky

Imunitní reakce

primární

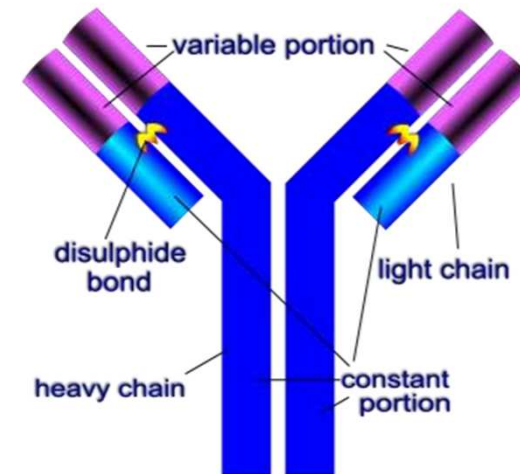
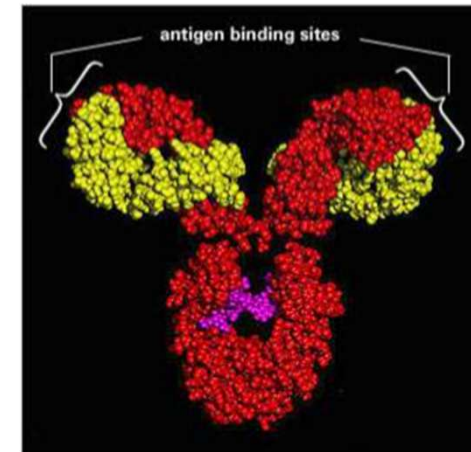
sekundární (anamnestická, “booster“)

Imunitní protilátková odpověď



Protilátky – imunoglobuliny (Ig)

- Peptidoglykany
- Tvar molekuly Y
- Dva těžké a dva lehké řetězce spojené disulfidickými můstky
- Variabilní část – vazba Ag
- Konstantní část - určuje příslušnost Ig do třídy: - existuje 5 tříd Ig: IgA, IgG, IgD, IgE a IgM



Vazba Ag a protilátky

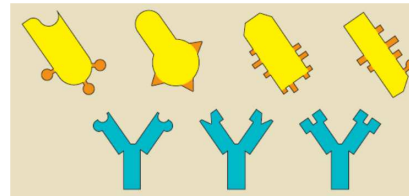
- Nevazebné interakce
 - Vodíkové můstky
 - Iontové interakce
 - van der Waalsovy síly
 - Dipol-dipol
- Interakce mezi antigenem a protilátkou závisí na pH, iontové síle a přítomnosti dalších látek např. detergentů, chelatotropních činidel ...

Imunochemické metody

- Podstatou je interakce Ag a protilátky (Ig) in vitro za tvorby imunokomplexů
- Možnost stanovit přítomnost a koncentraci jak protilátek tak antigenů
- Reakce je vysoce specifická, tj. vysoce citlivá
- Může vznikat precipitát, aglutinát či imunokomplex
- Pro provedení těchto reakcí potřebujeme předem připravené protilátky – tzv. antiséra

Rozdělení imunologických laboratorních metod

serologické (humorální) - detekce antigenů a protilátek, tvorba protilátek proti infekčnímu agens



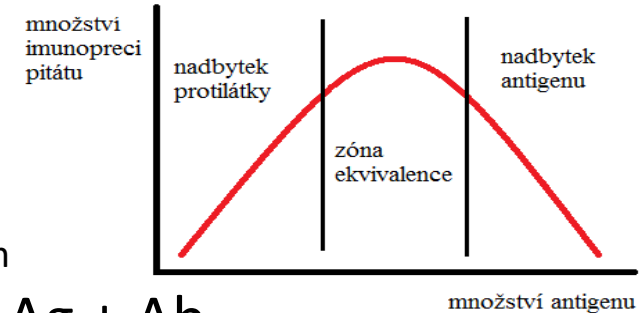
buněčné - počty a funkce jednotlivých typů leukocytů



Serologické metody

<http://www.wikiskripta.eu>

Imunoprecipitační křivka



Reakce antigenu (Ag) s protilátkou (Ab) = imunokomplex:

- 1. Primární fáze**
 - rychlá, nepozorovatelná pouhým okem
 - tvorba imunokomplexů Ag + Ab
 - vznik vazby jednotlivých epitopů s vazebnými místy protilátek

- 2. Sekundární fáze**
 - pomalá, pozorovatelná pouhým okem
 - uplatňuje se multivalence Ag a polyvalence Ab
 - vznik prostorového komplexu

Pokud nedochází k sekundární fázi reakce, je nutné imunokomplexy vzniklé v primární fázi vizualizovat – imunochemické metody

Serologické metody

1. Klasické serologické metody je přítomna primární i sekundární reakce

- Aglutinace (přímá / nepřímá)
- Precipitace (v kapalině, v gelu)

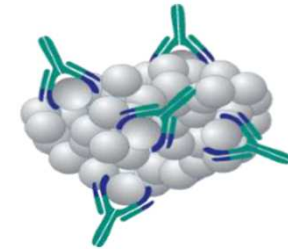
2. Imunochemické metody s následnou detekcí – není přítomna sekundární reakce

- Imunofluorescence (přímá / nepřímá)
- Imunoanalýza (EIA-ELISA, RIA, FIA, LIA)
- Immunoblot, imunodot

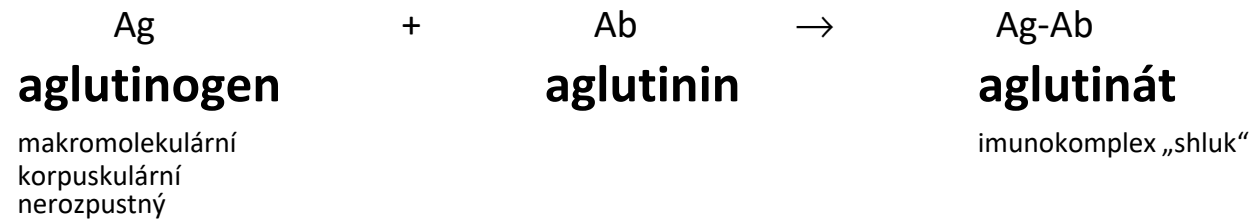
3. Metody založené na efektorovém účinku protilátek (využívané v klinické mikrobiologii)

