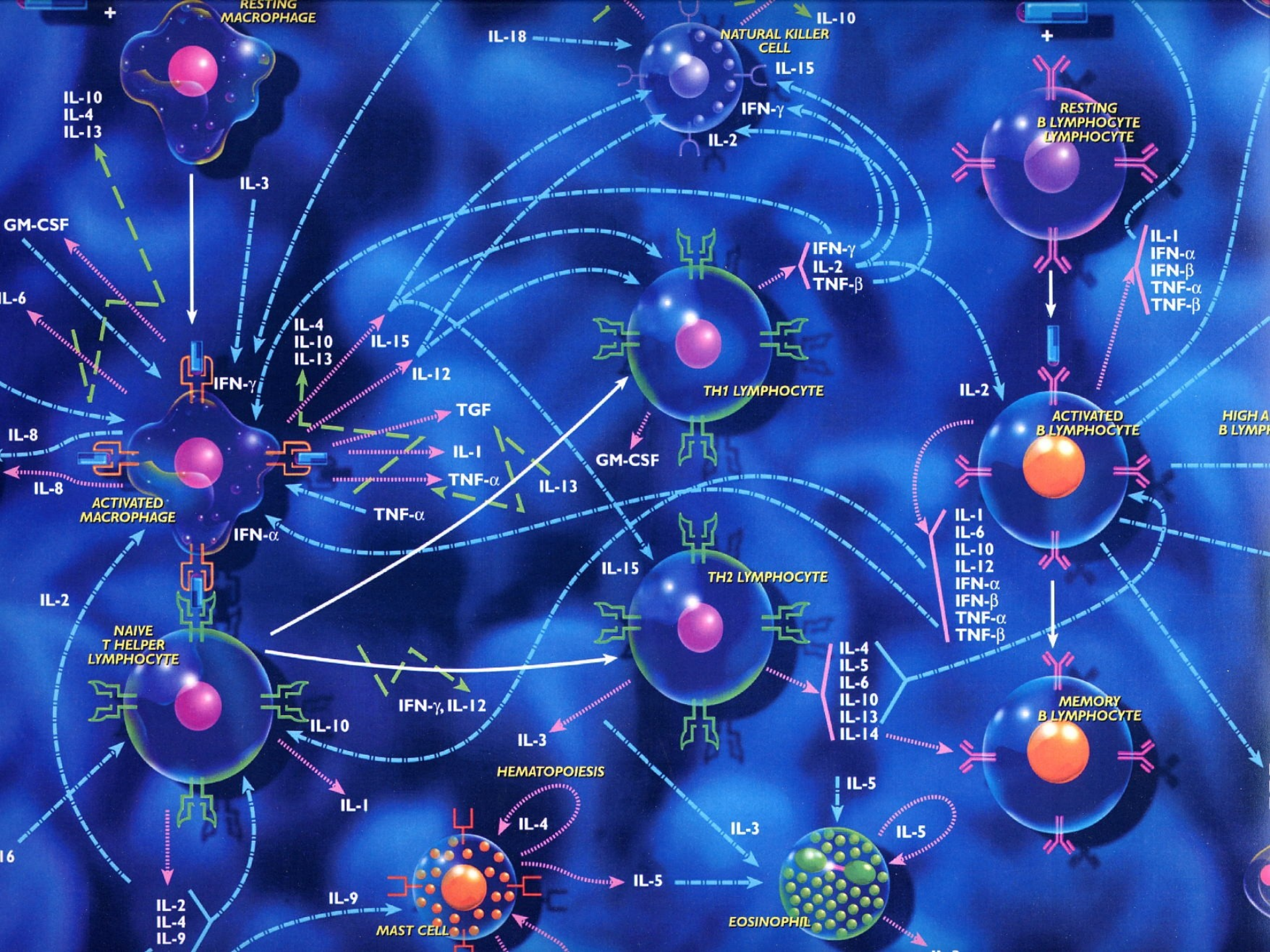


# Regulace v imunitním systému



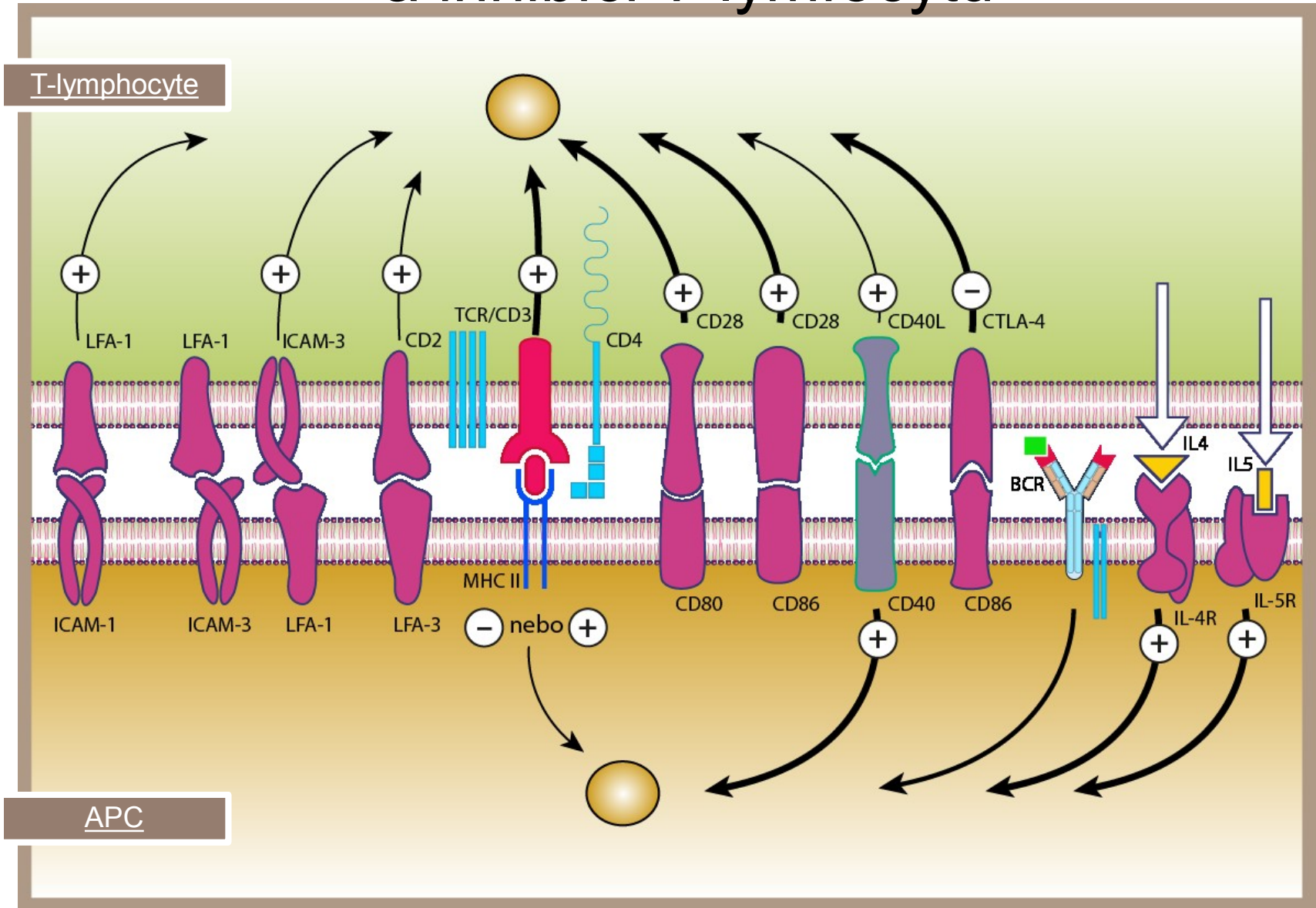
# Regulace imunitní odpovědi

- Uskutečňuje se:
  - Interakcí složek imunitního systému.
  - Vlastnostmi a kvantitou antigenu a dalších vnějších aktivačních signálů (PAMP).
  - Prostřednictvím neuroendokrinních vlivů: inervace orgánů imunitního systému, vlivem hormonů na funkci imunitního systému.

# Regulace uvnitř imunitního systému

- Uskutečňuje se především
