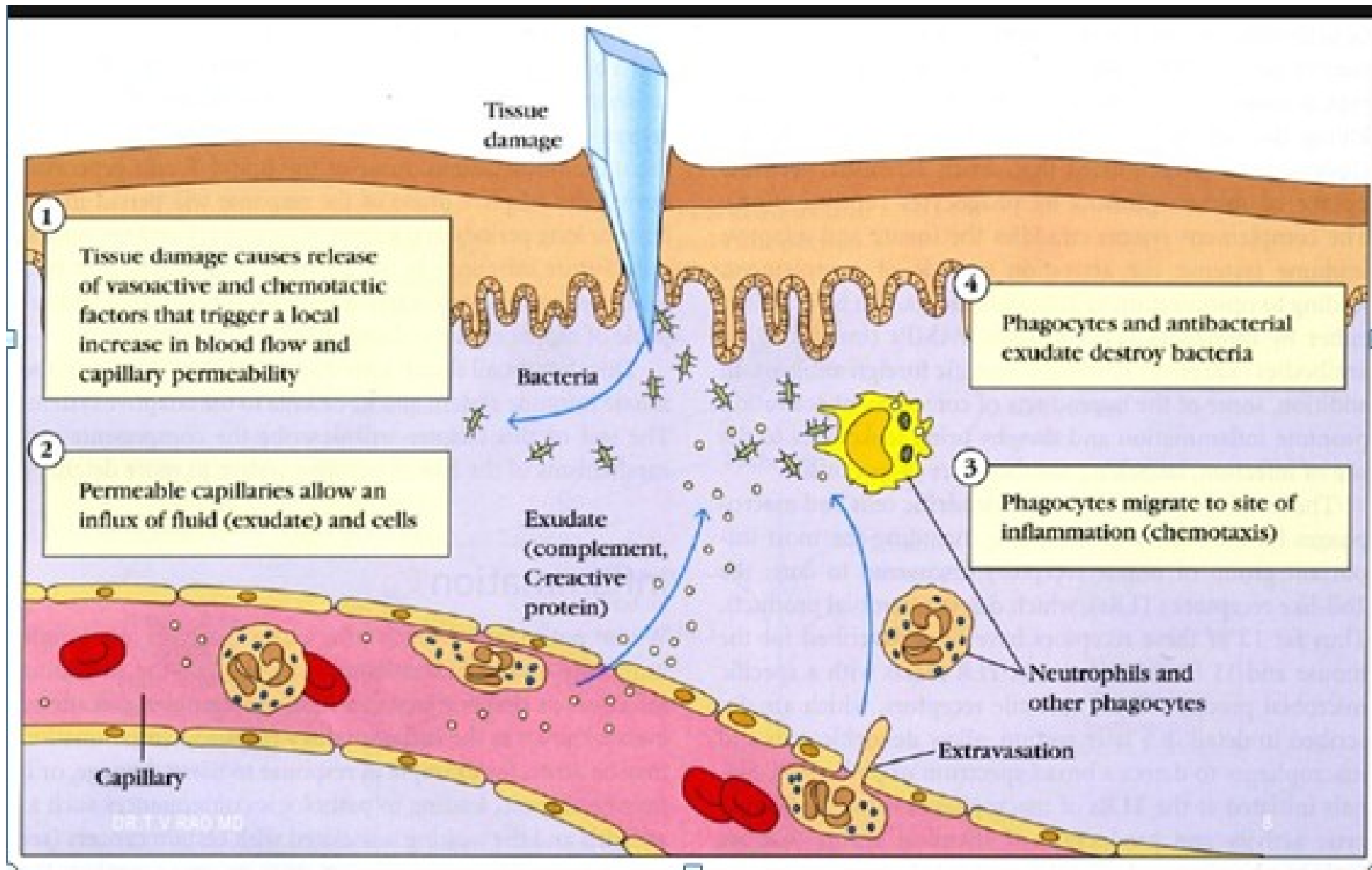


# IMUNITA VROZENÁ

Marcela Vlková



# Vrozená imunita

## Fyzikální bariéry

Kůže  
Sliznice  
Respirační trakt  
Močový trakt

## Chemické bariéry

pH (kůže 5,5, žaludek  
1-3, vagina 4,5)  
sekrece  
antimikrobiální  
peptidů  
(lysozym, defensiny,  
cathelicidiny...)

## Biologické bariéry

Mikroorganismy  
fyziologické  
mikroflóry  
(komensální  
mikroorganismy)

## Celulární složky

Makrofágy, neutrofily  
Mastocyty, eosinofily,  
bazofily  
Epitelové a  
endotelové buňky,  
erytrocyty, destičky  
NK-buňky  
Dendritické buňky

# 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

cathelicidiny (hCAP18/LL 37)      *keratinocyty*

b - defensiny (HBD - 2, HBD - 3)      *keratinocyty*

dermcidiny (DCD)      *ekkrinní potní žlázy*

# Vrozená imunita

## charakteristické rysy

- Vytvořila se k rozpoznávání cizích mikroorganismů, nikoliv vlastních molekul.
- Aktivace reakce nastává během několika minut po rozpoznání patogenu.
- Nevytváří imunologickou paměť.
- Je závislá na zárodečně kódovaných receptorech (PRR) rozeznávajících struktury společné mnoha patogenům (PAMP).

# Vrozená imunita

## charakteristické rysy

### 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 tvořený T- a B-lymfocyty naproti tomu poznává a odlišuje svými receptory různé epitopy antigenů*

# 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, lipopolysacharidy, 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	Virus
	dsRNA	Virus
	CpG	Virus, bacteria
Proteins	Pilin	Bacteria
	Flagellin	Bacteria
Cell wall lipids	LPS	Gram-negative bacteria
	Lipoteichoic acid	Gram-positive bacteria
Carbohydrates	Mannan	Fungi, bacteria
	Dectin glucans	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.		

# Vrozená imunita: charakteristické rysy

## Receptory:

- Receptory pro PAMP a DAMP jsou geneticky zakódovány v DNA příslušných buněk.
- Označují se jako „pattern recognition receptors“, **PRR**.
- Přítomny na nebo v buňkách (např. TLR, NLR)
- Nebo jako solubilní (např. CRP, MBL).
  
- Naproti tomu u adaptivní imunity receptory lymfocytů T a B vznikají somatickým přeskupováním genů.

# 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).

# 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.

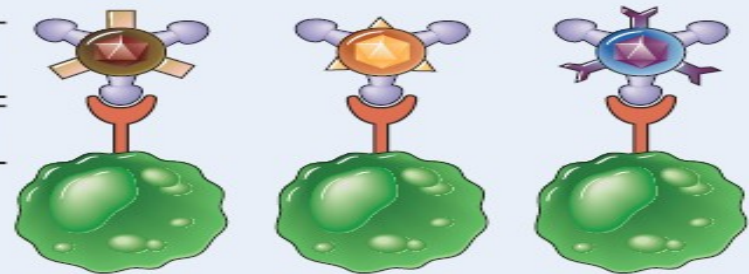
# PRR- Pattern Recognition Receptors

## Innate Immunity

Specificity

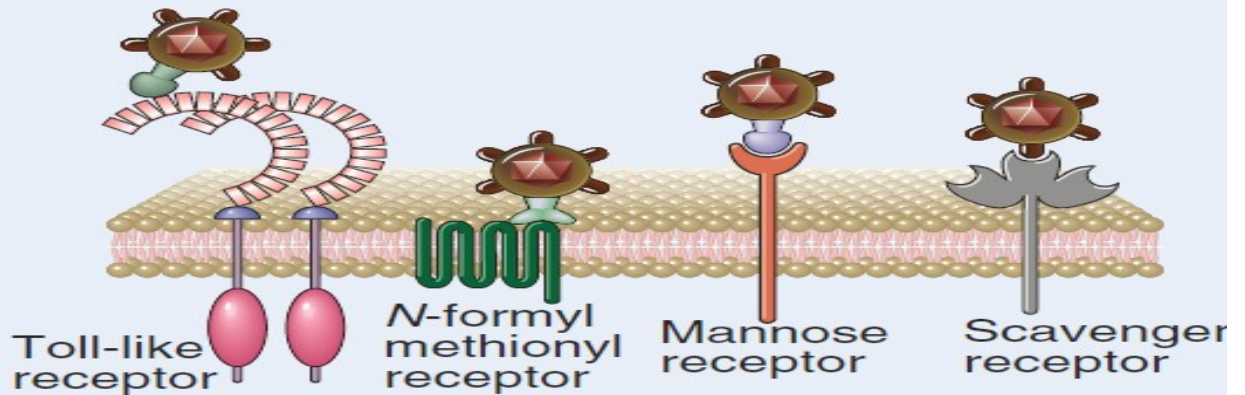
For structures shared by classes of microbes (pathogen-associated molecular patterns)

Different microbes  
Identical mannose receptors



Receptors

Encoded in germline; limited diversity (pattern recognition receptors)



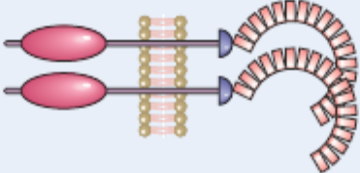


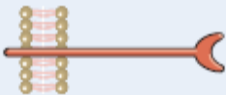
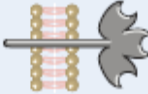

Distribution of receptors

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


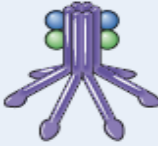


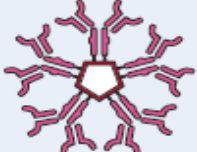
Cell-Associated Pattern Recognition Receptors	Location	Specific Examples	PAMP/DAMP Ligands
Toll-like receptors (TLRs) 	Plasma membrane and endosomal membranes of dendritic cells, phagocytes, B cells endothelial cells, and many other cell types	TLRs 1-9	Various microbial molecules including bacterial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

# PRR- Pattern Recognition Receptors

- **TLR** (Toll-like receptor): TLR 1 -11  
v buněčné membráně (např. TLR 2, 4)  
v endosomech ( TLR 3, 7, 9).
- **RLR** (RIG-I-like receptor):  
intracelulární (reakce s viry, tvorba IFN $\alpha$ ).
- **NLR** (Nod-like receptors): např. NOD2, NALP3  
v cytoplasmě, složky inflamazomů.
- **CLR** (C-type lectin receptor)  
poznávají nekrotické buňky, manosové zbytky.



# 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, plísň 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  $\alpha, \beta, \gamma$ ,  $\text{TNF}\alpha$ , IL-1, IL-6, chemokiny)

# 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).

# Aktivace aneb cesty komplementového systému

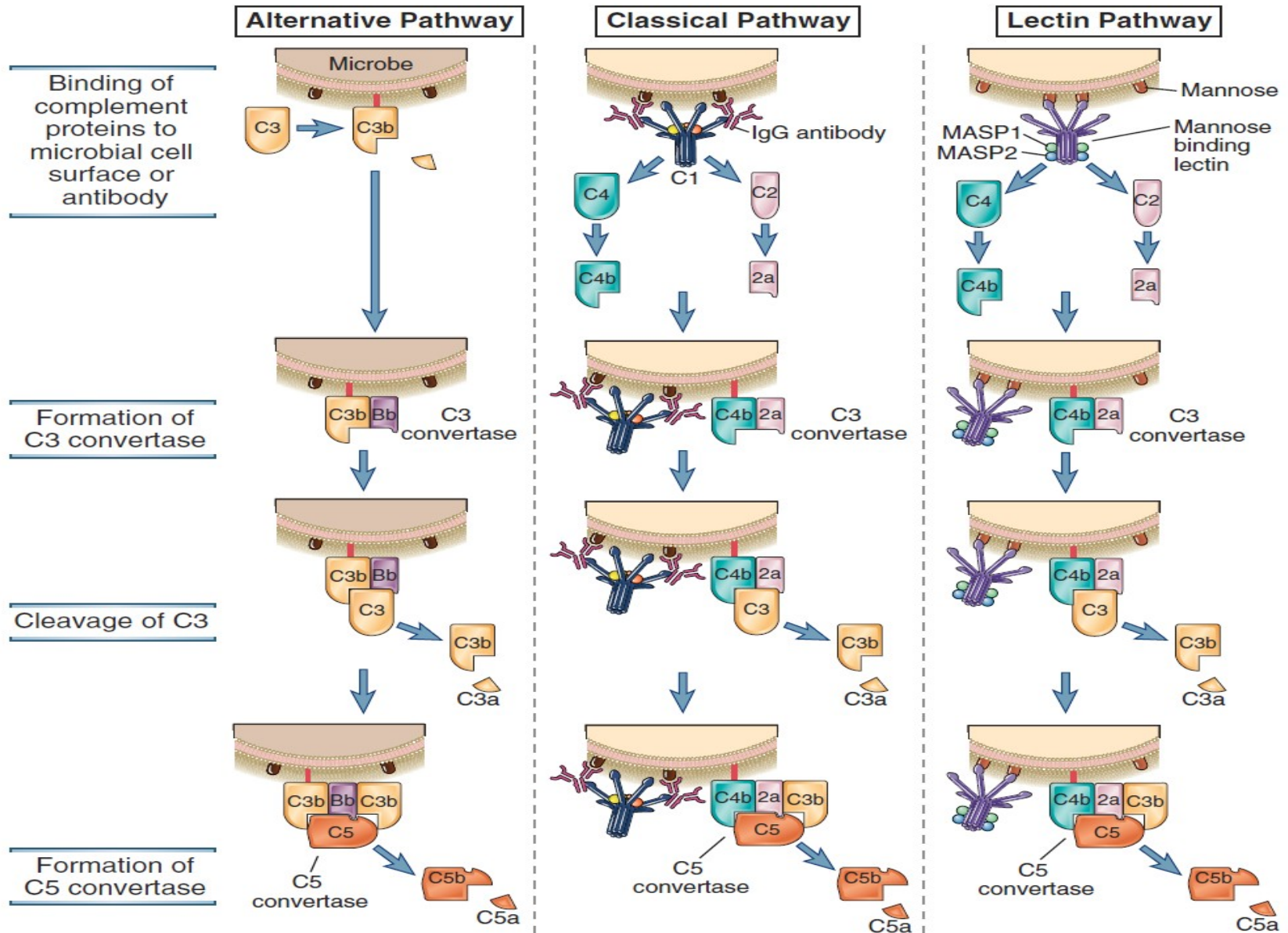
**Klasická** - spouštěna vazbou C1q na Fc úsek molekuly IgG nebo IgM, nebo C-reaktivní protein.

**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.

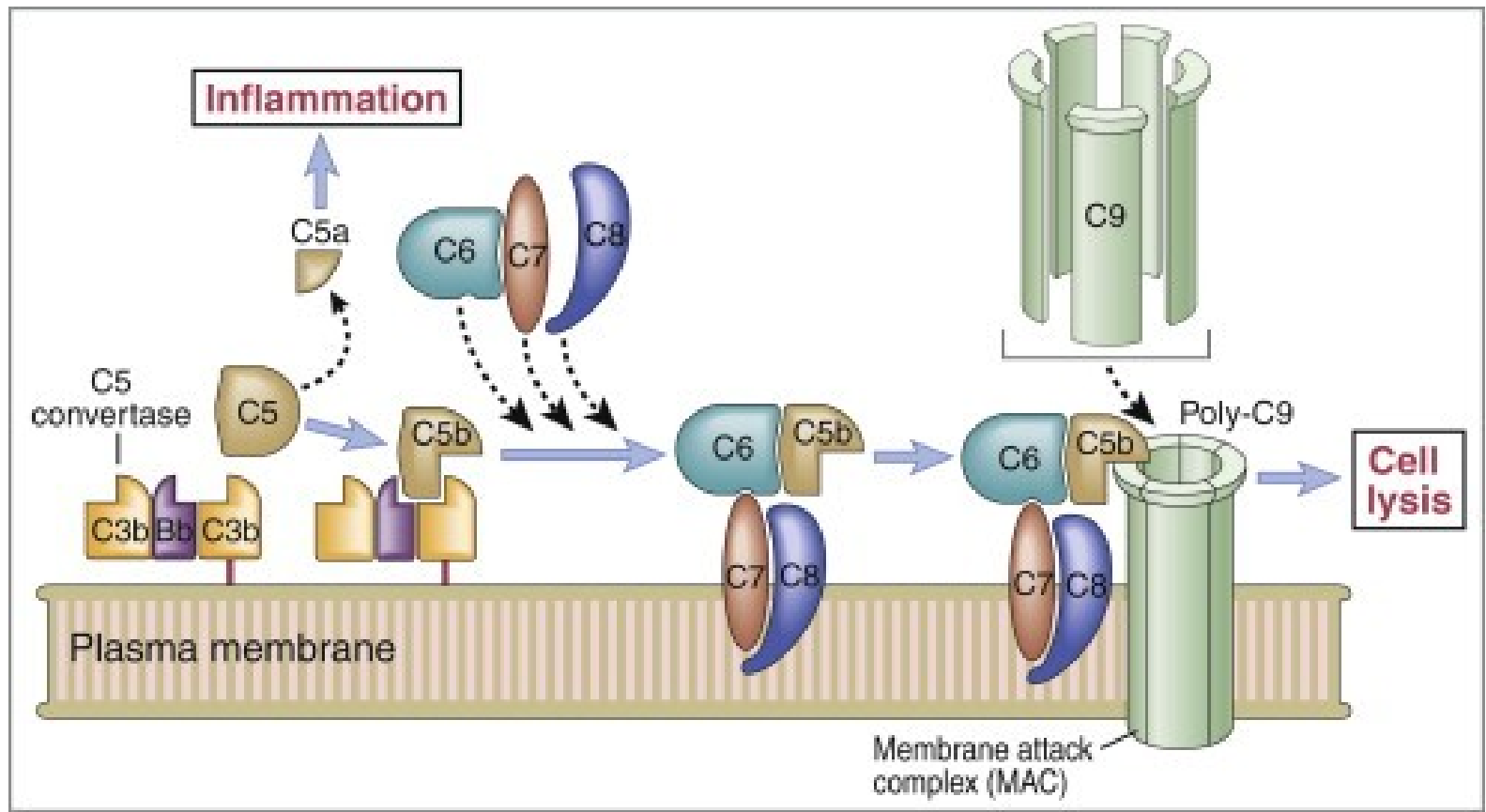
# Aktivace komplementového systému



# Aktivace komplementového systému

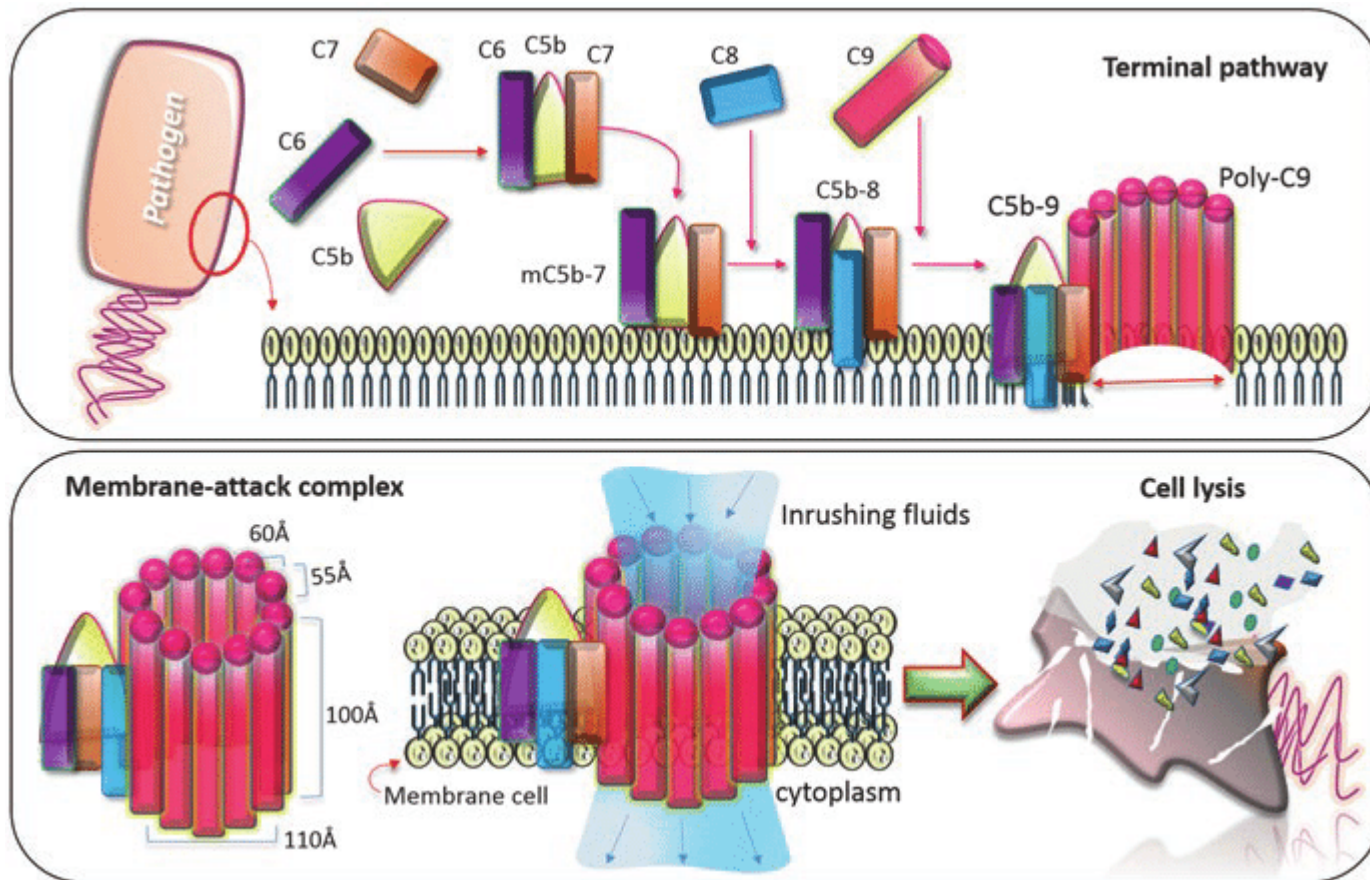
- Do úrovně složky C5b probíhá cestou enzymatické kaskády.
- Od aktivované složky C5b dochází k neenzymatickému sestavení komplexu napadajícího membránu - MAC = Membrane Attact Complex.
- Výsledkem je lýza buňky.

# Membranolytický komplex

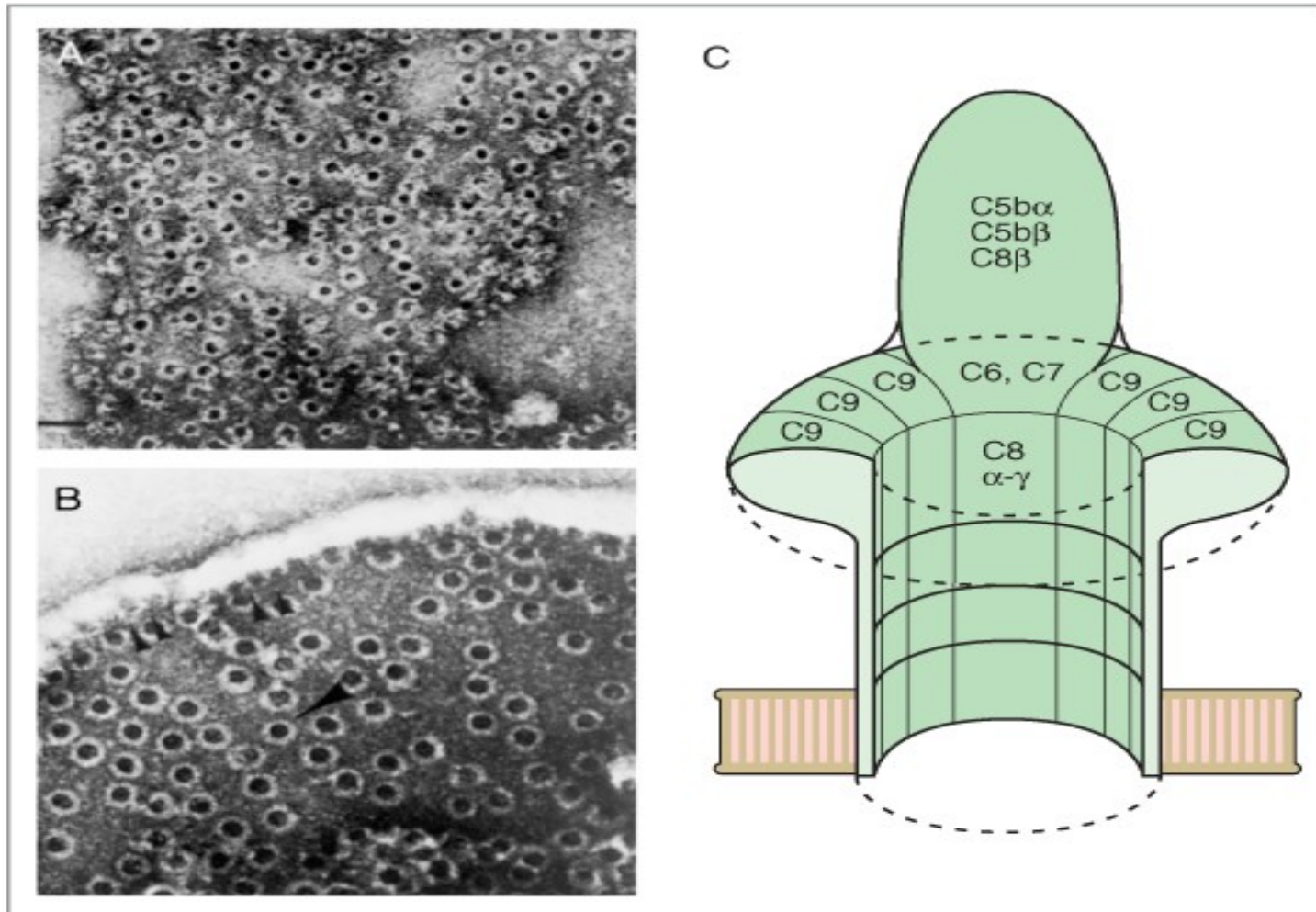




# Membranolytický komplex



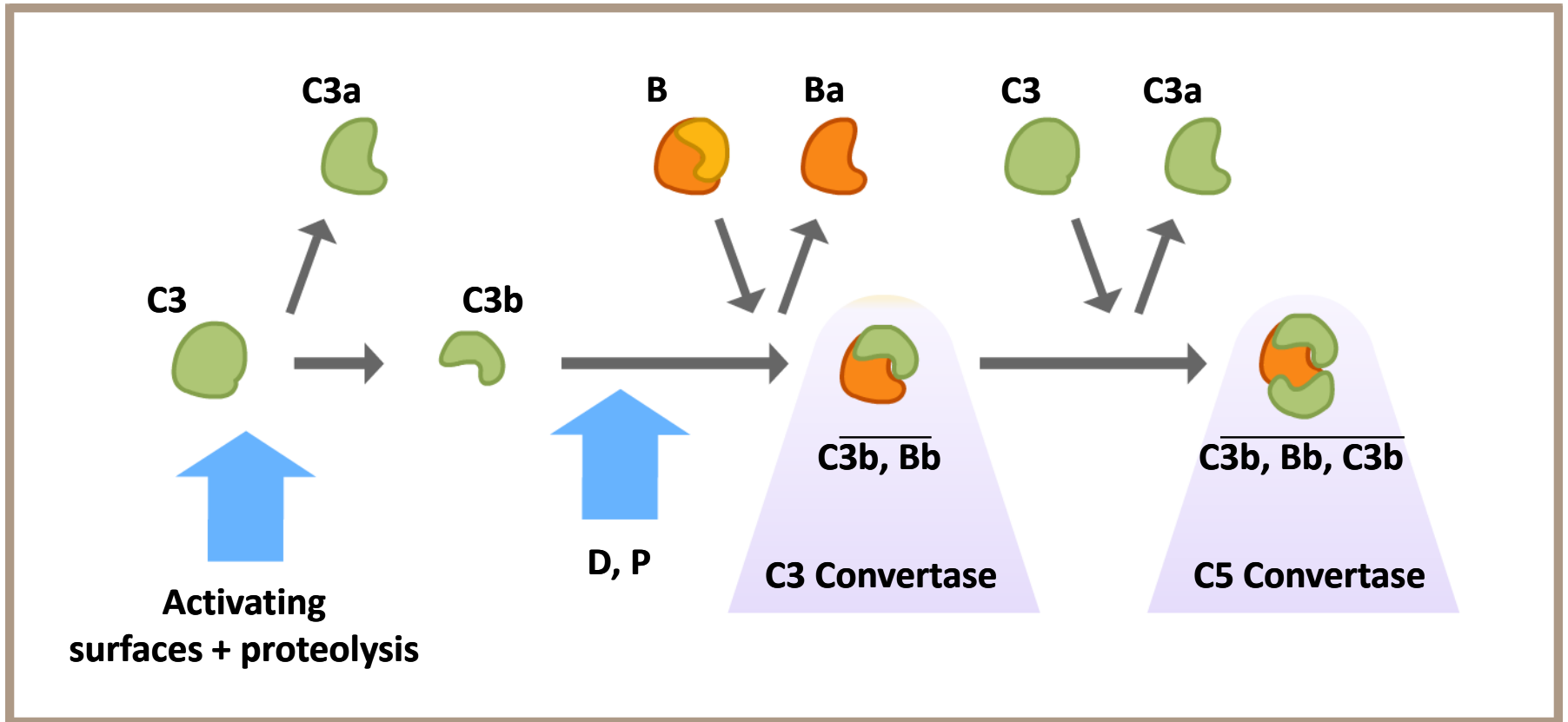
# Membranolytický komplex



# 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)


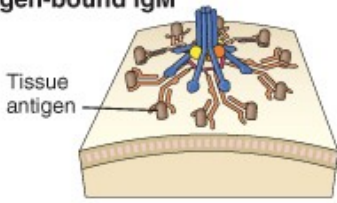

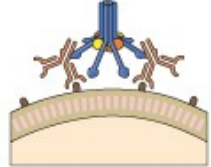
# Aktivace alternativní dráhy komplementového systému



