

# Vrozená imunita

Marcela Vlková

Ústav klinické imunologie a alergologie

LF MU

# ZÁKLADNÍ POJMY

# Imunitní systém

- **Funkční charakteristika:**
  - homeostáza, sebeudržování na úrovni molekulární výstavby organismu
  - schopnost rozpoznání a eliminace cizorodých a škodlivých látek z organismu
- **Morfologická charakteristika:**
  - lymfoidní, lymforetikulární systém
- **Integrální součást organismu**
  - propojení s metabolismem, endokrinním a nervovým systémem

# Základ imunitního systému

- Lymfatická tkáň a lymfatické orgány
- Buňky imunitního systému

# Složky imunitního systému

- Periferní oblasti imunitního systému je možno rozdělit do několika funkčních oblastí jejichž imunitní odpověď má určité odlišné charakteristiky.
- Základní složky imunitního systému:
  - Kostní dřeň, tymus
  - Lymfatické uzliny a slezina
  - Imunitní systém sliznic
  - Kožní imunitní systém
  - Lymfatický cévní systém

# Mízní cévy

- Jsou přítomny téměř ve všech tkáních těla.
- Nebyly nalezeny v avaskulárních strukturách, jako jsou vlasy, nehty, epidermis, rohovka, sklivec a čočka a některé druhy chrupavky.
- Dále nebyly nalezeny v nervové tkáni, kostní dřeni a v nitru jaterního lalůčku.

# Míza, lymfa

- Lymfa (míza) - nažloutlá tekutina kolující v lymfatickém systému
- Podobné složení jako krevní plazma. Lidské tělo obsahuje asi litr lymfy.
- Lymfa vzniká v prostotu mezi buňkami z tkáňového moku.
- Sbírá se do mízních vlásečnic tzv. lymfatických kapilár. Tyto kapiláry sbírají lymfu se všech částí těla, spojují se dohromady a postupně vytvářejí větší lymfatické cévy. Potom pokračuje dál širšími lymfatickými cévami, kde se pak ústí do lymfatických uzlin, které lymfu filtrují. Lymfatické cévy se postupně spojují do velkých lymfatických cév - mízovodů, kterými vtéká lymfa do krčních žil krevního oběhu.

# Míza, lymfa

- Pravý mízovod - ductus lymphaticus dexter -přivádí lymfu z horní poloviny pravé strany těla.
- Hrudní mízovod tzv. ductus thoracicus přivádí lymfu ze zbývajících částí těla. Tok krve do lymfatického systému zabraňují chlopně v ústích mízovodů.
- Hrudním mízovodem proteče do žil každou minutu 4-10 ml lymfy; během jednoho dne 60% objemu plazmy a 50% všech bílkovin.
- Lymfa pomáhá při přenosu živin do těla. Ve střevech je obrovský počet lymfatických cév, které sbírají malé kuličky tuku a odevzdávají je do krve cestou hrudního mízovodu.



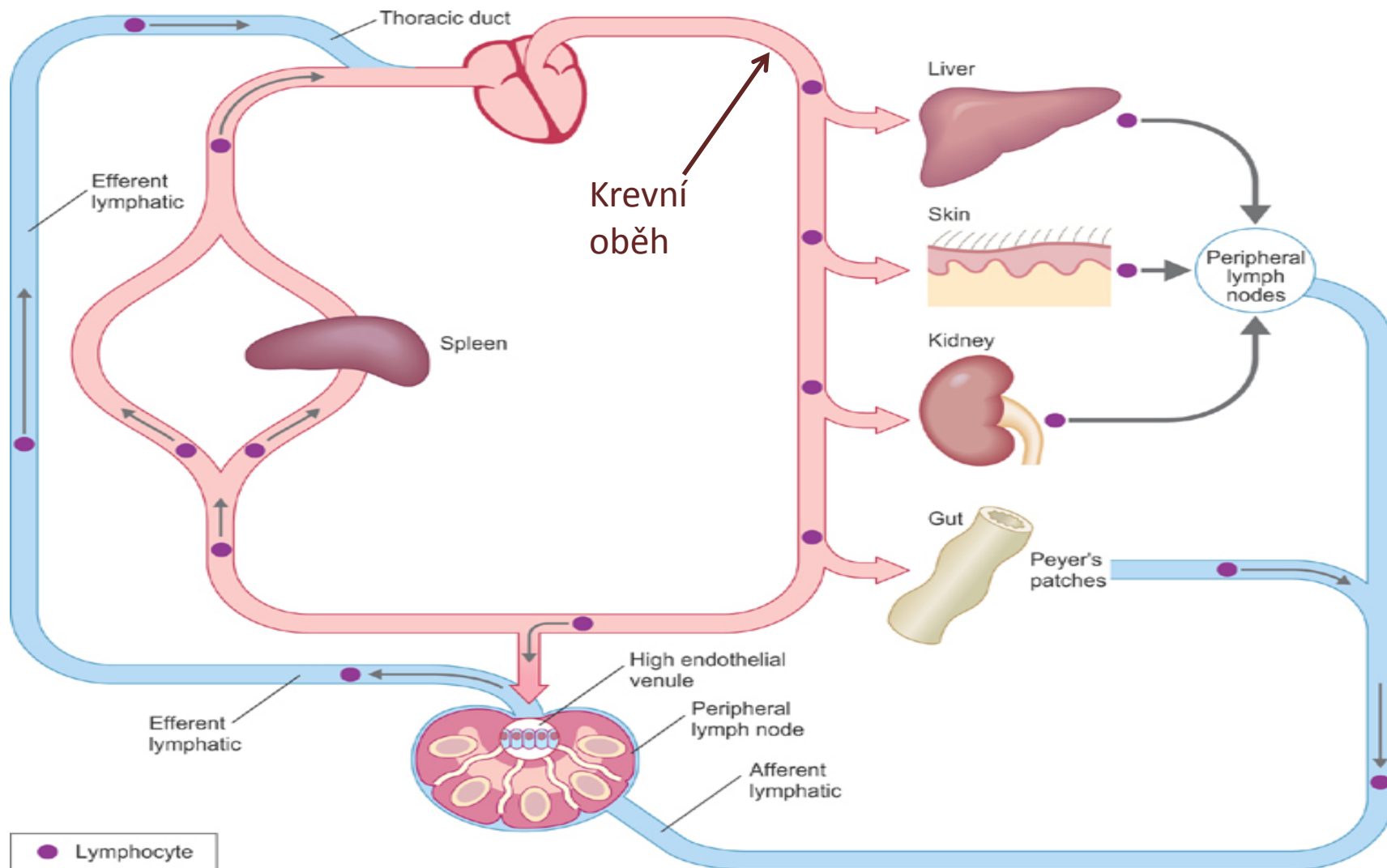
# Složení lymfy

- Je do určité míry podobné složení krevní plazmy, má 50- 70% bílkovin plasmy, obsahuje tuky a cholesterol, vitamíny rozpustné v tucích, které se vstřebávají v okolí trávicí soustavy. Dále obsahuje steroidní hormony, železo, měď a kalcium.
- Lymfa v kapilárách neobsahuje buňky; ty se do ní dostávají až po průchodu některou lymfatickou uzlinou. V ductus thoracicus má lymfa narůžovělou barvu, je kalná a obsahuje mnoho buněk.
- Má schopnost srážet se, podobně jako krev.
- 99 % jejích buněk tvoří lymfocyty - 95 % tvoří efektorové lymfocyty. Ostatní buňky jsou v lymfě ojedinělé.

# Složení lymfy

- Složení lymfy v cévách proměnlivé - závisí na jejich pozici.
- Lymfa z horních končetin je lymfa bohatá na bílkoviny.
- Lymfa ve střevech – chylus (střevní míza) – je bohatá na tuky, které se vstřebaly ze střeva během trávení. Tato lymfa je mléčné barvy.
- Klasická lymfa je vlastně světlá, téměř bezbarvá tekutina, již můžeme vidět například v puchýři.

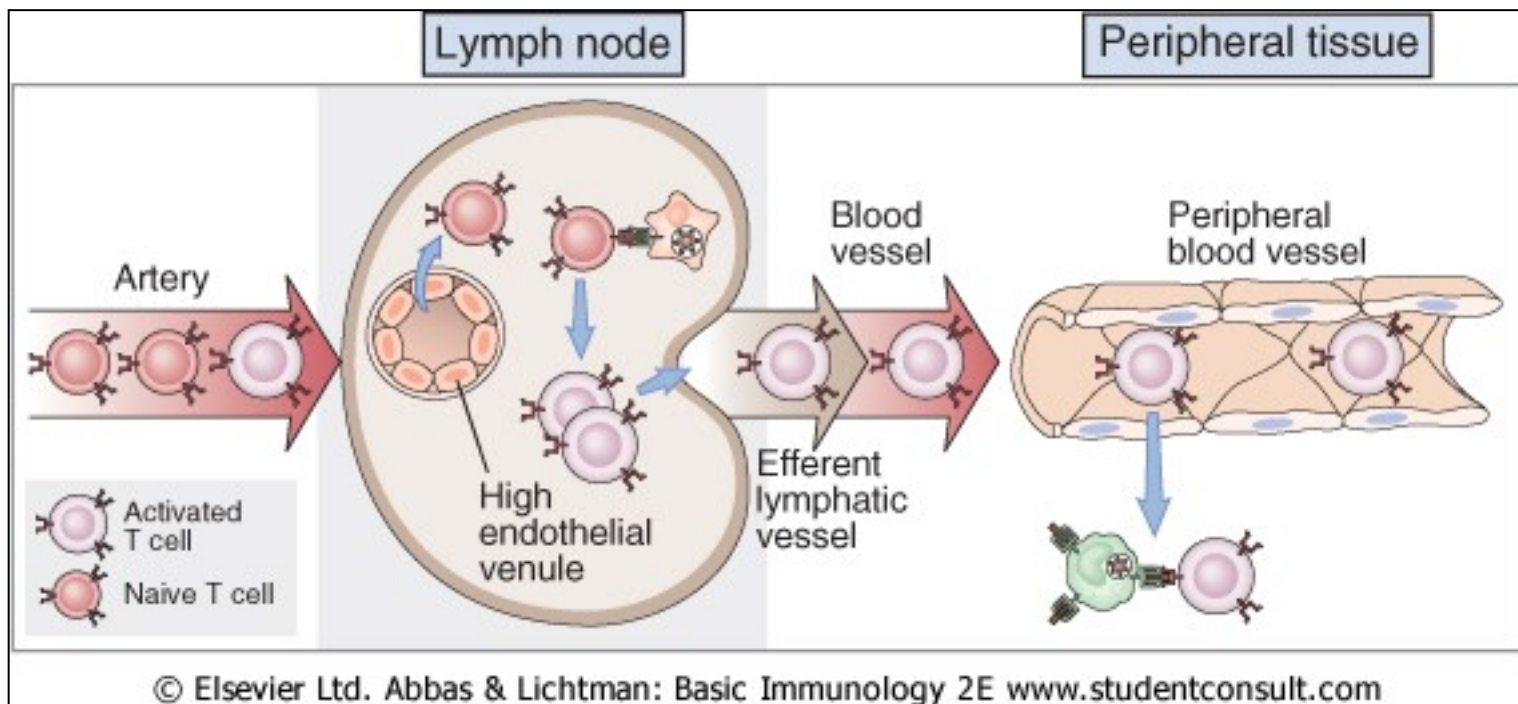
# Cesty lymfocytů v těle



# High endothelial venules

- Naivní T-lymfocyty: přestup do parenchymu uzlin nebo slizničního imunitního systému pomocí postkapilárních venul s vysokým endotelem.
- V těchto venulách jsou přítomny adhezivní molekuly, které umožňují vazbu naivních nebo paměťových neaktivovatných T-lymfocytů.

# Cirkulace lymfocytů



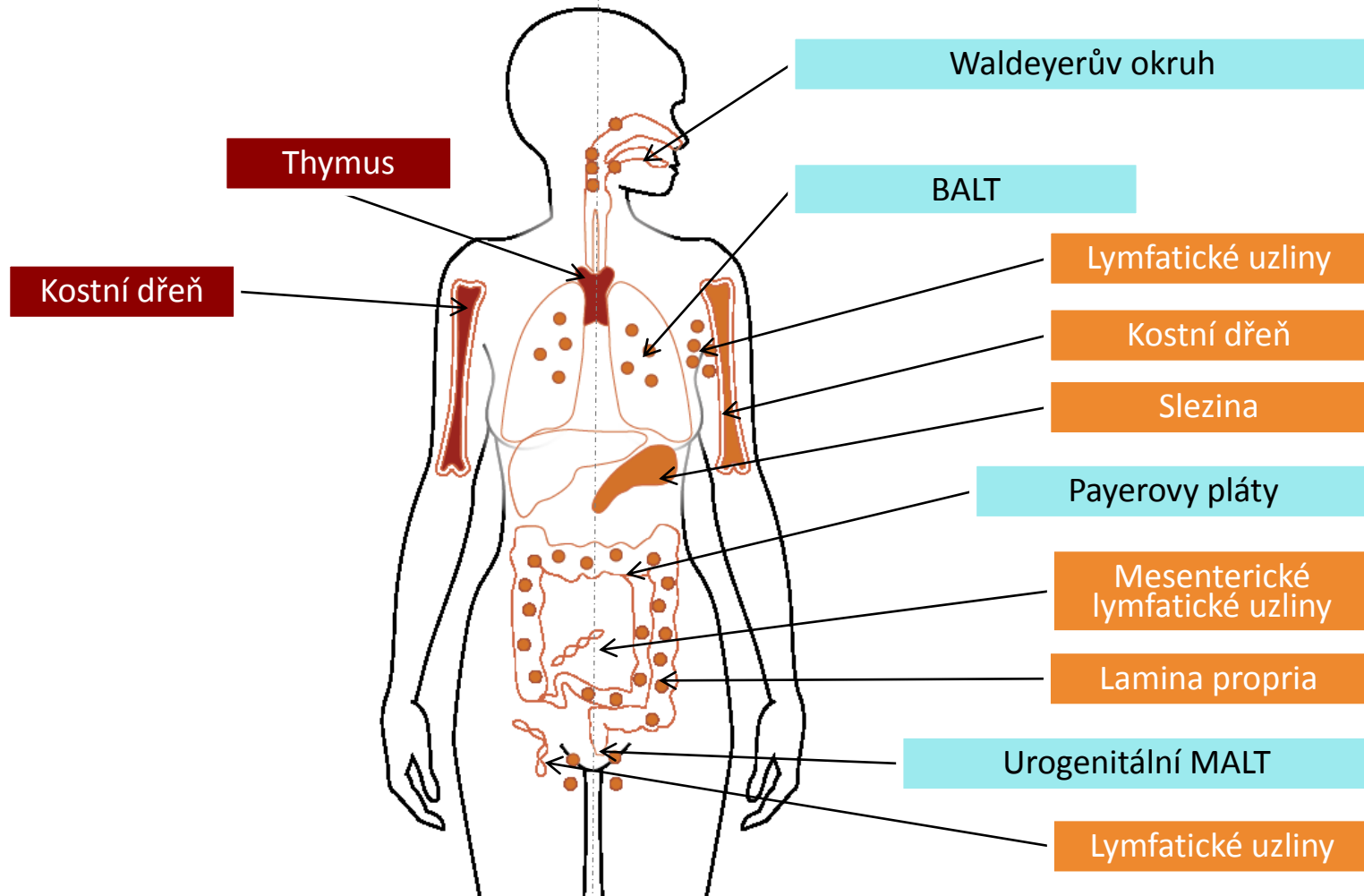
# Lymfatické orgány

- **Primární:** kostní dřeň, thymus
  - vznik, diferenciaci a zrání imunokompetentních buněk
- **Sekundární lymfatické orgány:** slezina, lymfatické uzliny, MALT
  - místo, kde probíhají specifické imunitní reakce

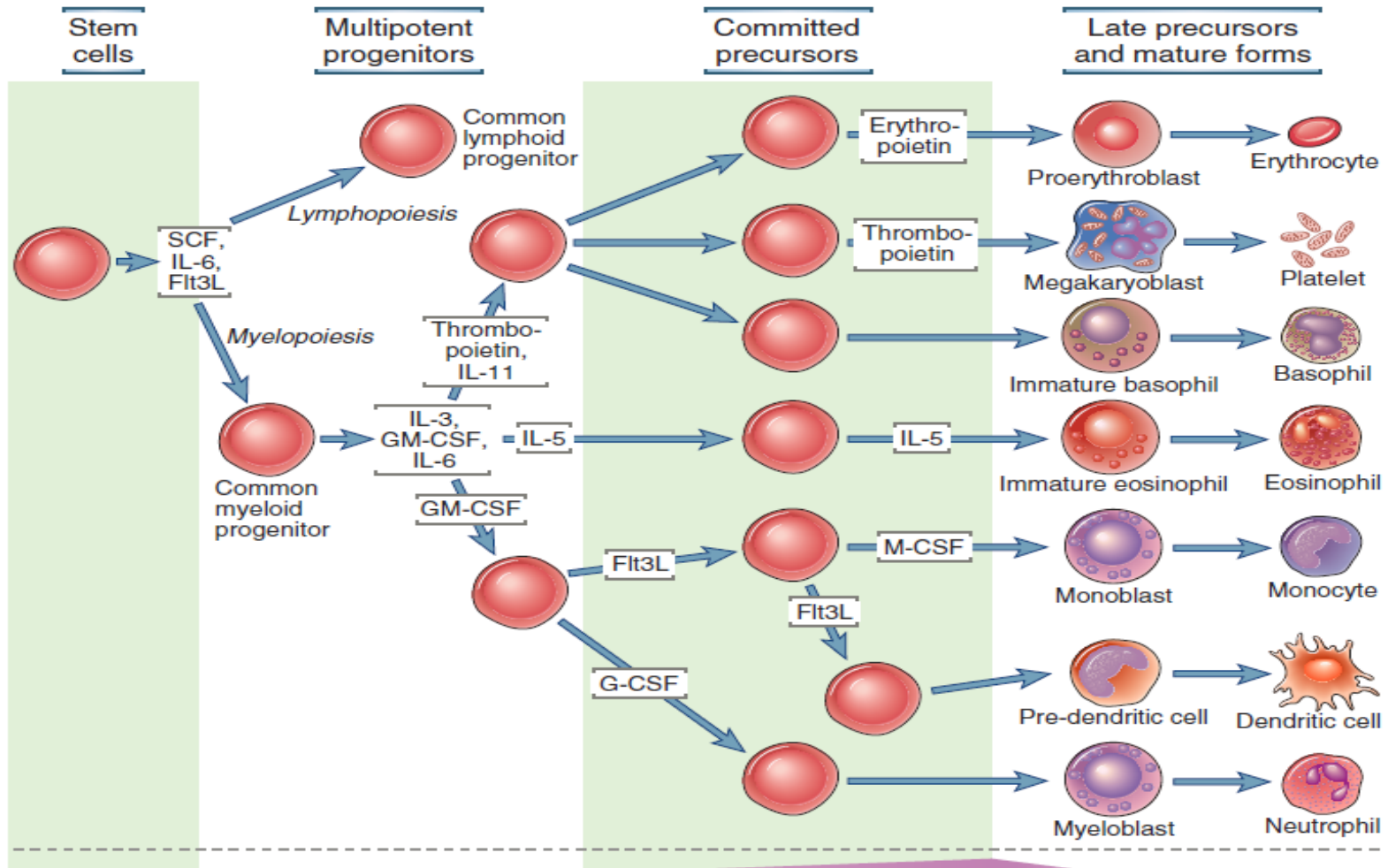
# Primární a sekundární lymfatické orgány