- Komplement fixační reakce
- Inhibiční a neutralizační testy

Aglutinace vs Precipitace

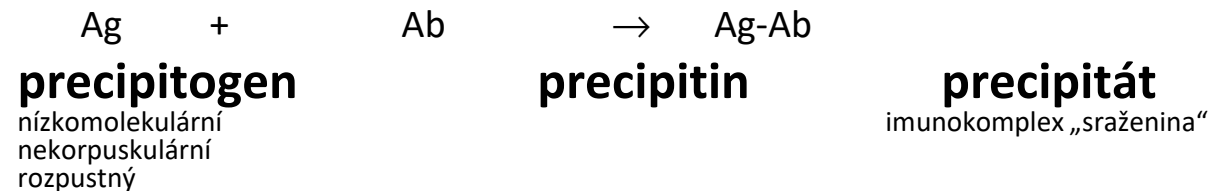


Aglutinace (shlukování)

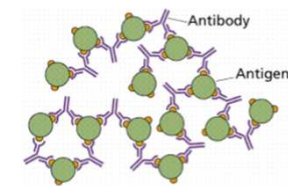


Protilátky naměřené proti epitopům antigenních částic vytvářejí mezi korpuskulární můstky, které vedou ke vzniku shluků (aglutinátů)

Precipitace (srážení)



Reakce mezi solubilním antigenem a protilátkou s následným vznikem precipitátu (hydrofobní vazby – nerozpustný komplex)



Stanovení hladin imunoglobulinů – využití aglutinace a precipitace

- Detekce celkových hladin protilátek v séru – nefelometrie
- Detekce proteinů akutní fáze
- Detekce protilátek proti revmatoidnímu faktoru

- Detekce protilátek - pomocí precipitace s příslušným antigenem (Salmonela, Listerie, ...)

- Detekce mikroorganismů pomocí předem připravených protilátek (Salmonela, Streptokoky, Stafylokoky, ...)
-
- Detekce antigenů vylučovaných mikroorganismy pomocí předem připravených protilátek (Streptokoky – zápal plic, Haemophilus influenzae – meningitida, ...)
-
- Krevní skupiny – průkaz krevních skupin reakcí protilátek s antigeny na červených krvinkách

Průkaz protilátek

- Má několik rovin:
- 1. Pacient tvoří nebo netvoří protilátky – diagnóza imunodeficitu
- 2. Pacient tvoří nebo netvoří protilátky všech tříd - diagnóza selektivního deficitu IgA, IgM, deficit podtříd Ig
- 3. Pacient tvoří specifické protilátky – odolnost proti infekcím, často se používá v mikrobiologii

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

Type of hypersensitivity	Pathologic immune mechanisms	Mechanisms of tissue injury and disease
Immediate hypersensitivity (Type I)	<p>T_H2 cells, IgE antibody, mast cells, eosinophils</p>	<p>Mast cell-derived mediators (vasoactive amines, lipid mediators, cytokines)</p> <p>Cytokine-mediated inflammation (eosinophils, neutrophils)</p>
Antibody-mediated diseases (Type II)	<p>IgM, IgG antibodies against cell surface or extracellular matrix antigens</p>	<p>Complement- and Fc receptor-mediated recruitment and activation of leukocytes (neutrophils, macrophages)</p> <p>Opsinization and phagocytosis of cells</p> <p>Abnormalities in cellular function, e.g., hormone receptor signaling</p>
Immune complex-mediated diseases (Type III)	<p>Immune complexes of circulating antigens and IgM or IgG antibodies deposited in vascular basement membrane</p>	<p>Complement and Fc receptor-mediated recruitment and activation of leukocytes</p>
T cell-mediated diseases (Type IV)	<p>1. $CD4^+$ T cells (delayed-type hypersensitivity) 2. $CD8^+$ CTLs (T cell-mediated cytotoxicity)</p>	<p>1. Macrophage activation, cytokine-mediated inflammation</p> <p>2. Direct target cell lysis, cytokine-mediated inflammation</p>

Imunopatologické reakce humorální - s účastí IgE protilátek

- **Atopie – reakce typu 1 nebo též přecitlivělost časného typu**
- K reakci dochází velmi rychle po setkání s Ag (minuty)
- Spojen s tvorbou IgE proti některým antigenům alergenům z vnějšího prostředí:
 - složky pylových zrněk
 - antigeny roztočů z domácího prachu
 - potravinové antigeny
 - zvířecí srst
 - Většina alergenů proteiny nebo glykoproteiny s enzymatickou aktivitou

