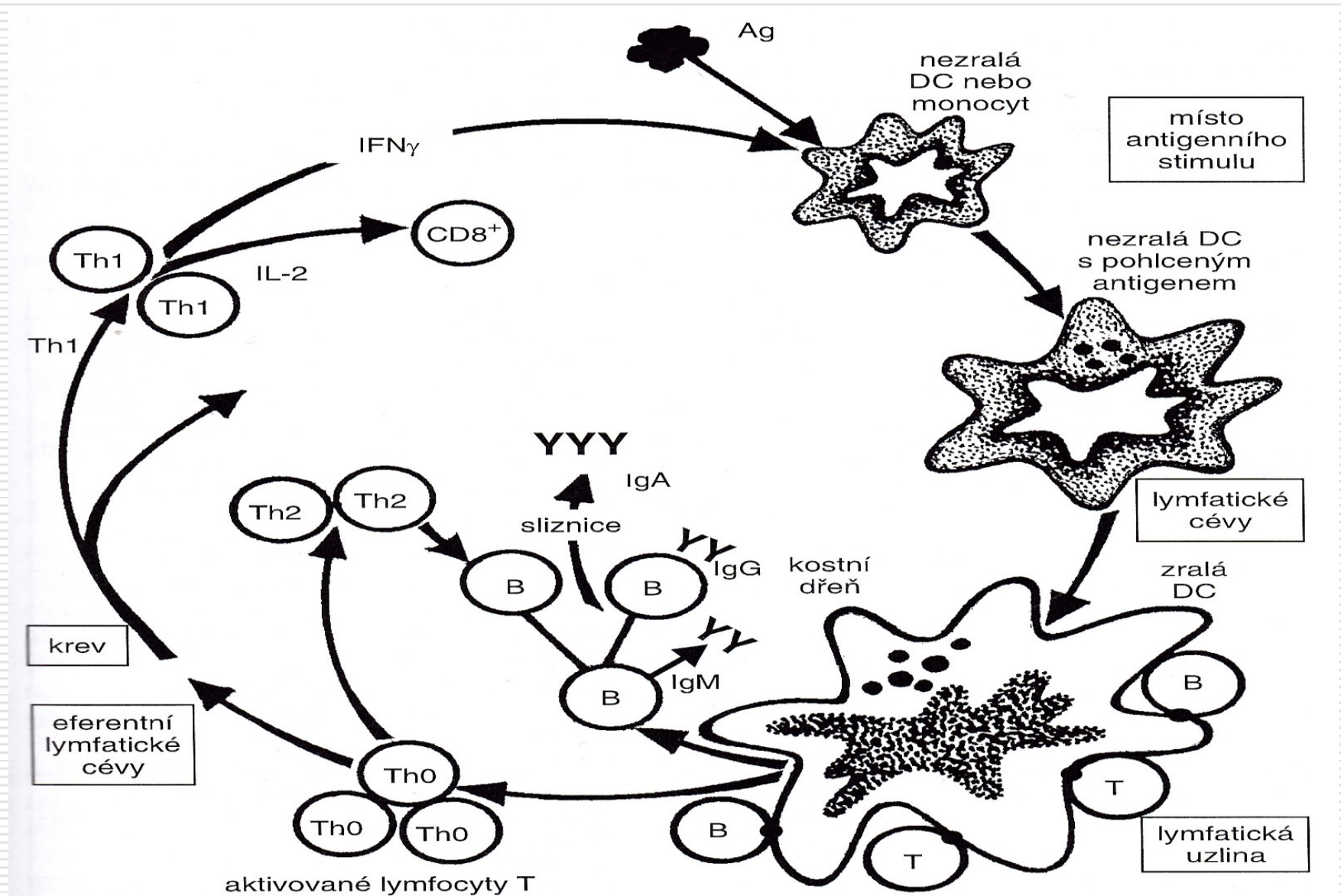


# Sledování parametrů imunitní odpovědi

---

Mgr. Monika Dušková, Ph.D.

# Zjednodušené schéma imunitní reakce



# Na jakých objektech pracujeme

---

- Buňky ex vivo  
plná krev – profesionální fagocyty, lymfocyty, splenocyty, buňky kostní dřeně, hemolymfa
  - Tělní tekutiny: plasma, serum
  - Bezobratlí
  - Obratlovci (myši, potkani, kočky, psi, ptáci, ryby)
-