  - Fyzikálními mezibuněčnými interakcemi – účastní se řada aktivačních povrchových molekul přenášejících pozitivní nebo negativní signál.
  - Prostřednictvím produkce řady cytokinů.

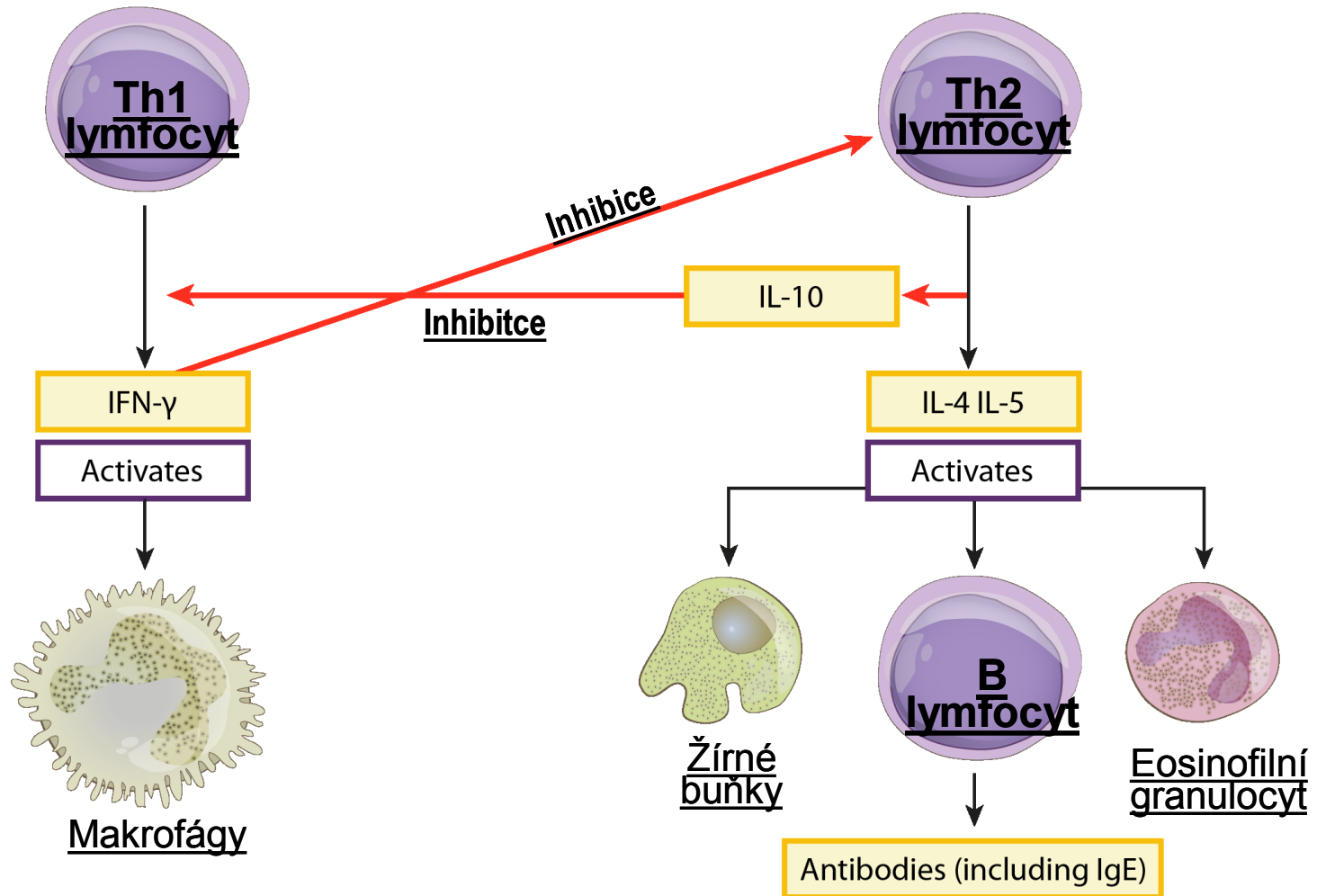
# Kostimulační molekuly při aktivaci a inhibici T-lymfocytů



# Regulace T-lymfocyty

- Antagonistický vztah Th1 a Th2 lymfocytů
- Různé typy regulačních T-lymfocytů inhibují imunitní reakci, jsou zodpovědné za vrozenou i získanou toleranci.