ALERGICKÁ PŘECITLIVĚLOST neboli přecitlivělost prvního typu

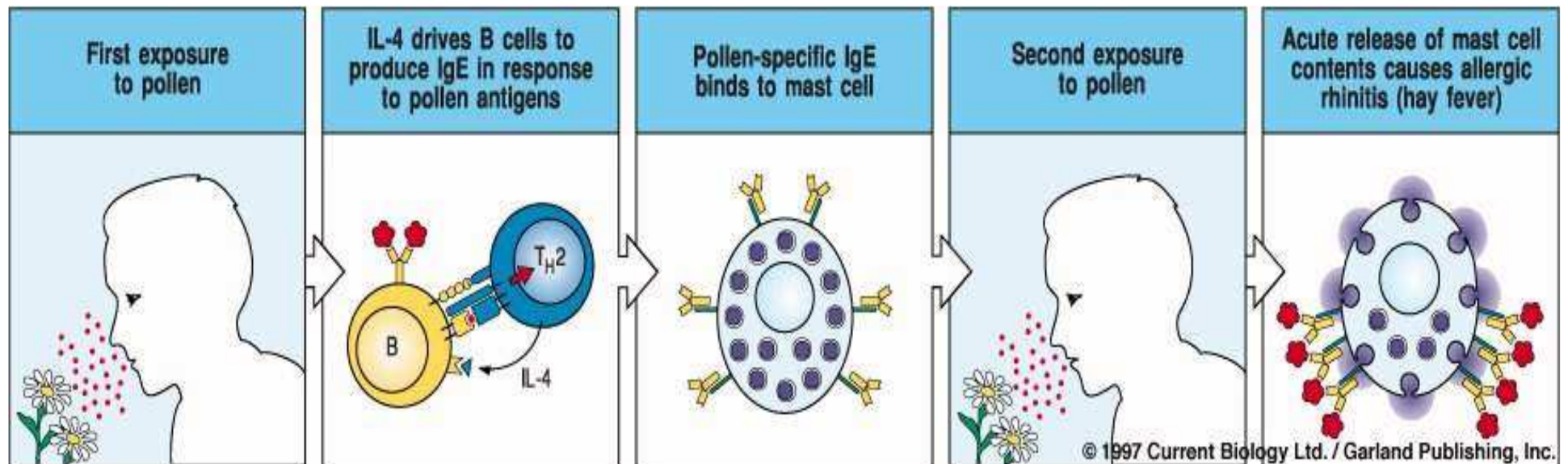
Zprostředkovaná IgE -**atopická**

- atopie je individuální nebo rodinný sklon k tvorbě protilátek IgE již na malá množství alergenů, obvykle proteinů
- typické projevy – senná rýma, bronchiálního astma, rhinokonjunktivitida
- syndromu alergického ekzému/dermatitida

neatopická

- hmyzí jed, helmintózy, léky,...

Type-I hypersensitivity



- Při prvním setkání s alergenem je daný alergen rozeznán imunitním systémem jako Ag, dojde k aktivaci IS a tvorbě IgE protilátek a alergeny se naváží svým Fc koncem na Fc epsilon receptory žírných buněk.
- Při dalším setkání s alergenem dojde k vazbě alergenu na navázané IgE na žírných buňkách, to způsobí pohyb Fc epsilon receptorů na membráně, jejich konformační změnu, což všechno v důsledku vede k aktivaci žírné buňky, tj. vyplavení mediátorů připravených v žírné buňce, které ovlivní okolní tkáň a buňky.

Diagnostika atopické přecitlivělosti

- Anamnéza
- Celkový a specifický IgE
- Eosinofilie
- Specifické IgE
- Test aktivace bazofilů
- Eosinofilní kationický protein v séru
- Kožní testy
- Provokační a eliminační testy
- Vyšetřování NO ve vydechovaném vzduchu

Nejčastější alergen

- Inhalační:
 - Pyly – traviny, stromy, plevele
 - Roztoči domácího prachu
 - Zvířecí alergen
 - Plísně
- Potravinové
 - Mléko
 - Vejce
 - Ořechy
 - Mořské plody
- Léky
 - Penicilinová antibiotika, lokální anestetika
- Injekční
 - Jed blanokřídlého hmyzu

ALERGENY-taxonomie

první tři písmena=rod další písmeno=druh

arabské číslo=identifikační pořadí

Phl p 1-13 Phleum pratense (bojínek, timotejka)

Bet v 1-7 Betula verrucosa (bříza)

Asp f 1-34 Aspergillus fumigatus

Der f 1-22 Dermatophagoides pteronyssimus -
(roztoči)

Fel d 1-7 Felis domesticus

Api m 1-10 Apis mellifera (Celer)

Ara h 1 Arachis hypogaea (burský ořech)

Alergeny vyvolávající pozdní typ přecitlivělosti

- Reaktivní chemikálie obsažené v léčích, kosmetických výrobcích, nátěrových hmotách, soli některých kovů silice rostlin
- Vznik kontaktní alergie – diferenciací do Th1 lymfocytů

Alergeny mohou způsobovat různou reakci

- Většina alergenů proteiny nebo glykoproteiny s enzymatickou aktivitou
- Komplexní organické sloučeniny – protilátková odpověď
- Anorganické látky (kovy) – buněčná odpověď

Autoimunitní choroby

Autoimunitní choroby

- onemocnění, při kterém **autoprotiátky** nebo **autoreaktivní T-lymfocyty** vedou k poškození vlastních buněk nebo tkání
- postihují 5-7% populace, především ženy

Autoimunitní choroby

Systemové

Orgánově specifické

Řada onemocnění má intermediární charakter s postižením několika orgánů.

Serologická diagnostika autoimunitních chorob

- Vnitřní stimulace imunitního systému
- V jejím důsledku vznikají autoprotilátky
- Jsou zaměřeny proti tělu vlastním tkáním
- Způsobují zánětlivou reakci
- Protilátky jsou zaměřeny proti:
 - orgánům
 - tkáním
 - trombocytům

Patogenetické mechanismy autoimunity

Pět fází:

- Fáze predispozice
- Iniclace lokální imunologické reaktivity
- Nekontrolovaná produkce autoreaktivních T- a B-lymfocytů spojená s vytvořením autoprotilátek
- Efektorová fáze
- Udržování choroby

Prevalence autoimunitních chorob

(Mackay IR, BMJ 2000; 321: 93-96)

<i>Choroby štítné žlázy:</i>	> 3% dospělých žen
<i>Revmatoidní artritida:</i>	1% celkové populace, převaha žen
<i>Primární Sjögrenův syndrom:</i>	0,6-3% dospělých žen
<i>Systémový lupus erythematosus:</i>	0,12% celkové populace, převaha žen
<i>Roztroušená skleróza:</i>	0,1% celkové populace, převaha žen
<i>Diabetes I. typu:</i>	0,1% dětí
<i>Primární biliární cirhóza:</i> věku	0,05-0,1% žen středního a staršího
<i>Myasthenia gravis:</i>	0,01% celkové populace, převaha žen

Klasifikace autoimunitních chorob

- Systémová:
Lupus Erythematosus, Sklerodermie,
Revmatoidní artritida
- Orgánově specifické:
Hashimotova choroba, Perniciózní anémie,
Addisonova choroba
- Přejídný typ:
Myastenia Gravis, Idiopatická leukémie,
Juvenilní Diabetes

Diagnostika AIO obecně

Klinika

Nález autoprotilátek

Histologický nález

Laboratorní diagnostika autoimunitních chorob

- ***ELISA***
- ***NEPŘÍMÁ IMUNOFLUORESCENCE (IF)***
- ***IMMUNOBLOTTING (IB)***

Serologické metody

1. Klasické serologické metody

- Aglutinace (přímá / nepřímá)
- Precipitace (v kapalině, v gelu)

2. Imunochemické metody s následnou detekcí

- Imunofluorescence (přímá / nepřímá)
- Imunoanalýza (EIA-ELISA, RIA, FIA, LIA)
- Immunoblot, imunodot

