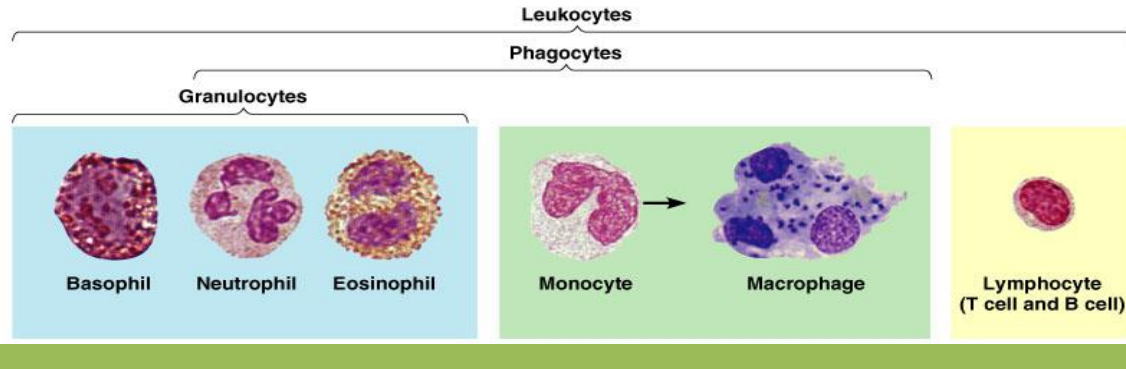


Bílé krvinky – leukocyty

Mgr. Gabriela Ambrožová, Ph.D.

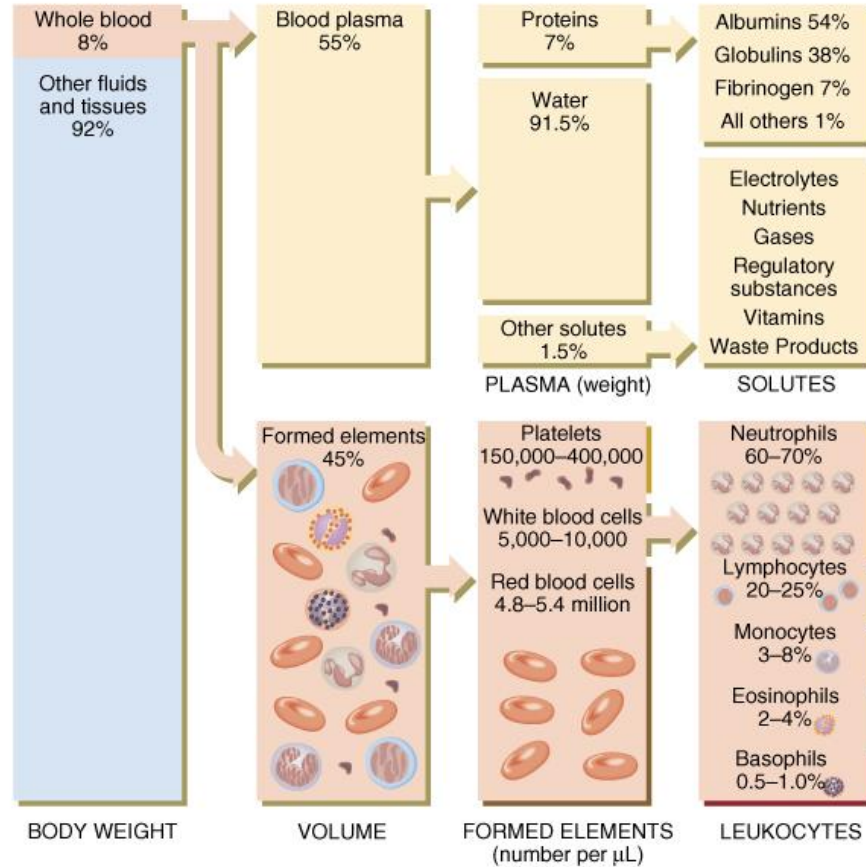
BFÚ AV ČR, FNUSA-ICRC, ÚEB MU
ambrozova@ibp.cz



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Fyziologie krve
14. 3. 2017

Složení krve



Příklady působení cytokinů během hematopoézy

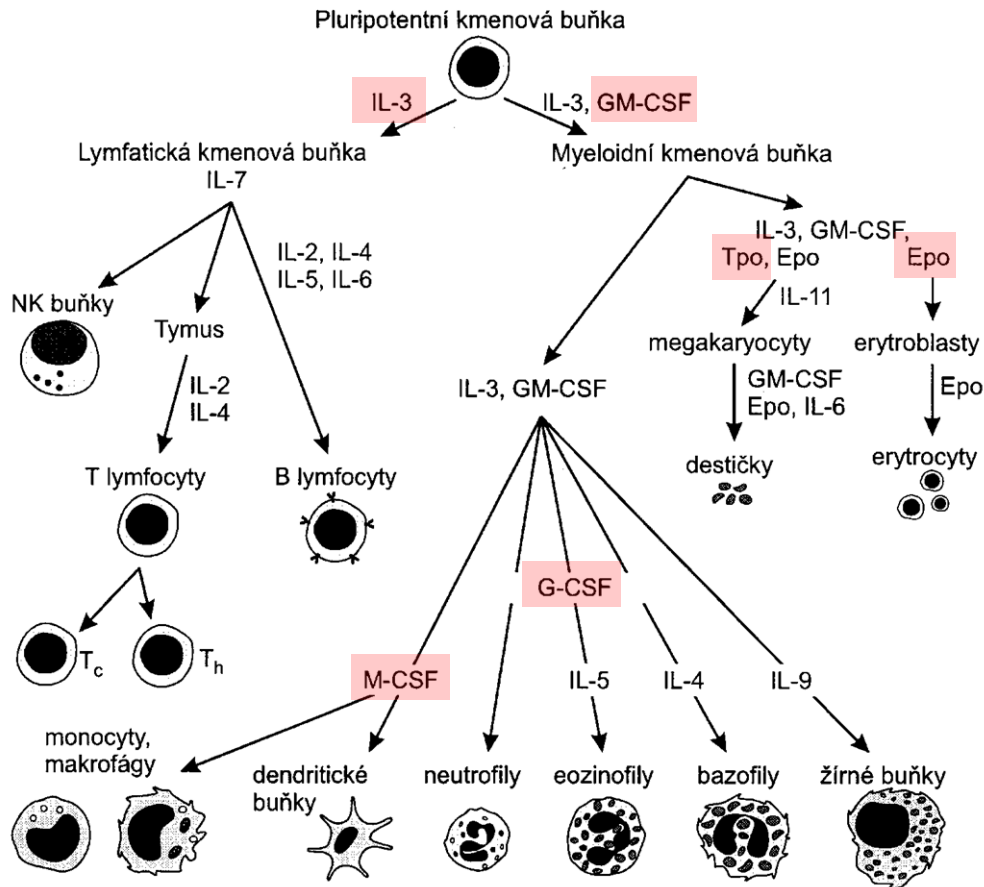
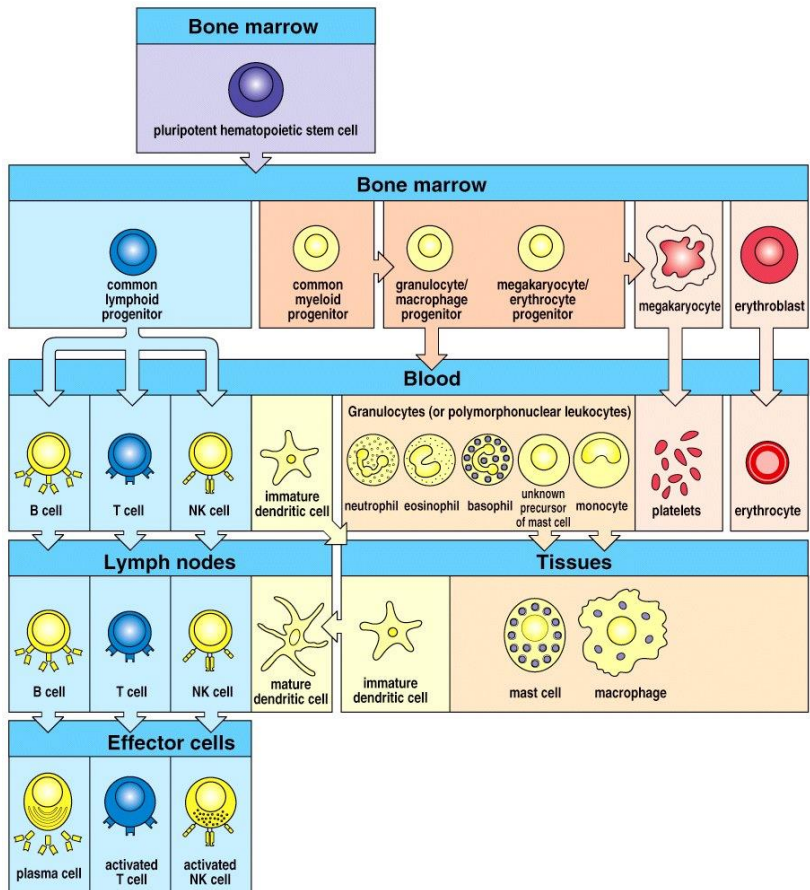
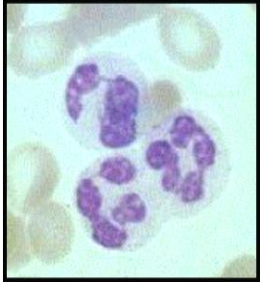