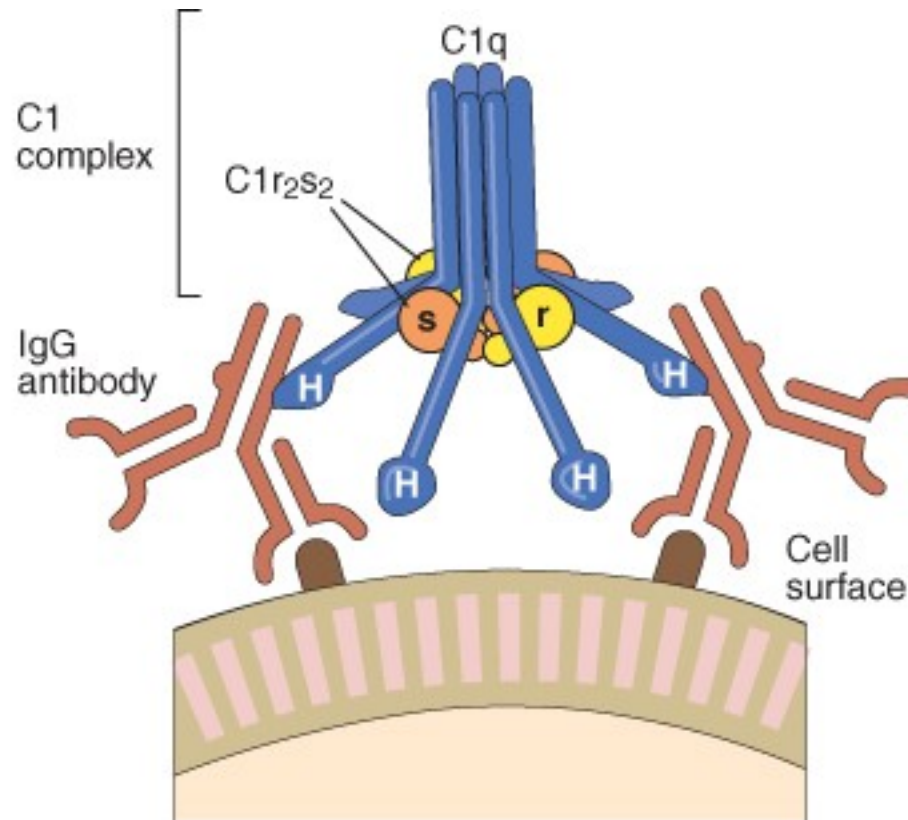
# Klasická dráha komplementového systému

- 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

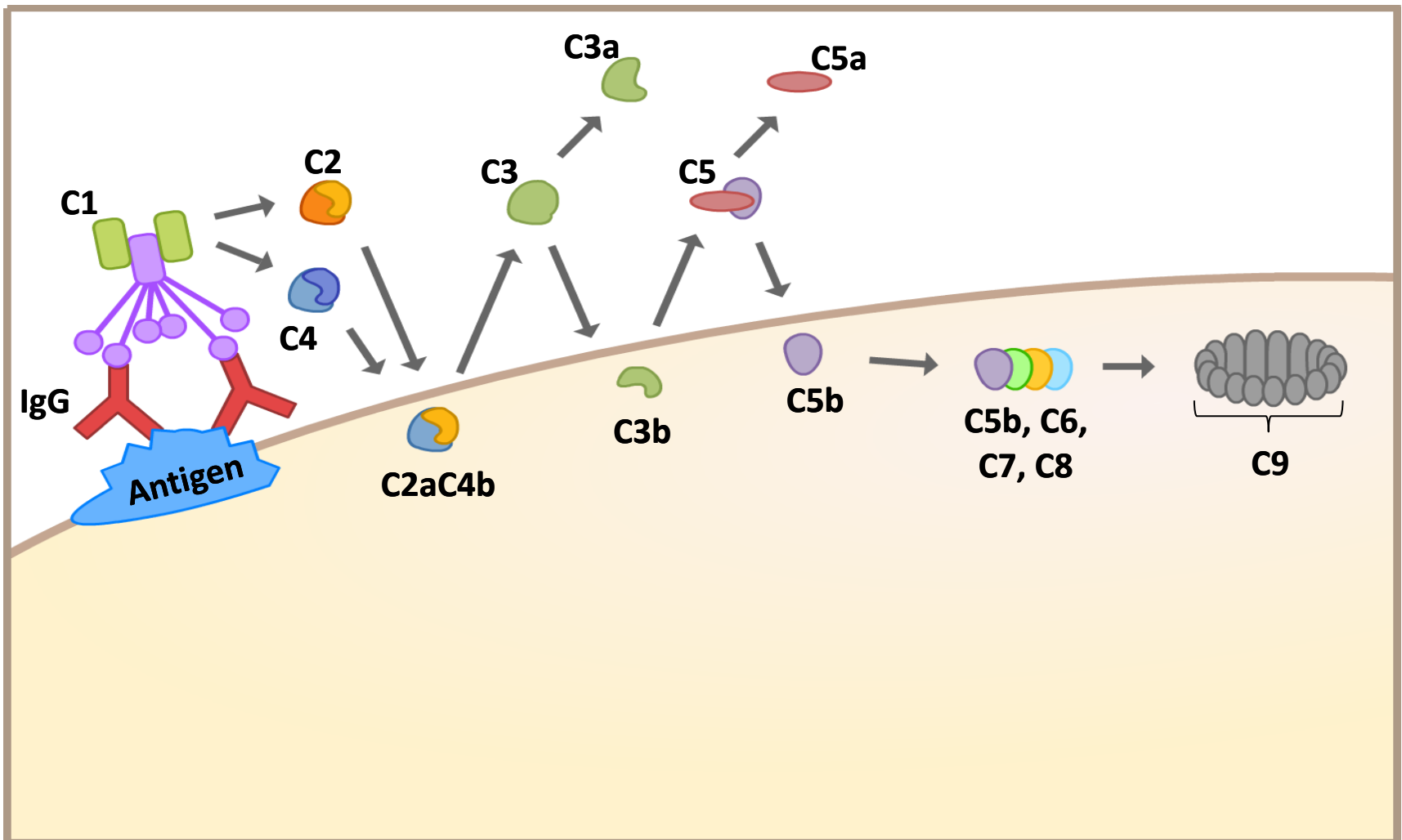
# Klasická dráha aktivace komplementu

		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

# Jednotka C1

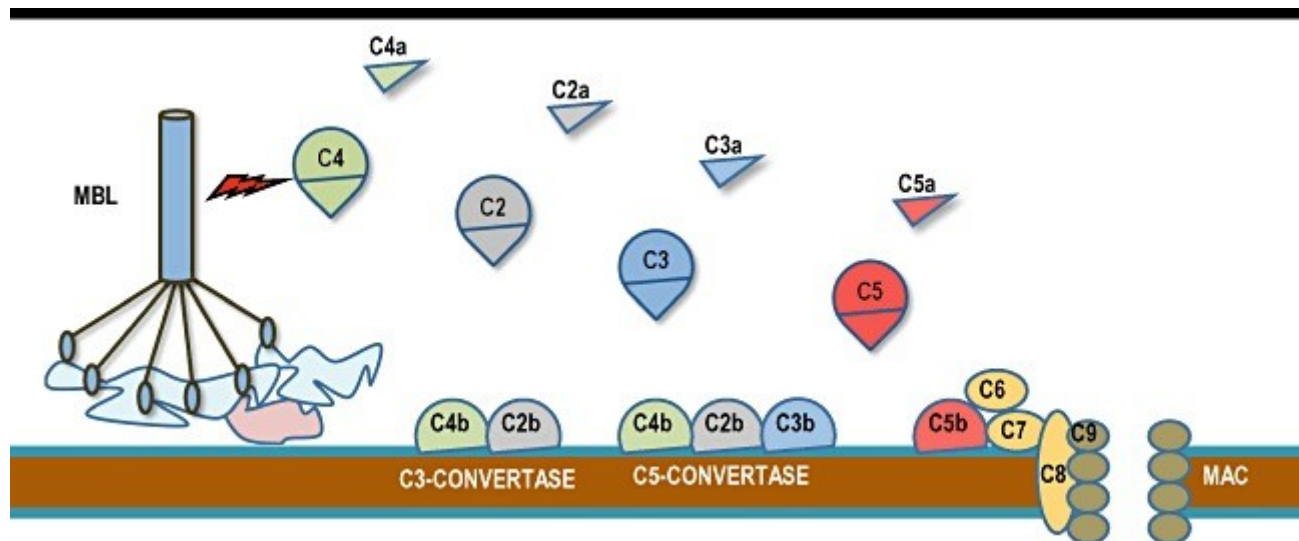


# Aktivace klasické cesty komplementového systému

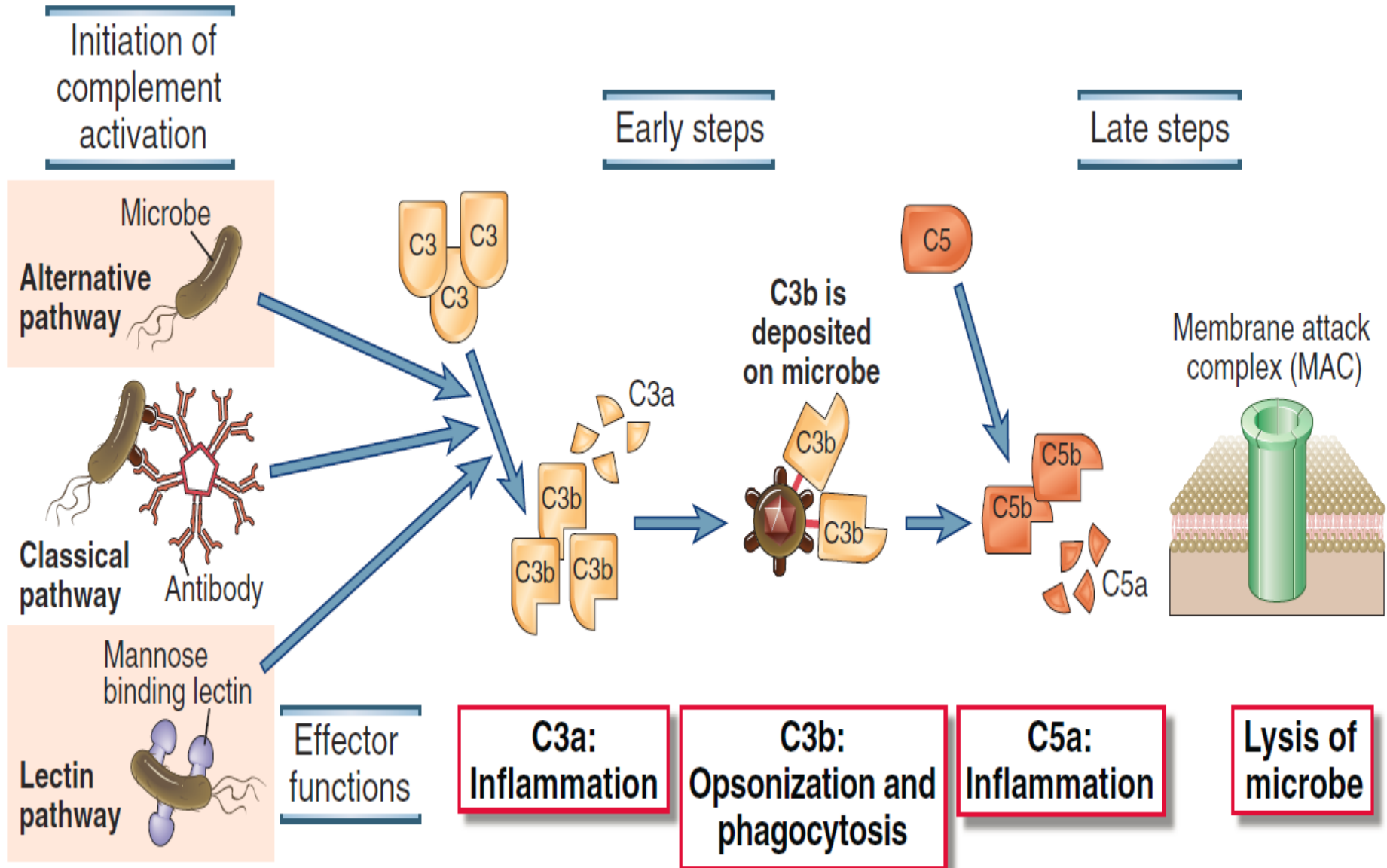




# Lektinová cesta aktivace komplementu



# Aktivace komplementového systému



# 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

# 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.

# 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.

# Funkční vyšetření klasické dráhy

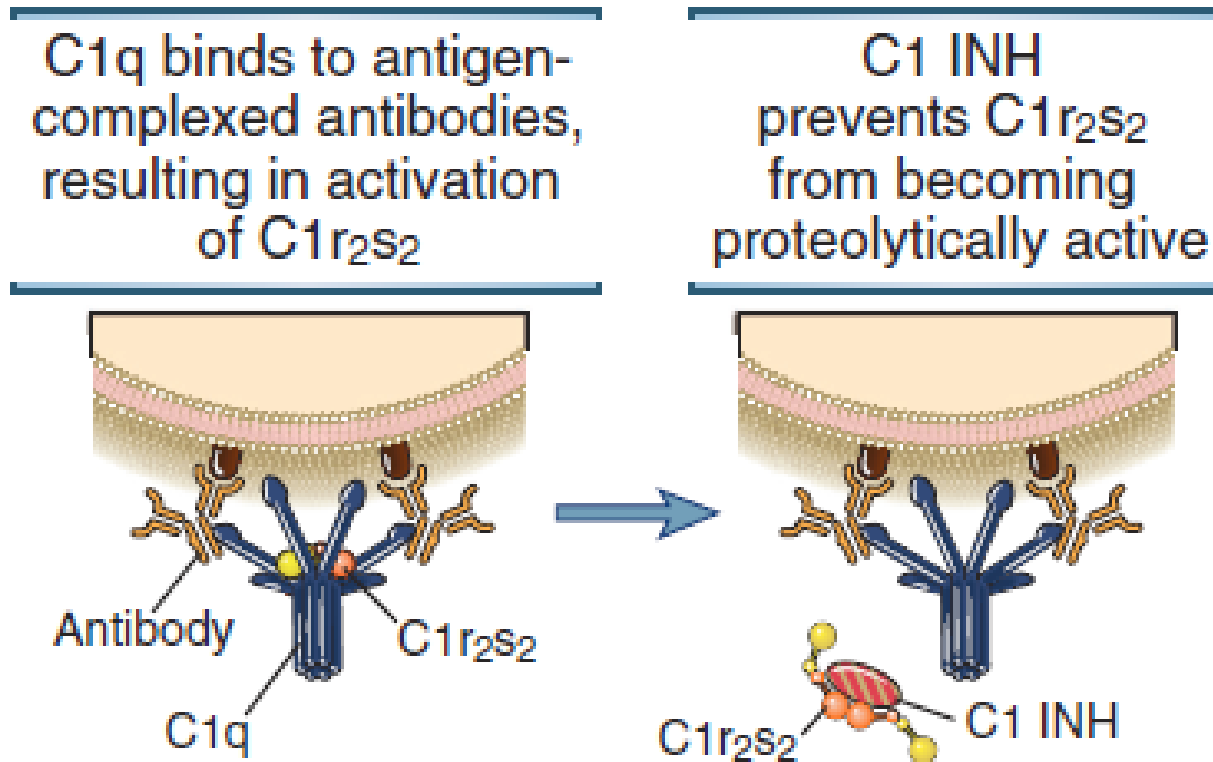
## Hemolytický test CH50

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

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



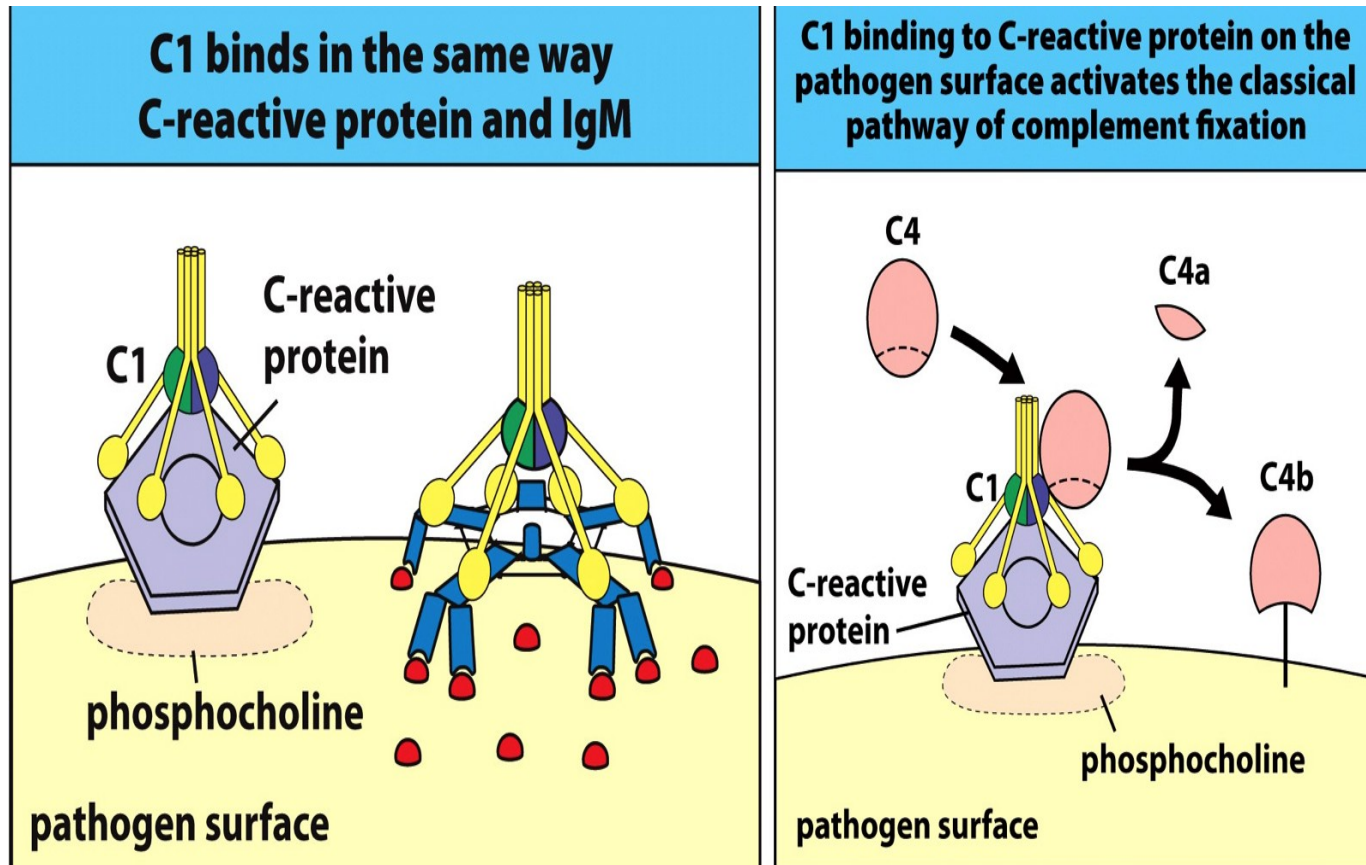
# Funkce C1-INH



# 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.

# CRP aktivuje komplement klasickou cestou



# Úloha komplementového systému při likvidaci apoptotických tělísek

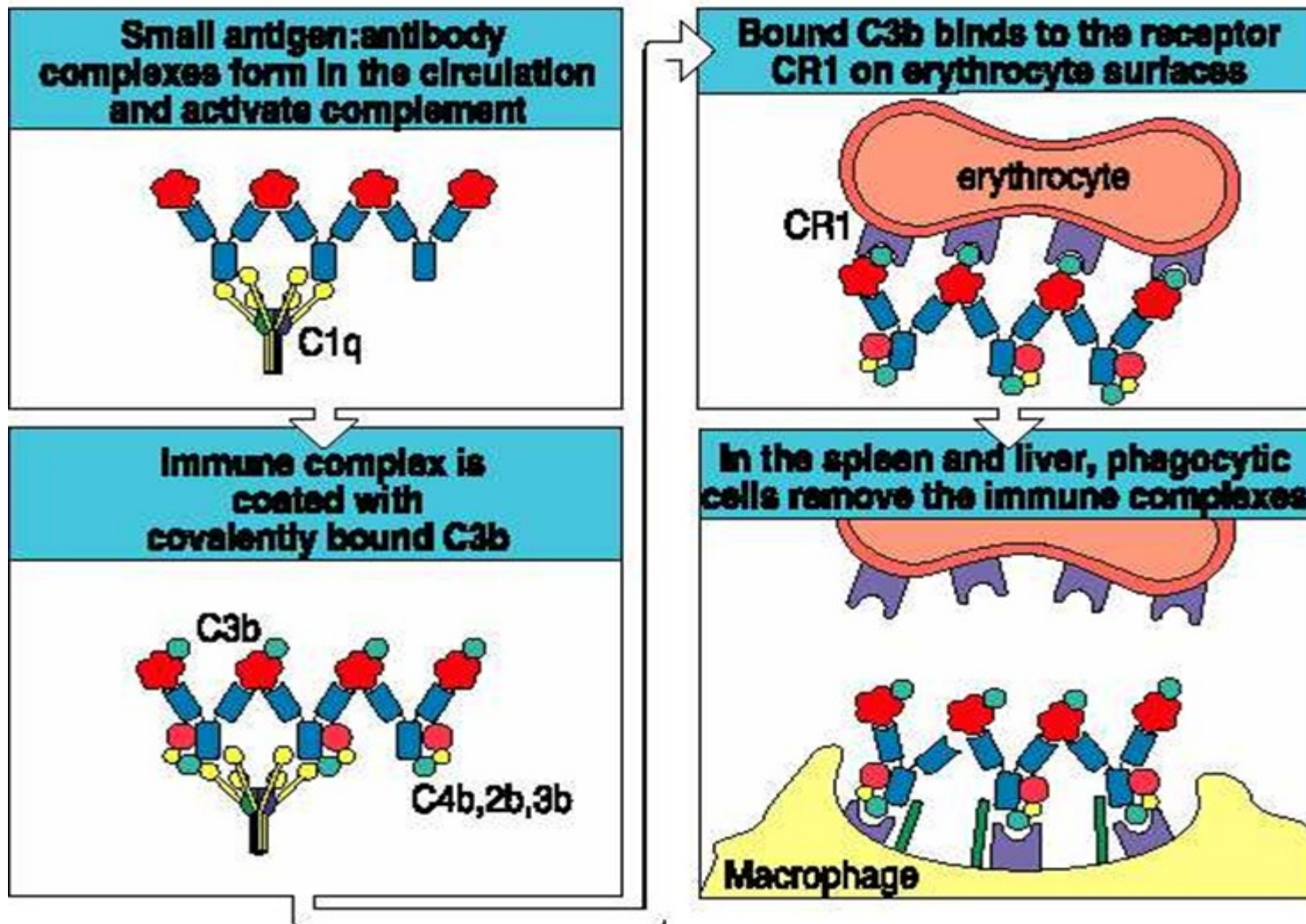
- Makrofágy a dendritické buňky lokálně produkují C1q – vazba na dsDNA, Hsp, annexin kalretikulin.
- Podobně se váže MBL a fikoliny.
- Označená apoptotická tělíska jsou internalizována fagocytem x nevyvolává zánětlivou reakci.
- Je inhibována tvorba inflamasomu.
- Produkce protizánětlivých cytokinů, např. IL-10.
- APC po pohlcení a při prezentaci Ag z apoptotických tělísek exprese kostimulačních molekul PD-L1,2 brání aktivaci T-lymfocytů a napomáhají diferenciaci Th0 do T-reg.

