

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.

“Trained immunity“

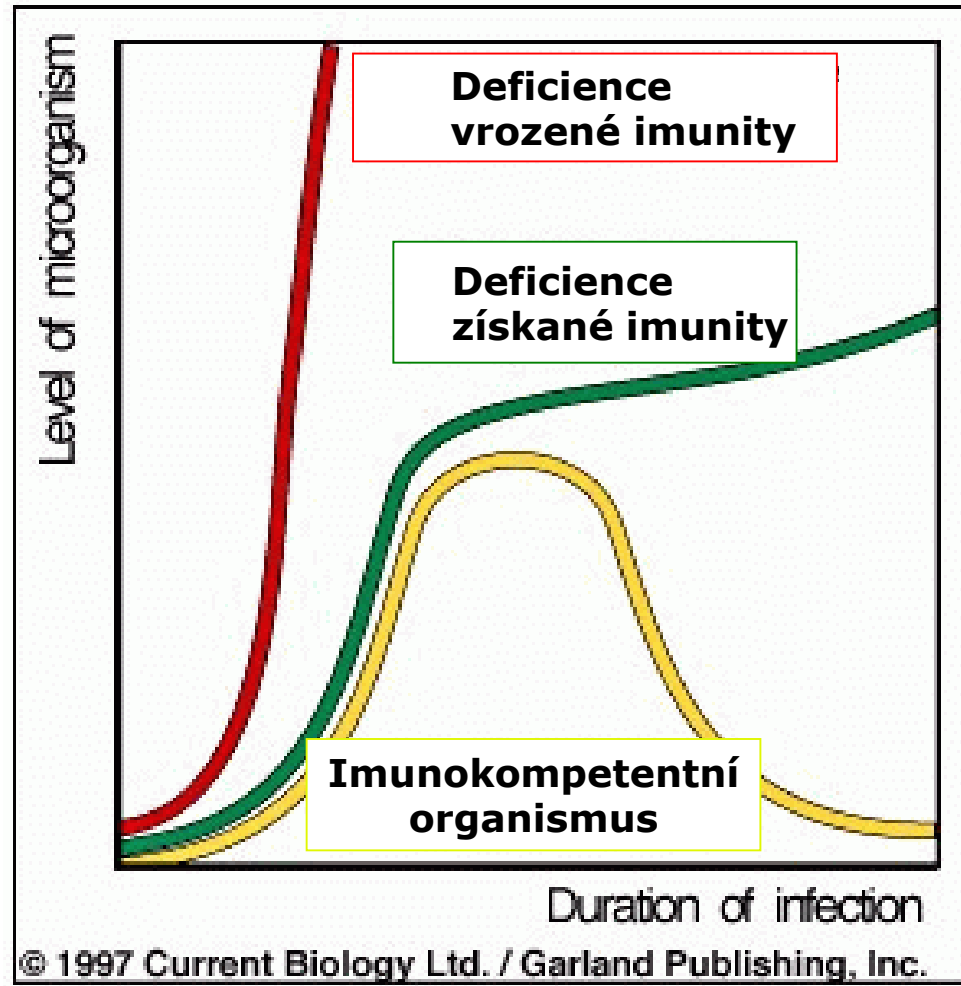
- Nově se ukazuje, že některé mechanismy nespecifické imunity mají schopnost po opakované stimulaci některými (nespecifickými) podněty reagovat intenzivněji, efektivněji.
- Lze prokázat u NK buněk, dendritických buněk, buněk myeloidní řady ale i některých buněk kmenových.
- Uplatňují se epigenetické 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% - 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)

Průběh infekcí u poruch na úrovni vrozené a získané imunity



SIGNÁLY NEBEZPEČÍ:

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

Vrozená imunita – poznávané struktury (alarminy)

Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP)

(C. A. Jeneway, Jr, 1989)

stejné 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, fibronectin,
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