# Funkce Th1 and Th2 lymfocytů



# T-lymphocyte checkpoints

- **Stimulační**

- CD27 (ligand CD70 na APC),
- CD28 (Ligand CD80, 86 na APC),
- CD40 – exprese na APC, B-ly (ligand CD154 = CD40L na T-ly) ,
- OX40 – aktivované a paměťové T-ly (ligand OX49L),
- GITR - Treg (ligand GITRL – především na APC)

- **Inhibiční**

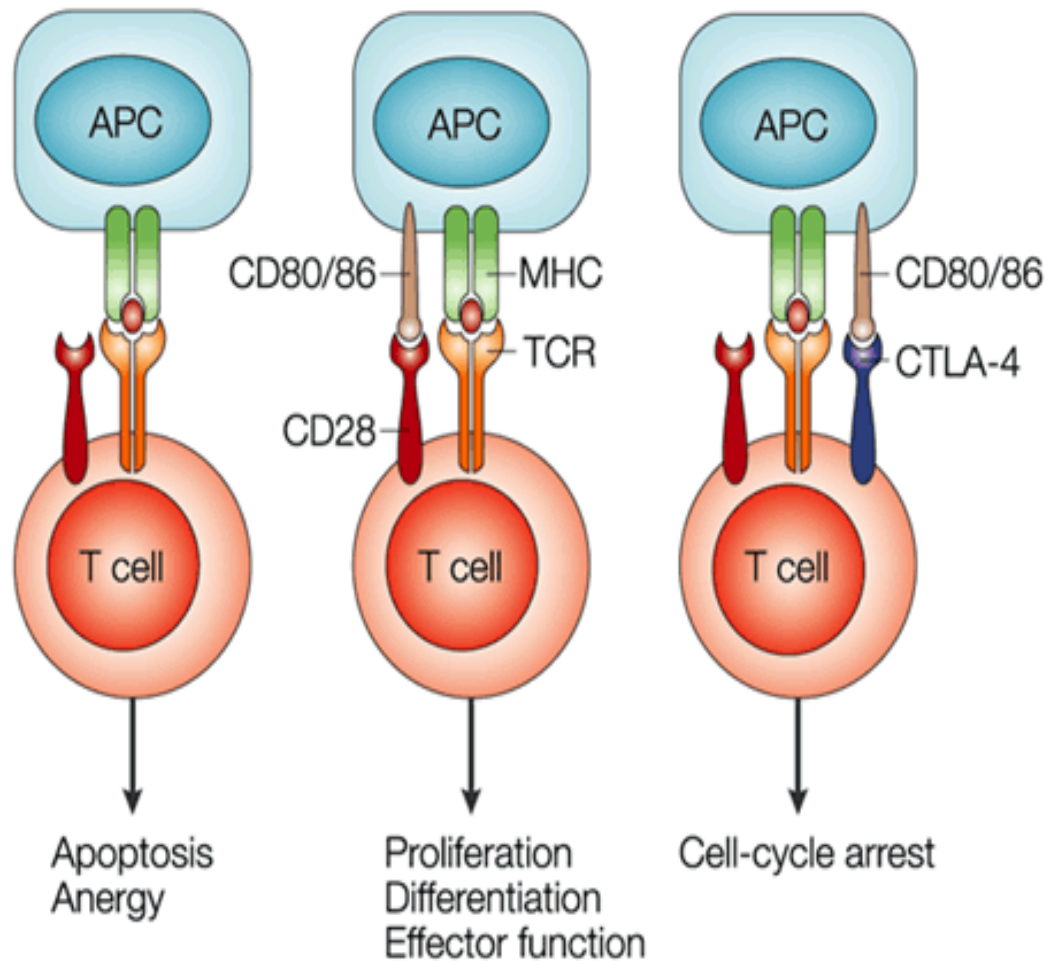
- CTLA-4 exprese na aktivovaných T-ly (ligand CD80,86) ,
- PD-1 exprese na aktivovaných T-ly (ligand PDL1, PDL2, aktivované makrofágy, granulocyty )



# CTLA-4

- Exprimován hlavně na povrchu aktivovaných Th buněk.
- Přenáší inhibiční signál na Th buňky.
- Obdobně jako ko-stimulační molekula CD28 se váže na CD80 and CD86, (B7-1 and B7-2)
- CTLA-4 je možno nalézt i na Treg lymfocytech, může být důležitý pro jejich funkci.
- CTLA-4 se váže na své ligandy, vytrhává je z membrány APC a internalizuje je procesem zvaným transedocytóza, což vede ke snížené schopnosti aktivovat T- lymfocyty.
- **Ipilimumab** – monoklonální protilátka blokující funkci CTLA-4 – je používání ke „stimulaci“ imunitní odpovědi při imunoterapii některých nádorů.
- **Abatacept** – fúzní protein IgG+CTLA-4 – váže se na CD80/86, tím zabraňuje aktivaci T-lymfocytů, používá se jako imunosupresivum.

## Vazba CTLA-4 na CD80/86 vede k inhibici funkce T-lymfocytů



# PD-1

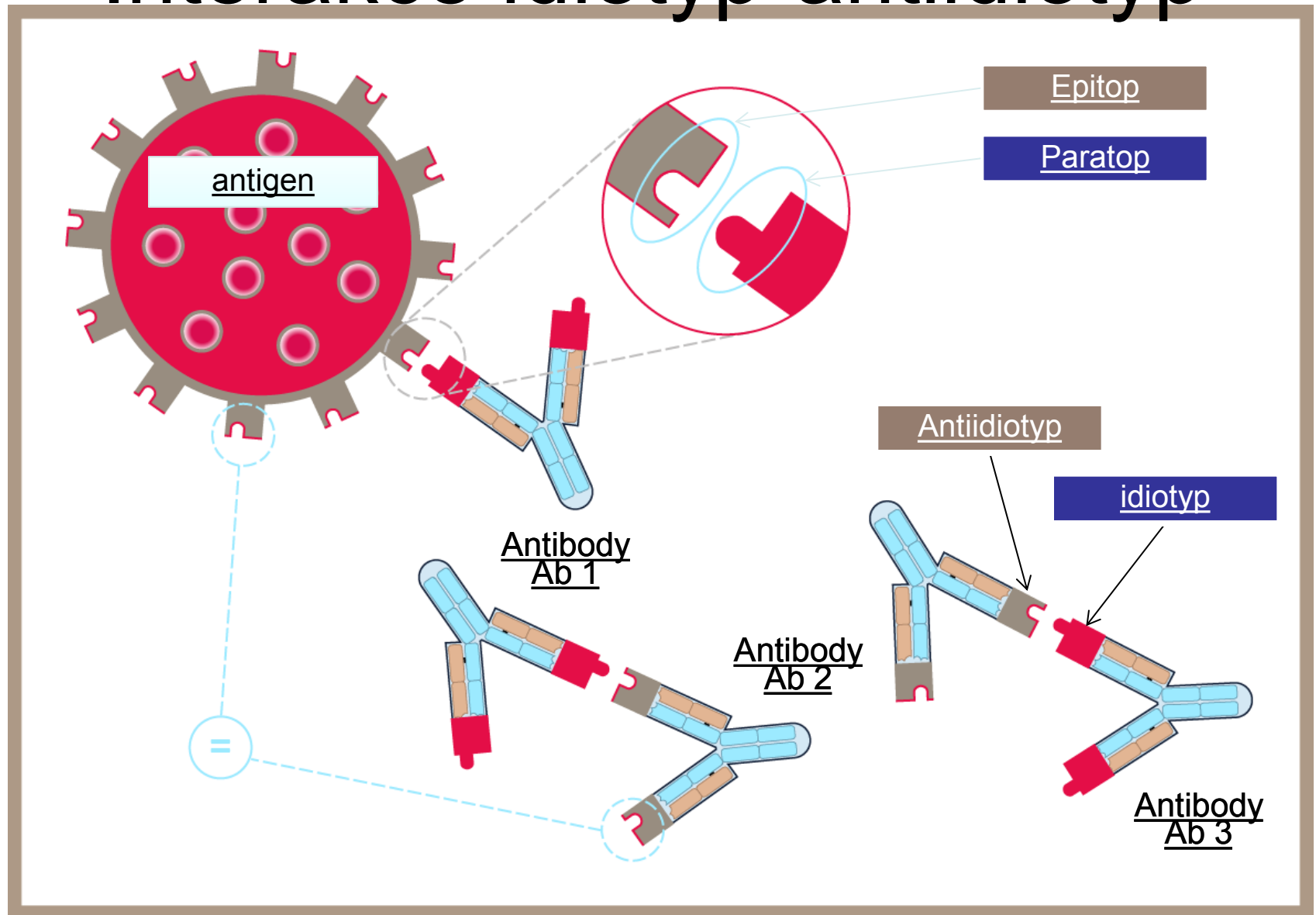
## (Programmed cell death protein-1)

