Mechanismy nespecifické imunity

Vrozená (nespecifická) imunita

- Stále připravena rozpoznat eliminovat mikroby. Nerozpoznává nemikrobiální antigeny.
- Většinou eliminuje mikroby dříve než se rozvinou mechanismy specifické imunity.
- Receptory jsou přímo geneticky determinovány, nejsou produkty rekombinace genů.

Vrozená (přirozená, nespecifická) imunita

- Přetrvává ve fylogenéze
- Poznávací receptory jsou fixovány v genomu
- Dokonale odlišuje vlastní od cizího
- Reakce na cizorodý materiál je bezprostřední
- Nevzniká paměť
- Propojení s adaptivní imunitou
- První linie obrany proti patogenům
- Účast v normálních fyziologických procesech

Význam vrozené imunity

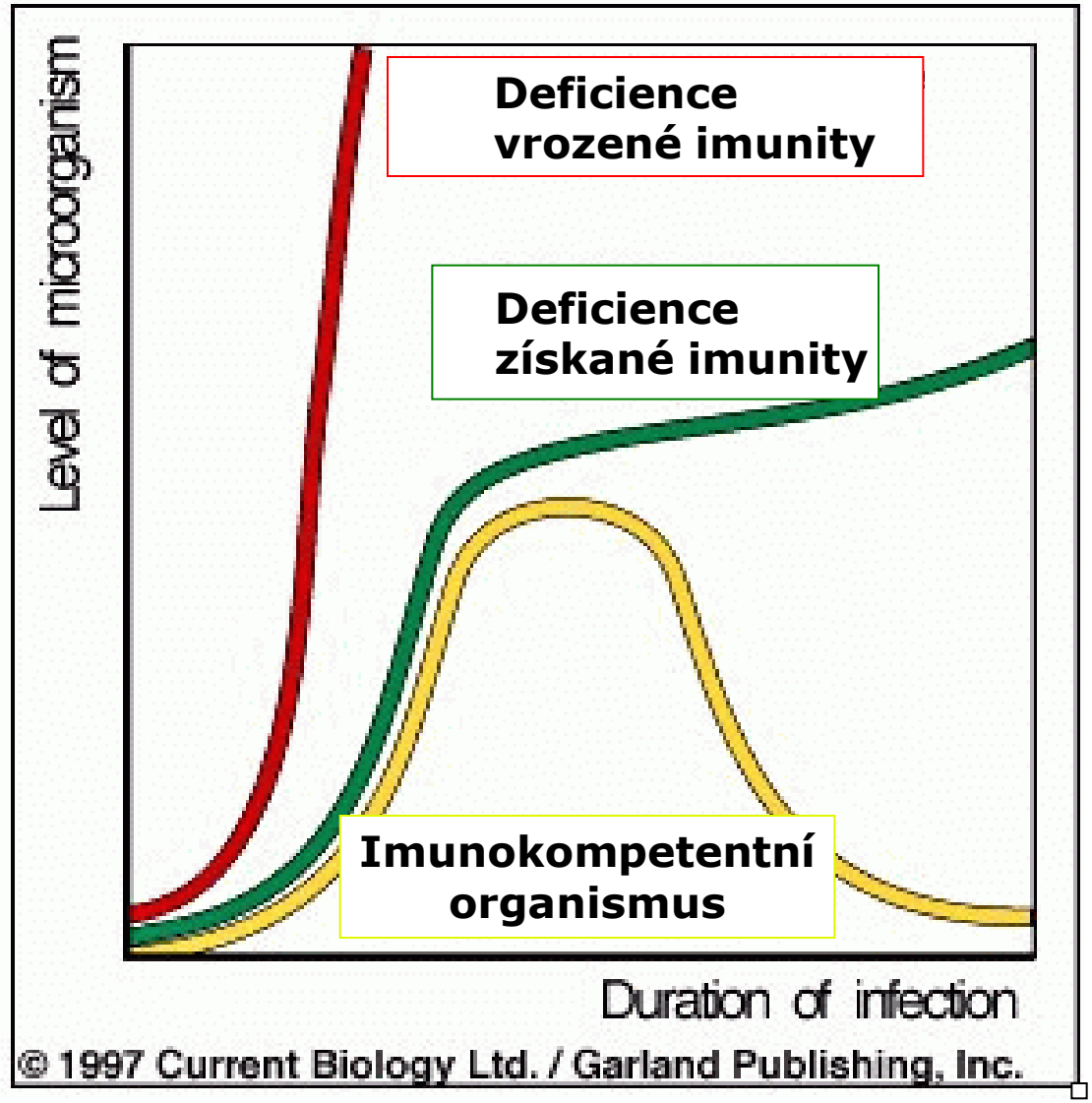
„... za přežití obratlovců při infekcích jsou převážně - tj. více než z 90% - odpovědny vrozené, elementární, mechanismy rezistence, mezi něž patří interferonem aktivované makrofágy, polymorfonukleární fagocyty a četné jiné faktory hostitele…“

(*Rolf M. Zinkernagel: On differences between immunity and immunological memory, 2002)*

IMUNITA VROZENÁ A ZÍSKANÁ

Vlastnost	Imunita vrozená	Imunita získaná
Specifičnost	struktury společné pro různá agens (molekulární znaky patogenů – „PAMP“ – dsRNA, CpG, LPS, manany, glykany, fosforylcholin…)	strukturální detaily antigenů (antigenní determinanty, epitopy)
Receptory	zakódované v genomu buněk zárodečné linie, není nutné přeskupování genů	vytvářejí se během vývoje somatickými rekombinacemi, přeskupování genů nutné
Distribuce receptorů	neklonální: všechny buňky dané skupiny jsou identické	klonálni: klony buněk odlišné specifičnosti mají odlišné receptory
Odlišení vlastního od cizorodého	perfektní vyselektováno v evoluci	ano, ale není perfektní (autoimunizace)
Nástup reakce	bezprostřední (0-4-96 hod)	s latencí (> 96 hod)
Paměť	nevzniká	vzniká

Průběh infekcí u poruch na úrovni vrozené a získané imunity

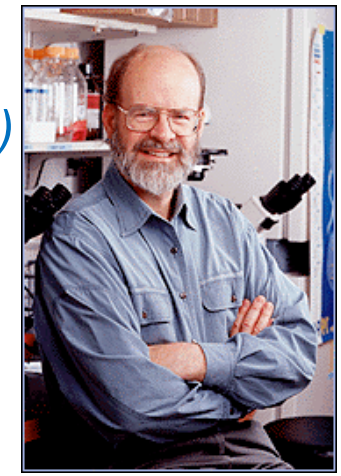


SIGNÁLY NEBEZPEČÍ:

- EXOGENNÍ (PAMPs)

- ENDOGENNÍ (např. STRESOVÉ PROTEINY UVOLNĚNÉ Z NEKROTICKÝCH BUNĚK)

Vrozená imunita – poznávané struktury (alarminy)



Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP)

(C. A. Jeneway,Jr, 1989)

stejné pro skupiny mikroorganismů,
konservované, nevariabilní molekulární „motivy“, „signatury“, „vzorce“, nezbytné pro životnost a patogenitu mikroorganismů,
odlišné od molekulárních struktur hostitele

např. lipopolysacharidy, lipopeptidy, peptidoglykany, manosa povrchových struktur bakterií a hub, nemetylované motivy CpG charakteristické pro bakteriální DNA, dsRNA representující strukturální signaturu RNA-virů

Danger, Damage-Associated Molecular atterns (DAMP)

(Polly Celine Eveline Matzinger,1994)

molekulární struktury hostitele

např. HSP60, HSP70, fragmenty fibrinogenu, fibronektin, hyaluronan..

Receptory vrozené imunity („PRR“)

V cirkulaci, rozpustné, sekretované:

lektin vázající manózu (MBL)

Na buňkách, membránové:

zprostředkovávající endocytózu (např. pro manan na makrofázích)

signalizační „Toll-like receptory“, **TLR**

Intracytoplazmatické:

„Nucleotide-binding oligomerization domain proteins“, **NOD**

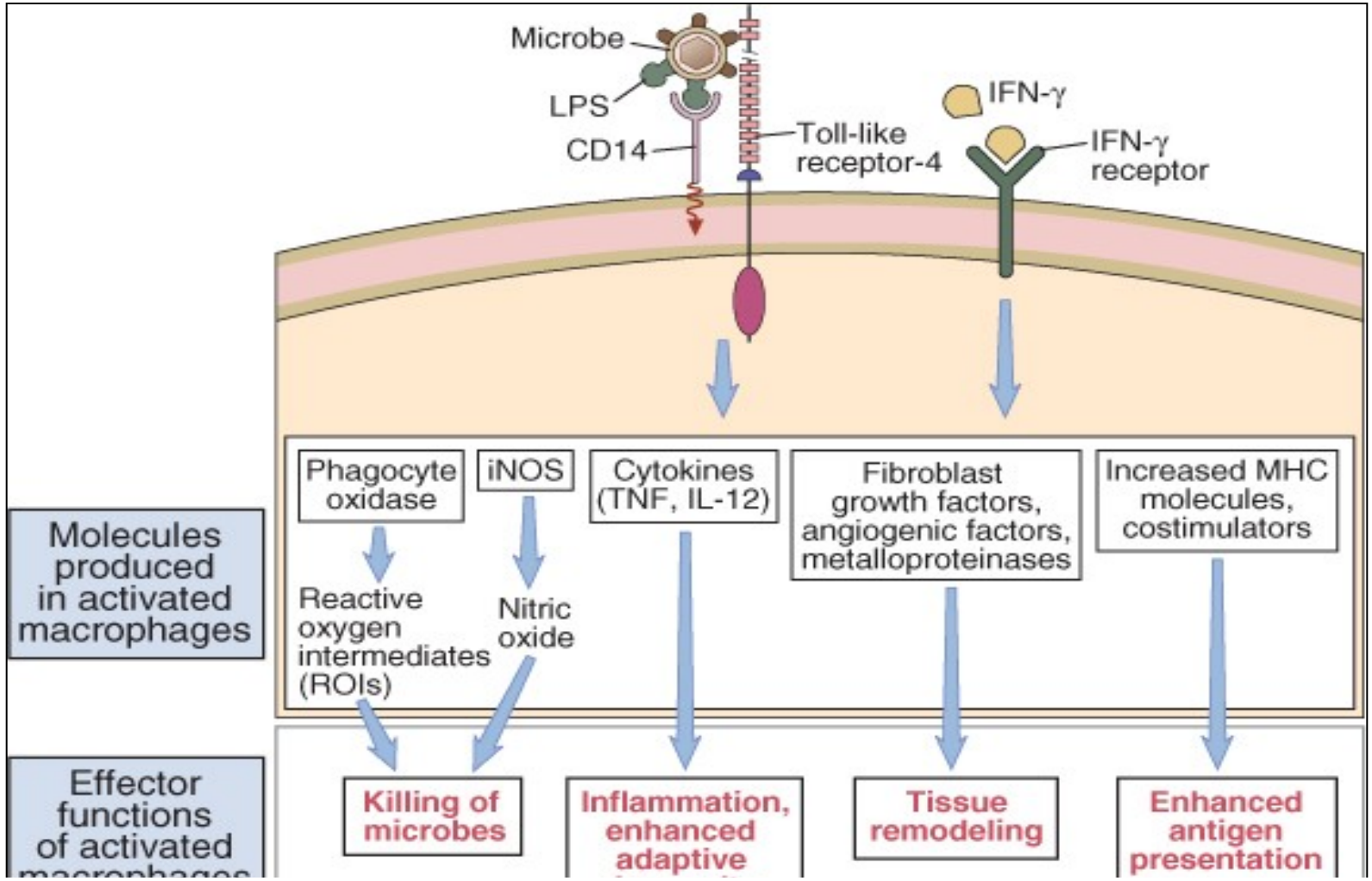
„Retinoic acid inducible gene I“, **RIG**