# Receptory pro složky komplementu

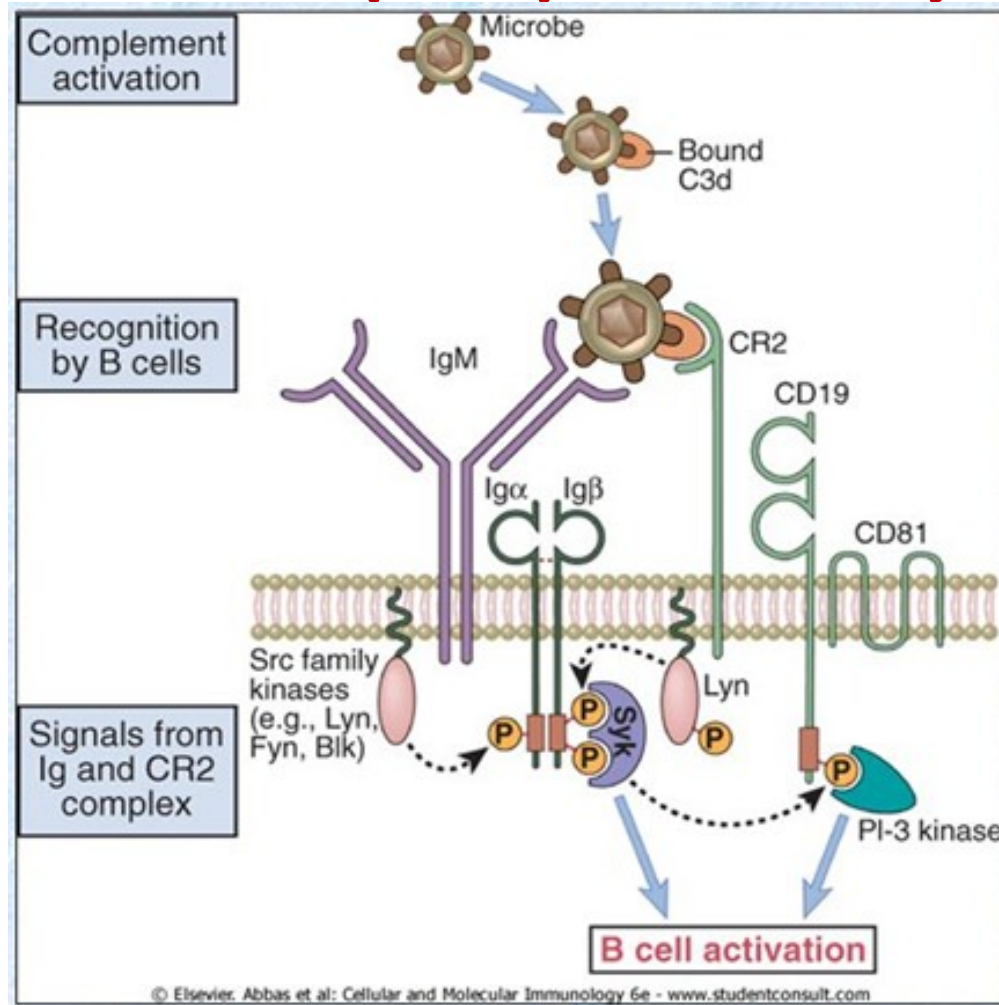
- CR1- ( CD35) – na erythrocytech, leukocytech, folikulárních dendritických buňkách.
- Podílí se na mechanismech likvidace patogenů a imunitních komplexů opsonizovaných složkou C3b.
- Imunokomplexy jsou označeny složkou C3b, která je navázána na Fc fragment IgG – přes CR1 jsou tyto IK vychytávány erythrocyty z tělních tekutin.
- Staré erythrocyty migrují do červené pupy sleziny, kde jsou odstraňovány specializovanými makrofágy.

# Funkce CR1 receptoru

Figure 7.37



# CD21/CR2 komplementární receptor jako Co-receptor pro B buňky



# CR3, CR4

- CR3 (CD11b/CD18)
- CR4 (CD11c/CD18)
- Obě adhezivní molekuly integrinové rodiny
- Adherence a ingesce fagocytujících buněk



# Komplementový systém

- 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

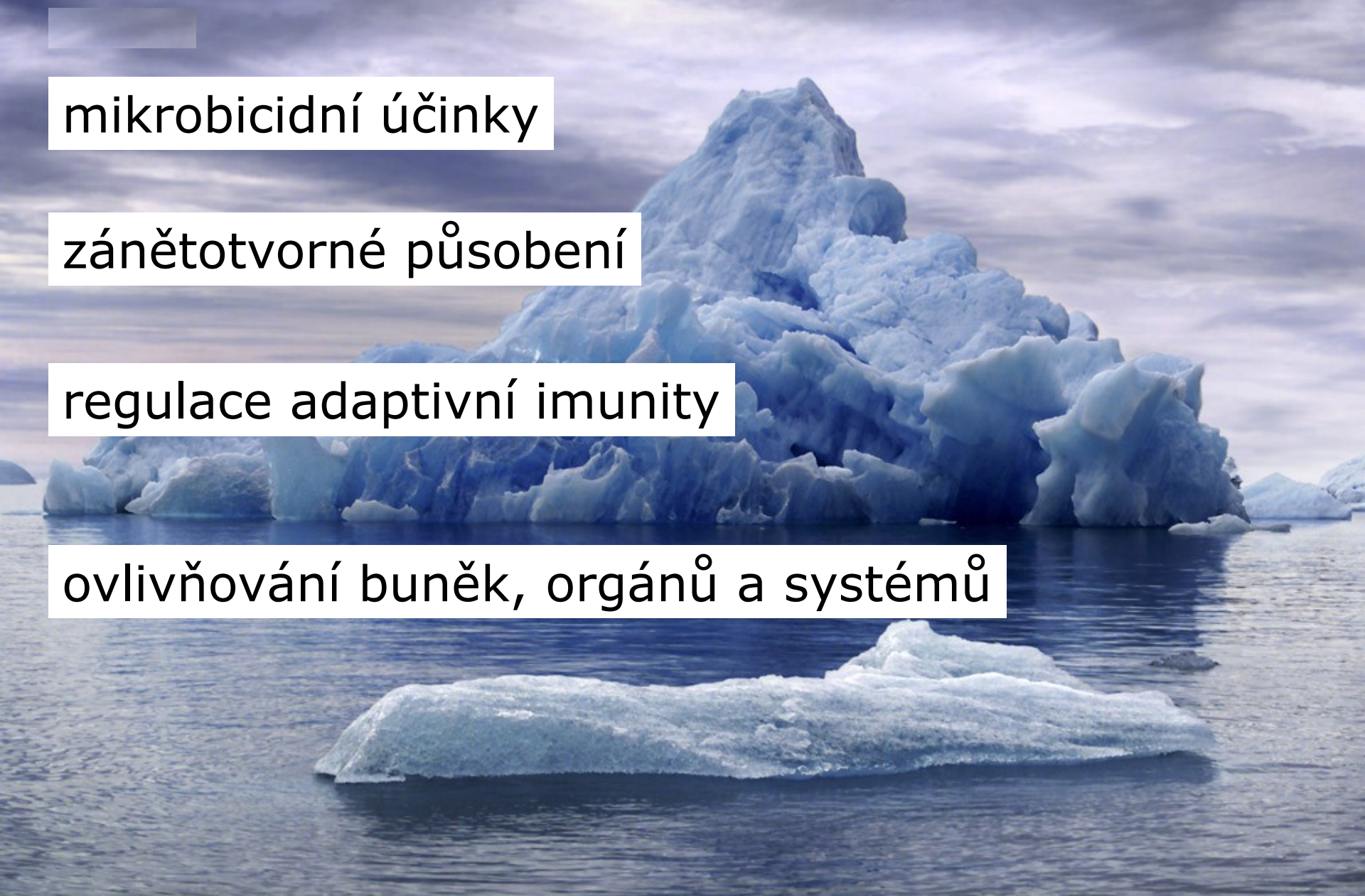
# Komplementový systém je pilířem imunity

mikrobicidní účinky

zánětotvorné působení

regulace adaptivní imunity

ovlivňování buněk, orgánů a systémů



# Celulární složky vrozené imunity



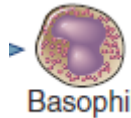
Erythrocyte

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, TNFalfa...) chemokiny, úloha v časně fázi zánětu.

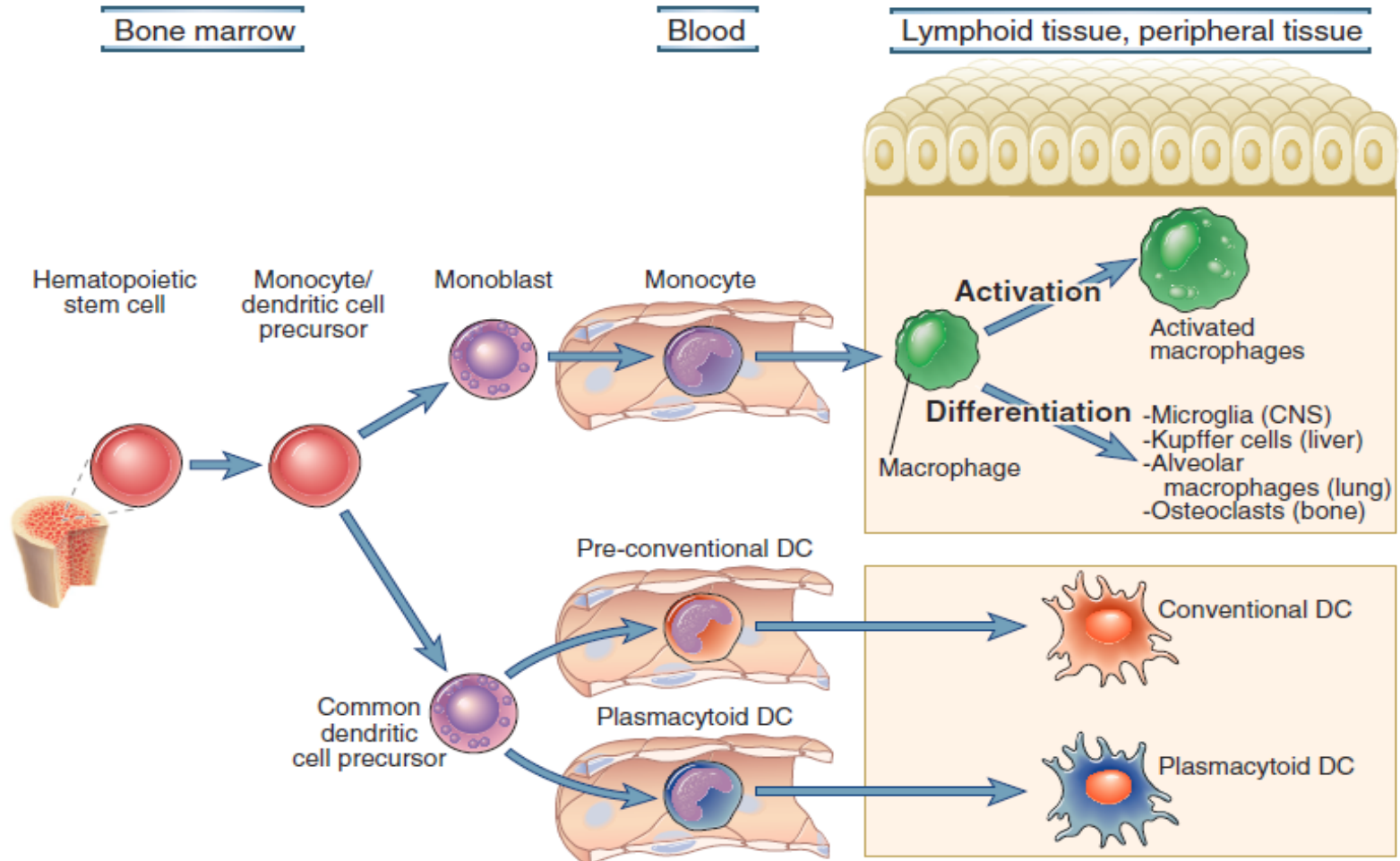
# Celulární složky vrozené imunity

## 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.**

# Buňky imunitního systému – monocyty, makrofágy, dendritické buňky



# 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

# Mechanismy nitrobuněčného zabití nezávislé na kyslíku

- Proteolytické enzymy: serinové, cysteinové a aspartátové proteinázy a metaloproteinázy – narušení proteinového obalu mikroorganismů a degradace bílkovin.
- Katepsin G, neutrofilní elastáza...
- Optimální prostředí – nízké pH.



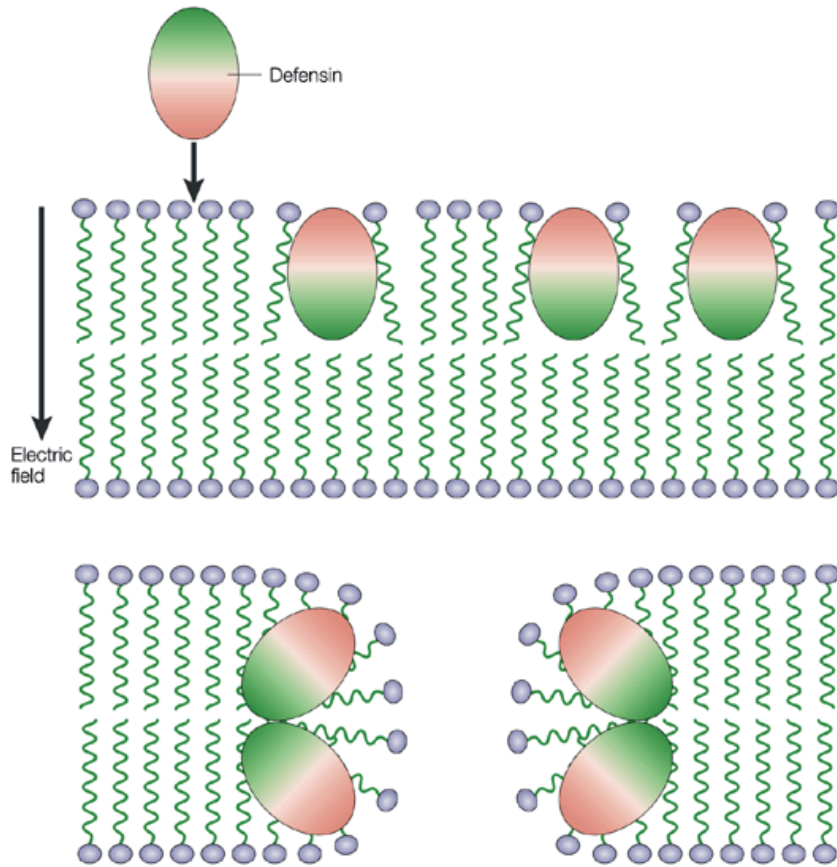
# Mechanismy nitrobuněčného zabití nezávislé na kyslíku

- Antimikrobiální protein azurocidin – chemotaktické, prozánětlivé a baktericidní vlastnosti.
- Bactericidia Permeability Increasing Protein (BPI)– vazba na lipopolysacharidy buněčné stěny bakterií, inhibice růstu a zvyšování permeability bakteriálních obalů.
- Fosfolipázy – narušení fosfolipidové membrány mikroorganismů.
- Lysozam – muraminidáza – štěpení glykosidických vazeb v bakteriálních peptidoglykanech.
- Laktoferin – vazba železa, které bakterie potřebují pro svůj růst.

# Mechanismy nitrobuněčného zabití nezávislé na kyslíku

- Katelcidiny - neutralizace lipoplyсахaridů buněčných obalů mikrobů.
- Defenziny – štěpení membrán Gram-negativních mikrobů.
- Lysozam – muraminidáza – štěpení glykosidických vazeb v bakteriálních peptidoglykanech u Gram pozitivních bakterií.

# Funkce defensinů



# Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

## 1. závislý na kyslíku

Reaktivní metabolity kyslíku ( $H_2O_2$ , HOCl-hydroxylový radikál, superoxidový aniont, singletový kyslík( $O_2$ ))

Reaktivní dusíkové metabolity (NO,  $NO_2$ )

Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy, RNAsy

## 2. nezávislý na kyslíku

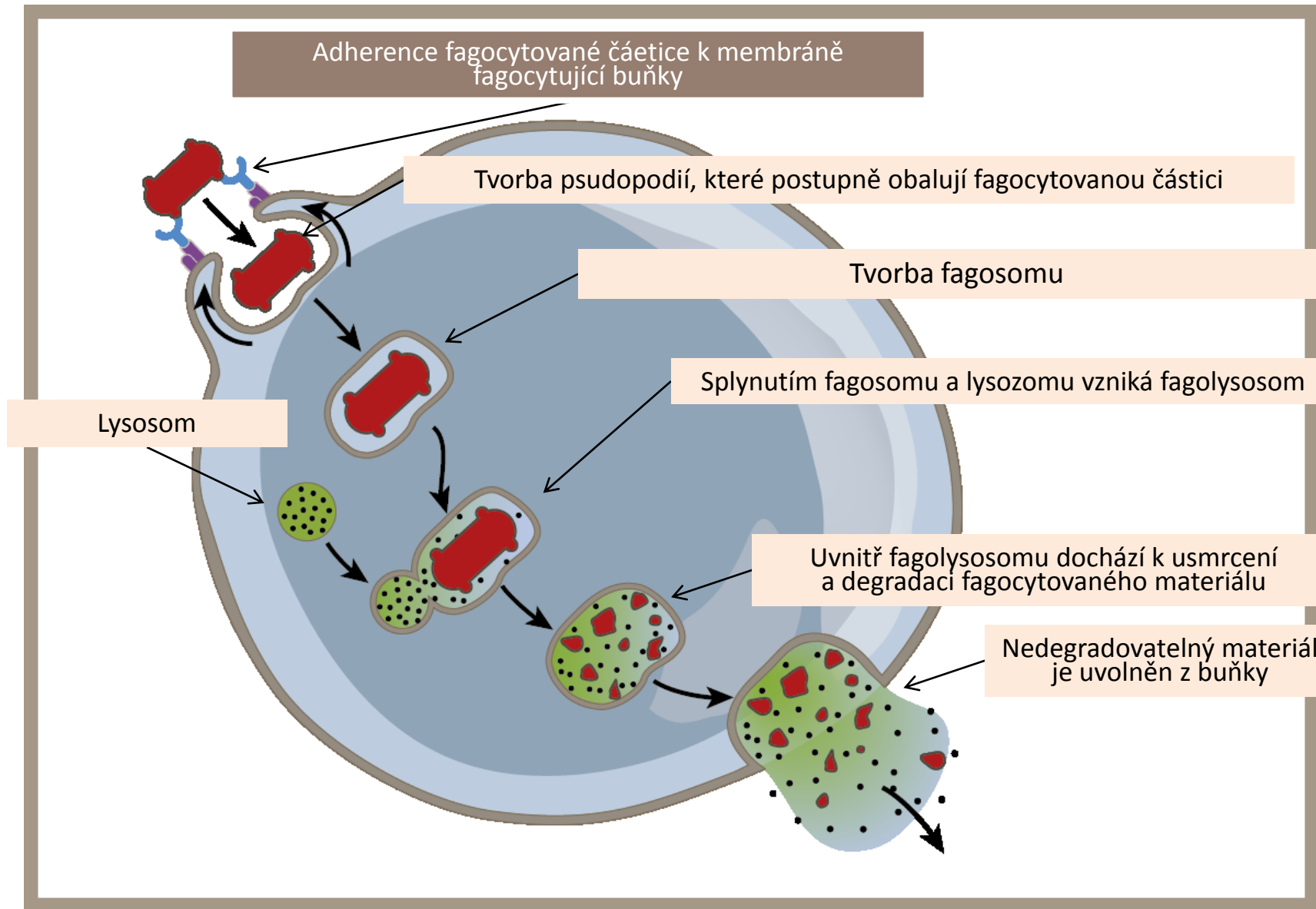
Nízké pH

Lysozym

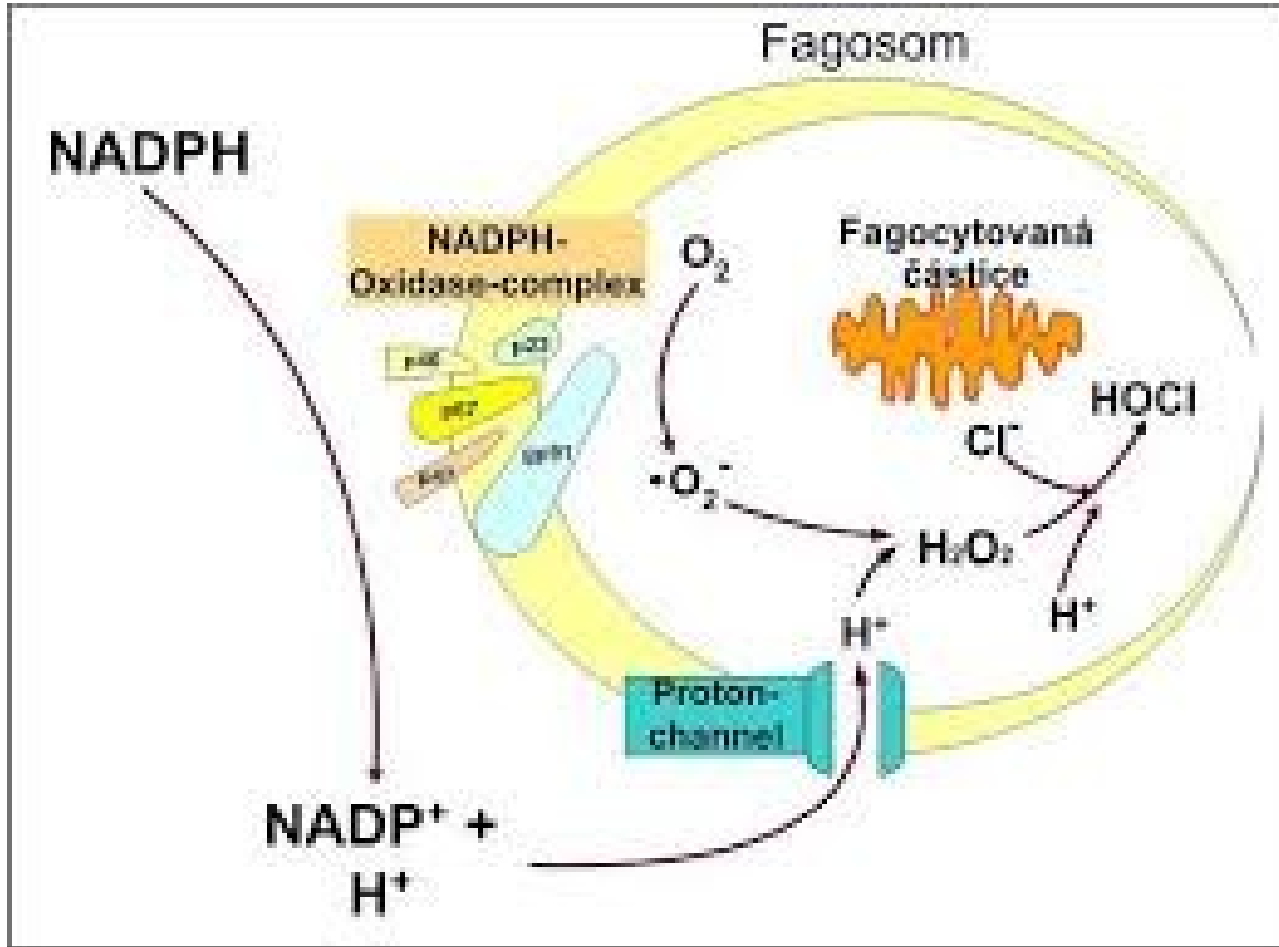
Lactoferin

Defenziny – antimikrobiální polypeptidy

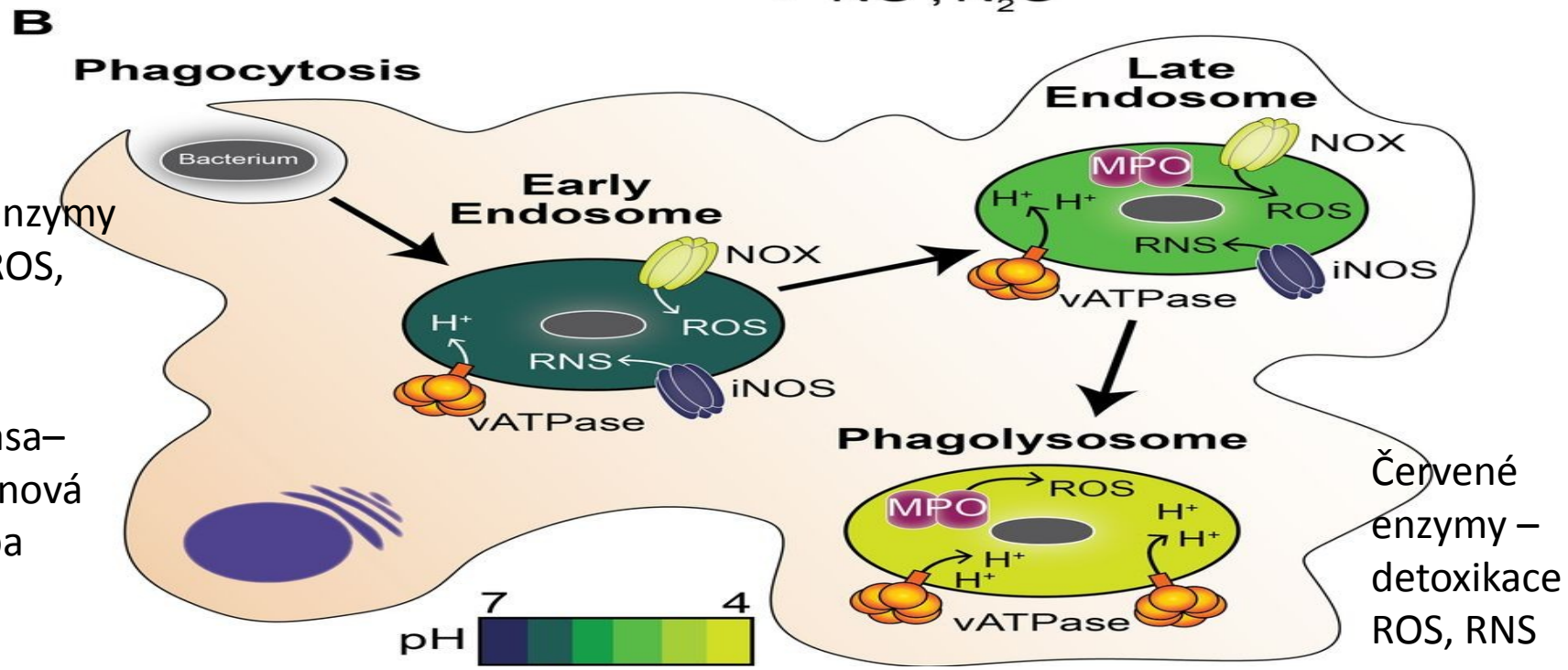
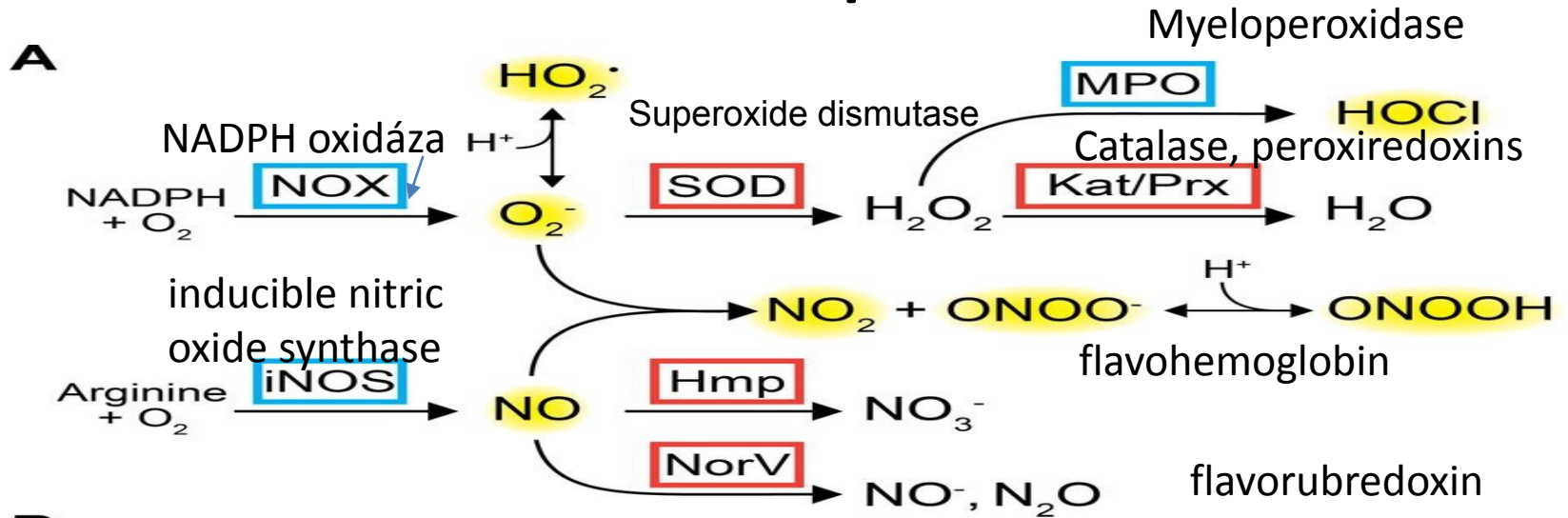
# Fagocytóza