- Exprimován na aktivovaných T-lymfocytech ( též B-lymfocytech, makrofázích)
- Vazba na ligandy (PD-L1, PD-L2, exprimovány např. na aktivovaných makrofázích, granulocytech, dendritických buňkách) vede k apoptóze antigen-specifických T-lymfocytů.
- Jedná se důležitý check-point v regulaci funkce T-lymfocytů
- PD-L1 je exprimován na řadě nádorových buněk.
- Monoklonální protilátky proti PD-1 (např. **nivolumab**) jsou využívány v imunoterapii nádorů.

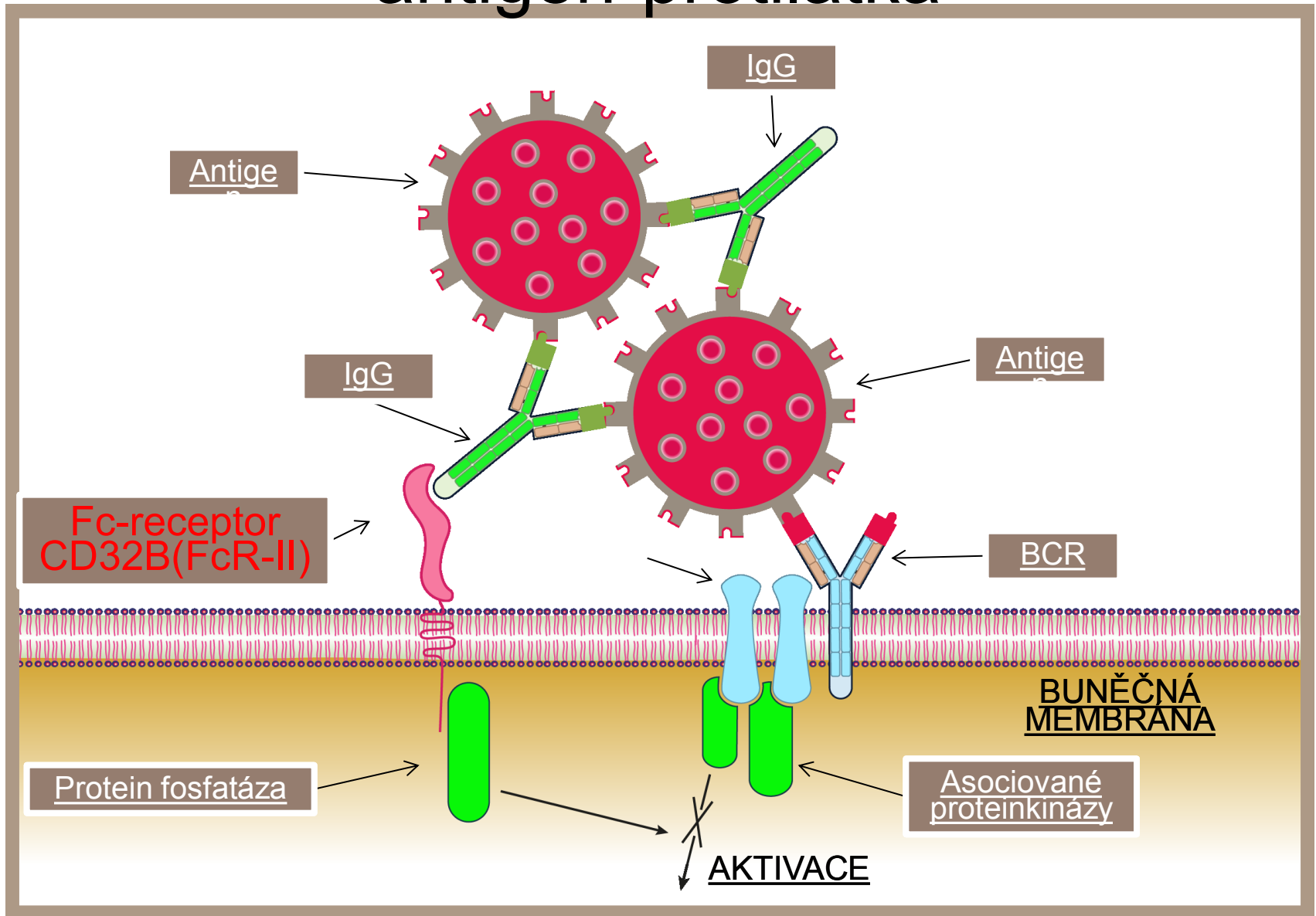
# Regulace protilátkami

- Idiotyp-antiidiotypové interakce.
- Negativní regulace po vazbě protilátky na  $Fc\gamma RII$ .
- Vazba imunitního komplexu při prezentaci antigenů dendritickými folikulárními buňkami v zárodečných centrech výrazně zvyšuje imunogenicitu.
- C3dg (štěpný produkt C3) vázaný na antigen vazbou na receptor CD21 má pozitivní stimulační efekt na B-lymfocyty.