3. Metody založené na efektorovém účinku protilátek (využívané v klinické mikrobiologii)

- Komplement fixační reakce
- Inhibiční a neutralizační testy

Imunofluorescence



Zdroj:
www.chemiaasvetlo.sk/teoria/chemiluminiscencia/

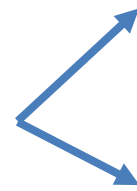
- Luminiscence

Jev, při kterém látka emituje záření po absorpci excitačního záření (Fotoluminiscence) nebo při chemické reakci (Chemiluminiscence)



Zdroj: www.infobiologia.net/2017/01/bioluminiscencia-animales-bacterias.html

Fotoluminiscence



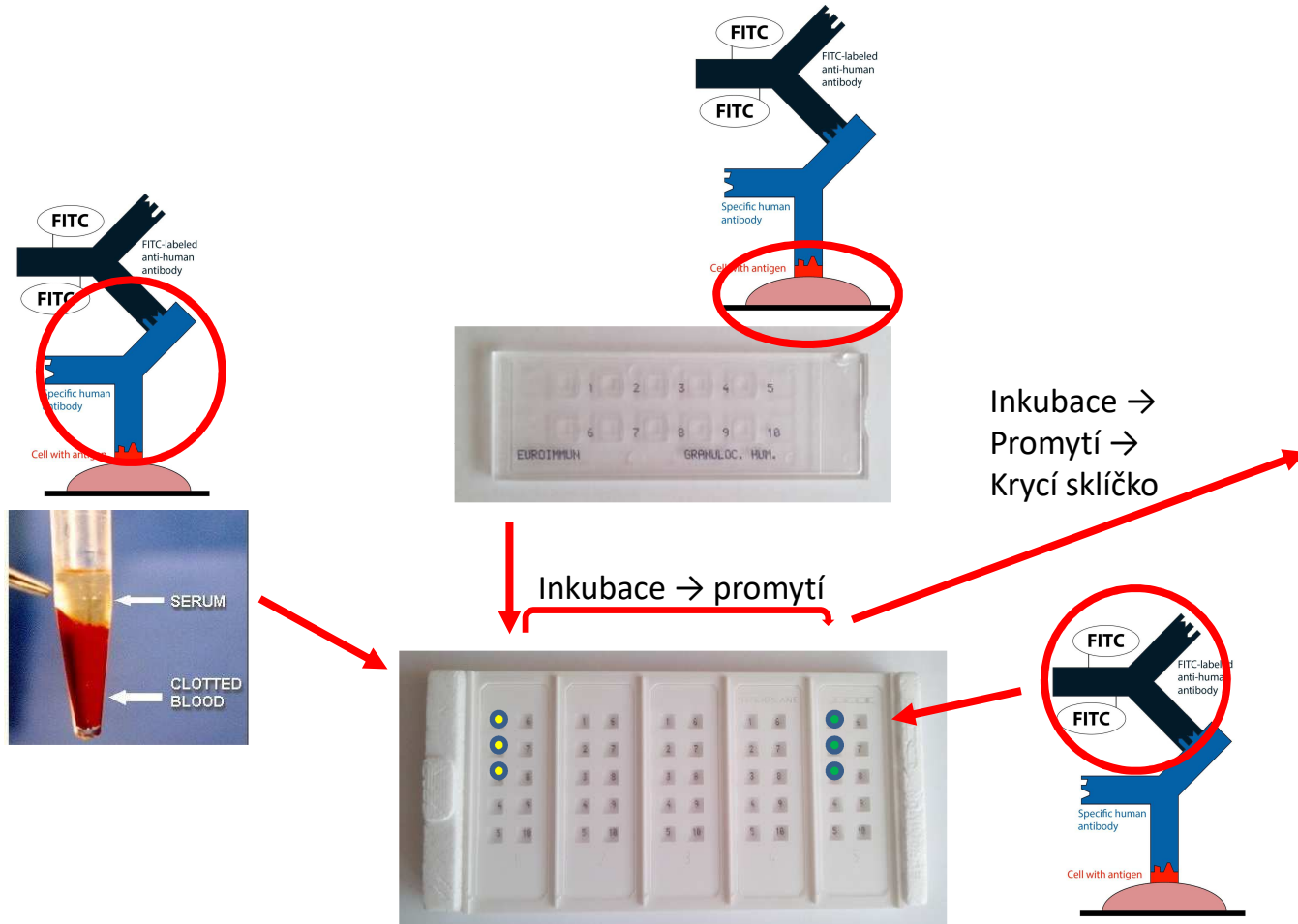
Fluorescence

emise záření krátce po excitaci (10^{-8} až 10^{-5} s)

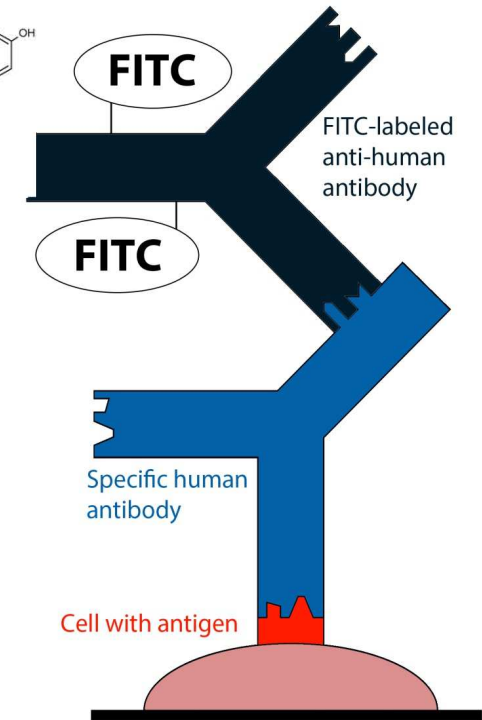
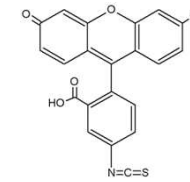
Fosforescence

emise záření trvá delší dobu (10^{-2} s až dny)

