

# Úvod do imunologie Vrozená (nespecifická) inmunita

Jiří Litzman

Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU  
Brno

# Imunitní systém

- Jeden ze základních homeostatických mechanismů organismů.
- Jeho funkcí je udržení integrity organismu rozpoznáním cizorodého /škodlivého pro vlastní organismus.
- Imunitní systém má schopnost rozpoznané cizorodé/nebezpečné látky eliminovat.

# Imunitní systém

- 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.

# Antigen

- Látka rozpoznaná imunitním systémem vyvolávající imunitní reakci – imunogennost (imunogen)
- Produkty imunitní reakce (protilátky, T-lymfocyty) mají schopnost s antigenem specificky reagovat.

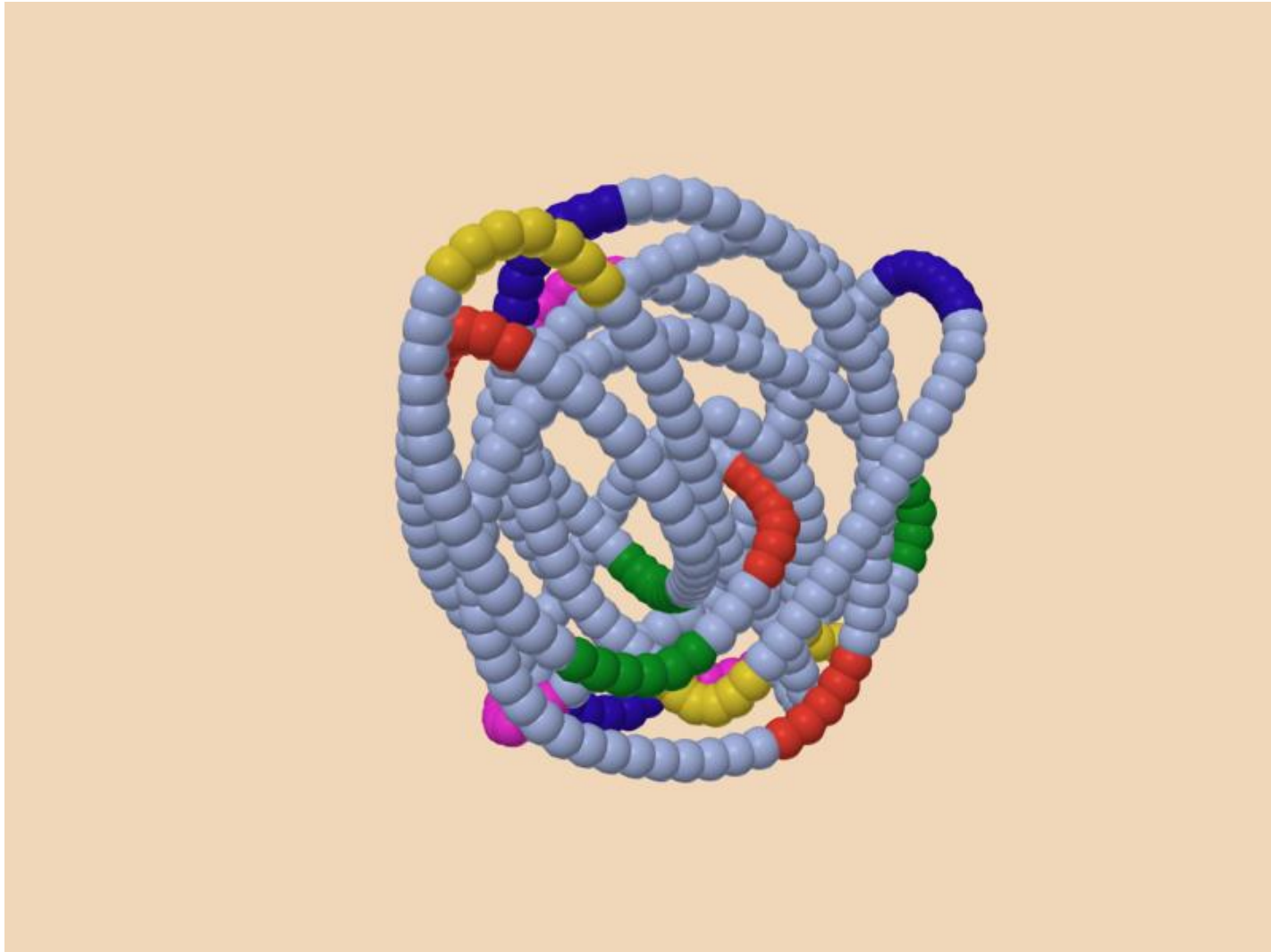
# Podmínky imunogenicity

- Cizorodost
- Dostatečná molekulová hmotnost ( $> 6$  kDa)
- Komplexní struktura

# Antigen – základní složení

- Nosičská část molekuly
- Antigenní determinanty (epitopy)  
(cca 5-7 aminokyselin!)

# Vztah antigenu a epitopu, nosičská část



# 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.



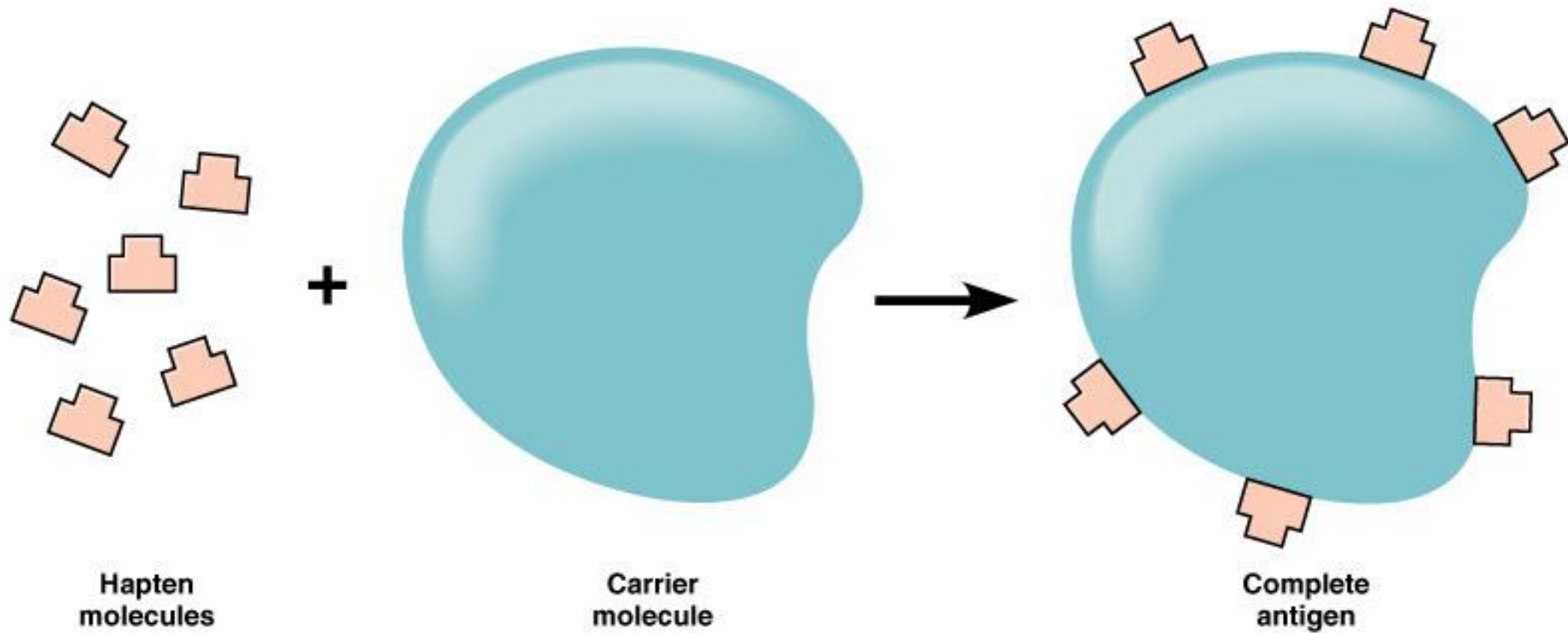
# Protektivní a neprotektivní antigen

- Protektivní antigen – vyvolává protektivní imunitní reakci.
- Neprotektivní antigen – sice vyvolá imunitní reakci, ale ta nevede k eliminaci antigenu (např. protilátky při HIV infekci).