Figure 1-3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Neutrofily



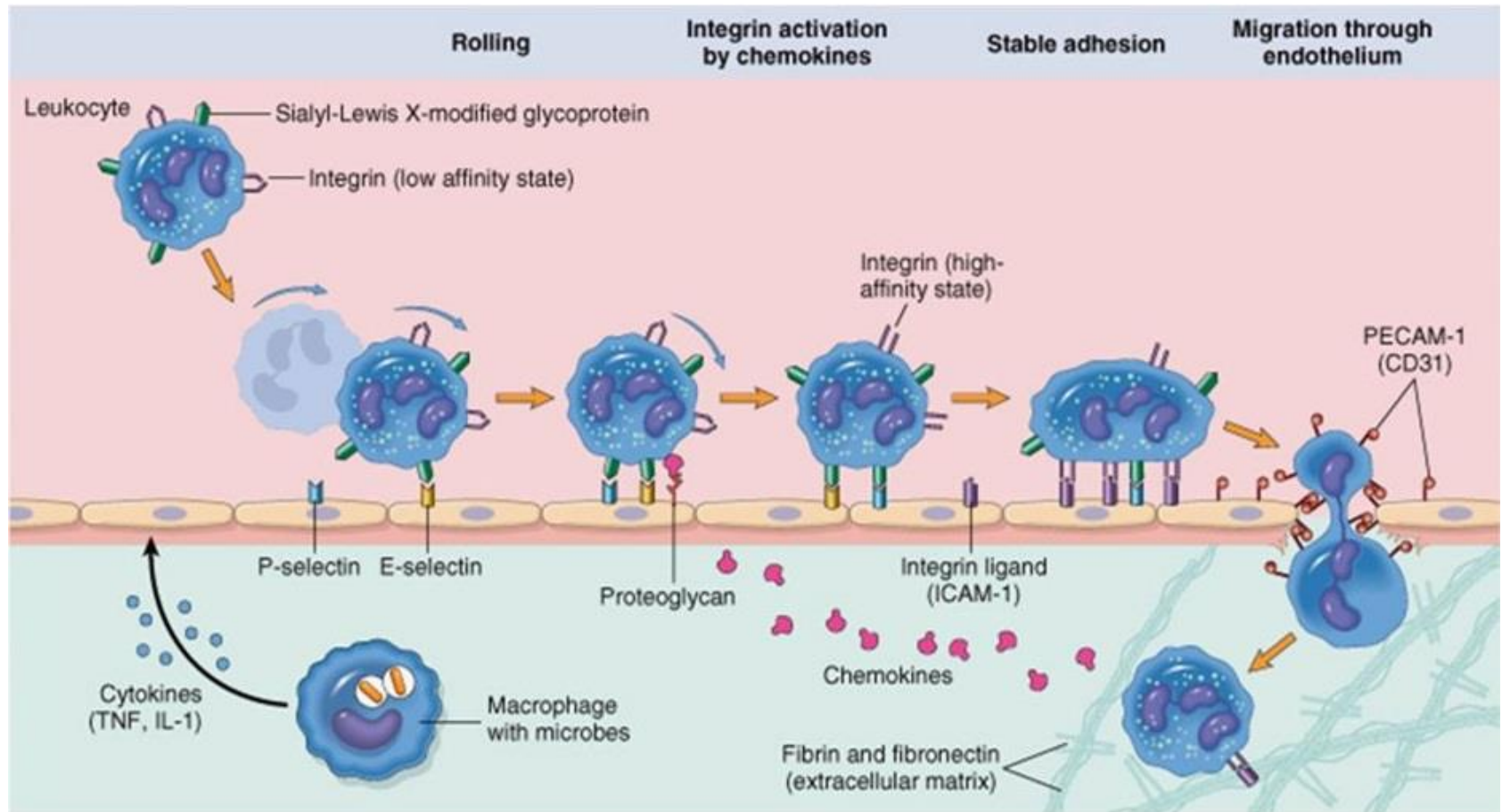
Vlastnosti

- charakteristické zaškrcované jádro
- barvitelná granula v cytoplazmě
- membránové markery CD11b a CD66b
- krátká životnost (řádově hodiny)
- v nadbytku v krvi, ve zdravé tkáni chybí

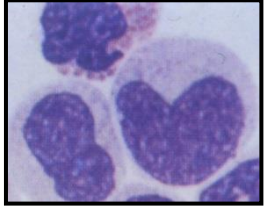
Funkce

- fagocytóza, intracelulární zabíjení
- produkce reaktivních metabolitů kyslíku a dusíku
- zánět
- poškození tkání

Migrace neutrofilů z krevního řečiště do místa určení



Monocyty/makrofágy



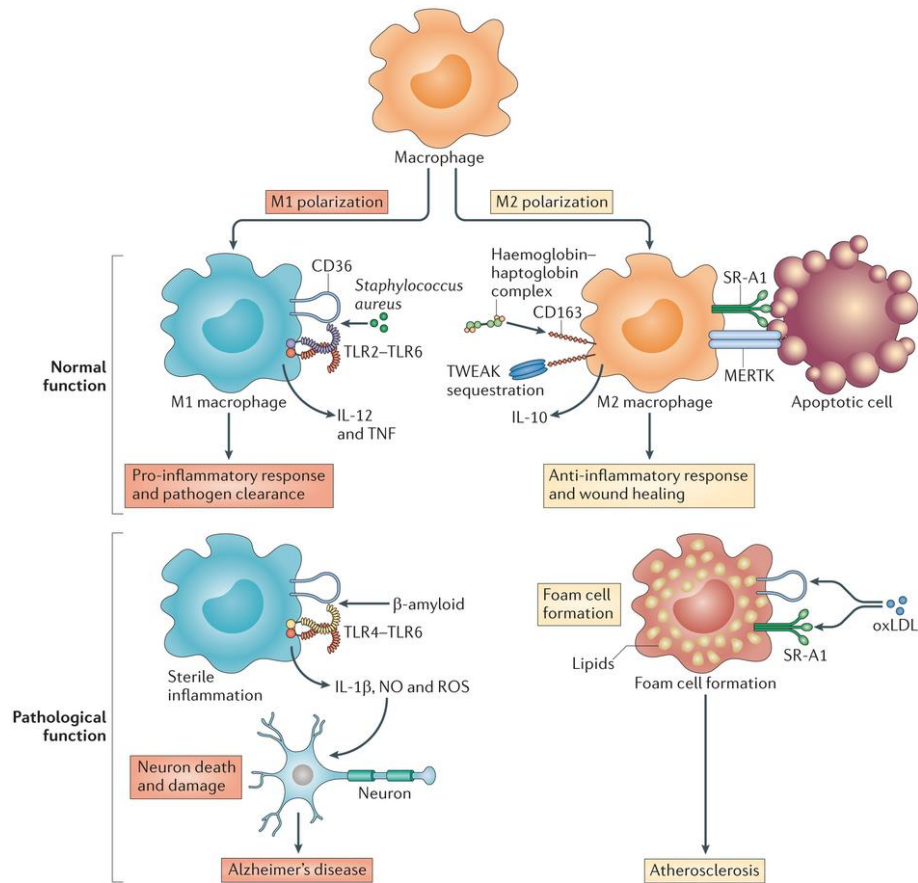
Vlastnosti

- charakteristické ledvinové jádro
- membránový marker CD14
- delší životnost (v oběhu až 80 dní)
- adherence na plast a sklo
- aktivace působením cytokinů; samy i cytokiny produkují