Základní princip

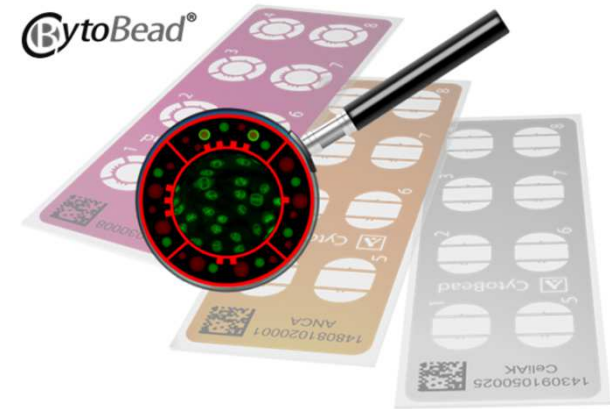


Konjugát



- Protilátka s navázaným fluorescenčním barvivem (fluorochromem)
- Nejčastěji používaný fluorochrom je **FITC** (fluoresceinizothiokyanát)
 - excitační/emisní vlnová délka 495/520 nm (zelené světlo)
- Konjugát je určen na specificky vazbu pro určitou třídu imunoglobulinů (**IgG/IgA**) – výběrem konjugátu stanovíme protilátky jen této třídy
- Pro některé autoimunitní onemocnění má klinický význam výskyt autoprotilátek v izotypové třídě IgA (např. celiakie)

Imunofluorescence



Antigenní substráty používané při nepřímé IF

- **Buňky HEp2** (Human Epithelial) – detekce **ANA**
 - odvozené z linie HeLa (karcinom děložního čípku)
 - rychle se dělicí buňky, v mitóze pozorovatelná **chromatinová destička** – důležitý znak pro odlišení jednotlivých typů ANA
- **Neutrofilní granulocyty** – detekce **ANCA**
- **Crithidia luciliae** – prvok, detekce protilátek proti **dsDNA**
- **Opičí jícen** – detekce **EMA**
- **LKS** (liver, kidney, stomach) – detekce **AMA, ASMA, GPC, RET, ...**
 - kombinace 3 krysích tkání: játra, ledviny, žaludek

ANA (Anti Nuclear Antibodies)

- Velká skupina protilátek
- Váží se na různé antigeny v jádře (DNA, RNA, centromery, ...)
- Výskyt při různých autoimunitních onemocněních (systémový lupus erytematodes, Sjögrenův syndrom, revmatoidní artritida, ...)

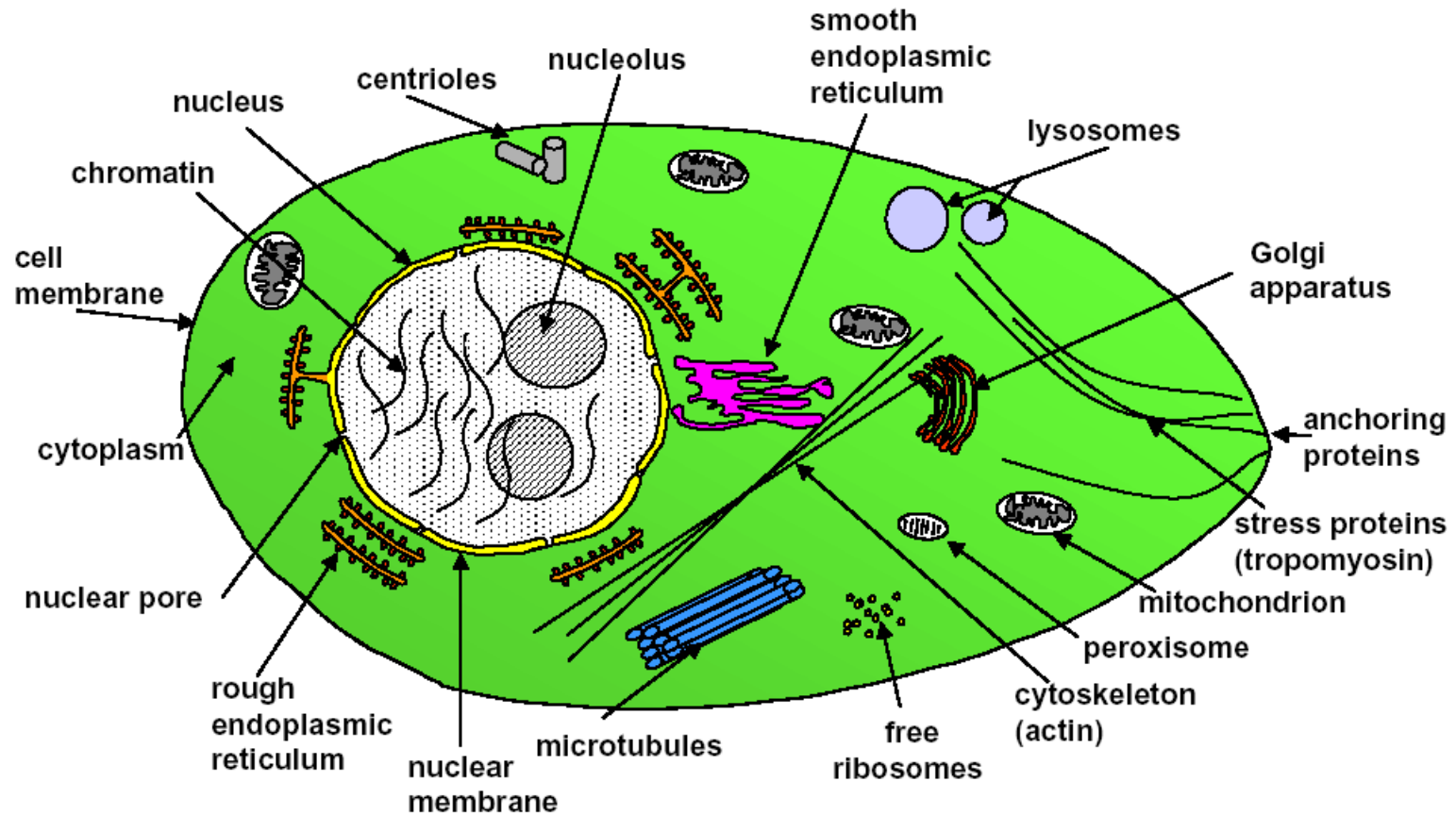


Fluorescenční obraz v mikroskopu může vypadat stejně nebo podobně u různých protilátek – pokud vidíme určitý obraz, **nevíme ještě, o jakou autoprotílátku se jedná** (na jaký antigen se váže), k jejímu bližšímu určení mohou pomoci jiné metody (ELISA, ImunoBlot)