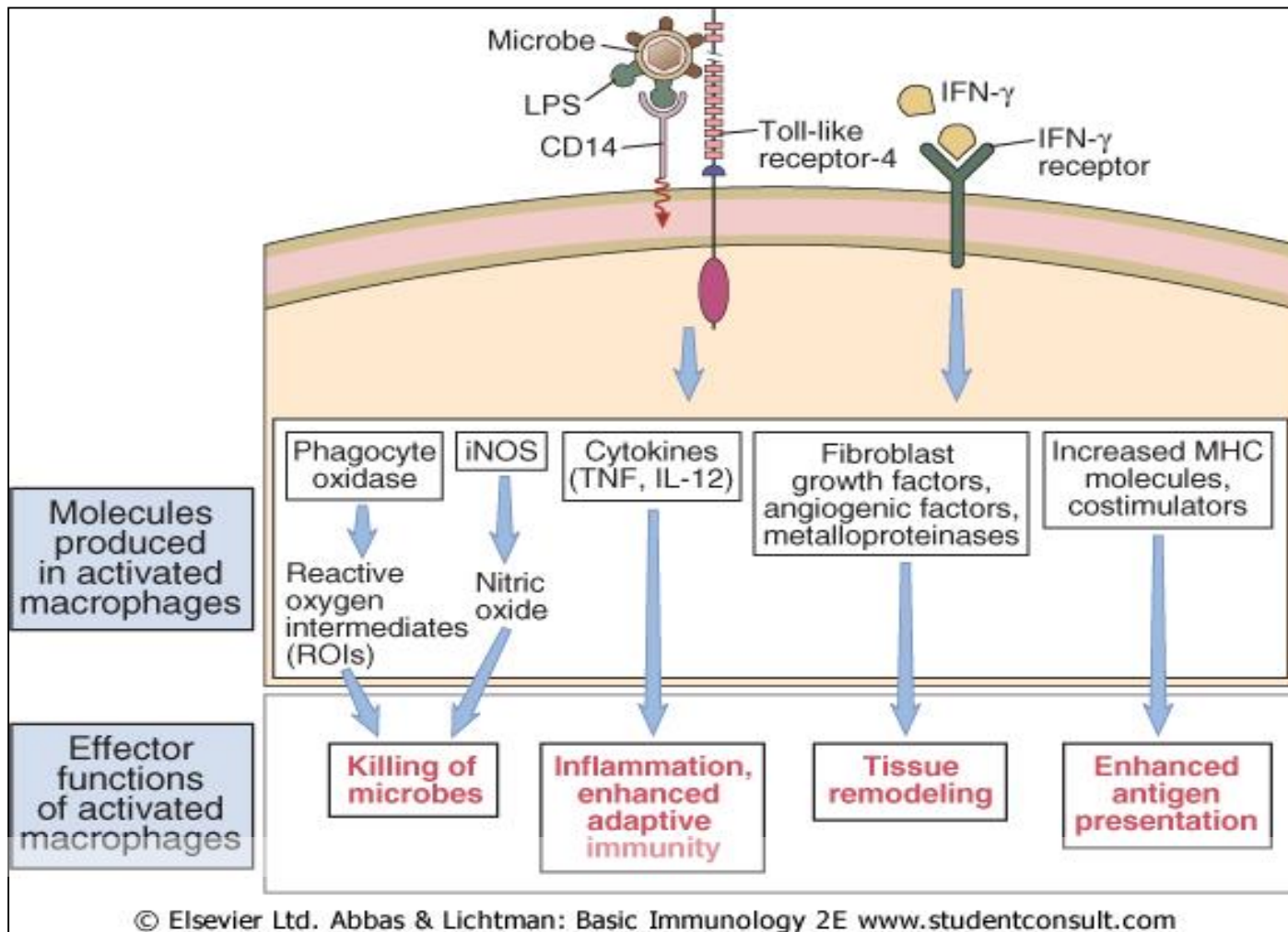
lipoproteiny

manany

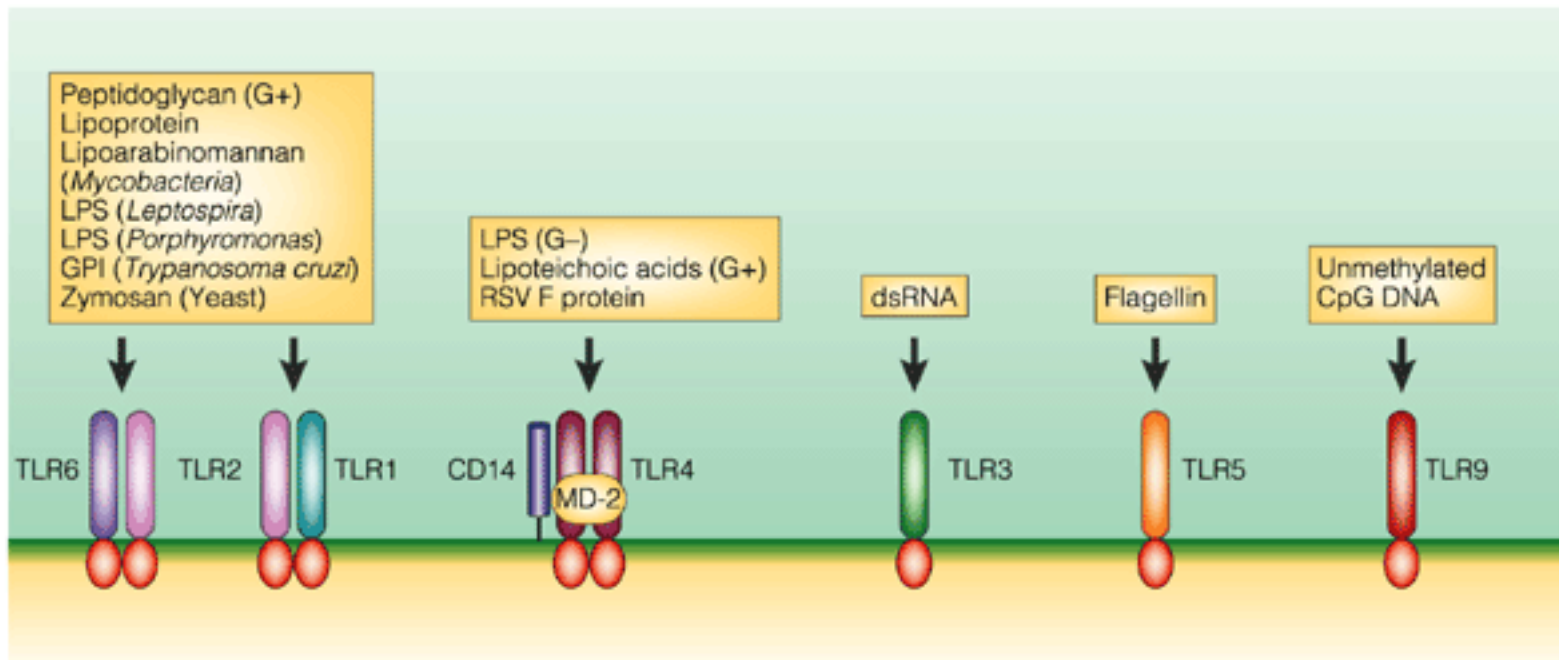
glukany

bakteriální DNA

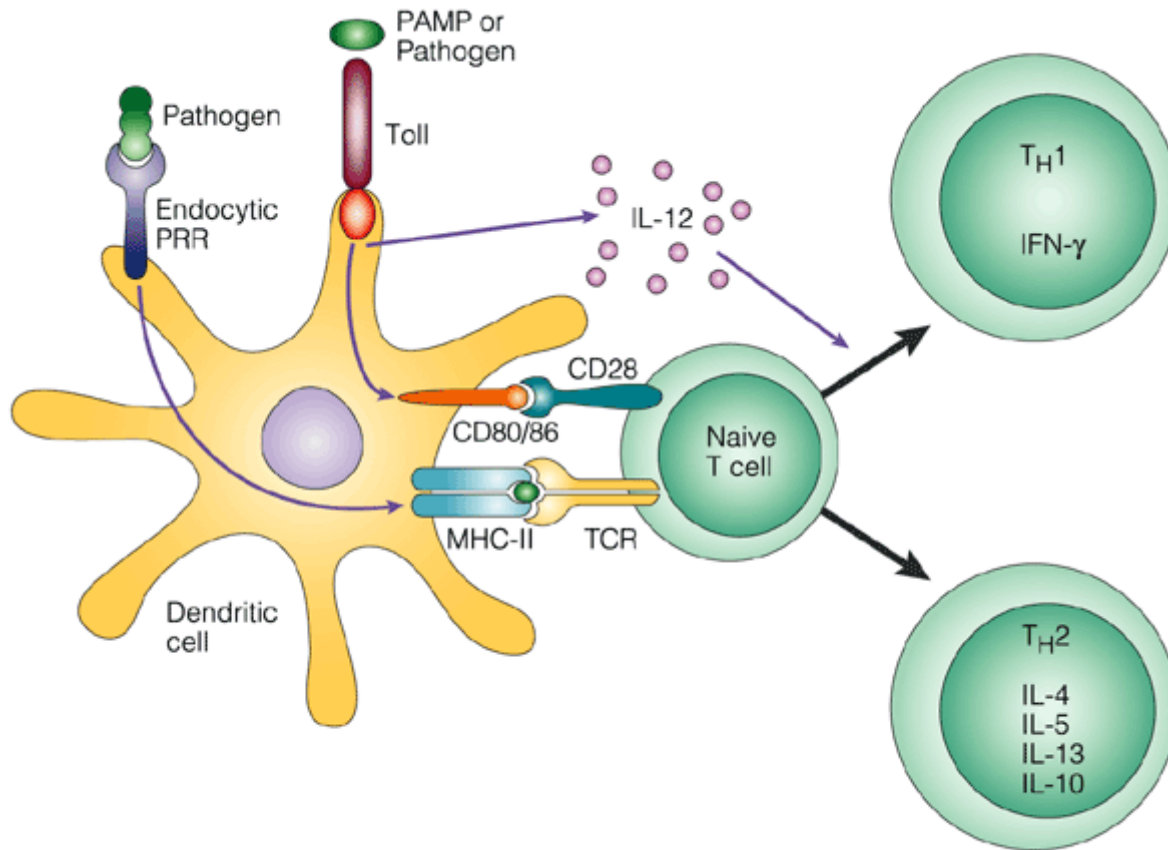
Aktivace buněk cestou TLR a cytokinových receptorů



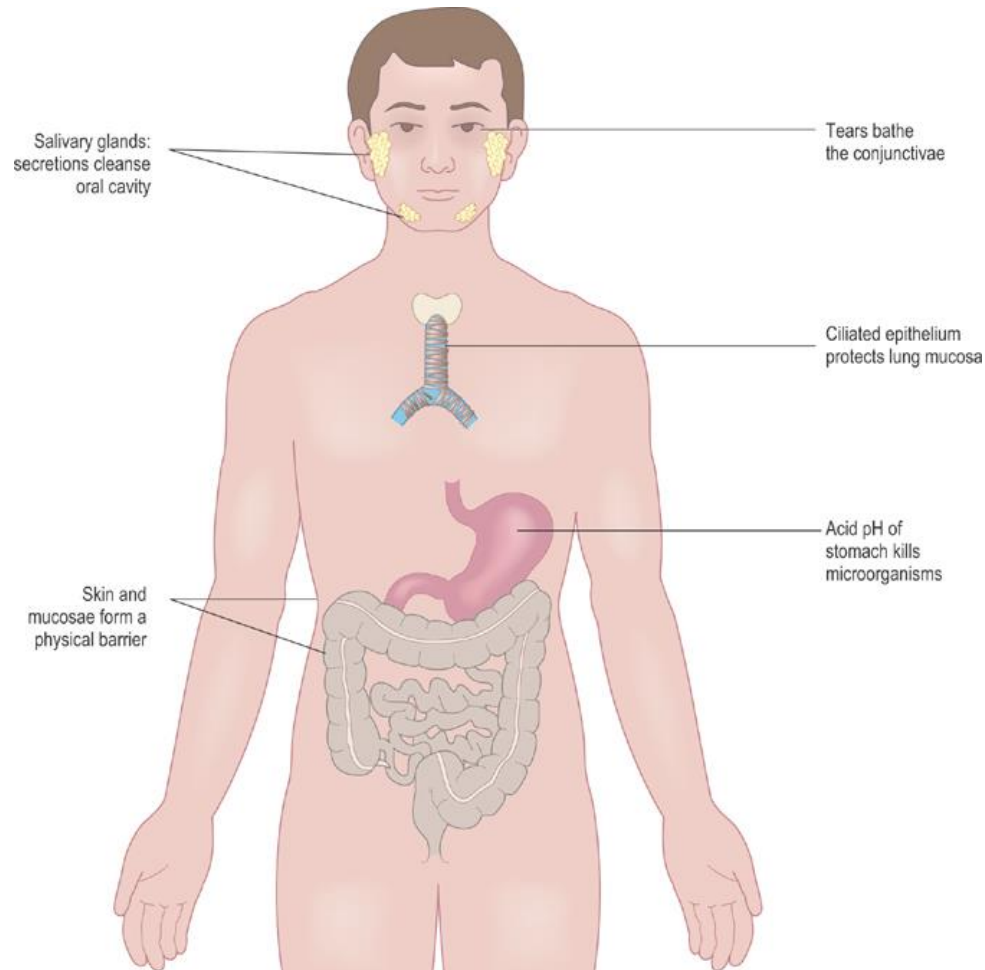
TOLL-LIKE RECEPTORY



PAMP jsou důležité v aktivaci dendritických buněk



Nespecifické ochranné bariéry lidského těla



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)