PAMPs:

lipopolysacharid (LPS)
peptidoglykany
lipoproteiny
manany
glukany
bakteriální DNA

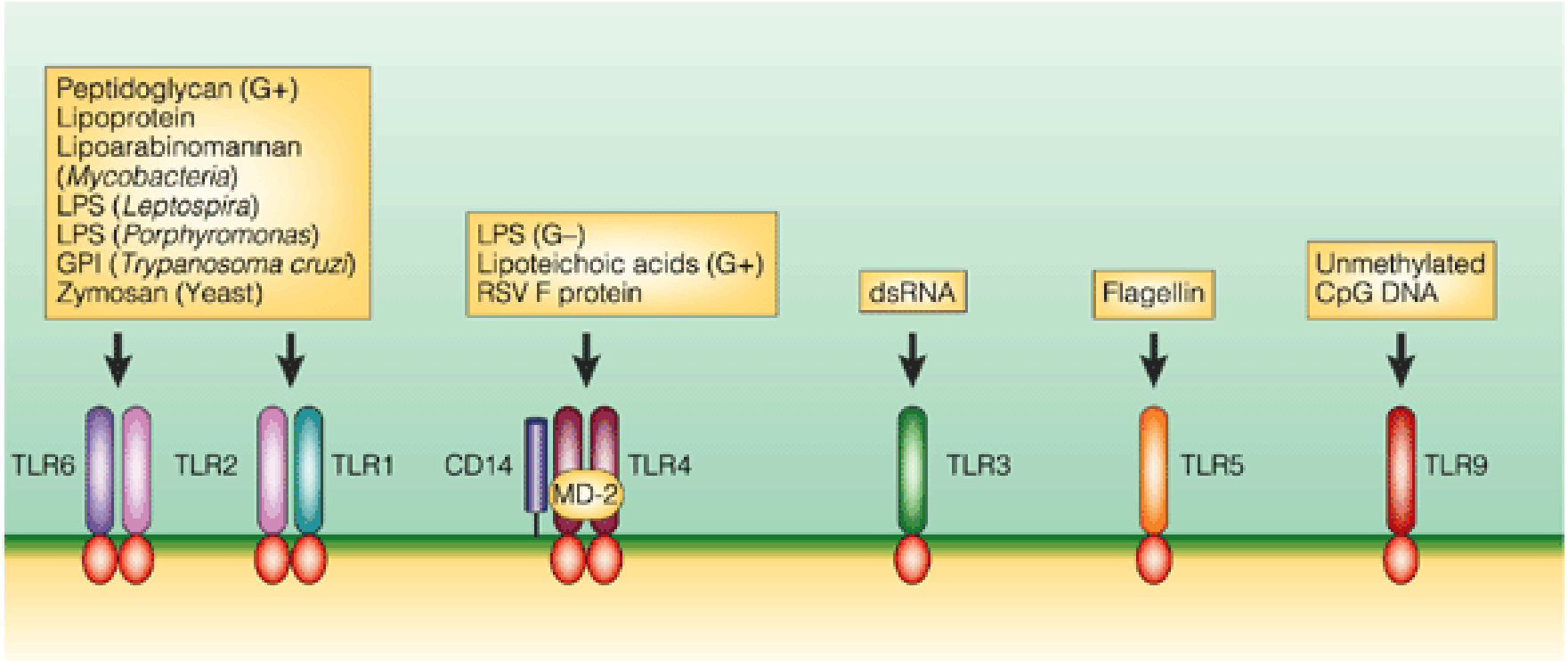
STUDENT CONSULT

Aktivace buněk cestou TLR a cytokinových receptorů



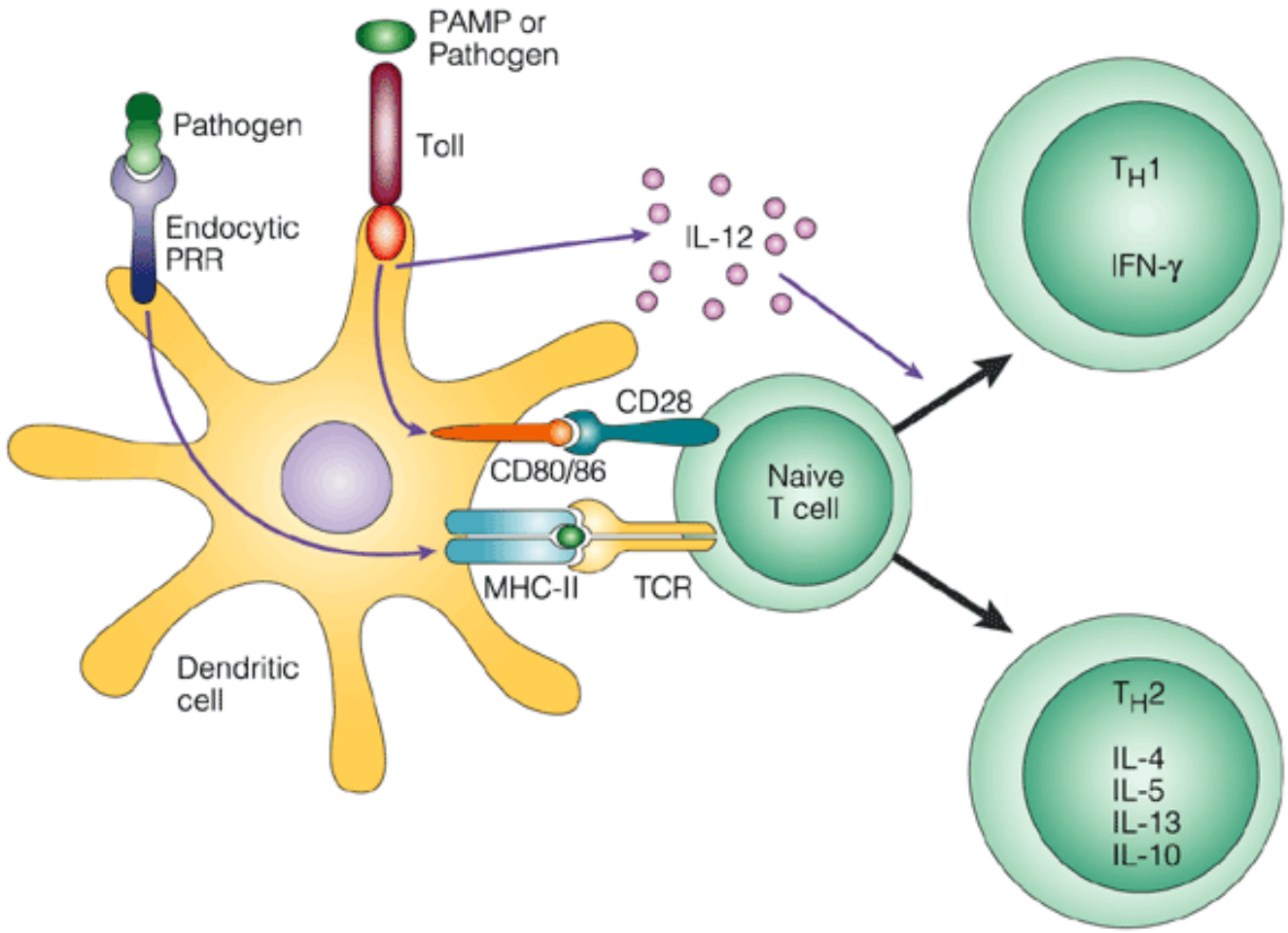
Downloaded from: StudentConsult (on 19 July 2006 06:34 AM)
© 2005 Elsevier

TOLL-LIKE RECEPTORY



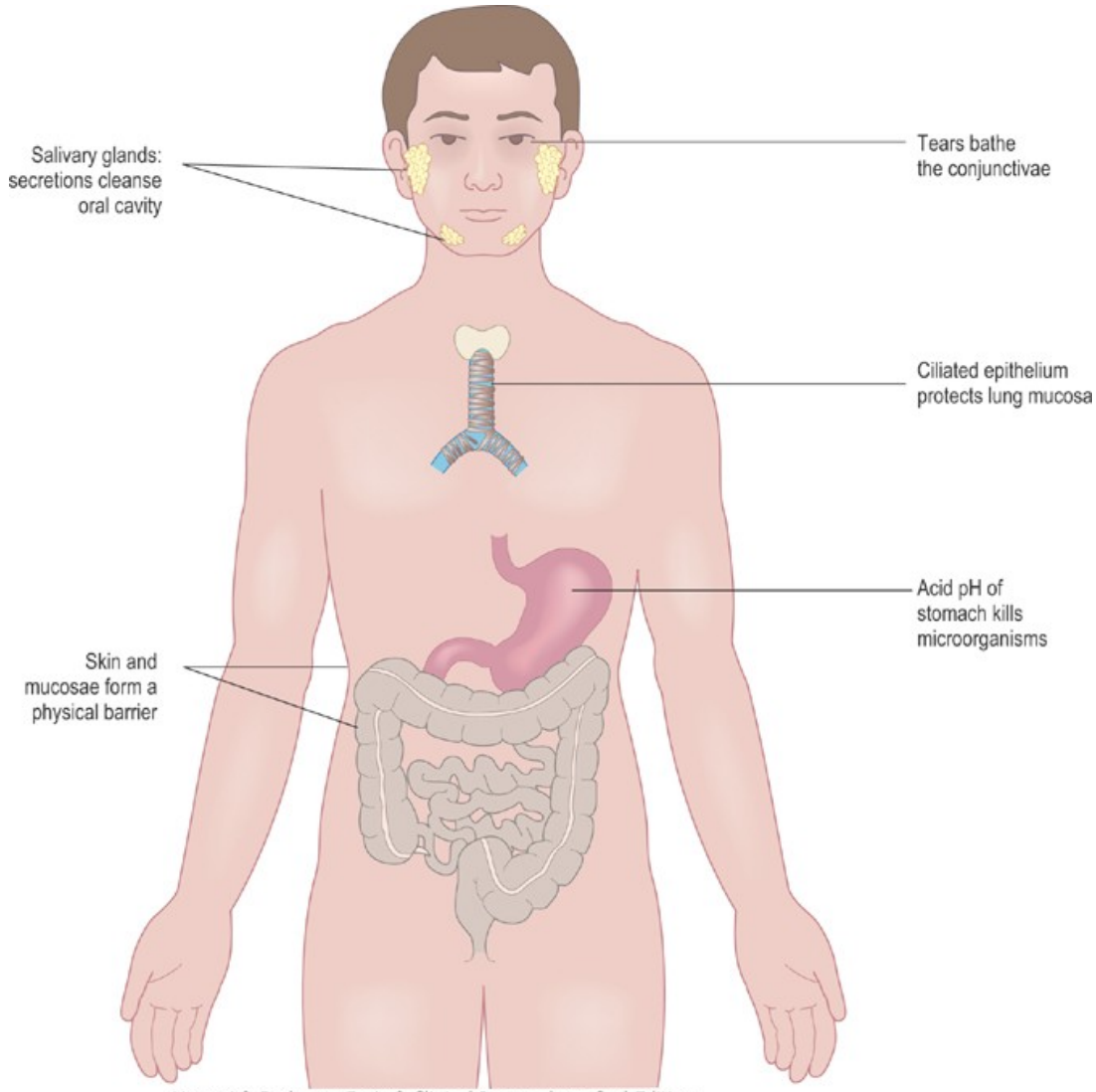
Nature Reviews | Immunology

PAMP jsou důležité v aktivaci dendritických buněk



Nature Reviews | Immunology

Nespecifické ochranné bariéry lidského těla



Vergani & Peakman: Basic & Clinical Immunology, 2nd Edition.
Copyright © 2009 by Churchill Livingstone, an imprint of Elsevier, Ltd. All rights reserved.