# Které parametry imunitního systému měříme

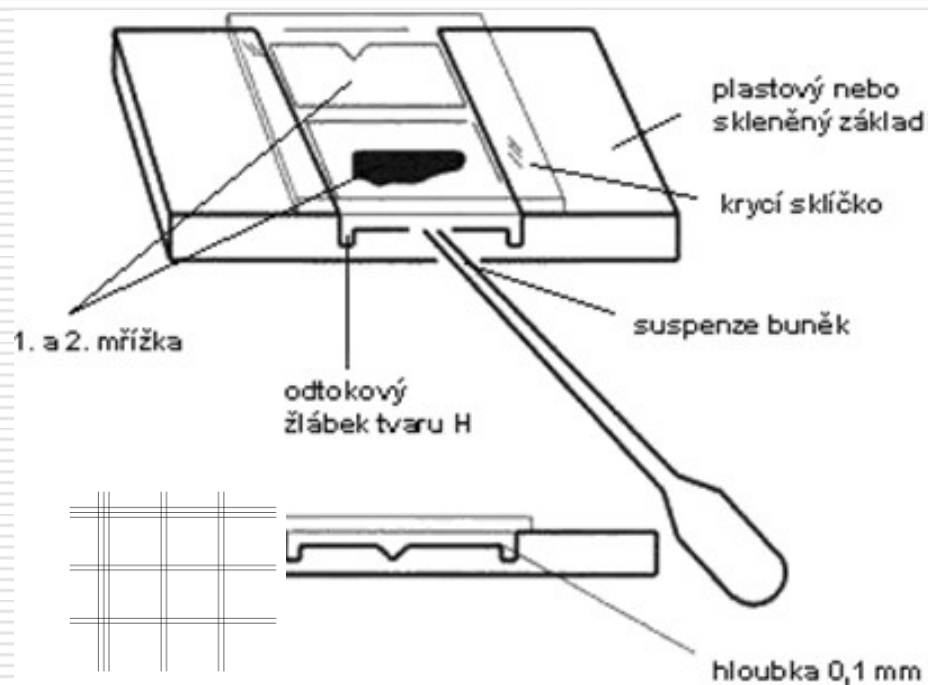
---

- Počty a typy krevních buněk
  - Fagocytóza
  - Proliferace (dělení) lymfocytů
  - Aktivita komplementového systému
  - Aktivita lyzozymu
  - Množství cirkulujících imunokomplexů
  - Hladiny sérových bílkovin
  - Hladiny celkových a specifických protilátek
  - Jaterní profil
-

# Počty a typy krevních buněk

počítání krevních elementů v Bürkerově komůrce

krevní diferenciál



# Fagocytóza

---

- Profesionální fagocyty: neutrofilly, monocyty
- Fáze fagocytózy: chemotaxe, adheze, ingesce a degradace škodliviny
- V průběhu degradace se uplatňují **reaktivní kyslíkové metabolismy (RKM)**, neboli kyslíkové radikály, které vytváří fagocyt za účelem rozložení škodliviny. RKM mohou napadat molekuly lipidů, proteinů i nukleových kyselin patogena, ale hrozí i poškození vlastních tkání při nadprodukci RKM.

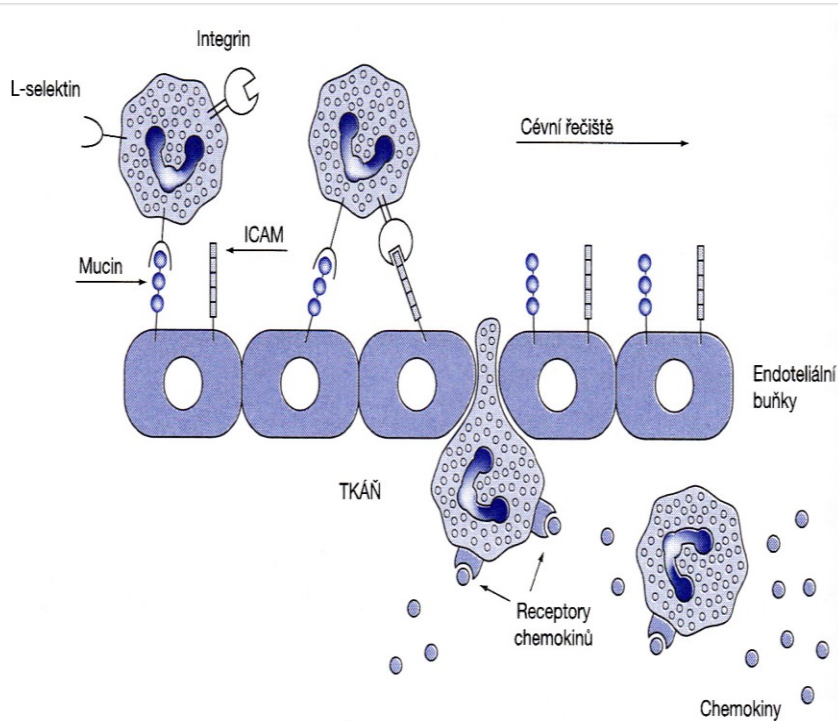
- **Stanovení RKM chemiluminiscenční reakcí:**