Komplementový systém

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

Pentraxiny (CRP, SAP, PTX3)

Histamin, eikosanoidy

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

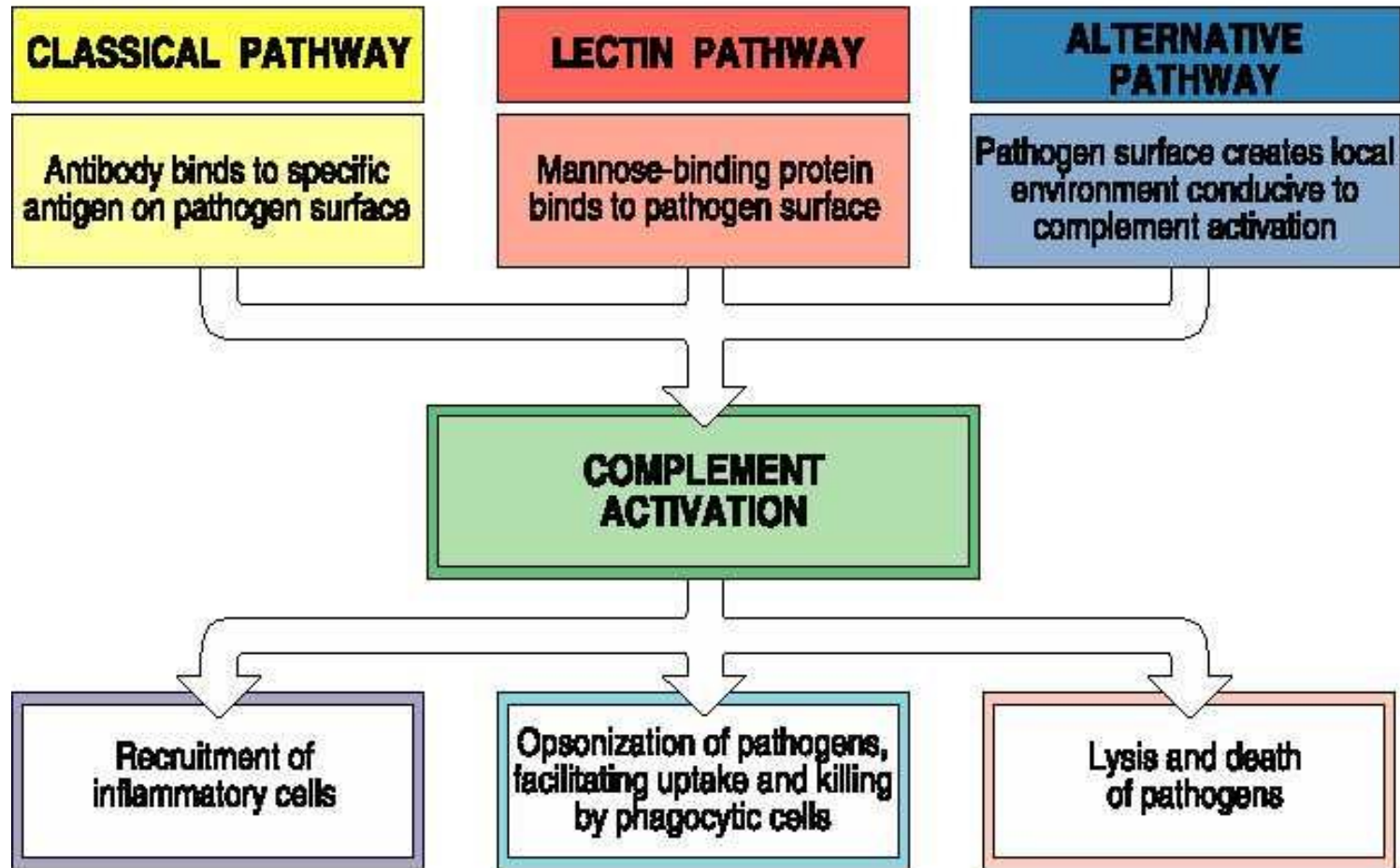
Komplementový systém

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.