## Primární lymfatické orgány

## Sekundární lymfatické orgány



# Kostní dřeň - hematopoeza



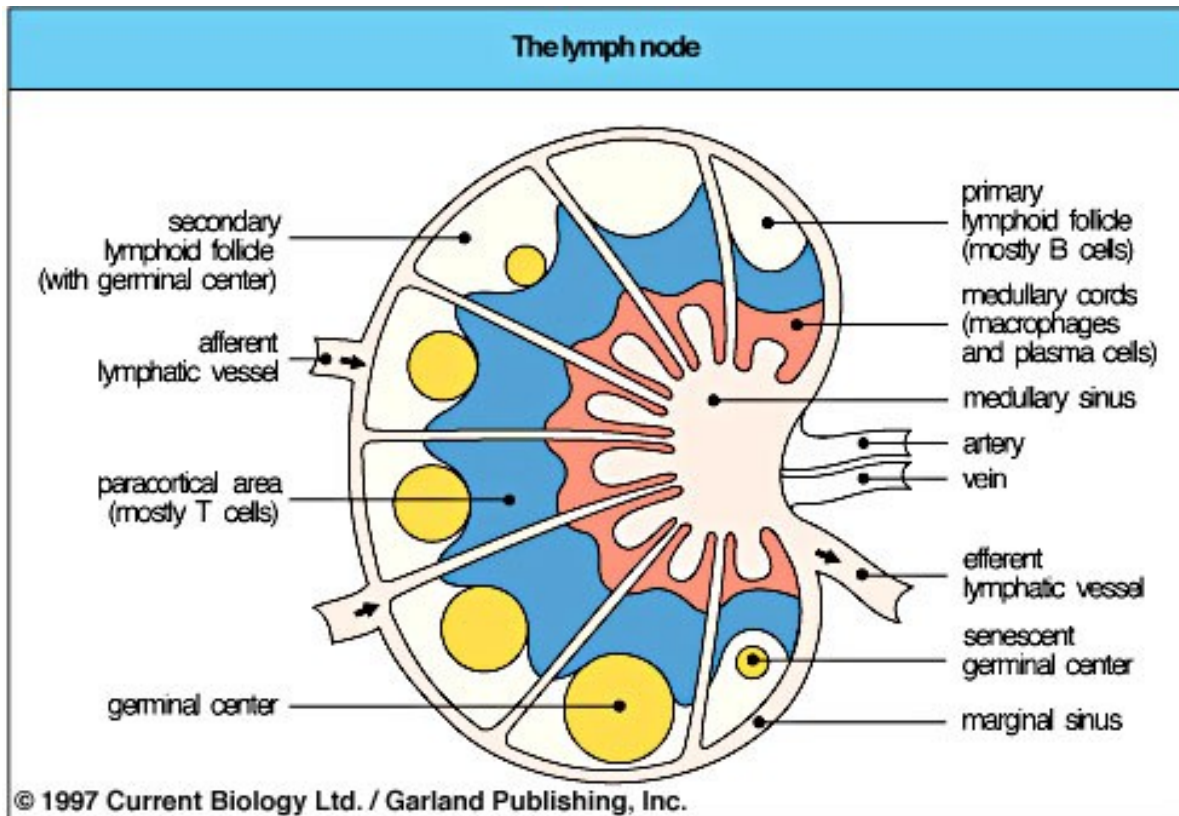


# Propojení lymfatických orgánů

- Lymfatické orgány – propojení s dalšími orgány těla pomocí lymfatických a krevních cév.
- Aferentní lymfatické cévy – přivádějí do uzlin lymfu a s ní Ag a antigen prezentující buňky.
- Eferentní lymfatické cévy – odvádějí lymfu a efektorové lymfocyty.
- Prokrvení uzliny zajišťují: arterie – vstup  
vény – výstup.
- Arterie přináší naivní lymfocyty do uzlin.

# Lymfatická uzlina

Místo, kde probíhají specifické imunitní reakce



# Vyšetření lymfatických uzlin

## Zvětšení lymfatických uzlin

v důsledku imunitní reakce na antigen

infiltrace zánětlivými buňkami (lymphadenitis)

infiltrace a proliferace maligních buněk

při imunologických (SLE, RA) a metabolických chorobách

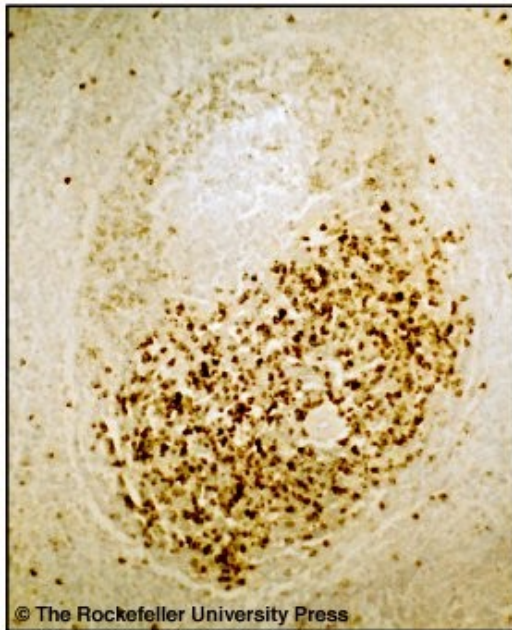
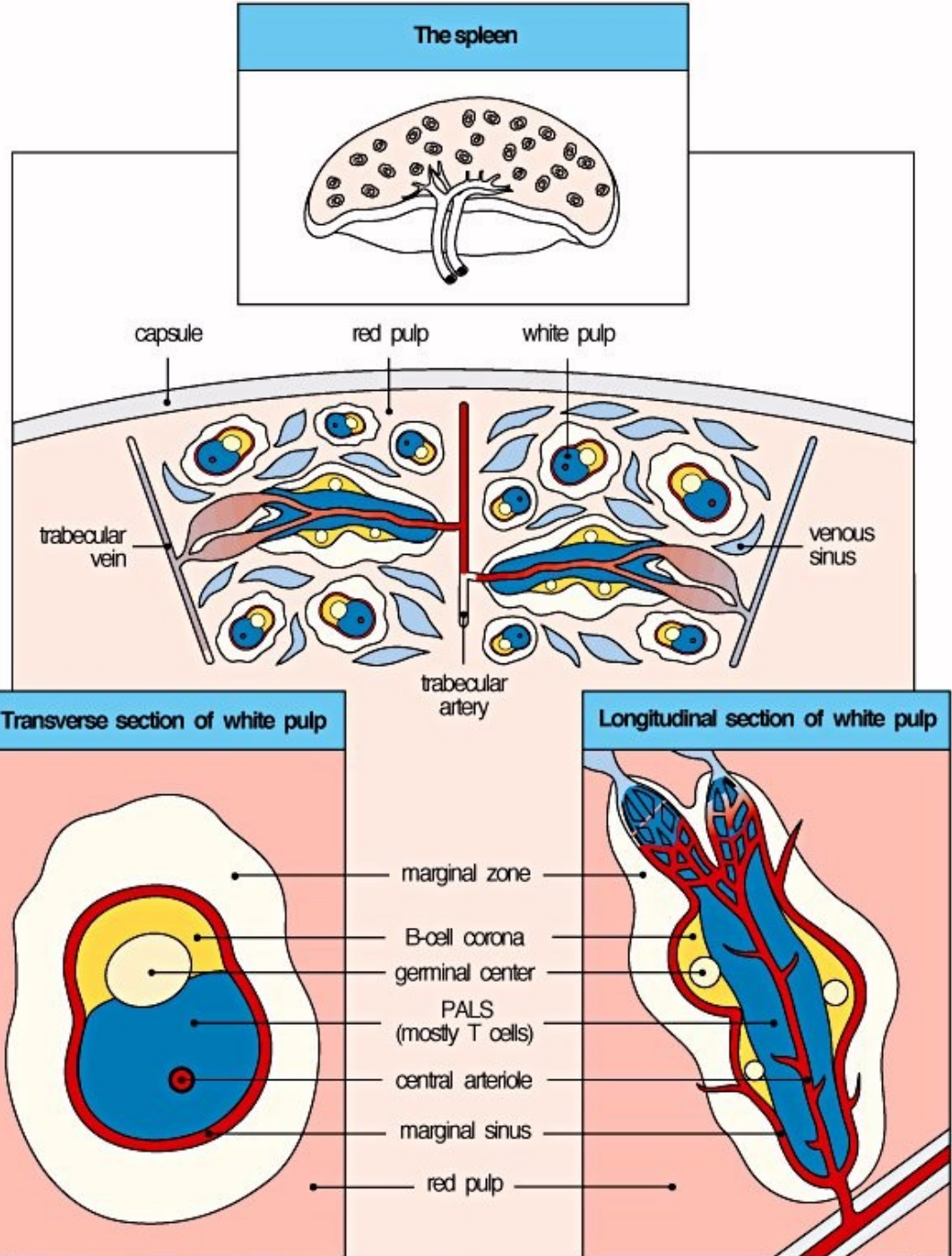
U zdravých dospělých osob bývají axilární a inguinální uzliny hmatné (v průměru 1 cm).

V dětství je reakce lymfatických uzlin běžná.

U dospělých do 30 let je asi 80% lymfadenopatií benigních, u osob nad 50 let jen asi 40%.

Diagnostický význam při infekci HIV

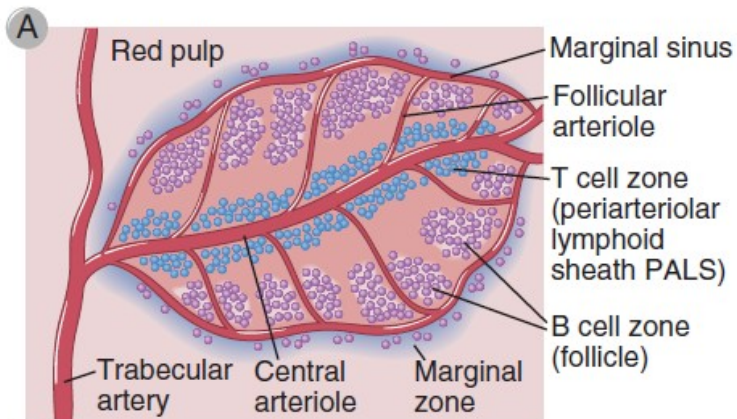
# Slezina



# Slezina

## Hlavní funkce

- Odstraňování starých a poškozených buněk a partikulí (imunokomplexy) z cirkulace.
- Iniciace adaptivní imunitní odpovědi na patogeny přenášené krví.



# Vyšetření sleziny

U zdravých osob slezinu nenahmatáme

**Hyposplenismus:** vrozená asplenie

stavy po splenektomii

*Význam vakcinace proti pneumokokům!*

**Splenomegalie:**

hyperplazie buněk imunitního systému (infekce)

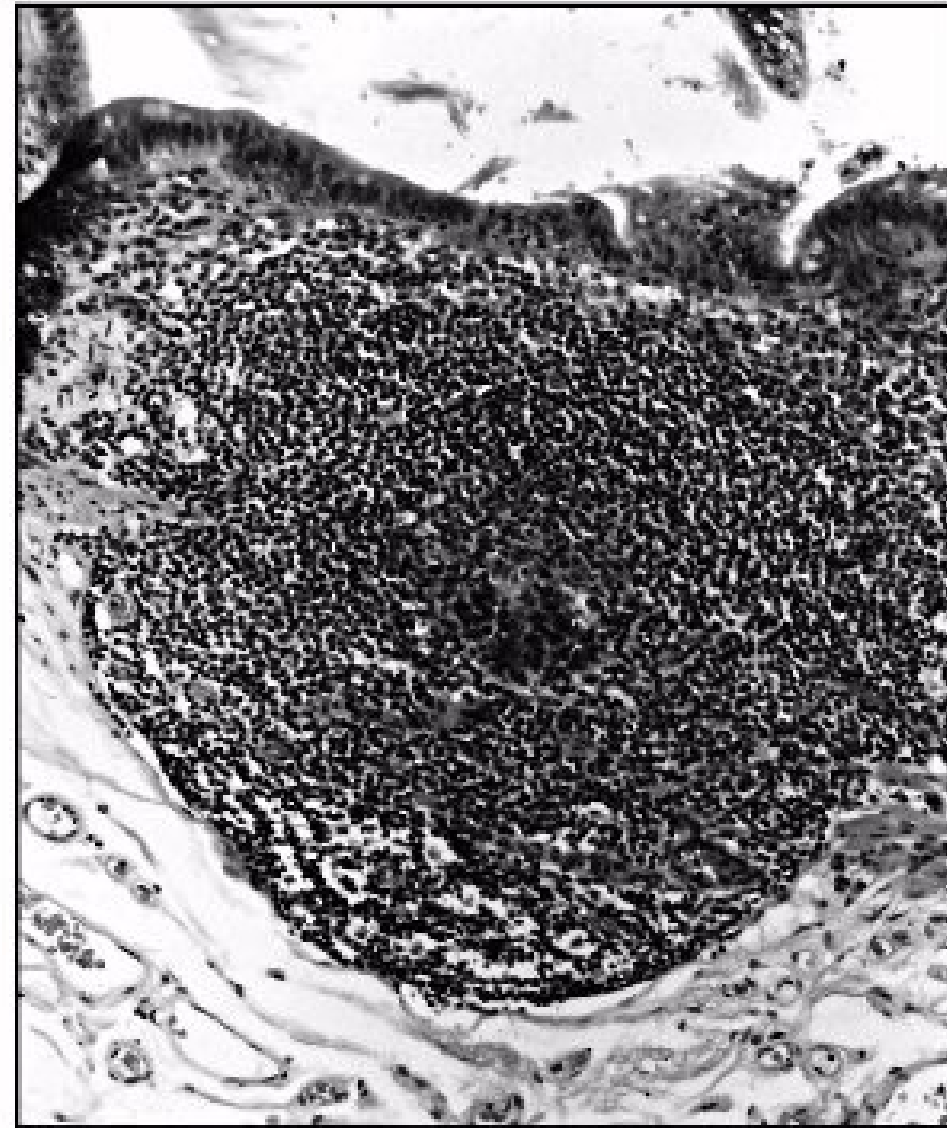
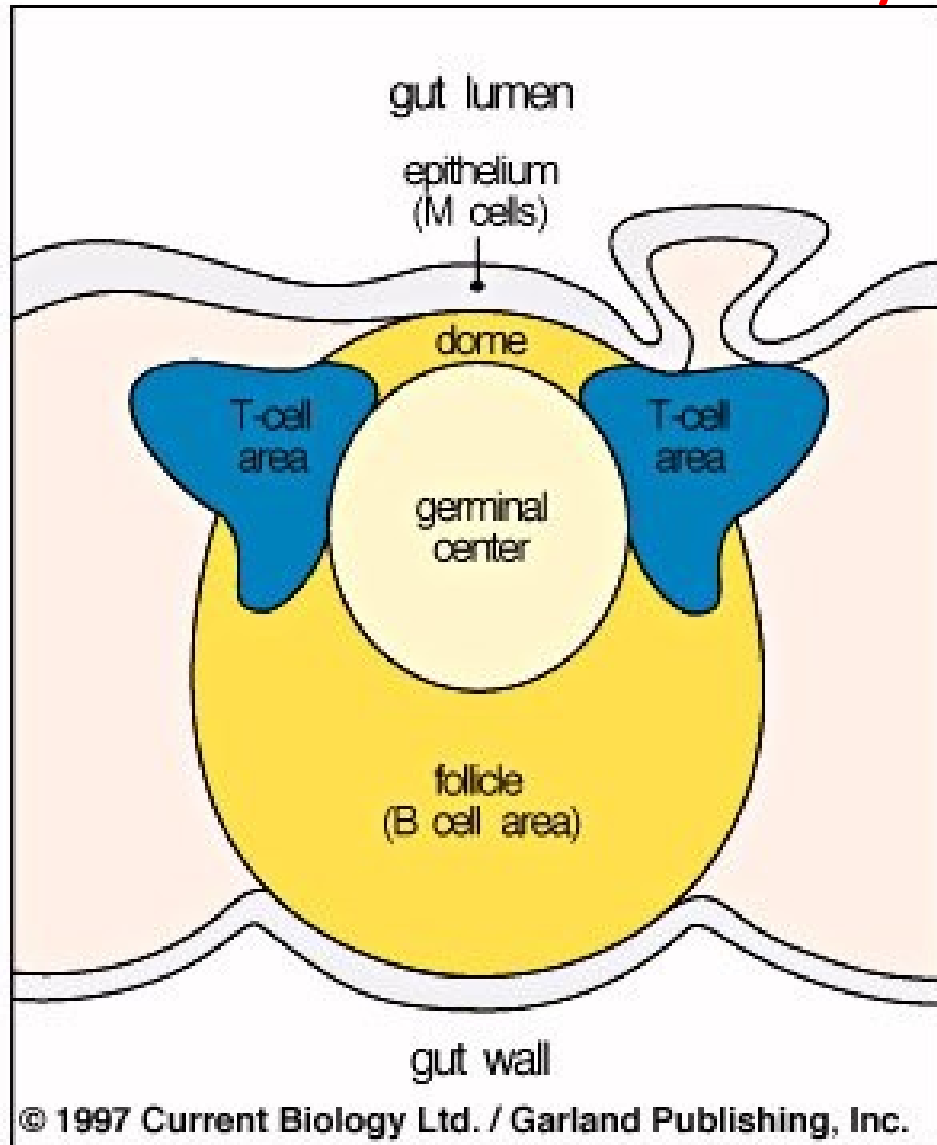
porušení průtoku krve (cirhóza jater, trombózy)

maligní procesy (primární i sekundární)

autoimunitní procesy (RA-Felty, SLE, hematol.)

extramedulární hematopoéza

# Mucosa-associated lymphoid tissues (MALT)



# Imunita

- **Vrozená** (přirozená, nespecifická, innate immunity)  
u všech mnohobuněčných organismů
- **Adaptivní** (získaná, specifická, adaptive immunity)  
až od obratlovců