# Hapten

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

# Imunogenicitata haptenu



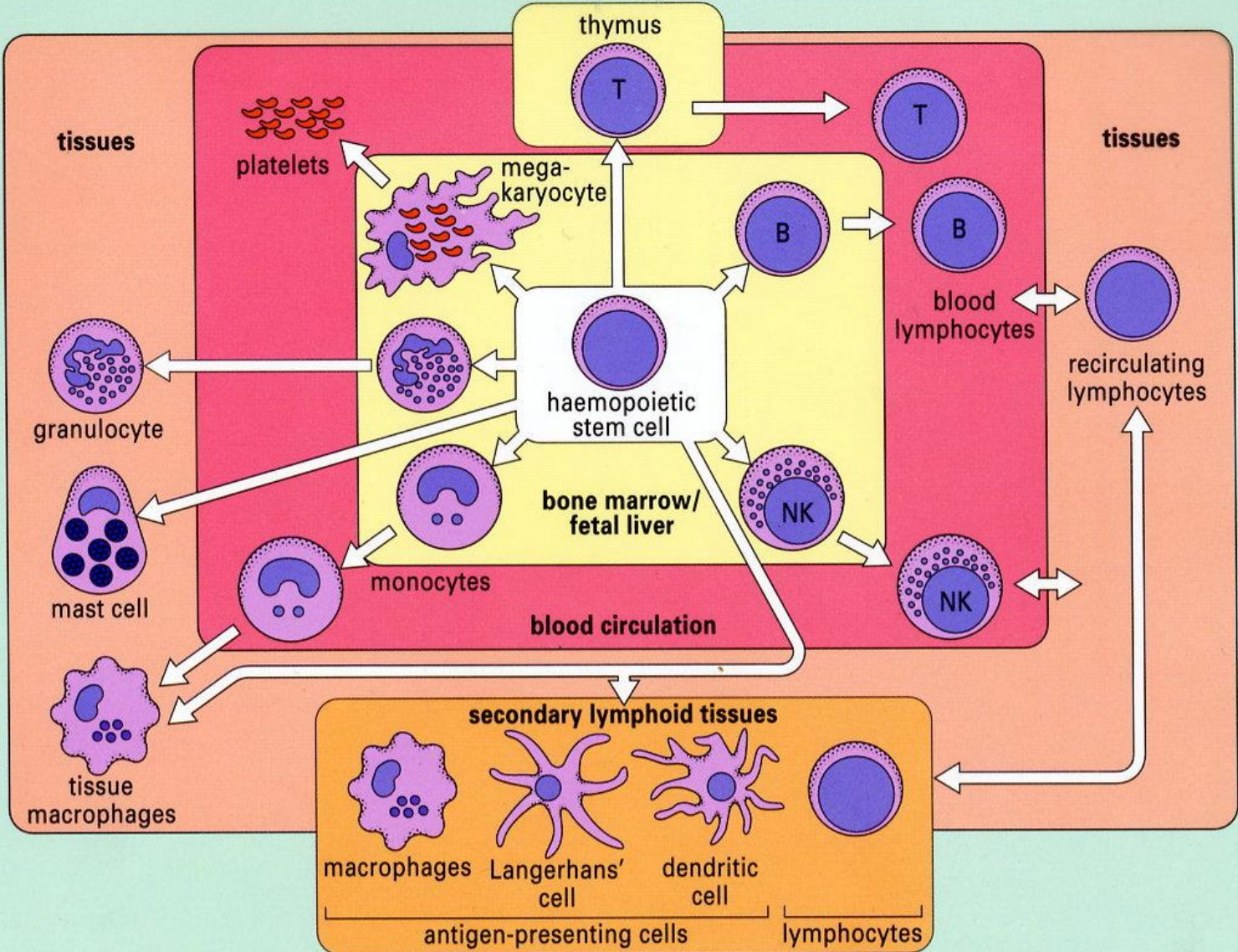
# Zkřížená reaktivita antigenů

- Produkty imunitní reakce mohou někdy reagovat se substancemi odlišnými než byly spouštěče vlastní reakce.
- Imunologická „podobnost“ nemusí vyjadřovat „podobnost“ chemickou.
- Stupeň zkřížené reaktivity může být různý.
- Zkřížená reaktivita se uplatňuje při patogenezi některých autoimunitních chorob (např. revmatická horečka).
- Významně se uplatňuje zkřížená reaktivita alergenů.
- Jedná se o obecný biologický fenomén, ne pouze o „vysvětlení revmatické horečky“!

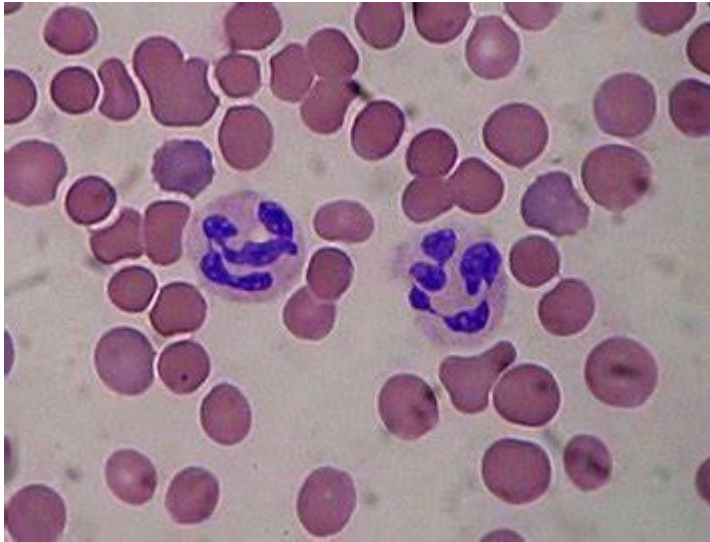
# Buňky imunitního systému

- Hlavní buňky imunitního systému
  - Lymfocyty (T a B)
- Vedlejší buňky imunitního systému
  - Granulocyty
  - Monocyty
  - Tkáňové makrofágy
  - Mastocyty
  - Dendritické buňky
  - NK buňky
  - Endotelie
  - Trombocyty, erytrocyty, fibroblasty, epiteliální buňky

# Kostní dřeň jako místo vzniku buněk imunitního systému



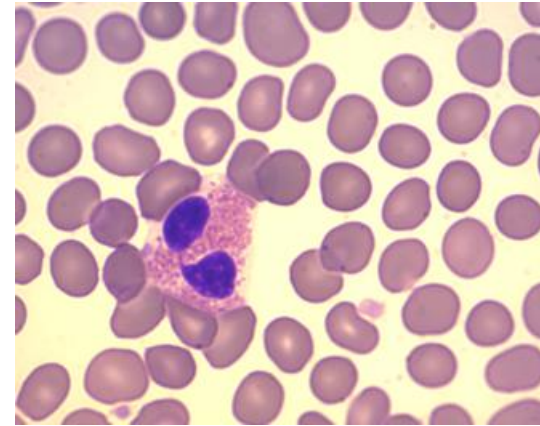
# Polymorfonukleární (neutrofilní) granulocyty



- U dospělých tvoří asi 60%-70% leukocytů periferní krve.
- Vykytují se v krvi ale především v tkáních (asi 90%).
- Poločas v krvi je pouze několik hodin.
- Jsou důležitými fagocytujícími buňkami objevujícími se v prvních fázích zánětu
- Jsou i důležitými producenty prozánětlivých cytokinů.
- Odumřelé neutrofilie jsou nejpodstatnější součástí hnisu.
- **Nepatří mezi antigen prezentující buňky.**



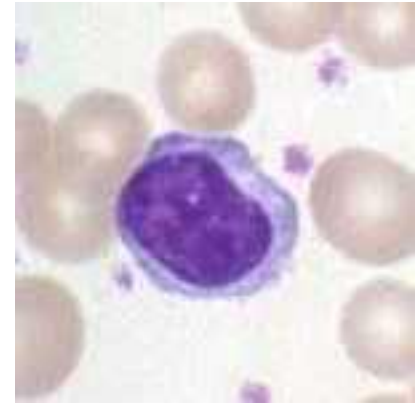
# Eozinofilní granulocyty



- U zdravých jedinců tvoří asi 1-3% leukocytů.
- Hrají důležitou roli v obraně proti mnohobuněčným parazitům.
- Tvoří řadu toxických produktů poškozujících eukaryontní buňky např: MBP (major basic protein), eosinofilní peroxidáza, ECP (eosinophil cationic protein)...
- Nejdůležitějším cytokinem stimulujícím jejich tvorbu je IL-5
- Jsou fagocytujícími ale ne antigen-prezentujícími buňkami
- Jejich počet je zvýšen u pacientů s parazitózami a u alergiků.
- Významně se patogeneticky uplatňují při alergickém zánětu jak tvorbou cytokinů, tak ničením buněk vlastního organismu.
-

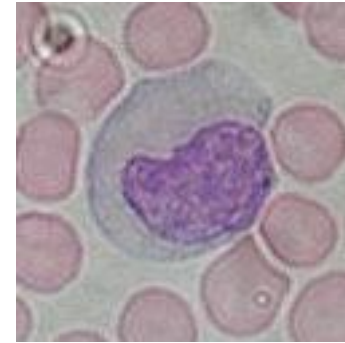


# Lymfocyty



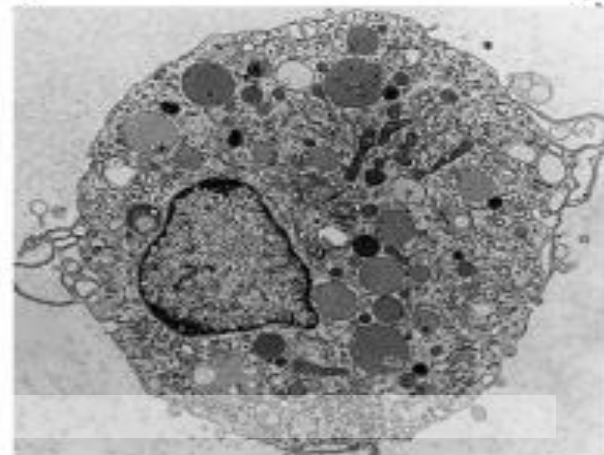
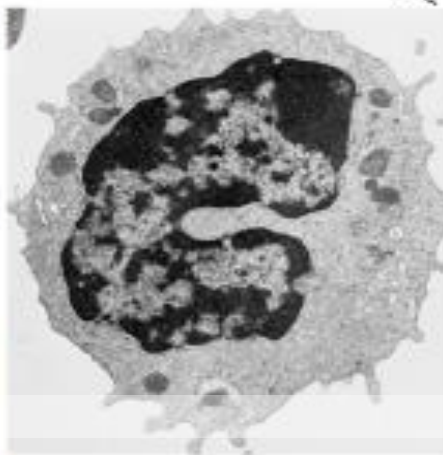
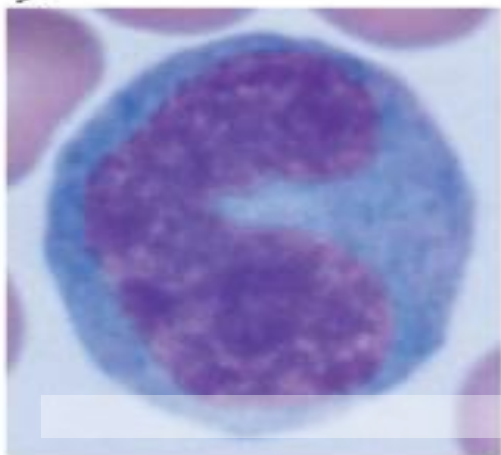
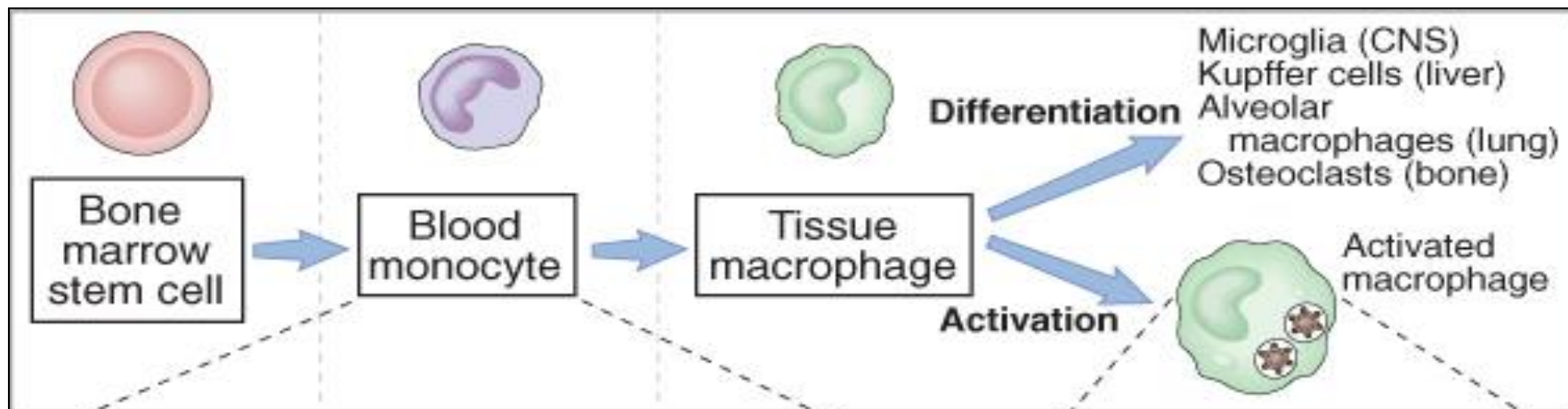
- U dospělých tvoří asi 20-40% leukocytů.
- T- a B- lymfocyty jsou hlavními buňkami imunitní odpovědi.
- Jako lymfocyty morfologicky vypadají i NK buňky ( velké granulované lymfocyty).
- Nemají schopnost fagocytózy ale B-lymfocyty patří mezi antigen-prezentující buňky.