Epitelové buňky – první linie imunity

- Mechanická a chemická bariéra
- Pohyb řasinek
- Hlen –muciny
- Lysozym, fosfolipáza A, histatiny
- Defensiny (α,β)
- Surfaktantové proteiny (A,D)

Poznávání nebezpečí, poškození (PRR),uvolnění cytokinů, chemokinů, zánětlivých mediátorů- ovlivnění imunitních reakcí

Systém vrozené imunity

Celulární složky

Epitelové buňky (antimikrobiální peptidy, cytokiny)

Mastocyty (farmakologicky aktivní)

Profesionální fagocyty (neutrofilní leukocyty, mononukleární fagocyty)

NK buňky (natural killer)

Dendritické buňky (prezentace antigenů)

Innate lymphoid cells

Systém vrozené imunity

Humorální složky

Mikrobicidní faktory (lysozym, defensiny, kathelicidiny a další)

Histamin, eikosanoidy

Komplementový systém

Pentraxiny (CRP, SAP, PTX3)

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

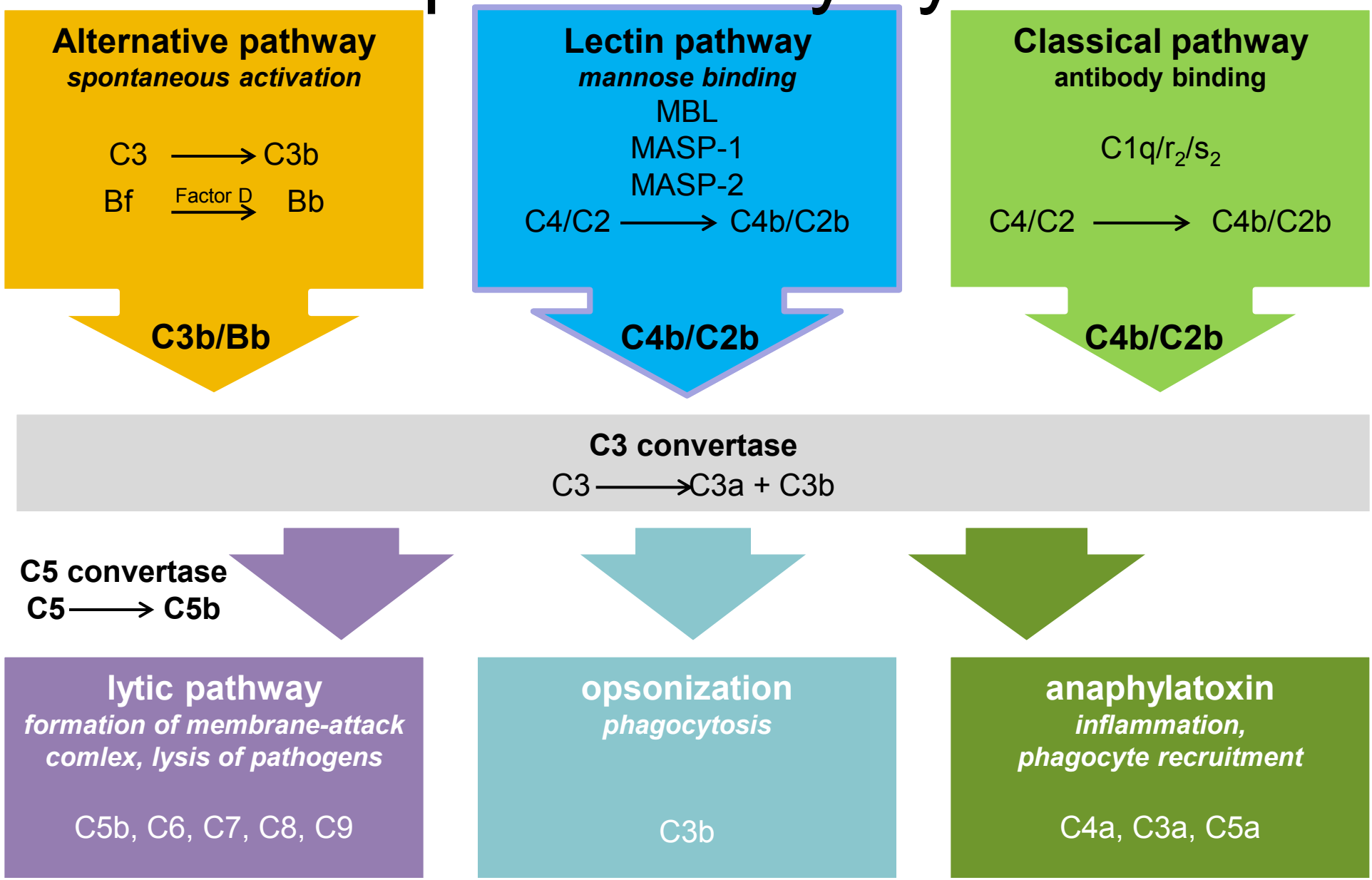
Cytokiny (Interferony α,β, γ, TNFα, IL-1, IL-6, chemokiny)

Komplementový systém

Všeobecná chakteristika aktivace komplementového systému (C-systém)

- Jednotlivé složky jsou v plazmě přítomny v inaktivní formě, jsou aktivovány svým proteolytickým štěpením.
- Štěpí se na menší část (označovaná jako a) a větší část (označovaná jako b).
- Obvykle část b má také proteolytickou aktivitu, část a zajišťuje další funkce C-systém (chemotaxi, prozánětlivý efekt).
- Složky C6-C9 nejsou štěpeny, pouze se vzájemně váží na sebe.