Antinukleární autoprotilátky (ANA)

- Reagují a molekulovými terči přítomnými v jaderném aparátu buňky
- Výskyt u systémových nemocí
- Infekce EBV, CMV
- Výskyt roste asymptoticky s věkem
- Většinou imunofluorescenční stanovení na Hep-2 buňkách – buněčná linie odvozená od lidského karcinomu
- Vyšetření IF

Schéma Hep-2 buňky



Typ: Homogenní

antigen :

histony - bazické proteiny asociované s DNA

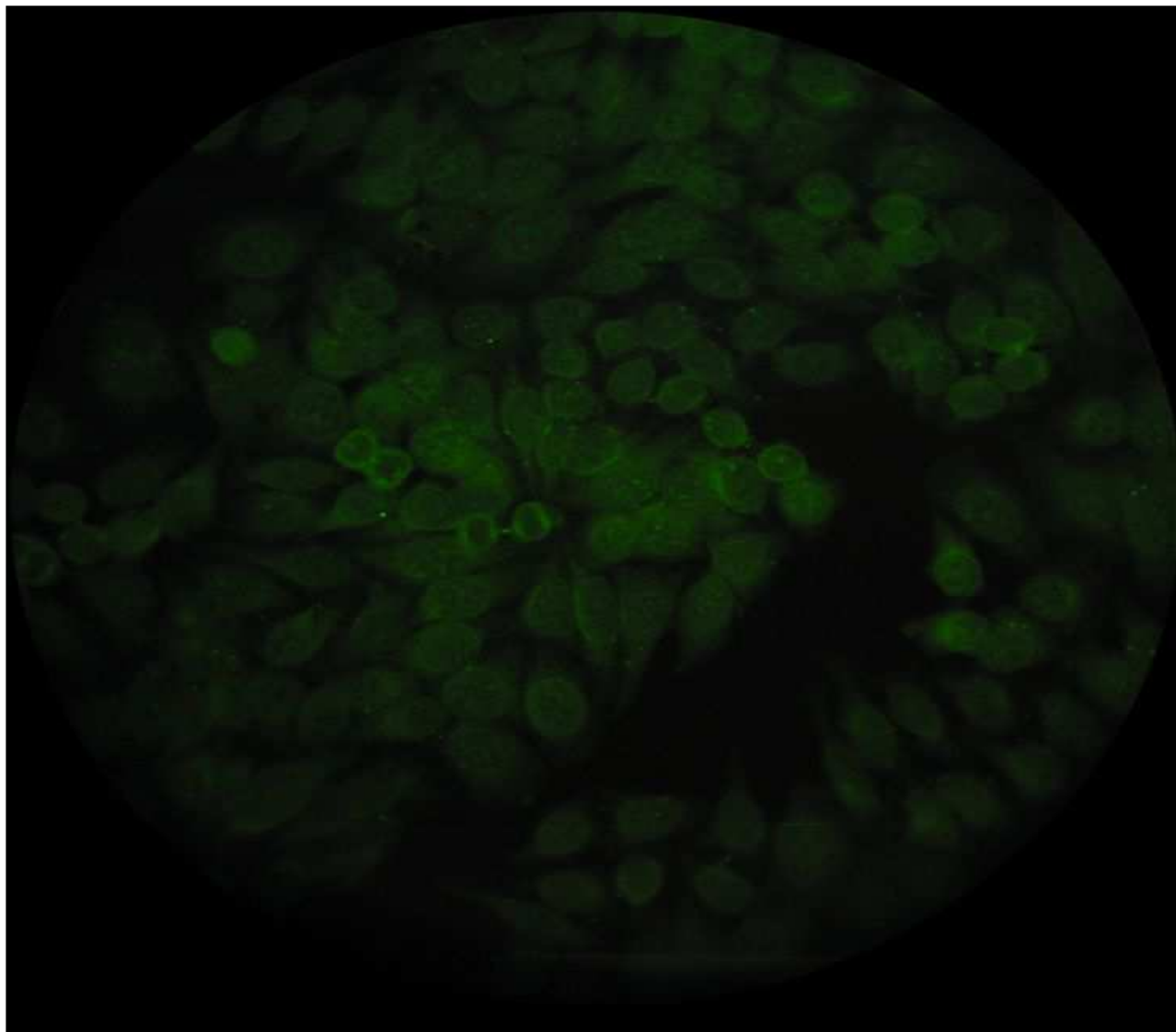
polynukleotidy - dsDNA, ssDNA

Ku - DNA vazebný protein

klinické asociace :