# Monocyty



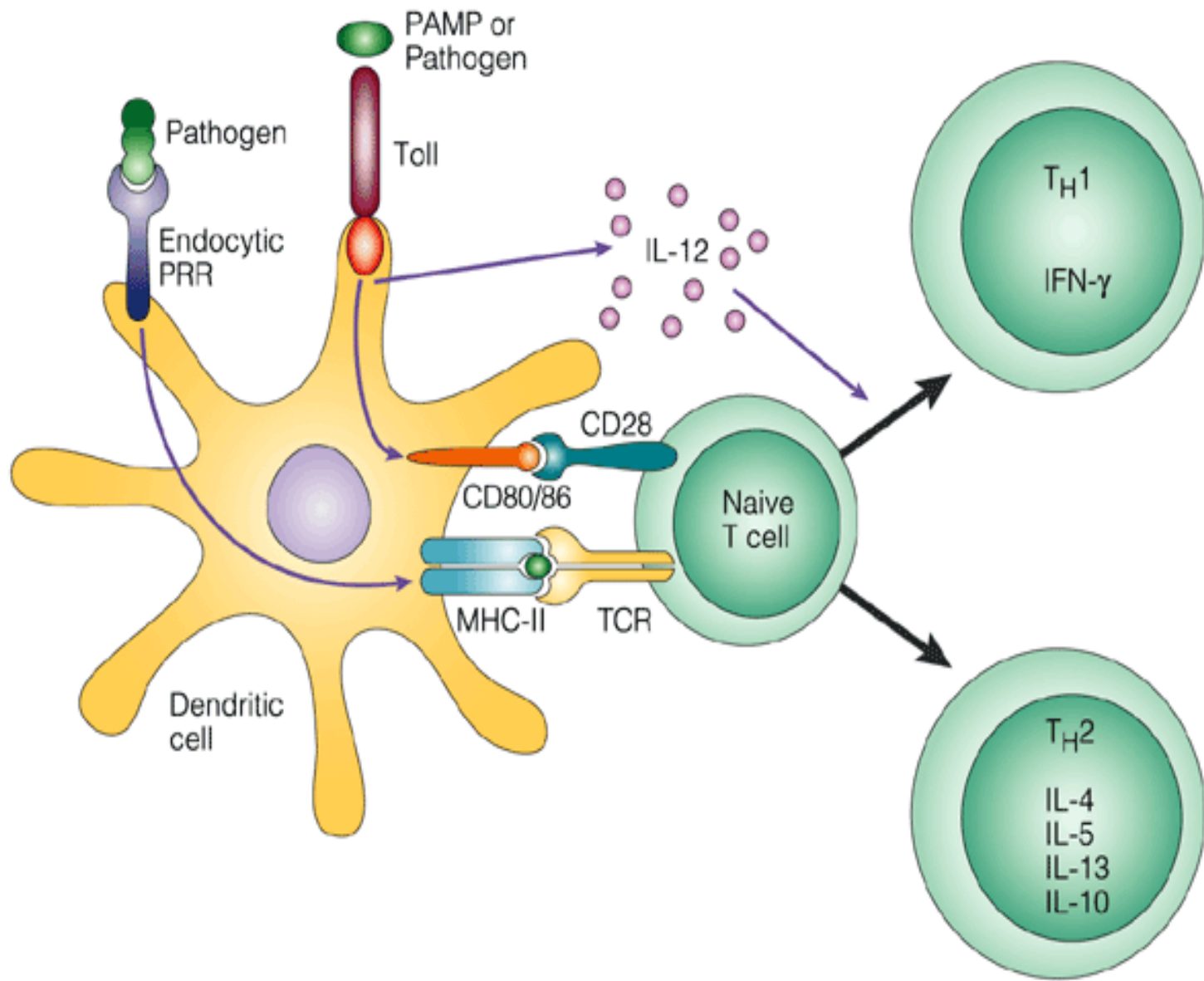
- Tvoří 3-8% leukocytů.
- Jedná se o cirkulující prekurzory tkáňových makrofágů, případně i některých forem dendritických buněk.
- Ve své cirkulující formě se jedná o velmi málo aktivní buňky.

# Vývoj makrofágů z monocytů



# Dendritické buňky

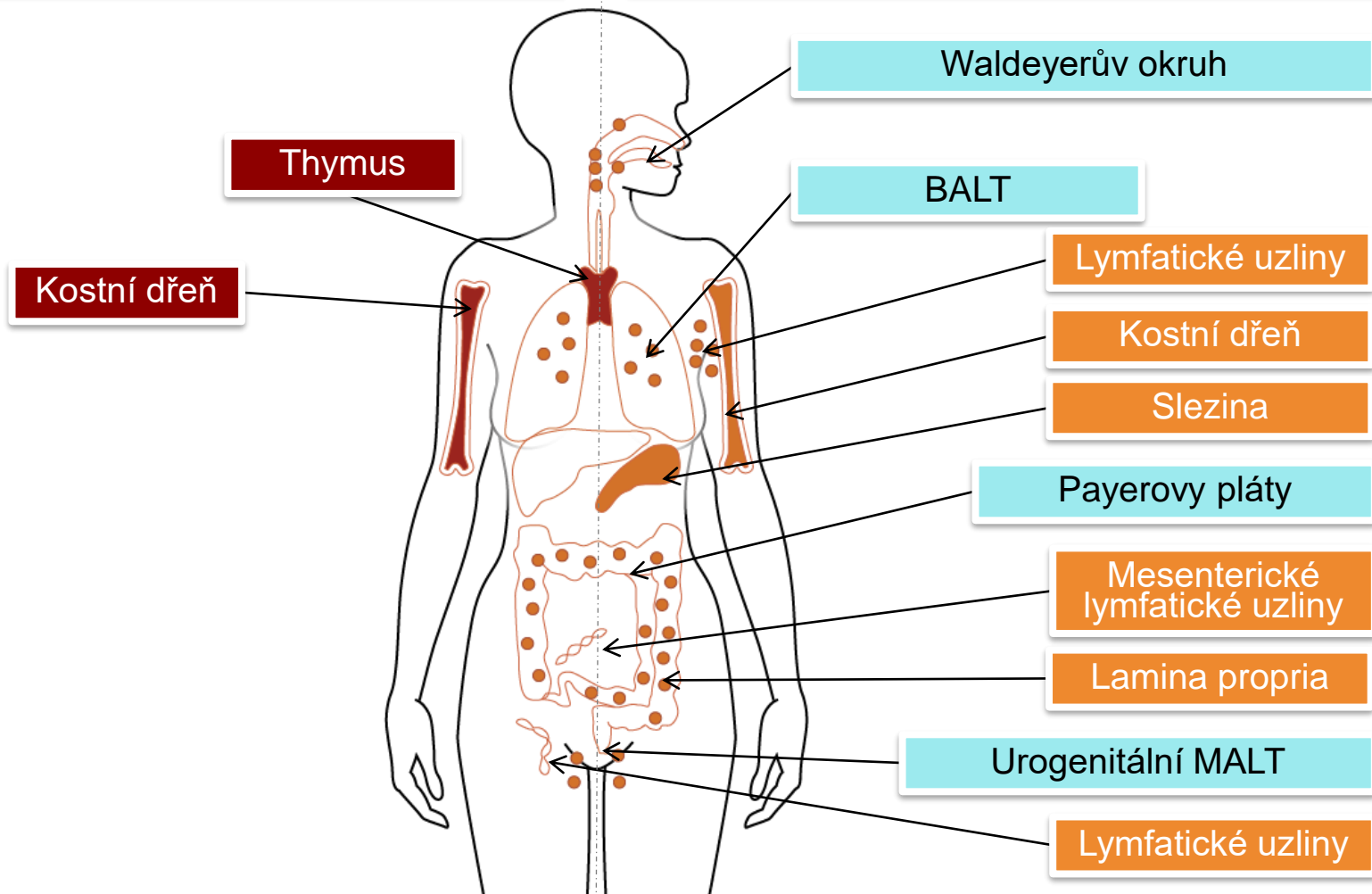
- Důležitá složka vrozené imunity účastnící se aktivace buněk imunity získané.
- Hlavní funkcí je zpracování antigenu a jeho prezentace T-lymfocytům.
- Jsou i důležitým zdrojem kostimulačních signálů.
- Langerhansovy dendritické buňky se významně uplatňují v přenosu antigenů z epidermis kůže.
- Neaktivované dendritické buňky mají i výraznou fagocytární schopnost.