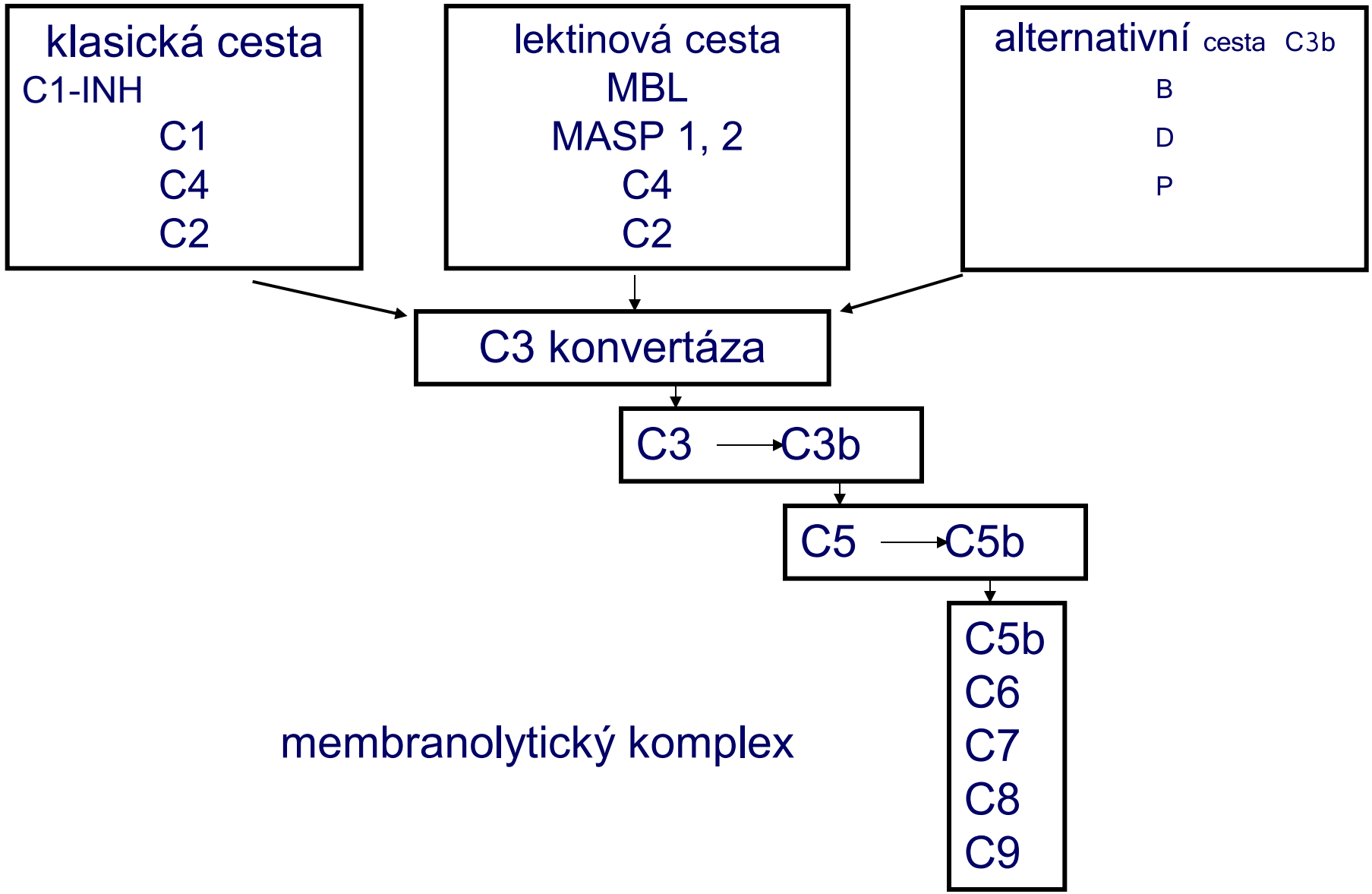
Komplementový systém



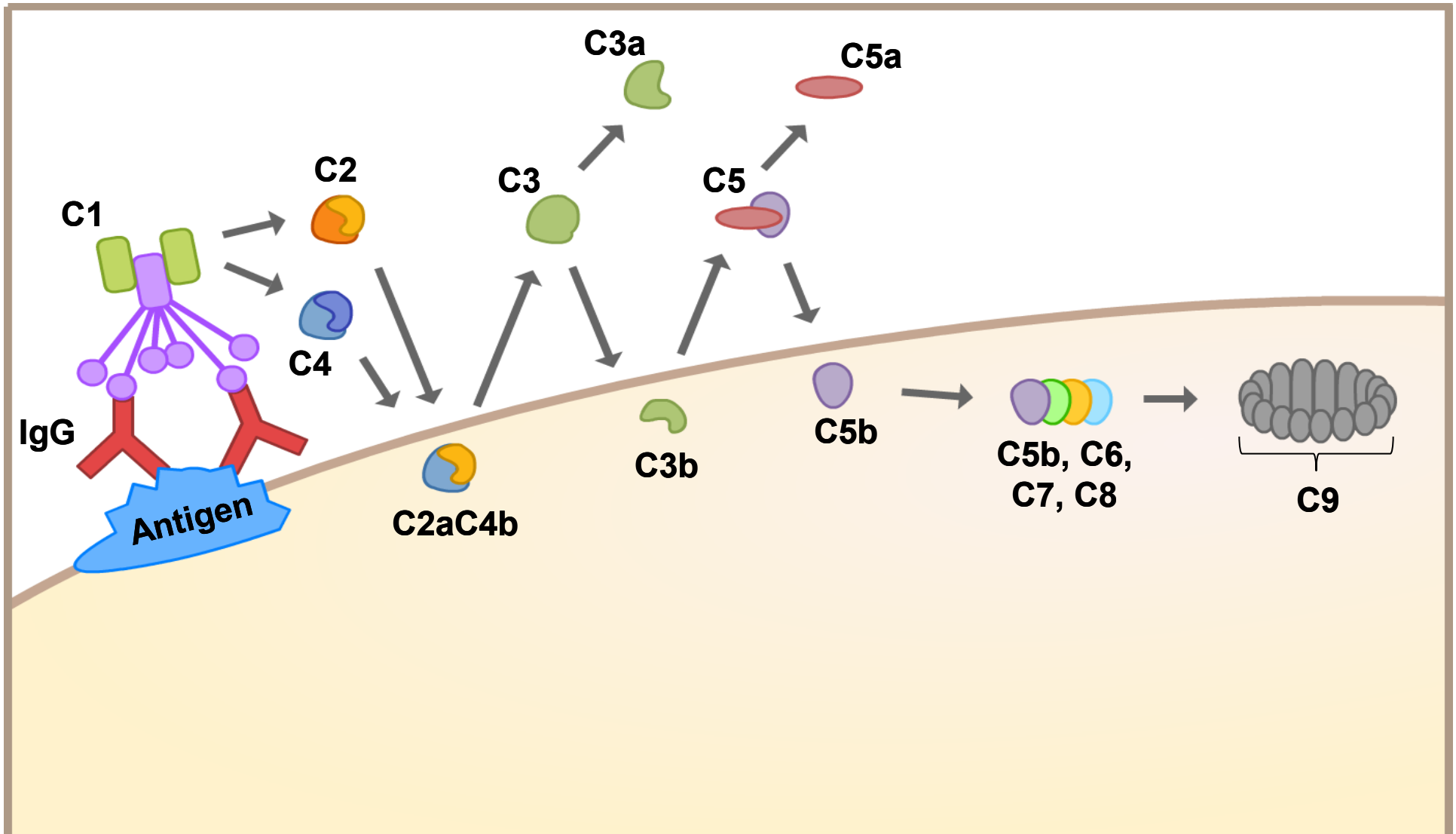
Aktivace komplementového systému

- Klasická cesta:
  - Komplexy IgG-antigen, IgM-antigen,
  - C-reaktivní protein
- Alternativní cesta
  - Lipopolysacharid G- bacterií
  - Buněčná stěna některých bakterií
  - Buněčná stěna kvasinek (zymozan)
  - Agregovaný IgA
- Lektinová cesta
  - Manóza a další sacharidy

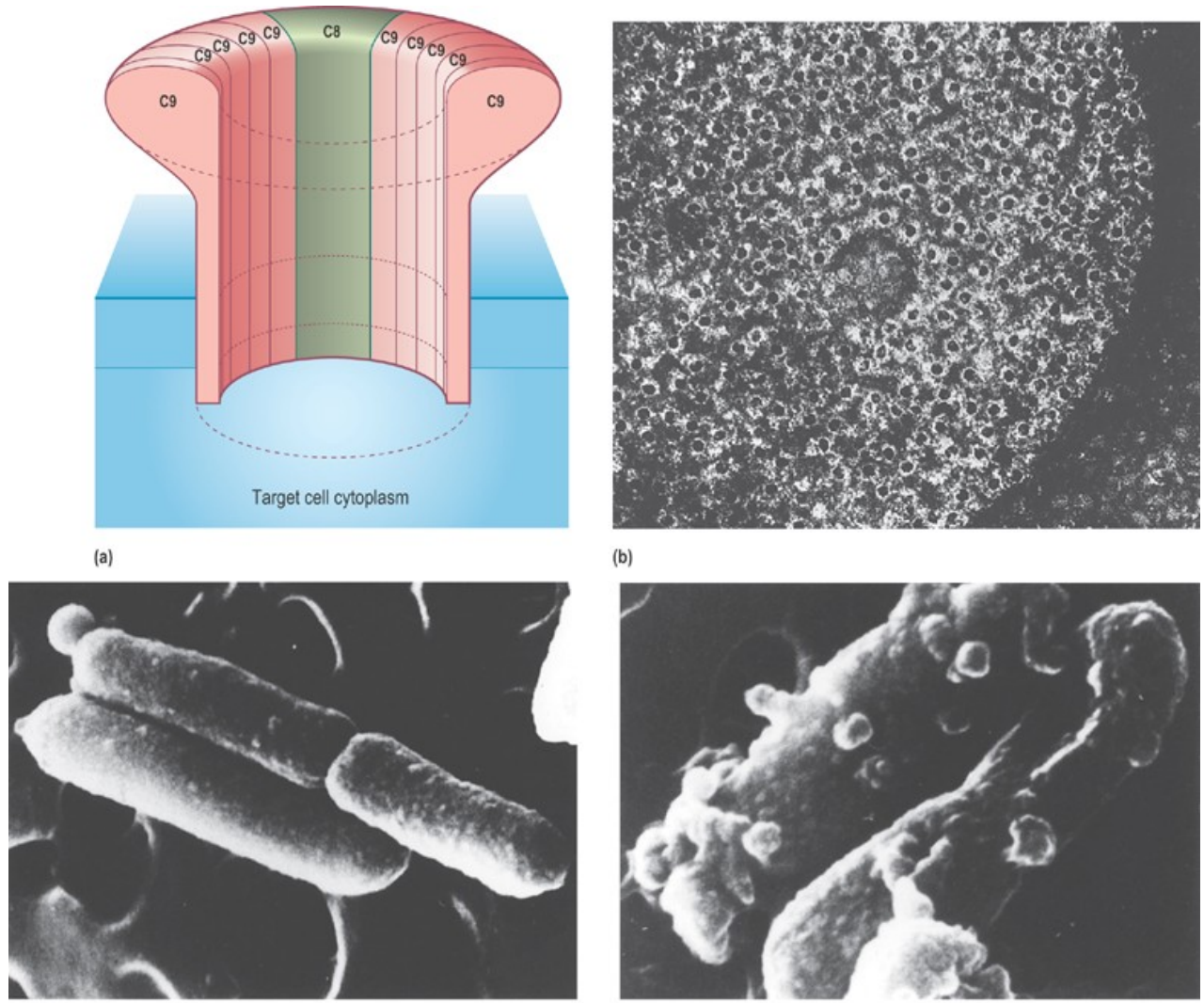
Aktivace komplementu



Aktivace klasické cesty komplemntového systému



Účinek C9 na buněčnou membránu

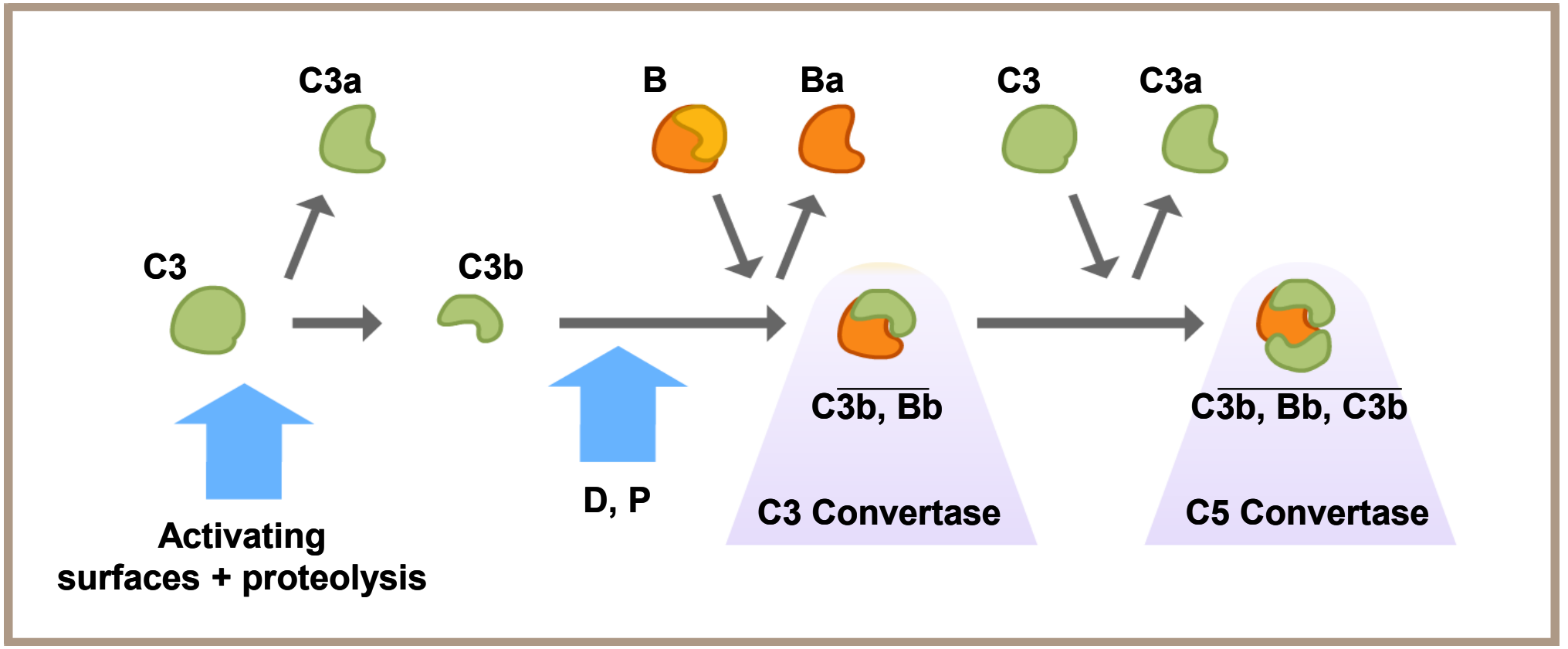


Vergani & Peakman: Basic & Clinical Immunology, 2nd Edition.
Copyright © 2009 by Churchill Livingstone, an imprint of Elsevier, Ltd. All rights reserved.

