

# Klinická imunologie 2.

Marcela Vlková

# Vrozená imunita

## Celulární složky

Epitelové a endotelové buňky, erytrocyty, destičky

Mastocyty, eosinofily, basofily

**NK buňky** (natural killer cells)

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

**Dendritické buňky** (buňky prezentující antigeny)

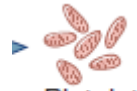


# Celulární složky vrozené imunity



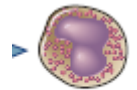
Erythrocyte

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



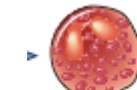
Platelet

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



Basophil

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



Eosinophil

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



# Mastocyty

Lokalizovány perivaskulárně a v blízkosti neuronů

Dlouhožijící buňky

Jsou aktivovány IgE a antigeny, imunokomplexy, cytokiny, anafylatoxiny, hormony, neurotransmitery

Sekretují řadu vasodilatačních a prozánětlivých mediátorů – preformovaných (histamin, kininy, proteasy) i nově syntetizovaných (leukotrieny, prostaglandiny, NO, cytokiny –zejm.  $\text{TNF}\alpha$ )

Důsledek – akumulace buněk přirozené imunity (neutrofily, eosinofily, monocyty-makrofágy a lymfocyty

Účast v reparačních procesech

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



# NK (Natural Killer) buňky

1. jsou morfoloicky podobné lymfocytům ,nefagocytují, nemají aderenční schopnosti

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

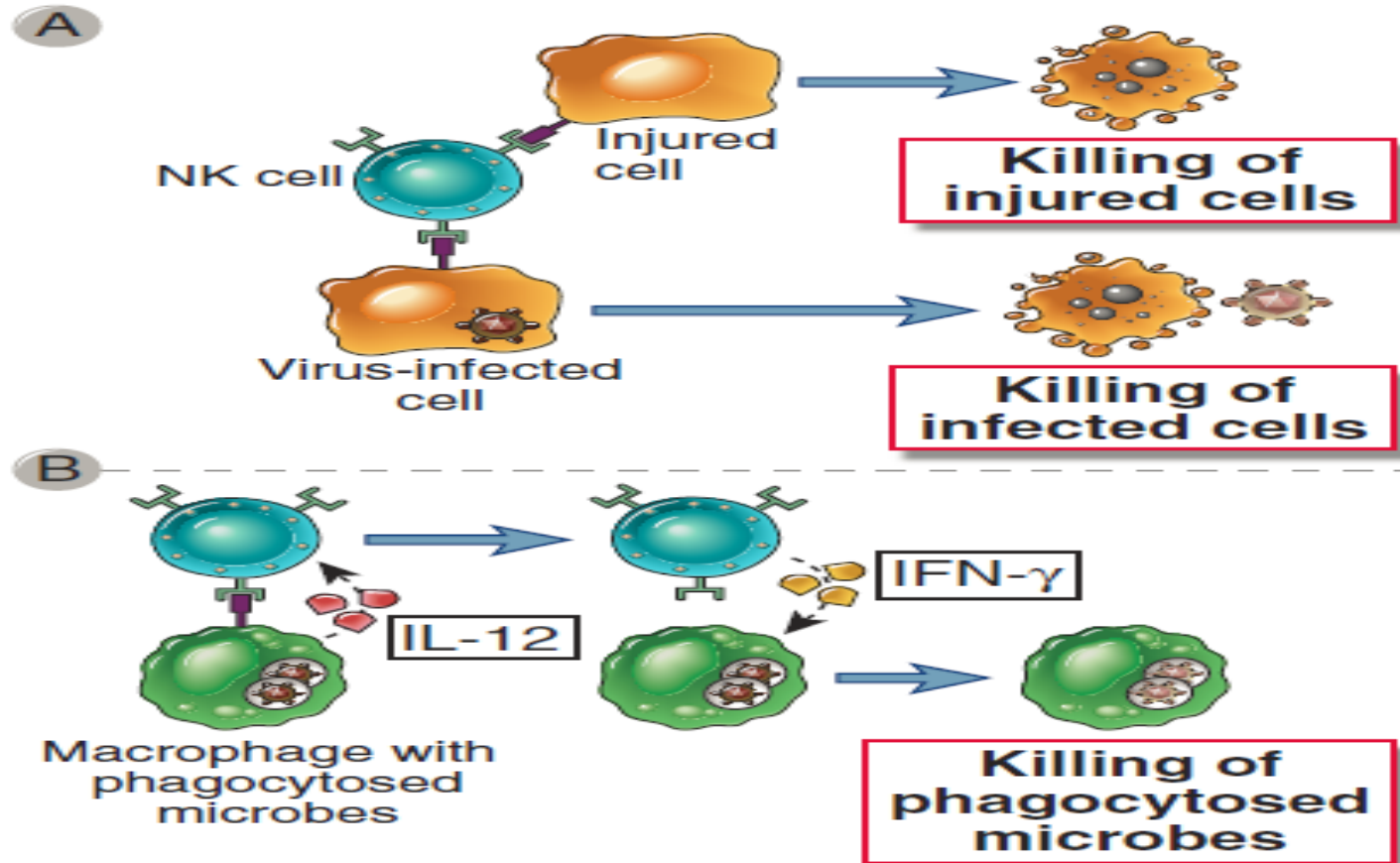
cytotoxické nástroje NK buněk – perforin a granzym – podobně jako u CD8+ cytotoxických buněk