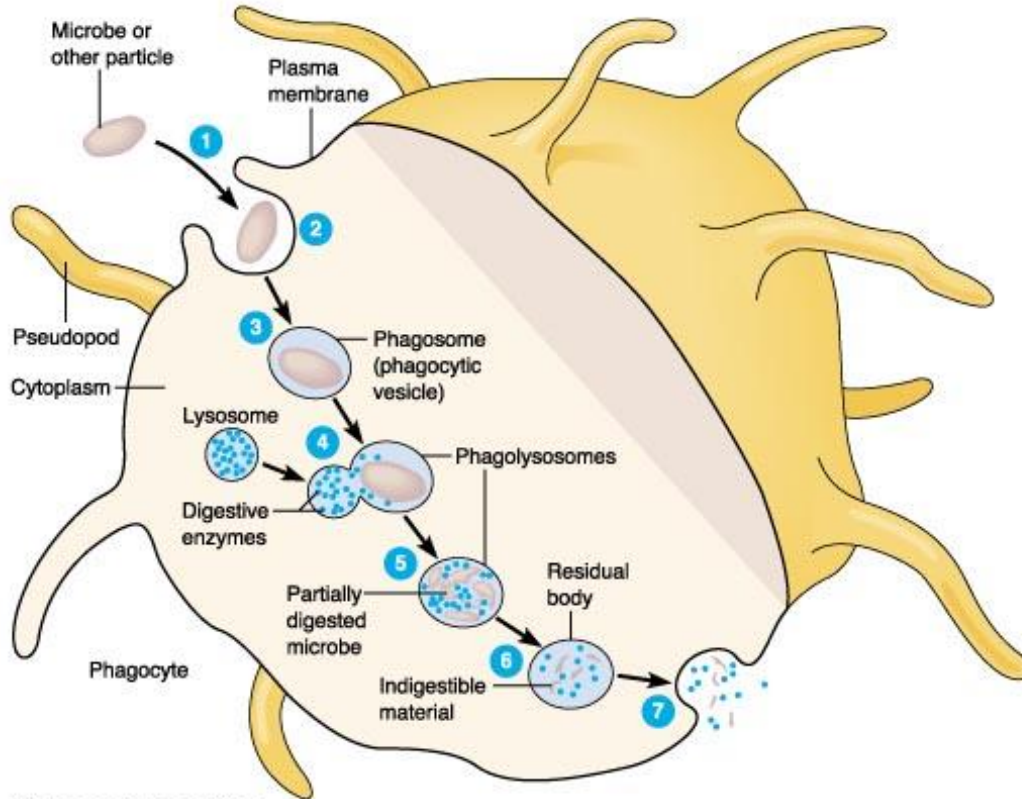
Funkce

- fagocytóza, intracelulární zabíjení
- prezentace antigenu pro specifickou imunitní odpověď
- likvidace i maligních a pozměněných vlastních buněk; likvidace imunokomplexů
- obnova tkání

Polarizace makrofágů do funkčních skupin



Fagocyty



(a) Phases of phagocytosis

Mikrobicidní mechanismy fagocytů

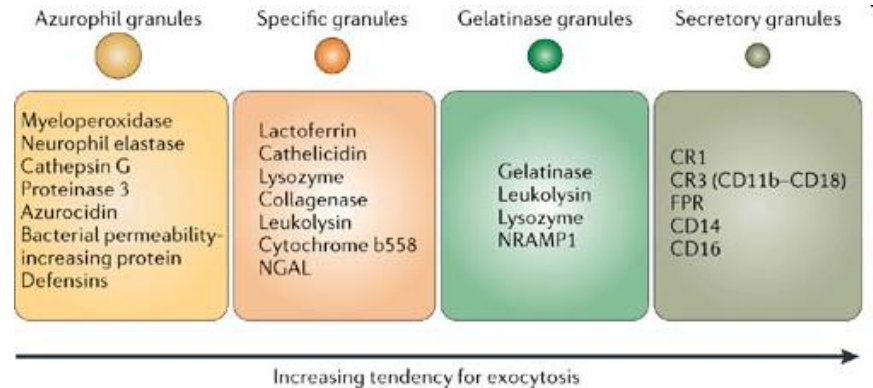
A. Mechanismy závislé na kyslíku

- **reaktivní metabolity kyslíku (ROS)** = reagují s proteiny, lipidy a jinými biologicky významnými molekulami; základem je aktivace **NADPH oxidázy**
- **reaktivní metabolity dusíku (RNS)** – základní molekulou **oxid dusnatý (NO)**

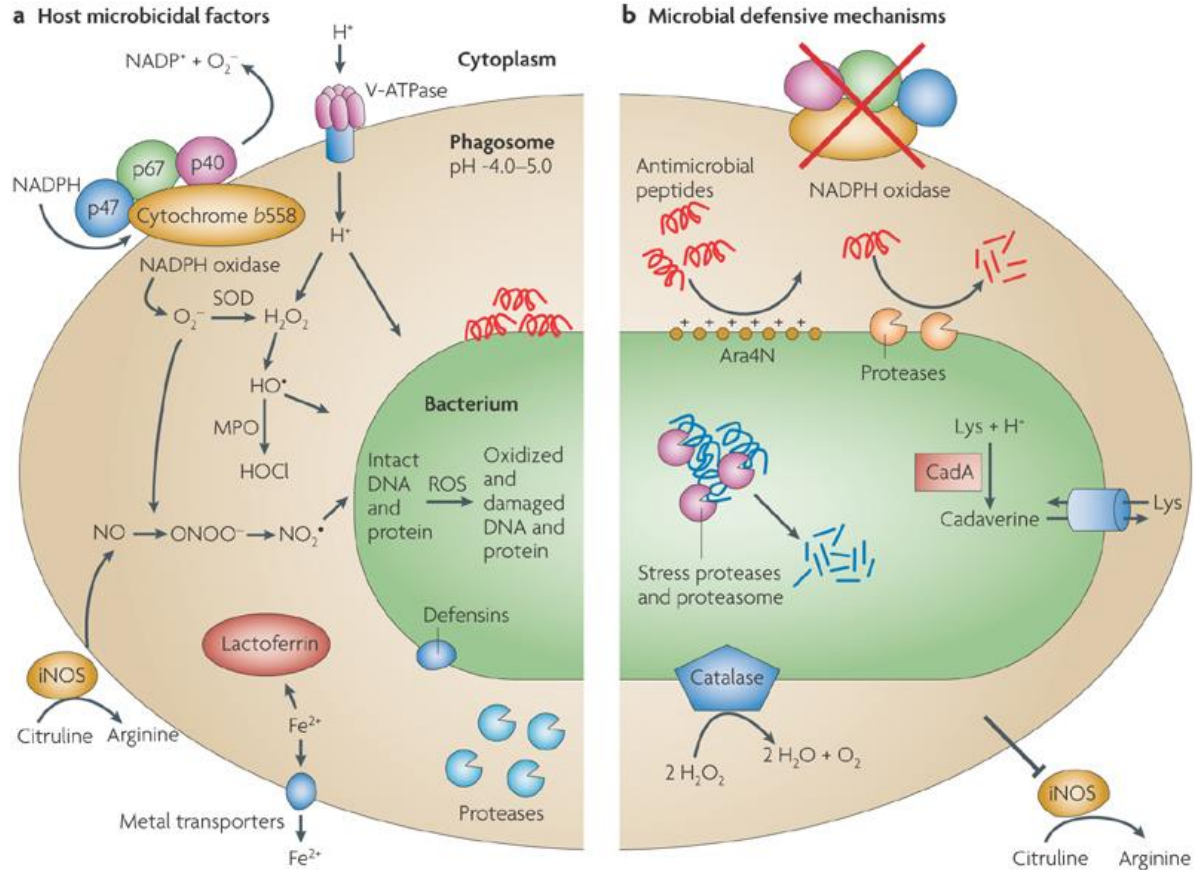
B. Mechanismy nezávislé na kyslíku

- **antimikrobiální enzymy, peptidy, kompetitory** – obsaženy v granulích; několik mechanismů účinku:

1. **narušují buněčnou stěnu bakterií** (např. enzym lysozym; peptid defensin);
2. **vyvazují látky nezbytné pro růst bakterií** (např. laktoferrin vyvazuje ionty Fe; vitamin B12-vázající protein);
3. **podporují transport H^+ iontů**
=> acidifikace fagolysosómu, zvýšení aktivity proteáz