# Orgány imunitního systému

## Primární lymfatické orgány

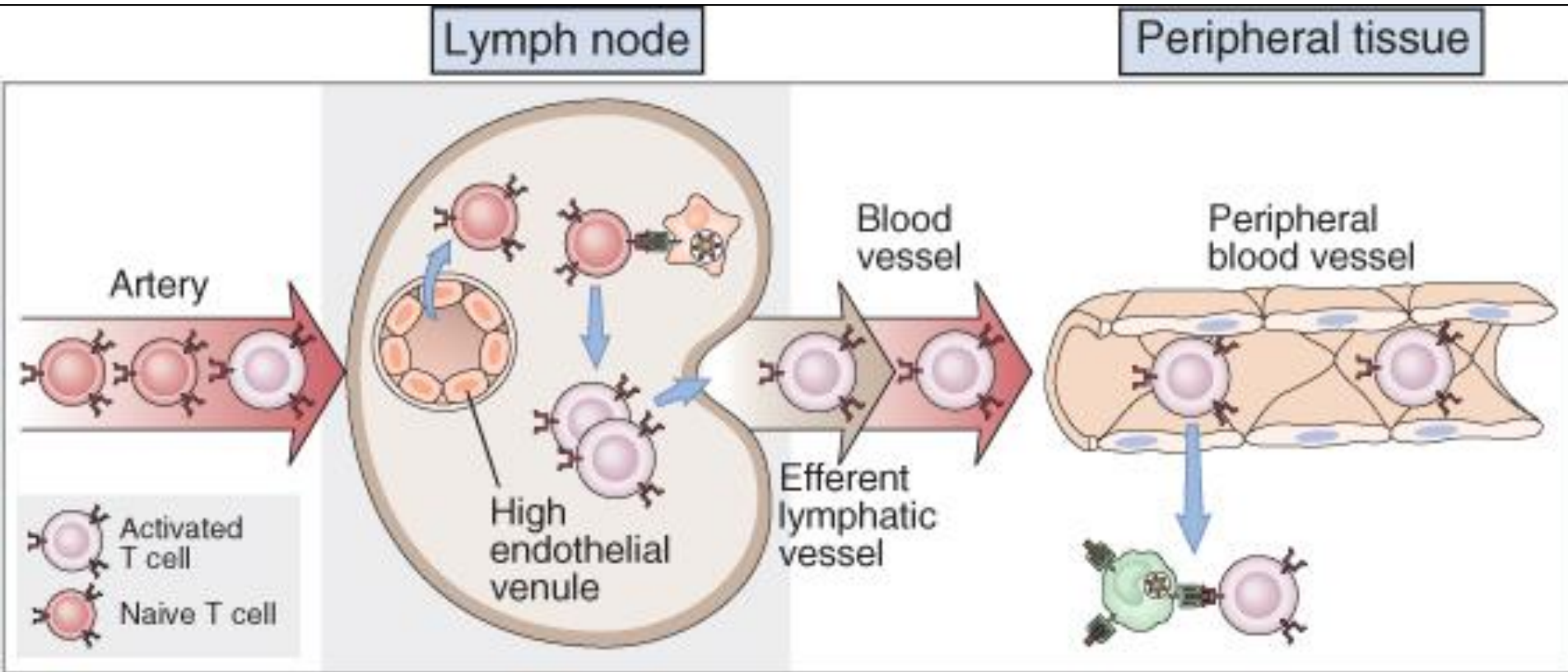
## Sekundární lymfatické orgány



# High endothelial venules

- Specializované venuly, jsou místem kde lymfocyty pronikají z krevního oběhu do stromatu lymfatických uzlin nebo do slizničního imunitního systému.
- Jsou na nich adhezivní molekuly umožňující vazbu zejména „naivních“ (panenských) T- lymfocytů.

# Řízená migrace lymfocytů do lymfatické uzliny a do tkání





# Mechanismy nespecifické imunity

# Imunitní systém člověka

**SYSTEM VROZENÉ IMUNITY**



**SYSTEM ADAPTIVNÍ 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.

# Význam vrozené imunity

„... za přežití obratlovců při infekcích jsou převážně - tj. více než z 90% - odpovědný 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

Vlastnost	Imunita vrozená	Imunita získaná
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

# SIGNÁLY NEBEZPEČÍ:

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

# Vrozená imunita – poznávané struktury

## 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..*



**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



## **PAMPs:**

lipopolysacharid (LPS)