jejich cytotoxická aktivita je jednak přirozená, jednak může být zprostředkována protilátkami vázanými na FcR III (CD16), ADCC

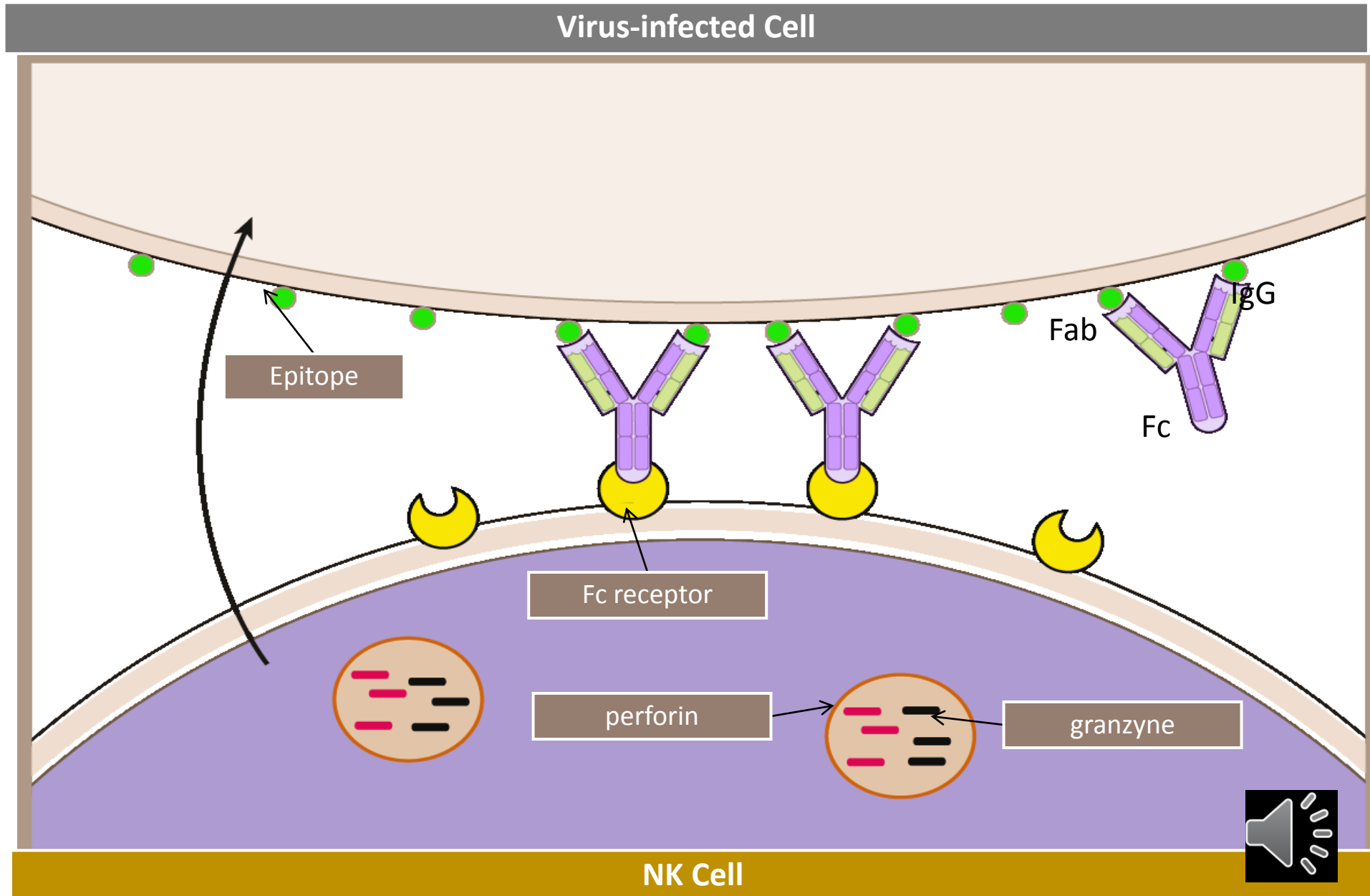
ovlivňují vrozenou i adaptivní imunitu svými cytokiny, především  $IFN\gamma$  a  $TNF\alpha$



