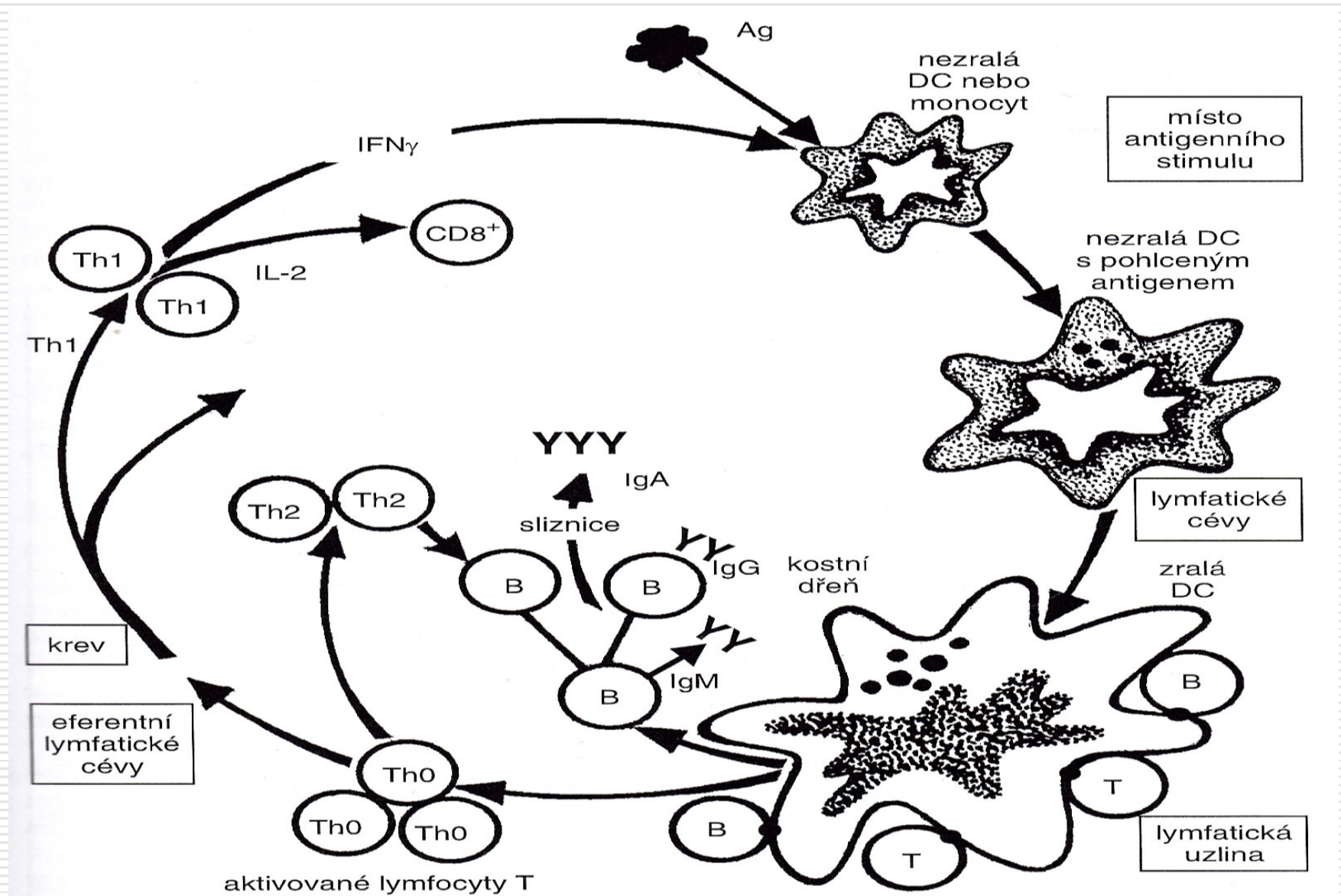


Sledování parametrů imunitní odpovědi

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)
-

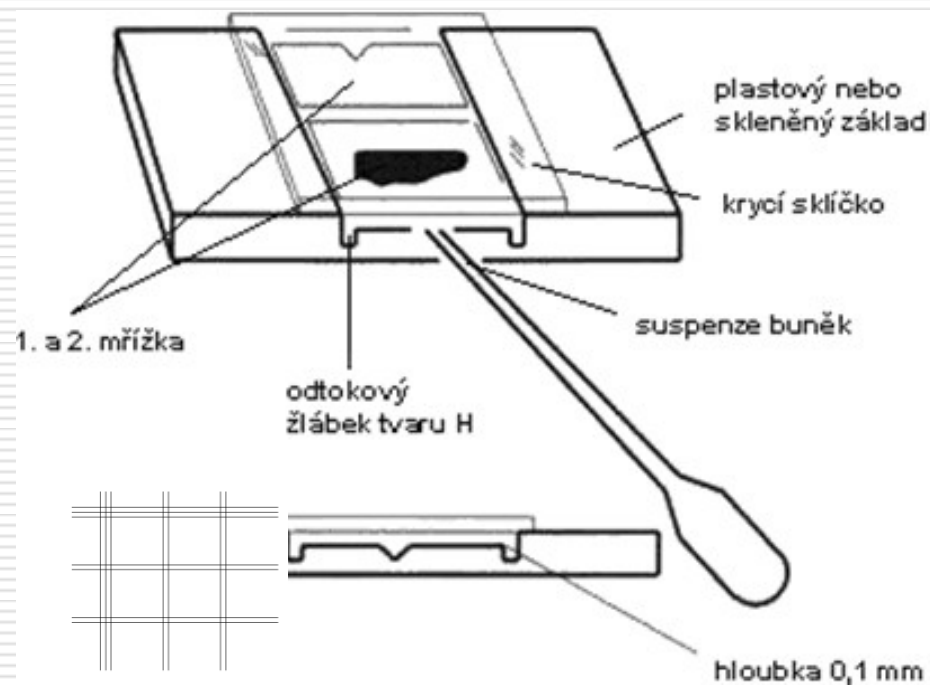
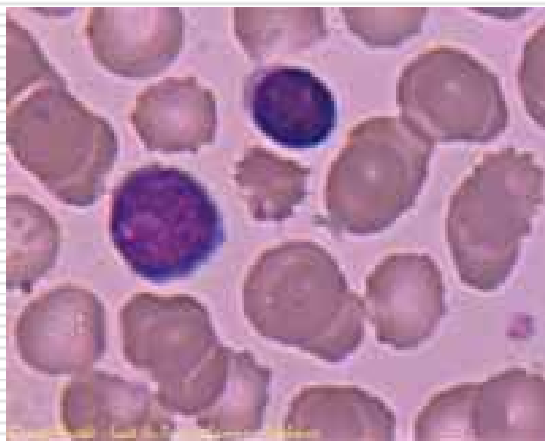
Které parametry imunitního systému měříme

- Počty a typy krevních buněk
 - Fagocytóza
 - Proliferace (dělení) lymfocytů
 - Aktivita komplementového systému
 - Aktivita lysozymu
 - 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