Alternativní cesta aktivace komplementového systému

- Iniciována spontánní aktivací C3 na povrchu některých bakterií (např vlivem LPS) nebo kvasinek (např vlivem zymozanu)
- Aktivována složka B
- Stabilizace komplexu se účastní složky D a P (properdin)
- Vzniká alternativní C3 konvertáza (C3bBb)

Aktivace alternativní dráhy komplementového systému



Regulace aktivity komplementového systému

- Plasmatické faktory
- Klasická cesta:
  - zejména C1-INH (deficit vede k hereditárnímu angioedému).
- Alternativní cesta:
  - faktor H (polymorfismy vázány na vznik makulární degenerace sítnice, mutace u části pacientů s hemolyticko-uremickým syndromem),
  - faktor I
- Faktory vázané na buňky:
  - CD59 (brání polymerizaci C9),
  - CD55 (DAF - decay accelerating factor) - inaktivuje C4b a C3b,
  - CD46 – zabraňuje vazbě C3 na buňky.

Biologické funkce aktivovaných složek komplementového systému

- lýza buněk (mikroorganismů) (MAC)
- opsonizace (C3b)
- chemotaxe (C5a, C3a)
- prozánětlivá aktivita (C3a, C5a)
- přenos imunokomplexů (C3b, C4b)
- regulace paměťové odpovědi (C3b, C3d)

Biologické efekty aktivovaného komplementového systému

- C9 - cytolytický effect
- C3b - opsonizace
- C3a, C5a – anafylotoxiny, histaminoliberace
- C5a - chemotaxin

Patogenetický význam komplementového systému

- **Deficity složek klasické a alternativní cesty** – náchylnost k bakteriálním infekcím, sklon k systémovým autoimunitním chorobám.
- **Deficit C1-INH**: hereditární angioedém.
- **Mutace regulačního faktoru H** – některé formy atypického hemolyticko-uremického syndromu.
- **Některé polymorfismy faktoru H jsou** vázány s makulární degenerací retiny.
- Paroxysmální noční hemoglobimurie – je způsobena **mutací genu PIG-A** (tento gen kóduje protein potřebný k vytvoření membránové struktury vážící CD 55 a CD 59 - ty chrání chránící membránu před lytickým účinkem komplementu.

Komplementový systém a klinická medicína

- Sledování hladiny složek C- systému (C3 a C4) v rámci monitorace zánětlivého procesu, zejména u systémových imunokomplexových chorob (třeba SLE).
- Monoklonální protilátka proti C5 – **eculizumab** – je používána k léčbě atypického hemolyticko-uremického syndromu, paroxysmální noční hemoglobulinurie, je zkoušena u dalších stavů s aktivací komplementového systému.
- Substituce C1 INH je využívána v terapii atak hereditárního angioedému.

Fagocytóza

STUDENT CONSULT

Polymorfonukleární granulocyt

© Elsevier Ltd. Abbas & Lichtman: Basic Immunology 2E www.studentconsult.com

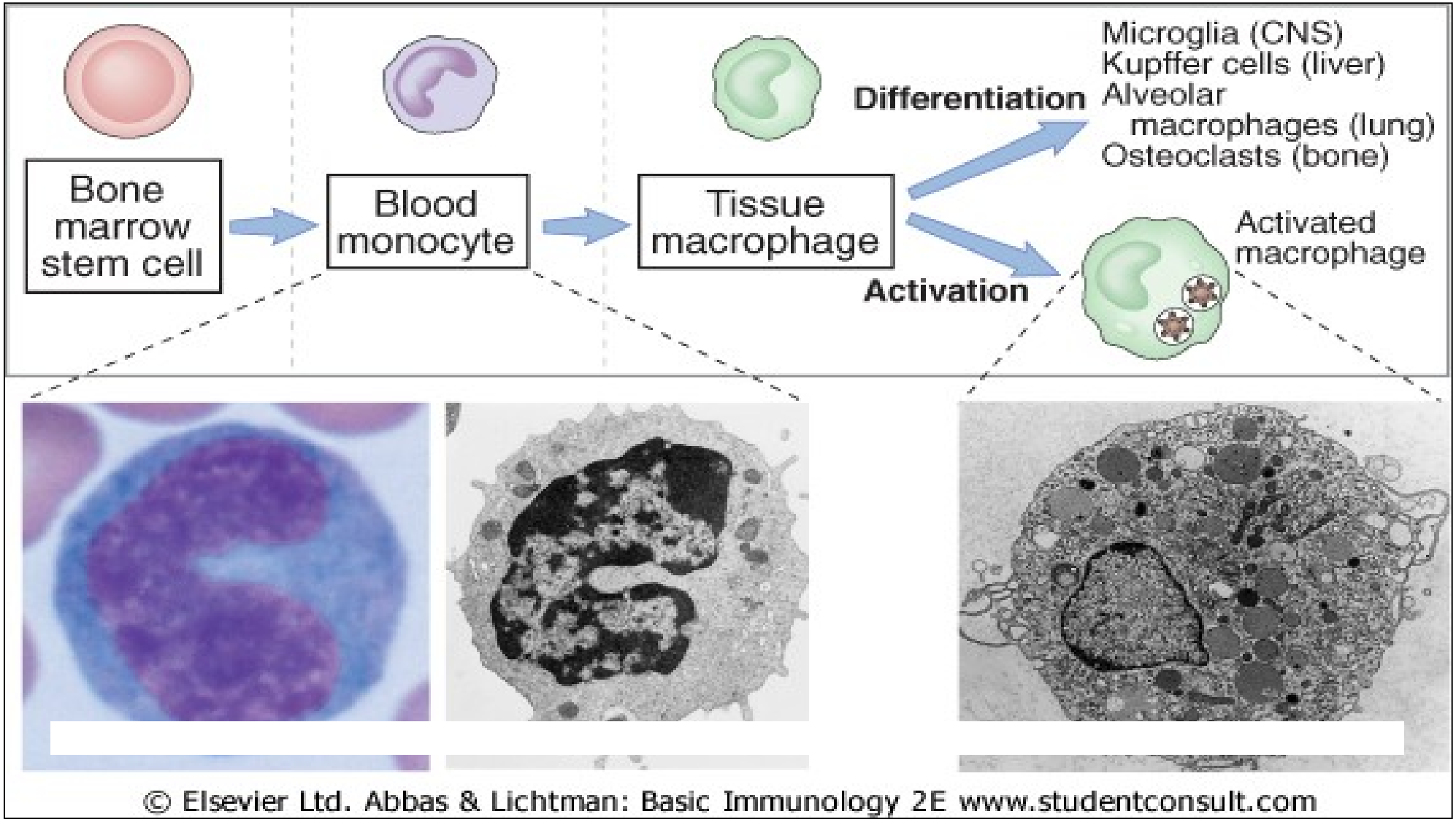
Downloaded from: StudentConsult (on 19 July 2006 06:34 AM)
© 2005 Elsevier

Profesionální fagocyty imunitního systému

- Granulocyty – neutrofilní, částečně i eozinofilní
- Monocyty makrofágy:
  - Kupfferovy buňky,
  - Mikroglie
  - Osteoklasty
  - Makrofágy sleziny, alveolů, vazivové tkáně, sinusů..
- Dendritické buňky (neaktivované)

STUDENT CONSULT

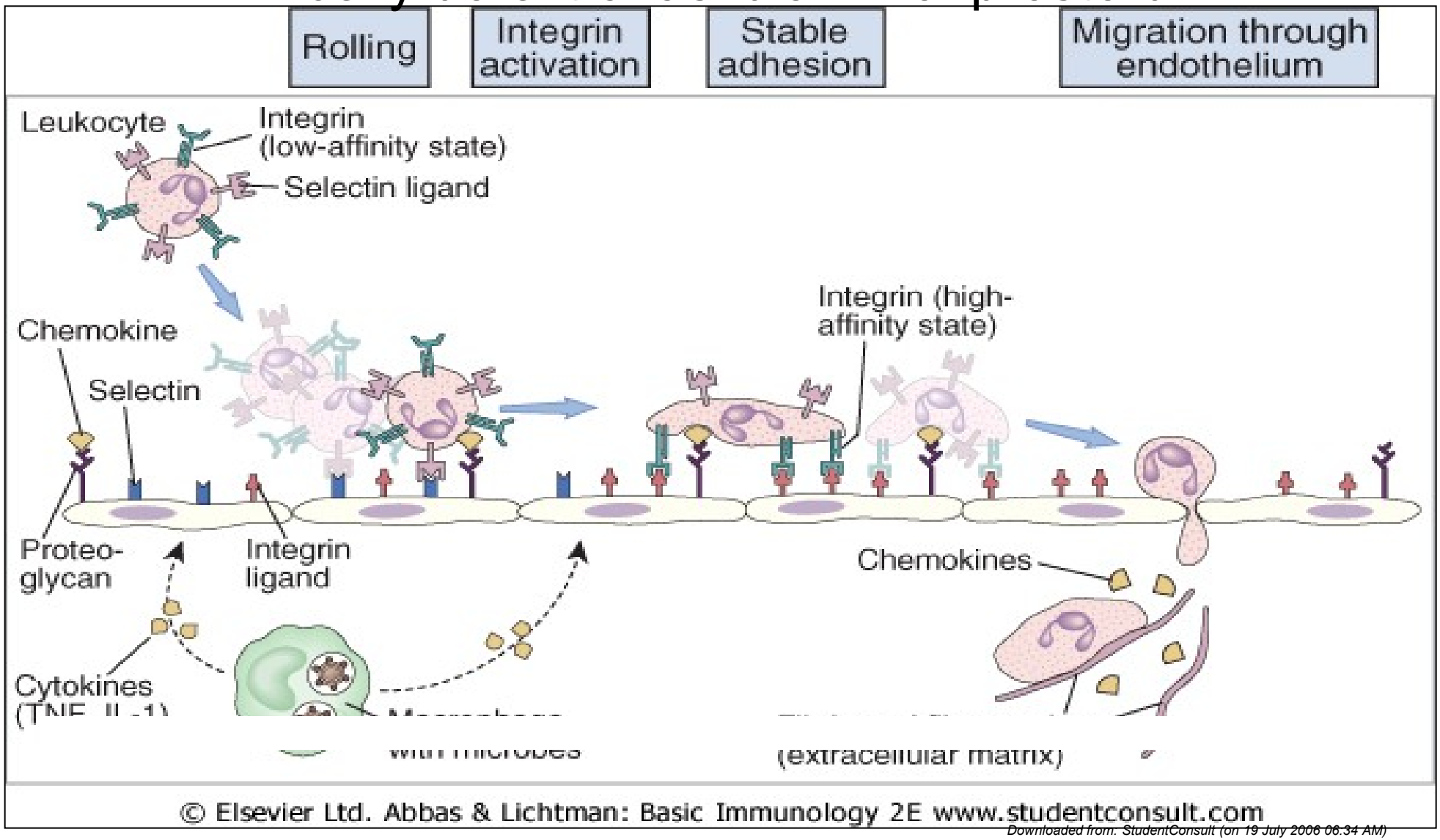
Vývoj makrofágů z monocytů



Downloaded from: StudentConsult (on 19 July 2006 06:34 AM)
© 2005 Elsevier

STUDENT CONSULT

Interakce leukocytů s endoteliemi při přechodu leukocytu z cévy do extravaskulárního prostoru



© Elsevier Ltd. Abbas & Lichtman: Basic Immunology 2E www.studentconsult.com

Downloaded from: StudentConsult (on 19 July 2006 06:34 AM)

© 2005 Elsevier

Dvě fáze interakce mezi fagocyty a cévní stěnou

- Rolling – reverzibilní interakce daná vazbou mezi endoteliálními **selektiny** a jejich ligandymin a povrchu leukocytů (např sialyl-Lewis^X)
- stabilní vazba – vytváří se po aktivaci prozánětlivými faktory. Je dána interakcí mezi leukocytárními **integriny** a jejich ligandami na endoteliích – např ICAM-1.