# Funkce NK buněk



# Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



# PROFESIONÁLNÍ FAGOCYTY

Polymorfonukleární leukocyty

(neutrofilní granulocyty)

„mikrofágy“ (I. Mečnikov, 1845-1916)

Mononukleární fagocyty

(v krvi i ve tkáních)

„makrofágy“ (I. Mečnikov)



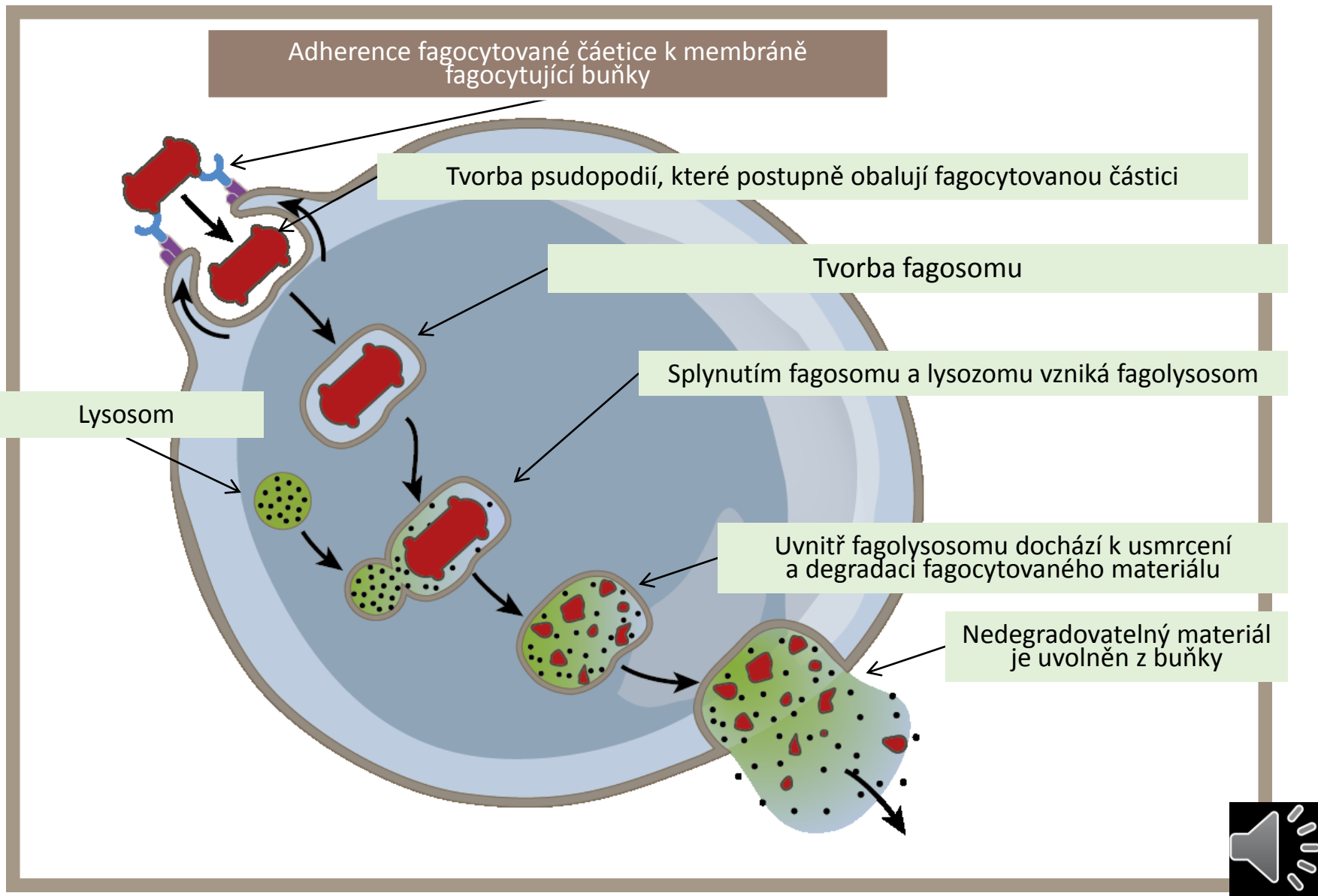


# Fagocytóza

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



# Fagocytóza



# Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

## 1. závislý na kyslíku

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

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

Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy, RNAsy

## 2. nezávislý na kyslíku

Nízké pH

Lysozym

Lactoferin

Defenziny – antimikrobiální polypeptidy



# 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).



# Možnosti vyšetření fagocytárních funkcí

Chemotaxe: vyšetření chemotaxe pod agarózou

Ingesce: ingesce metakrylátových partikulí

Tvorba reaktivních metabolitů kyslíku:

NBT test (nitro-blue-tetrazolium test), chemiluminiscence, redukce tetraarhodamidu – cytometrické stanovení