---

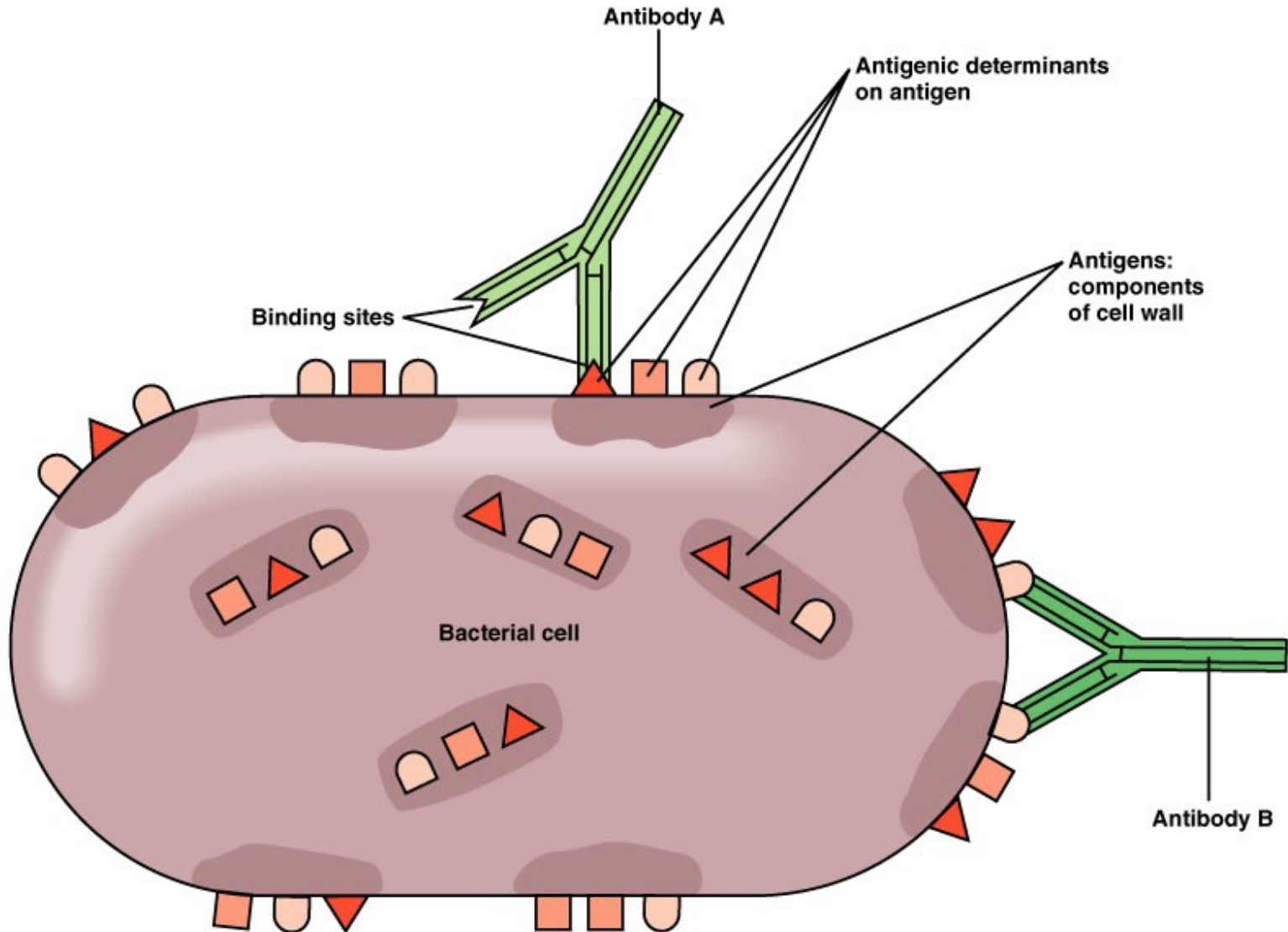
Adaptivní = vzniklý adaptací



# Antigen

- Látka, kterou rozezná imunitní systém a která vyvolává imunitní reakci
- Základní složení:
  - nosičská část molekuly
  - antigenní determinanty – epitopy, tvořené 5-7 aminokyselinami

# Vztah antigenu a epitopu



# Immunogennost

- Schopnost vyvolat imunitní reakci – musí:
  - být cizorodé
  - mít dostatečnou molekulovou hmotnost ( $> 6$  kDa)
  - mít komplexní strukturu
- Produkty imunitní reakce ( protilátky, T-lymfocyty) mají schopnost s Ag specificky reagovat

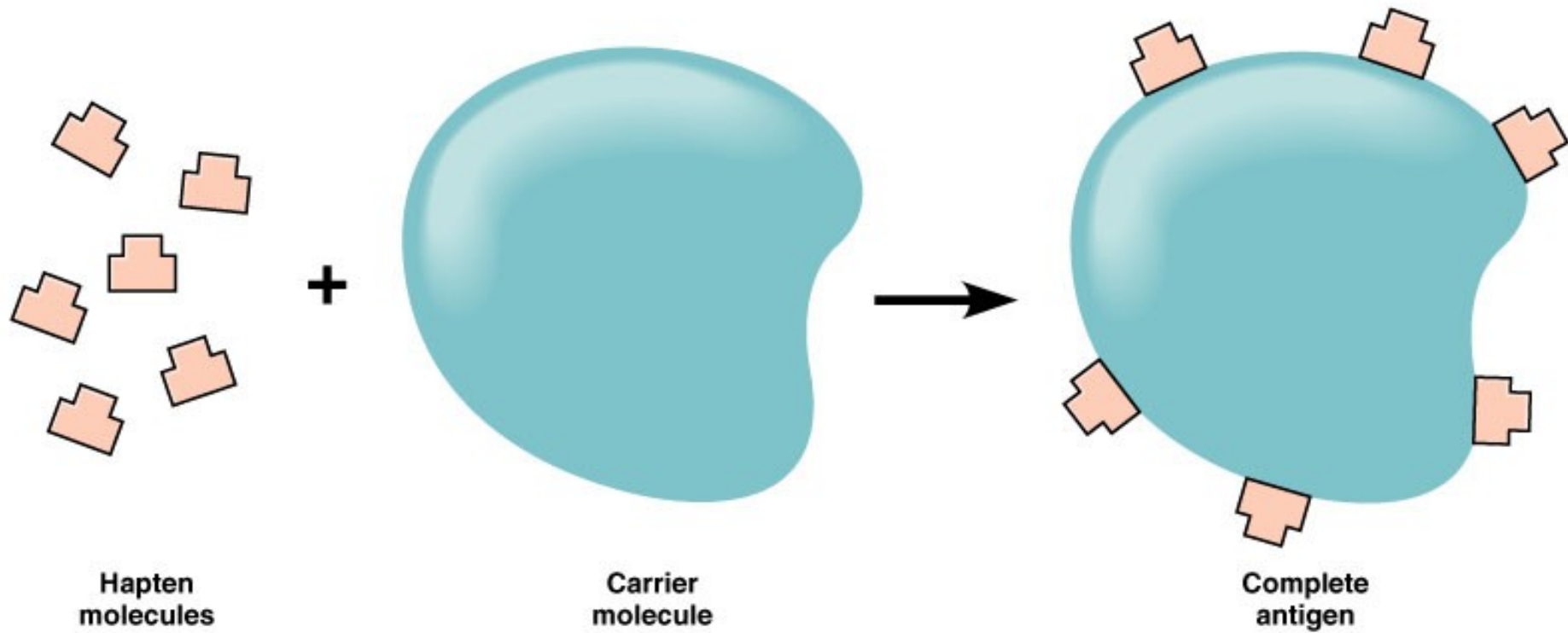
# Chemické složení antigenů

- **Proteiny** – obvykle výborné imunogeny.
- **Polysacharidy**- jsou dobrými imunogeny zejména jako součást glykoproteinů.
- **Nukleové kyseliny**- špatná imunogenicitá, vázána zejména na komplexy nukleových kyselin a proteinů.
- **Tuky** – velmi zřídka se uplatňují jako imunogeny. Nejznámější jsou sfingolipidy.

# Hapten

- Nízkomolekulární látky které vyvolávají imunitní reakci po vazbě na jiné vysokomolekulární látky.
- Mají schopnost s produkty imunitní reakce reagovat.
- Typickými hapteny jsou některé kovy, vyvolávají IV. (buněčný) typ přecitlivělosti, nebo léky způsobující I. (atopický) typ přecitlivělosti.

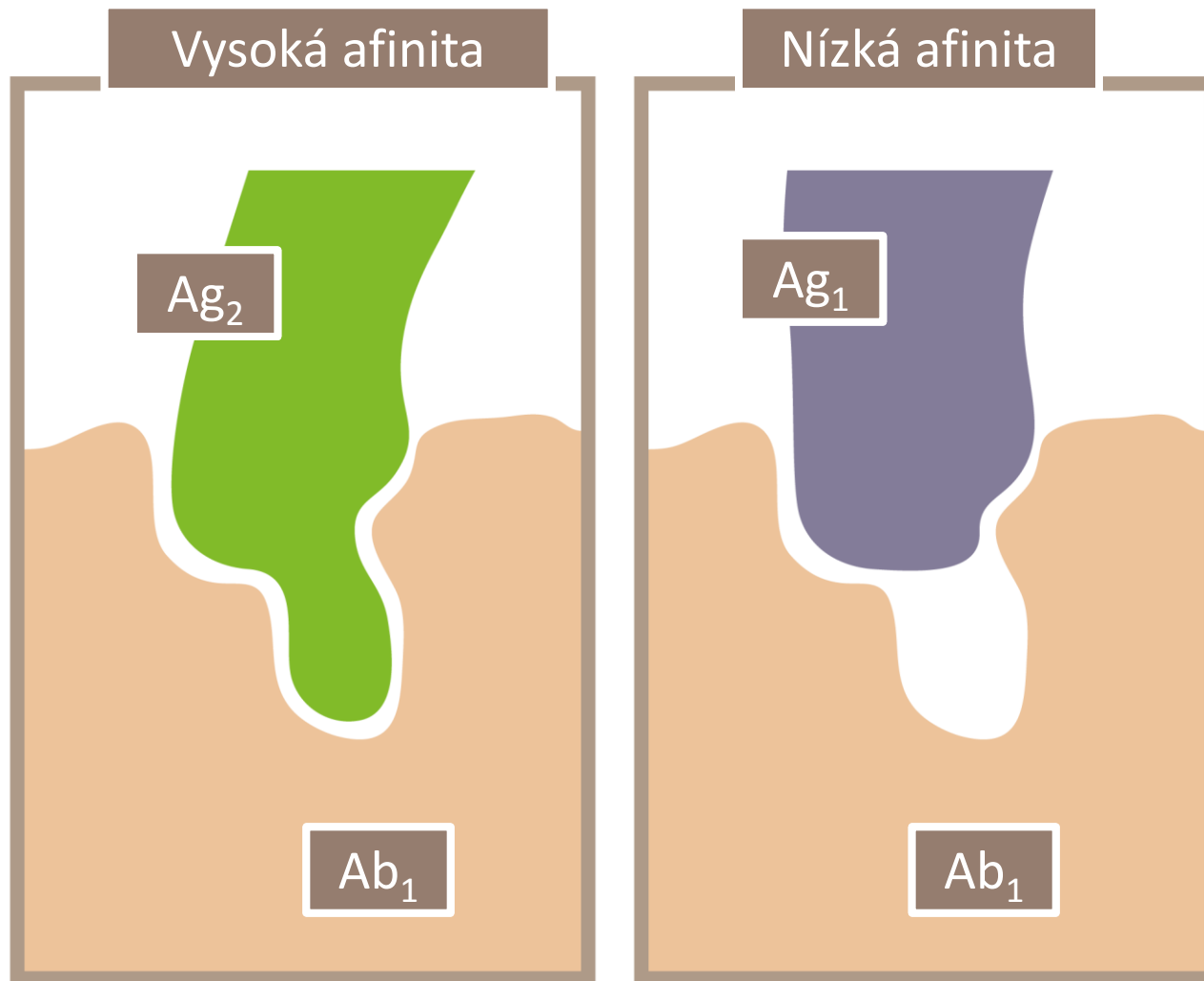
# Imunogenicitata haptenu



# Zkřížená reaktivita antigenů

- Při imunitní reakci může někdy dojít k reakci s jinou látkou, než tou, která reakci původně způsobila.
- Je to dáno imunologickou podobností obou látek, ale nemusí se jednat o podobnost chemickou.
- Zkřížená reaktivita se uplatňuje zejména v patogenezi imunitních chorob.

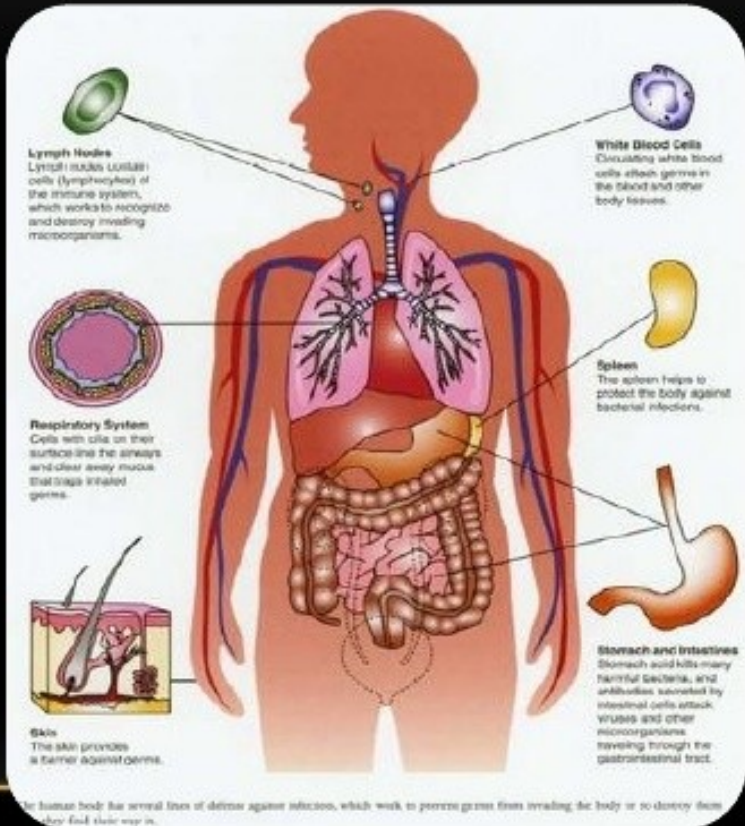
# Zkřížená reaktivita antigenů



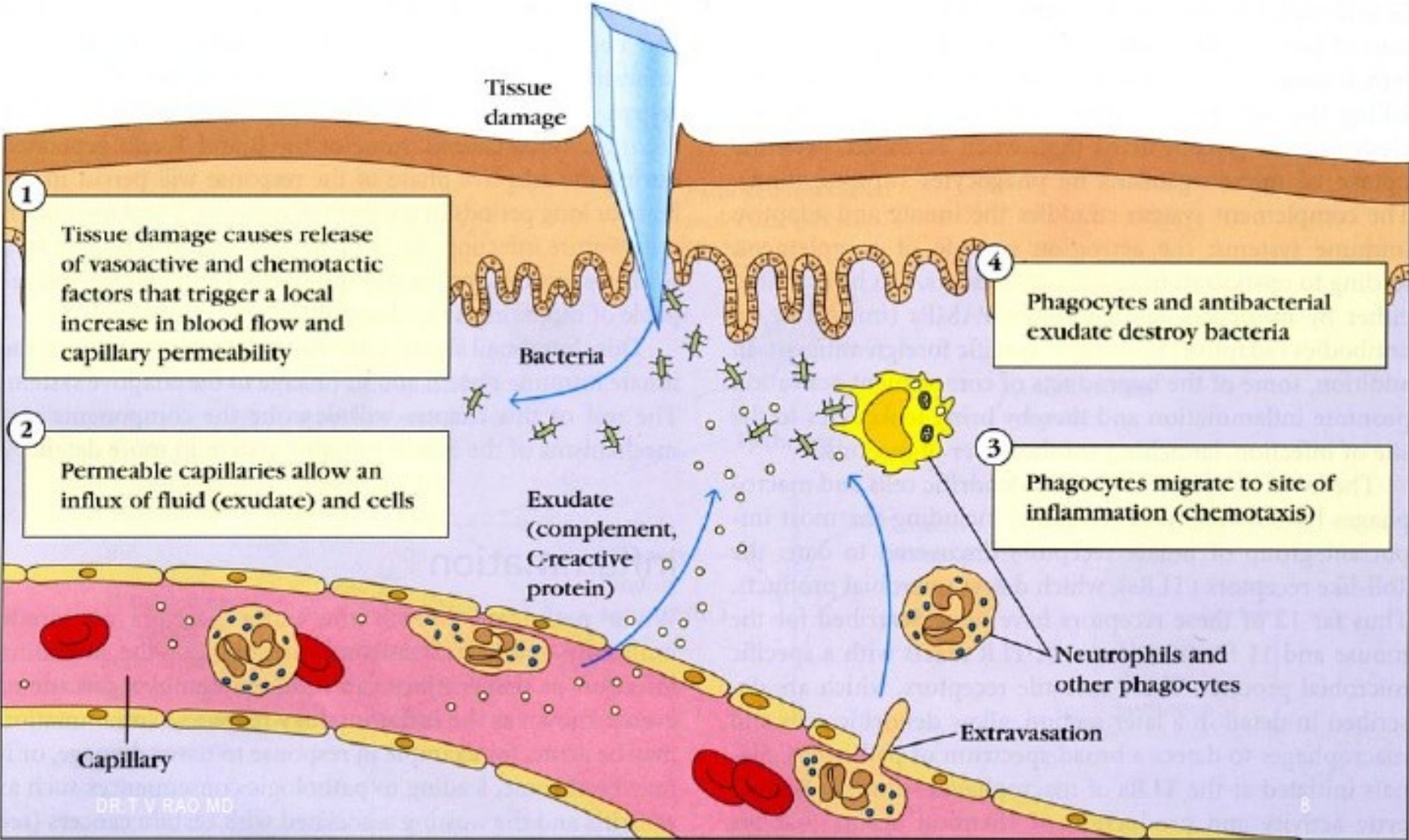


# THE IMMUNE SYSTEM

Infection of the human body by pathogenic microorganisms such as bacteria, viruses, parasites or fungi triggers the immune response. It occurs in a two-step process: **innate immunity halts the infection, and adaptive immunity subsequently clears it.**



# IMUNITA VROZENÁ



# Vrozená imunita

## **Fyzikální bariéry:**

Kůže

Sliznice

Respirační trakt

Močový trakt

# Vrozená imunita

## **Chemické bariéry:**

pH (kůže 5,5, žaludek 1-3, vagina 4,5)

mikrobicidní substance

(lysozym, defensiny, cathelicidiny...)

# Antimikrobiální peptidy

- Endogenní antibiotika.
- Charakterizováno asi 20 různých proteinů.
- Tvořeny keratinocyty, mastocyty, buňkami ekrinních žláz, ale též neutrofilními granulocyty a buňkami NK.
- Spouštějí a koordinují aktivitu řady složek vrozeného a adaptivního imunitního systému („alarminy“).
- zajišťují integritu a růst epitelu, podporují angiogenézi.

# Antimikrobiální peptidy v residentních kožních buňkách

<b>cathelicidiny</b> (hCAP18/LL 37)	keratinocyty
<b>b - defensiny</b> (HBD - 2, HBD - 3)	keratinocyty
<b>dermcidiny</b> (DCD)	ekkrinní potní žlázy

Lysoszym - glykosidasa, která má baktericidní účinky a je schopna štěpit polysacharidové vazby mezi N-acetylglukosaminovými jednotkami a zbytky N-acetylmuramové kyseliny v buněčné stěně grampozitivních bakterií. Gramnegativní bakterie nejsou náchylné k enzymatickému působení lysozymu, protože peptidoglykanová vrstva je chráněná vnější membránou.

# Vrozená imunita

## **Biologické bariéry**

Mikroorganismy fyziologické mikroflóry  
(komensální mikroorganismy)



# Nespecifická imunitní odpověď

- Pokud Ag pronikne přes fyzikální, chemickou a mikrobiální bariéru – dochází k rozvoji nespecifické imunitní odpovědi.
- Nespecifická imunitní odpověď se rozvíjí v řádu minut v po vazbě Ag na tzv. pattern recognition receptory – PRR.
- PRR jsou přítomny na buňkách přirozené imunity, ale mohou být i humorální.

# Vrozená imunita: charakteristické rysy

## **PRR - Specifičnost:**

Jsou rozeznávány struktury, které jsou stejné u řady cizorodých agens (u mikroorganismů jsou to tzv. „pathogen associated molecular pattern“, **PAMP**, např. v lipopolysacharidech nebo peptidoglykanech).

Adaptivní imunitní systém naproti tomu poznává a odlišuje epitopy antigenů (T-, B-)

# PAMP „ Pathogen Associated Molecular Pattern“

- Patogenem asociované molekulové vzory.
- Vysoce konzervované struktury přítomny na rozsáhlých skupinách mikroorganismů, jsou esenciální pro jejich životní funkce.
- Nevyskytují se na hostiteli.
- Peptidoglykany, kyselina lipoteichová, lipopolysacharid bakteriální manany, glukany,
- Bakteriální sekvence DNA tvořené cytosinem a guaninem (CpG) a dvoušroubovicovou DNA.