# Interakce idiotyp-antiidiotyp



# Inhibice B-lymfocytů komplexy antigen-protilátka



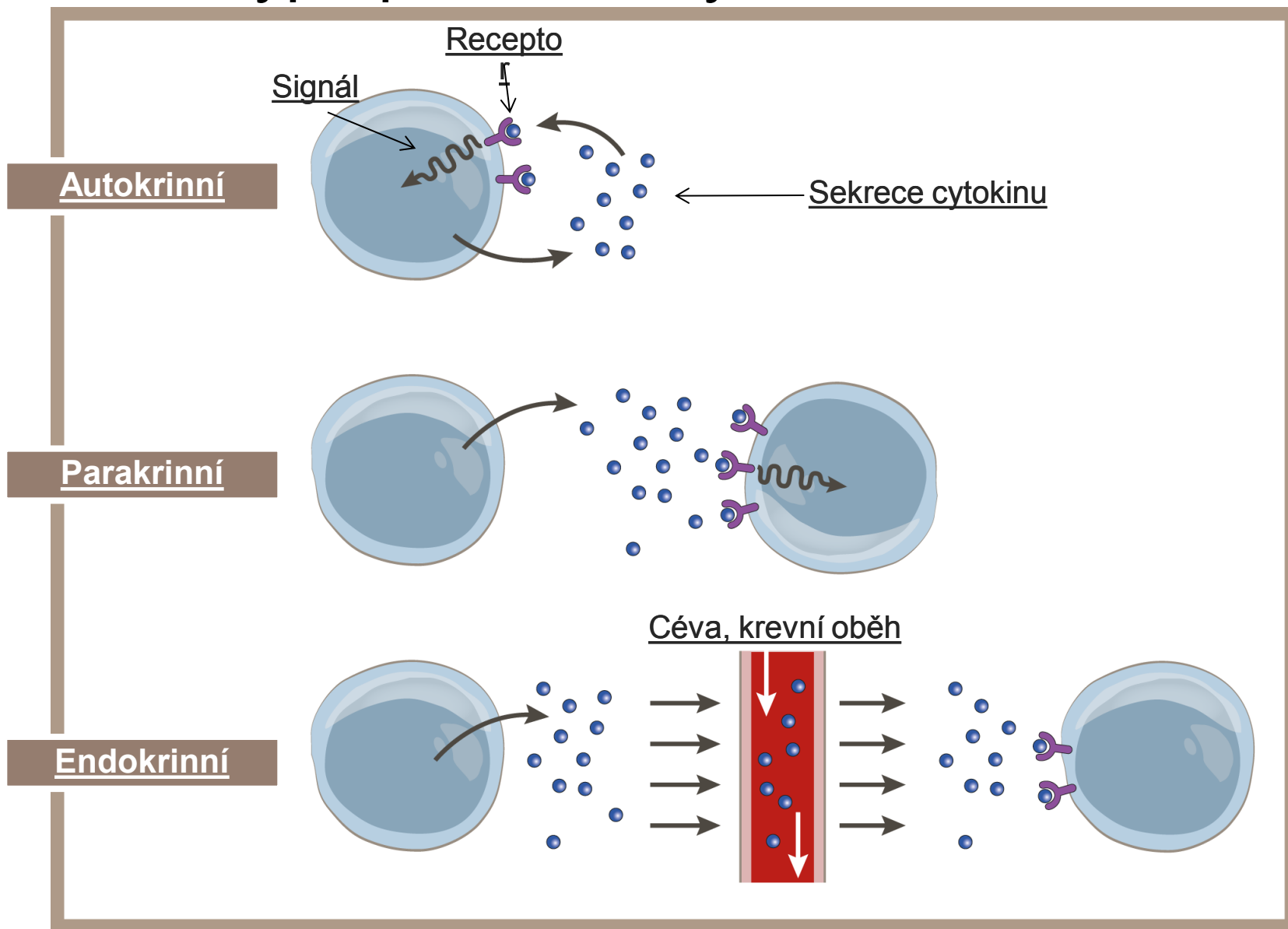
Cytokiny

# Cytokiny

- Působky, „tkáňové hormony“, hlavní regulátory buněk imunitního systému.
- Produkty buněk imunitního systému působící hlavně opět v imunitním systému.
- Působí prostřednictvím specifických receptorů.
- Účinek autokrinní, parakrinní, endokrinní.
- Obvykle krátký biologický poločas
- Názvosloví:
  - IL-1 - IL-38 (?)
  - Historické názvy: interferony, TNF, CSF..



# Schéma typů působení cytokinů na druhé buňky



# Cytokiny

- Obvykle produkovány různými skupinami buněk, ale často je určitá skupina „hlavním producentem“.
- Pleiotropní efekt.
- Vytvářejí funkční cytokinovou síť.
- Jeden cytokin má často jak stimulační, tak tlumivý efekt.

# Funkce cytokinů

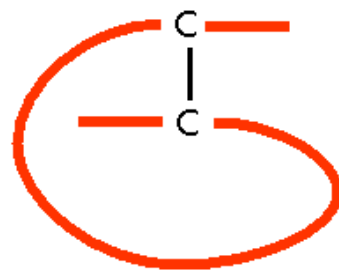
- Prozánětlivé cytokiny: IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-18
- Stimulace makrofágů: IFN- $\gamma$
- Stimulace granulocytů: chemokiny (včetně IL-8)
- Stimulace T-lymfocytů: IL-2
- Stimulace B-lymfocytů, produkce protilátek: IL-4, IL-5, IL-10, BAFF
- Proliferace progenitorových buněk: IL-3, GM-CSF, M-CSF
- Negativní regulátory: IL-10, IL-13, TGF $\beta$

# Chemokiny

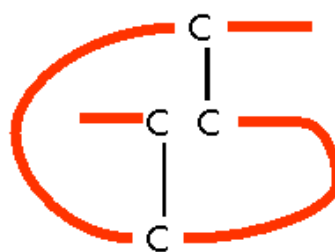
- Nízkomolekulární proteiny
- Na základě koncentračního spádu řídí migraci do míst zánětu (zánětlivé chemokiny).
- Řídí přísun buněk i za fyziologických okolností (homeostatické chemokiny).
- Mohou ovlivňovat i další funkce vlastnosti buněk imunitního systému.
- Podle umístění cysteinů na N-terminálním konci se dělí do 4 rodin: CC, CXC, CX3C a C
- Popsáno asi 45 chemokinů a 19 různých chemokinových receptorů.