peptidoglykany

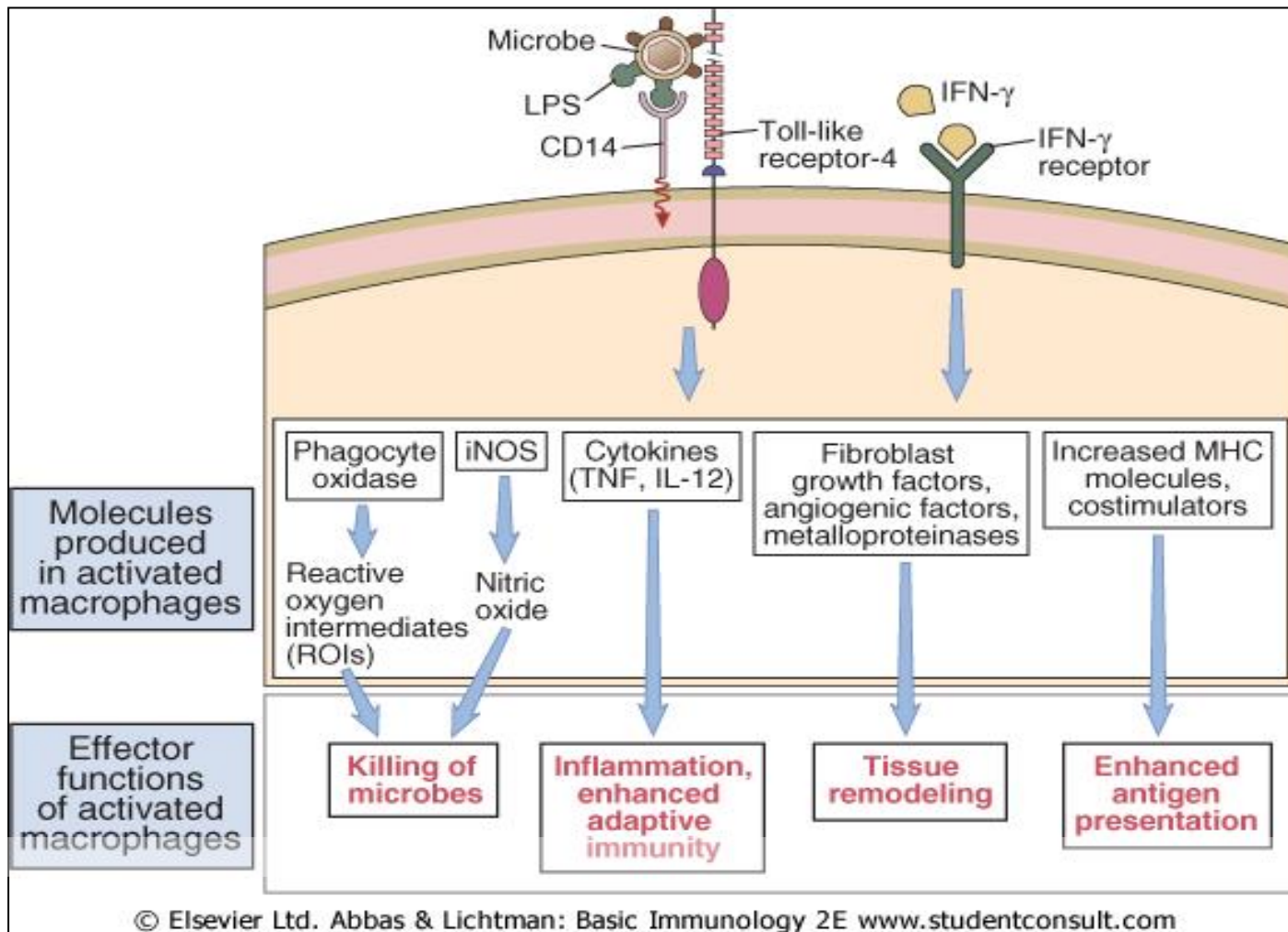
lipoproteiny

manany

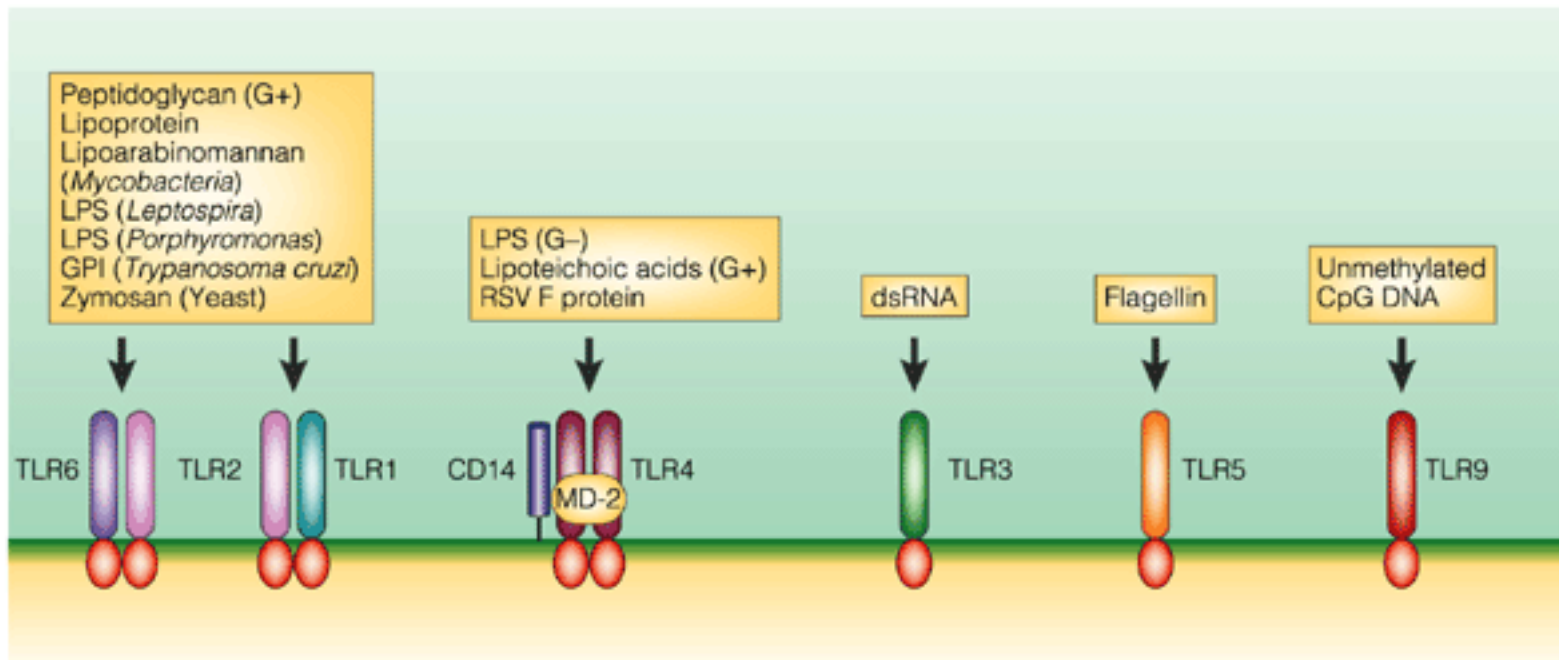
glukany

bakteriální DNA

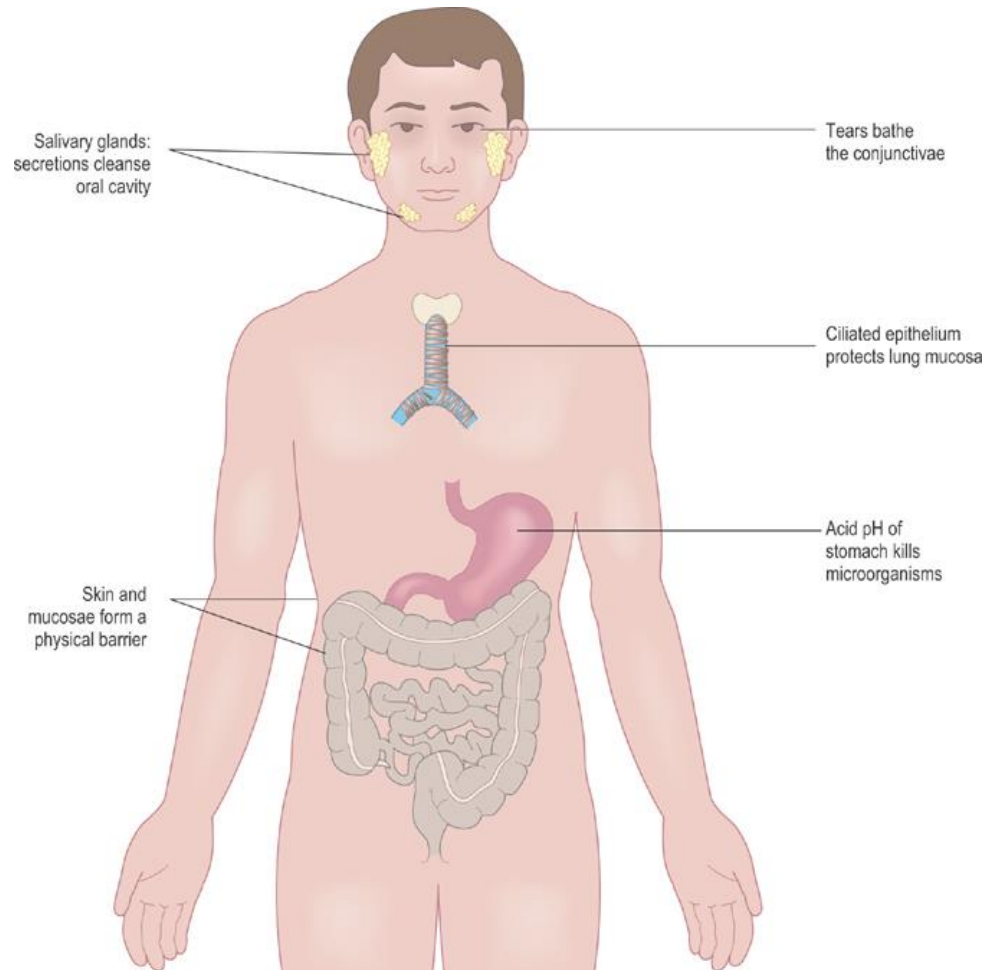
# Aktivace buněk cestou TLR a cytokinových receptorů



# TOLL-LIKE RECEPTORY



# Nespecifické ochranné bariéry lidského těla



# Komplementový systém

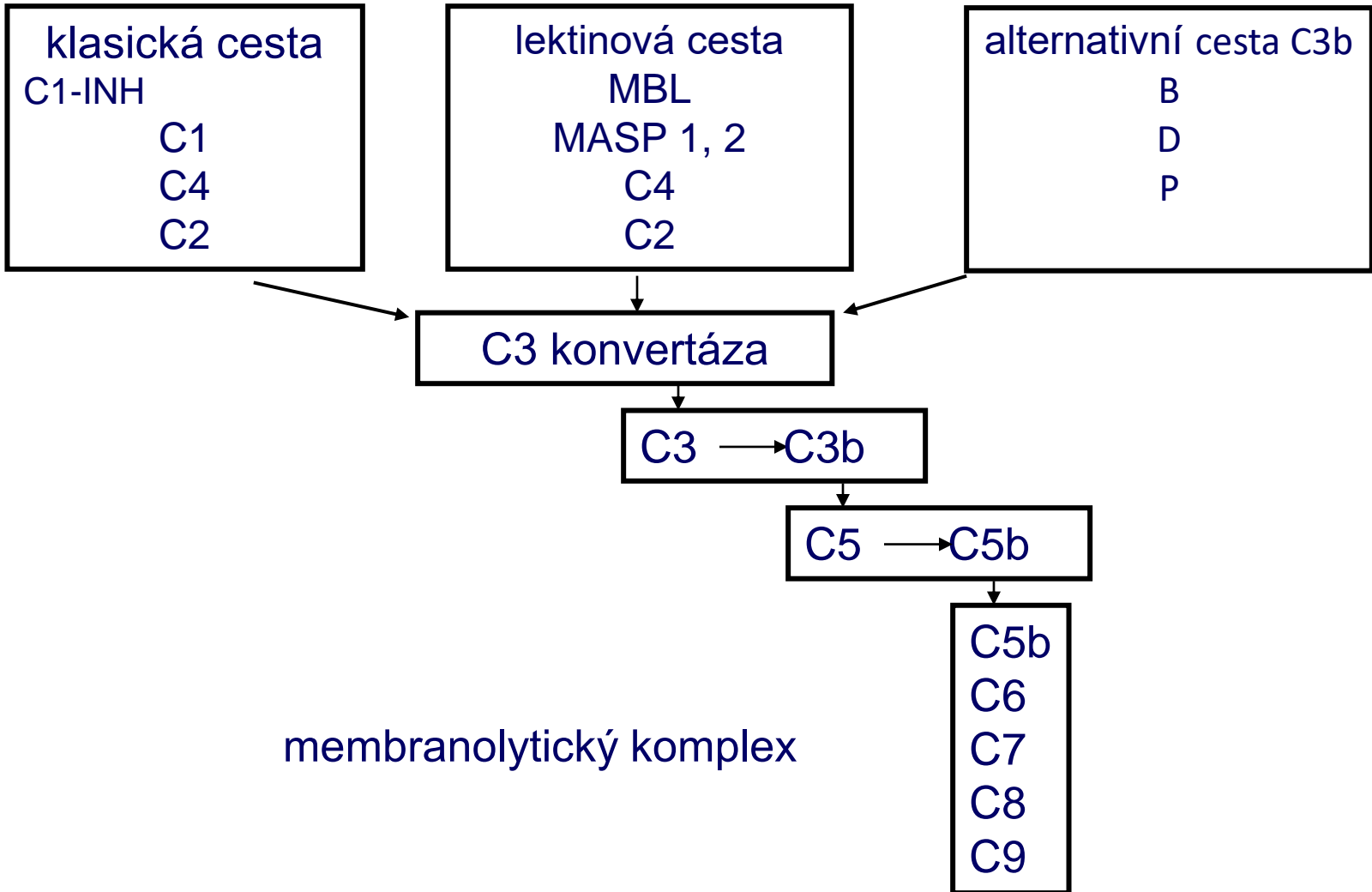
# Všeobecná charakteristika aktivace komplementového systému

- 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.

# Aktivace komplementového systému

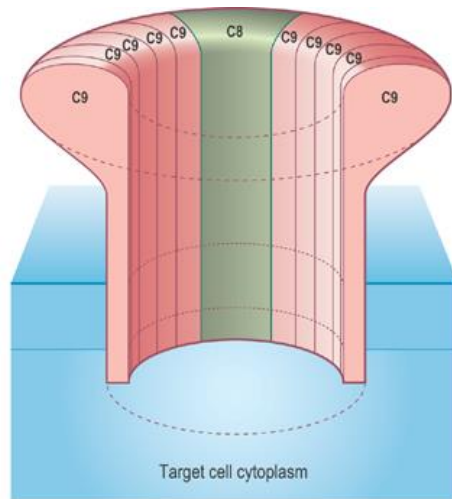
- Klasická cesta:
  - Komplexy IgG-antigen, IgM-antigen,
  - C-reaktivní protein
- Alternativní cesta
  - Lipopolysacharid G- bakterií
  - Buněčná stěna některých bakterií
  - Buněčná stěna kvasinek (zymozan)
  - Agregovaný IgA
- Lektinová cesta
  - Manóza a další sacharidy