# DAMP „Damage Associated Molecular Patterns“

- Vznikají při poškození infekcí, zánětem, chemickými toxiny, trauma, snížené krevní zásobování.
- Nesouvisí s buňkami v apoptóze.

# PAMPs and DAMPs

<b>TABLE 4–2 Examples of PAMPs and DAMPs</b>		
<b>Pathogen-Associated Molecular Patterns</b>		<b>Microbe Type</b>
Nucleic acids	ssRNA dsRNA CpG	Virus Virus Virus, bacteria
Proteins	Pilin Flagellin	Bacteria Bacteria
Cell wall lipids	LPS Lipoteichoic acid	Gram-negative bacteria Gram-positive bacteria
Carbohydrates	Mannan Dectin glucans	Fungi, bacteria Fungi
<b>Damage-Associated Molecular Patterns</b>		
Stress-induced proteins	HSPs	
Crystals	Monosodium urate	
Nuclear proteins	HMGB1	
CpG, cytidine-guanine dinucleotide; dsRNA, double-stranded RNA; HMGB1, high-mobility group box 1; HSPs, heat shock proteins; LPS, lipopolysaccharide; ssRNA, single-stranded RNA.		

# PRR- Pattern Recognition Receptors

- Identifikace PAMP a solubilních složek imunity.
- Exprese receptorů není klonální – receptory přítomné na stejném typu buněk mají stejnou identitu.
- Připraveny okamžitě reagovat – není potřeba proliferace – rychlá odpověď.
- Schopny diskriminace mezi patogenními a nepatogenními mikroorganismy.

# Vrozená imunita: charakteristické rysy

## Rozsah repertoáru:

Poznávací schopnost PRR je omezená, odhaduje se na cca  $10^3$  „molekulárních vzorců“, zatímco adaptivní imunitní systém je schopen odlišit (TCR, BCR lymfocytů) více než  $10^{7-8}$  epitopů antigenů.

Kromě součástí mikroorganismů poznává vrozený imunitní systém také alterované buňky hostitele (prostřednictvím např. heat shock proteinů, membránových fosfolipidů, MHC).

# Receptory buněk přirozené imunity

## Tři funkce:

- Receptory pro fagocytózu stimulují pohlcení Ag.
- Chemotaktické receptory zajišťují postup fagocytujících buněk do místa zánětu.
- Stimulují produkci efektorových molekul a cytokinů, které pomáhají rozvoji přirozené imunitní odpovědi a následně i adaptivní imunitní odpovědi.



# PRR- Pattern Recognition Receptors

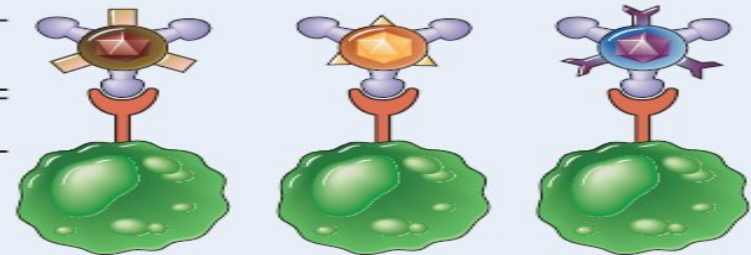
## Innate Immunity

**Specificity**

For structures shared by classes of microbes (pathogen-associated molecular patterns)

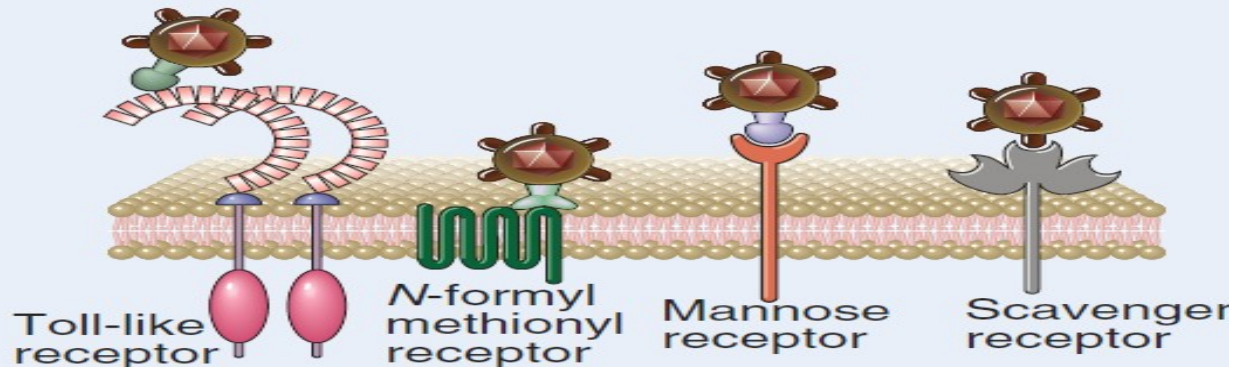
Different microbes

Identical mannose receptors



**Receptors**

Encoded in germline; limited diversity (pattern recognition receptors)



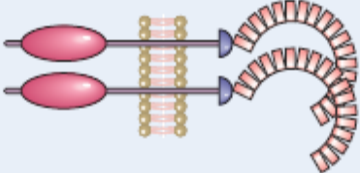


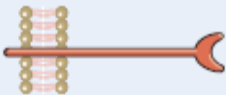
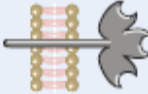

**Distribution of receptors**

Nonclonal: identical receptors on all cells of the same lineage

**Discrimination of self and non-self**

Yes; healthy host cells are not recognized or they may express molecules that prevent innate immune reactions

# Cell associated PRR

Cell-Associated Pattern Recognition Receptors	Location	Specific Examples	PAMP/DAMP Ligands
<p>Toll-like receptors (TLRs)</p> 	Plasma membrane and endosomal membranes of dendritic cells, phagocytes, B cells endothelial cells, and many other cell types	TLRs 1-9	Various microbial molecules including bacterial LPS and peptidoglycans, viral nucleic acids
<p>NOD-like receptors (NLRs)</p> 	Cytoplasm of phagocytes epithelial cells, and other cells	NOD1/2 NALP family (inflammasomes)	Bacterial cell wall peptidoglycans Flagellin, muramyl dipeptide, LPS; urate crystals; products of damaged cells
<p>RIG-like receptors (RLRs)</p> 	Cytoplasm of phagocytes and other cells	RIG-1, MDA-5	Viral RNA
<p>C-type lectin-like receptors</p> 	Plasma membranes of phagocytes	Mannose receptor  Dectin	Microbial surface carbohydrates with terminal mannose and fructose  Glucans present in fungal cell walls
<p>Scavenger receptors</p> 	Plasma membranes of phagocytes	CD36	Microbial diacylglycerides
<p><i>N</i>-Formyl met-leu-phe receptors</p> 	Plasma membranes of phagocytes	FPR and FPRL1	Peptides containing <i>N</i> -formylmethionyl residues

# PRR- Pattern Recognition Receptors

- TLR (Toll-like receptor): TLR1 -11
  - v buněčné membráně (např. TLR2, 4)
  - v endosomech ( TLR3, 7, 9)
- RLR (RIG-I-like receptor):
  - intracelulární (reakce s viry, tvorba IFN $\alpha$ )
- NLR (Nod-like receptors): např. NOD2, NALP3
  - v cytoplasmě, složky inflamasomů
- CLR (C-type lectin receptor)
  - poznávají nekrotické buňky, manosové zbytky

# Vrozená imunita

## Humorální složky:

Mikrobicidní faktory (lysozym, defensiny, katherlicidiny a další)

Histamin, eikosanoidy


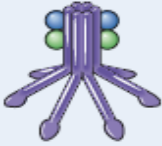


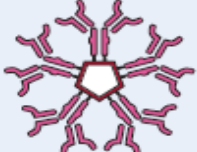
## Komplementový systém

Pentraxiny (CRP, SAP, PTX3)

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

Cytokiny (Interferony  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, chemokiny)

# Solubilní PRR

Soluble Recognition Molecules	Location	Specific Examples	PAMP Ligands
Pentraxins 	Plasma	C-reactive protein	Microbial phosphorylcholine and phosphatidylethanolamine
Collectins 	Plasma Alveoli	Mannose-binding lectin Surfactant proteins SP-A and SP-D	Carbohydrates with terminal mannose and fructose Various microbial structures
Ficolins 	Plasma	Ficolin	<i>N</i> -Acetylglucosamine and lipoteichoic acid components of the cell walls of gram-positive bacteria
Complement 	Plasma	C3	Microbial surfaces
Natural antibodies 	Plasma	IgM	Phosphorylcholine on bacterial membranes and apoptotic cell membranes

# Vrozená imunita

## Humorální složky:

### **Pentraxiny (CRP, SAP – sérový amyloid P, PTX3)**

CRP a SAP – produkovány buňkami jater.

PTX3 - produkován dendritickými buňkami, makrofágy a endotelem v odpovědi na vazbu na TLR a cytokiny.

CRP a SAP - se váží na různá místa buněčných stěn bakterií plísňí a apoptotických buněk obsahujících fosfatidylcholin a fosfatidylmetanolamin.

PTX – vazba na vybrané typy gram-positivních i negativních bakterií, viry a plísně, apoptotické buňky.

Všechny tři aktivují komplement vazbou na složku C1q.

# Vrozená imunita

## Humorální složky:

### Kolektiny (MBL, SP-A, SP-D)

MBL = Mannose Binding Lectin - vazba manozových zbytků ve stěnách bakterií.

SP-A, SP-D = Surfactant protein A, Surfactant protein D – opsoniny, nacházejí se v plicních sklípcích.

Funkce – inhibice růstu bakterií, spolupráce s alveolárními makrofágy.

**Fikoliny** – N-acetylglukosoamin a lipoteichová kyselina – součást buněčné stěny grampozitivních bakterií

Cytokiny (Interferony  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, chemokiny)

# Molekuly buněčných interakcí

Cytokiny

Interleukiny (IL-1 – IL-35), IFN, TNF, TGF, CSF

Chemokiny (C, CC, CXC, CX3C)

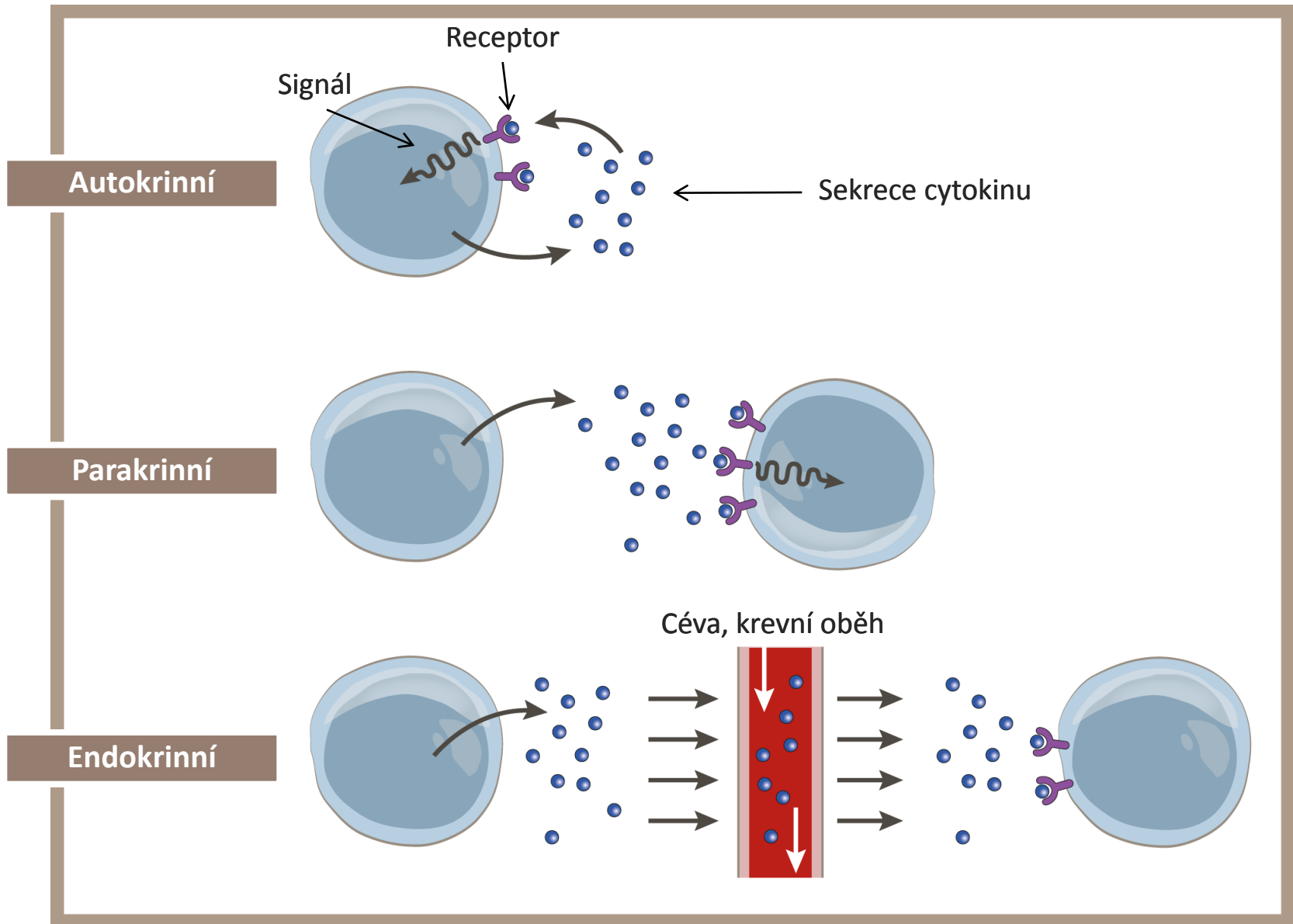
Adhezivní molekuly: integriny, selektiny,  
adresiny



# Cytokiny

- Hlavní regulátory imunitního systému, působící na krátkou vzdálenost prostřednictvím vazby na specifické receptory na povrchu buněk.
- Jsou produkovány buňkami imunitního systému, mají krátký biologický poločas.
- Účinek – autokrinní, parakrinní, endokrinní.

# Schéma typů působení cytokinů na druhé buňky



# Cytokiny

- Hlavním producentem je určitá skupina buněk x mohou však být produkovány různými buňkami.
- Vytvářejí funkční cytokinovou síť.
- Jeden cytokin má často stimulační i tlumivý efekt.
- Působí na více oblastí, vlastností – tzv. pleiotropní efekt .

# Funkce cytokinů

## **Stimulační:**

- Stimulace T- lymfocytů: IL-2
- Stimulace B-lymfocytů, produkce protilátek: IL-4, IL-5, IL-10, IL-21
- Stimulace makrofágů: IFN-g
- Stimulace granulocytů: IL-8, chemokiny
- Proliferace progenitorových buněk

**Prozánětlivé:** IL-1, IL-6, IL-18, TNF-  $\alpha$

**Regulační:** IL-10, IL-13, TGF- $\beta$

# Cytokiny

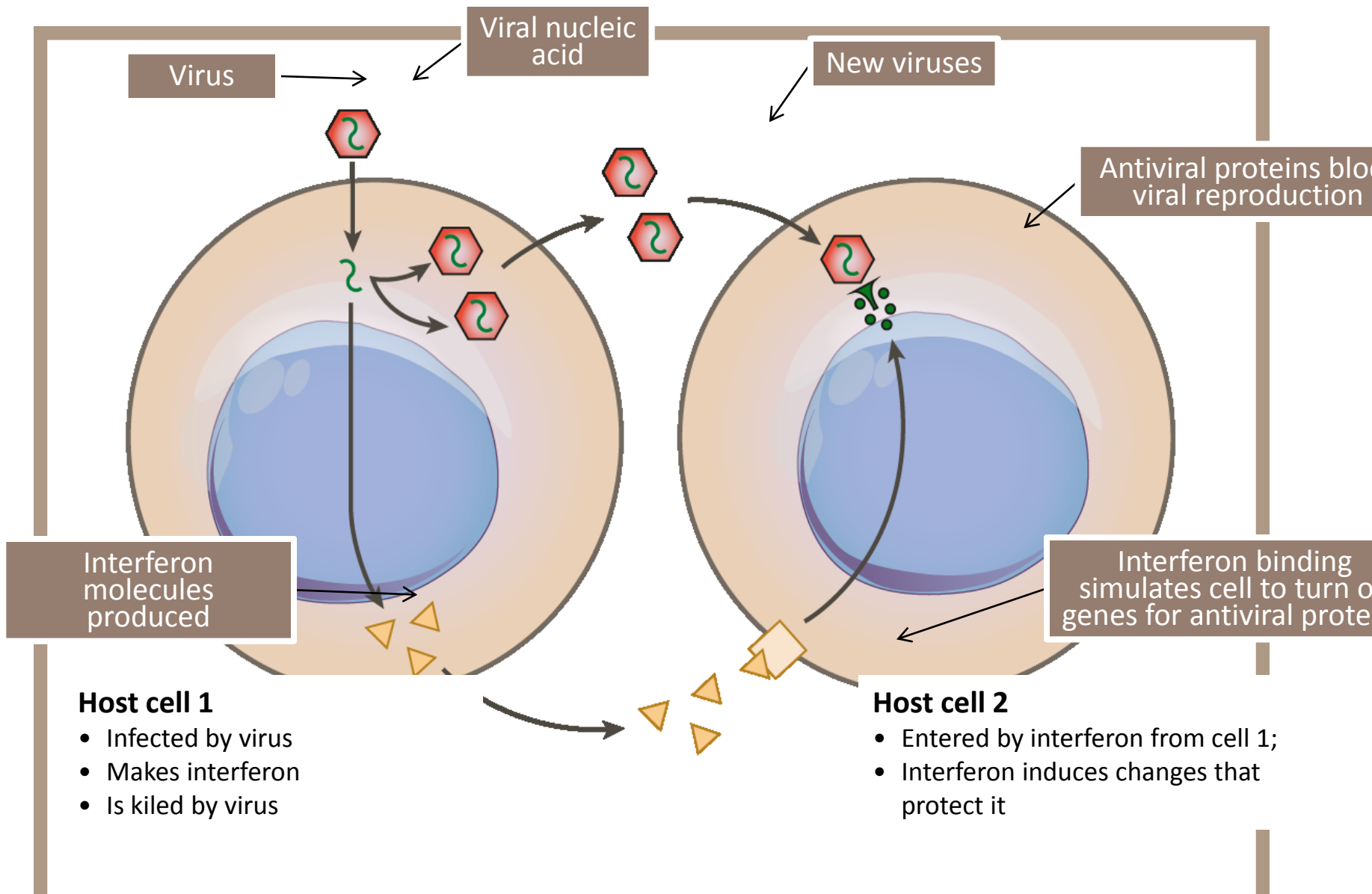
- Uplatňují se v patogenezi:
  - atopických chorob (IL-4, IL-13 – stimulace tvorby IgE)
  - zánětlivé choroby (TNF- $\alpha$ )
  - imunodeficity (defekt produkce IFN- $\gamma$ , IL-12)
- Ale lze je využít i terapeuticky
  - protinádorová léčba (IL-2, IFN-  $\alpha$ )
  - léčba sklerózy multiplex (IFN- $\beta$ )
  - léčba některých imunodeficitů (IFN-  $\gamma$ )

# Interferony

Typ I: IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  : jsou produkovány některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, makrofágy). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.

Typ II „Imunní“: IFN- $\gamma$ : produkován aktivovanými  $T_H1$  buňkami, způsobuje aktivaci makrofágů.