Activation of the complement system

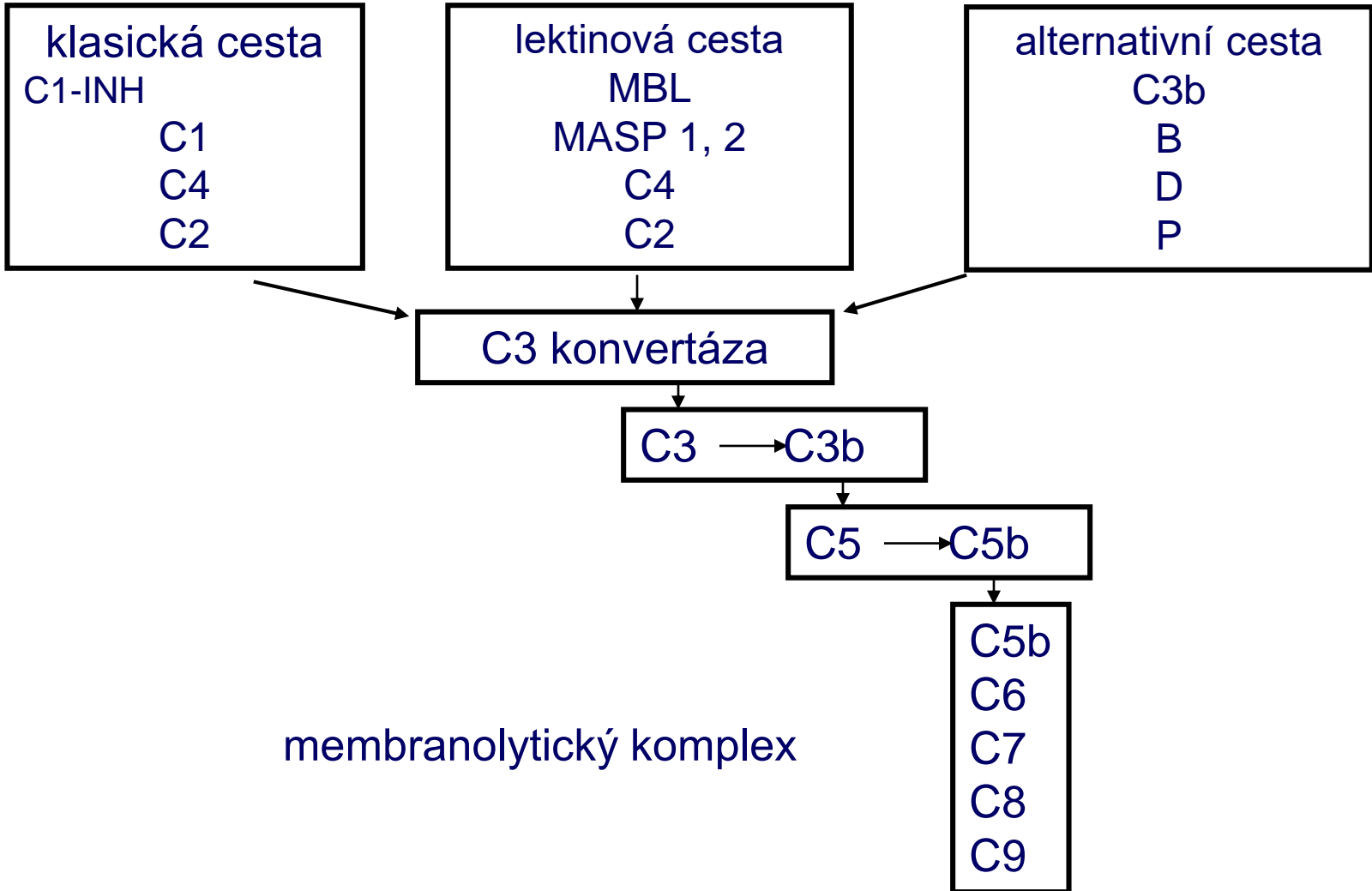
Figure 7.27



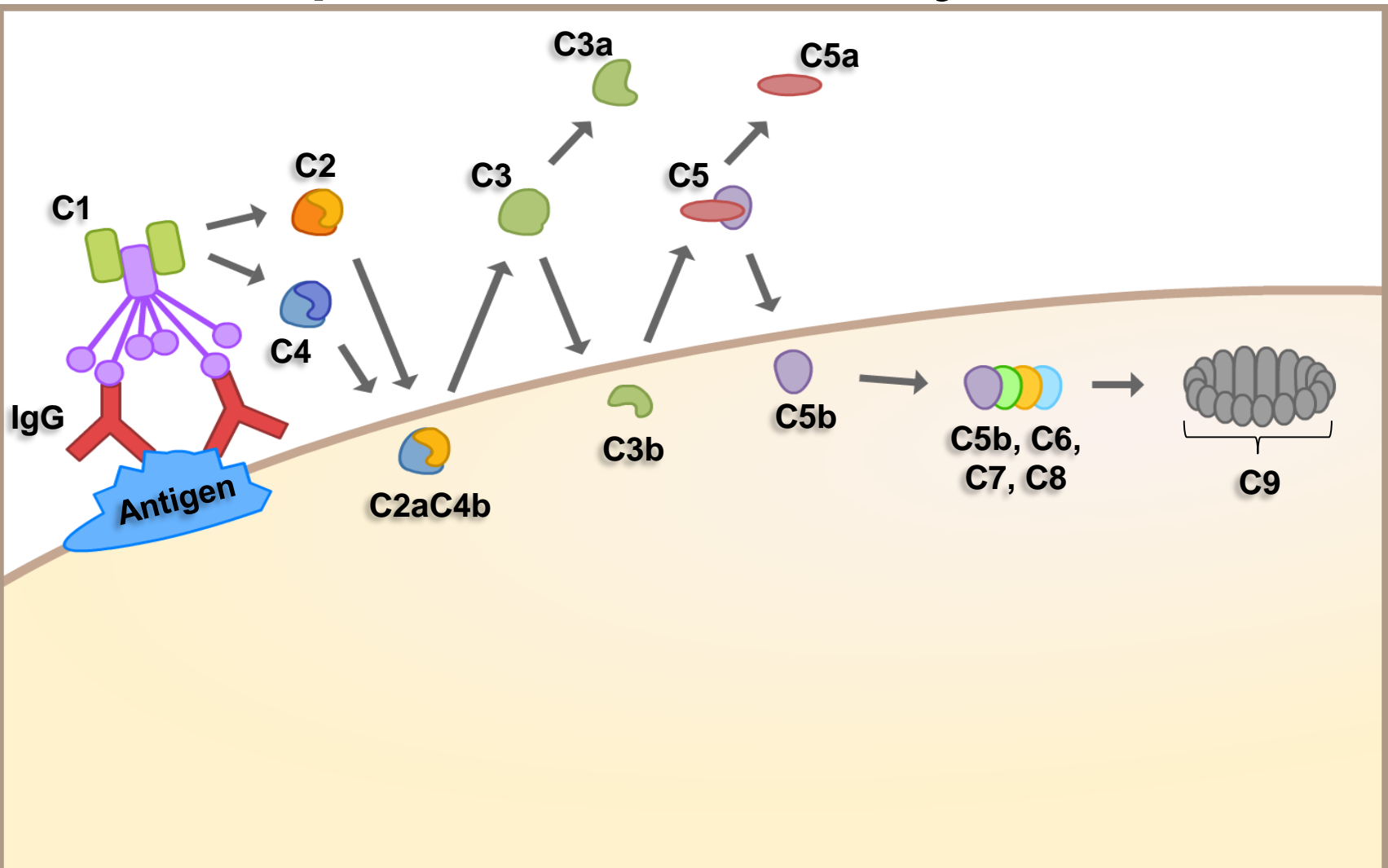
Aktivace komplementového systému

- 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

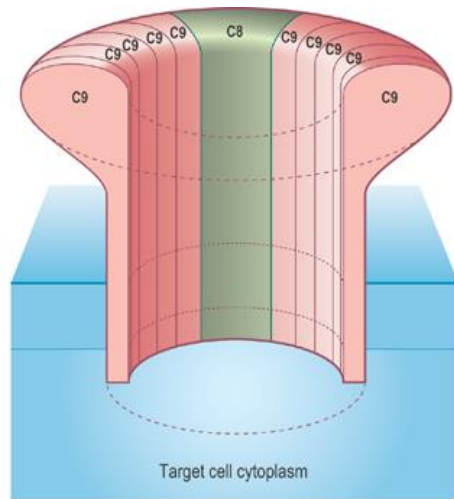
Aktivace komplementu



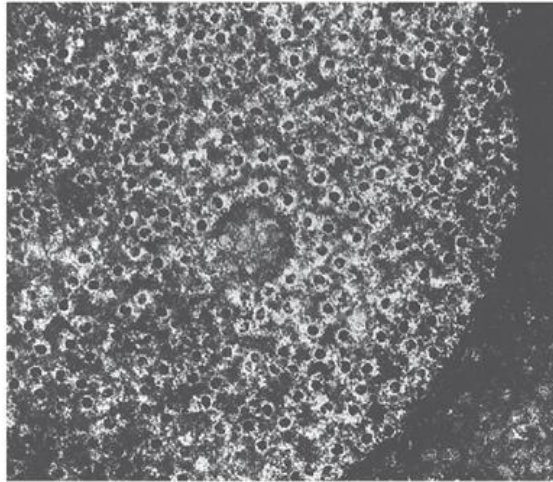
Aktivace klasické cesty komplementového systému



Účinek C9 na buněčnou membránu



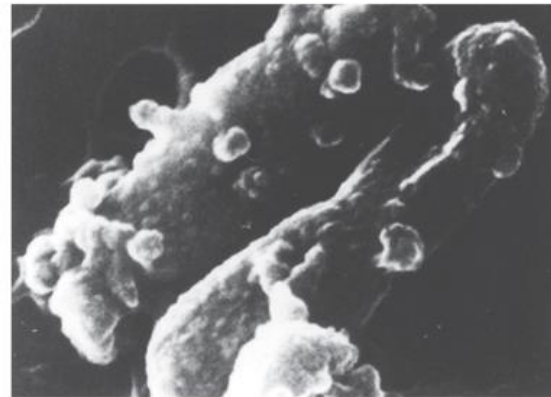
(a)



(b)



(c)

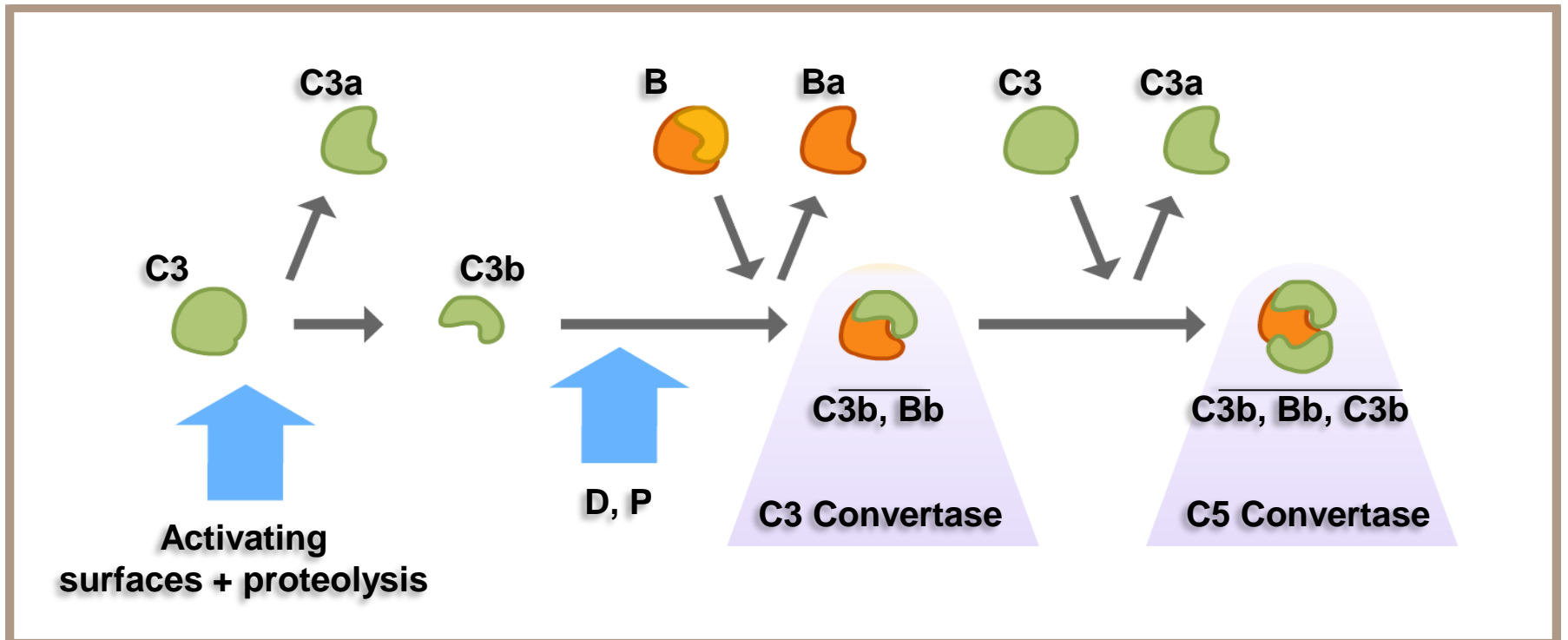


(d)