více RKM = větší aktivita fagocytů

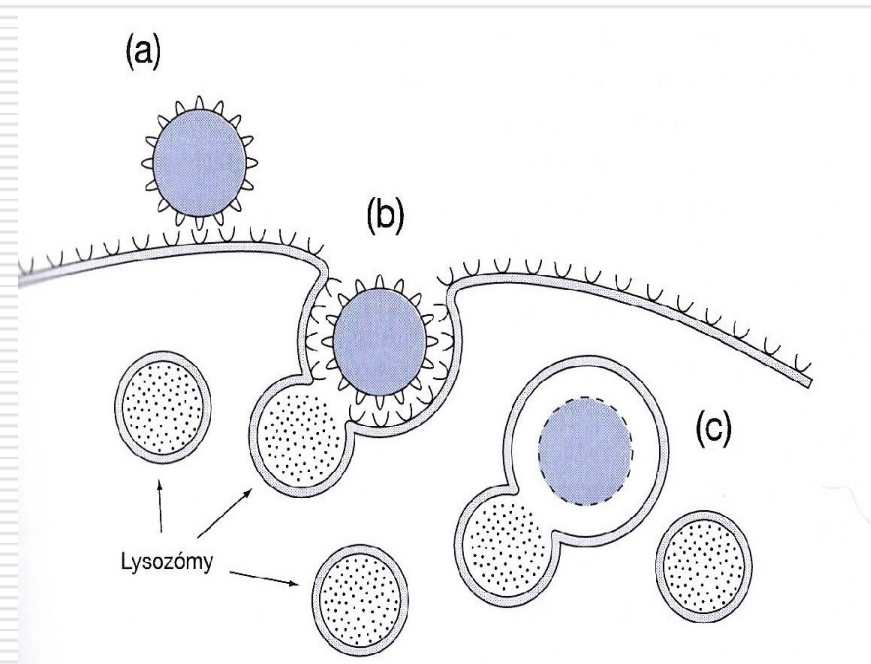
Měří se obvykle spontánní a aktivovaná fagocytóza – zde se suspenzi fagocytů přidá aktivátor(=něco, co fagocyty pohlcují, např. škrobová zrna, bakterie, aktivní uhlí, složky buněčných stěn bakterií nebo kvasinek)