# Mechanismus účinku interferonu (IFN)



# Komplementový systém

- Soustava 30 proteinů nacházejících se v tělních tekutinách nebo jsou vyjádřeny na povrchu buněk.
- Nejdůležitější humorální součást imunity.
- Podílí se na identifikaci nebezpečných vzorů mikroorganismů.
- Na některé z nich se vážou složky komplementu.
- Označené mikroby jsou pak identifikovány povrchovými receptory buněk imunitního systému, např. fagocyty.
- Plně aktivovaný komplement je schopen usmrcovat především Gram-negativní bakterie, neutralizovat viry a opsonizovat.
- Vztah k zánětu



# Komplementový systém

- Soustava asi 30 sérových a membránových proteinů, některé z nich jsou latentní enzymy.
- Po zakotvení některých složek na povrchu buňky dochází ke štěpení navázaných složek a získání enzymatické aktivity – konvertázy.
- Kaskádovitě štěpí další složky a posouvají reakci k vytvoření membranolýtického komplexu.
- Odštěpené části složek, které nemají enzymatickou aktivitu, slouží především k opsonizaci.
- Hlavní složky 9 sérových proteinů C1-C9.
- C3 ústřední složka, C3b vazba na mikrobiální povrch.
- Terminální produkt komplementové kaskády C5b, C6, C7, C8 a C9 (MAC membrane attack complex).

# Komplementový systém - funkce

- Proteolytickým štěpením dochází k aktivaci komplementové kaskády – vznik molekul s různými biologickými účinky:
- Označení nebezpečných vzorů mikroorganismů - opsonizace (C3b, C4b)
- Chemotaxe (C3a, C5a, komplex C567)
- Tvorba anafylatoxinů (C3a, C4a, C5a)
- Osmotická lýza (komplex C5b-C9)

# Aktivace komplementového systému

- Do úrovně složky C5b probíhá cestou enzymatické kaskády.
- Od aktivované složky C5b dochází k neenzymatickému sestavení komplexu napadajícího membránu - MAC = Membrane Attact Complex.
- Výsledkem je lýza buňky.

# Aktivace aneb cesty komplementového systému

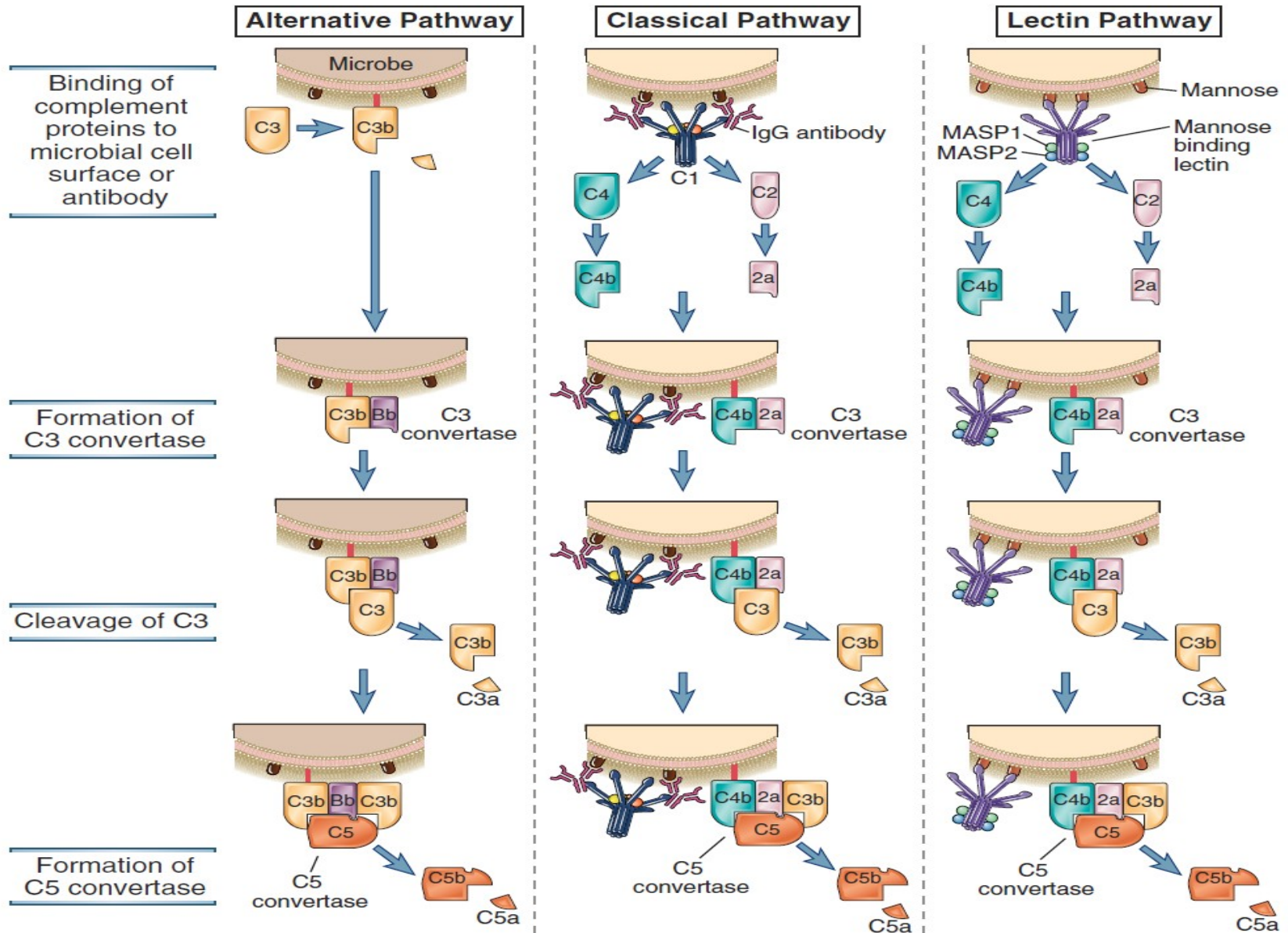
**Klasická** - spouštěna vazbou C1q na Fc úsek molekuly IgG nebo IgM, nebo C-reaktivní protein.

**Alternativní** - spouštěna bakteriálními produkty nebo jako následek spontánní hydrolýzy C3 složky komplementu regulačními faktory I a H.

**Lektinová** - na C1q a na protilátce nezávislá, spouštěna vazbou MBL-mannan.

Různorodost aktivačních drah je výsledkem evolučního procesu. Zajištění obranného potenciálu komplementového systému na přítomnost biologicky rozmanitých mikroorganismů.

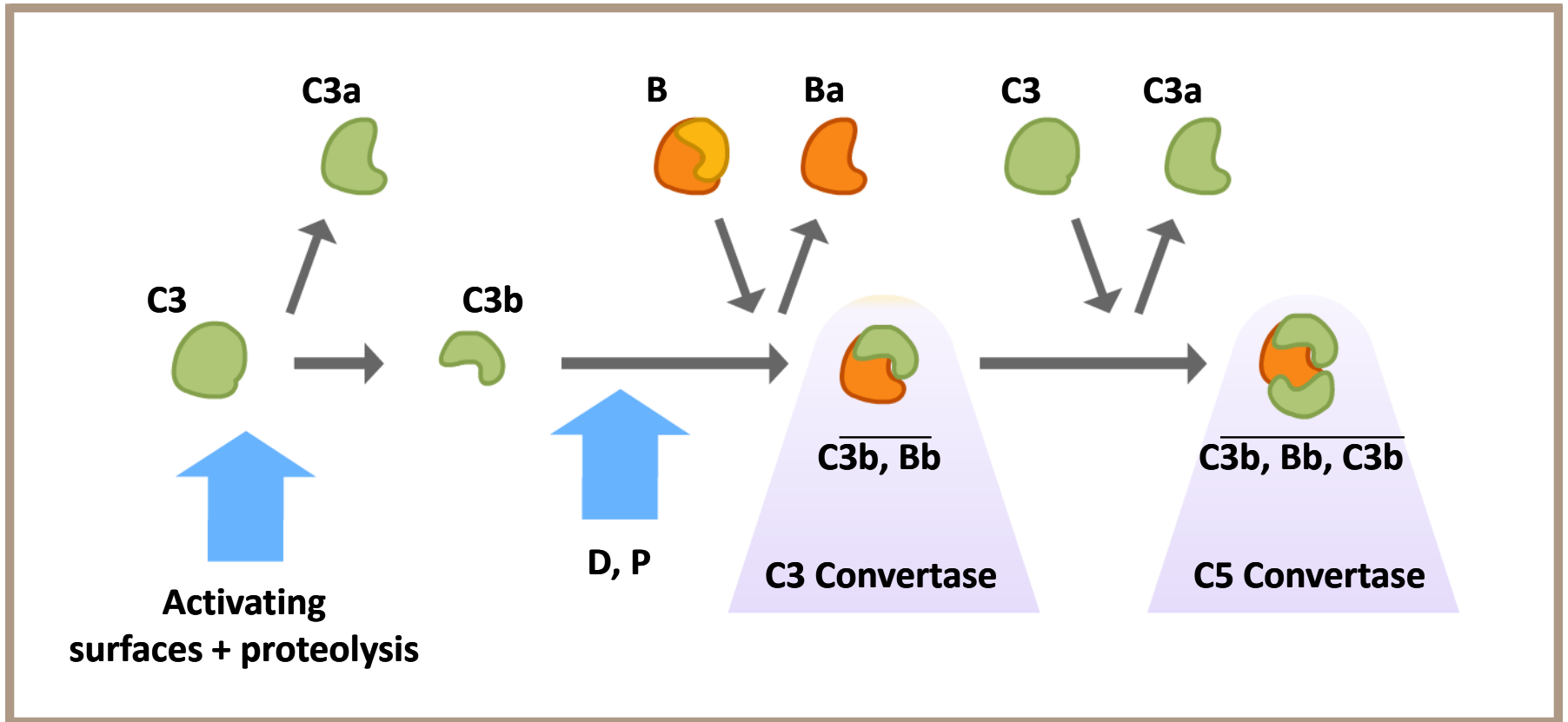
# Aktivace komplementového systému




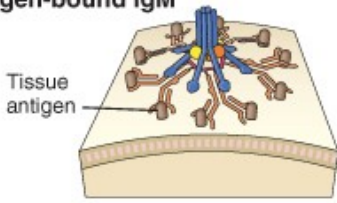

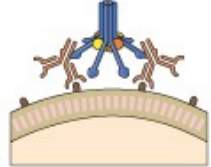
# Alternativní dráha KS

- Fylogeneticky nejstarší
- Aktivována složka B komplementu
- Aktivace na základě přítomnosti molekul na povrchu mikroorganismu
  - Lipopolysacharid G- bakterií
  - Buněčná stěna některých bakterií
  - Buněčná stěna kvasinek (zymozan)
  - Agregovaný IgA
- Stabilizace komplexu se účastní složky D a P (properdin)
- Vzniká alternativní C3 konvertáza (C3bBb)

# Aktivace alternativní dráhy komplementového systému



# Klasická dráha aktivace komplementu

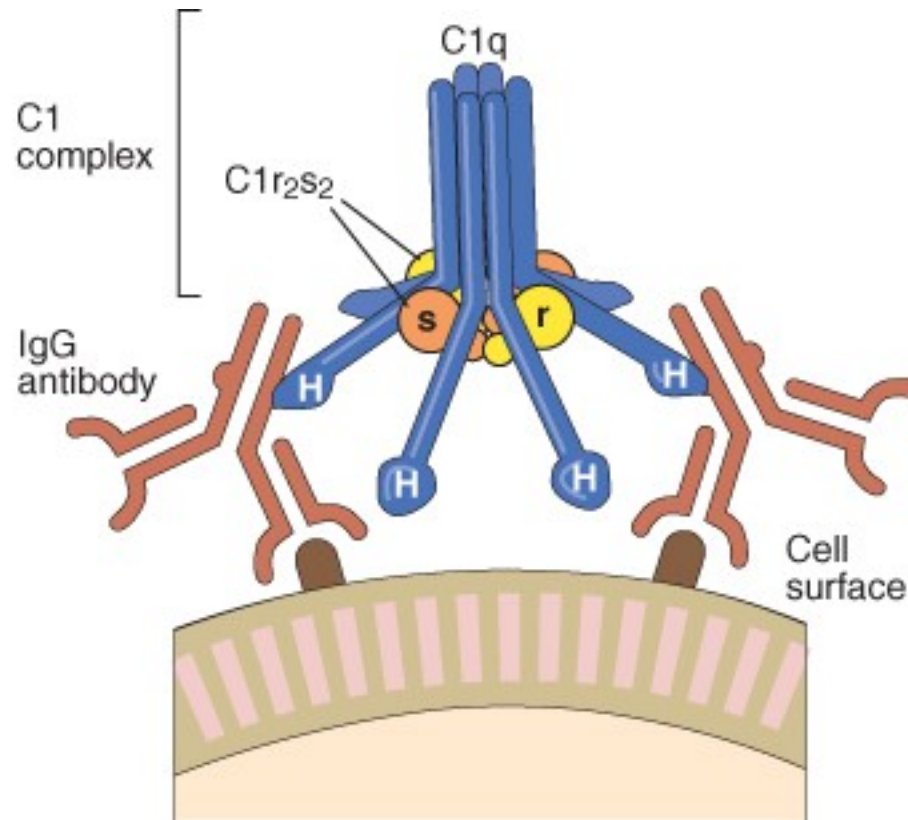
		Complement activation
<b>(A) Soluble IgM (inaccessible Fc)</b>		No
<b>(B) Antigen-bound IgM</b>		Yes
<b>(C) Soluble IgG (Fc portions not adjacent)</b>		No
<b>(D) Antigen-bound IgG</b>		Yes



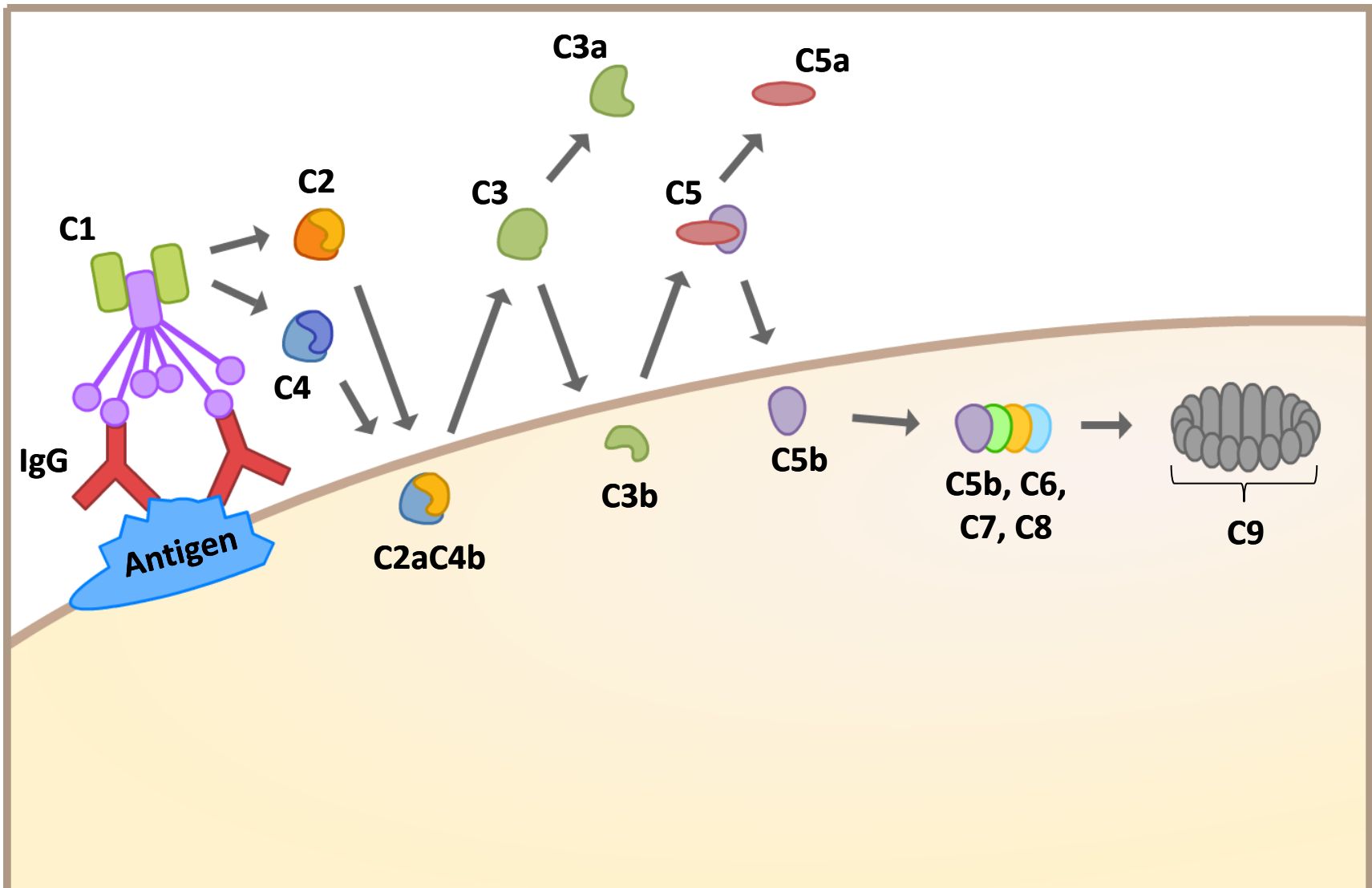
# Klasická dráha komplementového systému

- Fylogeneticky nejmladší – závislá na působení protilátek
- Zahrnuje působení složek C1, C2, C4
- Vazba C1q části molekuly na Fc řetězec protilátek
- Na podjednotku C1q jsou navázány C1s a C1r, které se po vazbě C1q na molekulu protilátky aktivují
- C1r štěpí C1s, a tato pak štěpí složky C2 a C4