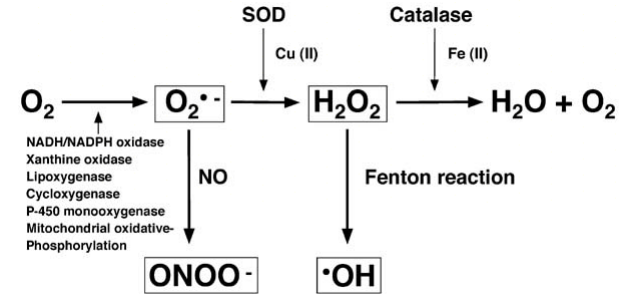
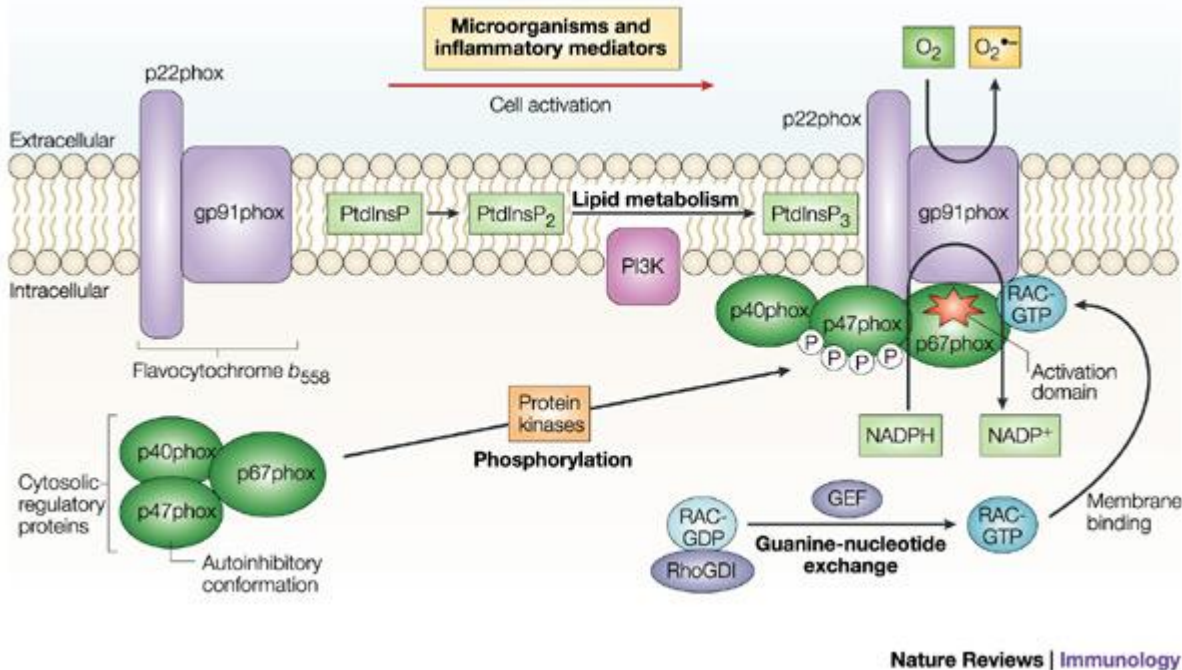


Mikrobicidní mechanismy fagocytů



NADPH oxidáza

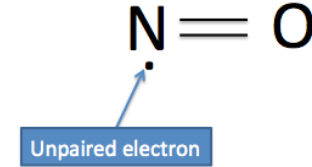
- proteinový komplex v cytoplazmatické membráně nebo membráně fagolysosómu
- kyslík přeměňuje na superoxid ($O_2^{\bullet-}$), který je zdrojem dalších ROS (např. hydroxylového radikálu, peroxidu vodíku, peroxynitritu)



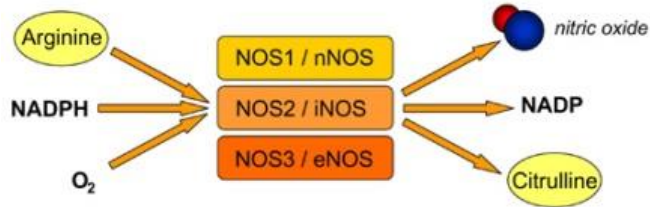
Oxid dusnatý

Vlastnosti a funkce

- vysoká reaktivita – radikál – mikrobicidní produkt makrofágů
- vazodilatátor, signalační molekula
- silný oxidant a prekursor dalších silných oxidantů: peroxyinitrit, chloraminy



Syntéza oxidu dusnatého (NOS)

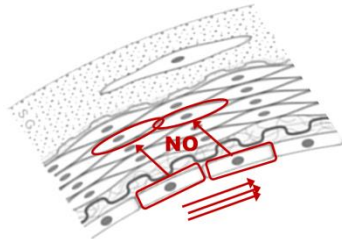


neuronální (nNOS = NOS1)
inducibilní (iNOS = NOS2)
epiteliální (eNOS = NOS3)

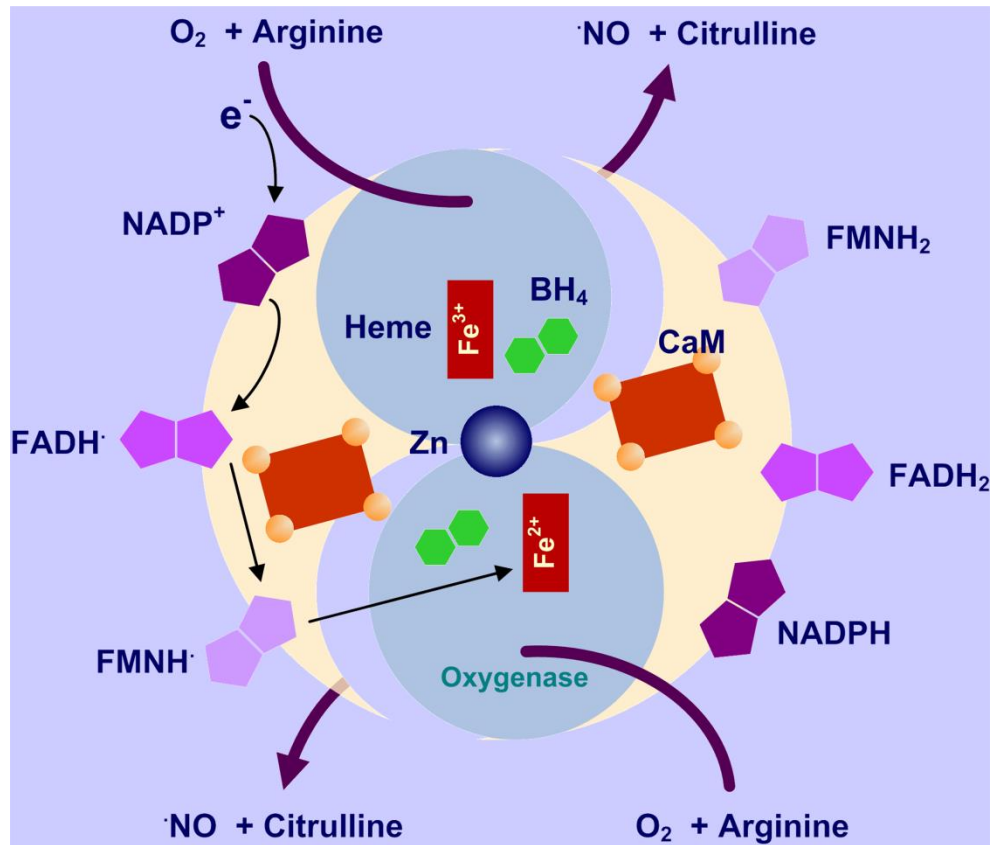
rozdílná tkáňová distribuce
lokalizace na různých chromozomech

Deregulace produkce NO

- ↑ poškození tkání
- ↓ endoteliální dysfunkce



Syntéza oxidu dusnatého



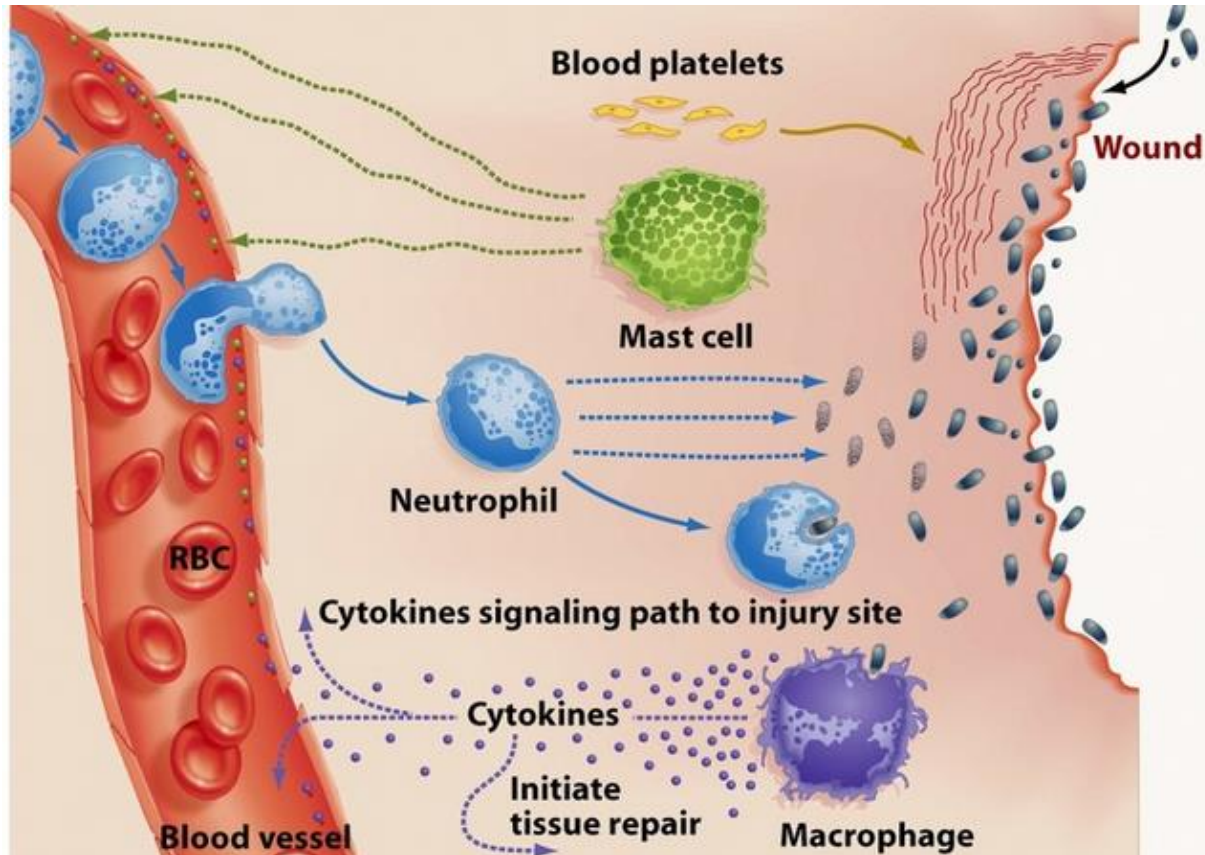
Receptory na buňkách IS v inátní imunitě