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

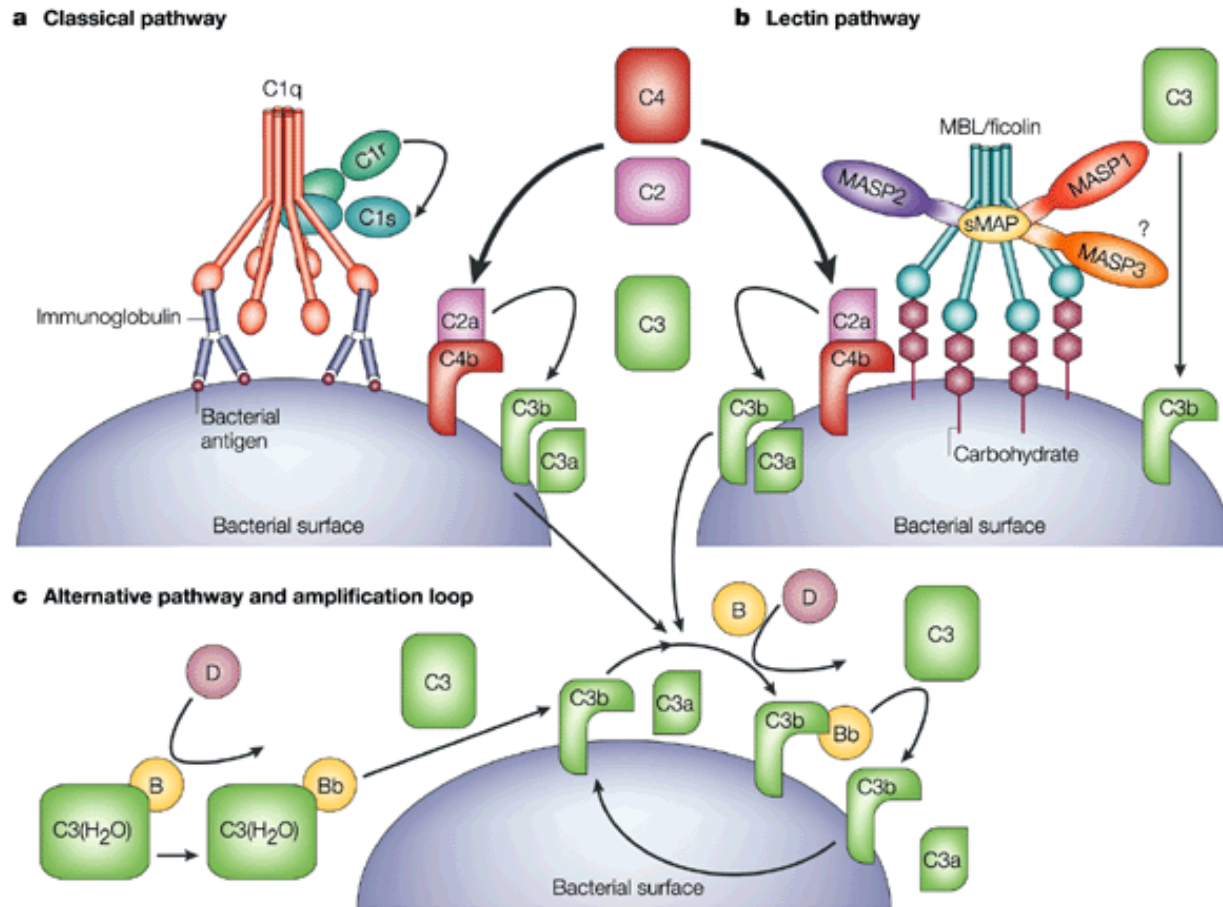


Lektinová (třetí) cesta aktivace komplementového systému

- Manózu vážící lektin (MBL) se váže na některé 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)

Aktivace klasické a lektinové cesty komplementu



Regulace aktivity komplementového systému

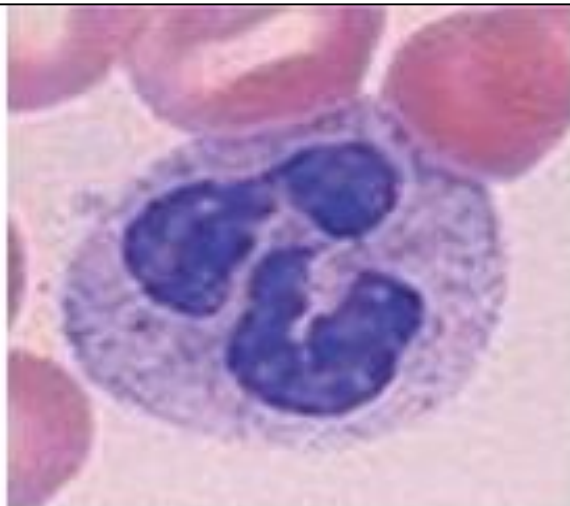
- Plasmatické faktory
 - Klasická cesta – zejména C1-INH (deficit vede k hereditárnímu angioedému).
 - Alternativní cesta – faktor H (polymorfismy vázány na vznik makulární degenerace sítnice, mutace u části pacientů s hemolyticko-uremickým syndromem), faktor I
- Faktory vázané na buňky:
 - CD59, CD55,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

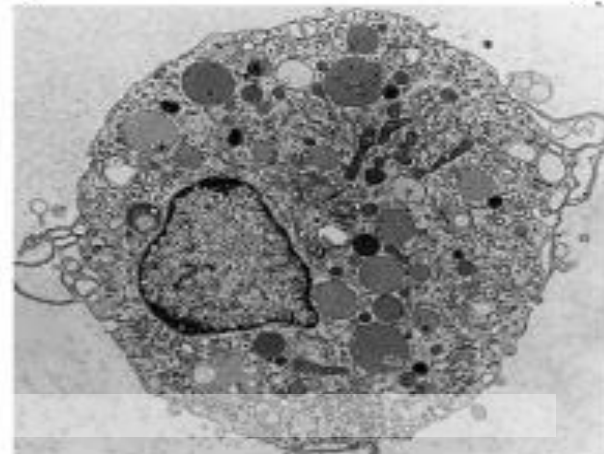
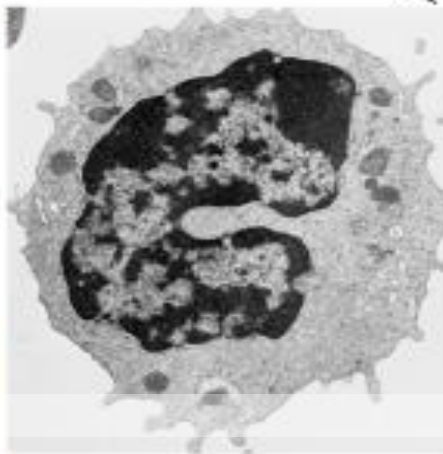
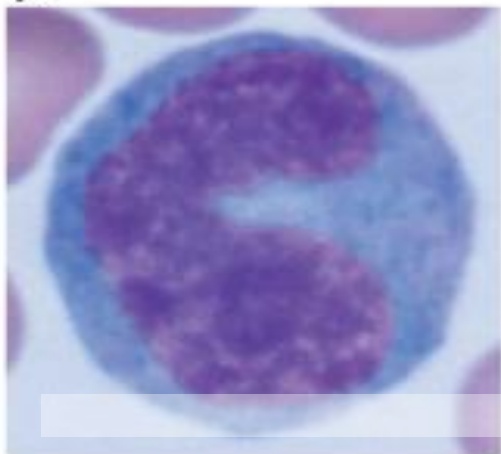
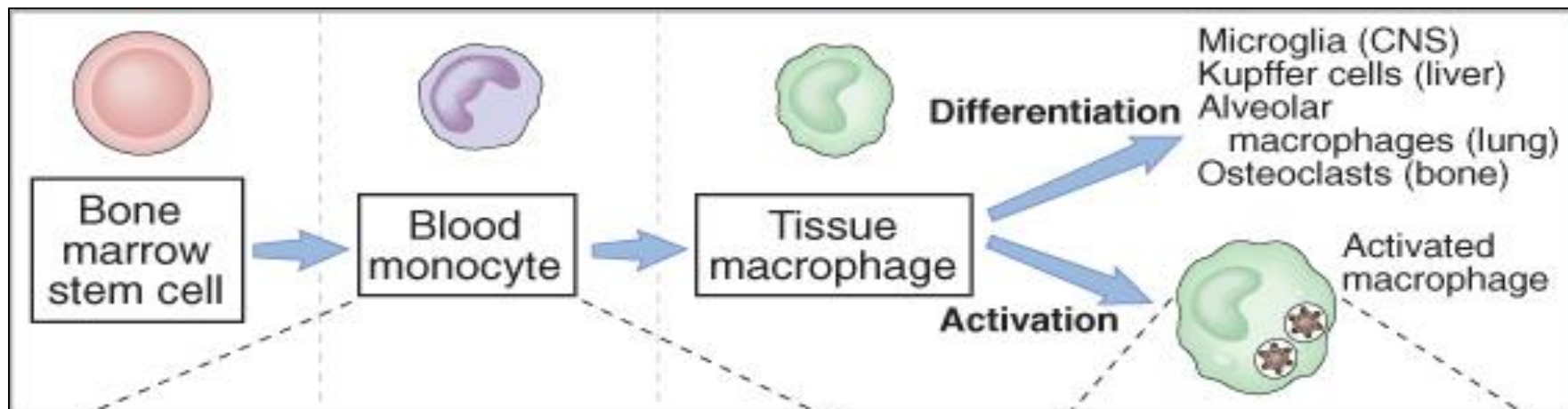