# Oxidační vzplanutí – NADPH oxidáza



# Oxidační vzplanutí



# Reaktivní metabolity oxidačního vzplanutí

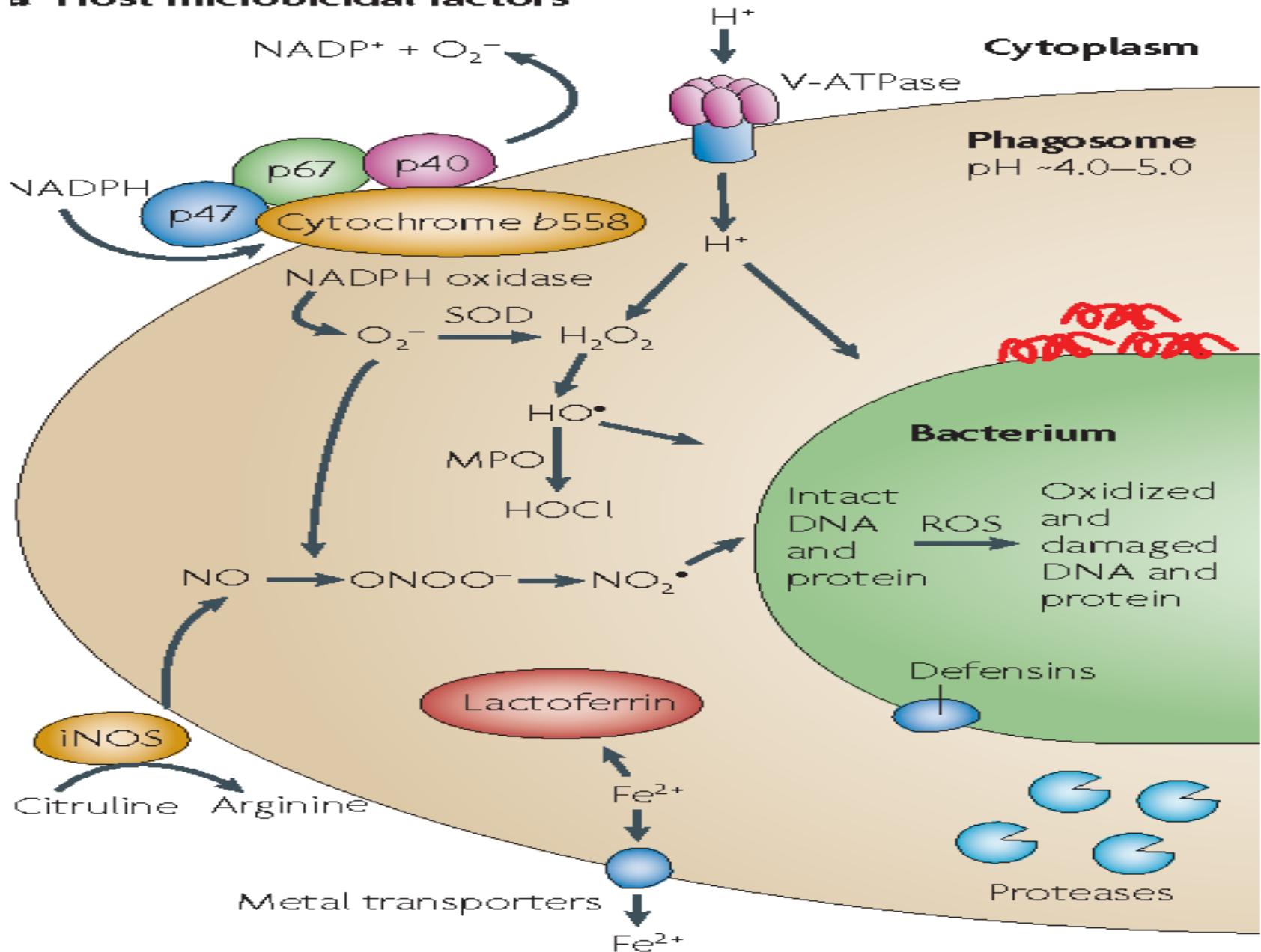
## Reactive molecules

Molecule	Chemical formula	Source(s) <sup>a</sup>	Primary target(s)
Hydrogen peroxide	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Superoxide dismutase, incomplete reduction of O <sub>2</sub>	Fe-S clusters, proteins
Hydroxyl radical	HO·	Fenton chemistry, incomplete reduction of O <sub>2</sub>	DNA
Hypochlorous acid	HOCl	MPO	Proteins
Nitric oxide	·NO	iNOS	Proteins, metals
Nitrogen dioxide	·NO <sub>2</sub>	Spontaneous reaction of ·NO and O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Proteins
Nitroxyl radical	NO <sup>-</sup>	Product of NorV-mediated NO reduction	Proteins
Peroxynitrite	ONOO <sup>-</sup>	Spontaneous reaction of ·NO and O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Proteins, DNA, metals
Superoxide anion	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NOX, incomplete reduction of O <sub>2</sub>	Fe-S clusters



# Fagocytóza shrnutí

## a Host microbicidal factors



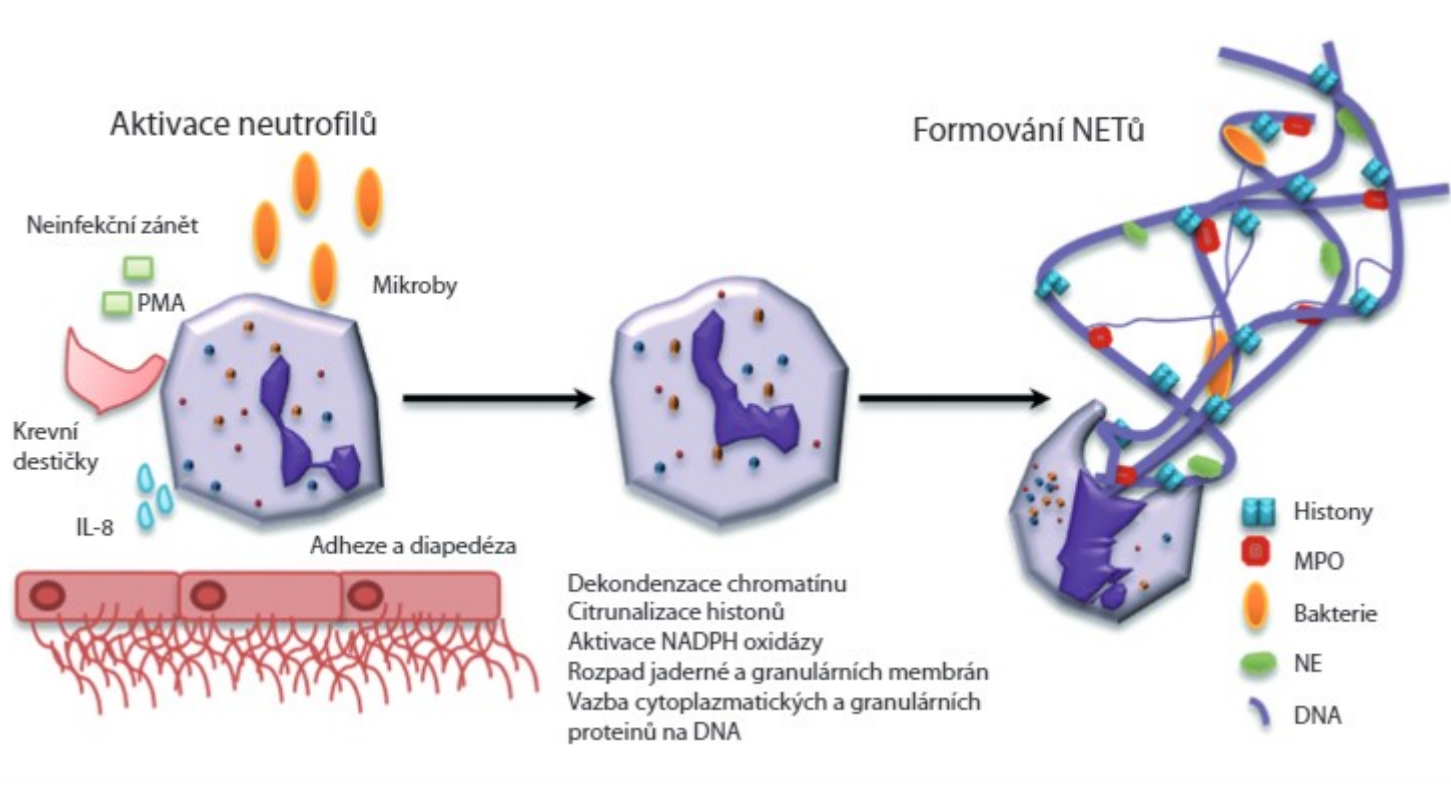
# Netóza - NET

- Tvorba neutrofilních extracelulárních sítí (Neutrophil Extracelular Traps NET)
- Schopné zachytit a pomocí antimikrobiálních složek zneškodnit mikroorganismy.
- Zahájena cytokinovou aktivací , LPS nebo kyselinou phorbomystatovou.
- Aktivované neutrofily putují do místa zánětu
- Uvolnění sítě dekonzenzovaného chromatinu do extracelulárního prostoru.
- Součástí netózy je DNA = silným alarminem pro imunitní systém.
- Zvýšená tvorba NETs nebo problémy s jejich odbouráváním a likvidací
  - patogeneze některých autoimunitních onemocnění SLE, RA, diabetes mellitus...
- NETs či jejich komponenty
  - ovlivňovat onemocnění či míru poškození okolní tkáně
  - korelují se závažností onemocnění

# NETs

- zachytávají gram- pozitivní i negativní bakterie a houby
- lokálně NETs poskytují vysoké koncentrace baktericidních látek, které efektivně zabraňují šíření infekce
- při netóze nemusí nutně neutrofily umírat.
- malé procento neutrofilů během netózy zůstává životaschopné a schopné vykonávat své antimikrobiální funkce, jako jsou migrace, chemotaxe či fagocytóza. Tato tzv. „vitální“ netóza začíná 5–60 minut po stimulaci, proto má větší smysl při velmi rychle se šířících infekcích
- Patogeny se „nalepí“ na NETy na základě iontových interakcí
- Obrana proti bakteriím, kvasinkám – Candida, virům i parazitům

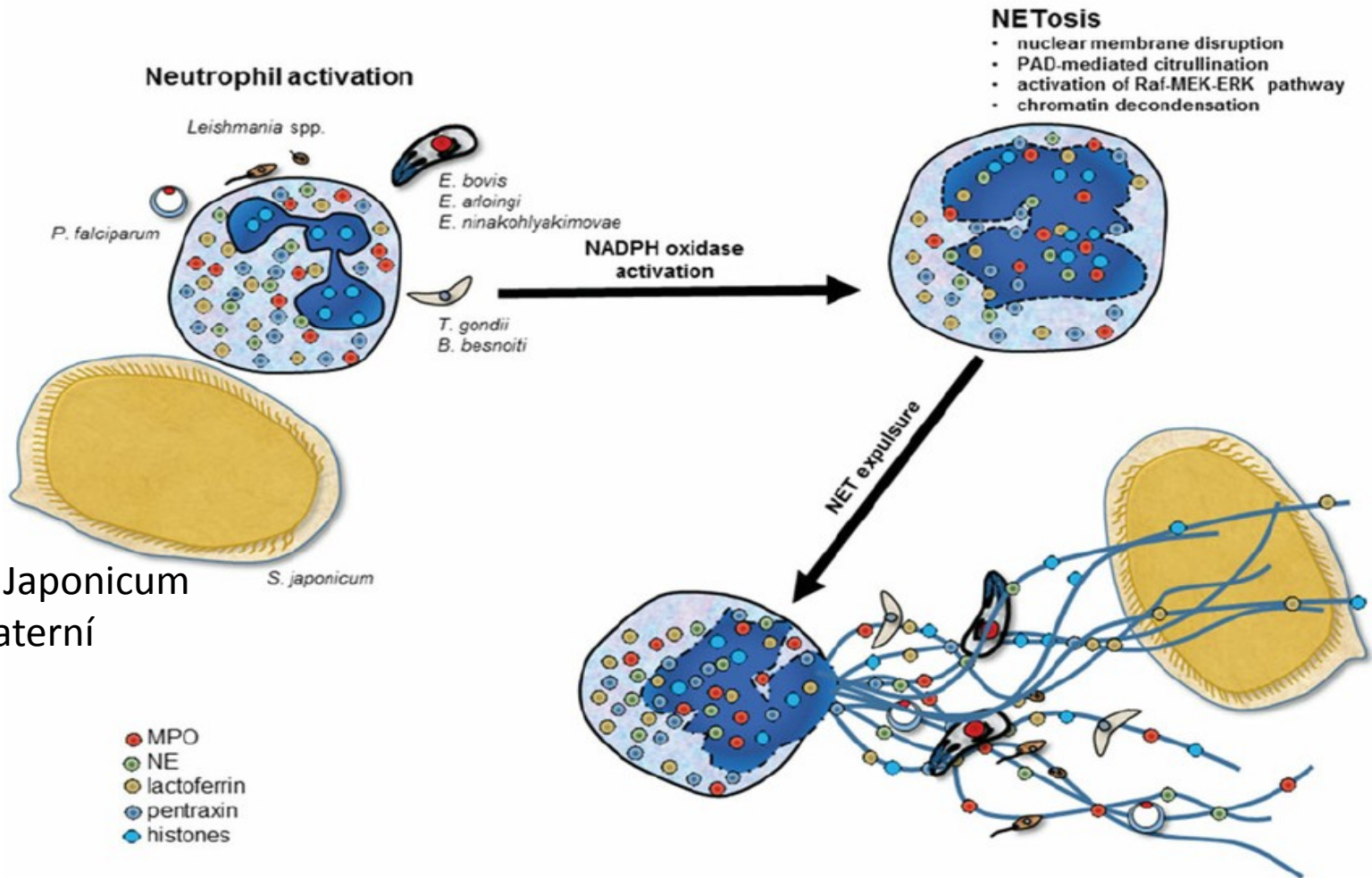
# Netóza



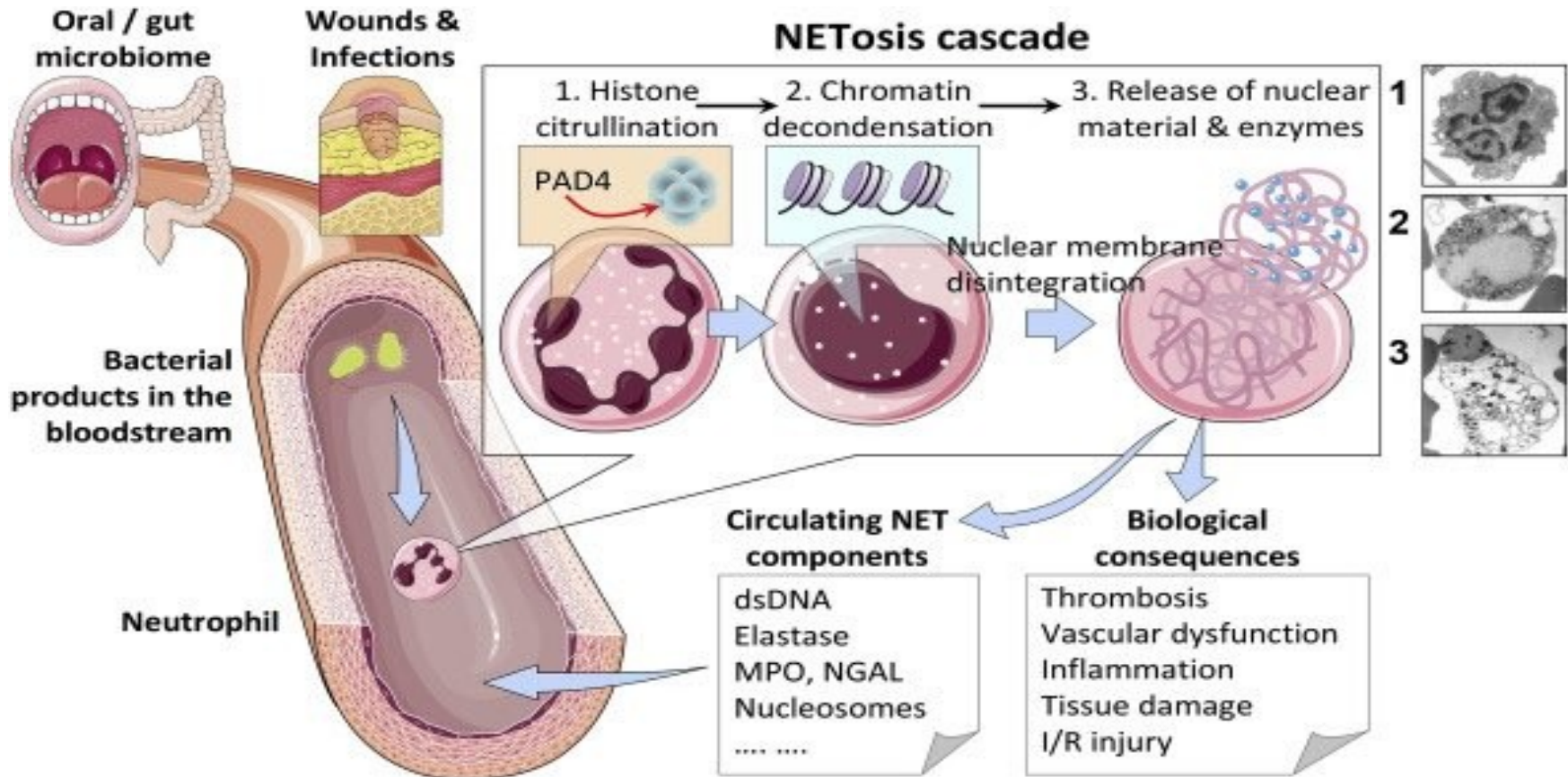
# Netóza

Plasmodium falciparum – zimnička tropická

Schistosoma Japonicum – krevnička jaterní



# Důsledky netózy



# Možnosti vyšetření fagocytárních funkcí

Chemotaxe: vyšetření chemotaxe pod agarózou

Ingesce: ingesce metakrylátových partikulí

Tvorba reaktivních metabolitů kyslíku:

NBT test, chemiluminiscence, redukce tetraarhodamidu.

Vyšetření exprese  $\beta$ 2-integrinů

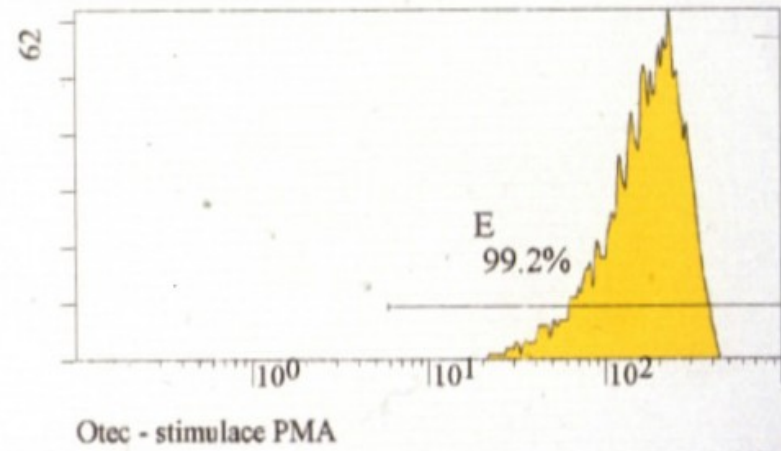
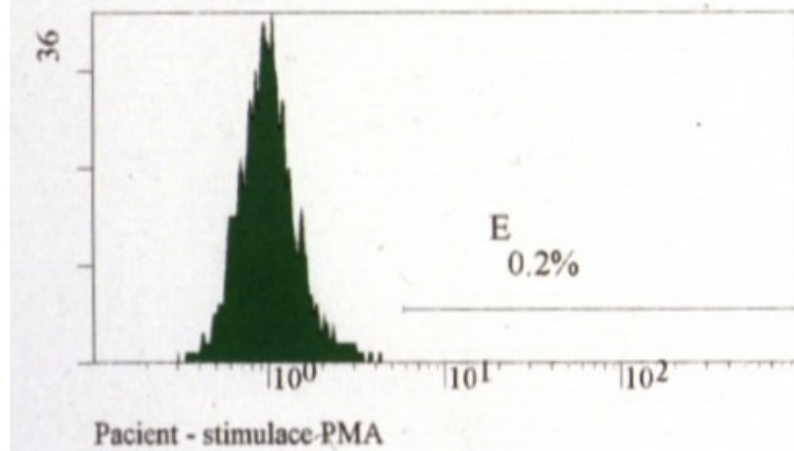
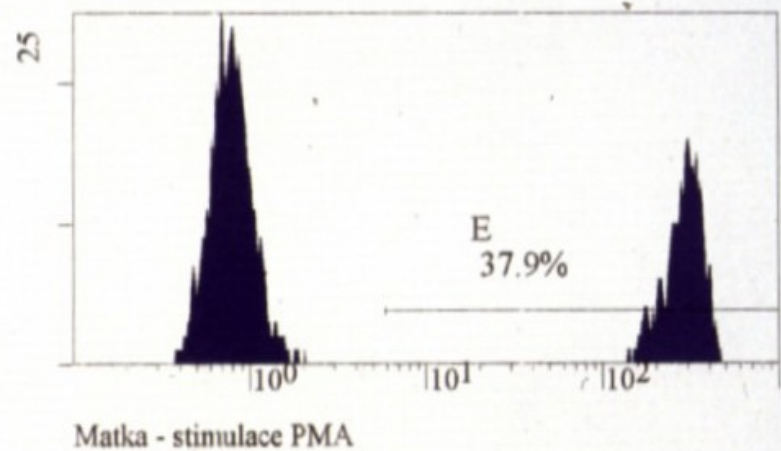
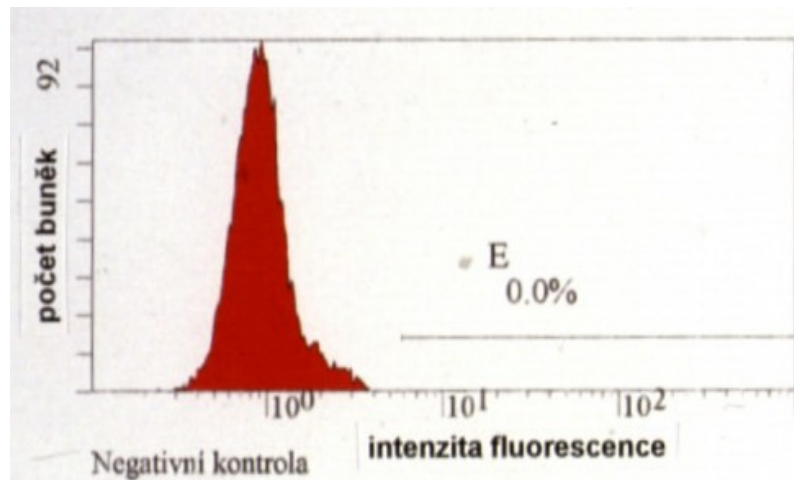
Komplexní vyšetření: mikrobicidie