# Aktivace komplementu

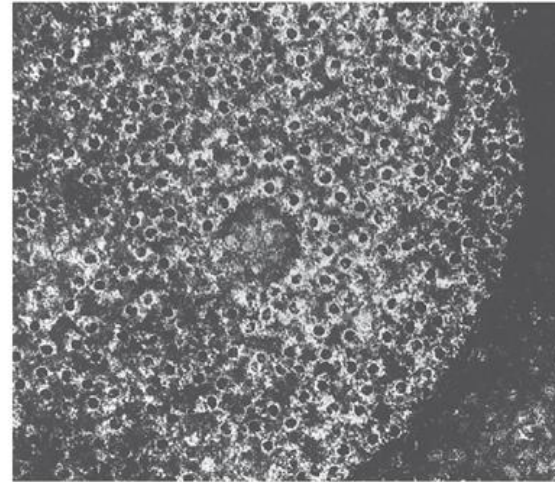




# Účinek C9 na buněčnou membránu



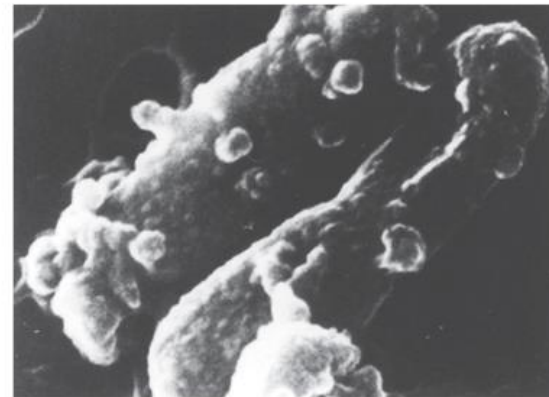
(a)



(b)



(c)

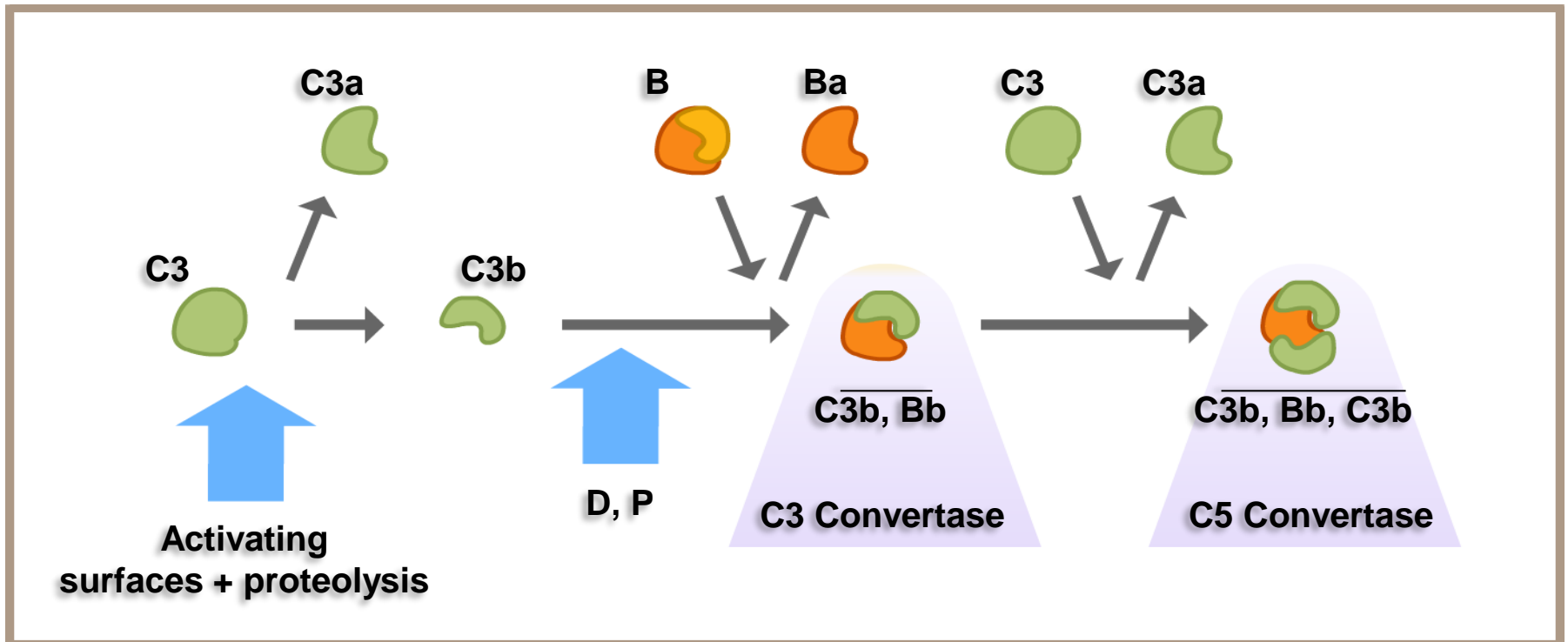


(d)

# 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 cukry na povrchu buněk (např. manózu).
- Aktivovaný MBL aktivuje C2 a C4 za tvorby C2aC4b – tj aktivovaný MBL působí jako aktivovaná C1 klasické cesty aktivace komplementu.

(pozn. lektin = protein s vysokou vazebnou silou k sacharidům)

# Regulace aktivity komplementového systému

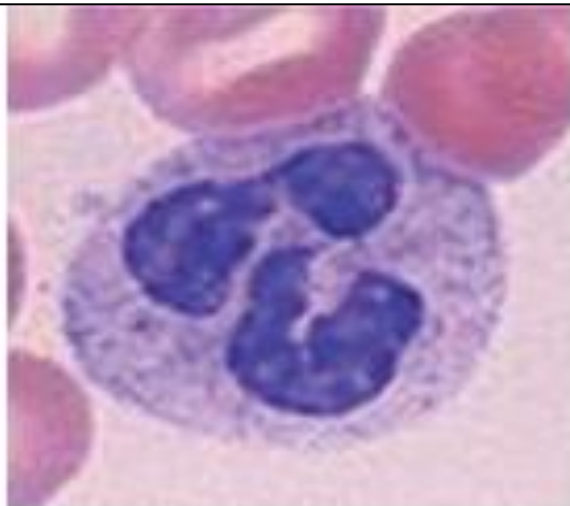
- Plasmatické faktory
  - Klasická cesta – zejména C1-INH (deficit vede k hereditárnímu angioedému).
  - Alternativní cesta – faktor H (polymorfismy vázány na vznik makulární degenerace sítnice, mutace u části pacientů s hemolyticko-uremickým syndromem), faktor I
- Faktory vázané na buňky:
  - CD59, CD55, CD46 různým způsobem, brání aktivaci komplementového systému.

# 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)

# Fagocytóza

# Polymorfonukleární granulocyt



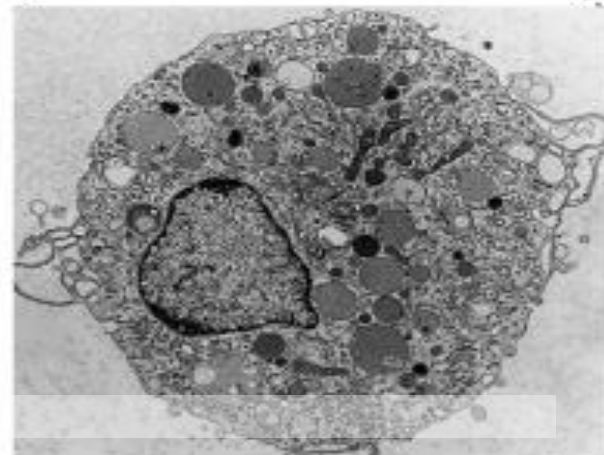
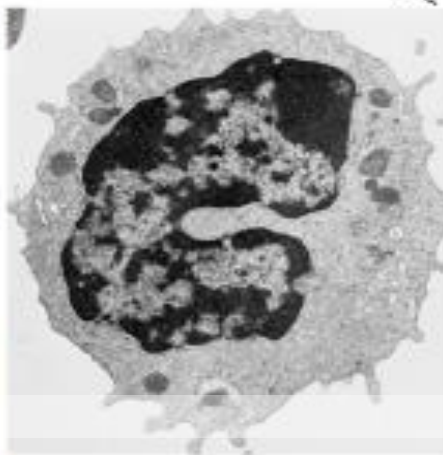
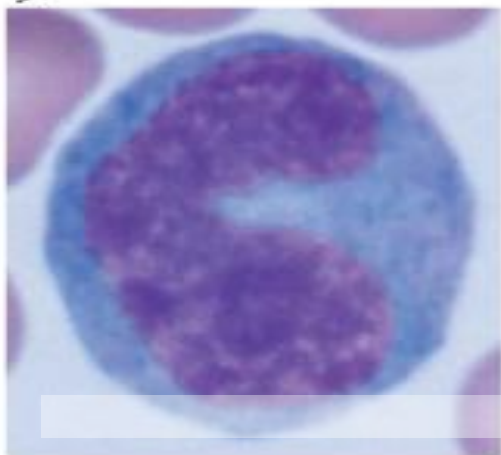
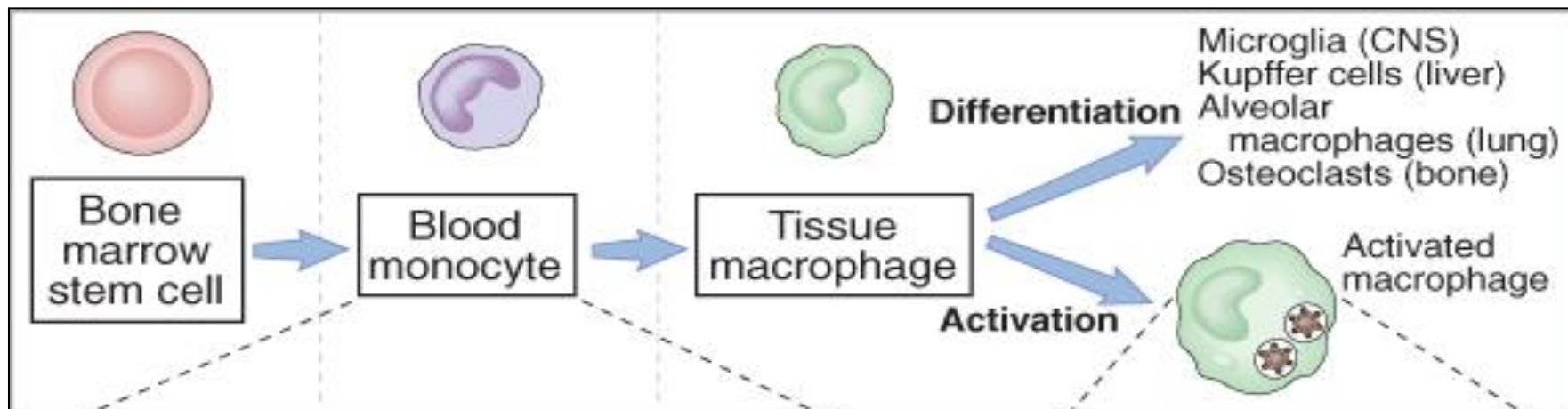
© Elsevier Ltd. Abbas & Lichtman: Basic Immunology 2E [www.studentconsult.com](http://www.studentconsult.com)