© Elsevier Ltd. Abbas & Lichtman: Basic Immunology 2E www.studentconsult.com

Profesionální fagocyty imunitního systému

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

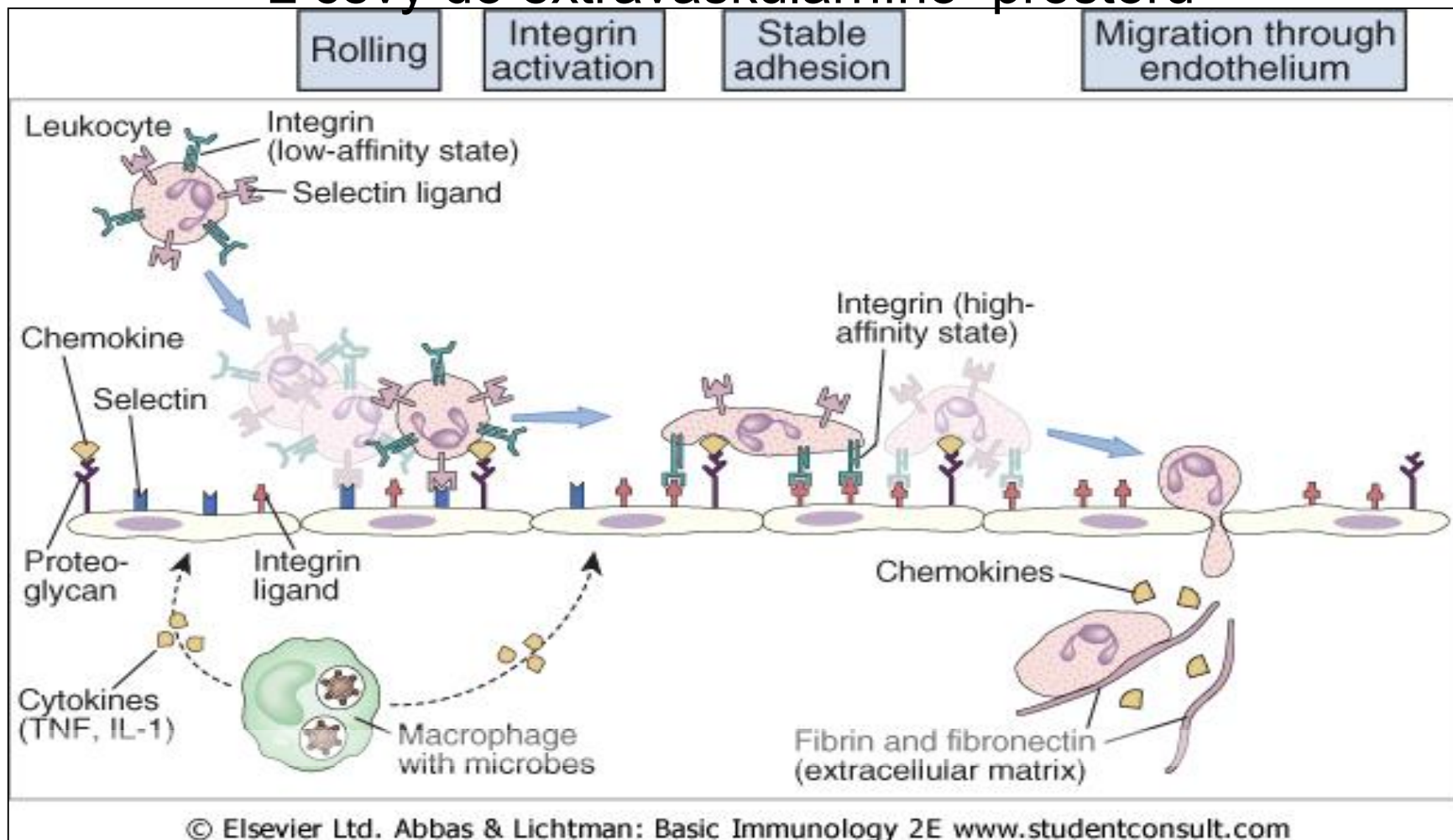
Vývoj makrofágů z monocytů



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^X)
- 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 –pohlčení, vytváření fagosomu. Ten poté splývá s lysosomem za vzniku fagolysosom.
- Intracelulární degradace – po zabití následuje destrukce fagocytovaného materiálu