Na všech buňkách nespecifické imunity je přítomna sada specifických receptorů, jejichž aktivace vede k velmi rychlé imunitní odpovědi.

Receptory na fagocytech

- **Toll-like receptory** (TLR) – rozpoznávají tzv. PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns) = evolučně konzervované struktury na povrchu patogenů (např. lipopolysacharid, LPS, bakterií); důsledkem vazby ligandu na TLR je aktivace transkripčního faktoru NF- κ B, což vede k produkci prozánětlivých cytokinů, adhezivních molekul, růstových faktorů aj.
- **Fc receptory** (FcR) – vážou Fc-části konstantní oblasti protilátek; uplatňují se při fagocytóze a při buněčné cytotoxicitě závislé na protilátkách (tzv. ADCC)
- **komplementové receptory** (CR) – specificky rozpoznávají a vážou fragmenty komplementu (např. CR-1 až CR-5 vážou C3b)
- **chemotaktické receptory** – aktivují se chemotaktickými látkami (např. fMLP na povrchu bakterií)
- **manóзовé receptory** – rozeznávají cukerné struktury na povrchu bakterií a některých virů
- **scavengerové („zametačské“) receptory** – rozeznávají acetylované lipoproteinové částice (např. LDL), cholesterol

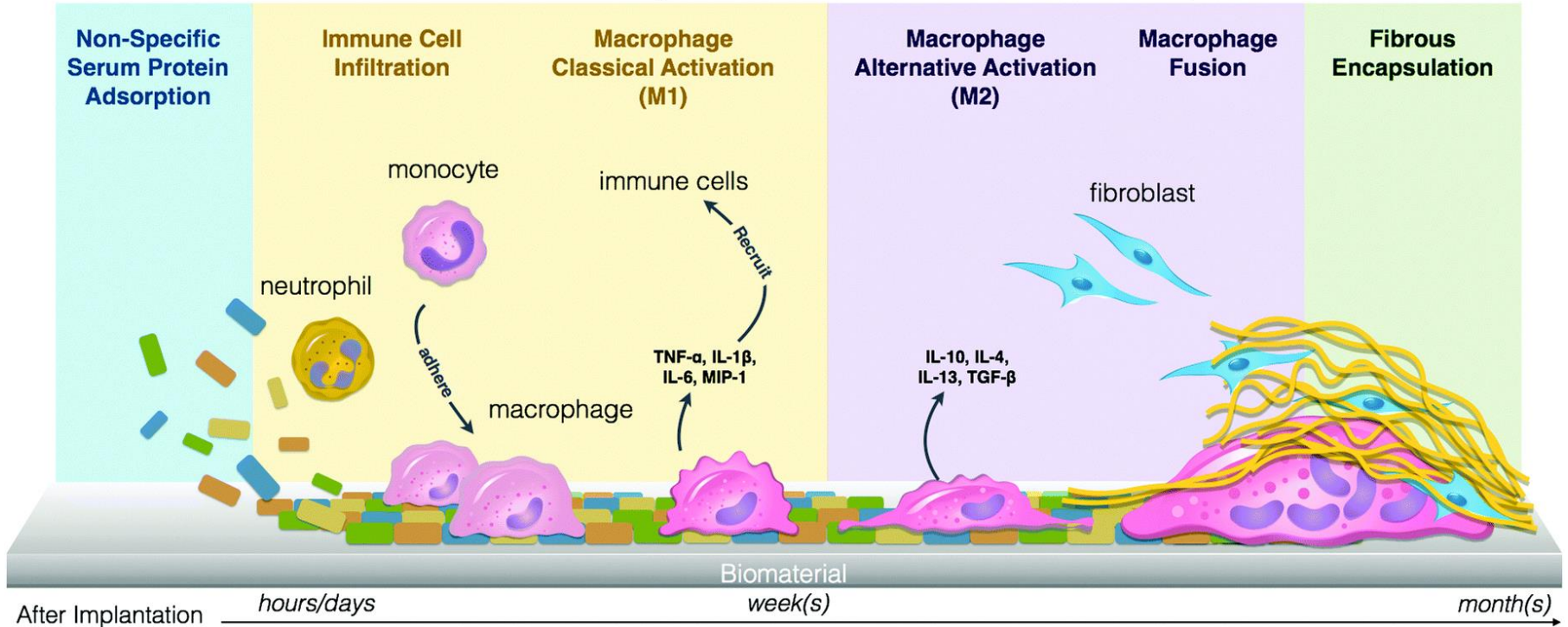
Zánětlivý proces



Role fagocytů v zánětlivém procesu (FBR)

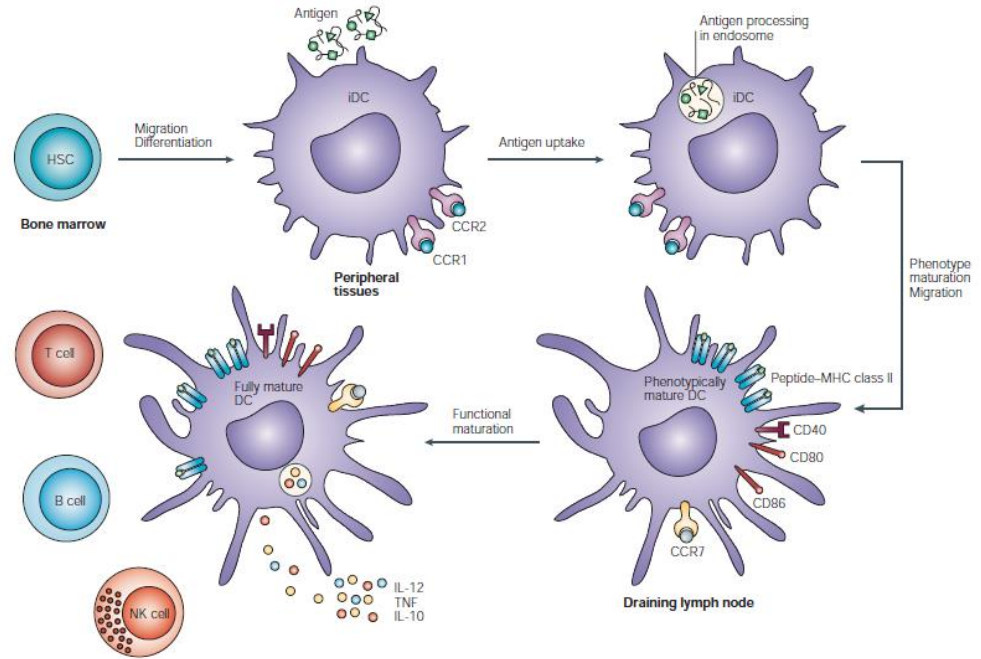
Pro-inflammatory

Anti-inflammatory

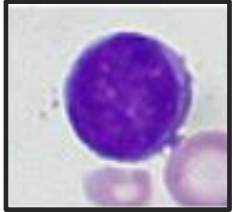


Dendritické buňky

- jedny z nejúčinnějších APC (MHC I. i II.), schopnost fagocytózy
- spojují specifickou a nespecifickou imunitu
- **nezralé DC** – schopnost fagocytózy; v kontaktu s vnějším prostředím (kůže, sliznice) – vyhledání patogenu x autoantigeny → zodpovědné za **navození tolerance k Ag tělu vlastním**
- **zralé DC** – ztrácí schopnost fagocytózy, prostřednictvím T lymfocytů **aktivují specifickou imunitní odpověď**