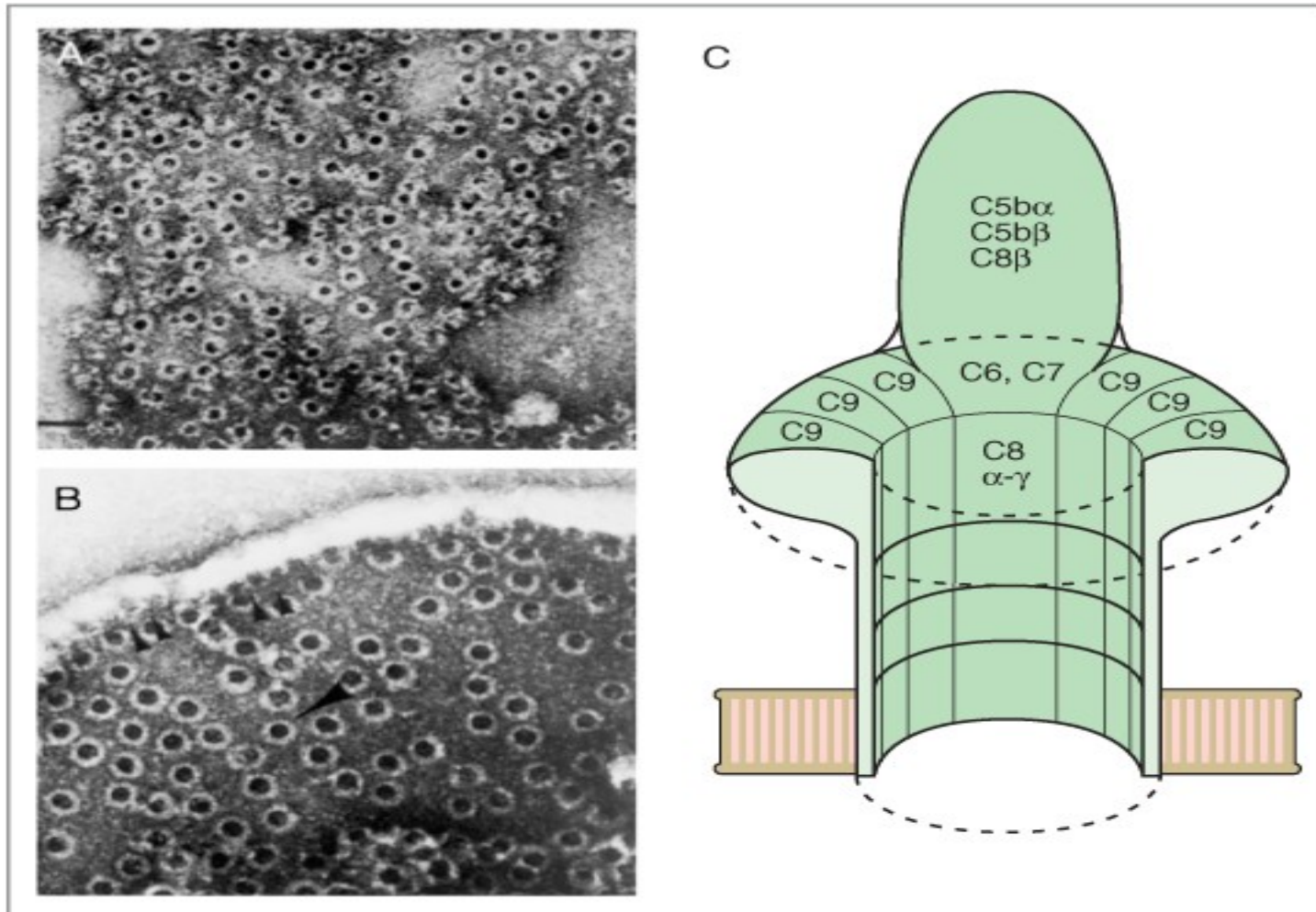
# Jednotka C1



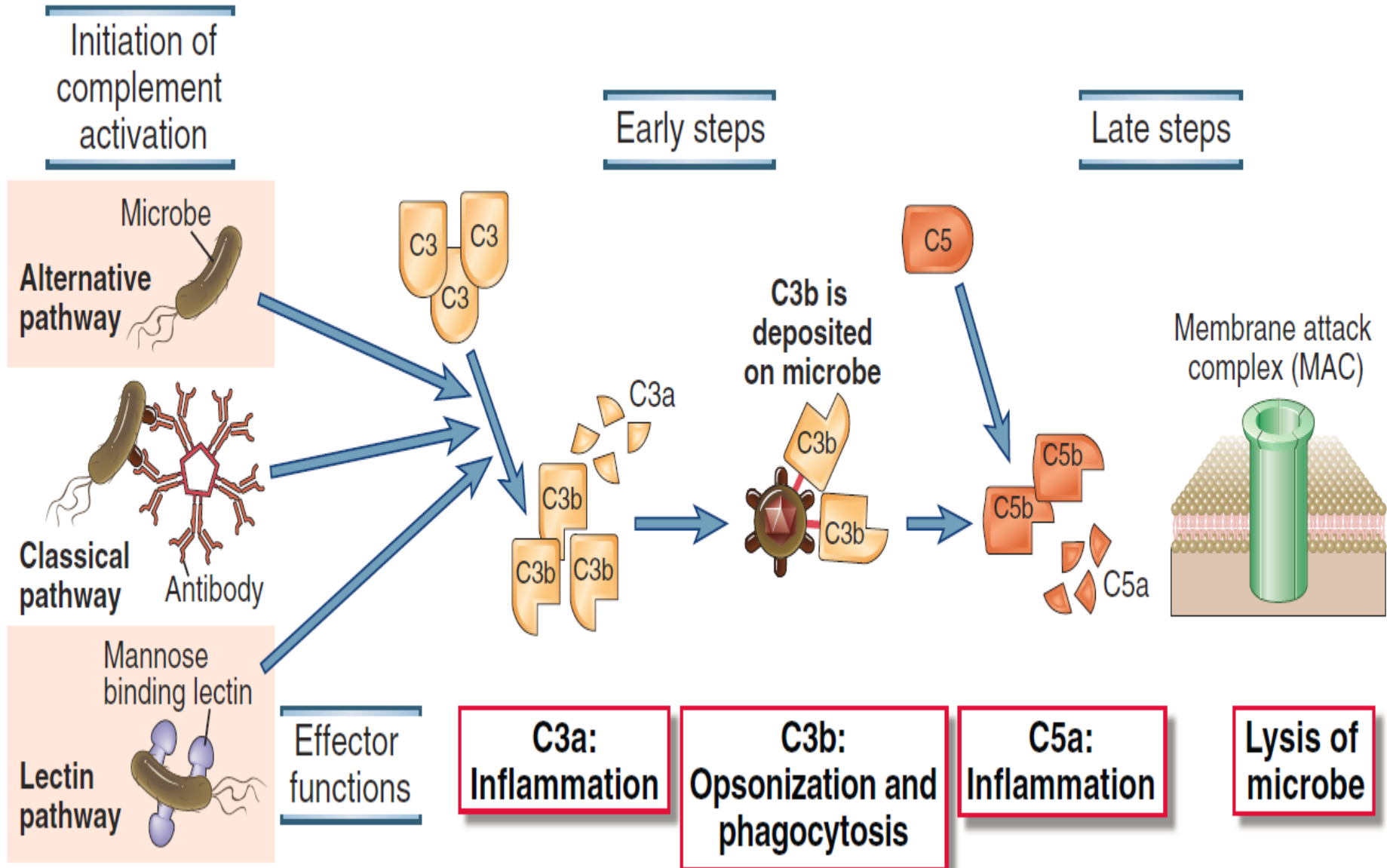
# Aktivace klasické cesty komplementového systému



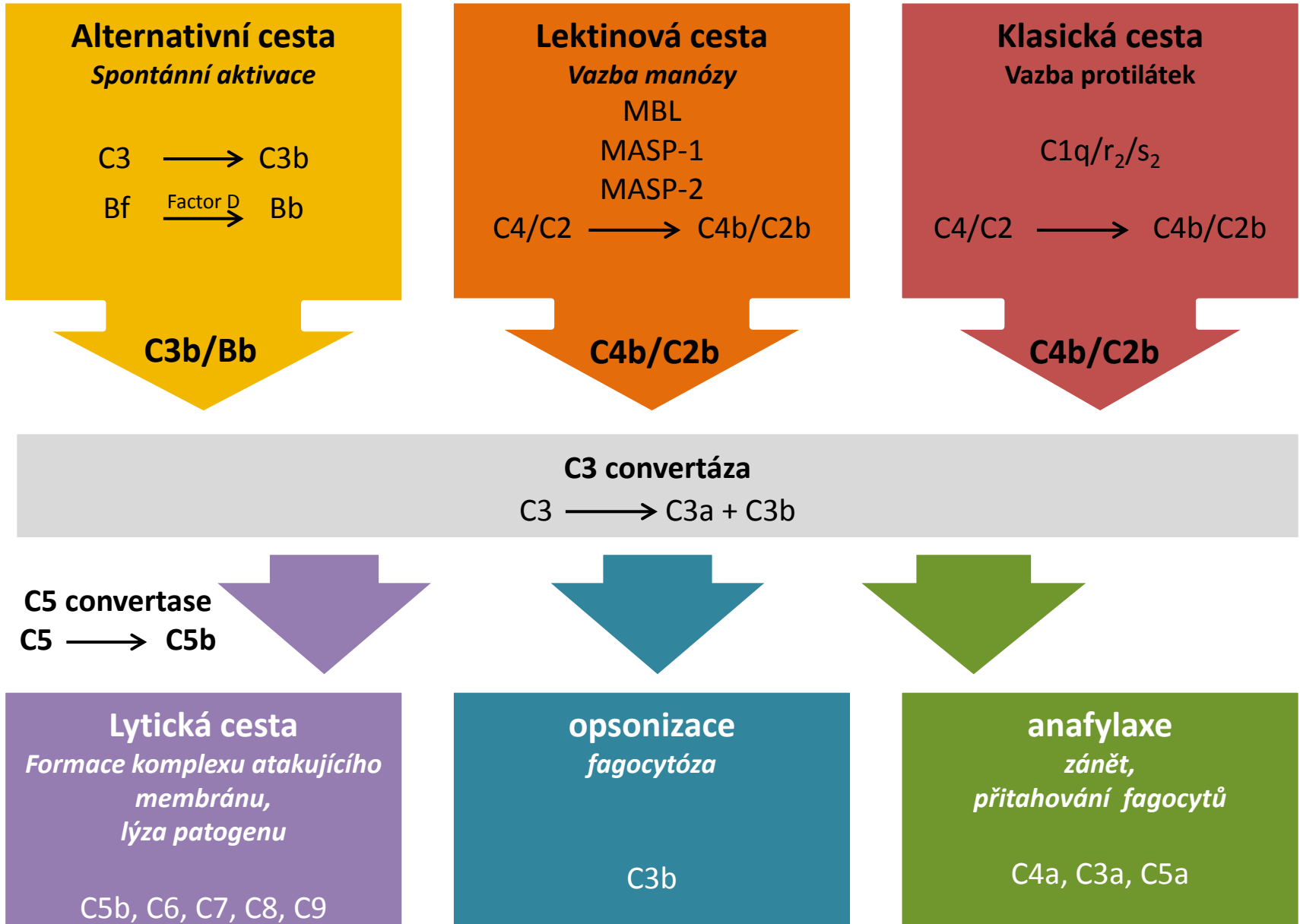
# Membranolytický komplex



# Aktivace komplementového systému



# Komplementový systém



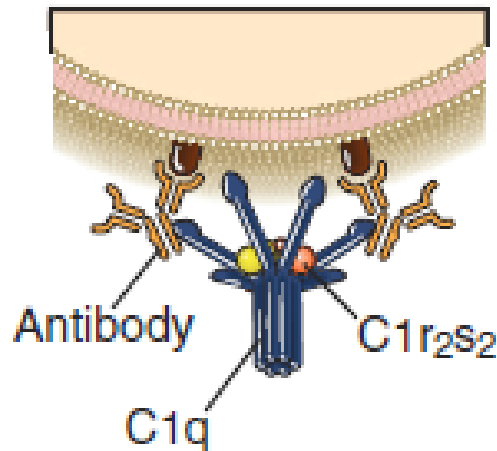
# Biologicky aktivní produkty aktivace C

- C2b, C2a
- C3a, C3b
- C4a, C4b
- C5a, C5b
- C5b679(n)
- Ba, Bb

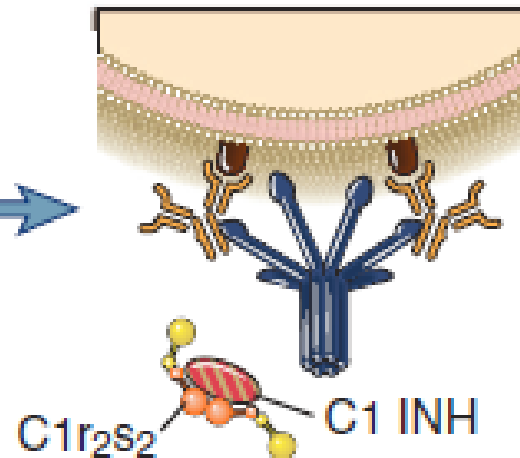
adhese, chemotaxe, aktivace buněk, lýza buněk,  
odstraňování imunokomplexů a buněčných odpadů,  
modulace aktivity APC, B - i T-lymfocytů

# Funkce C1-INH

C1q binds to antigen-complexed antibodies, resulting in activation of C1r<sub>2</sub>s<sub>2</sub>



C1 INH prevents C1r<sub>2</sub>s<sub>2</sub> from becoming proteolytically active





# Základní indikace vyšetření složek komplementového systému

## **Podezření na deficit některé složky aktivačních drah:**

- Funkční vyšetření klasické (CH 50) nebo alternativní (AH 50) dráhy
- V případě patologického nálezu vyšetření hladiny jednotlivých složek komplementu.

## **Monitorování zánětlivého procesu:**

- Složky komplementu se chovají jako proteiny akutní fáze.
- Při silné aktivaci komplementu při imunokomplexových chorobách ale dochází k výrazné konzumpci.

## **Podezření na poruchu regulačních složek komplementové kaskády (hereditární angioedém):**

- Vyšetření C1 INH a hladiny složek C3 a C4.

# Imunochemické vyšetření jednotlivých složek komplementového systému

- **C3** (0,7 – 1,5 g/L)
- **C4** (0,1 – 0,4 g/L)
- **C1-INH** (210-390 mg/L); + funkční test
- **C1q** (100-250 mg/L), **C2** (10 – 30 mg/L), **C5** (80 – 170 mg/L)
- **MBL** (0,3 – 3,5 mg/L)

# Lektin vázající manózu (MBL)

- Po vazbě na manózové zbytky na povrchu bakterií aktivuje C2 a C4.
- Asi u 25% populace lze prokázat heterozygótní deficit.
- Deficit MBL je asociován s vyšší frekvencí banálních infekcí a komplikací při cytostatické léčbě.

# Deficience komplementového systému

- C1-C4 : častý vývoj systémových imunokomplexových chorob (SLE-like), náchylnost k pyogenním infekcím.
- C3-C9: zejména náchylnost k pyogenním infekcím. U deficitu C9 jsou typické opakované meningokové meningitidy.
- C1 INH: hereditární angioedém.

# Funkční vyšetření klasické dráhy

## Hemolytický test CH50

**!Odběr sražené krve do skleněné zkumavky, nutno zpracovat do 1 hodiny!**

- erythrocyty po inkubaci s protilátkami (amboceptorem) vytvoří komplex antigen – protilátka
- přidání vyšetřovaného séra (obsahuje komplement)
- lýza erythrocytů se projeví uvolněním hemoglobinu; detegujeme spektrofotometricky

# Hereditární angioedém

- Způsoben deficitem C1 INH, dominantně dědičný.
- Při traumatech, stomatologických výkonech, infekcích, menstruaci dochází k nekontrolované aktivaci komplementového systému.
- Vazoaktivní peptidy způsobují zvýšenou vaskulární permeabilitu se vznikem edémem; terčem terapie může být bradykinin.
- Klinické příznaky- nesvědivé kožní otoky, dechové obtíže, průjmy, křeče v břiše.

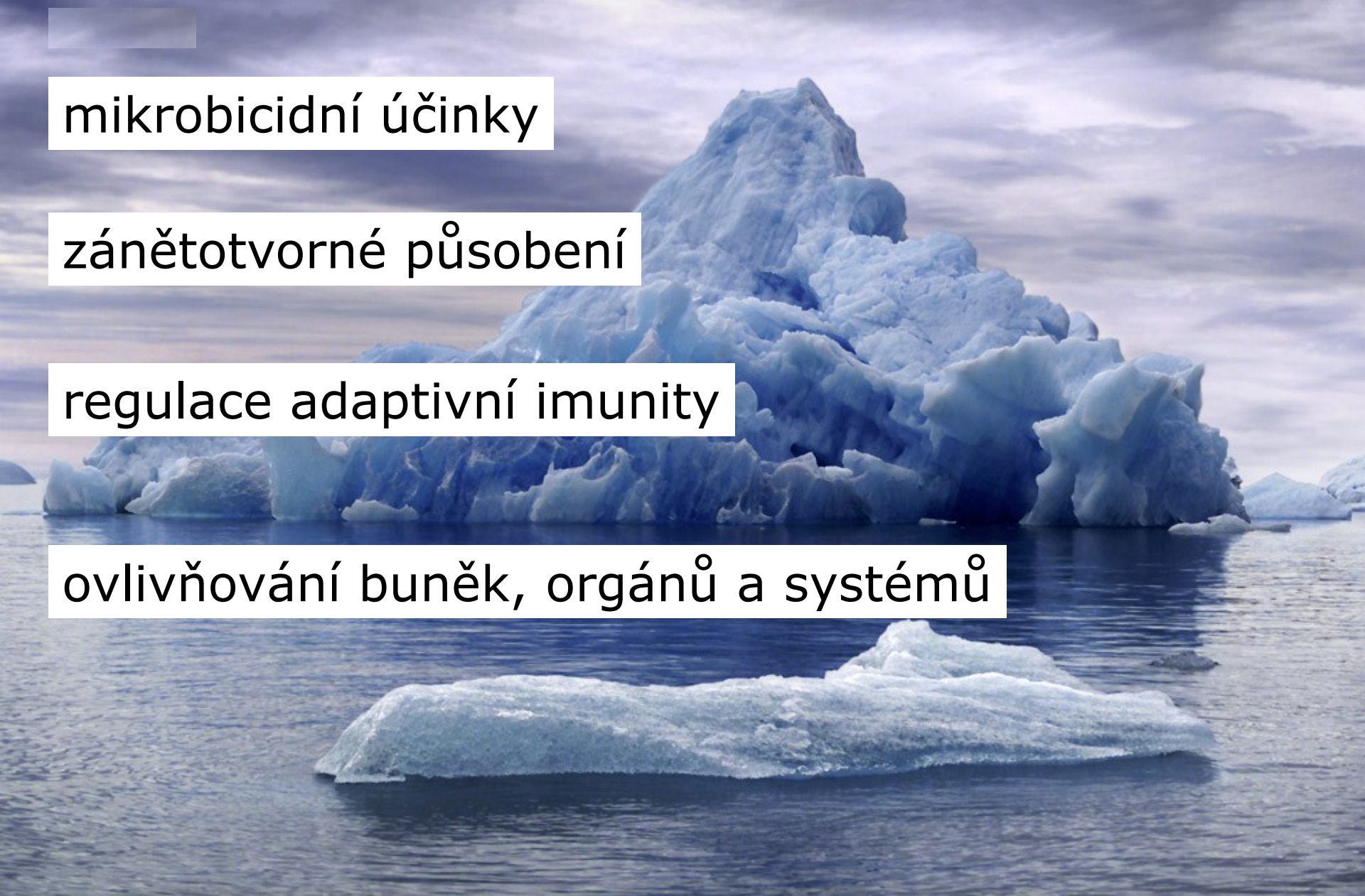
# Komplementový systém je pilířem imunity

mikrobicidní účinky

zánětotvorné působení

regulace adaptivní imunity

ovlivňování buněk, orgánů a systémů



# Vrozená imunita

## Celulární složky

Epitelové a endotelové buňky, erytrocyty, destičky

Mastocyty, eosinofily, basofily

NK buňky (natural killer cells)

Profesionální fagocyty (neutrofilní leukocyty – „mikrofágy“,  
mononukleární fagocyty – „makrofágy“)

Dendritické buňky (buňky prezentující antigeny)



# Celulární složky vrozené imunity



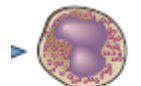
Erythrocyte

Neutralizace chemokinů, odstraňování komplexů Ag-Ab, zpomalení pohybu leukocytů v kapilárách zvyšují adhezi na endotel, krevní skupiny, Rh- faktor



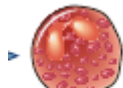
Platelet

Obsahují denzní tělíska (ADP, serotonin, histamin) a alfa granule (cytokinů, chemokinů, růst.faktorů) - modulace zánětové odpovědi



Basophil

Krátce žijící buňky, v cytoplasmě četná granula obsahující histamin, proteoglykany, interleukiny (IL-4, IL-13) – časná fáze zánětové reakce, Váží IgE – degranulace - rozvoj zánětu