# Chronická granulomatózní choroba

- Opakované abscesy nejčastěji postihující játra, periproktální oblast, plíce, objevují se hnisavé lymfadenitidy, osteomyelitidy.
- Granulomy mohou působit útlak, například žlučovodů.
- 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)



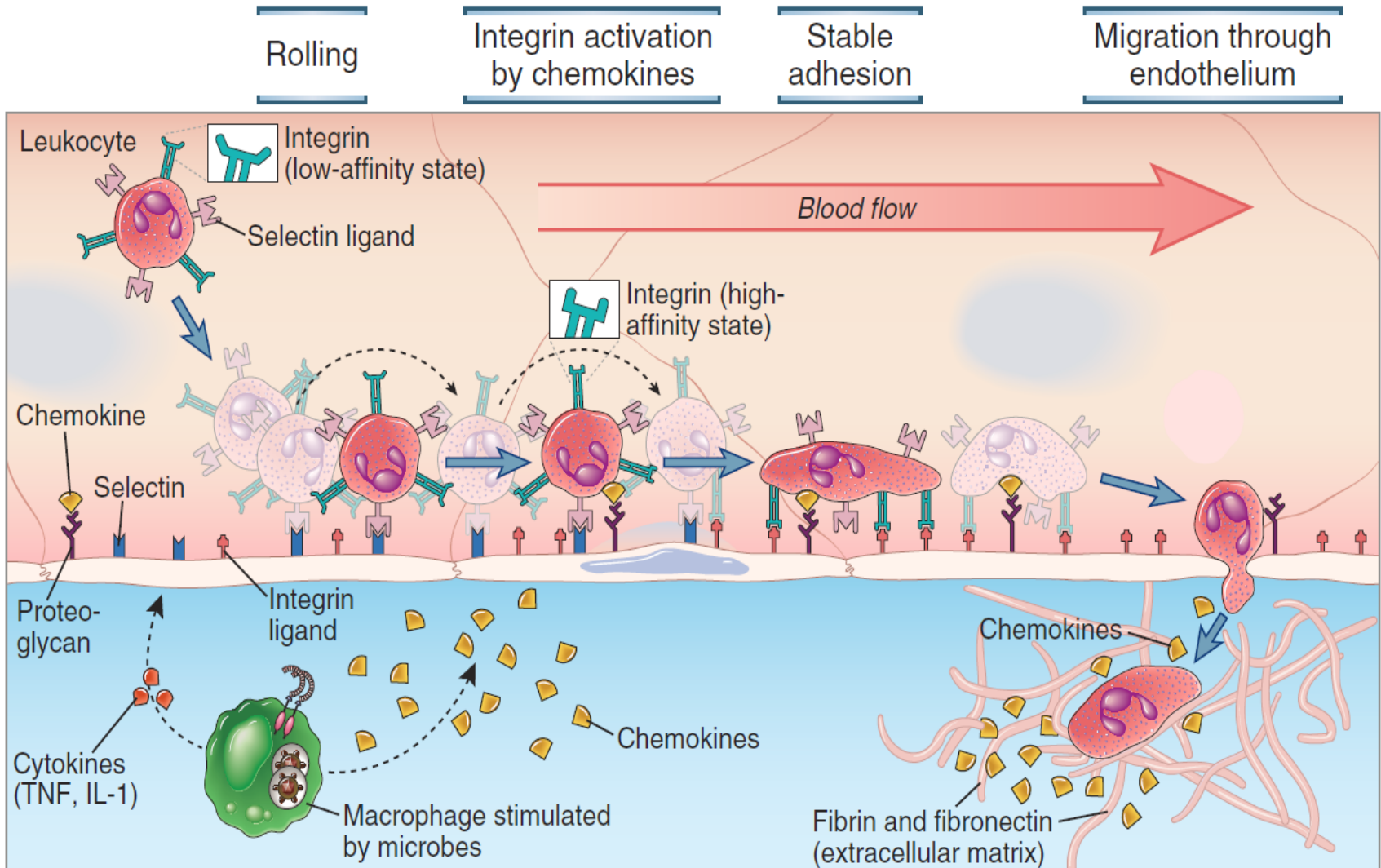
# Indikace k vyšetření fagocytárních schopností granulocytů

- 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).

# 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



# CD56<sup>low</sup>CD16<sup>+++</sup> NK (Natural Killer) buňky

- Jsou morfologicky podobné lymfocytům („velké granulární lymfocyty“, LGL), nefagocytují, nemají adhezenční schopnosti.

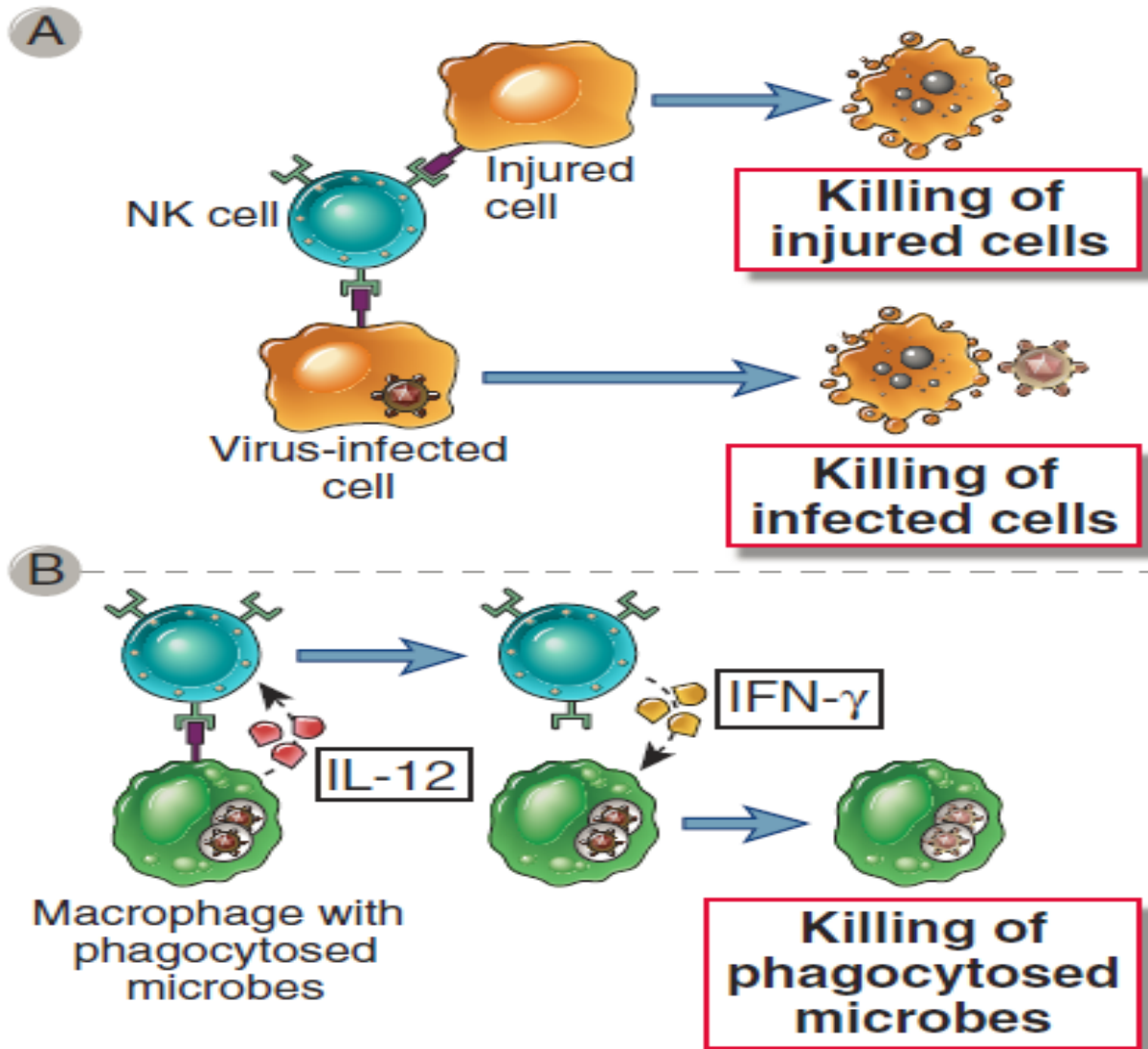
Specializují se na zabíjení abnormálních vlastních buněk organismu nápadných nízkou expresí MHC molekul (např. infikovaných viry, intracelulárními bakteriemi, nádorové buňky).

Cytotoxické nástroje NK buněk – perforin a granzym – podobně jako u CD8<sup>+</sup> 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



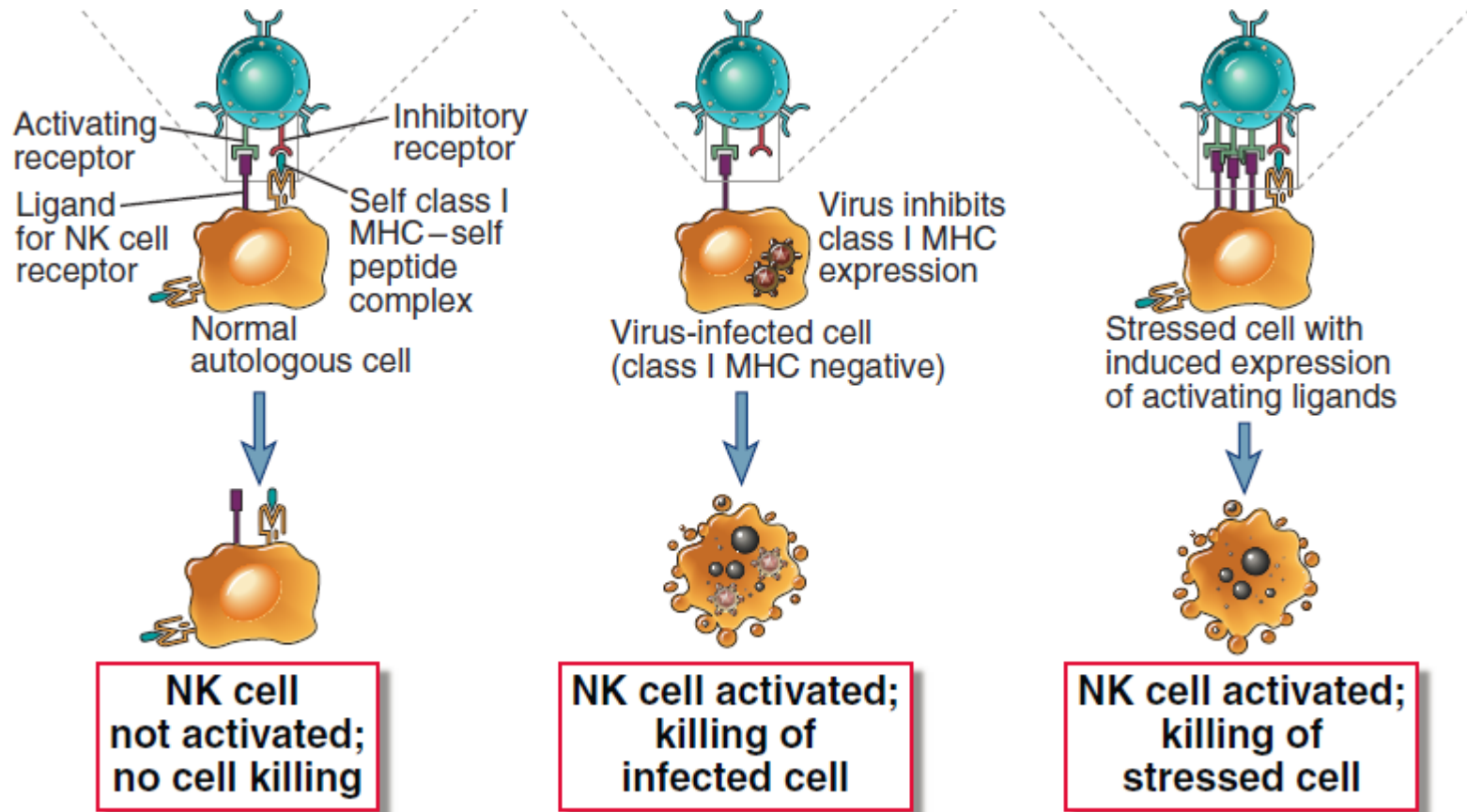
# Buňky NK

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.

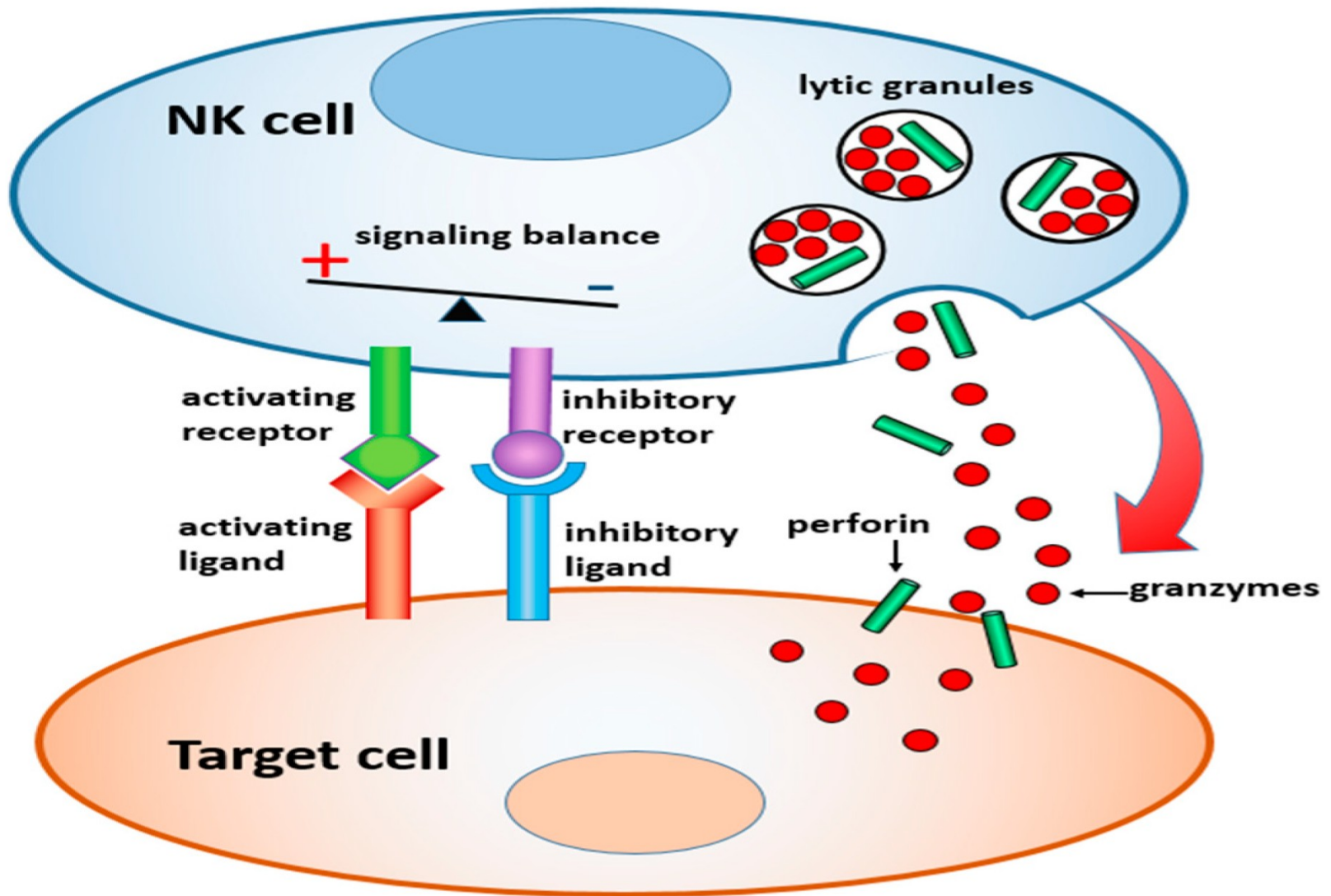
Řada genů, které ovlivňují funkci NK, jsou shluknuty na chromosomu 12 („natural killer gene complex – NKC“)