T lymfocyty

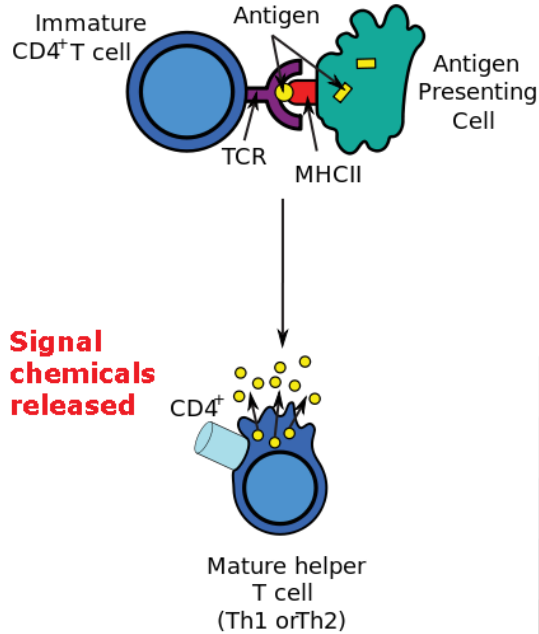


T lymfocyty

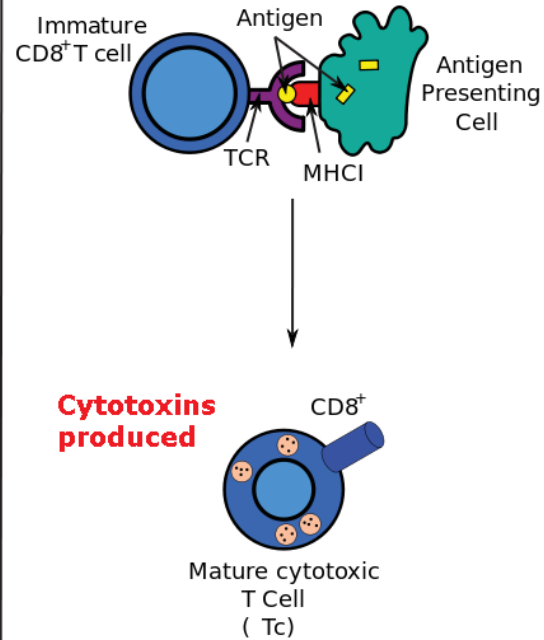
- **T_C lymfocyty** – CD8⁺, schopny „usmrtit“ cílovou buňku spuštěním apoptických procesů a cytotoxických mechanismů, reagují na antigeny předkládané APC v souvislosti s HLA I.
- **T_H lymfocyty** – CD4⁺, reagují na antigeny předkládané APC v souvislosti s HLA II.
 - **T_{H1} lymfocyty** – spolupracují s makrofágy a stimulují je k přeměně na aktivované; účastní se regulace zánětu (označovány za zánětlivé); podílí se na přecitlivělosti pozdního typu
 - **T_{H2} lymfocyty** – spolupracují s B lymfocyty; stimulují pomnožení daného klonu B lymfocytů a jejich diferenciaci do plazmatických buněk
- **T_{reg} lymfocyty** ~ **T_S lymfocyty** – nemají typický CD znak, pomáhají regulovat průběh imunitní reakce
- **NK buňky** – hlavní část cytotoxické buněčné imunity, morfologicky lymfocyty, nenesou ale CD3 a řadí se mezi složky přirozené imunity

T lymphocyty

Helper T-cell



Cytotoxic T-cell



TCR = T-cell receptor (interacts with specific antigen on disease-causing cell or virus or infected human cell)

Cytotoxické T lymfocyty

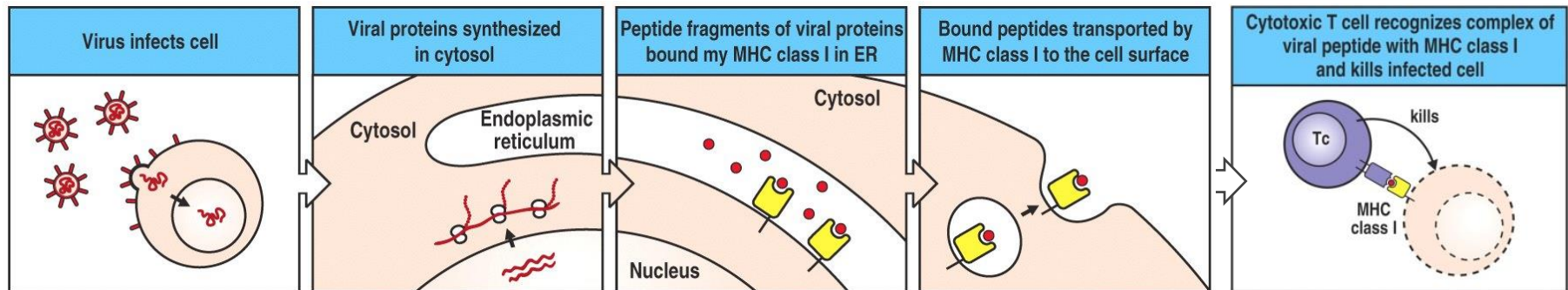
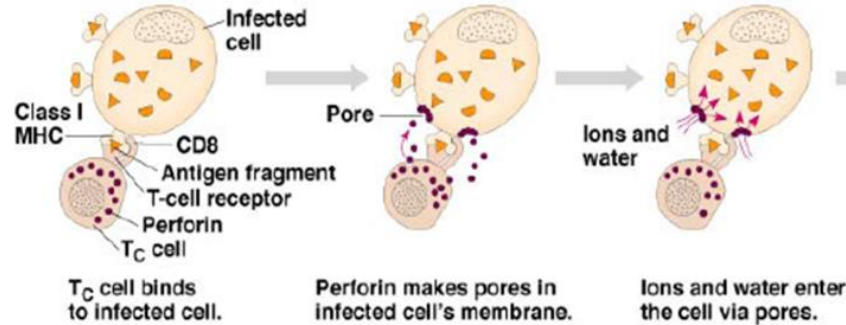


Figure 1-28 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Figure 1-30 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Cytotoxické mechanismy T_C

- **Perforiny a granzymy** – v cytoplazmě v cytotoxických granulích
 - po kontaktu buněk granuly migrují k plasmatické membráně → fúze granulí s membránou → degranulace → perforin tvoří póry
 1. póry samy o sobě způsobí smrt cílové buňky
 2. skrze póry migrují do cílové buňky granzymy, které aktivují v cílových buňkách kaspázy – indukce apoptózy



- **Fas-ligand (FasL)** – na povrchu T_C, váže se na apoptotický receptor Fas → apoptóza
- **Lymfotoxiny** – cytokiny (např. TNF-β) působící podobně jako FasL

NK buňky

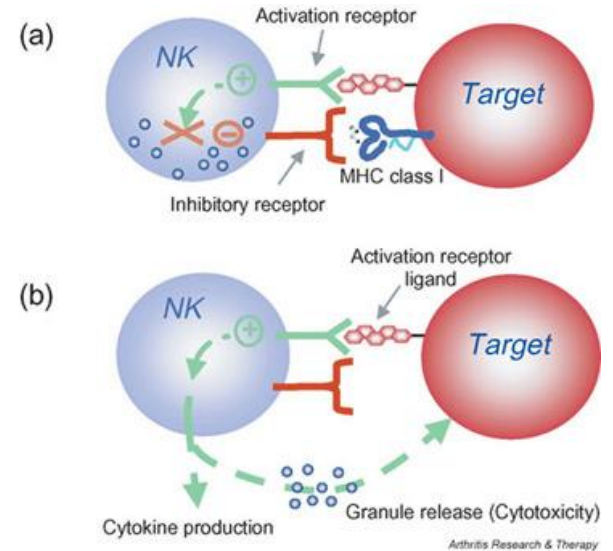
- heterogenní skupina buněk; nejvíc zastupeny tzv. velké granulózní lymfocyty (LGL)
- rozeznávají buňky, které mají na svém povrchu abnormálně málo nebo žádný MHC I (nádorové buňky, virem infikované buňky)
- nemají antigenně specifické receptory, ale receptory:
 - aktivační – rozpoznávají povrchové adhezivní molekuly = pozitivní signál
 - inhibiční – rozpoznávají MHC I molekuly



přítomnost MHC I = negativní signál => buňka není lyzována (a)

nepřítomnost (málo) MHC I = žádný signál => buňka je zlyzována (b)

- způsob zabíjení – podobý jakou cytotoxických T lymfocytů – uvolňují z granulí perforiny a granzymy cílené proti virem-infikovaným buňkám