# Klasifikace chemokinů

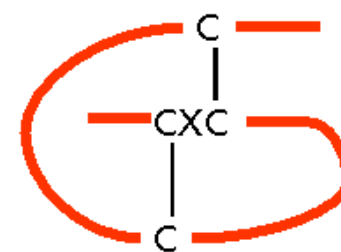
Structure of chemokine classes



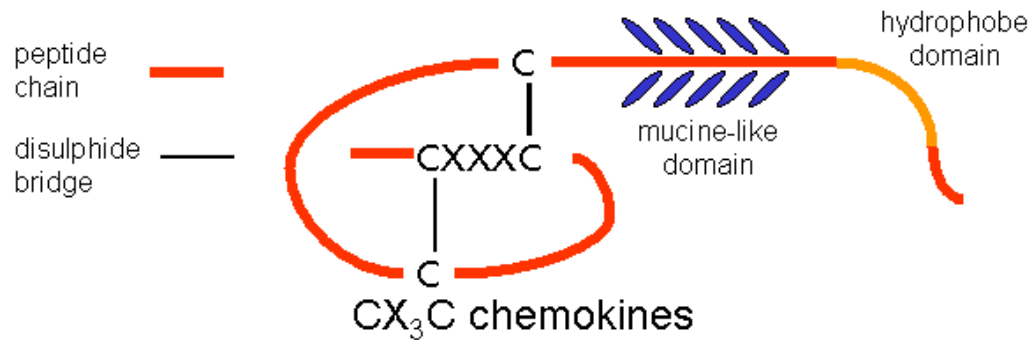
C chemokines



CC chemokines



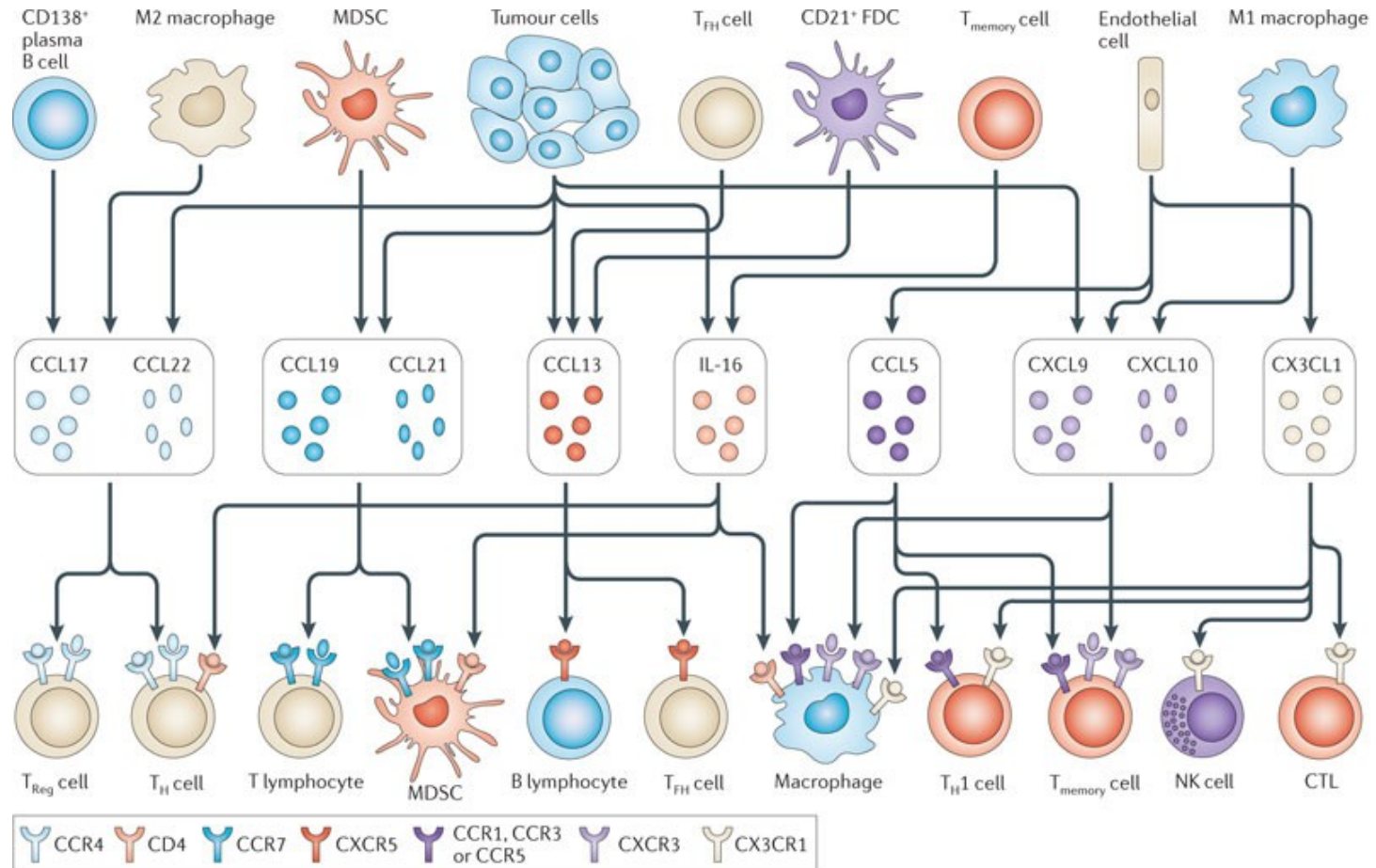
CXC chemokines



CX<sub>3</sub>C chemokines

© Kohidai, L.

# Význam chemokinů v protinádorové odpovědi



# Interferony (IFN)

- 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<sub>H</sub>1 buňkami, způsobuje aktivaci makrofágů.

# Cytokiny v patogenezi chorob

- Atopické choroby: tvorbu IgE stimuluje IL-4, IL-13; tvorbu eozinofilů IL-5.
- Zánětlivé choroby (revmatické, Crohnova choroba), systémová zánětlivá odpověď při sepsi – patogeneticky nejvýznamnějším prozánětlivým cytokinem je zřejmě TNF- $\alpha$ .
- Jsou známy primární imunodeficity v jejichž patogenezi hraje důležitou roli defekt produkce některých cytokinů (IFN $\gamma$ , IL-12).



# Terapeutické využití cytokinů

- IFN- $\alpha$ : protinádorová léčba (malignity lymfatického systému, ca ledvin), léčba hepatitidy B a C
- IL-2- protinádorová léčba
- GM-CSF – léčba granulocytopenií
- IFN- $\beta$ : léčba sclerosis multiplex
- IFN- $\gamma$ : léčba některých imunodeficitů

# Anticytokinová léčba

- Blokáda funkce cytokinů různými mechanismy:
  - Přímá vazba a blokáda funkce cytokinů.
  - Látky blokující receptory pro cytokiny.
  - Solubilní arteficiální receptory vážící cytokiny.
- Nejčastěji se jedná o monoklonální protilátky, dále fúzní proteiny, ale může se jednat i o jiné metody přípravy.
- Využití: protizánětlivá léčba: namířená proti TNF- $\alpha$ , dále i IL-1, IL-6, IL-17, IL-23..
- Protinádorová léčba – například blokáda receptorů růstových faktorů (např. EGF)