Leukocyte adhesion deficiency (LAD)

- Velmi vzácné primární poruchy fagocytózy (primární imunodeficience)
- Příčinou je porucha interakce granulocyt-endotelie.
- LAD-I je působen deficitem intergrinů (β-2 integriny)
- LAI-II porucha sialil-Lewis^X
- Závažné nekrotizující flegmonosní záněty, poruchy hojení ran, porucha odhojování pupečníku
- Granulocyty nejsou přítomny v exudátu, naopak v cirkulaci je výrazná granulocytóza.

Natalizumab

- Humanizovaná monoklonální protilátka vážící se na α_4 integrin (ten se váže se na integrinový receptor VCAM-1).
- Dochází k blokaci adheze a následného přestupu leukocytů (hlavně T-lymfocytů) do extravaskulárních prostor.
- Využíváno v léčbě roztroušené mozkomíšní sklerózy, nově i Crohnovy choroby.

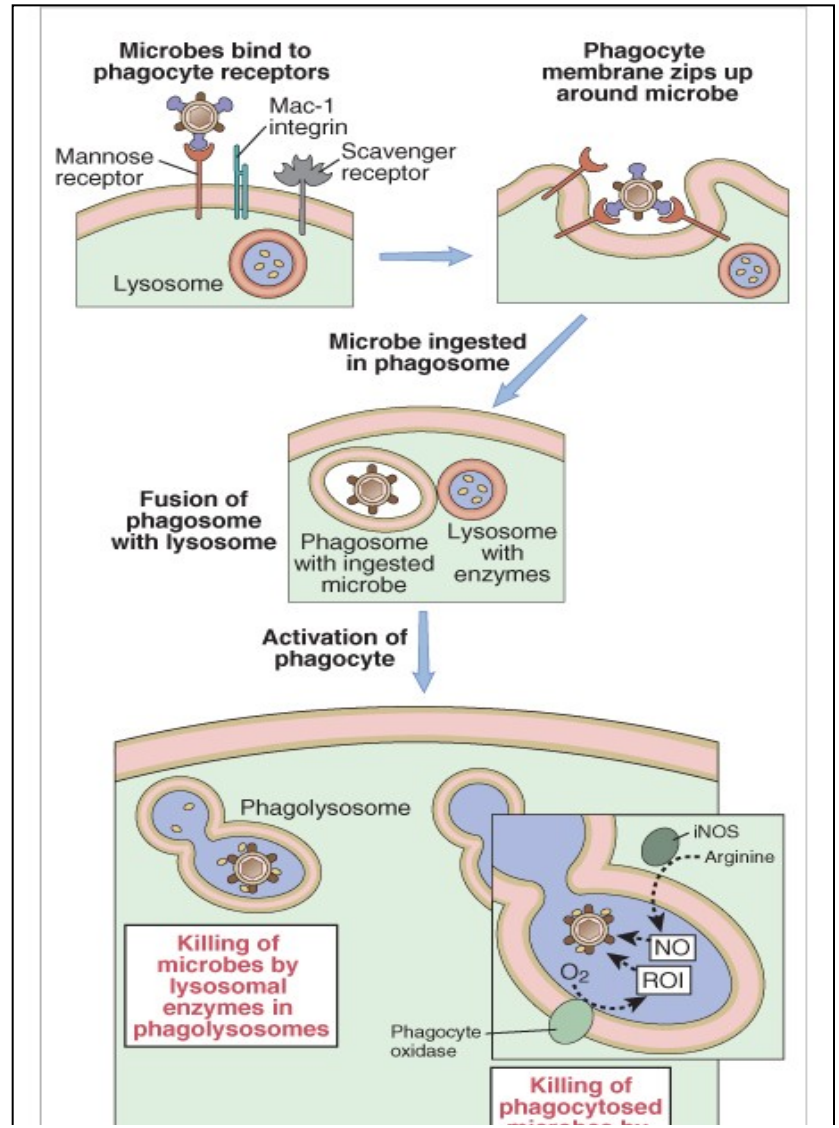
Chemotaxiny

- Produkty rozpadu buněk
- C5a
- IL-8, IL-1
- Leukotrieny
- Destičky aktivující faktor (PAF)

Opsoniny

- Látky zlepšují adhesi fagocytující buňky k fagocytované částici.
- Specifické: IgG, (IgM pouze nepřímo aktivací komplementového systému)
- Nespecifické: C3b, fibronektin, CRP, MBL….

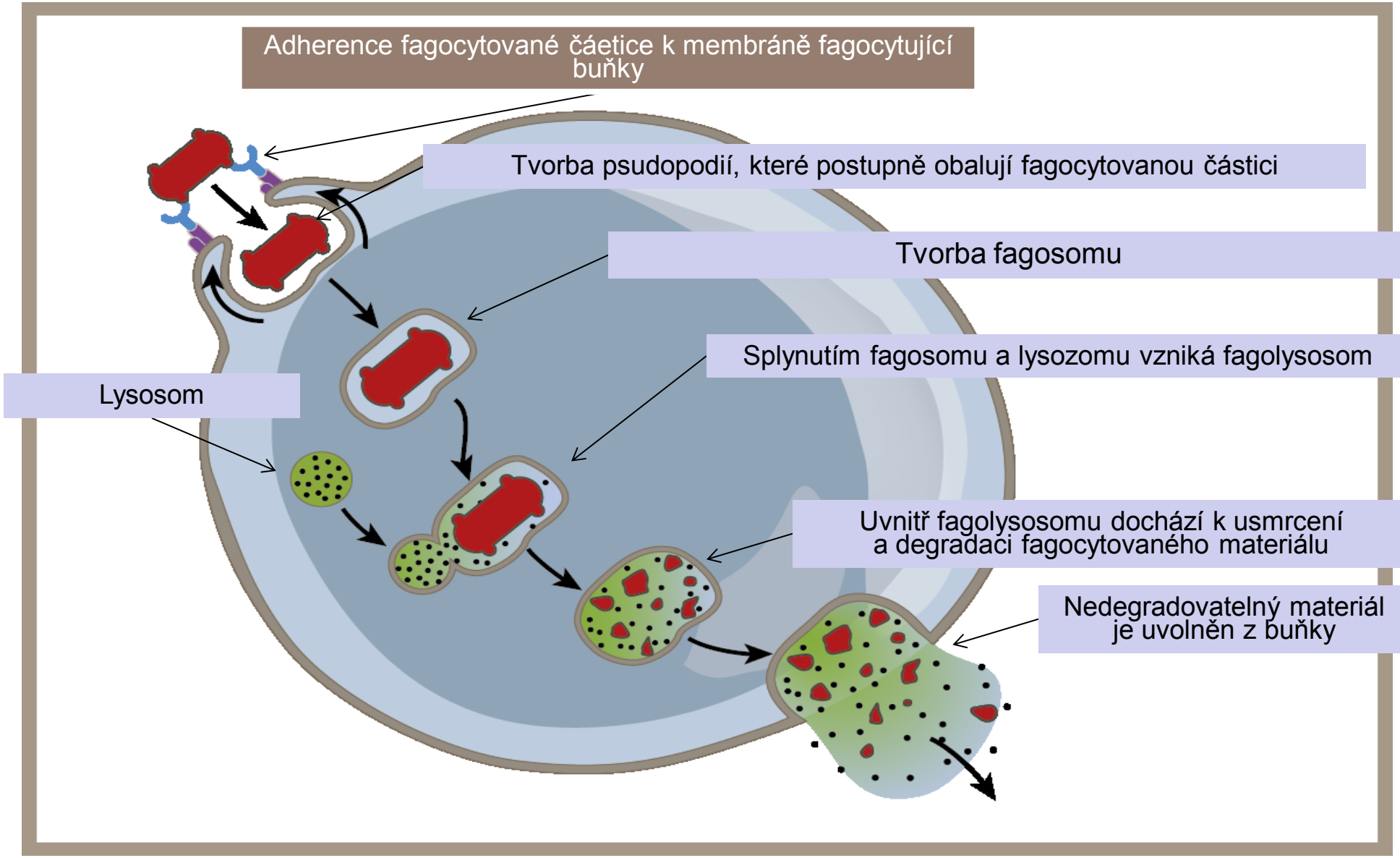
STUDENT CONSULT



© Elsevier Ltd. Abbas & Lichtman: Basic Immunology 2E www.studentconsult.com

Downloaded from: StudentConsult (on 19 July 2006 06:34 AM)
© 2005 Elsevier

Jednotlivá stadia fagocytózy



Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

- Reaktivní metabolity kyslíku (H_2O_2, hydroxylový radikál (.OH), superoxidový aniont (O_2^-), singletovaný kyslík(.O_2)
- Reaktivní dusíkové metabolity (NO, NO_2)
- Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy
- Nízké pH
- Lysozym
- Lactoferin
- Defenziny – antimikrobiální polypeptidy

Porucha tvorby reaktivních metabolitů kyslíku

- Mutace složek NADPH oxidázy.
- Následkem je závažná porucha granulocytózy – Chronická granulomatózní choroba.
- Fagocyty nejsou schopny usmrtit fagocytované mikroorganismy (stafylokoky, plísně).
- Manifestací je zejména tvorba abscesů.

Defensiny

- Polypepticy účinné proti řadě bakterií, plísní ale i některým virům.
- Jsou produkovány především neutrofilními granulocyty a epiteliálními buňkami.
- Hlavním mechanisme je porušení integrity buněčné membrány, včetně tvorby pórů v membráně.
- Dělí se na skupiny integrinů α a β.

Lysozym

- Stěpí buněčnou stěnu G+ baktérií
- Přítomen v granulích granulocytů, plazmě, sekretech

Přirození zabíječi (NK buňky)

- Morfologicky se jedná o velké granulované lymfocyty (LGL).
- Vznikají v odlišné linii než T a B- lymfocyty.
- Nově jsou řazeny mezi innate lymphoid cells (ILC).
- Rozpoznání cílové buňky je antigen nespecifické. Záleží na vzájemném poměru aktivačních a inhibičních signálů na povrchu cílové buňky.
- Nejdůležitějším negativním signálem stimulace **KIR – killer inhibitory receptors**.
- Nejdůležitějším ligandem KIR je exprese (nepozměněných) HLA-I antigenů na povrchu cílové buňky.
- Aktivační stimuly: například adhezívní (např. lektiny), receptor FcγIII receptor (CD16).