Eosinophil

Krátce žijící buňky 10-20h – v periferní krvi, delší životnost v tkáních - sliznice dýchacího, trávicího a močopohlavního ústrojí; Receptory pro Ig, chemokiny, cytokiny složky komplementu... v cytoplasmě četná granula obsahující kationické proteiny (ECP), cytokiny (IL-3,IL-5, TNF-alfa...) chemokiny, úloha v časně fázi zánětu

# Mastocyty

- Lokalizovány perivaskulárně a v blízkosti neuronů.
- Dlouhožijící buňky
- Jsou aktivovány IgE a antigeny, imunokomplexy, cytokiny, anafylatoxiny, hormony, neurotransmitery.
- Sekretují řadu vasodilatačních a prozánětlivých mediátorů – preformovaných (histamin, kininy, proteasy) i nově syntetizovaných (leukotrieny, prostaglandiny, NO, cytokiny –zejm. TNFa).
- Důsledek – akumulace buněk přirozené imunity (neutrofily, eosinofily, monocyty-makrofágy a lymfocyty).
- Účast v reparačních procesech

**Jsou jednou z nejvýznamnějších součástí vrozených obranných imunitních mechanismů.**

# Profesionální fagocyty

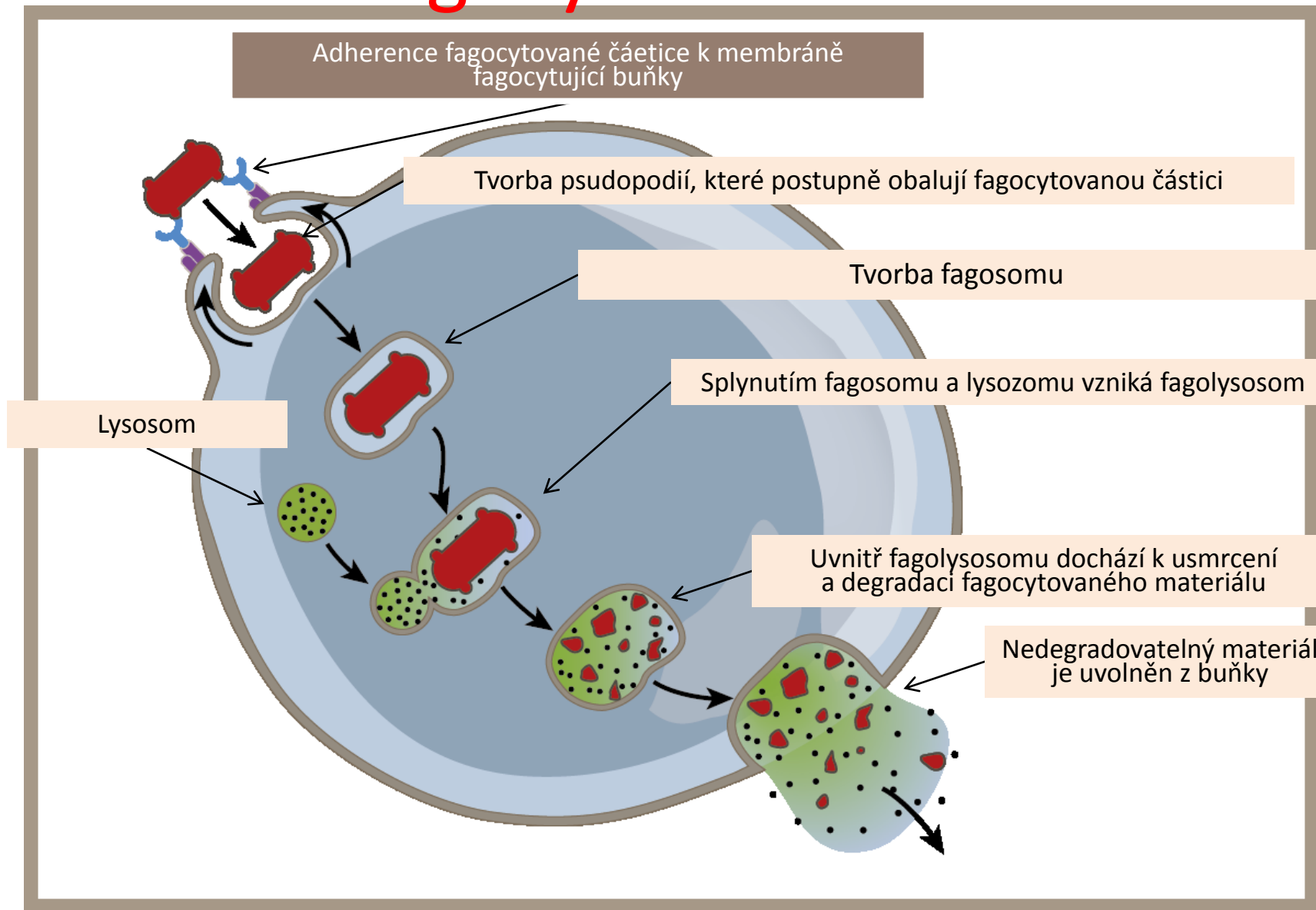
Polymorfonukleární leukocyty  
(neutrofilní granulocyty)  
„mikrofágy“ (I. Mečnikov)

Mononukleární fagocyty  
(v krvi i ve tkáních)  
„makrofágy“ (I. Mečnikov)

# Fagocytóza

- Neutrofilní granulocyty a eosinofilní granulocyty
- Monocyty a makrofágy
- Fyziologická funkce:
  1. pohlcení - ingesce
  2. nitrobuněčné zabití - cidie
  3. odstranění - eliminace
- Antimikrobiální systémy:
  1. závislý na kyslíku
  2. nezávislý na kyslíku

# Fagocytóza



# Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

## 1. závislý na kyslíku

Reaktivní metabolity kyslíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HOCl}^-$ , hydroxylový radikál, superoxidový aniont, singletový kyslík( $\text{O}_2$ ))

Reaktivní dusíkové metabolity ( $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ )

Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy, RNAsy

## 2. nezávislý na kyslíku

Nízké pH

Lysozym

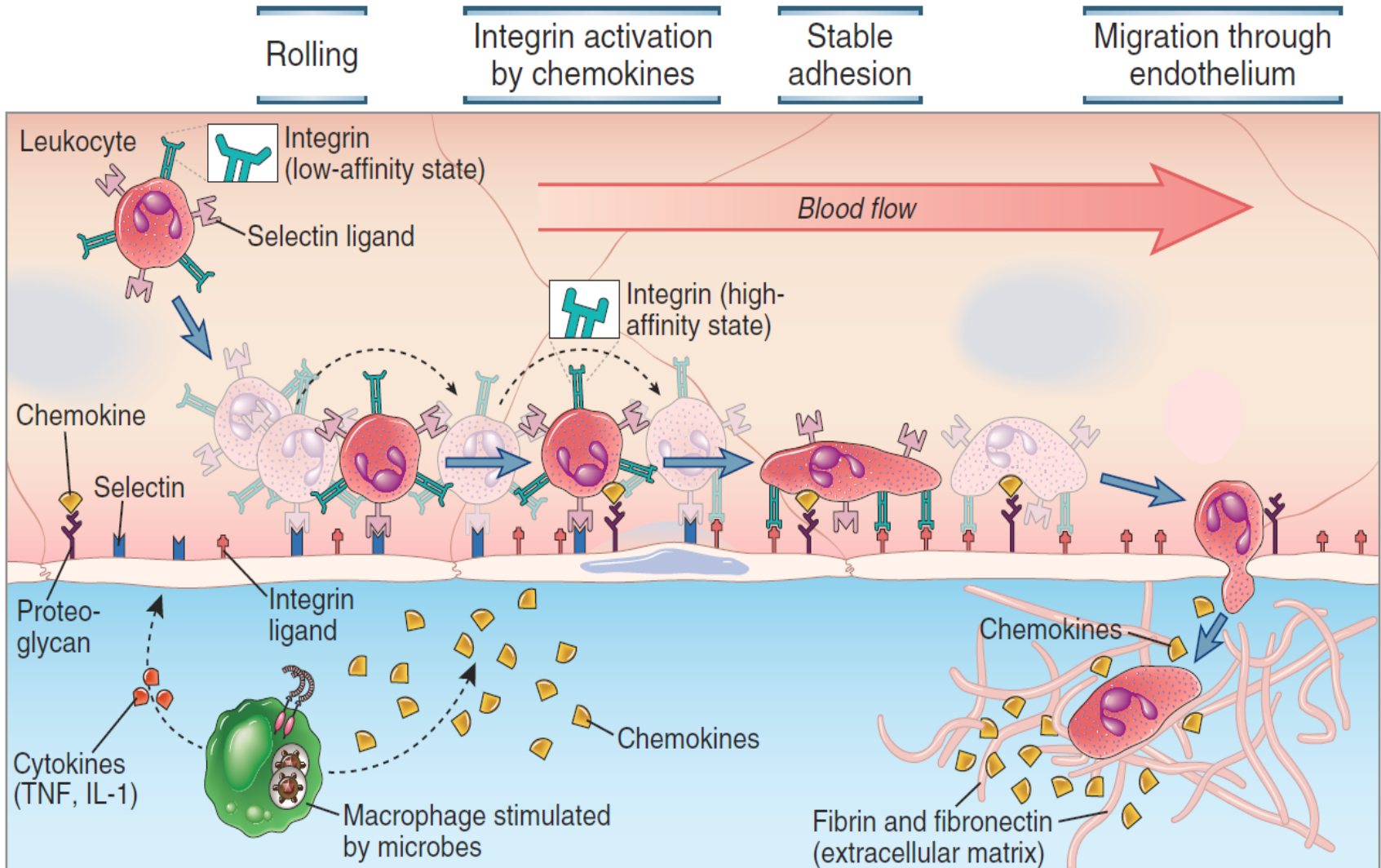
Lactoferin

Defenziny – antimikrobiální polypeptidy

# Deficit leukocytárních integrinů (LAD-I)

- Příčinou syndromu je porucha syntézy CD18, nevytváří se komplex CD11/CD18 – integriny nutné k přechodu cév do místa zánětu.
- Opožděné odhojování pupečníku s omfalitidou.
- Abscesy s malou tvorbou hnisu.
- Často postižena periproktální oblast, objevují se gingivitidy, lymfadenitidy, kožní infekce.
- Porucha hojení ran.
- V krvi výrazná leukocytóza i mimo akutní infekci.

# Cesta leukocytů do místa zánětu

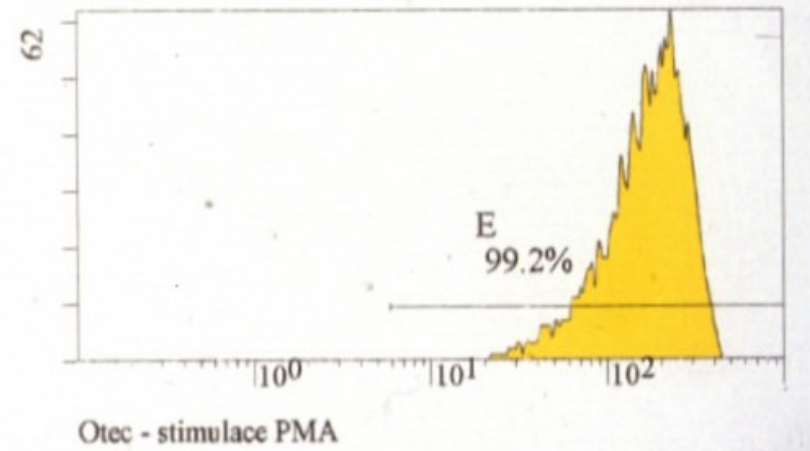
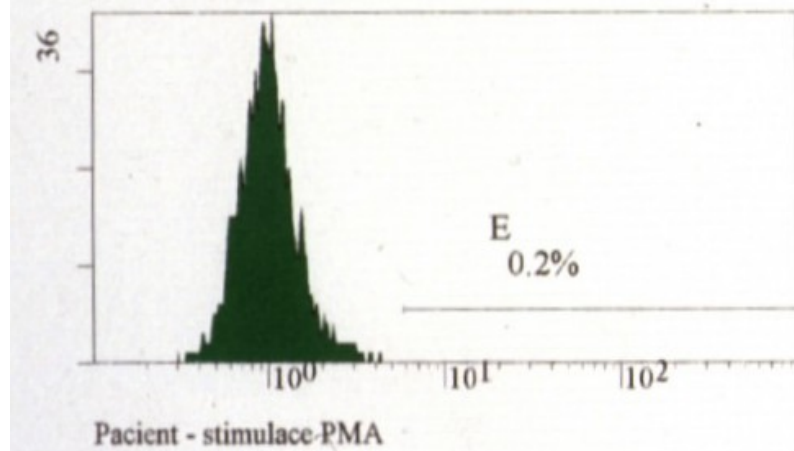
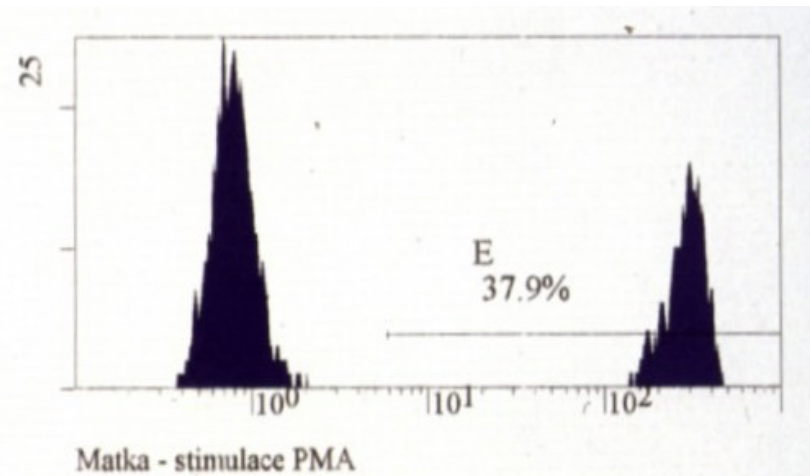
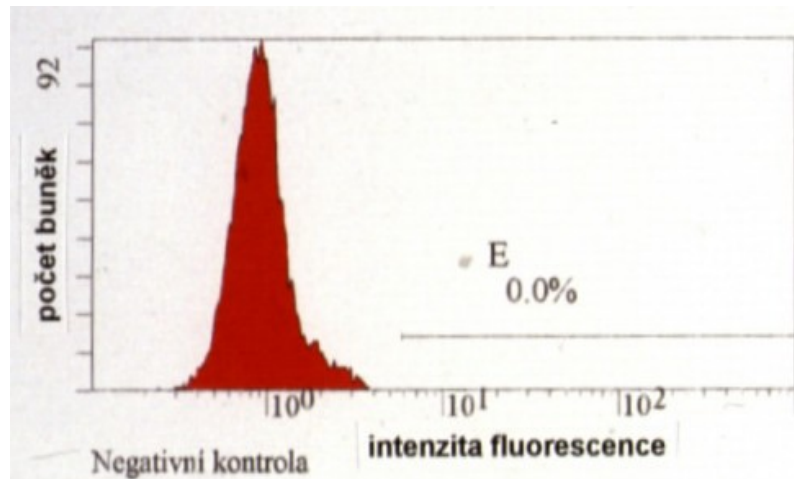




# Chronická granulomatózní choroba

- Opakované abscesy nejčastěji postihující játra, periproktální oblast, plíce, objevují se hnisavé lymfadenitidy, osteomyelitidy.
- Granulomy mohou působit útlak, například žlučvodů.
- Většinou poměrně časný nástup obtíží, první příznaky se však vzácně mohou objevit i v dospělosti.
- Příčinou je porucha tvorby reaktivních metabolitů kyslíku.

# Chronic Granulomatous Disease (X-linked)



# Možnosti vyšetření fagocytárních funkcí

Chemotaxe: vyšetření chemotaxe pod agarózou

Ingesce: ingesce metakrylátových partikulí

Tvorba reaktivních metabolitů kyslíku:

NBT test, chemiluminiscence, redukce tetrahydroamidu.

Vyšetření exprese  $\beta$ 2-integrinů

Komplexní vyšetření: mikrobicidie

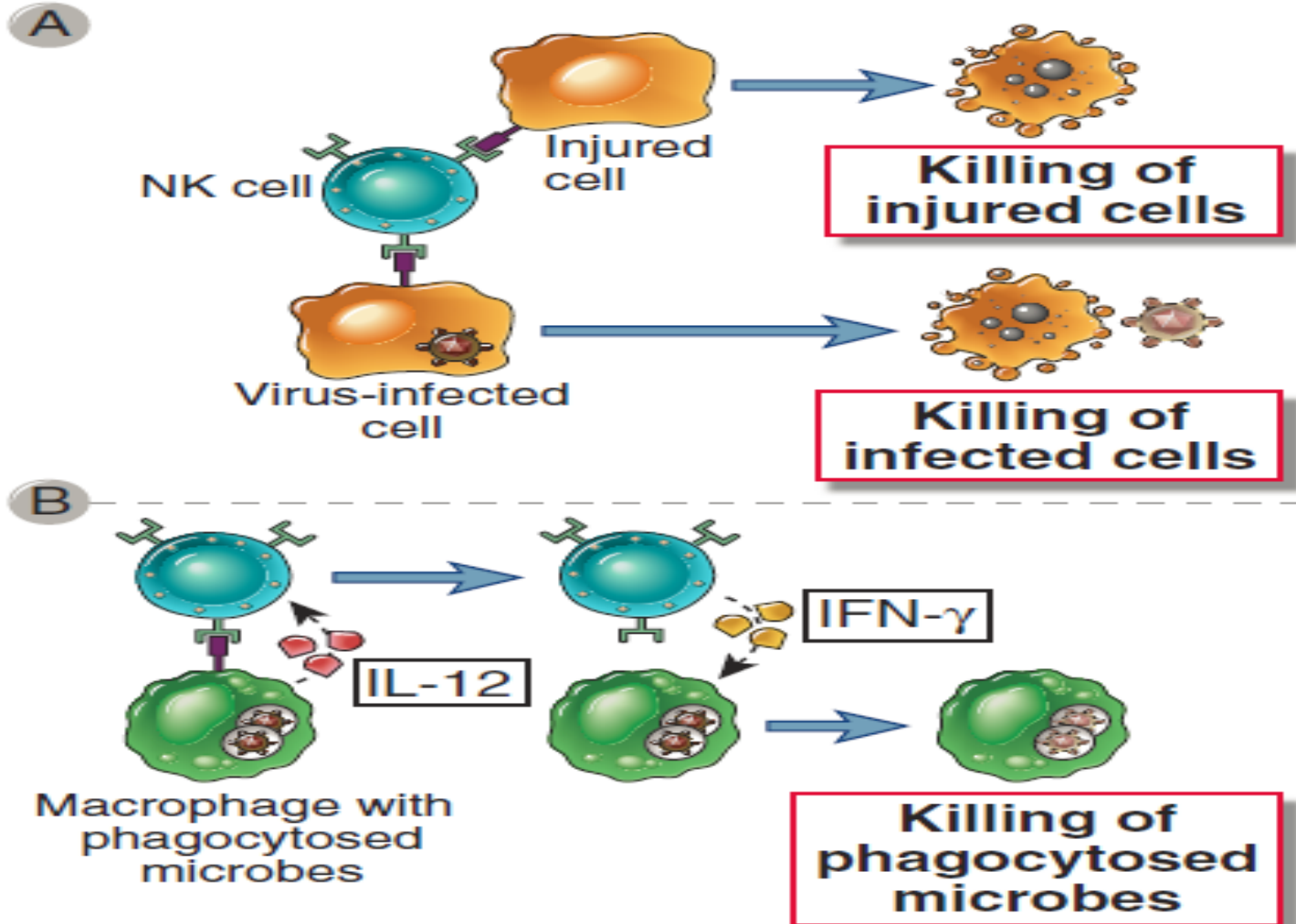
# Indikace k vyšetření fagocytárních schopností granulocytů

- Především opakované hluboké abscesy, hnisavé lymfadenitidy, případně i první epizoda abscesu v neobvyklé lokalizaci (jaterní absces). Obtíže jsou vrozené, tj. objevují se obvykle od časného věku.
- Výskyt solitárních, granulomů v časném věku.
- Poruchy odhojování pupečníku spojené s poruchou hojení ran a výraznou leukocytózou (LAD syndrom).