Vyšetření exprese  $\beta$ 2-integrinů

Komplexní vyšetření: mikrobicidie

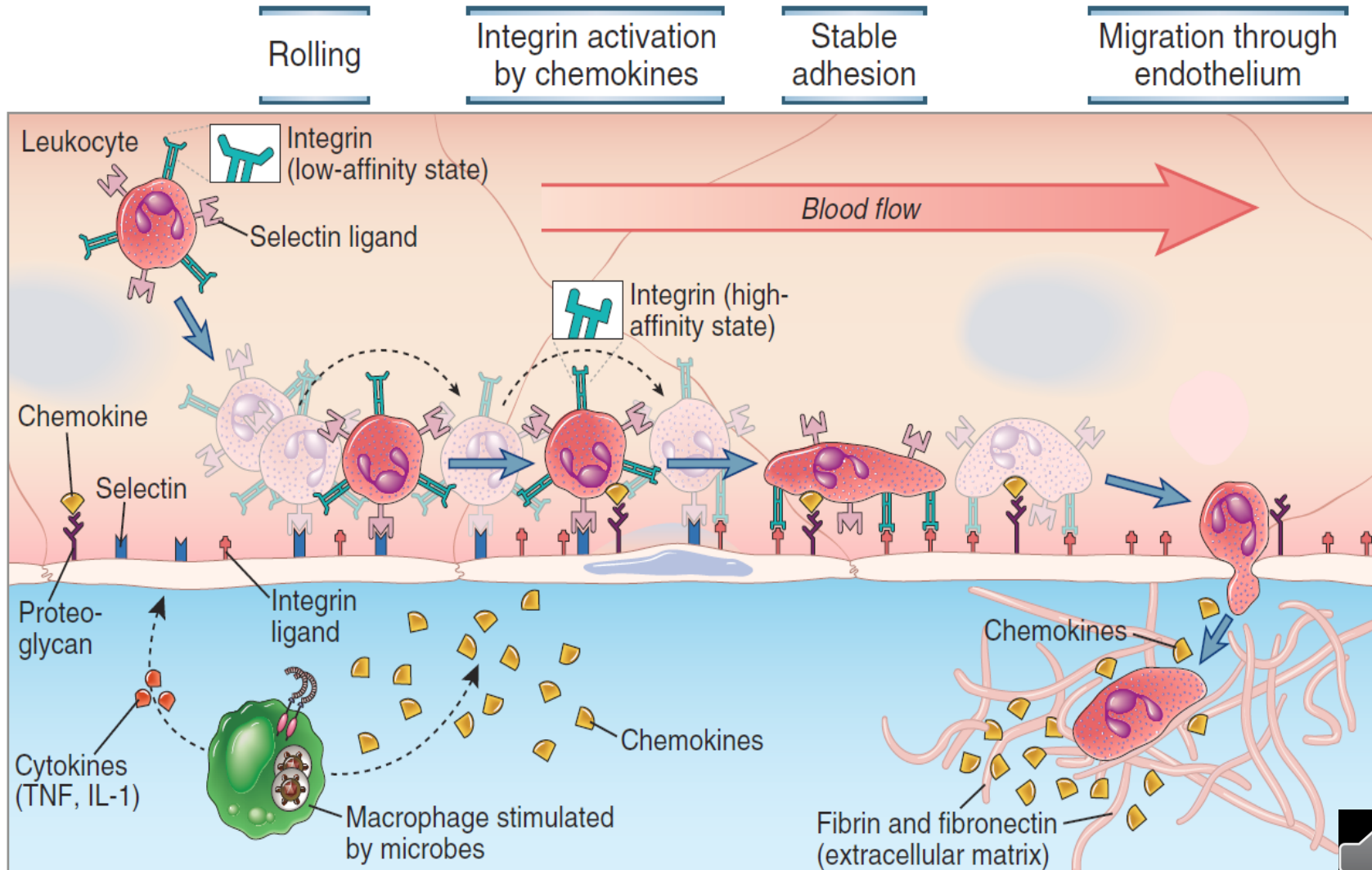


# Deficit leukocytárních integrinů (LAD-I)

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



# Cesta leukocytů do místa zánětu



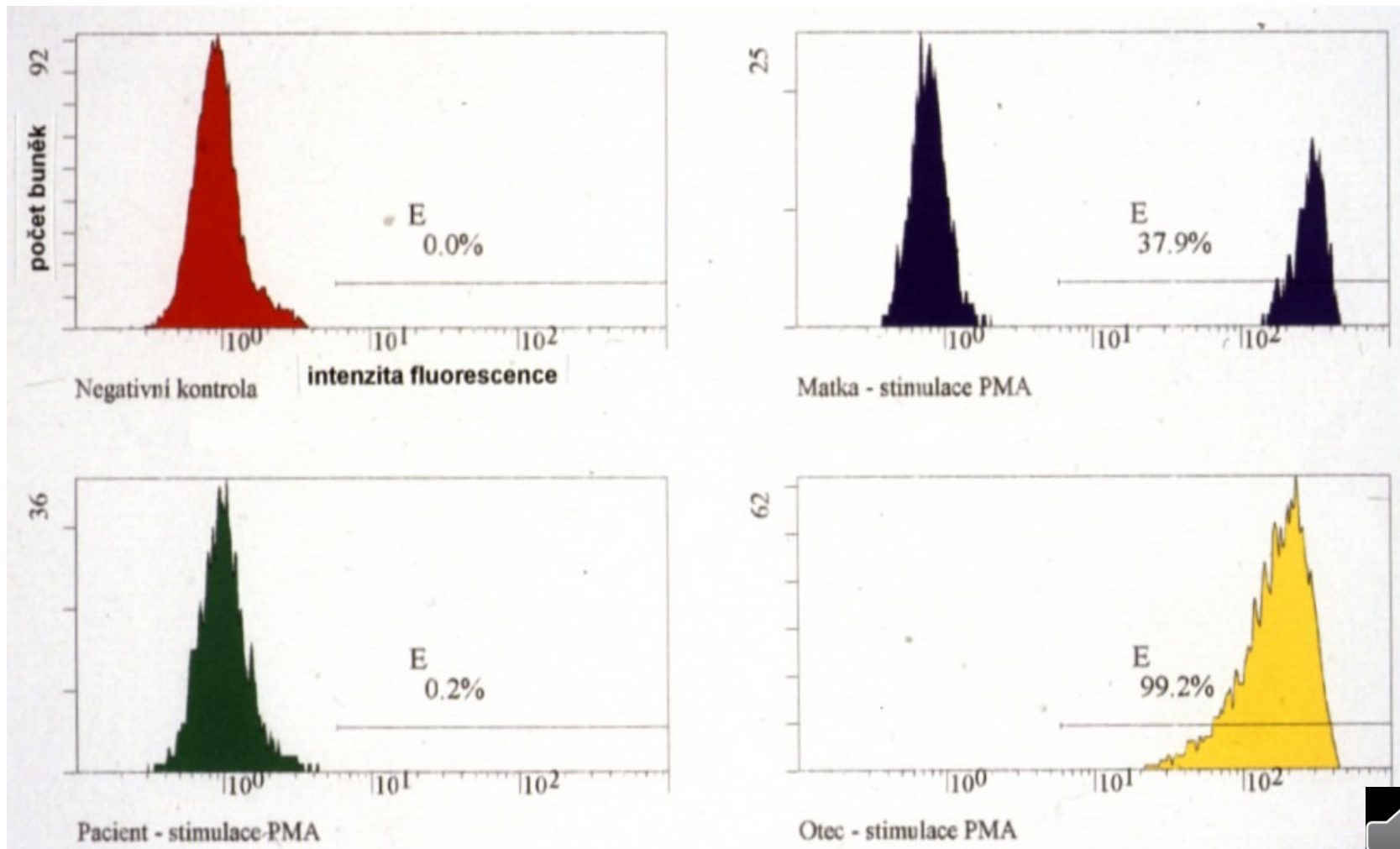
# Chronická granulomatózní choroba

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



# Zánět

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



# Zánět- komplexní obranná reakce systému vrozené imunity

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

Směřuje k odstranění škodliviny a k obnově  
poškozených struktur a funkcí



# Zánět

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



# Dva druhy zánětu

- Akutní zánět – fyziologický proces:
  - Odezní bez důsledků, dochází ke zhojení poškozené tkáně
- Chronický zánět – patologická reakce
  - Patologický, dochází k destrukci tkáně, nahrazování vazivem a vede k trvalému poškození



# Průběh zánětlivé reakce

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



# Klasické známky zánětu

- Bolest
- Zarudnutí
- Otok
- Horečka



# Zánět - průběh

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





# Vliv prozánětlivých cytokinů

- Uplatňuje se zejména IL-1, IL-6 a TNF- $\alpha$ .
- Ovlivněním hypotalamického centra termoregulace se zvyšuje tělesná teplota
  - Aktivátor metabolických pochodů v buňkách IS: indukce exprese heat shock protein (HSP) (pomoc při skládání nativních nově syntetizovaných proteinů do správných konformací)
- Aktivace osy hypothalamus – hypofýza 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.