Přirození zabíječi (NK buňky)

aktivační receptory poznávají proteinové a sacharidové struktury patogenů na povrchu terčových buněk a neklasické molekuly MHC

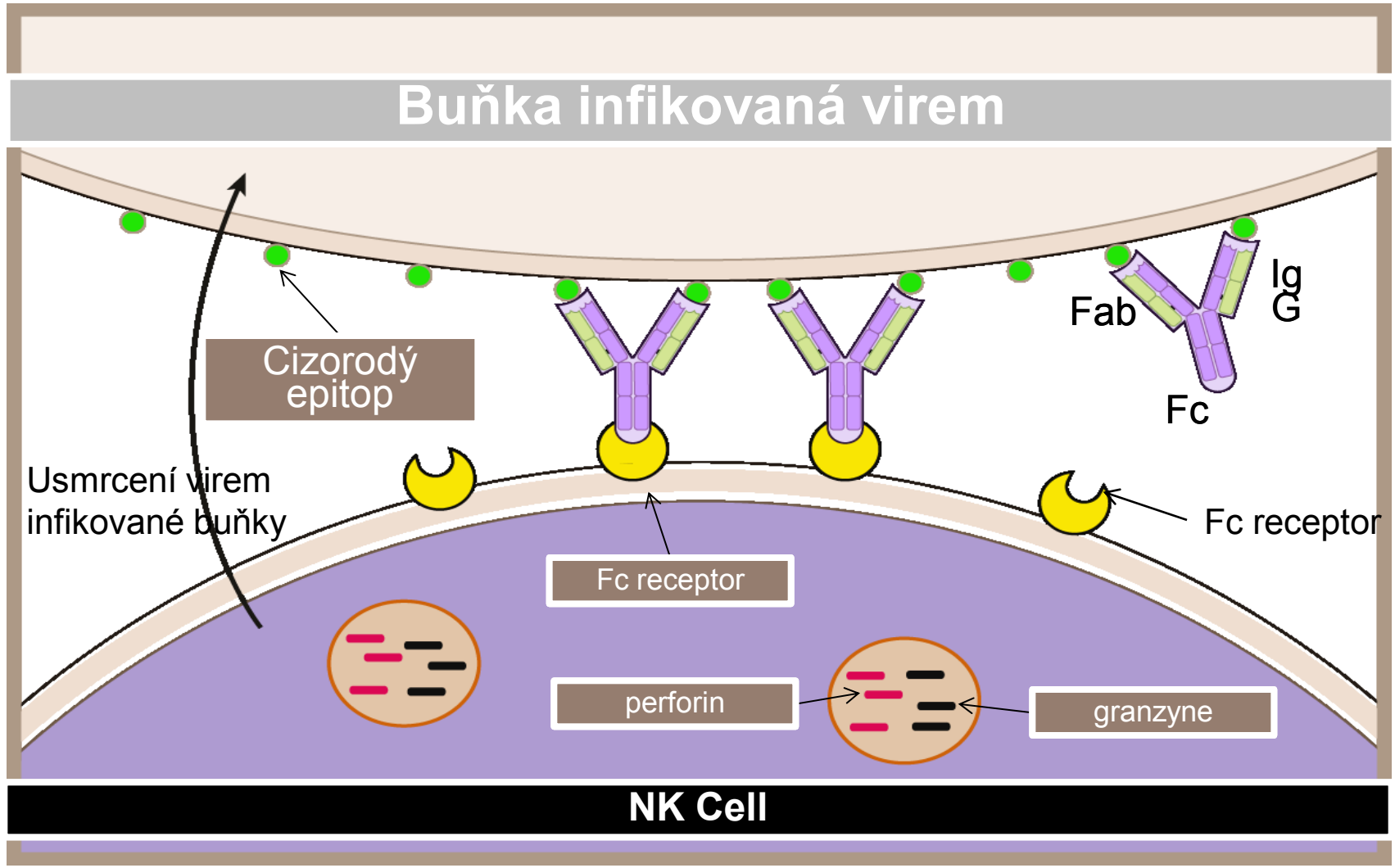
inhibiční receptory poznávají klasické molekuly MHC I bez ohledu na identitu peptidů, které jsou na ně vázány

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

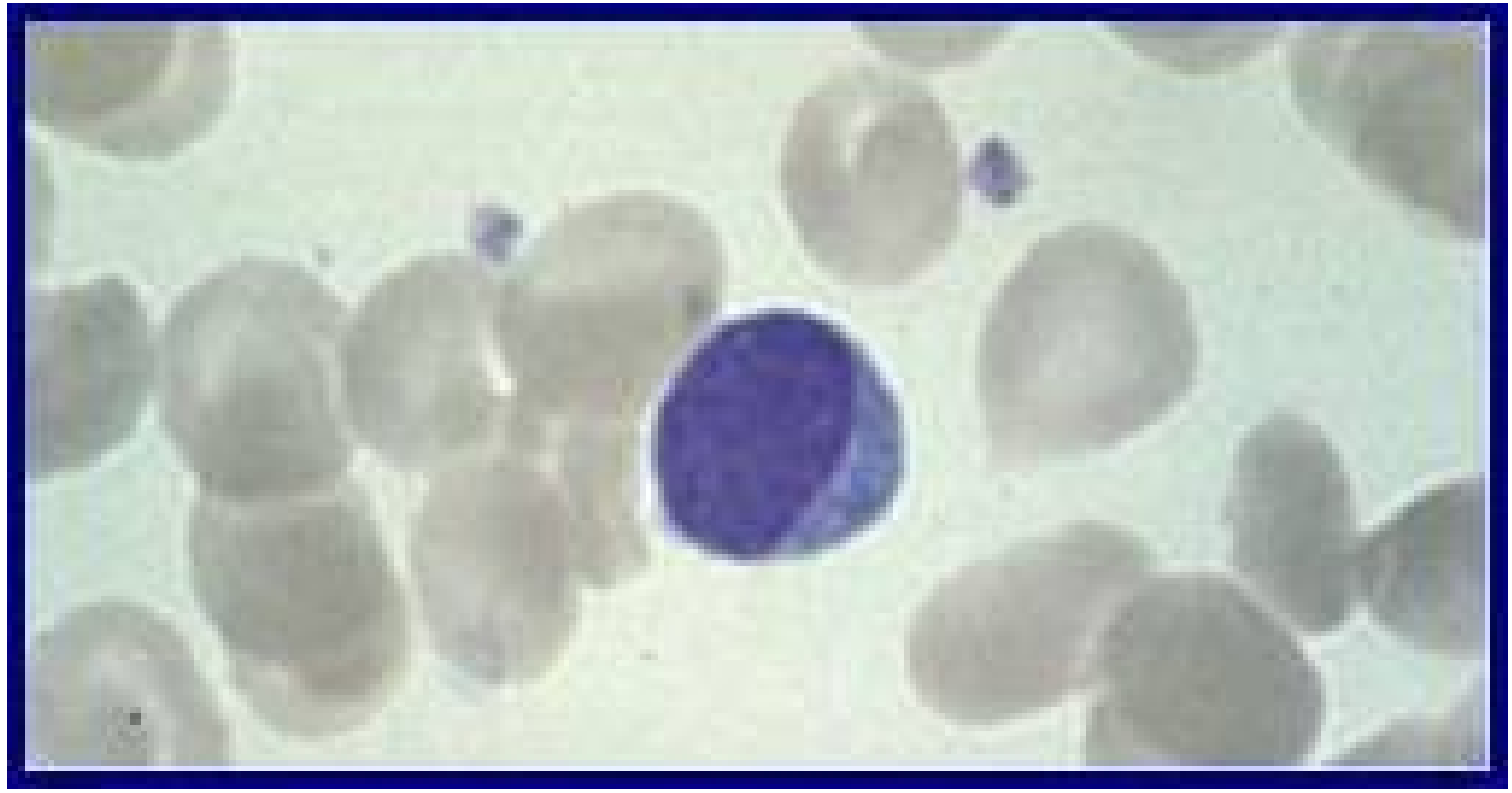
Přirození zabíječi (NK buňky)

- NK buňky jsou namířeny zejména proti nádorovým a viry infikovaným buňkám.
- Vrchol odpovědi NK-buněk je již během několika hodin po primární infekci jako součást indukované vrozené imunitní reakce
- Mechanismy cytotoxicity jsou stejné jako u Tc lymfocytů.
- Důležitým stimulačním cytokinem je IL-12 (jako produkt aktivovaných makrofágů) IFN-α,β, IL-2, IL-18
- Jsou důležitým zdrojem prozánětlivých cytokinů – IFNγ, IL-3, TNF-α

Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



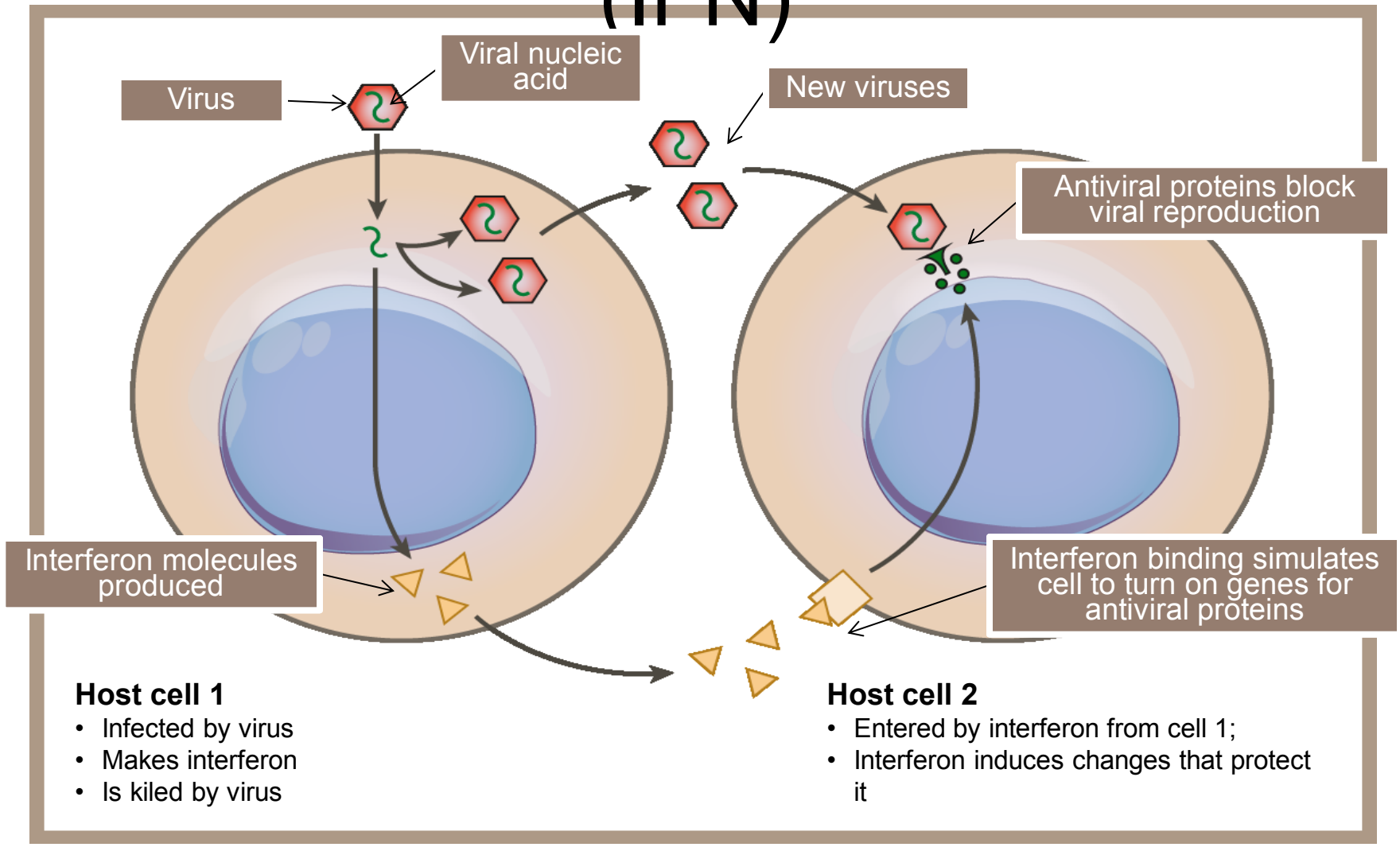
Large granulated lymphocyte



Interferony (IFN)