# Reakce NK buněk

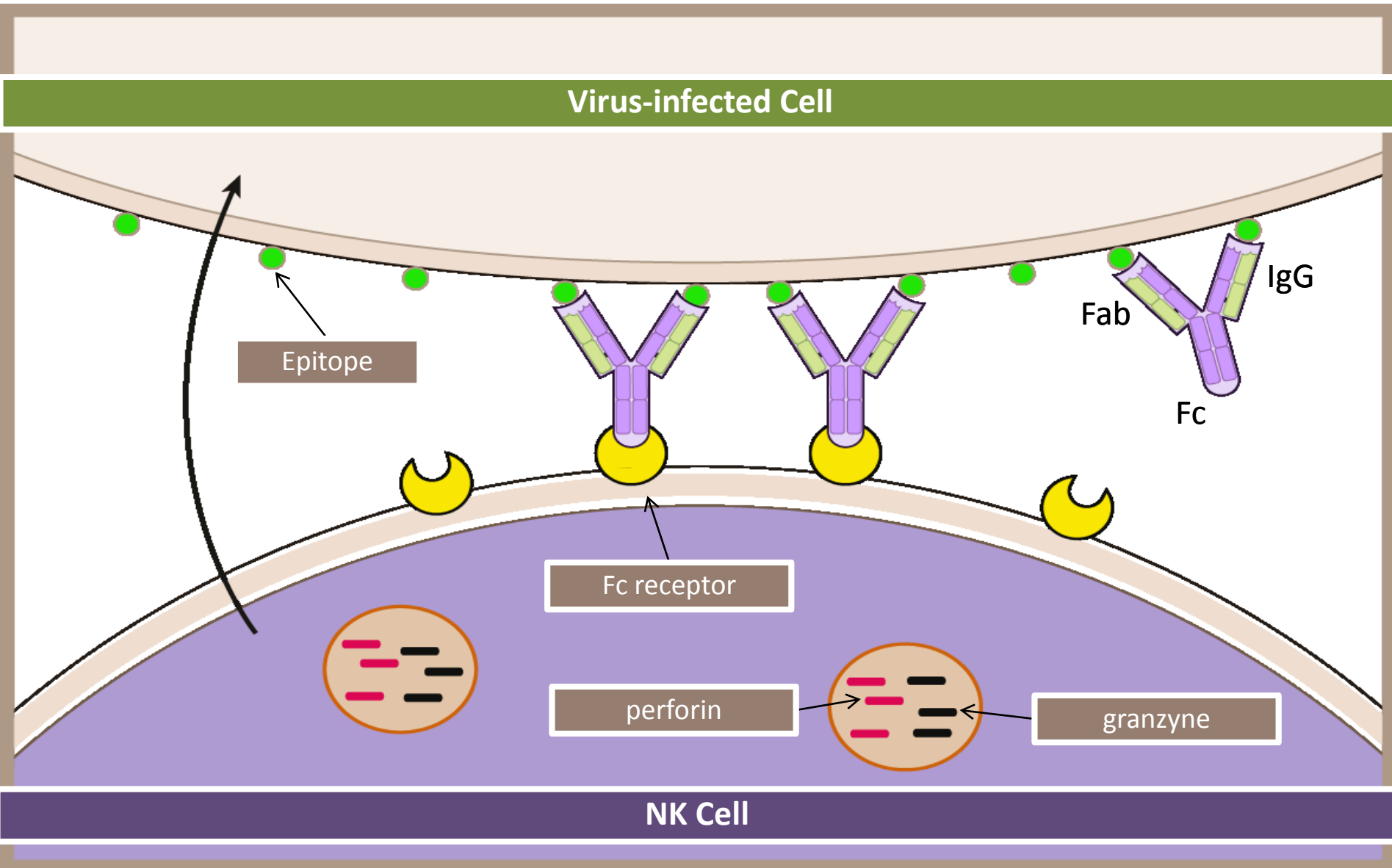




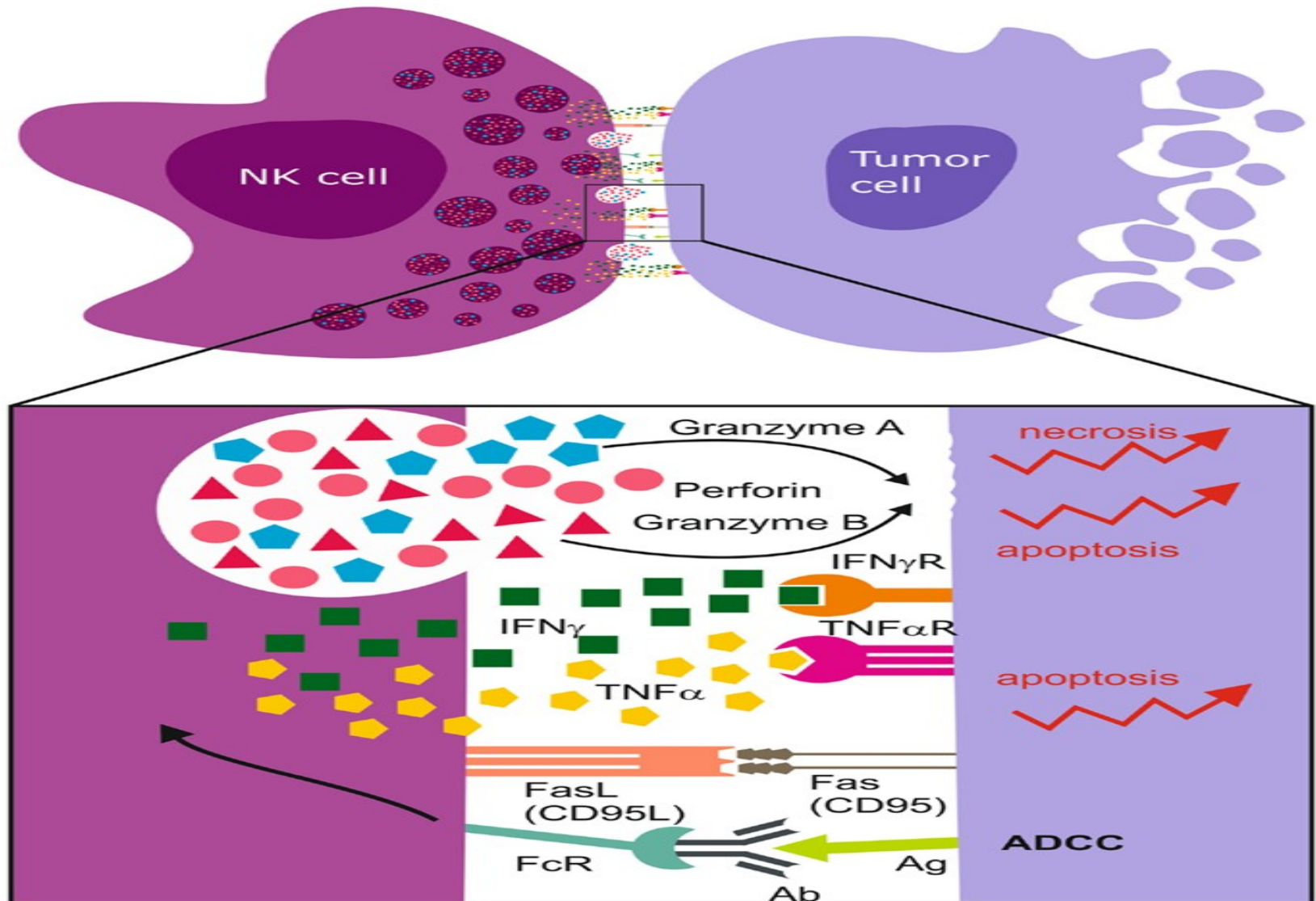
# Mechanismy zabíjení NK buněk



# Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



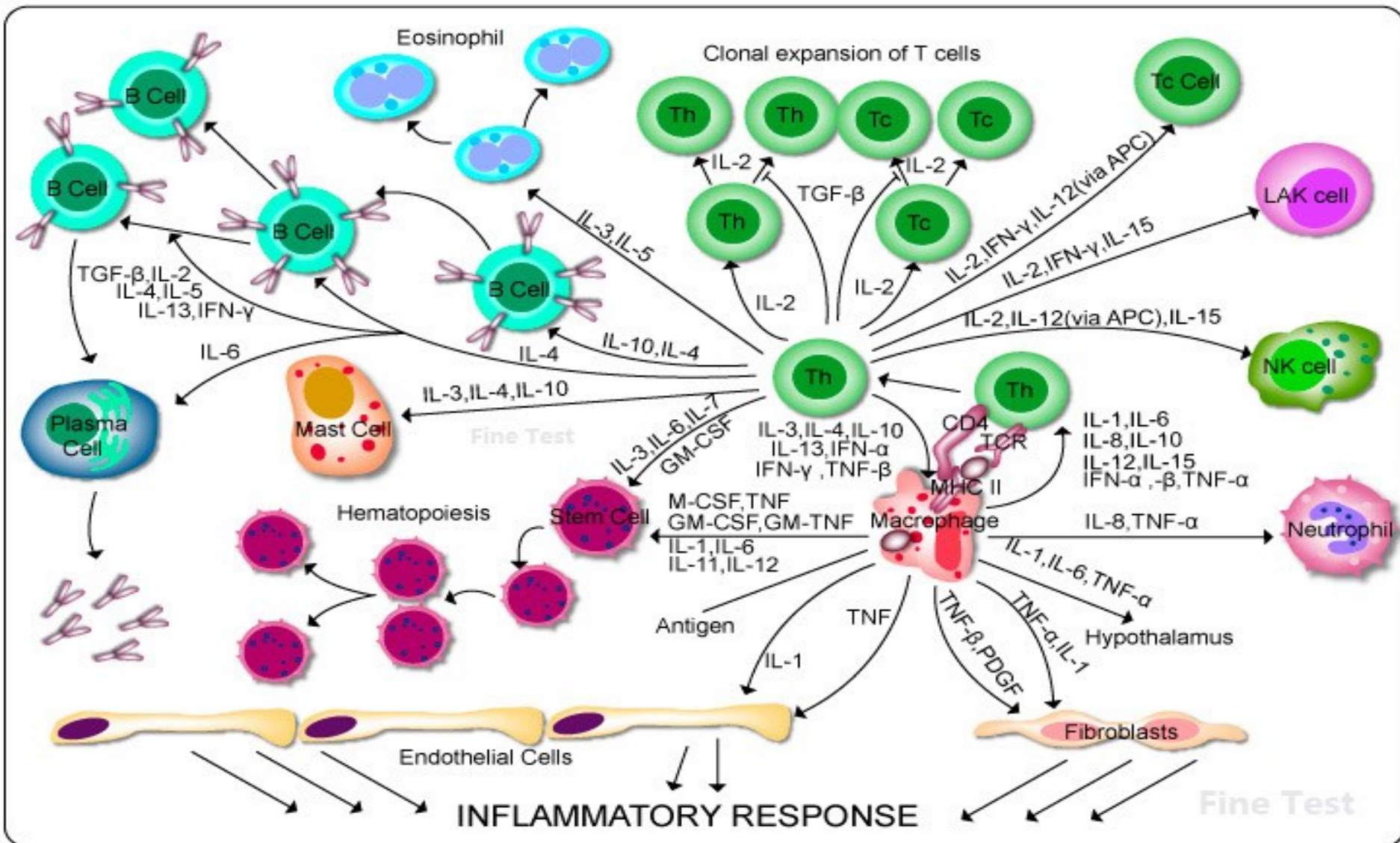
# Mechanismy zabíjení NK buněk



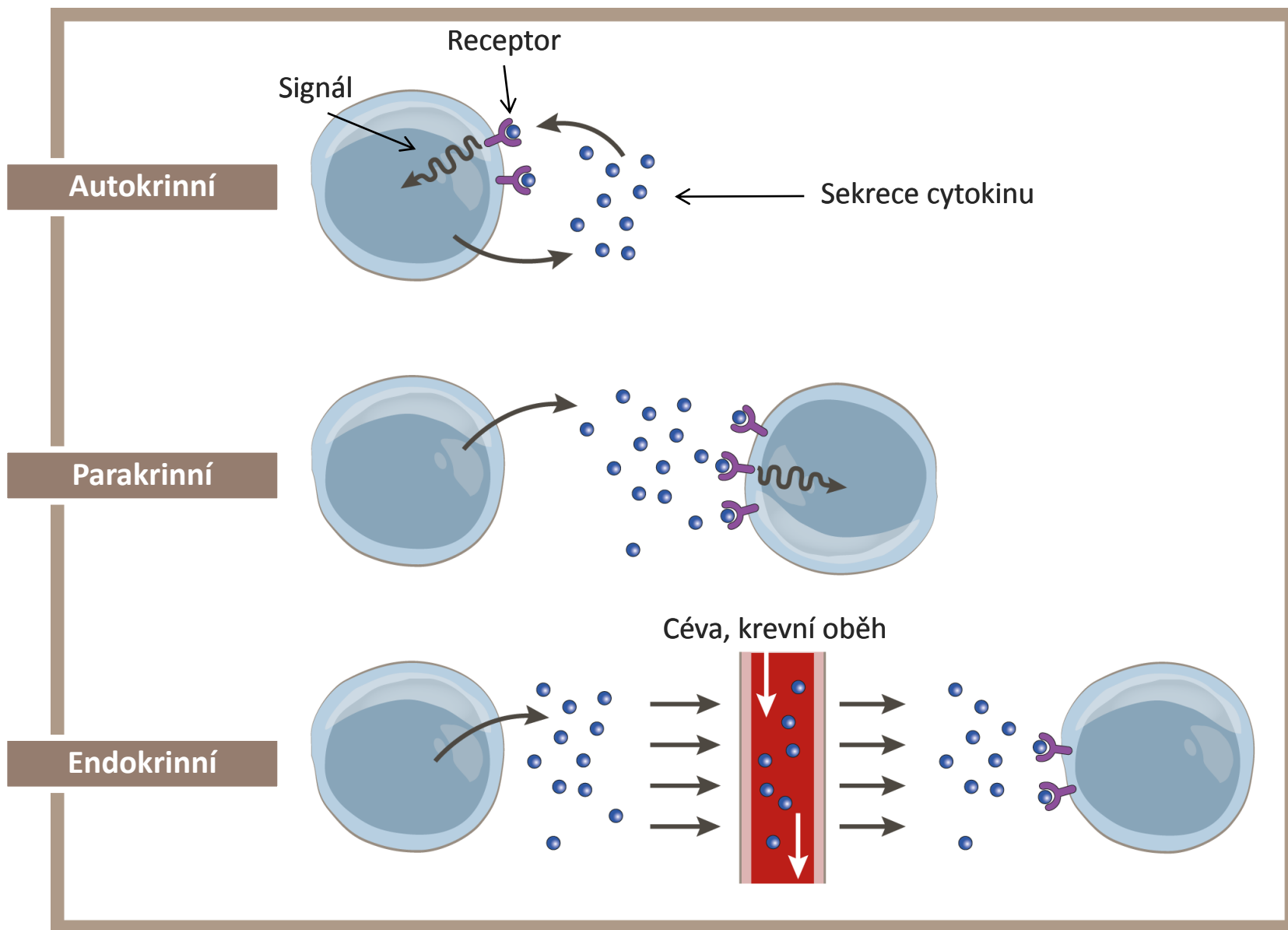
# Cytokiny

- 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.

# Funkce cytokinů



# 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 cytokiny: IL-1, IL-6, IL-18, TNF-a
- Regulační: IL-10, IL-13, TGF-b



# Cytokiny

- Uplatňují se v patogenezi
  - atopických chorob (IL-4, IL-13 – stimulace tvorby IgE)
  - zánětlivých chorob (TNF- $\alpha$ )
  - imunodeficitů (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 (IFN)

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

# Interferony

- Indukce imunitní odpovědi.
- Regulace imunitní odpovědi.
- Efektorové funkce imunitní odpovědi.
- Inducibilní produkce v aktivovaných buňkách.
- Funkční po vazbě na membránové receptory.

# I. třída interferonů

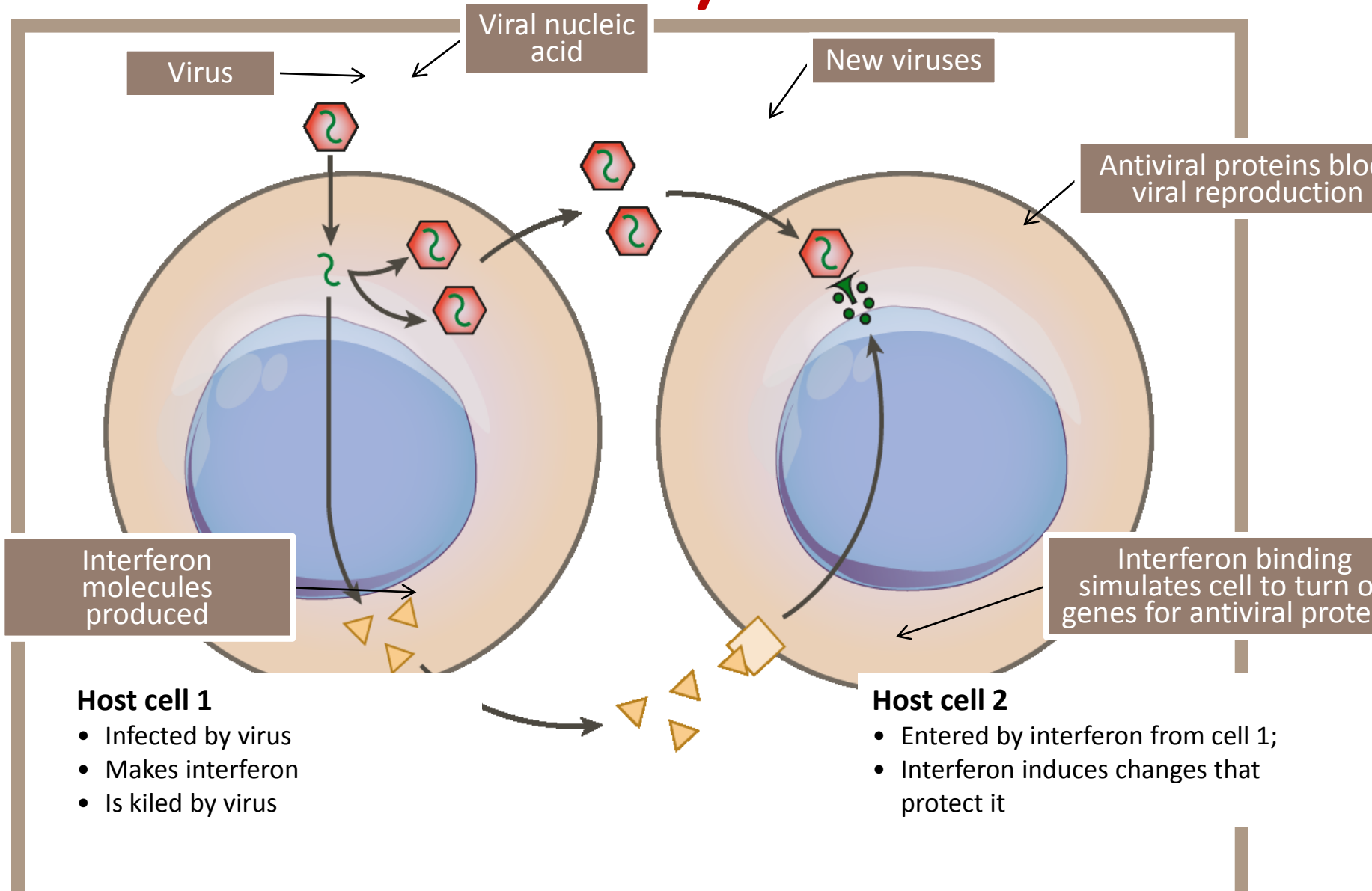
- **Interferony  $\alpha$**

- Tvořeny všemi buňkami těla po stimulaci.
- Přirozený podnět – virová infekce – virové nukleové kyseliny – detekce pomocí TLR3,7,9.
- Působí na všechny buňky těla.
- Brání replikaci virů– aktivace 2',5'oligoadenylát syntázy – štěpí virovou DNA.
- Zabránění množení dalších patogenů a nádorovému bujení.
- Funkční po vazbě na membránové receptory.
- U SLE, Sjörgenova syndromu – podíl v poškozujícím zánětu – u SLE nadměrné uvolňování endogenních nukleových kyselin působením neutrofilů při netóze.
- Detekce endonukleových kyselin pomocí RIG -I-like receptorů na plasmocytoidních dendritických buňkách.
- Plasmocytoidní dendritické buňky:
  - 1) tvorba prozánětlivých cytokinů
  - 2) prezentují různé fragmenty z takto uvolněných DNA T-lymfocytům – podpora vzniku autoreaktivních T-lymfocytů vede postupně ke vzniku autoreaktivních B-lymfocytů a k tvorbě autoprotilátek.

- **Interferon  $\beta$**

- Schopnost tlumit zánět
- Léčebné využití

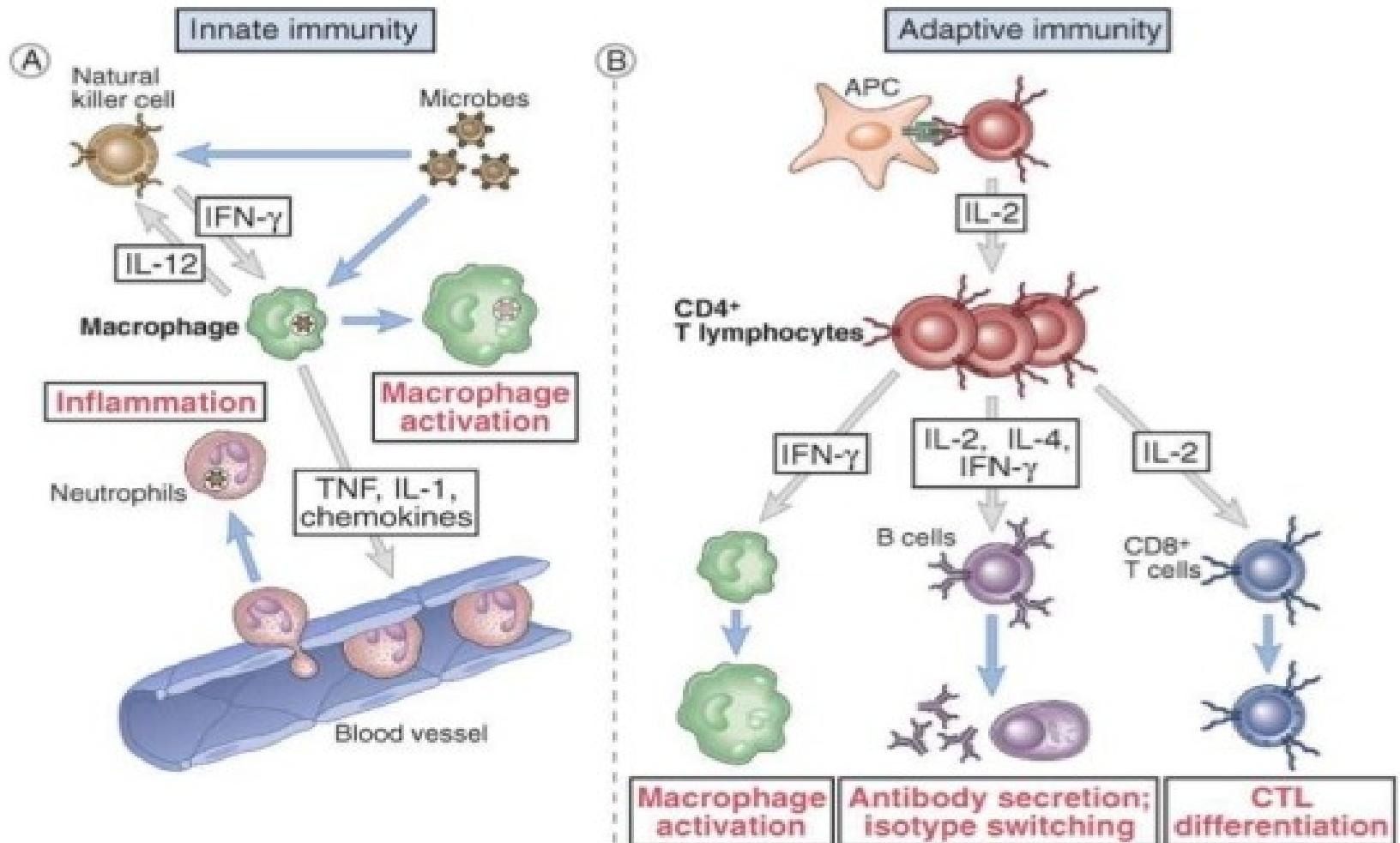
# Mechanismus účinku interferonu (IFN)



# II. třída interferonů

- Interferon  $\gamma$
- Tvořen NK buňkami, NKT buňkami, CD8+ T-lymfocyty, CD4+ T-lymfocyty.
- Th-1 odpověď – makrofágy vyzrávají do cytotoxického subsetu M1, což vede k usmrcení intracelulárních bakterií.
- Cytotoxická aktivita vůči buňkám infikovaným viry.
- Podíl na tvorbě granulomu u intracelulárních (*M. tuberculosis*) a parazitárních infekcí.
- Podíl na protinádorové imunitě.
- Klíčová součást poškozujícího zánětu u roztroušené sklerózy, aterosklerózy a dalších.

# FUNCTIONS OF SELECTED CYTOKINES IN HOST DEFENSE



# III. třída interferonů

- Interferony  $\lambda$  – objeveny čtyři, tři jsou zařazeny jako IL-28, IL-28A, IL-29.
- Tvořeny většinou buněk těla.
- Působí pouze na epitelové buňky.
- Součást bariérových funkcí sliznic – epitelové struktury dýchacích cest, protivirová ochrana trávicího traktu brání uvolňování virových partikulí.
- Podíl v komplexní antivirové ochraně.



# 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.

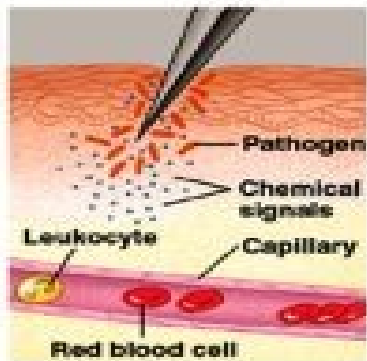
# Dva druhy zánětu

- 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.

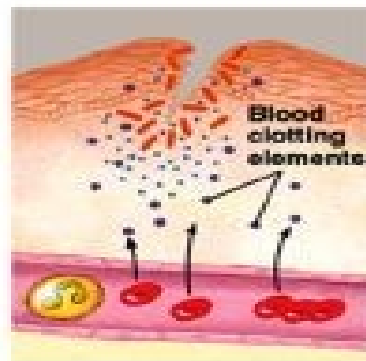
# Průběh zánětlivé reakce

- 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.

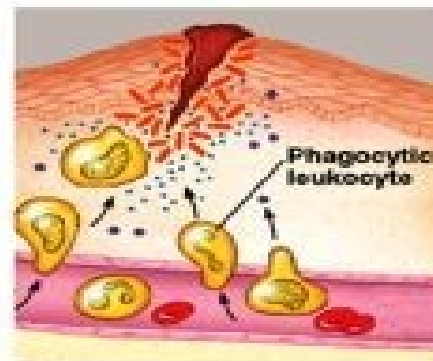
# Začátek akutního zánětu



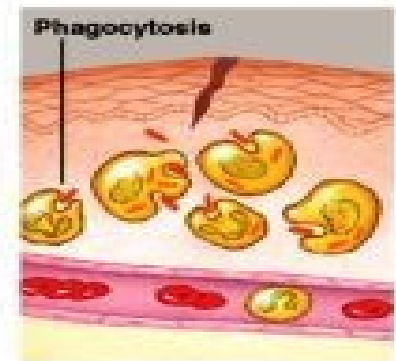
1 Histamine & prostaglandins released



2 Capillaries dilate  
Clotting begins

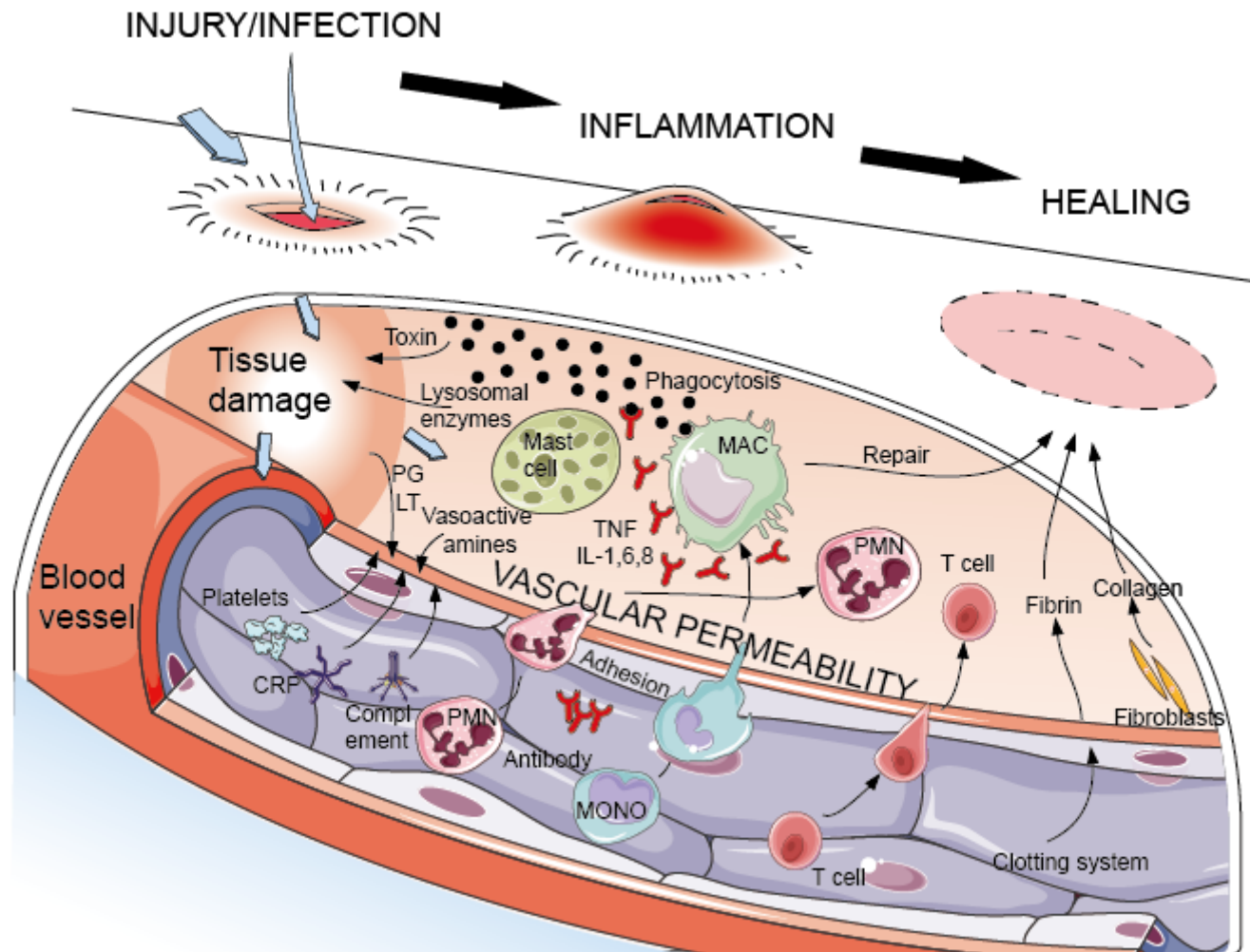


3 Chemotactic factors attract phagocytic cells



4 Phagocytes consume pathogens & cell debris

# Průběh akutního zánětu



# Klasické známky zánětu

- Bolest
- Zarudnutí
- Otok
- Horečka



# Clinical symptoms of inflammation: pain, redness, heat, swelling

1. Increased vascular diameter, increased blood flow (heat, redness)
2. Activation of vascular endothelium to express adhesion molecules, increases leukocyte binding
3. PMNs are first cell type recruited to site, followed later by monocytes
4. Increased vascular permeability results in local swelling and pain

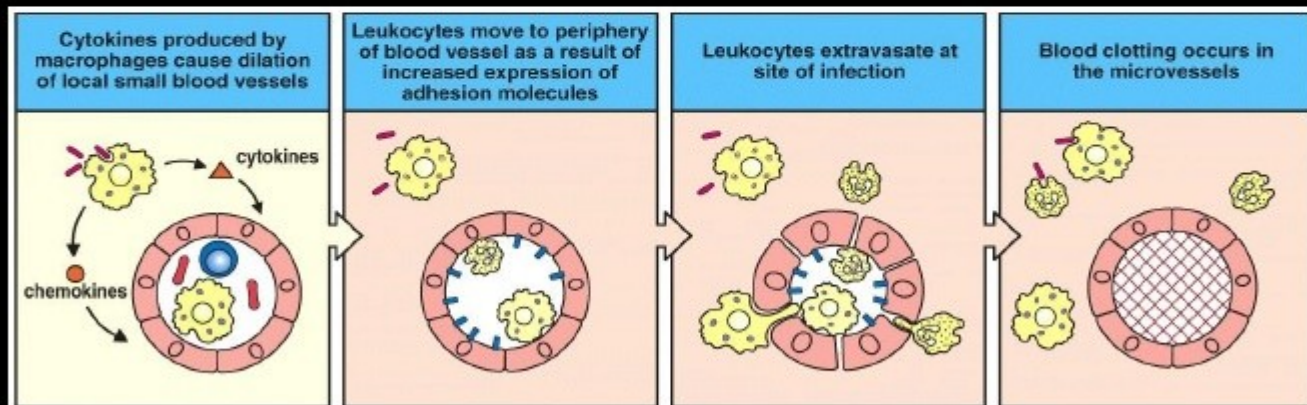


Figure 2-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Microvascular coagulation helps prevent pathogen spread into bloodstream (physical barrier)

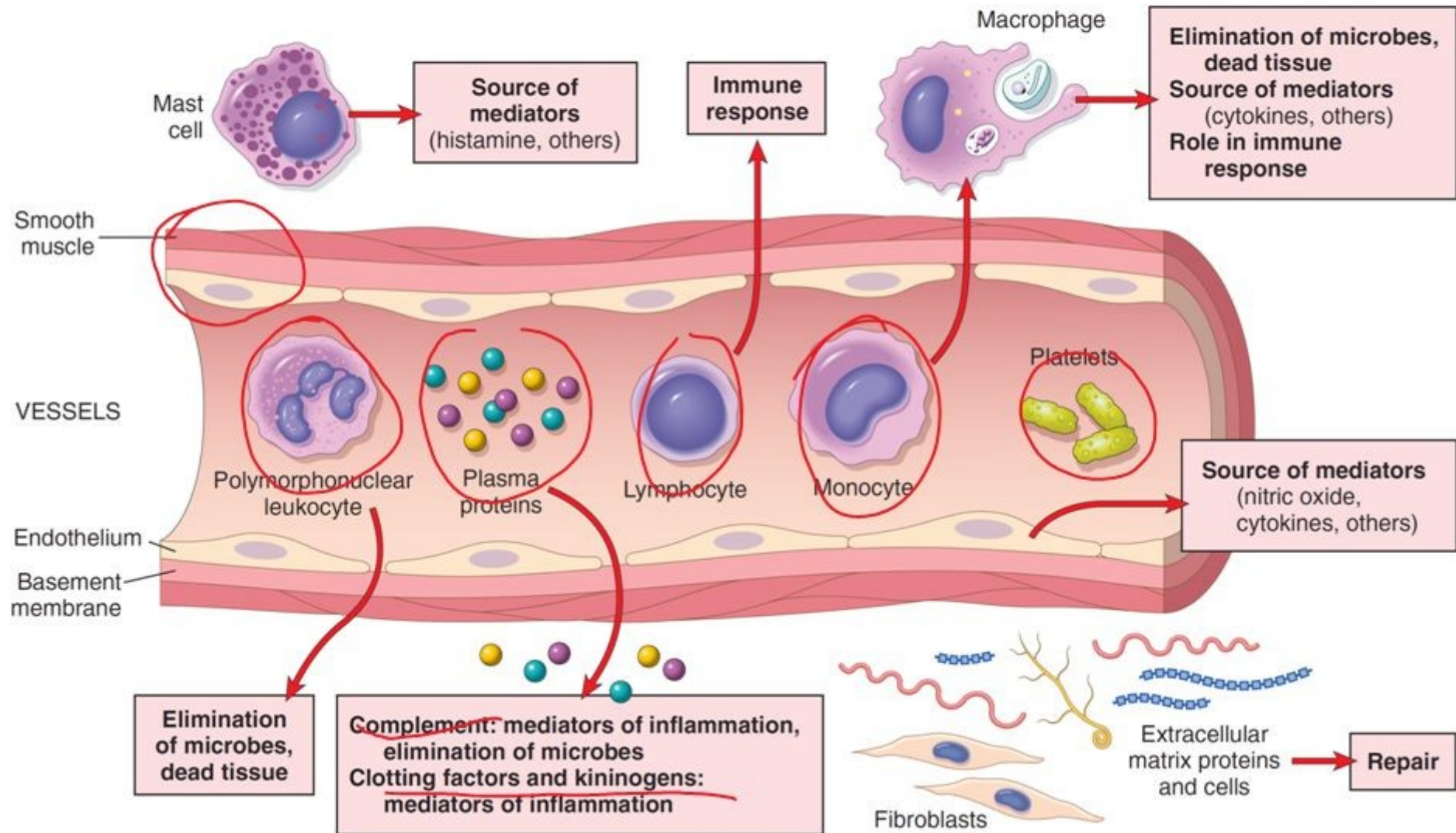
# Zánět - průběh

- 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).