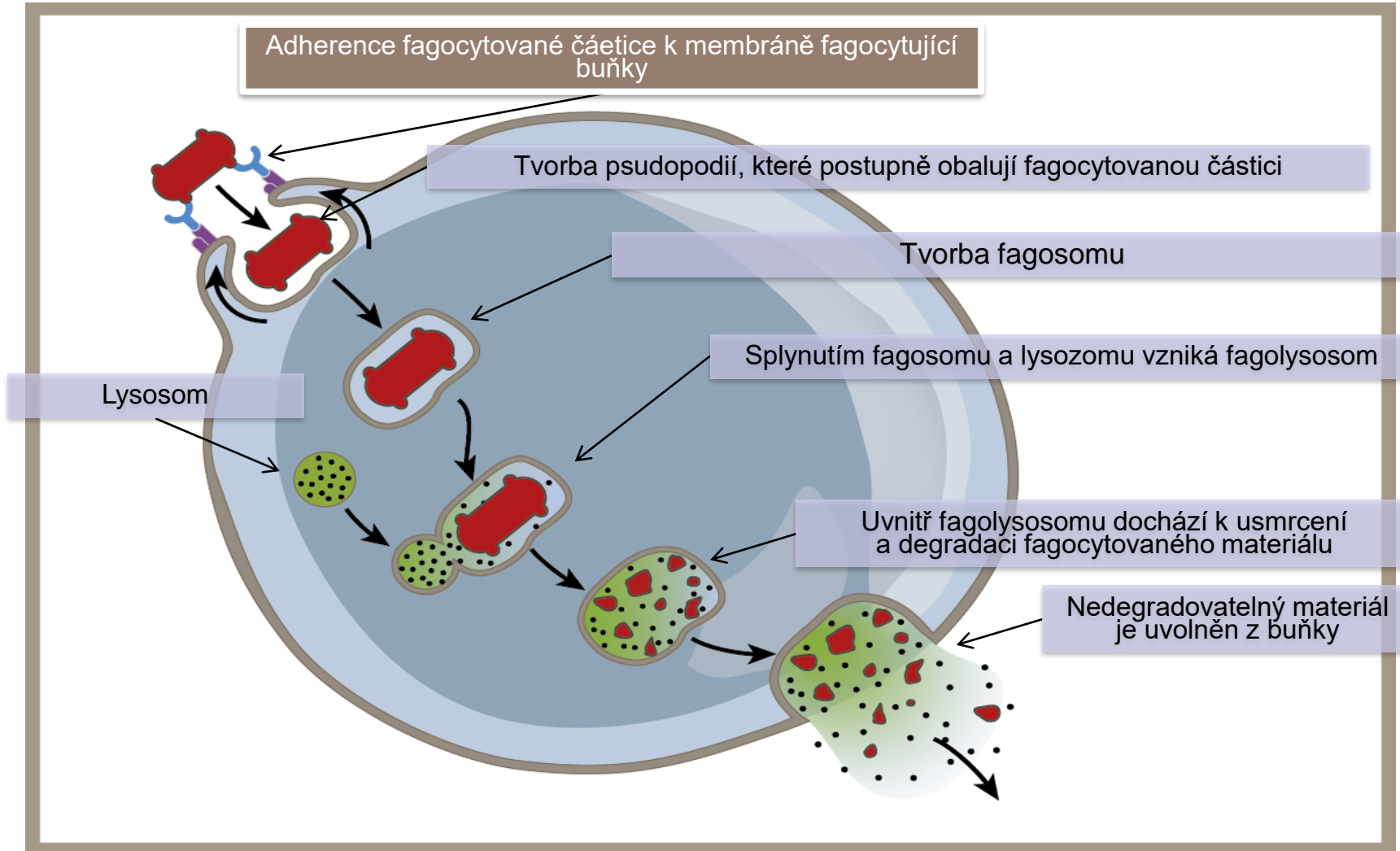
Chemotaxiny

- 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 (H_2O_2 , hydroxylový radikál ($\cdot\text{OH}$), superoxidový aniont (O_2^-), singletovaný kyslík ($\cdot\text{O}_2$)
- Reaktivní dusíkové metabolity (NO , NO_2)
- Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy
- Nízké pH
- Lysozym
- Lactoferin
- Defenziny – antimikrobiální polypeptidy

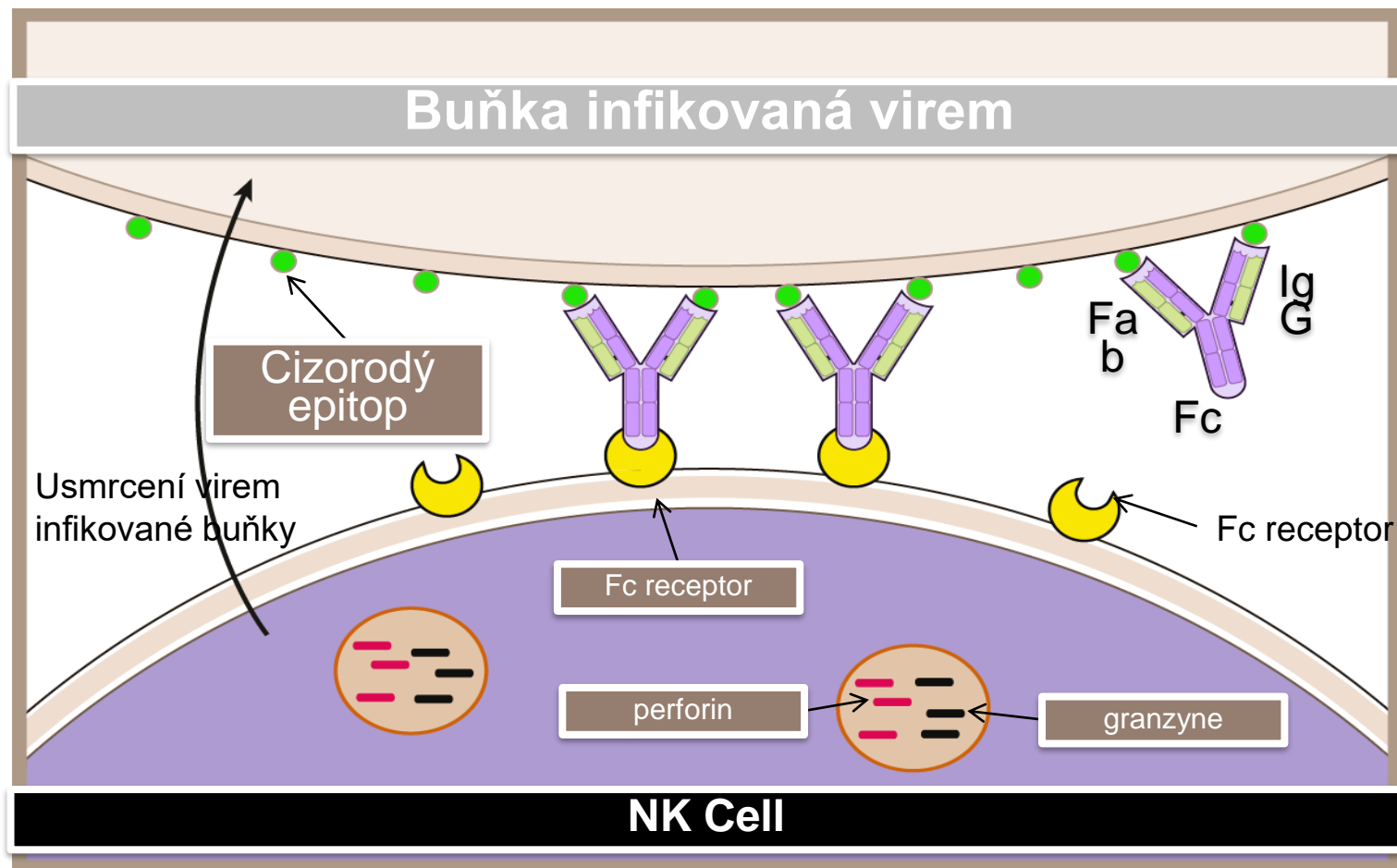
Přirození zabíječi (NK buňky)

- 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).

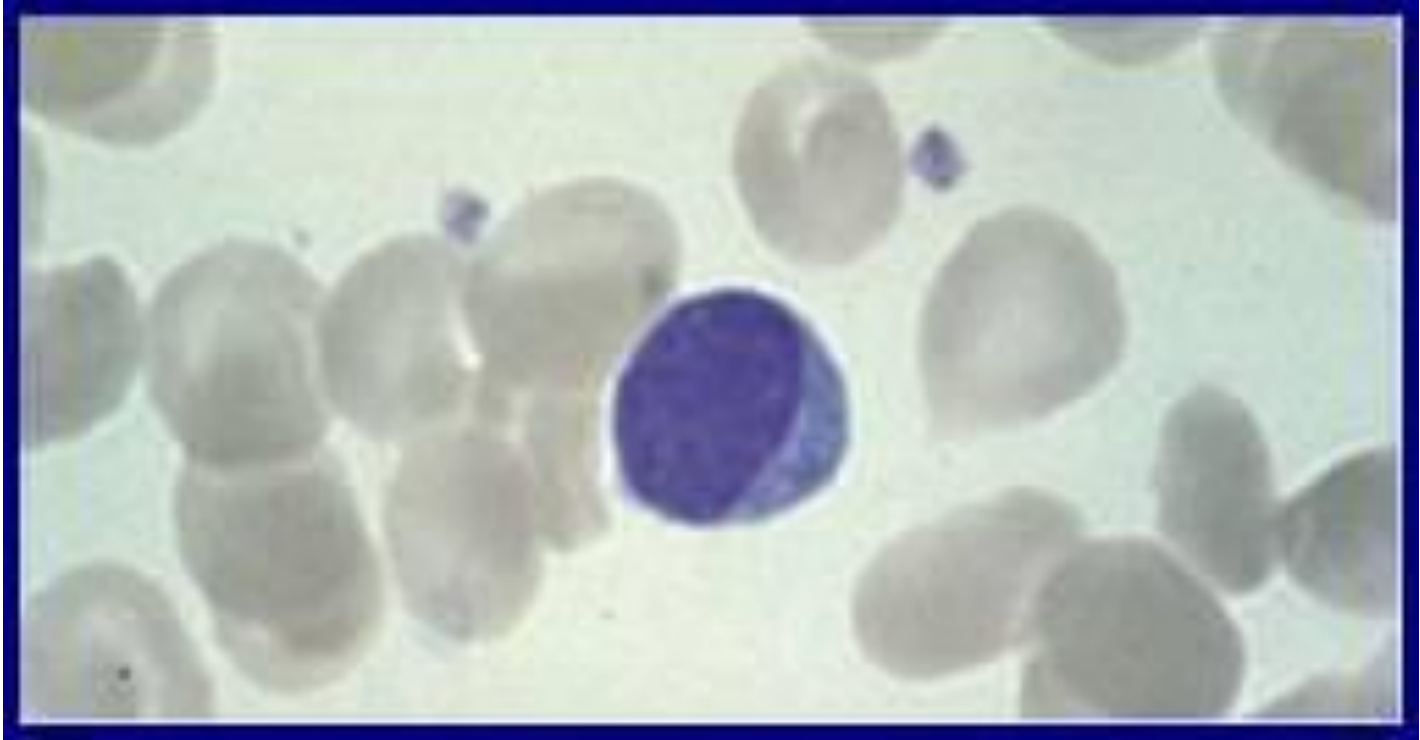
Přirození zabíječi (NK buňky)