# Imunitní tolerance

# Imunitní tolerance

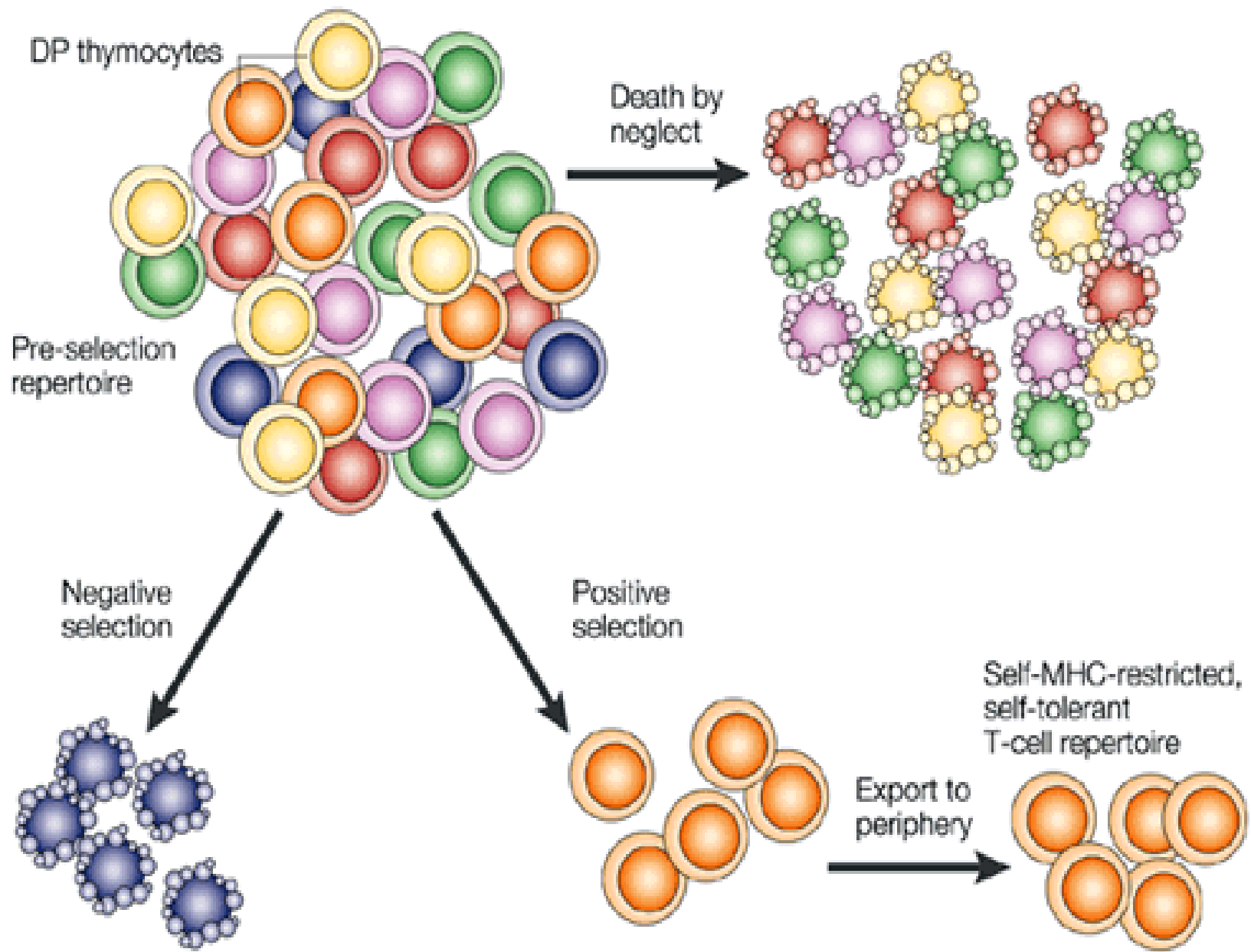
- Centrální
- Periferní

# Centrální imunitní tolerance = klonální delece

- negativní selekce během thymové výchovy
- delece autoreaktivních B-lymfocytů v kostní dřeni

# Thymová výchova T-lymfocytů

- Pozitivní selekce buněk reagujících s nízkou afinitou s HLA antigeny na povrchu antigen-prezentujících buněk. Probíhá v kortikální oblasti. Zajišťuje přežití jen těch T-lymfocytů, které později rozpoznají komplex antigen-HLA.
- Negativní selekce – apoptózou hynou thymocyty reagující s vysokou afinitou s komplexem HLA-autoantigeny. Probíhá zejména v subkortikální oblasti thymu. Zajišťuje odstranění autorektivních klonů.
- V průběhu obou procesů hyne více než 90% thymocytů.