---

## Zachycení fagocytů na endotel a průnik do tkáně

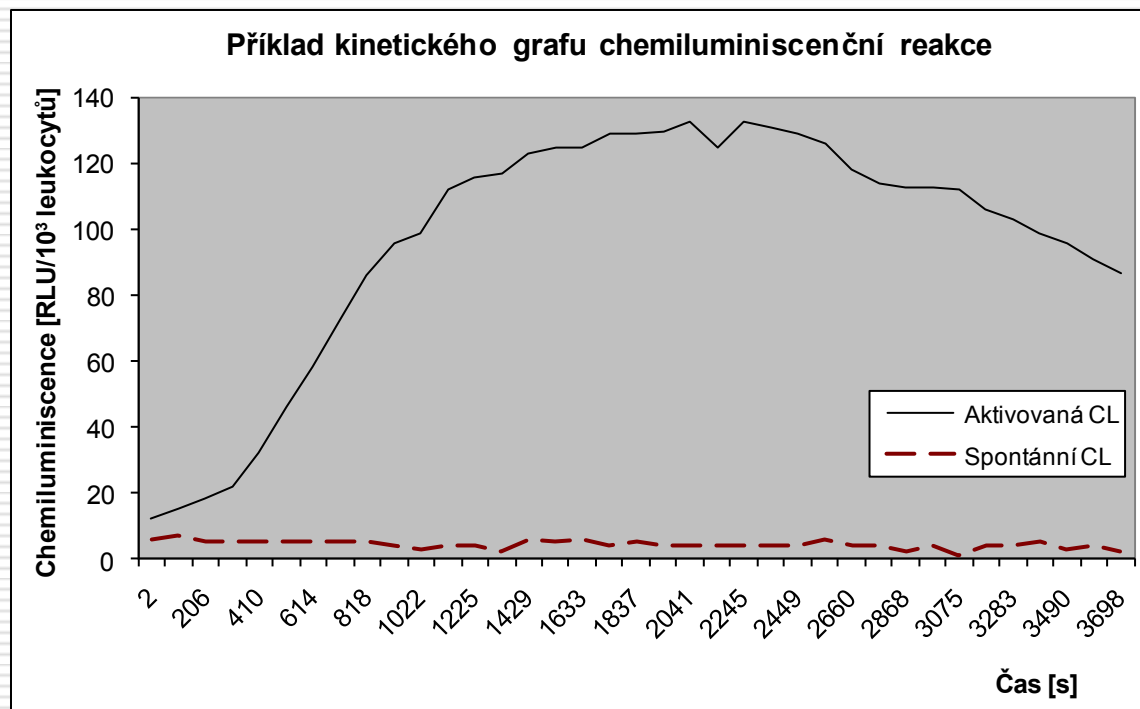


## Zachycení, pohlcení a destrukce patogena ve fagocytu



# Výstup chemiluminiscenčního měření míry fagocytózy

---

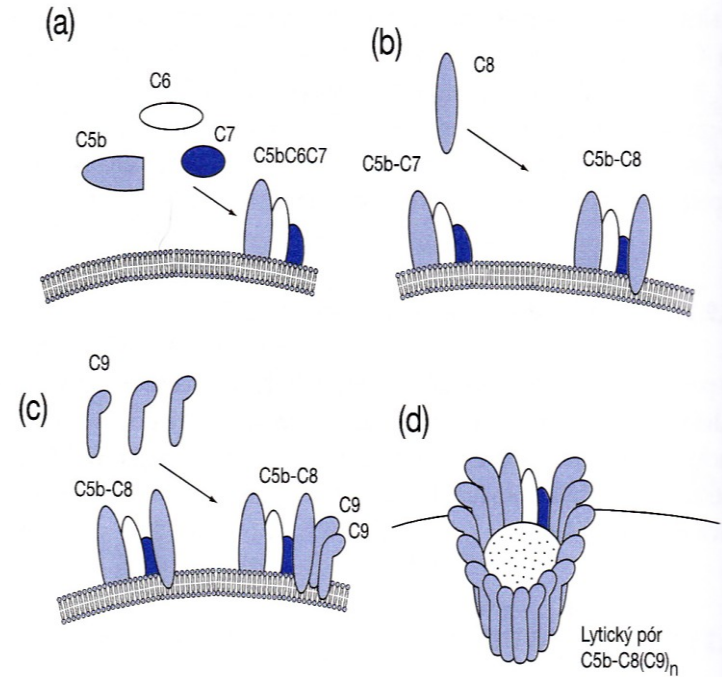




# Aktivita komplementového systému

- Komplement: soubor cca 30 proteinů v krevní plasmě, který se po kontaktu se škodlivinou kaskádovitým způsobem aktivuje a produkty této aktivace přispívají ke zničení patogena, kterým může být např. bakteriální buňka. Nejdůležitější způsob ničení je vytvoření pórů a celkové porušení membrány patogena – jeho lýza.
- Lze měřit buď množství jednotlivých složek komplementového systému, nebo celkovou mikrobicidní aktivitu (pomocí chemiluminiscenční analýzy).

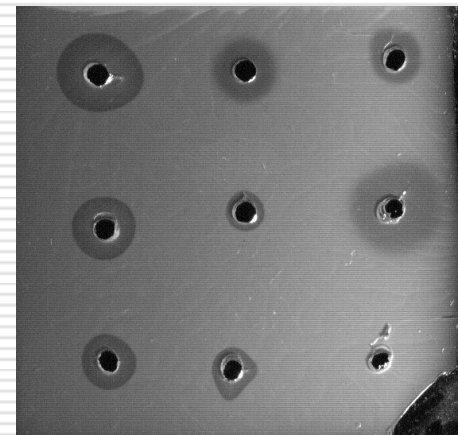
## Lytická fáze komplementové kaskády



# Aktivita lyzozymu

---

- Lyzozym je protein o velmi malé molekulové hmotnosti, nachází se v krevním séru a ve velkém množství v tělních sekretech: mléko, moč, slzy, sliny, hlen. Uplatňuje při rozkladu polysacharidu mureinu tím, že štěpí  $\beta$ -1,4-glykosidickou vazbu. Murein (peptidoglykan) je základní stavební součástí buněčné stěny bakterií.
- Stanovení metodou radiální imunodifúze v agarozovém gelu.



---

Výsledek imunodifúzního stanovení

# Příklady témat realizovaných diplomových prací:

---

- Vlivu CpG na imunitní systém myši a izolované fagocyty
  - Vlivu nanostříbra na fagocyty a aktivitu lysozymu
  - Změny vybraných parametrů krevních a imunitních parametrů u koček ve spojitosti s infekcí borreliemi
  - Aktivita fagocytů a proliferace lymfocytů po působení látek s mikrobicidním účinkem
-

# Co aktuálně nabízím

---

- 1-2 studenti na pokračování výzkumu koloidního stříbra na myším modelu.
-

---

Použité obrázky z literatury:

Bartůňková, Paulík a kol.: Vyšetřovací metody v imunologii, Grada Publishing, 2005

Hořejší, Bartůňková: Základy imunologie, Triton, 2002

---