T_{H1} lymphocyte

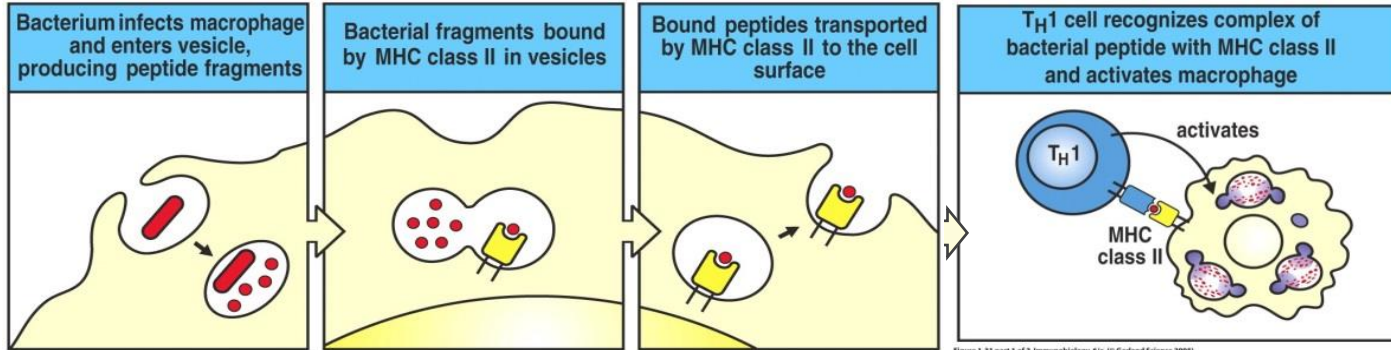
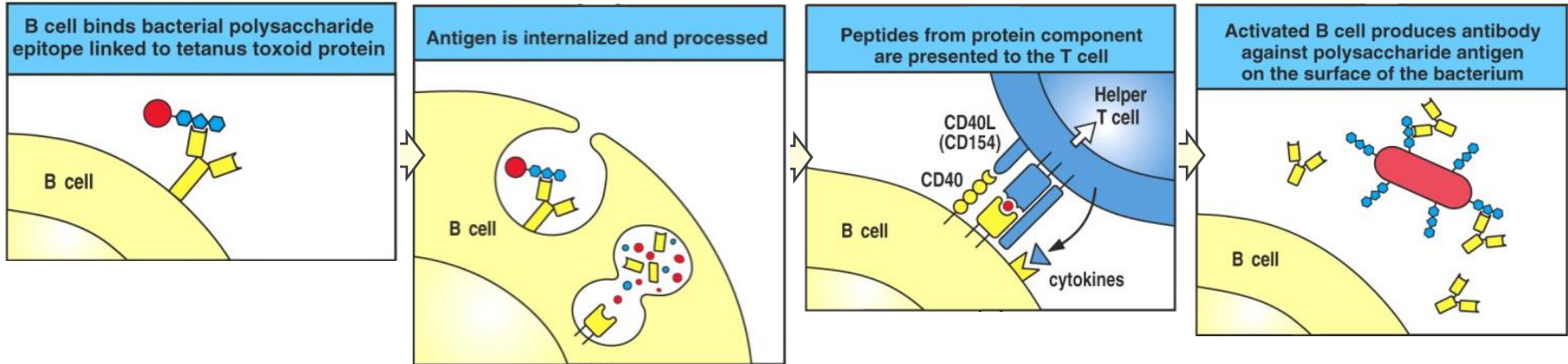


Figure 1-29 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Figure 1-31 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

T_{H2} lymphocyte



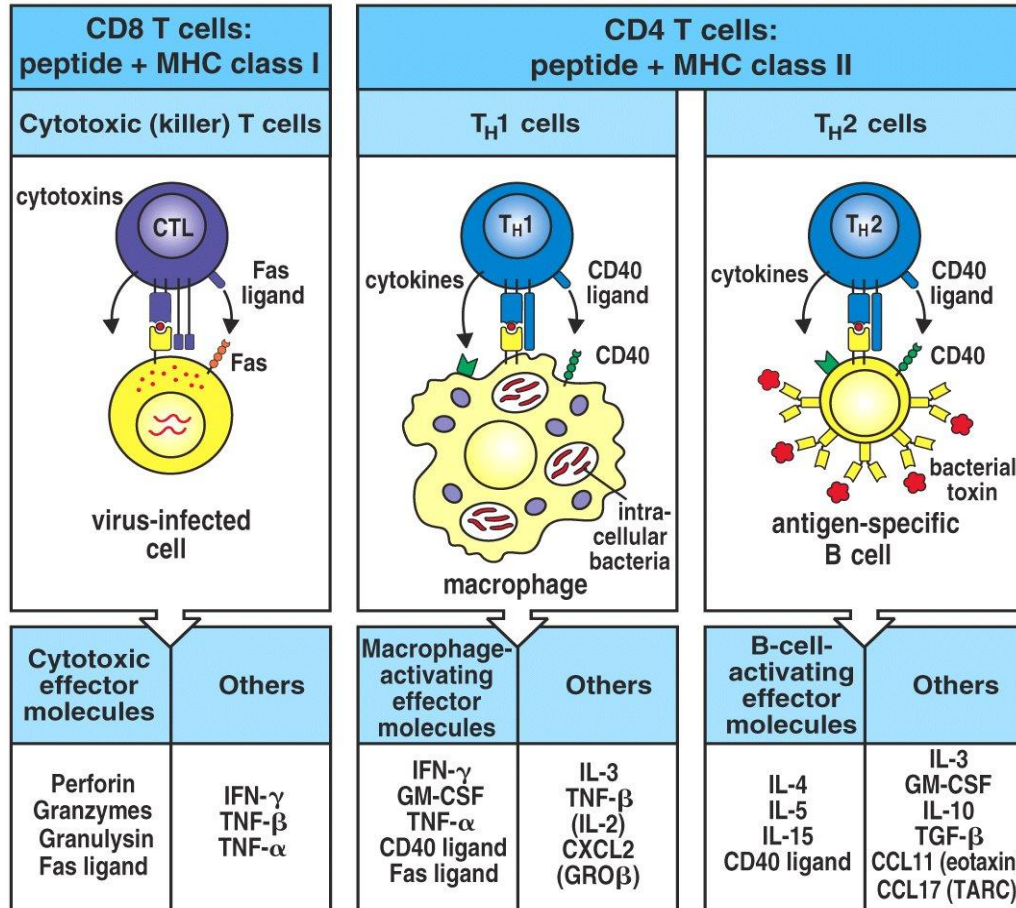
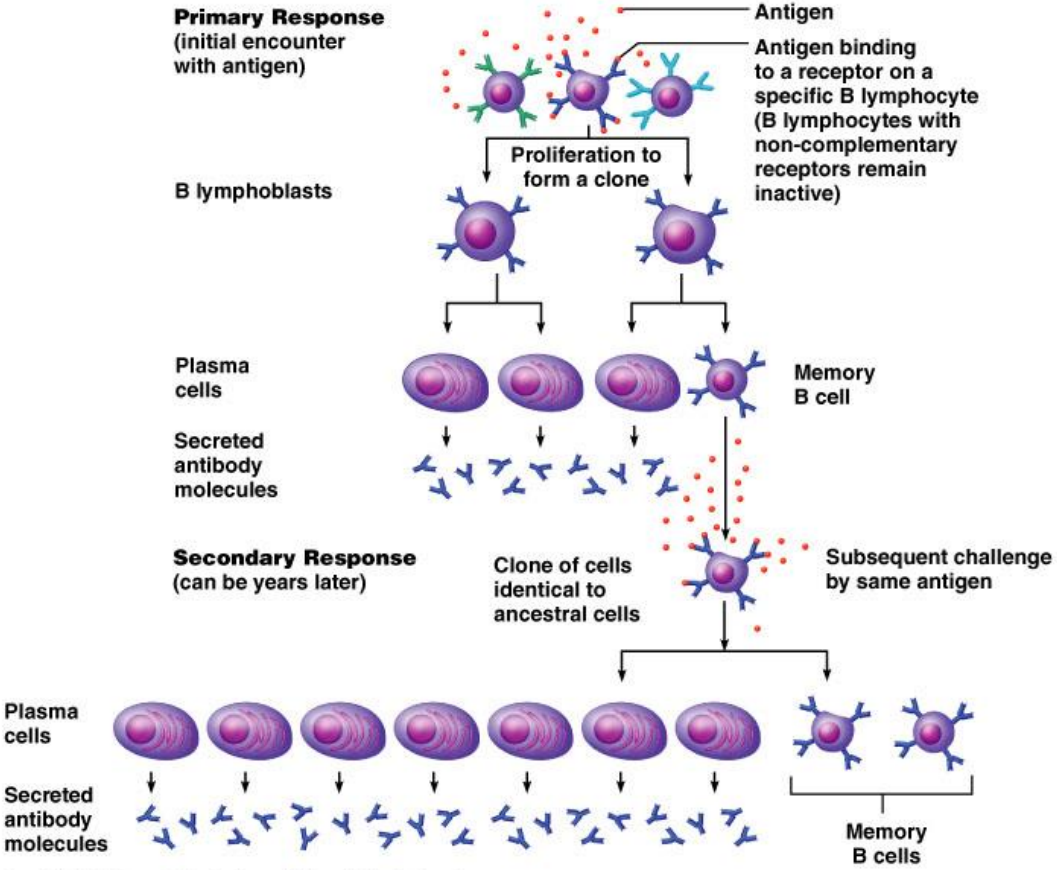
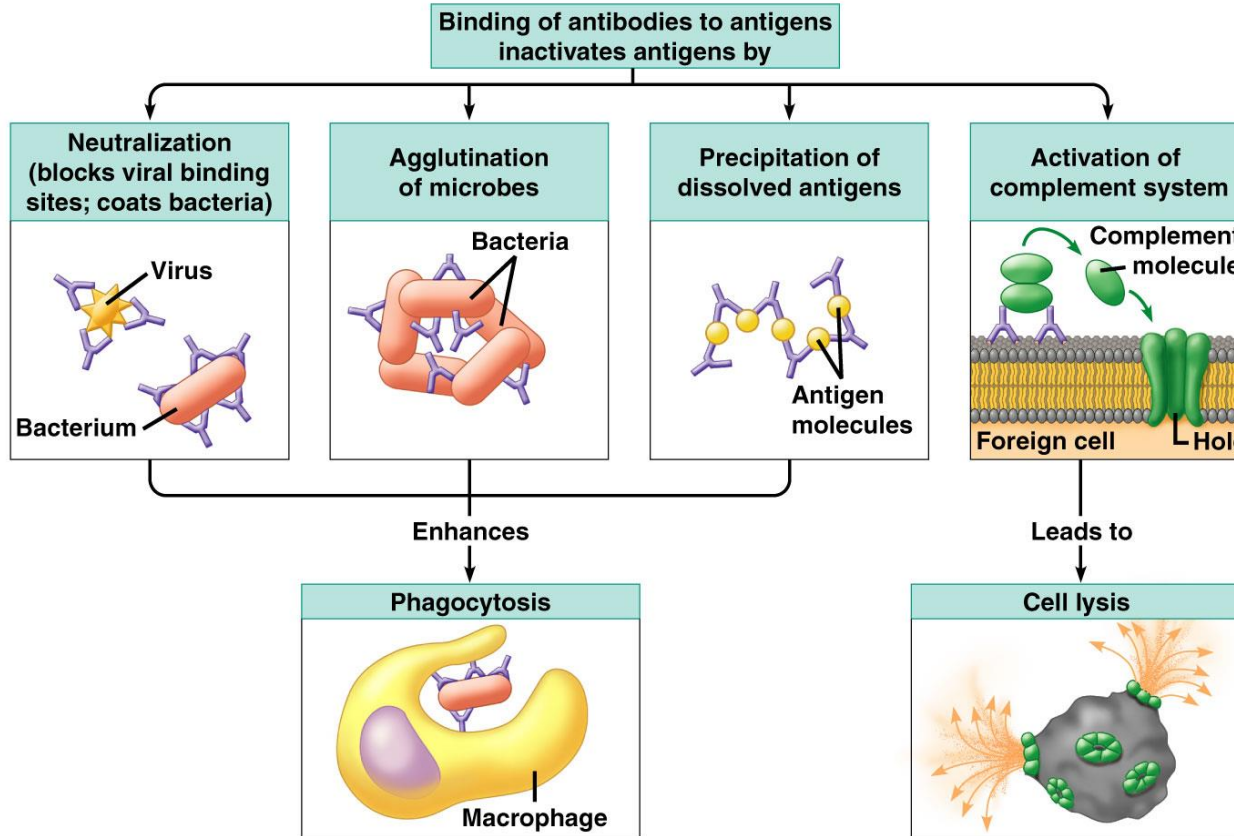