# Profesionální fagocyty imunitního systému

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

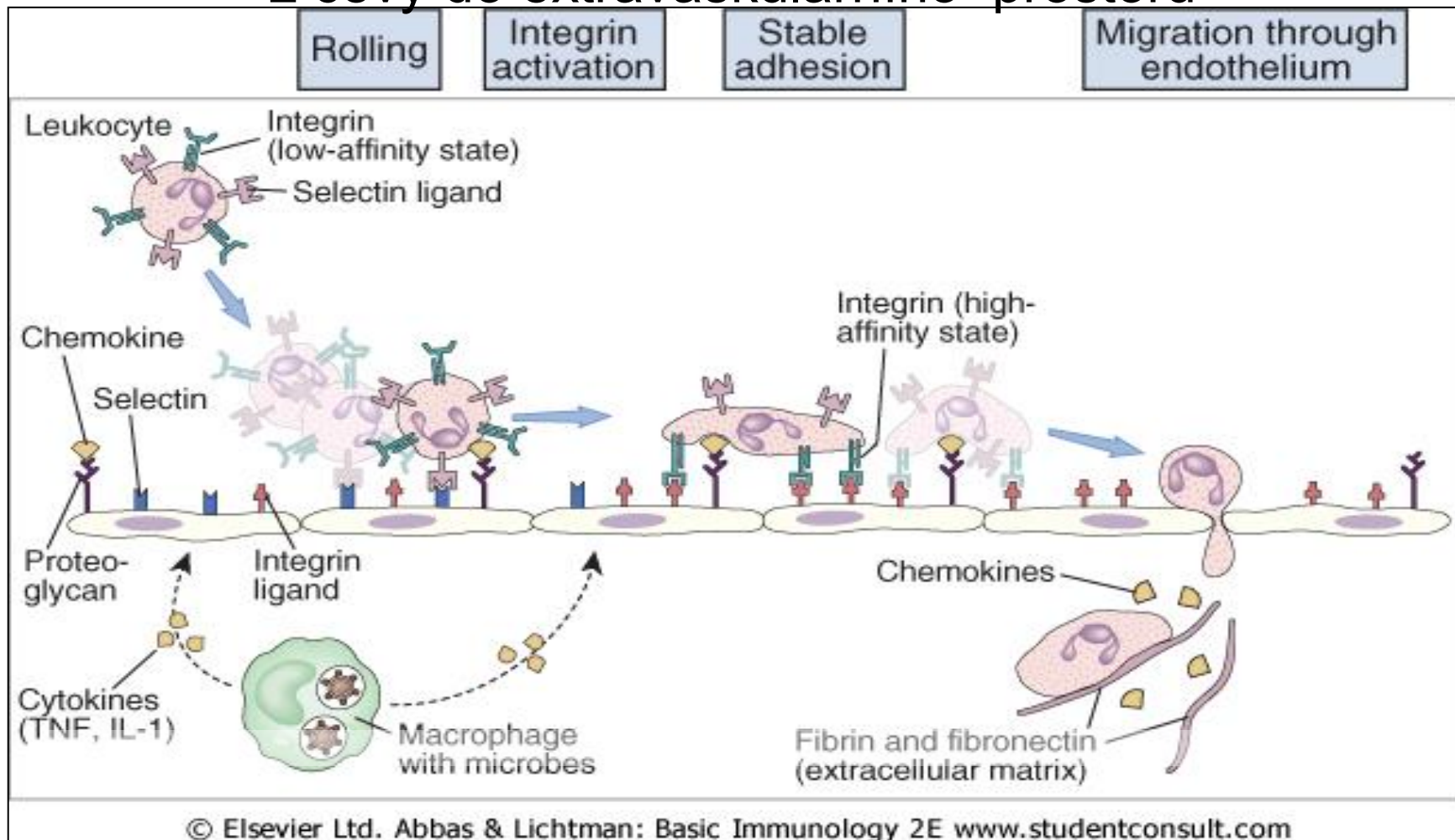
# Vývoj makrofágů z monocytů



# 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.

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



# “Klasické“ fáze fagocytárního procesu

- Chemotaxe cílený pohyb buněk proti směru koncentrace chemotaktických faktorů (chemotaxinů)
- Adheze
- Ingesce –pohlcení, vytváření fagosomu. Ten poté splývá s lysosomem za vzniku fagolysosom.
- Intracelulární degradace – po zabití následuje destrukce fagocytovaného materiálu