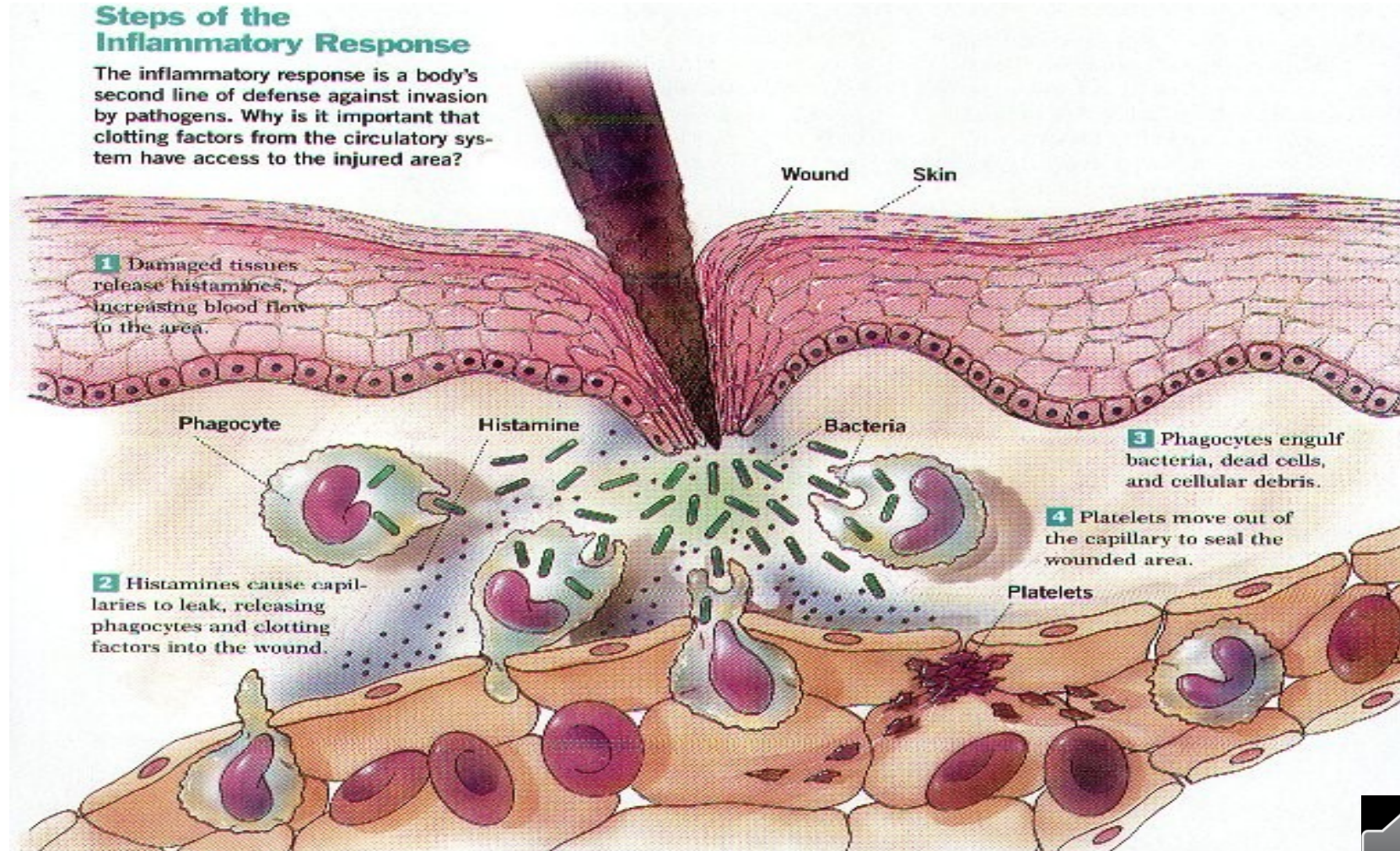


# Hlavní události v místě zánětu

- 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.



# Iniciace zánětlivé odpovědi



# 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, ferritin

    Antimikrobiálních proteinů – hepcidin

Snižuje se tvorba albuminu, prealbuminu, transferinu



# Mediátory zánětlivé odpovědi

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



# Monitorování akutního zánětlivého procesu

Tělesná teplota

Sedimentace erytrocytů (FW)

Počet leukocytů v krvi

Změny spektra sérových bílkovin  
v elektroforéze (pokles albuminu, vzestup  $\alpha 1$  a  $\alpha 2$   
globulinů)

Sledování hladin proteinů “akutní fáze”





# 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

- Konstitutivní:
  - Dendritické buňky
  - Monocyty, makrofágy
  - B-lymfocyty
- Inducibilní:
  - Vaskulární endotelové buňky
  - Epitelové a mezenchymální buňky