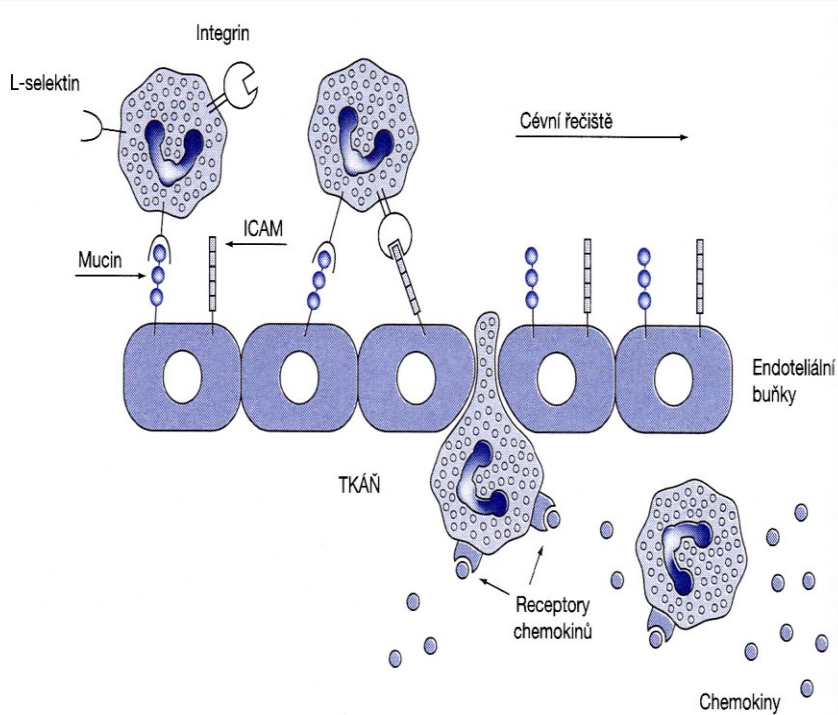
Fagocytóza

- 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:**

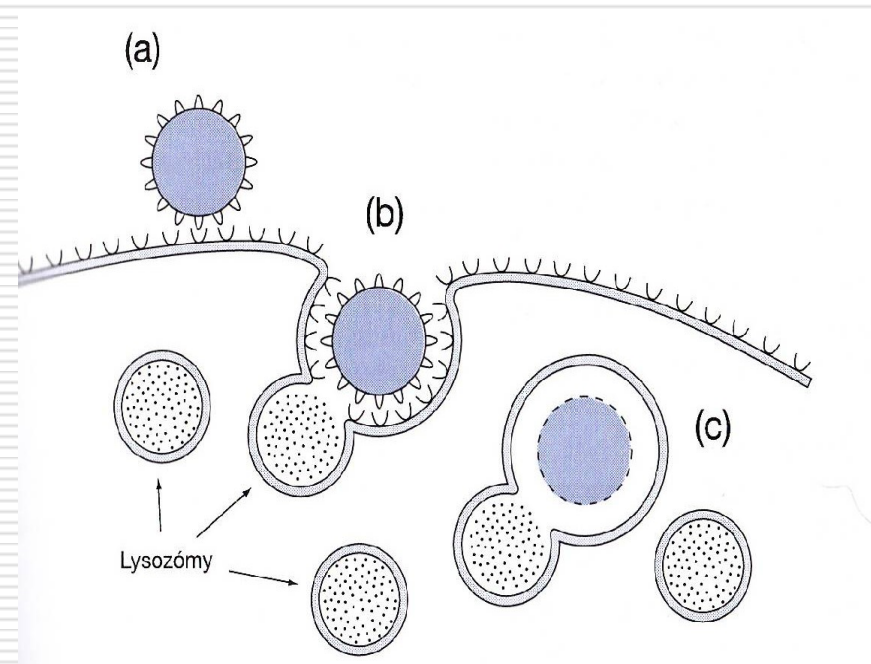
více RKM = větší aktivita fagocytů

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)

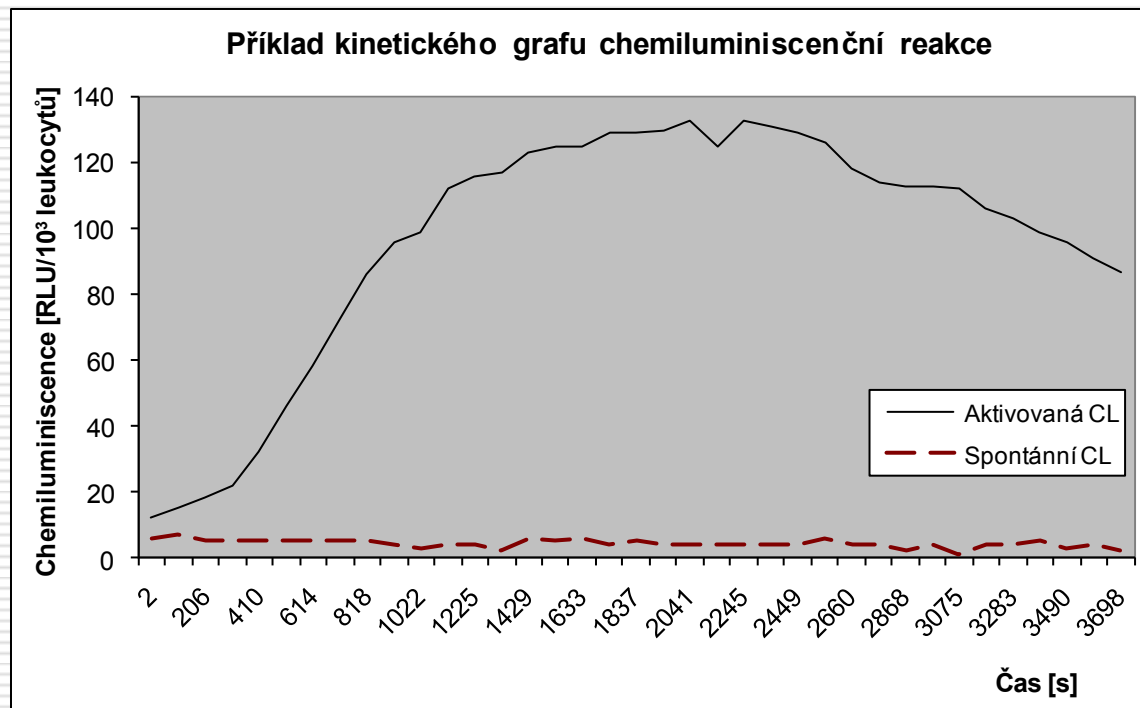
Zachycení fagocytů na endotel a průnik do tkáně