SLE, léky indukovaný lupus, RA

negativní obraz

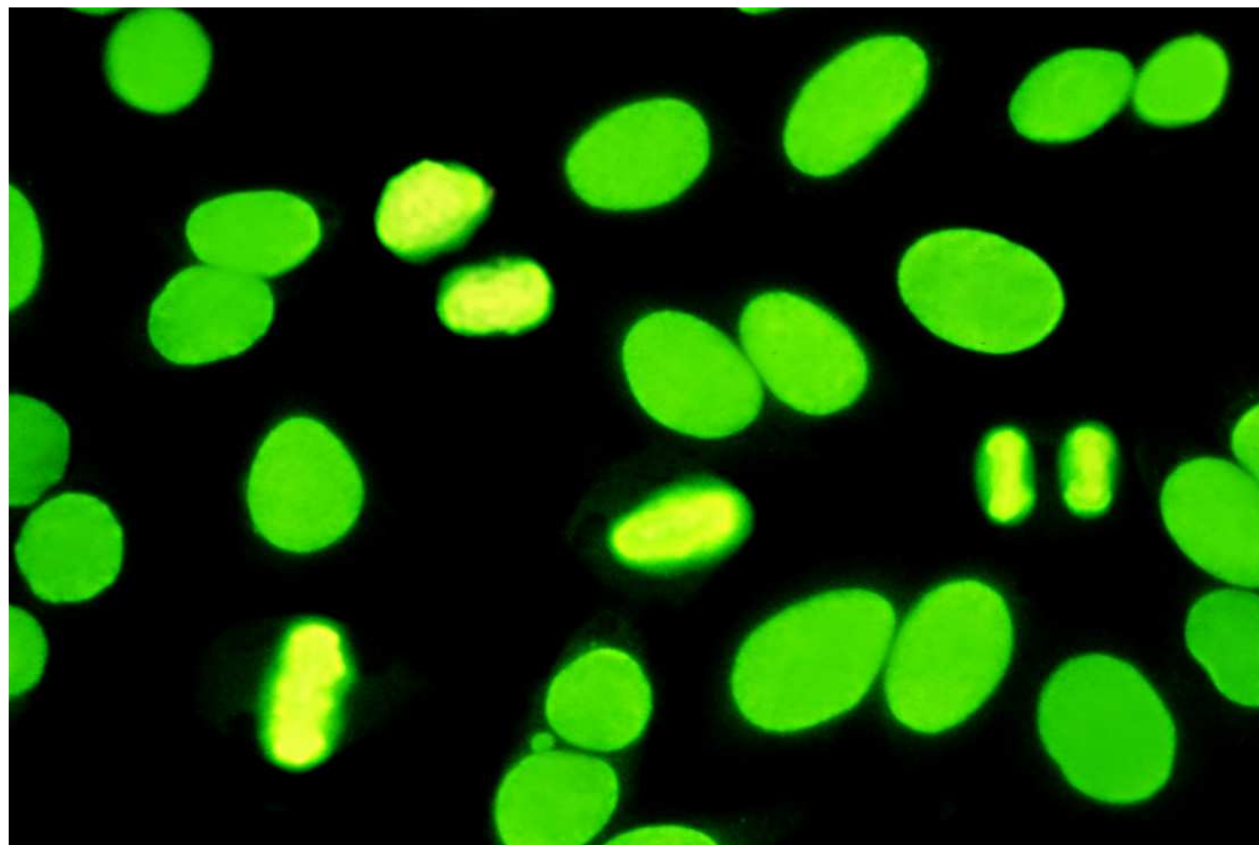


Fluorescenční obraz na Hep-2

HOMOGENNÍ

Polynukleotity - dsDNA, ssDNA

Histony - H1,H2A,H2B, H3,H2A-H2B komplex



Laboratorní diagnostika autoimunitních chorob

- ***ELISA***
- ***NEPŘÍMÁ IMUNOFLUORESCENCE***
- ***IMMUNOBLOTTING***

Autoprotilátky - RF

- Revmatoidní faktory – rozpoznávají epitopy na Fc části molekuly IgG
- Immunopatologická zánětlivá reaktivita v kloubech
- Vytváření komplexů s autologními IgG, vazba na Fc fragment na makrofázích, tvorba prozánětlivých cytokinů – zánět
- Podobné stafylokokovému proteinu A

Antifosfolipidové protilátky

- Vznikají při infekčním poškození vlastních tkání
 - odhalují se fosfolipidové struktury, které by byly normálně nedostupné – charakter autoAg
- Protilátky vznikají proti:
 - Kardiolypinu
 - Fosfatidylserinu
 - Etanolaminu
 - Kys fosfatidové
 - β 2 glykoprotienu

Prevalence protilátek proti štítné žláze

Onemocnění	TSH	T3	T4	Anti-TPO	Anti-TG	Anti – TSH-R
Hashimotova thyreoiditida	↑	(↓)	↓	60-90%	30-40%	0%
Graves- Basedowova choroba	↓	↑	↑	60-70%	10-20%	80-100%
Normální populace	-	-	-	5-15%	4-8%	0%

Stanovení autoprotiátek: ELISA – metody

Imunitní reakce na nádorové buňky

- Akutní zánět

DAMP nádoru – prozánětlivé cytokiny, ROI, RNI
destrukce nádorových buněk, útlum angiogenese
a metastatické schopnosti

- Buňky NK

- Buňky NKT

- T-lymfocyty γ/δ , α/β

- Lymfocyty B

Stimulace imunitní odpovědi u nádorů vede k

- Zničení klonů nádorových buněk
- Odstranění nádoru

X

- Nádorové buňky vznikají z vlastních buněk
- Malá exprese Ag
- Slabá imunogennost

- Silná imunitní odpověď vzniká pouze u onkogenních virů

Imunitní systém a maligní nádor

Imunologická úprava nádoru (cancer immunoediting):

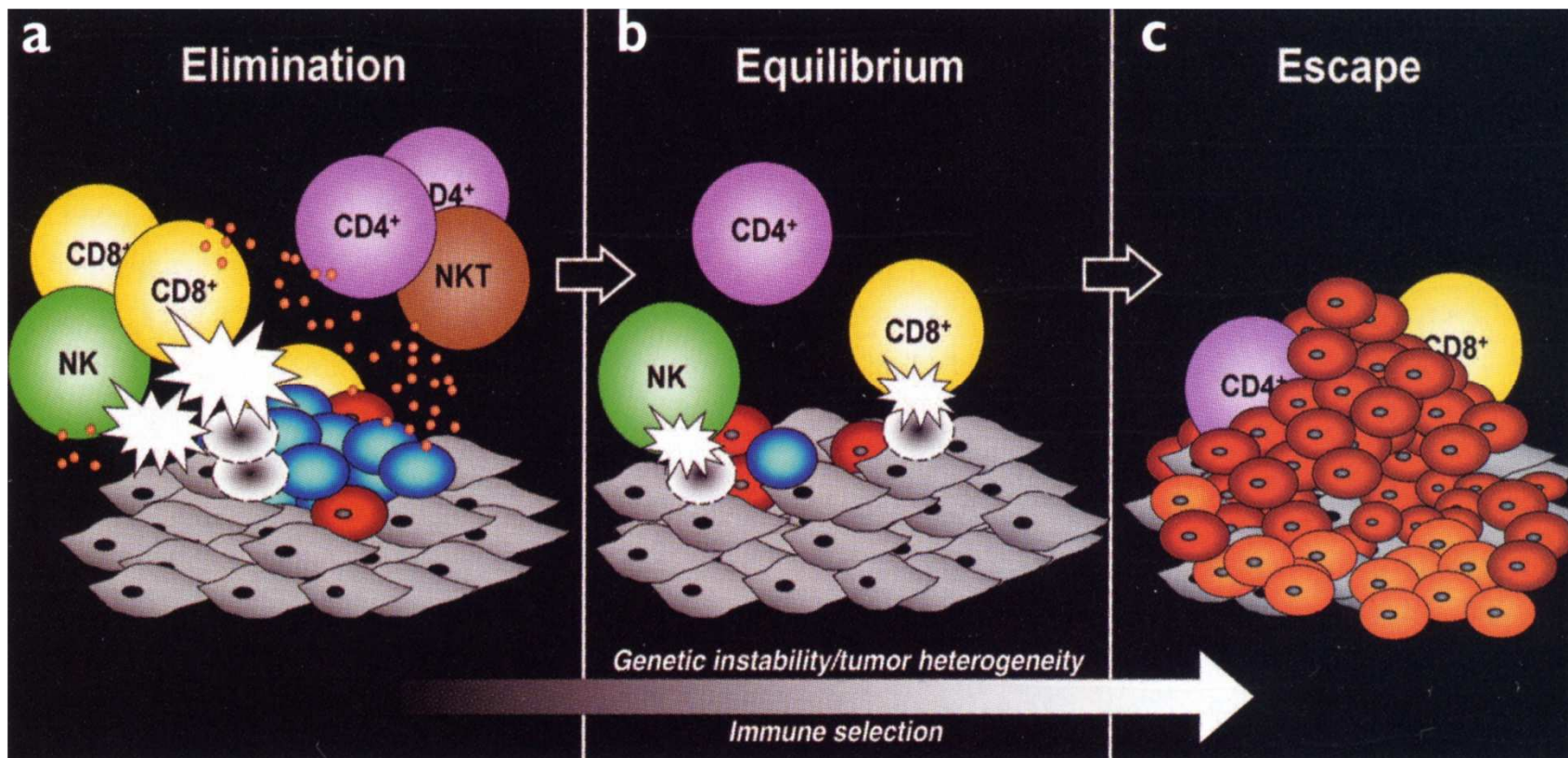
Stadium imunitního dozoru (immunological surveillance) – **eliminace** maligně transformovaných buněk.

