

METODY FAGOCYTÓZY

- vyšetření zahrnuje:

krevní diferenciál - % zastoupení LEU

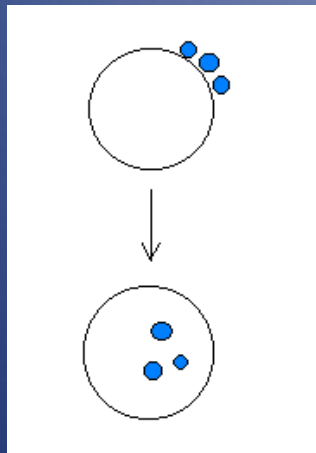
izolace LEU

stanovení funkce LEU

testy na sílu ADHEZE a INGESCE

A) test s metakrylátovými částicemi

LEU (popř. krev) + ⊙ MSHP /inertní metakrylátové částice/



na povrchové receptory fagocytu se naváží
MSHP

necháme kultivovat, barvíme

-počítá se: *fagocytární index (FI) a procenta fagocytózy (%F)*

FI = počet fagocytovaných částic na povrchu, uvnitř/

lomeno počtem *fagocytujících BB*

%F = počet *fagocytujících BB* / celkový počet *BB* x 100

B) test se škrobovými zrny

- Odstranění velkých částic centrifugací

-počítá se: fagocytární index (FI) a procenta fagocytózy (%F)

***FI = počet fagocytovaných částic na povrchu, uvnitř/
lomeno počtem fagocytujících BB***

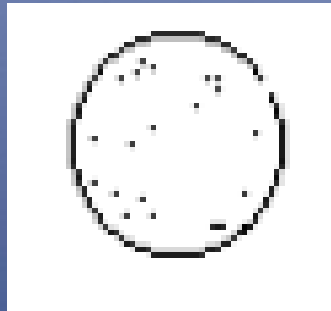
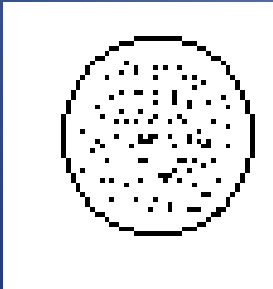
***%F = počet fagocytujících BB / celkový počet BB x
100***

- Testy na mikrobicidní aktivitu LEU

- **test na počet přeživších bakterií**

- *kultivace*

LEU+ ⊙ E. coli $\xrightarrow{\text{kultivace}}$ úbytek bakterií



-hodnocení:

- bakterie se vysejí na plotny
- spektrofotometricky, úbytek zákalu

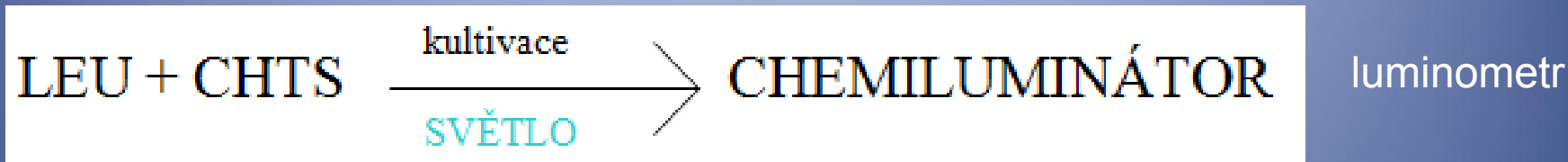
Testy na metabolickou aktivitu LEU, NBT test



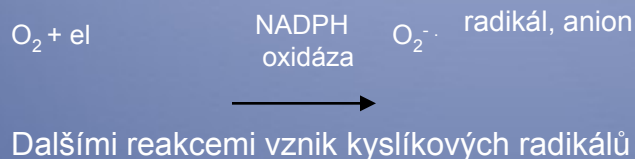
- hodnocení:** - pod vlivem CHTS při kultivaci dojde k **fagocytóze**, jejíž součástí je oxidativní vzplanutí
- Redukce vlivem oxidačních pochodů v buňce. **NBT nitroblue tetrazolium chlorid** bezbarvý se změní na *modrý formazán* – stanovení **SPEKTROFOTOMETREM**
 - Touto metodou se prokazuje hlavně schopnost fagocytů tvořit kyslíkové radikály aktivací NADPH oxidázy**

• CHEMILUMINISCENČNÍ test

pro kvantitativní hodnocení oxidativního vzplanutí



plus
luminol

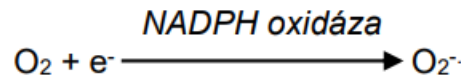


CHEMOTAKTICKÝ STIMUL

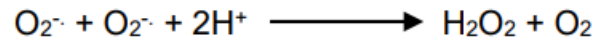
vnitřní – produkty vlastních BB – komplement, imunokomplex, IL, prostaglandiny

vnější – produkty ze stěn mikrobu – lipopolysacharid, GLP, manan

Vznikají elektronově excitované stavy, které emitují fotony. Emitované fotony zachycovány tzv. luminoforem (luminol, izoluminol nebo lucigenin), spontánní a aktivovaná CL (pomocí zymozanu), luminometr



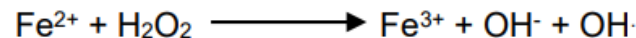
Vzniklý **superoxidový radikál** je základem pro celou řadu dalších RKM. V kyselém prostředí přímo generuje peroxid vodíku, v neutrálním nebo alkalickém prostředí je tato přeměna katalyzována **superoxid dismutázami** (SOD). V živočišných tkáních je vzhledem k pH častější katalyzovaná forma reakce, která je také výrazně rychlejší, ovšem ve fagolyzozomu je nízké pH a pravděpodobně zde reakce může běžet i bez katalýzy.



Peroxid vodíku je malá molekula, která může difundovat přes membrány, což zvyšuje jeho biologickou nebezpečnost. Zároveň je velmi reaktivní a může přímo oxidovat biomolekuly. Peroxid vodíku je také základem pro tvorbu dalšího vysoce reaktivního člena kyslíkových radikálů – **hydroxilového radikálu** (OH·).



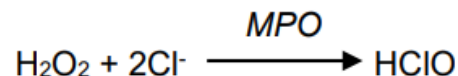
Hydroxilový radikál je velmi silný oxidant. Reakce, které na uvedeném oxidačně redukčním principu vedou k jeho vzniku, se nazývají **Fentonova reakce** a **Haber-Weisova reakce**. Podstatou Fentonovy reakce je dekompozice peroxidu vodíku v přítomnosti Fe^{2+} iontů.



Haber-Weisova reakce je založena na interakci peroxidu vodíku se superoxidovým aniontem katalyzované železnatými ionty.



Enzym **myeloperoxidáza** (MPO) je přítomen v azurofilních granulích neutrofilů a patří do skupiny peroxidáz - tedy enzymů, jejichž substrátem je peroxid. MPO katalyzuje tzv. myeloperoxidázovou reakci.



Metody fagocytózy

- **VYUŽITÍ v praxi :**

- zjištění : ■ **nedostatečnosti** či **poruch** jednotlivých fází fagocytózy

- ■ **aktivita fagocytů** u pacientů s opakovanými infekcemi, opakovanou léčbou antibiotiky, nádorovým onemocněním, artritidou či revmatoidními onemocněními, při zátěžových situacích