- 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- α , β , IL-2, IL-18
- Jsou důležitým zdrojem prozánětlivých cytokinů – IFN γ , IL-3, TNF- α

Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



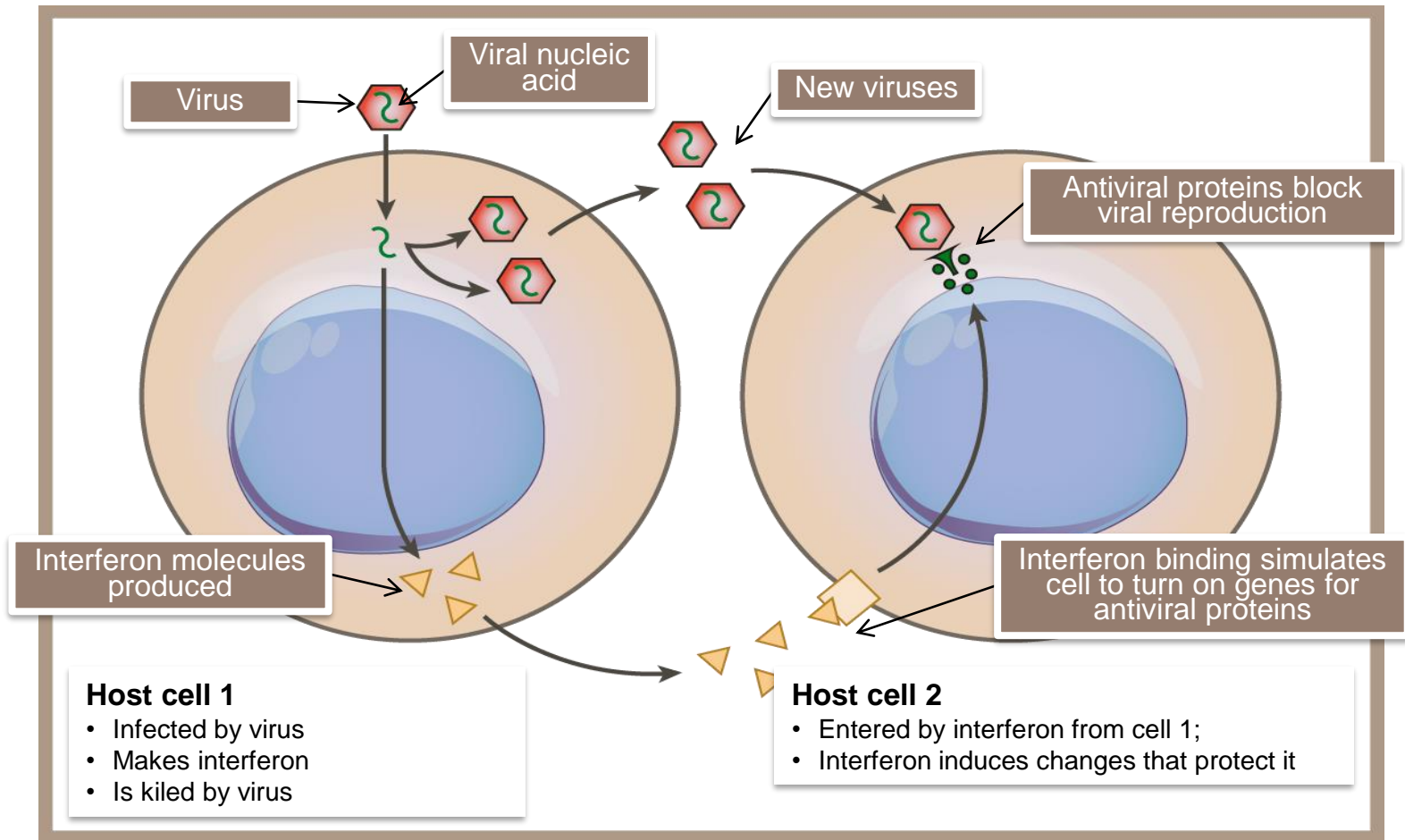
Large granulated lymphocyte



Interferony (IFN)

- Typ 1: IFN α , IFN β – jsou produkována některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, granulocyty). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.
- Typ 2 - „Imunní“: IFN γ : produkován aktivovanými T_H1 buňkami, NK buňkami, způsobuje především aktivaci makrofágů.
- Interferony 3. typu - IFN λ – 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 epitelálními 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 α a β .

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:

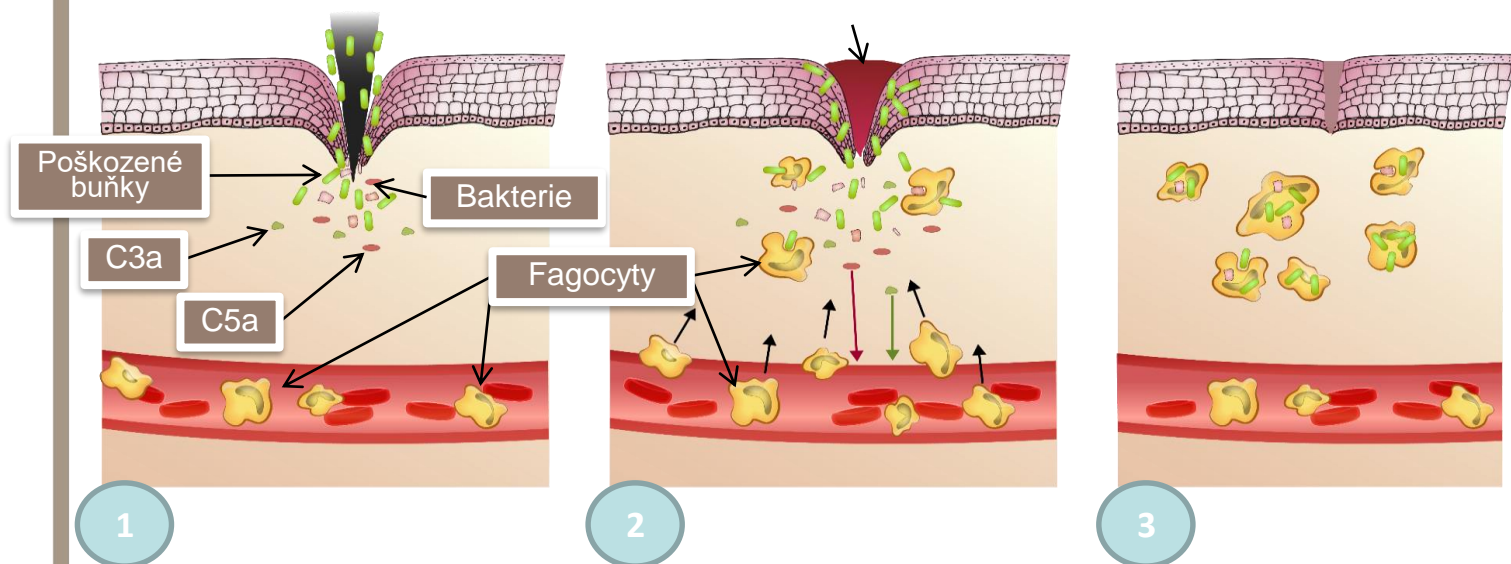
signály ze stresovaných, malfunkčních, poškozených tkání, produkty rozkladu extracelulární matrix (DAMP)

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
- Platelet activating factor
- Produkty mononocytů, neutrofilů: IL-1, TNF- α , IL-6, IL-18, chemokiny, NO,
- Produkty aktivovaných lymfocytů - TNF- α , IL-6, IFN- γ , chemokiny

Celkové příznaky zánětu

- Vznikají zejména pod působením IL-1, IL-6, TNF- α
- 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- α
- 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