Vytvoření **rovnováhy** mezi imunitním systémem a nádorem, selekce rezistentních mutantů – populace nádorových buněk konstantní, pod úrovní klinické detekovatelnosti

Imunitní systém není schopen buňky eliminovat, může trvat až 10 let(melanom, nádor prsu)

Únik maligních buněk před imunitními reakcemi – klinicky detekovatelné

Klonálně expandující nádorové buňky jsou geneticky značně nestabilní a snadno u nich dochází k chromosómním aberacím



Cancer immunoediting

Dunn GV, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD:
 Nature Immunology 2002; 3:991-998

Buněčná imunita proti nádorům

- Ag nádorových buněk zachyceny APC
- Prezentace Ag na komplexech MHC-II. třídy
- Komplex MHC II.třídy a peptid – rozpoznán CD4+ T-lymfocyty
- Aktivované T-lymfocyty – produkce cytokinů, které jsou 2.signálem pro konečnou diferenciaci cytotoxických CD8+ T-lymfocytů

NK - buňky

- NK buňky (natural killers, přirození zabíječi)
- In vitro : lýza buněk napadených viry i nádorových b.
- Cíl:
 - Buňky, které neexprimují MHC I.třídy
 - buňky, které jsou obaleny IgG protilátkami
- Aktivitu NK buněk zvyšují IL-2 a IL-12

Poruchy imunity

- Rozpoznávání vlastního od cizího – při poruše autotolerance = **autoimunitní onemocnění**
- Rozpoznávání pozměněných buněk – při poruše imunitního dohledu = **nádorová onemocnění**
- Rozpoznávání škodlivého a neškodného – při poruše obranyschoposti = atopie, alergie, imunosuprese, **imunodeficiencie**

IMUNODEFICIENCE

PRIMÁRNÍ
(VROZENÉ)

SEKUNDÁRNÍ
(ZÍSKANÉ)

Zvýšená vnímavost k infekčním agens

Náchylnost k maligním procesům

Autoimunitní projevy

Dysregulace imunitního systému

Varovné známky primárních imunodeficiencí

- Otitis media osmkrát a častěji za rok
- Pneumonie alespoň dvakrát do roka
- Opakující se infekce hluboko v tkáních nebo na neobvyklých místech (svaly, játra)
- Infekce vyvolané oportunními mikroby
- Abnormální reakce na živé vakcíny
- Neúspěch cílené antibiotikoterapie
- Rodinná anamnéza

Klinická manifestace imunodeficiencí

- Častý výskyt závažných infekčních komplikací: pneumonie (nejméně 2x ročně), otitis media (až 8x ročně) sinusitidy, meningitidy, abscesy hluboko v tkáních nebo na neobvyklých místech – svaly, játra.
- Infekce mohou být způsobeny atypickými agens (oportunními patogeny).
- Infekce špatně odpovídají na konvenční léčbu antibiotiky.
- Zvýšená frekvence banálních infekcí.
- Abnormální reakce na živé vakcíny
- Častěji než v běžné populaci se objevují některá nádorová onemocnění.
- Rodinná anamnéza

Diferenciální diagnostika PID

	HUMORÁLNÍ	BUNĚČNÉ KOMBINOVANÉ	FAGOCYTÁRNÍ	KOMPLEM ENT.
výskyt	70%	20%	9%	1%
věk	<6 m	0 ... < 2 r	0 ... < 2 r	kdykoli
příznaky	respirační inf. otitidy pneumonie	těžké resp. inf. pneumonie dermatitidy průjmy oportunní inf.	omfalitidy adenitidy pyodermie otitidy	autoimunitní o. SLE pyogenní inf. edémy
infekce	extracelulární echoviry	viry houby mykobakterie	houby enterobakterie	<i>neisseria spp.</i>
komplikace	echovirové inf. nádory autoimunitní o.	nádory autoimunitní o.	různé	různé
přežití	dospělost	ranné dětství	různé	různé
choroby	sIGAD XLA CVID	SCID	CGD LAD	HAE

Vyšetřované parametry v imunologické laboratoři

- Hladiny imunoglobulinů
- Hladiny C3, C4 složek komplementu v séru
- Aktivace komplementu klasickou a alternativní cestou
- Zastoupení lymfocytárních subpopulací
- Proliferační schopnosti, produkce cytokinů
- Burst test
- Myeloperoxidáza