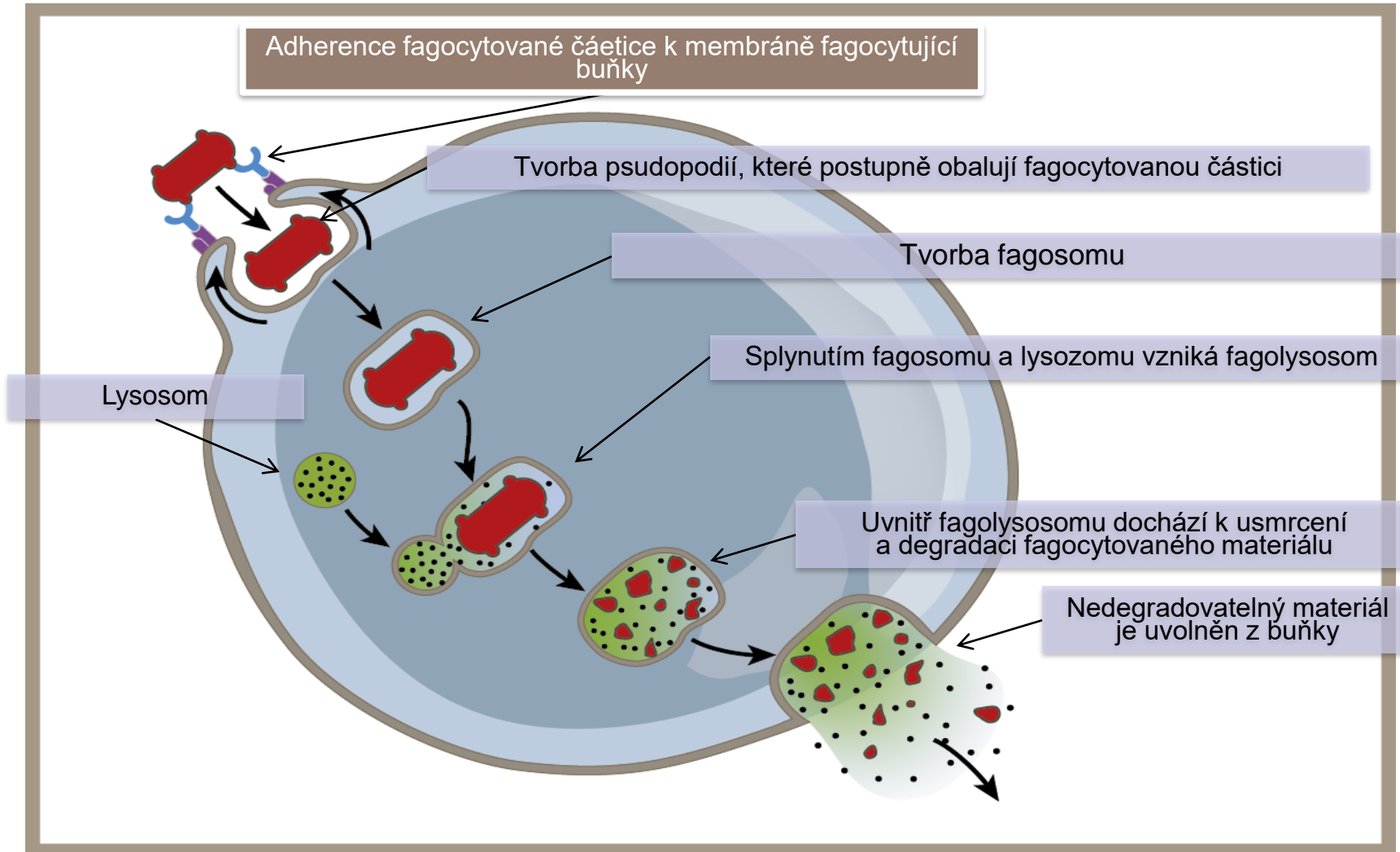
# Chemotaxiny

- 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

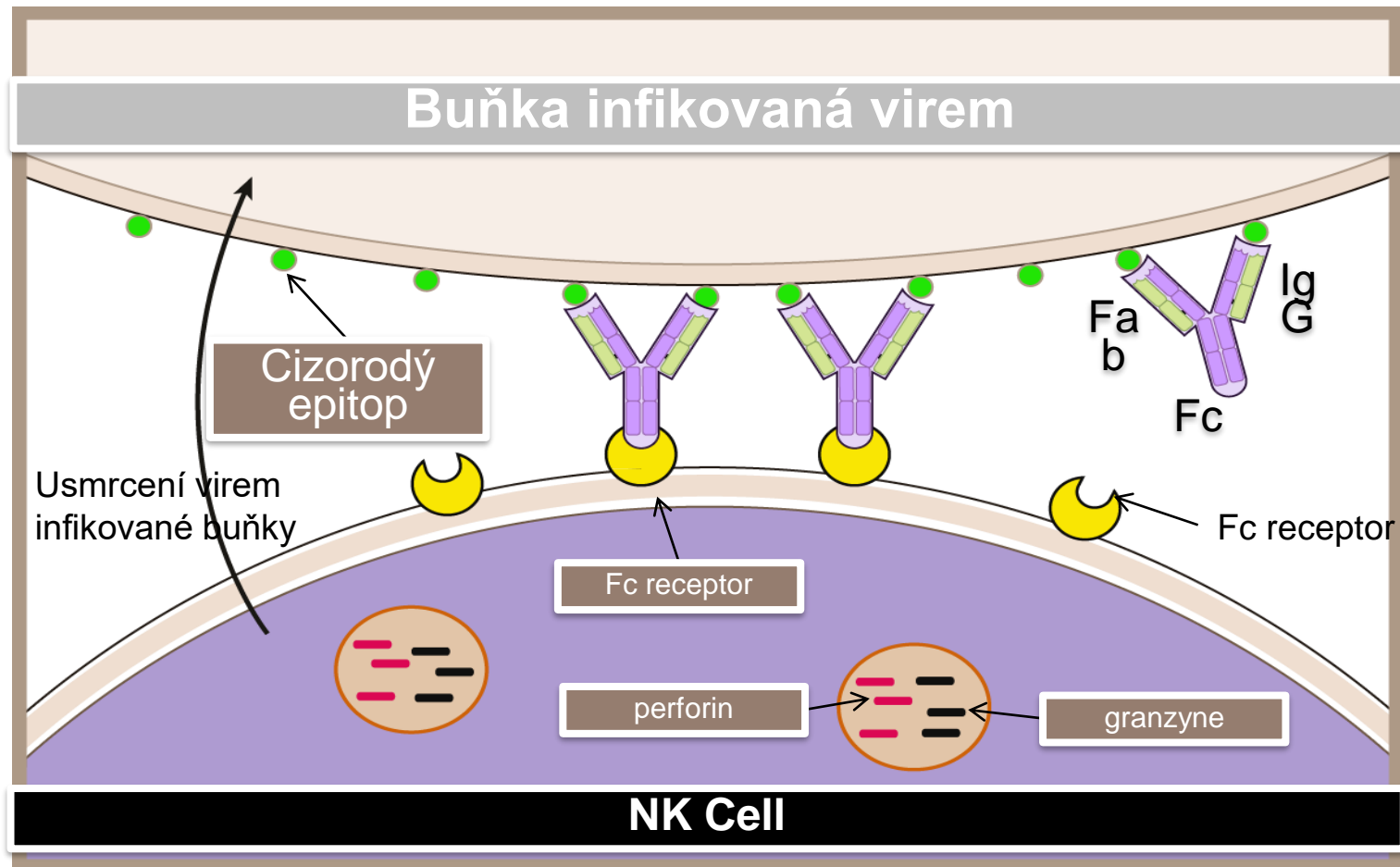
# Přirození zabíječi (NK buňky)

- Morfologicky se jedná o velké granulované lymfocyty (LGL).
- Vznikají v odlišné linii než T a B- lymfocyty.
- 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)

- 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- $\alpha$

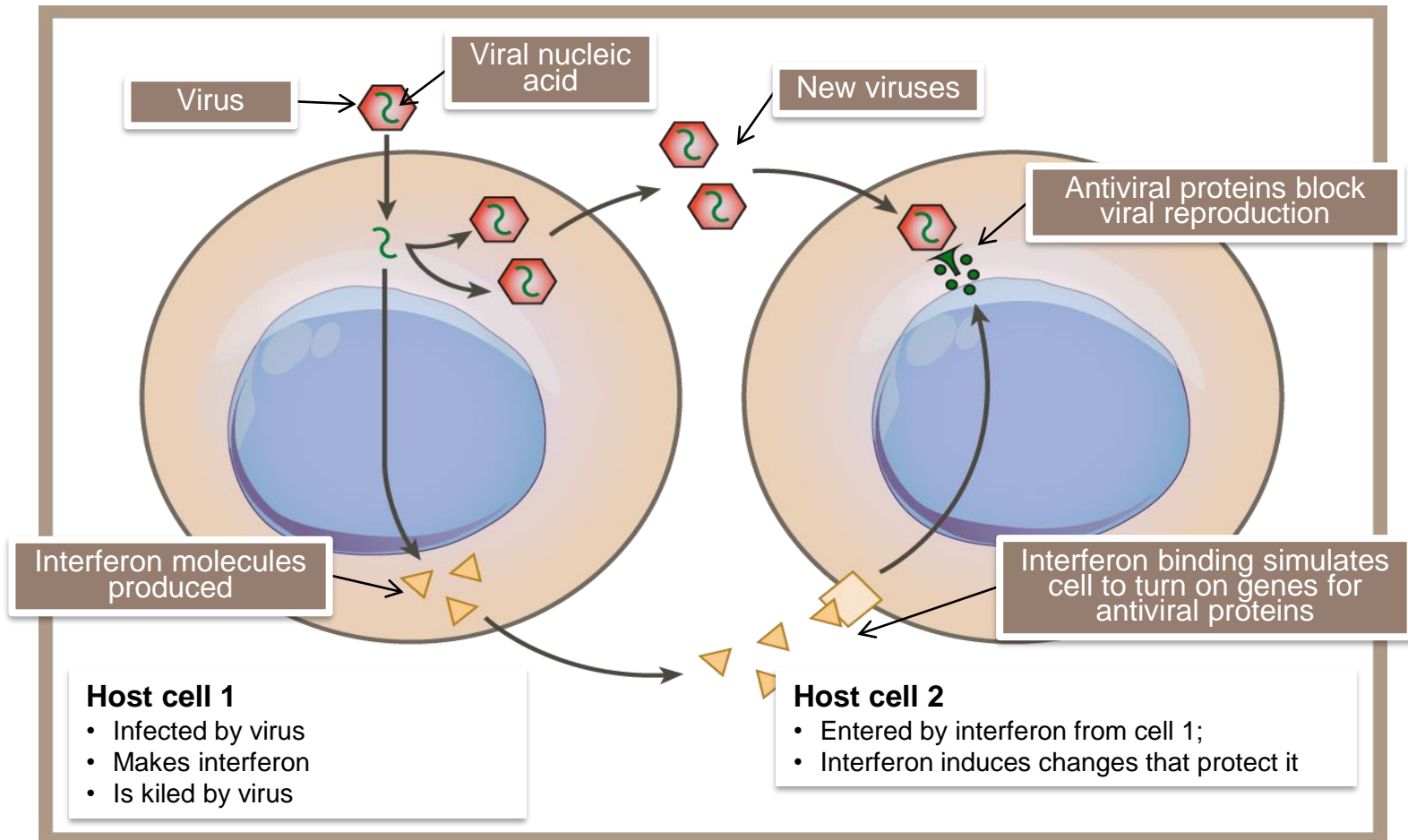
# Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



# 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  $\lambda$  – IL28A,B, IL-29 – podobné IFN-I

# Mechanismus účinku interferonu (IFN)



# 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 mechanisme je porušení integrity buněčné membrány, včetně tvorby pórů v membráně.
- Dělí se na skupiny defensinů  $\alpha$  a  $\beta$ .

# Lysozym

- Enzym katalyzující rozklad polysacharidových řetězců v buněčných stěnách G+ bakterií.
- Přítomen v granulích granulocytů, plazmě, sekretech (významný ve slinách!)



Zánět

# Zánět

- 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:

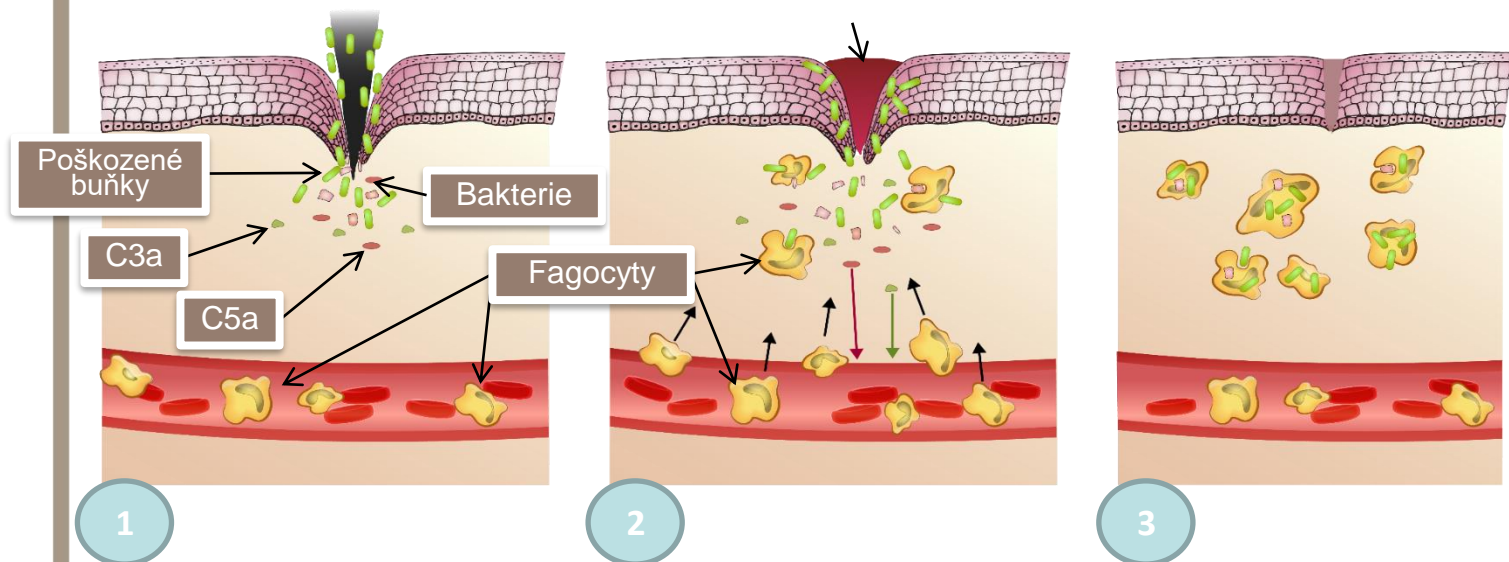
signály ze stresovaných, malfunkčních, poškozených tkání, produkty rozkladu extracelulární matrix (DAMP)

# 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

- Vasoaktivní aminy – histamin, serotonin - uvolněné z poškozených buněk, stimulovaných mastocytů.
- Produkty kininového systému, komplementového systému, koagulačního systému.
- Metabolity kyseliny arachidonové leukotrieny, prostaglandiny 5-HETE
- 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 době 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

Patologické následky:

Zánětlivé poškození tkání, autoimunitisace,  
systémová zánětlivá reakce.

Fibrosa, metaplasie, růst tumoru.

Změna homeostatického nastavení,  
autoinflamace

# Nejdůležitější léky využívané k tlumení zánětlivých procesů

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