# Hlavní události v místě zánětu

- Hlavní roli hrají složky nespecifické imunity
  - Vznik vasoaktivních 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.

# The components of acute and chronic inflammation and their principal functions



# Innate Immune Receptors

- Innate immune receptors are not clonally distributed
- Binding of receptors results in rapid response
- Innate immune receptors mediate three functions:
  - phagocytic receptors to stimulate pathogen uptake
  - chemotactic receptors that guide phagocytes to site of infection
  - stimulate production of effector molecules and cytokines that induce innate responses and also influence downstream adaptive immune responses

# 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 době 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...

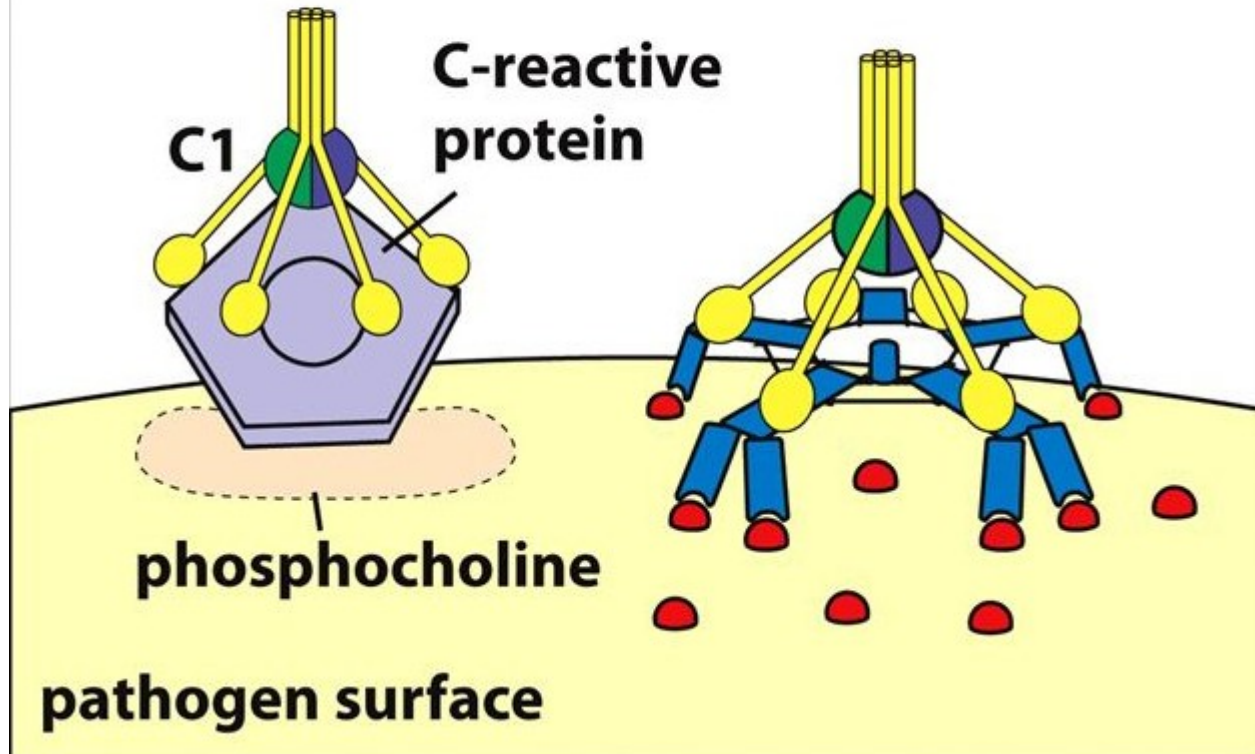
# Proteiny akutní fáze

- 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.
- Zvýšená syntéza sérových transportních proteinů (ceruloplazmin, feritin).
- Antimikrobiálních proteinů – hepcidin.
- Snižuje se tvorba albuminu, prealbuminu, transferinu.



# CRP a komplement

**C1 binds in the same way  
C-reactive protein and IgM**



# 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 nadledinky – 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.

# Mediátory zánětlivé odpovědi

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

# 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.

# Monitorování akutního zánětlivého procesu

Tělesná teplota.

Sedimentace erytrocytů (FW).

Počet leukocytů v krvi.

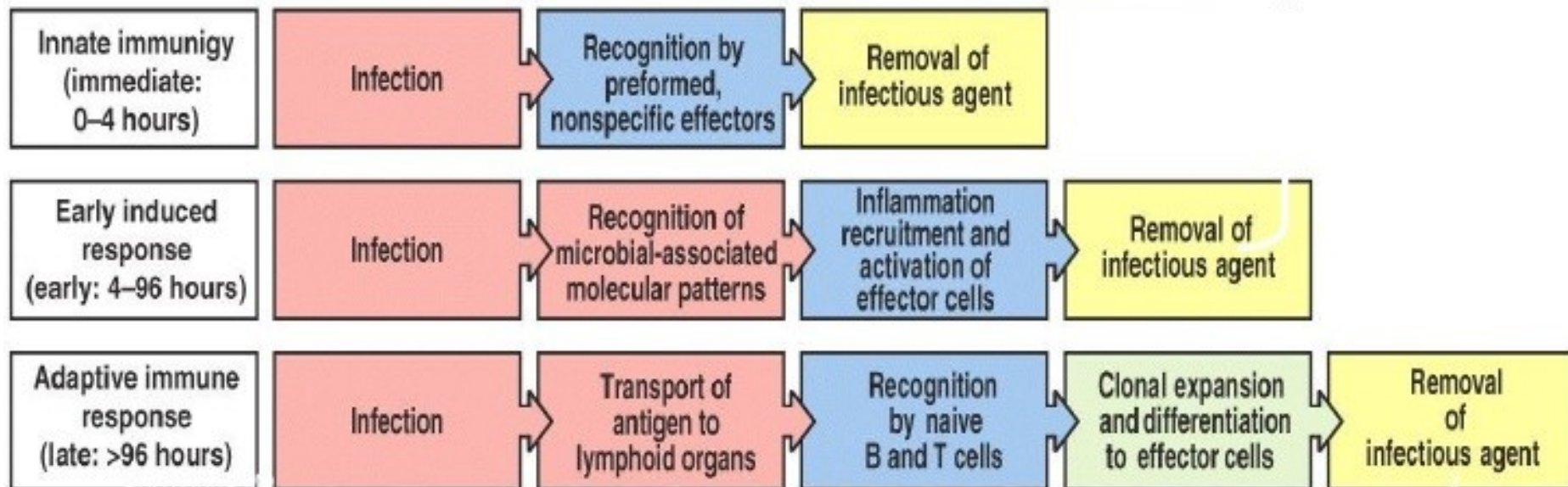
Změny spektra sérových bílkovin  
v elektroforéze (pokles albuminu, vzestup  $\alpha_1$  a  $\alpha_2$   
globulinů).

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



# 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.

# **Major histocompatibility complex (MHC)**

Human leukocyte antigens  
(HLA)

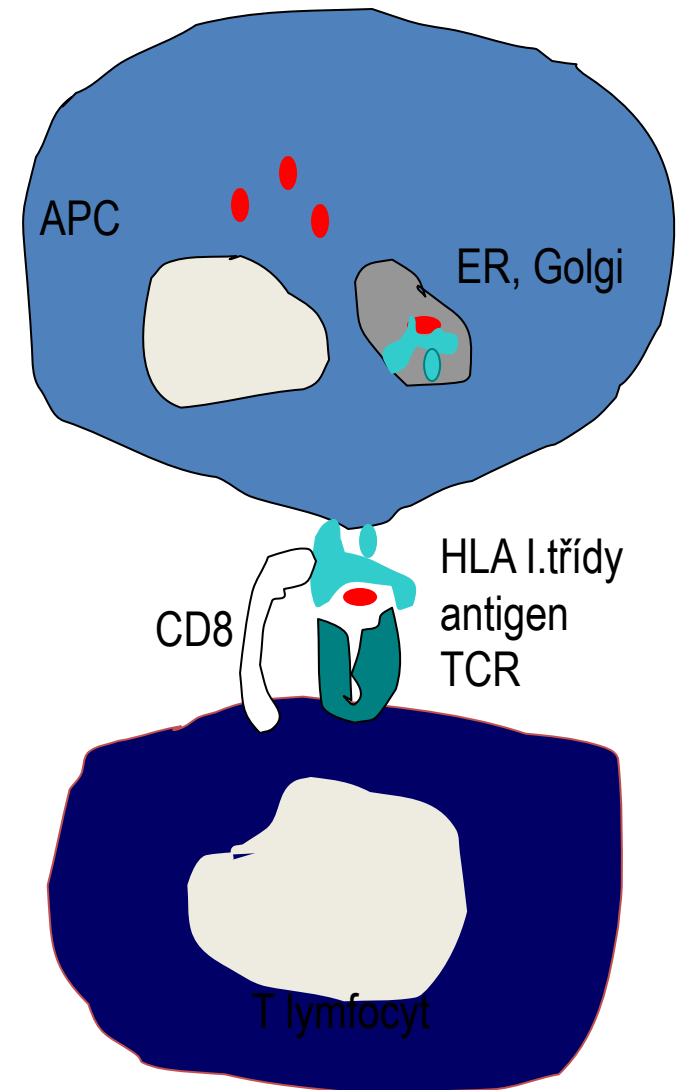


# Prezentace Ag

- Antigeny jsou molekuly, které vyvolají imunitní odpověď.
- Antigeny jsou většinou proteiny či glykoproteiny, nebo polysacharidy.
- Antigeny pocházející z vnějšího prostředí se do organismu dostanou přes gastrointestinální trakt, respirační trakt, kůži nebo arteficiálně např. injekčně.
- Antigeny vnitřní se nacházejí přímo v buňkách, může se jednat např. o proteiny kódované virovými geny nebo proteiny kódované mutovanými geny v nádorově změněných buňkách.

# Antigen prezentující buňky a T lymfocyty

- K iniciaci imunitní odpovědi je nutné rozpoznání antigenu T lymfocyty.
- Povaha imunitní odpovědi je určována druhem prezentovaného antigenu.



# MHC

- Všechny jaderné buňky v organismu exprimují na svém povrchu receptory zvané MHC – major histokompatibility complex
- U lidí jsou tyto receptory označovány jako HLA-human leukocyte antigens
- Pomocí těchto receptorů organismus rozeznává vlastní buňky od cizích
- Hlavní fyziologickou funkcí molekul HLA je předkládat antigeny nebo jejich fragmenty buňkám imunitního systému, především T-lymfocytům

# HLA

- Jsou odpovědné za histokompatibilitu – tzn. slučitelnost tkání.
- Jsou odpovědné za přijetí nebo odvržení transplantátu.
- Jsou unikátní pro každého jedince, jediný případ shody jsou jednovaječná dvojčata.
- Receptory tvořené glykoproteiny.
- Jsou exprimovány na povrchu všech jaderných buněk.
- Slouží k rozpoznání „vlastního a cizího“ pro T, B a NK lymfocyty.
- Hlavní funkce – nabídka zpracovaných peptidových fragmentů pro T-lymfocyty.

# Funkce HLA-systému

- HLA jsou determinovány rozsáhlým komplexem genů, které jsou lokalizovány v určitém úseku krátkého raménka chromosomu 6.

# HLA komplexy

- Známe 5 HLA komplexů:
  - HLA – A, HLA – B, HLA – C, HLA – D, HLA – DR
- Pro každý z těchto komplexů existuje více alel, dnes je známo nejméně:
  - 20 alel pro HLA – A,
  - 40 alel pro HLA – B,
  - 8 a více pro zbylé tři komplexy HLA: C, D, DR
- Sada HLA genů na jednom chromosomu tvoří **haplotyp**,
- Jedinec má tedy dva haplotypy (od každého z rodičů) a v každém 5 determinantů.

# Izotypy HLA

- HLA I. třídy – klasické (HLA-A, HLA-B, HLA-C) – exprimovány na všech jaderných buňkách
- HLA II. třídy – (HLA-DR, HLA – DP, HLA-DQ) – exprimovány na buňkách prezentujících Ag
- Neklasické HLA Ag -HLA-E, HLA-F, HLA-G, CD1
  - geny pro tyto molekuly jsou lokalizovány mimo MHC x funkční podobnost
  - jejich produkty inhibují aktivitu NK buněk

# Neklasické HLA I. třídy

- Vyskytují se jen na některých buňkách
- Vazba na různé ligandy
- HLA- E, G –rozeznávány inhibičními receptory NK buněk
- CD1 ( CD1a-e) váže mikrobiální lipidy a hydrofobní Ag, popř. organismu vlastní glykolipidy (CD1d)
  - jsou rozeznávány NKT buňkami



# Charakteristika molekul (antigenů) MHC

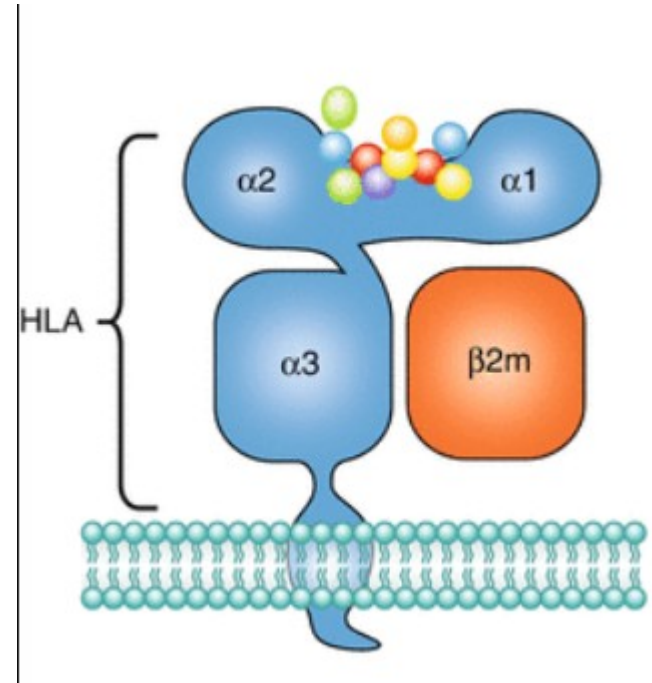
- Molekuly HLA I. třídy jsou přítomny na všech jaderných buňkách (tedy ne na erytrocytech!).
- Molekuly HLA II. třídy jsou přítomny na buňkách imunitního systému (buňky předkládající antigen – dendritické buňky, makrofágy, B-lymfocyty), dále na buňkách endotelových a na epitelu thymu.
- Exprese molekul HLA I. třídy je na většině buněk zvýšena působením některých cytokinů jako je IFN nebo TNF, (tedy při vrozených imunitních reakcích).
- Expresi molekul HLA II. třídy na buňkách prezentujících antigen, vaskulárních endotelových buňkách, ale i na jiných buňkách (ne však na neuronech) zvyšuje IFN gamma.

# Charakteristika interakcí mezi MHC a peptidy

- MHC molekuly neodlišují peptidy vlastní a cizí.
- MHC molekuly vážou řadu strukturálně podobných peptidů
- Vazba je nekovalentní, ligand pro MHC I sestává z 8-11 aminokyselin, pro MHC II cca z 10-30.

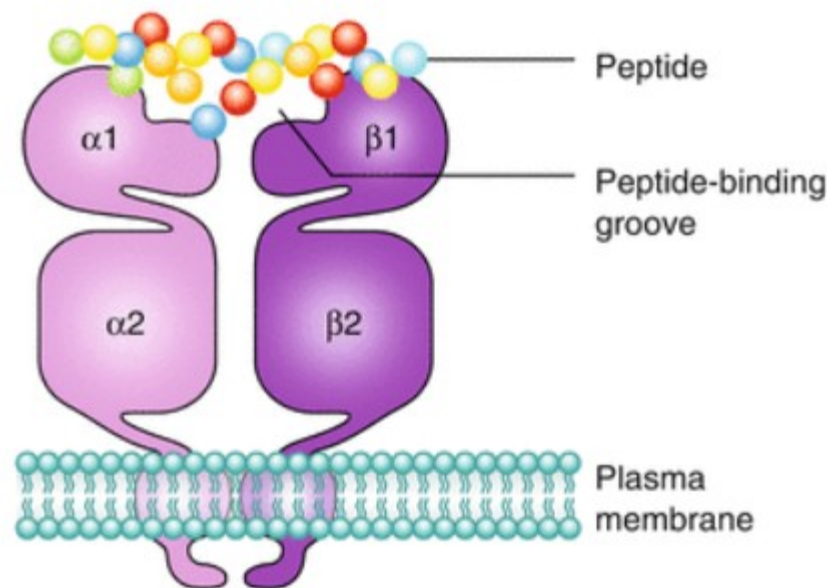
# HLA molekuly I. třídy

- HLA molekuly I. třídy se skládají ze 3 částí.
- Transmembránový glykoprotein, nazývaný těžký řetězec, který má transmembránovou část a 3 domény extracelulární, nazývané  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  a  $\alpha 3$ .
- $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  domény jsou polymorfní částí HLA molekuly I. třídy.
- Tyto domény mají uspořádání, které umožňuje vazbu antigenního peptidu.
- Těžký řetězec je nekovalentně spojen s  $\beta 2$ -mikroglobulinem, nepolymorfním řetězcem HLA molekuly I. třídy.
- Třetí součástí HLA molekuly je peptid, vázající se do vazebného místa tvořeného  $\alpha 1$  a  $\alpha 2$  doménou.



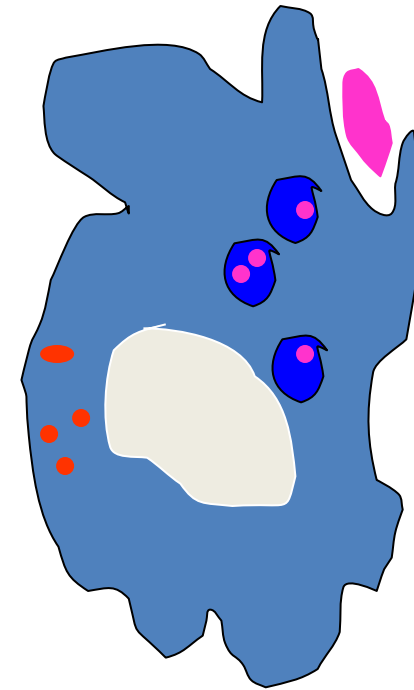
# HLA molekuly II. třídy

- HLA molekuly II. třídy se skládají ze dvou transmembránových glykoproteinů, nazývaných  $\alpha$  a  $\beta$  řetězec. Oba dva řetězce jsou polymorfní.
- HLA molekuly II. třídy se nacházejí ve 3 typech, pojmenovaných HLA DR, DP a DQ.
- Molekuly HLA II. třídy jsou exprimovány velmi omezeně jen na buňkách prezentujících antigen.
- Exprese HLA II. třídy je indukovatelná, při zánětu je mohutně stimulována.



# HLA a antigeny

- **antigeny**, které jsou předkládány imunitnímu systému v kontextu s HLA molekulami, pocházejí
  - z **extracelulárního prostředí**, tak zvané **vnější antigeny - exoantigeny**, nebo
  - jsou lokalizovány **uvnitř buňky**, tak zvané **vnitřní antigeny - endoantigeny**.
- povaha exoantigenů a endoantigenů se výrazně liší, každý indukuje zcela jiný typ imunitní reakce.
- **endoantigeny** jsou prezentovány v souvislosti s **HLA I. třídy**.
- **exoantigeny** jsou prezentovány v souvislosti s **HLA II. třídy**.

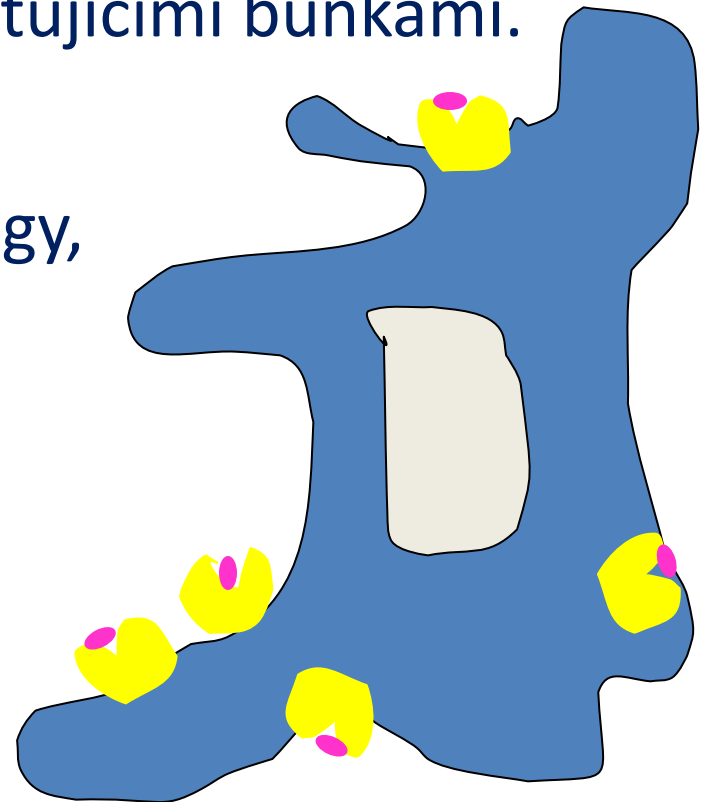


# HLA antigeny

- HLA – I (A,B,C)
  - Prezentace antigenu CD8+ T lymfocytům
  - Prezentované antigeny jsou produktem buněčné proteosyntézy – vnitřní Ag - **endoantigeny**
- HLA-II (DR, DP, DQ)
  - Prezentace na APC
  - Antigeny předkládány CD4+ T lymfocytům
  - Antigeny jsou exogenního původu – vnější Ag - **exoantigeny**

# Exogenní antigeny

- Exogenní antigeny jsou zpracovány profesionálními antigen prezentujícími buňkami.
- Mezi tyto buňky patří
  - fagocytující buňky - makrofágy, dendritické buňky
  - B lymfocyty.
- Všechny tyto buňky exprimují HLA II. třídy.



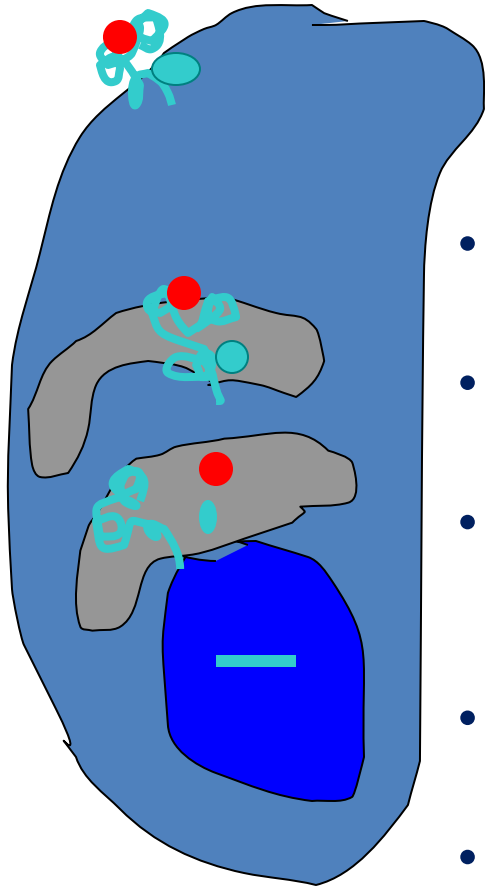
# Zpracování exogenních antigenů

- Antigen se do buňky dostává endocytózou.
- Je zpracován v endocytárním kompartmentu buňky degradací na fragmenty pomocí endosomálních a lysosomálních proteáz, např. katepsinem.
- HLA molekula II. třídy je tvořena v endoplasmatickém retikulu
- Skládá se ze 2 řetězců ( $\alpha$  a  $\beta$ ) a je stabilizována invariátním řetězcem
- Takto připravená molekula HLA II. třídy putuje do Golgi aparátu a do endosomů
- zde je invariátní řetězec aktivně odstraněn a do vazebného místa je vložen připravený Ag
- komplex HLA II. třídy s antigenem putuje na povrch buňky
- Kde je připraven pro rozpoznání CD4+ T- lymfocylem

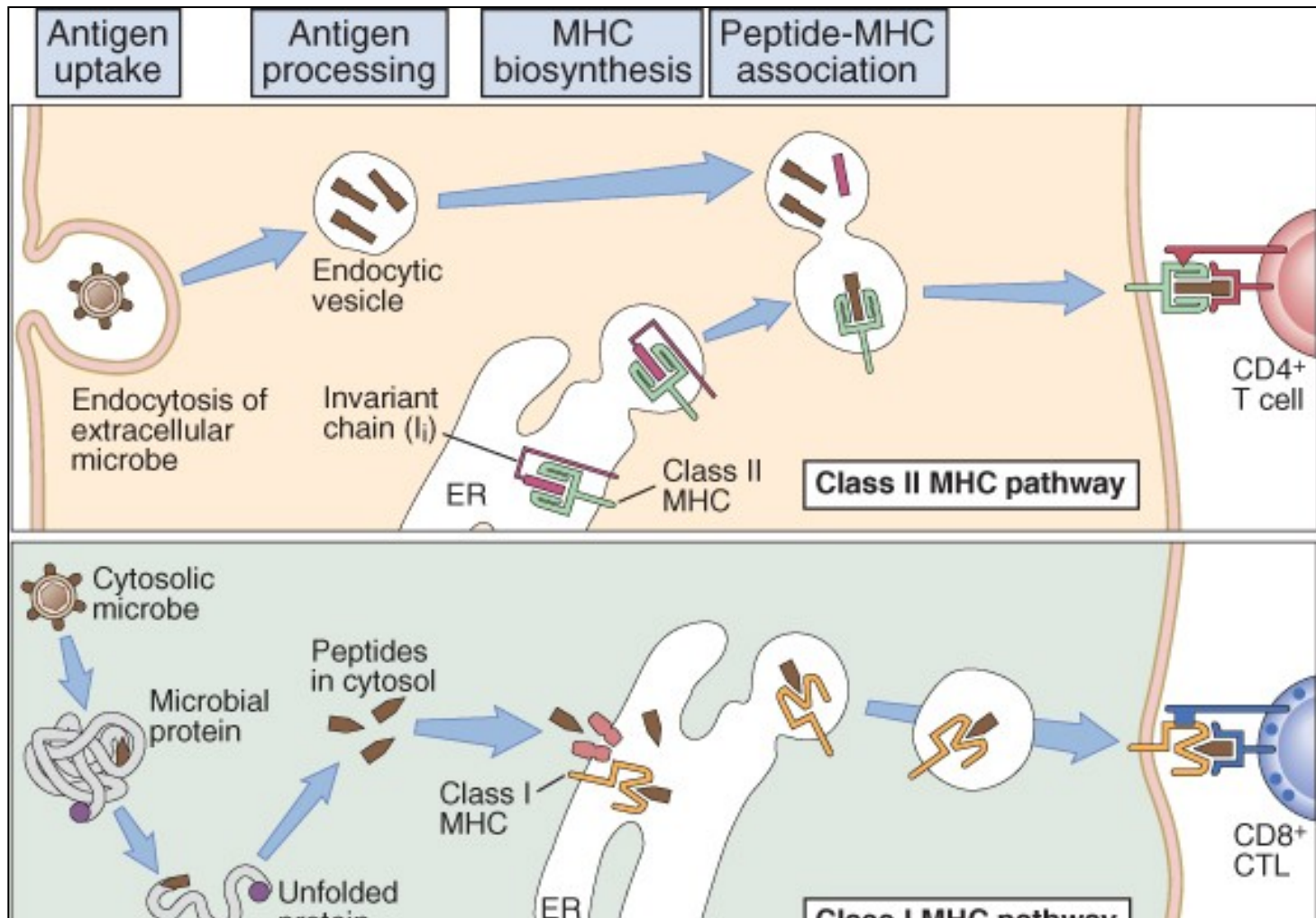


# Endogenní antigeny



- Endogenní antigeny jsou proteiny vznikající uvnitř buněk.
- Antigeny jsou hydrolyzovány a degradovány na peptidy v cytoplasmě za pomoci proteazomu.
- Vybrané peptidy jsou aktivně transportovány do endoplasmatického retikula pomocí TAP (transport associated protein).
- V endoplasmatickém retikulu se formuje komplex HLA a řetězce,  $\beta 2$  mikroglobulinu a antigenu.
- Tento komplex HLA I.třídy a antigenu putuje buňkou přes Golgiho aparát na povrch.
- Zde je připraven na kontakt s CD8+ T-lymfocytem.
- Buňka exprimující Ag, který je rozeznán CD8+ T-lymfocytem je zničena – virem napadené nebo maligně transformované buňky.