- Typ 1: IFN α, IFN β – jsou produkována některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, granulocyty). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.
- Typ 2 - „Imunní“: IFN γ: produkován aktivovanými T_H1 buňkami, NK buňkami, způsobuje především aktivaci makrofágů.
- Interferony 3. typu - IFN λ – IL28A,B, IL-29 – podobné IFN-I

Mechanismus účinku interferonu (IFN)



Antivirový efekt interferonů 1

- Vazba na specifický receptor (heterodimer) infikovaných i dosud zdravých buněk.
- Aktivace řady protivirvých mechanismů:
  - IF-2 proteinkináza – fosforyluje (tím deaktivuje) iniciační faktor IF-2 – nutný pro proteosyntézu.
  - 2´5´oligoadenylát syntetáza – aktivace ribonukleáz štěpících virovou RNA.

Innate lymphoid cells (ILC)

- Vznikají ze společného lymfoidního prekurzoru.
- Nemají antigen-specifické receptory.
- Nejsou aktivovány v lymfoidních orgánech ale přímo v tkáních (kůže, sliznice…).
- Po různých aktivačních stimulech produkují řadu cytokinů.
- Odpověď je rychlá, nedochází ke klonální expanzi.

Innate lymphoid cells (ILC)

- NK buňky – tvorba IFN-γ, TNF-α
- ILC1 – transkripční faktor T-bet, produkce IFN-γ, TNF-α (analog TH1)
- ILC2 – transkripční faktor GATA3, produkce IL-5, IL-13, IL-6 (analog Th2)
- ILC3 – transkripční faktor RORγC, tvorba IL-17, IL-22 (analog Th17)

Zánět

ZÁNĚT

- **Základní obranná reakce organismu na infekční i neinfekční podněty, vedoucí k poškození buněk, tkání, orgánů.**
- **Součást efektorových mechanismů adaptivní imunity.**
- **Zánětlivá reakce je primárně prospěšná. Pokud je dysregulována, způsobuje poškození lokálně i celkově.**
- ***Zánětlivá dráha:***

  induktory – sensory – mediátory

ZÁNĚT

Fyziologický účel:

Obrana hostitele proti infekci

Reparace poškozené tkáně

Adaptace na stres, obnovení homeostázy

Zánět

- Jedná se o rychlou odpověď organismu na poškození tkání nebo infekci
- Hlavní roli hrají složky nespecifické imunity
- Hlavní události v místě zánětu
  - 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.

ZÁNĚT

Induktory:

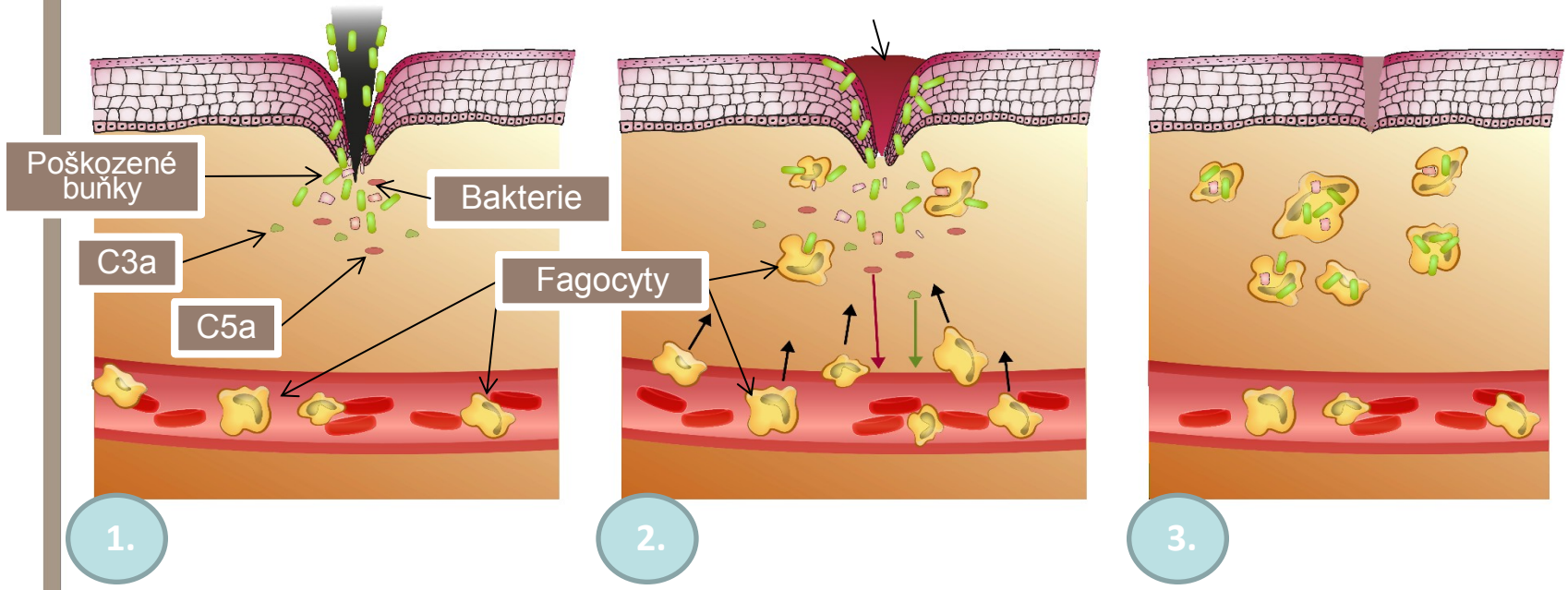
- exogenní:
  - mikrobiální (PAMP, faktory virulence)
  - nemikrobiální (alergeny, iritancia, cizí materiály,toxické sloučeniny)
- endogenní:
  - signály ze stresovaných, malfunkčních, poškozených tkání, produkty rozkladu extracelulární matrix (DAMP)

Iniciace zánětlivé odpovědi

Poškození buněk a aktivce komplementu vede k uvolnění chemotaktických a vasoaktivních substancí a přílivu krve do místa poškození

Histamin způsobuje zvýšenou permeabiliotu kapilár a následný průnik fagocytujíích buněk

Fagocytující buňky ničí bakterie, mrtvé buňky a buněčnou drť, což postupně vede k tkáňové reparaci



Lokální mediátory zánětu

- Vasoaktivní aminy – histamin, serotonin - uvolněné z poškozených buněk, stimulovaných mastocytů.
- Produkty kininového systému, komplementového systému, koagulačního systému.
- Metabolity kyseliny arachidonové leukotrieny, prostaglandiny 5-HETE
- Platelet activating factor
- Produkty mononocytů, neutrofilů: IL-1, TNF-α, IL-6, IL-18, chemokiny, NO,
- Produkty aktivovaných lymfocytů - TNF-α, IL-6, IFN-γ, chemokiny

Celkové příznaky zánětu

- Vznikají zejména pod působením IL-1, IL-6, TNF-α
- Teplota
- Únava, ospalost, ztráta chuti k jídlu
- Laboratorní známky: 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-α
- Nejznámější a diagnosticky nejčastěji využívaný: C-reaktivní protein (CRP)
- Další: součásti komplementového systému, alfa-1-antitrypsin, sérový amyloid A, fibrinogen…

C-reaktivní protein

- Váže se na fosfatidylcholin buněčných membrán.
- Aktivuje klasickou cestu komplementu, působí opsonizačně.
- Produkován po zánětlivém stimulu zejména játry.
- Rychlý vzestup (1-2 dny), poločas kolem 24 hodin – je dobrým monitorem zánětlivého procesu.
- Hladiny jsou zvýšeny při infekčních (hlavně bakteriálních) ale i neinfekčních zánětech (operace, úraz, infarkt myokardu…!)

ZÁNĚT

Patologické následky:

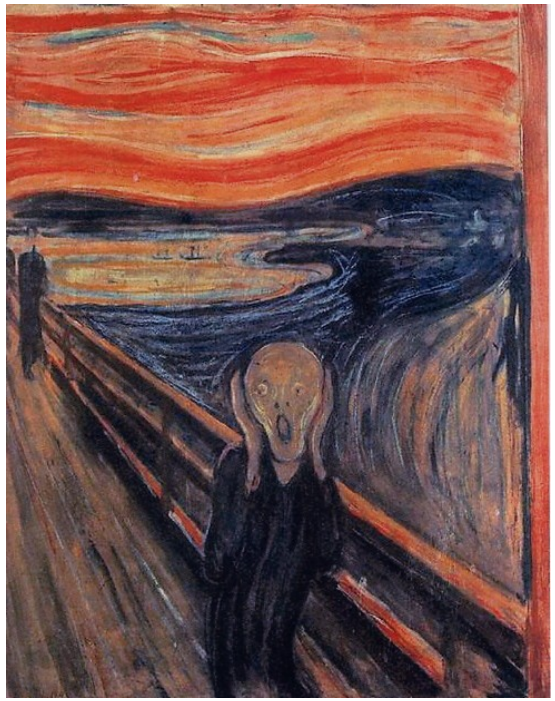
Zánětlivé poškození tkání, autoimunisace, systémová zánětlivá reakce.

Fibrosa, metaplasie, růst tumoru.

Změna homeostatického nastavení, autoinflamace

AUTOINFLAMACE

patologický důsledek dysregulace zánětlivé reakce



Edward Munch:
„The Scream“
1893–1910

Horror

autoinflammaticus

Masters SL et al: Horror autoinflammaticus. The molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. (Ann Rev Immunol 2009; 27: 621 - 668)

Nejdůležitější léky využívané k tlumení zánětlivých procesů

- Nesteroidní antiflogistika (antirevmatika): kyselina acetylosalicylová, paracetamol…
- Glukokortikoidy
- Antimalarika
- Monoklonální protilátky proti prozánětlivým cytokinům a adhezivním molekulám.