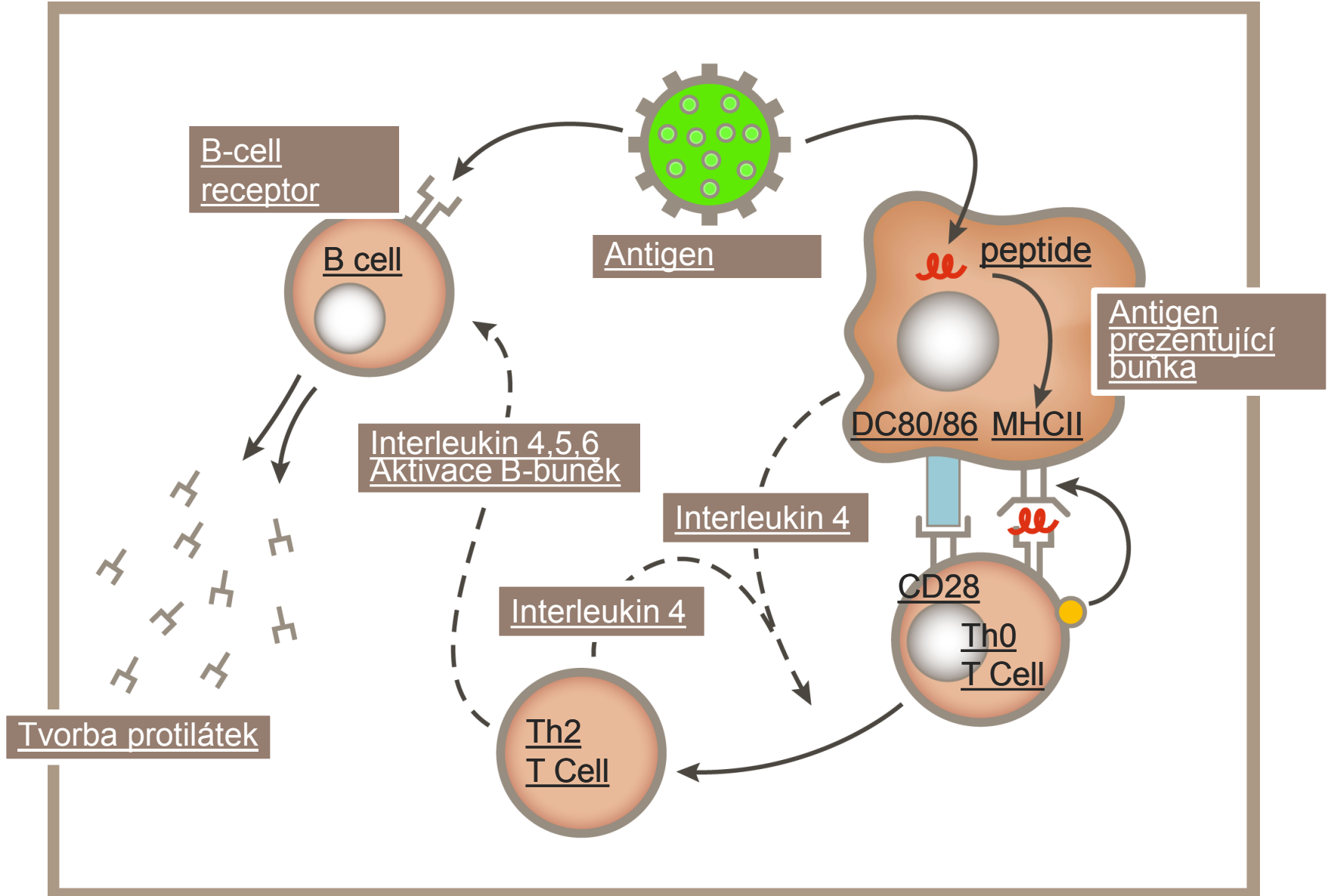


# Periferní imunitní tolerance

- Klonální anergie - chybí kostimulační signály
- Klonální delece
- Klonální ignorance - koncentrace autoantigenu je podprahová, autoantigeny jsou skryty.
- Suprese - autoreaktivita potlačena regulačními buňkami.



# Aktivace imunitního systému antigenem



# Imunoregulační působení T-lymfocytů

- Regulační T-lymfocyty (Treg) - jsou CD4+CD25+ zajišťují vrozenou neodpovídavost na autoantigeny.
- Tr1, indukované Treg lymfocyty- zajišťují antigenem-indukovanou toleranci.
- Vzájemná negativní regulace subpopulací Th1 a Th2.

# Experimentálně indukovaná imunitní tolerance

- „Vysokozónová“ – podání vysoké dávky antigenu – vede k delecii antigen-specifického klonu.
- „Nízkozónová“ – opakované podání nízkých dávek antigenu. Mechanismem je indukce imunoregulačních buněk. Snad je jedním z mechanismů alergenové imunoterapie.
- Orální – podání antigenu orální cestou může vést ke vzniku získané imunitní tolerance indukci regulačních buněk.

# Mechanismy vedoucí ke vzniku autoimunitních chorob

- Vizualizace skrytých antigenů
- Zkřížená reaktivita exo- a endoantigenů (molekulární mimikry)
- Abnormální exprese HLA-II antigenů
- Polyklonální stimulace
- Porucha funkce regulačních T-lymfocytů
- Vznik neoantigenů (např. vliv léků, infekcí)

# Genetické aspekty autoimunitních onemocnění

- Nahromadění autoimunitních onemocnění v rodinách.
- Inbrední kmeny zvířat u nichž se vyvíjejí definovaná autoimunitní onemocnění.
- Vazba na HLA antigeny.
- Význam polymorfismu cytokinů/ cytokinových receptorů.
- Poruchy apoptózy vedou k autoimunitním syndromům.
- Většina autoimunitních onemocnění je častějších u žen.

# Vnější vlivy účastníci se rozvoje autoimunitních chorob

- Infekce
  - „Bystander“ efekt při probíhajícím zánětu
  - Molekulární mimikry
  - Polyklonální stimulace
- Vliv UV světla na rozvoj a exacerbace SLE
- Rozvoj sklerodermie po aplikaci prsních implantátů

# Výskyt autoimunitních chorob

(Mackay IR, BMJ 2000; 321: 93-96)

- Odhaduje se, že asi 5% populace trpí některou autoimunitní chorobou.
- Autoimunitní postižení štítné žlázy: asi 3% žen.
- Revmatoidní artritida: 1% populace.
- Primární Sjögrenův syndrom: 0.6-3% žen.
- SLE: 0,12% populace.
- Roztroušená mozkomíšní skleróza: 0,1% populace.

## **Autoimunitní choroby: vliv pohlaví**

(Ahmed SA et al: Am J Pathol 1985, 121:531)

***choroba***

***ženy / muži***

---

**Hashimotova thyreoditis** 25 - 50 : 1

**Thyreotoxikóza** 4 - 8 : 1

**Systemový lupus erythematosus** 9 : 1

**Revmatická arthritida** 2 - 4 : 1

**Sjögrenův syndrom** 9 : 1

**Myasthenia gravis** 2 : 1

**Diabetes mellitus I. Typu** 5 : 1



# Patogeneze autoimunitních chorob

- Autoprotilátky působí opsonizačně, aktivují komplementový systém, blokují/stimulují receptory, může se uplatnit i fenomén ADCC. Komplexy s autoantigeny mohou vytvářet imunokomplexová onemocnění.
- Autoreaktivní T-lymfocyty: uplatňují se cytotoxické ale i Th lymfocyty. Nejznámějším příkladem je roztroušená mozkomíšní skleróza, DM-I.
- Nespecifické mechanismy: chemotaxe leukocytů do místa zánětu.

# Léčba autoimunitních chorob

- **Nahrazení funkce postiženého orgánu** – substituce inzulinem, thyreoidálními hormony, parenterální aplikace vit B12
- **Protizánětlivá léčba** - v lehkých případech u chorob asociovaných s výrazným zánětem („kolagenózy“) je možné podávat „klasické“ protizánětlivé léky – nesteroidní antiflogistika, antimalarika, protizánětlivé dávky steroidů. Výrazně účinnější je hlavně blokáda prozánětlivých cytokinů monoklonálními protilátkami.
- **Imunosupresivní léčba** – je základem léčby závažných autoimunitních chorob.
- Indukce imunitní tolerance – zatím všechny klinické pokusy selhaly.

# Autoprotilátky v diagnostice autoimunitních chorob

- Poměrně často se setkáváme se stavem, kdy diagnosticky využívané autoprotiátky jsou odlišné od autoprotiátek patogenetických.
- Přítomnost řady autoprotiátek v nízkých titrech nacházíme poměrně běžně.
- Autoimunitní choroba musí mít klinické příznaky, samotná přítomnost autoprotiátek nikdy nestanoví diagnózu!