# Vazba antigenu na HLA-I a HLA-II antigeny



**TABLE 6–5 Comparative Features of Class I and Class II MHC Pathways of Antigen Processing and Presentation**

Feature	Class I MHC Pathway	Class II MHC Pathway
Composition of stable peptide-MHC complex	Polymorphic $\alpha$ chain, $\beta_2$ -microglobulin, peptide Peptide  $\alpha$ $\beta_2$ -microglobulin	Polymorphic $\alpha$ and $\beta$ chains, peptide Peptide  $\alpha$ $\beta$
Types of APCs	All nucleated cells	Dendritic cells, mononuclear phagocytes, B lymphocytes; endothelial cells, thymic epithelium
Responsive T cells	CD8 <sup>+</sup> T cells	CD4 <sup>+</sup> T cells
Source of protein antigens	Cytosolic proteins (mostly synthesized in the cell; may enter cytosol from phagosomes)	Endosomal and lysosomal proteins (mostly internalized from extracellular environment)
Enzymes responsible for peptide loading of MHC	Cytosolic proteasome	Endosomal and lysosomal proteases (e.g., cathepsins)
Site of peptide loading of MHC	Endoplasmic reticulum	Specialized vesicular compartment
Molecules involved in transport of peptides and loading of MHC molecules	Chaperones, TAP in ER	Chaperones in ER; invariant chain in ER, Golgi and MIIC/CIIV; DM
APC, antigen-presenting cell; CIIV, class II vesicle; ER, endoplasmic reticulum; MHC, major histocompatibility complex; MIIC, MHC class II compartment; TAP, transporter associated with antigen processing.		

# Faktory správné prezentace Ag a spuštění imunitní reakce

- 1) Geneticky určený typ MHC gp může vázat určitý okruh peptidů (kotvící AK zbytky vazebné štěrbiny ovlivují, která sekvence vázaných peptidů bude vhodná pro vazbu, zachována určitá variabilita).
- 2) Potenciál vázaných peptid se zvětšuje díky řadě lokusů (HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ, -DP).
- 3) MHC polymorfismus zajišťuje velké množství alel v populaci (p. HLA-B1 studie zjistila 100 alel daného lokusu v populaci) většina jedinců v populaci: heterozygoti.
- Polymorfismus: efektivní obrana proti mikrobiálním patogenům x problémy při transplantacích.

# Vztah antigenů HLA k chorobám

- Choroby s imunologickou patogenezí (např. autoimunitní, jako revmatoidní artritida, juvenilní diabetes, celiakie..).
- Choroby s etiopatogenezí nejasnou (psoriasis vulgaris, m. Bechterev).
- Choroby, u nichž se imunopatogenetický mechanismus neuplatňuje (narkolepsie, idiopatická hemochromatóza, adrenogenitální syndrom).

*Možné příčiny:*

*HLA antigen je znakem přítomnosti patognostického genu*

*HLA antigeny jsou receptory pro mikroby,*

*fenomen molekulárních mimiker a zkřížená reaktivita.*

# Vztah antigenů HLA k chorobám

(pacienti v %, kontroly v %, relativní riziko)

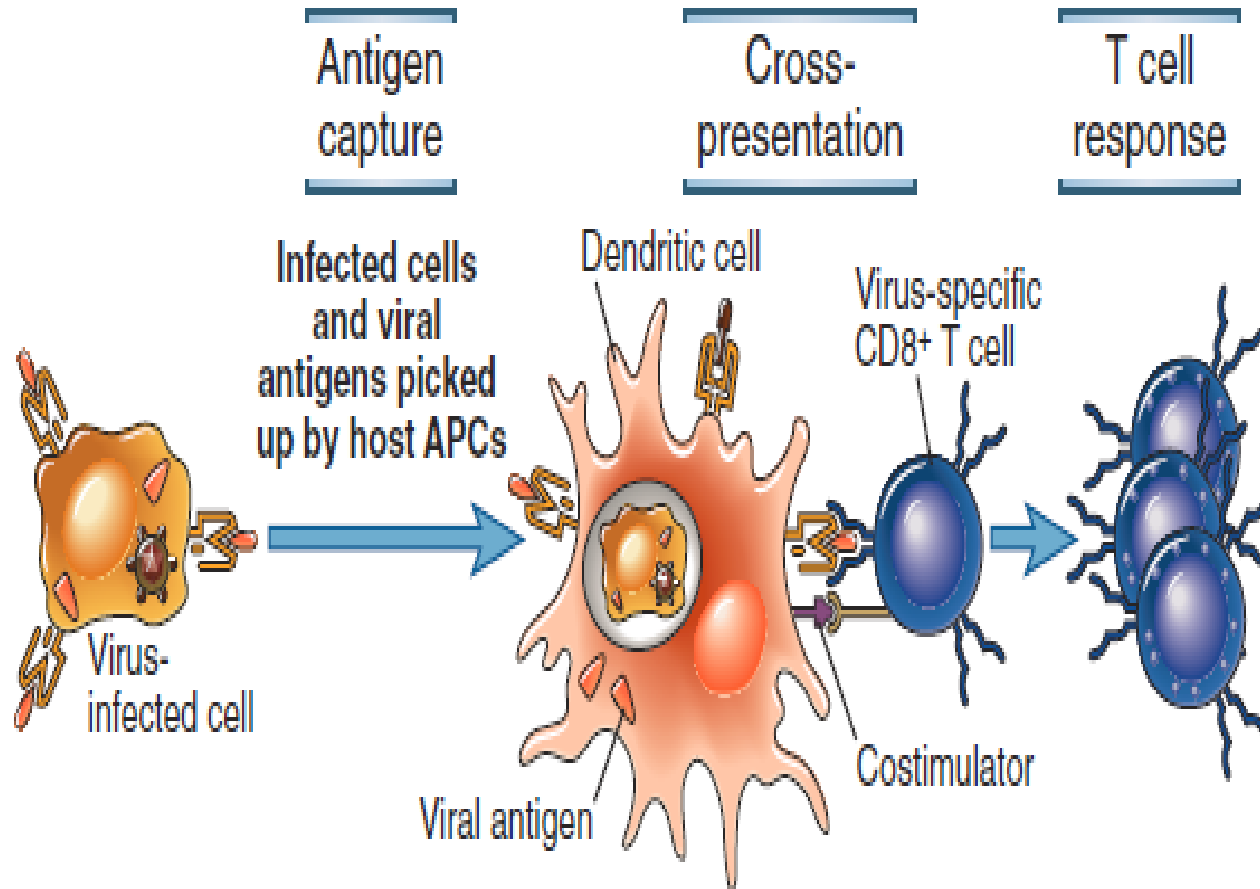
*M. Buc, 1997*

- Narkolepsie: HLA-DQ6 (100 – 25 - 297,0)
- M. Bechterev: HLA-B27 (96 – 9 – 87,4)
- Celiakie: HLA-DR7/DR3 (34 – 1 - 60,0)  
HLA-DQ2 (100 – 72 – 38,5)
- Juvenilní diabetes mellitus: HLA-DR3/4 (32 – 1 – 47,0)
- Revmatoidní arthritida: HLA-DR4 (50 – 19 – 4)

# Antigen prezentující buňky

- Dendritické buňky
- Monocyty, makrofágy
- B-lymfocyty

# APC

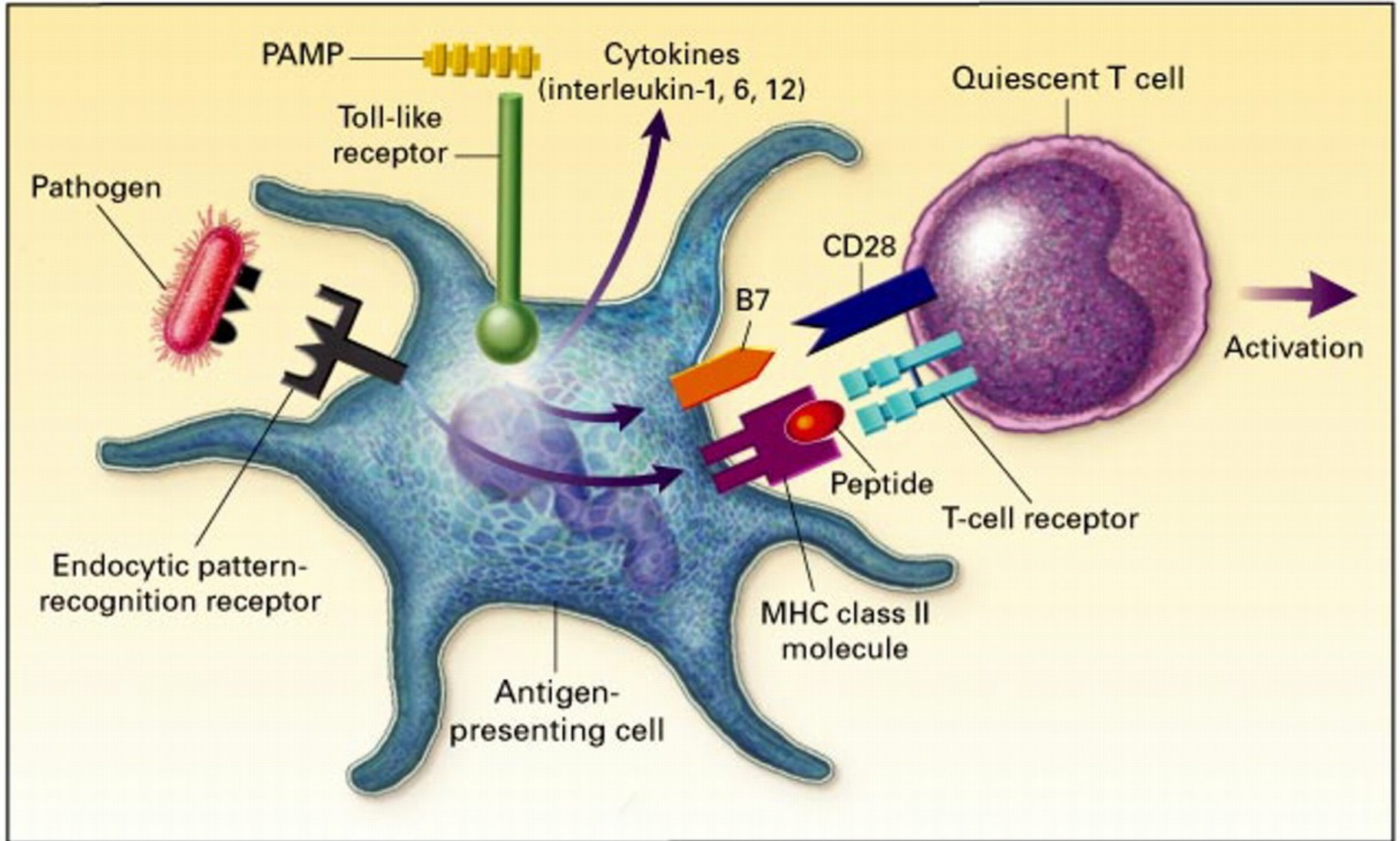




**TABLE 6–2 Properties and Functions of Antigen-Presenting Cells**

Cell Type	Expression of		Principal Function
	Class II MHC	Costimulators	
Dendritic cells	Constitutive; increases with maturation; increased by IFN- $\gamma$	Constitutive; increases with maturation; inducible by IFN- $\gamma$ , CD40-CD40L interactions	Initiation of T cell responses to protein antigens (priming)
Macrophages	Low or negative; inducible by IFN- $\gamma$	Inducible by LPS, IFN- $\gamma$ , CD40-CD40L interactions	Effector phase of cell-mediated immune responses (T cell-enhanced killing of phagocytosed microbes)
B lymphocytes	Constitutive; increased by IL-4	Induced by T cells (CD40-CD40L interactions), antigen receptor cross-linking	Antigen presentation to CD4 <sup>+</sup> helper T cells in humoral immune responses (cognate T cell–B cell interactions)
Vascular endothelial cells	Inducible by IFN- $\gamma$ ; constitutive in humans	Constitutive (inducible in mice)	May promote activation of antigen-specific T cells at site of antigen exposure
Various epithelial and mesenchymal cells	Inducible by IFN- $\gamma$	Probably none	No known physiologic function
IFN- $\gamma$ , interferon- $\gamma$ ; IL-4, interleukin-4; LPS, lipopolysaccharide.			

# Dendritická buňka jako antigen prezentující buňka



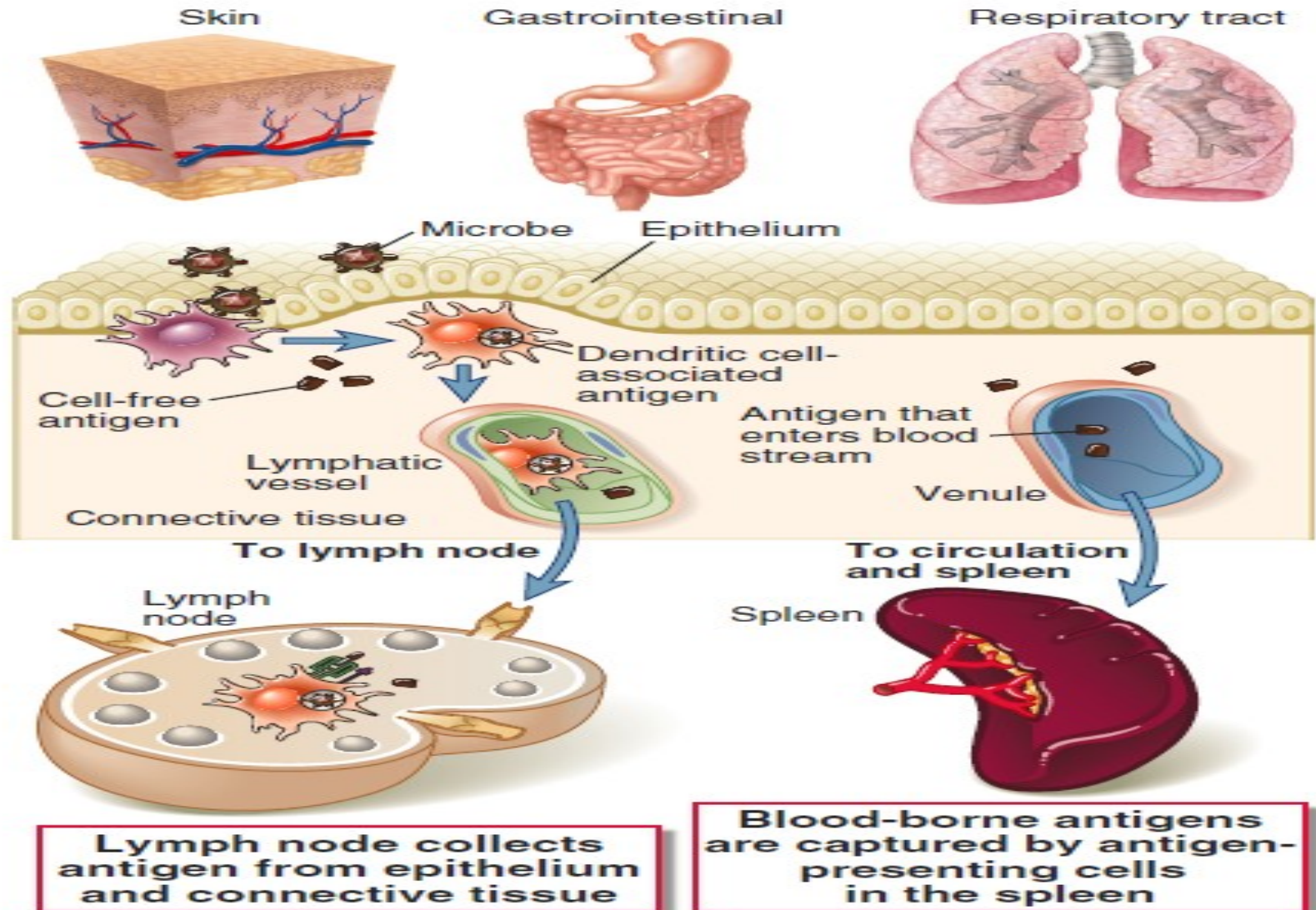
# Dendritické buňky

- Jsou mostem mezi přirozenou a adaptivní imunitou.
- Presentace antigenů T lymfocytům – adaptivní imunitní reakce.
- Zdroj kostimulačních signálů.
- Podpora vrozené imunity (interakce s NK, NKT, T-lymfocyty  $\gamma, \delta$ ).

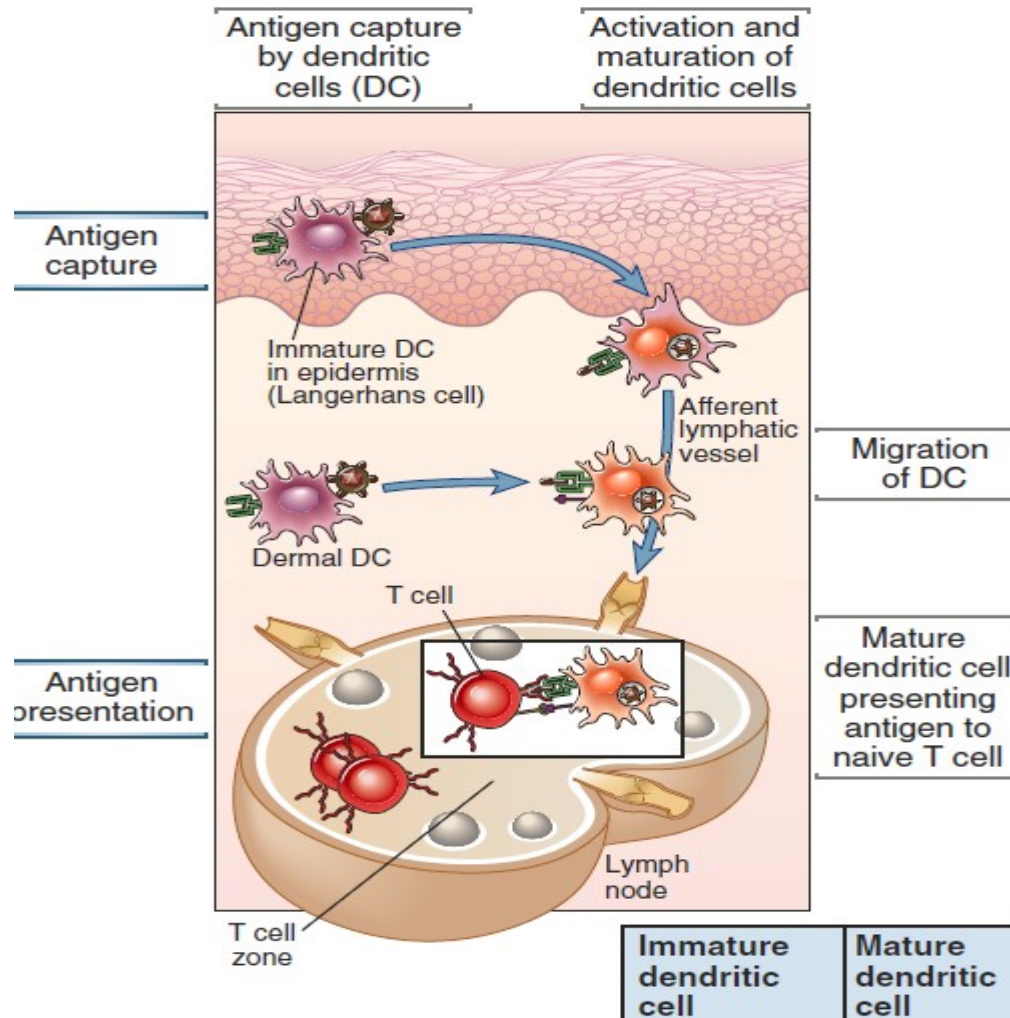
# Populace lidských dendritických buněk

- Myeloidní (dermis, dýchací cesty, střevo, thymus, slezina, játra, lymfoidní tkáně).
- Plasmacytoidní (lymfoidní orgány, játra, plíce, kůže).
- Langerhansovy (epidermis, slizniční epitel).

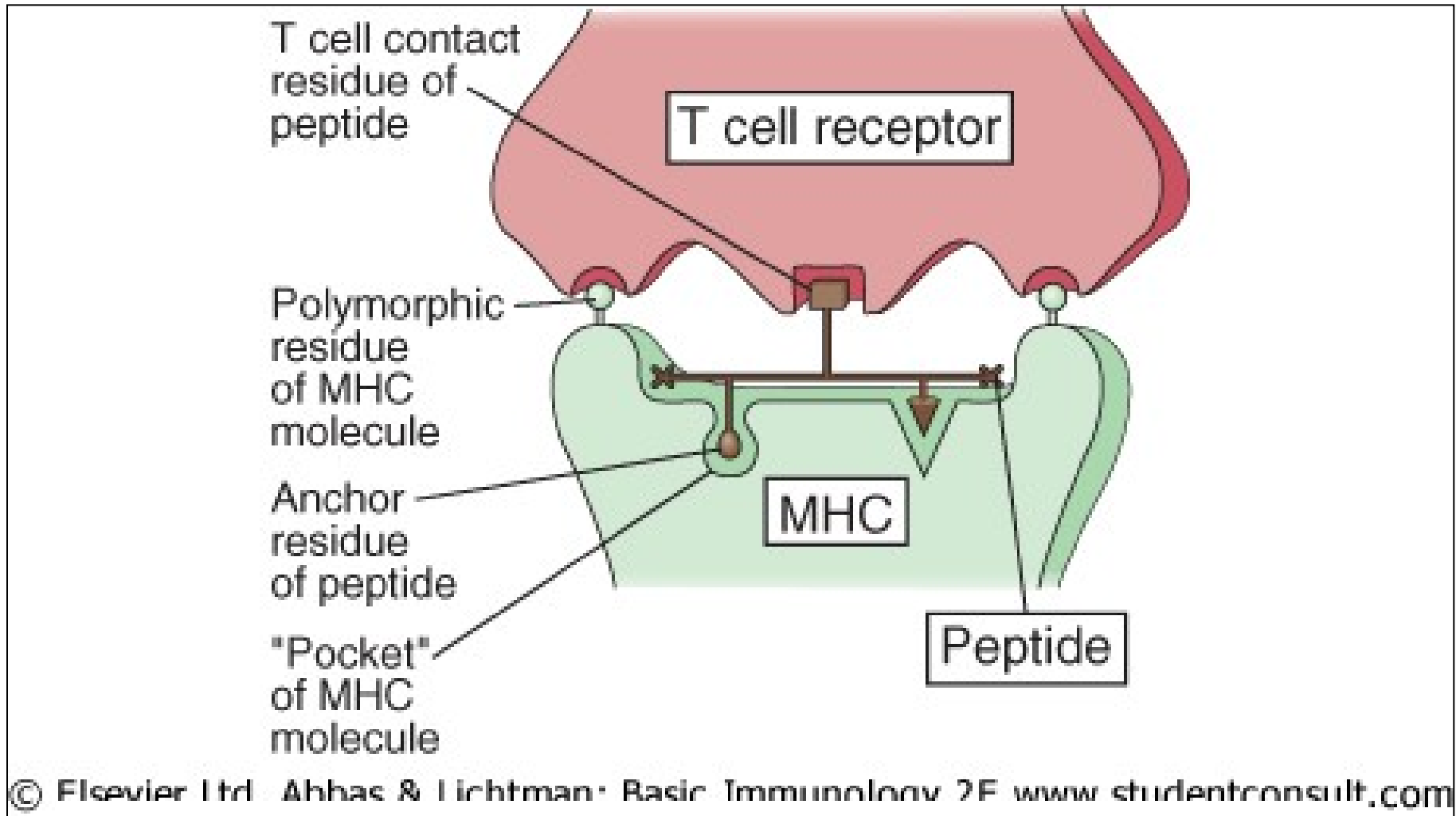
# Cesty antigenů



# Cesty antigenů



# Interakce TCR-polypeptid-HLA molekula



# T-lymfocyty rozpoznávají

- cizí antigeny v komplexu s vlastními molekulami MHC, což vede k imunitní reakci
- vlastní antigeny v komplexu s vlastními molekulami MHC, což vede k toleranci
- cizí molekuly MHC (transplantační reakce)