Figure 8-31 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

B lymphocyty



Role protilátek v organismu



Bazofily/žírné buňky



Vlastnosti

- charakteristický znak – vysokoafinitní receptor pro IgE (FcεRI)
- granula obsahují: histamin (vazodilatace, bronchokonstrikce), serotonin, hydrolytické enzymy, proteoglykany

Funkce

- obrana proti parazitům
- **×**
- při nadměrné aktivaci či reakci na neškodné patogeny => alergie, anafylaktický šok

Bazofily/žírné buňky – přecitlivělost časného typu

první kontakt s alergenem (mnohobuněčný parazit)



prezentace alergenu a diferenciaci T_{H2}; produkce IL-4 (i IL-13 a dalších cytokinů)



stimulace B Lymfocytů; IL-4 indukuje isotypový přesmyk a tvorbu IgE

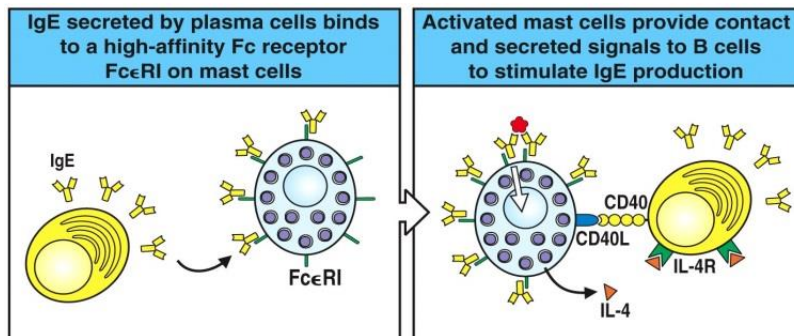


Figure 12-7 Immunobiology, 6/e, (© Garland Science 2005)



IgE se váže na vysokoafinitní receptory žírných buněk (i bazofilů a eosinofilů)

Bazofily/žírné buňky – přecitlivělost časného typu

další kontakt bazofilů/žírných buněk vybavenými vysokoafinitními Fc receptory s alergenem



multivalentní alergen přemostí IgE na povrchu buněk



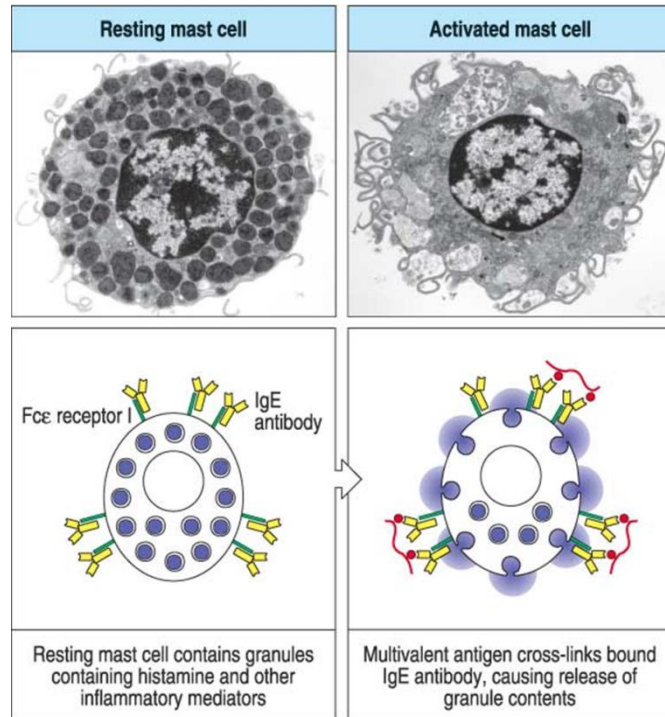
agregace receptorů = okamžité uvolnění mediátorů (histamin)
= **okamžitá alergická reakce** + tvorba IL-4 žírnými buňkami



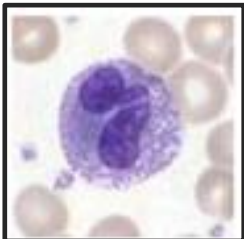
amplifikace celé reakce; související efekty, např. tvorba a sekrece metabolitů AA (PG, LT, TX) = **2. fáze alergické reakce**



imunopatologické reakce založené na IgE:
atopie, anafylaktický šok



Eozinofily – obrana proti mnohobuněčným parazitům



první kontakt s antigenem parazita



diferenciace T_{H2} lymfocytů a produkce IL-5



stimulace B lymfocytů; tvorba IgE



IgE se váže na vysokoafinitní receptory žírných buněk (i bazofilů a eosinofilů) a také „opsonizuje“ parazita

další kontakt s parazitem



agregace IgE receptorů,
uvolnění obsahu granulí



tvorba a sekrece metabolitů AA
(PG, LT, TX) = amplifikace reakce



diferenciace eosinofilů pod vlivem IL-5 a „snaha“
fagocytovat komplex parazita s IgE, vzhledem
k velkému povrchu ale parazita nelze



„frustrovaná fagocytóza“ = uvolnění obsahu granul
extracelulárně (snaha poškodit alespoň povrch
patogenu)