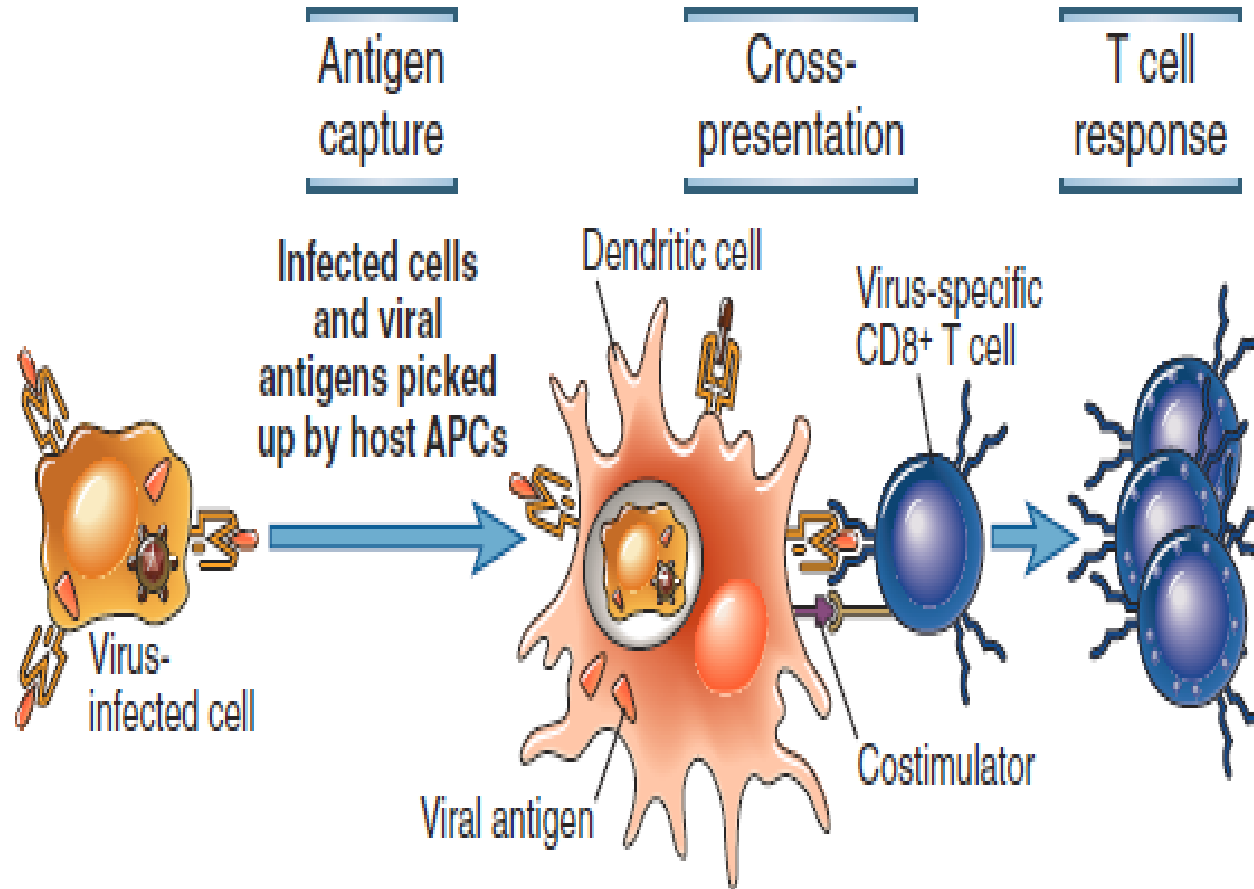


# Dendritické buňky

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



# APC



# Adaptivní imunita: charakteristické rysy

## Specifičnost:

Přirozená imunita: Jsou rozeznávány struktury, které jsou stejné u řady cizorodých agens (PAMP)

*Adaptivní imunitní systém naproti tomu*

*poznává a odlišuje různé epitopy antigenů (T-, B-)*



# Adaptivní imunita: specifičnost

Všechny fáze adaptivní imunitní reakce (poznání antigenu, aktivace lymfocytu, efektorové mechanismy) jsou zaměřeny na konkrétní antigenní determinantu (epitop)

Lymfocyt má genetickou informaci pro jeden „antigenní receptor“ zajišťující tvorbu tisíce identických kopií tohoto receptoru.