# NK (Natural Killer) buňky

- jsou morfologicky podobné lymfocytům („velké granulární lymfocyty“, LGL), nefagocytují, nemají adhezenční schopnosti
- specializují se na zabíjení abnormálních vlastních buněk organismu nápadných nízkou expresí MHC molekul (např. infikovaných viry, intracelulárními bakteriemi, nádorové buňky)
- cytotoxické nástroje NK buněk – perforin a granzym – podobně jako u CD8+ cytotoxických buněk
- jejich cytotoxická aktivita je jednak přirozená, jednak může být zprostředkována protilátkami vázanými na FcR III (CD16), ADCC
- ovlivňují vrozenou i adaptivní imunitu svými cytokiny, především IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$

# Funkce NK buněk



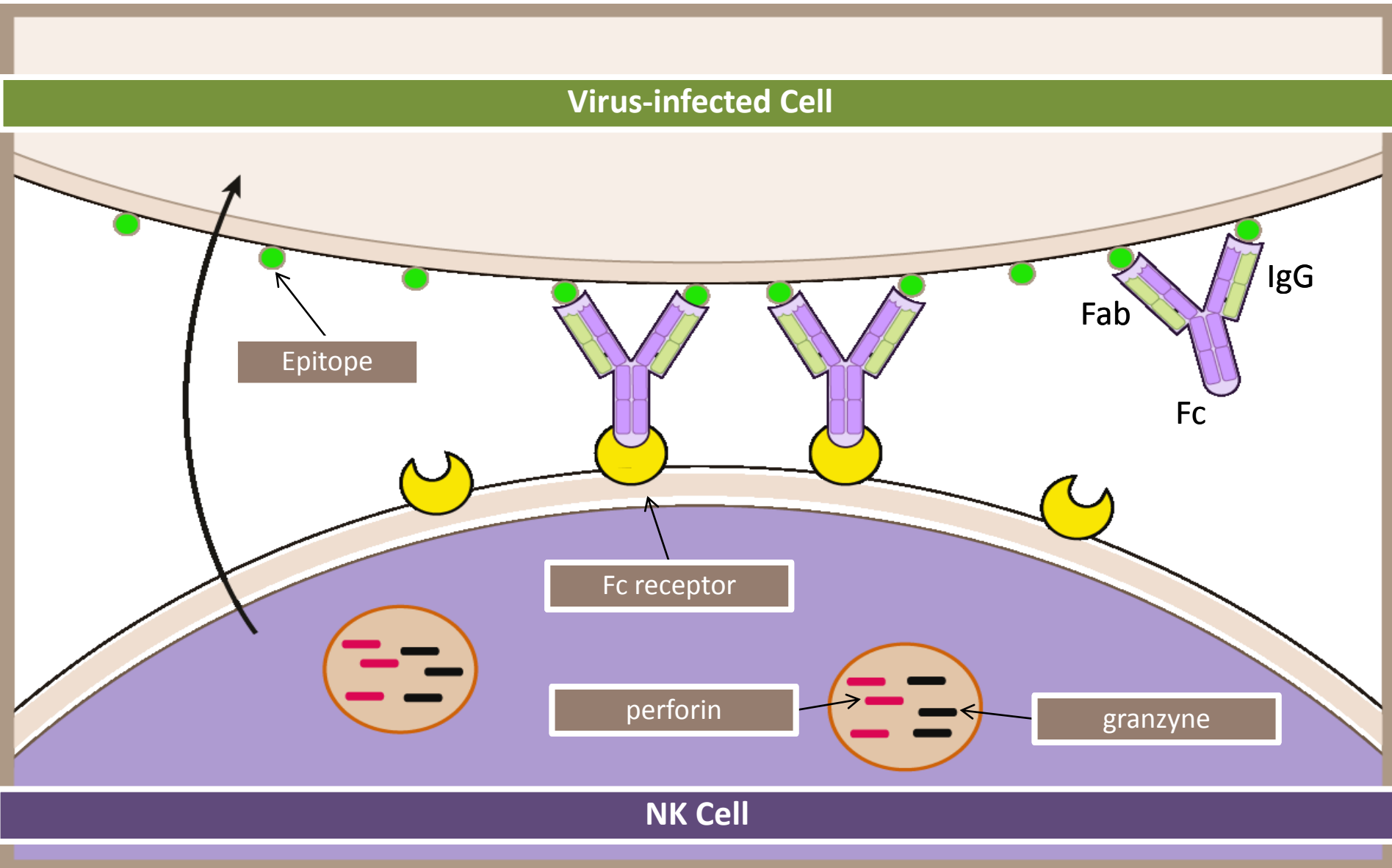
# Buňky NK

Aktivace NK-buněk je regulována souhrou signálů, které vycházejí z aktivačních a inhibičních receptorů.

- **Inhibiční receptory** (KIR) se váží na molekuly MHC I, které jsou přítomny na většině zdravých buněk.
- **Aktivační receptory** (KAR) poznávají heterogenní skupinu ligandů, které se objeví na buňkách v důsledku stresu, maligní konverse, virové infekce.

Řada genů, které ovlivňují funkci NK, jsou shluknuty na chromosomu 12 („natural killer gene complex – NKC“)

# Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)

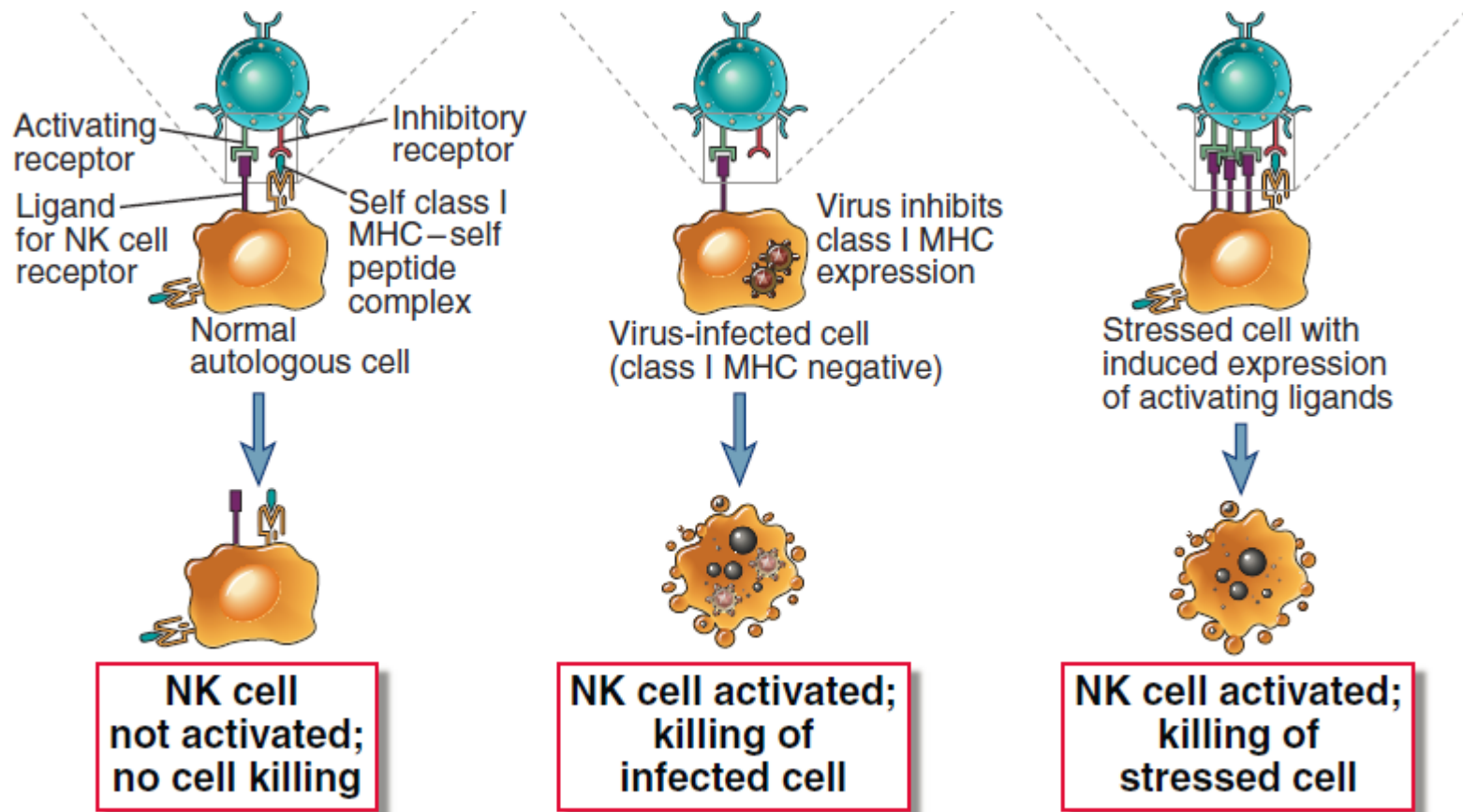




# Interferony (IFN)

- Existují dva typy interferonů:
- Typ I: IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  - jsou produkována některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, makrofágy). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.
- Typ II tzv. imunní - IFN- $\gamma$ : produkován NK buňkami, aktivovanými  $T_H1$  a  $T_C1$  buňkami, způsobuje především aktivaci makrofágů.

# Reakce NK buněk



# Buňky NKT

- Imunofenotypově i funkčně podobné NK a T
- Přítomny v periferní krvi, slezině, játrech, lymfatických uzlinách, kostní dřeni, thymu
- Aktivované migrují do míst infekce nebo zánětu
- Receptor má charakter „semi-invariantního“  $\alpha\beta$  TCR (Va24/Ja18 – Vb11)
- Poznávají glykolipidové nebo lipidové struktury presentované na nepolymorfní CD1 molekule (lysofostatidylcholin je autoantigenem pro lidské NKT).

# Zánět

- fylogeneticky stará a monotónní obranná reakce
- efektorový mechanismus nejen vrozené , ale i adaptivní imunity
- rozvoj zánětu:
  - rozpoznání nebezpečného podnětu
  - vyhodnocení charakterů podnětu a rizika
  - vylití granul, transkripce genů, ..
- každý zánět má imunopatologickou složku

# Zánět- komplexní obranná reakce systému vrozené imunity

- na infekci bakteriální, virovou, parazitární,
- na poškození tkání fyzikálními a chemickými faktory
- na efektorové stadium adaptivní imunitní reakce

**Směřuje k odstranění škodliviny a k obnově  
poškozených struktur a funkcí**

# Zánět

- rychlá odpověď organismu na poškození tkání, (neimunologický podnět)
- nebo infekci (imunologický podnět)
- vede k lokalizaci onemocnění
- eliminace případné infekce
- zahojení
- reakce organismu může být místní nebo celková – závisí na rozsahu poškození a délce trvání

# Dva druhy zánětu

## **Akutní zánět** – fyziologický proces:

- Odezní bez důsledků, dochází ke zhojení poškozené tkáně

## **Chronický zánět** – patologická reakce

- Patologický, dochází k destrukci tkáně, nahrazování vazivem a vede k trvalému poškození

# Průběh zánětlivé reakce

- Fagocyty a tkáňové žírné buňky – uvolnění obsahu granulí do okolí
- Látky uvolněné z poškozených buněk
- **Důsledek** - zvýšení permeability cév – tzn. prostup plazmatické tekutiny do extravaskulárního prostoru a vzniká otok



# Klasické známky zánětu

- Bolest
- Zarudnutí
- Otok
- Horečka

# Zánět - průběh

- Zvýšení adhezivity endotelií expresí adhezivních molekul – zachycení fagocytů a lymfocytů – jejich průnik do tkáně.
- Aktivace koagulačního, fibrinolytického, komplementového a kininového systému.
- Ovlivnění místních nervových zakončení (bolest).
- Změny regulace teploty (některé mediátory působí jako pyrogeny).

# Vliv prozánětlivých cytokinů

- Uplatňuje se zejména IL-1, IL-6 a TNF- $\alpha$ .
- Ovlivněním hypotalamického centra termoregulace se zvyšuje tělesná teplota .
  - Aktivátor metabolických pochodů v buňkách IS: indukce exprese heat shock protein (HSP) (pomoc při skládání nativních nově syntetizovaných proteinů do správných konformací)
- Aktivace osy hypothalamus – hypofýza nadledvinky – mobilizace tkáňového metabolismu.
- Cytokiny se dostávají do oběhu – stimulace sérových proteinů tzv. “proteinů akutní fáze”.
- Klesá sérová hladina Fe a Zn.
- Objevuje se únavnost, ospalost, nechutenství.

# Hlavní události v místě zánětu

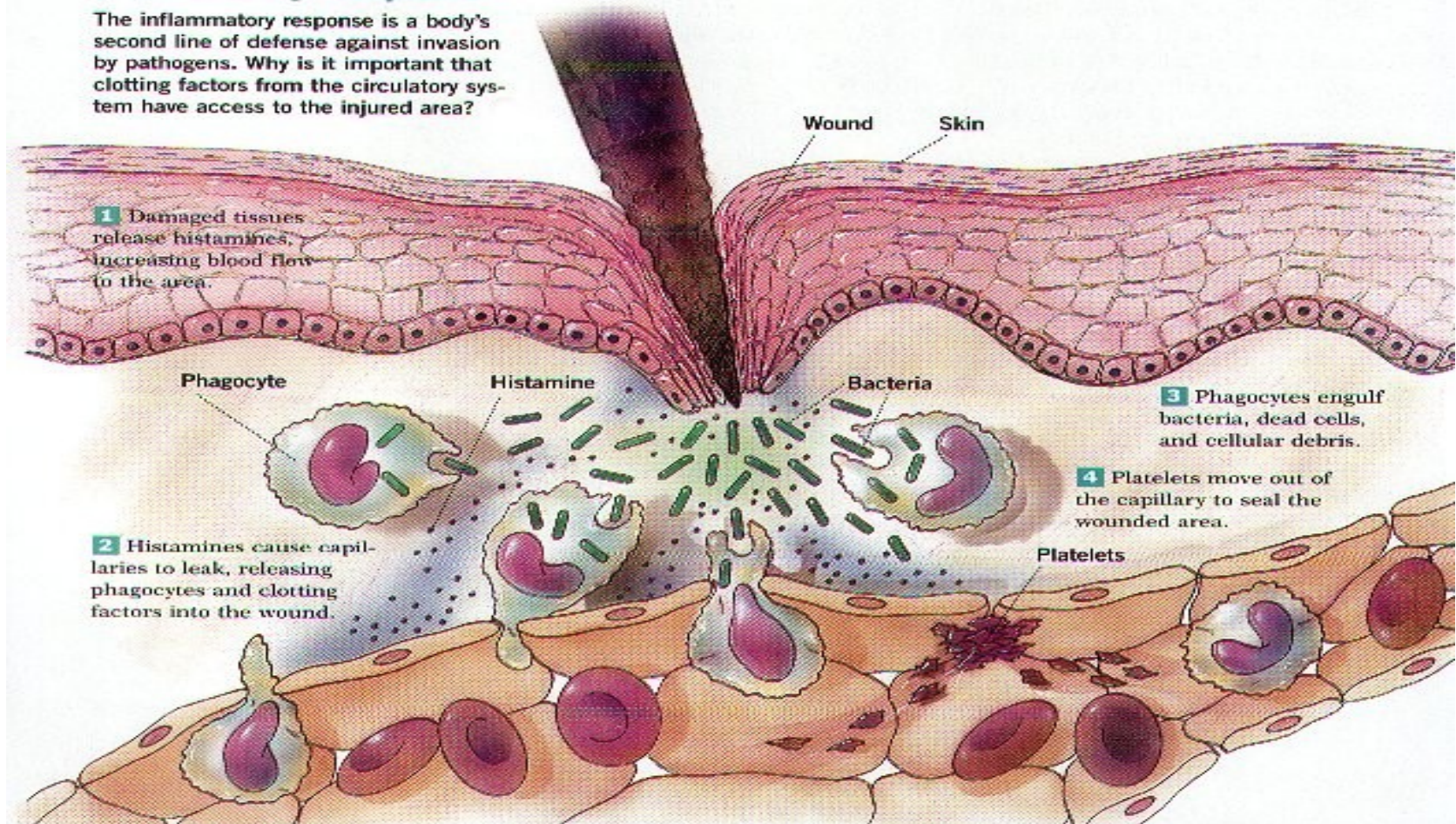
Hlavní roli hrají složky nespecifické imunity

- Vznik vazoaktivních 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.

# Iniciace zánětlivé odpovědi

## Steps of the Inflammatory Response

The inflammatory response is a body's second line of defense against invasion by pathogens. Why is it important that clotting factors from the circulatory system have access to the injured area?



# Laboratorní známky zánětu

- leukocytóza
- zvýšená FW
- zvýšené hladiny reaktantů akutní fáze
- snížené hladiny železa a zinku v plazmě

# Proteiny akutní fáze

- Jejich hladina se zvyšuje v dob akutního zánětu.
- Jsou produkovány hlavně játry pod vlivem IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ .
- Nejznámější a diagnosticky nejčastěji využívaný: C-reaktivní protein (CRP).
- Další: součásti komplementového systému, alfa-1-antitrypsin, sérový amyloid A, fibrinogen...

# Proteiny akutní fáze

## Oponizace

- CRP – C-reaktivní protein
- SAP – sérový amyloid
- Složky komplementu C3, C4

CRP a SAP váží nukleoproteiny vzniklé při rozpadu tkání a napomáhají jejich odstraňování fagocytózou.

CRP a SAP – iniciace komplementové kaskády.

## Zvýšená syntéza:

sérových transportních proteinů: ceruloplazmin, feritin  
antimikrobiálních proteinů – hepcidin

Snižuje se tvorba albuminu, prealbuminu, transferinu.



# Nejdůležitější léky využívané k tlumení zánětlivých procesů

- nesteroidní antiflogistika (antirevmatika): kyselina acetylosalicylová, paracetamol...
- glukokortikoidy
- antimalarika
- koloidní zlato
- monoklonální protilátky proti prozánětlivým cytokinům a adhezivním molekulám

# Reparace poškozené tkáně

- Eliminace poškozených buněk makrofágy
- Aktivace fibroplastických mechanismů
- Aktivace angiogeneze
- Regenerace a remodelace tkání
- Kontrolováno hormony enzymy a cytokiny
- U chronického zánětu zvýšená sekrece TGF beta – aktivace fibroblastů – vznik fibrotické tkáně

# Mediátory zánětlivé odpovědi

- IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  - celkové zánětlivé příznaky
- IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-18 - lokální aktivace buněk imunitního systému
- IL-8, leukotrieny, prostagladiny, C5a-chemotaxe
- Histamin, serotonin, metabolity kys. arachidonové -vazodilace, ovlivnění permeability

# Monitorování akutního zánětlivého procesu

- Tělesná teplota
- Sedimentace erytrocytů (FW)
- Počet leukocytů v krvi
- Změny spektra sérových bílkovin v elektroforéze (pokles albuminu, vzestup  $\alpha 1$  a  $\alpha 2$  globulinů)
- Sledování hladin proteinů “akutní fáze”

# Innate Immunity- First Line of Defense

## Characteristics:

- rapid
- does not generate immunologic memory
- dependent upon germ line encoded receptors recognizing structures common to many pathogens