Zachycení, pohlcení a destrukce patogena ve fagocytu



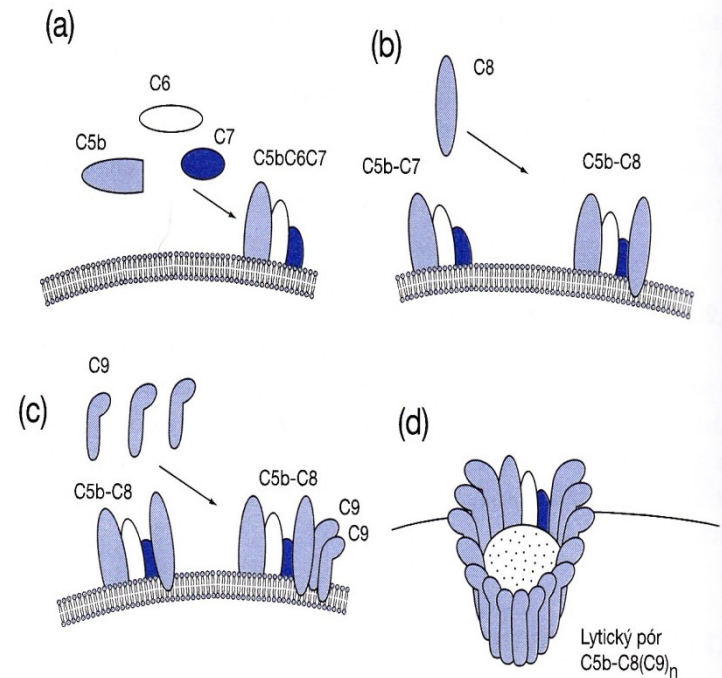
Výstup chemiluminiscenčního měření míry fagocytózy



Aktivita komplementového systému

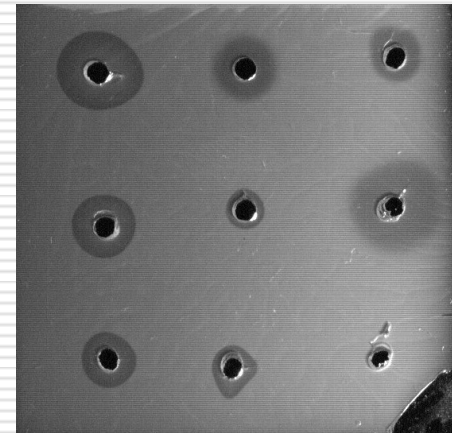
- Komplement: soubor cca 30 proteinů v krevní plasmě, který se po kontaktu se škodlivinou kaskádovitým způsobem aktivuje a produkty této aktivace přispívají ke zničení patogena, kterým může být např. bakteriální buňka. Nejdůležitější způsob ničení je vytvoření pórů a celkové porušení membrány patogena – 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 β -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 myší 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
 - Vliv borreliových antigenů na rozetování erytrocytů
 - Vliv antikoncepce na obsah protilátek a lysozymu ve slinách
-

Použité obrázky z literatury:

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

Hořejší, Bartůňková: Základy imunologie, Triton, 2002