# Adaptivní imunita: charakteristické rysy

Rozsah repertoáru:

*Adaptivní imunitní systém je schopen odlišit (TCR, BCR lymfocytů) více než  $10^{7-8}$  epitopů antigenů.*

- Schopnost poznat různé antigeny je takřka
- neomezená. Odhaduje se, že adaptivní imunitní systém dokáže odlišit cca  $10^{12-15}$  epitopů.
  
- Příčiny diverzity:
- Somatické rekombinace (somatické přeskupování genů).
- Mutační mechanismy.



# Vrozená imunita: charakteristické rysy

## Autoreaktivita:

*Adaptivní imunita se vytvořila k poznávání „cizích“, mikroorganismů, ale také vlastních molekul.*

## Paměť:

*Vytvoření imunologické paměti je pro adaptivní imunitu příznačné – primární a sekundární reakce, „booster“.*

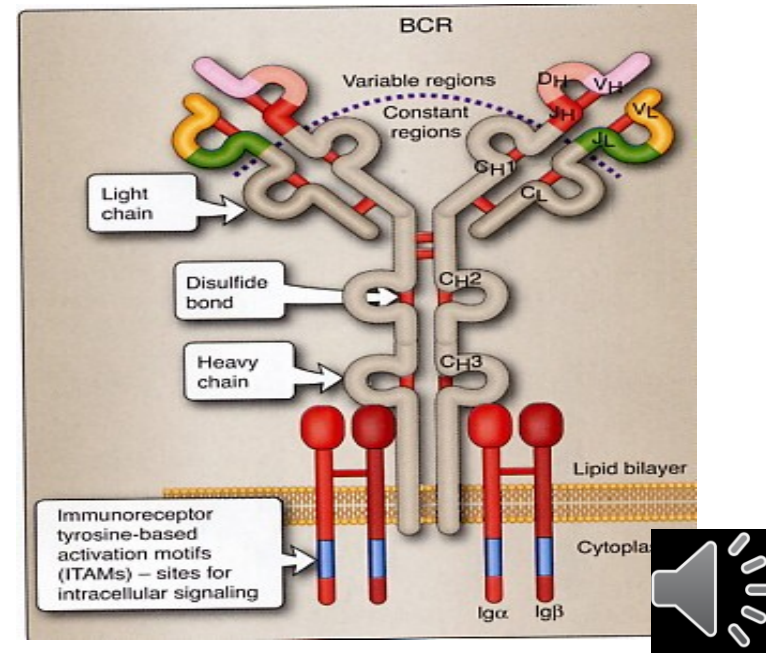
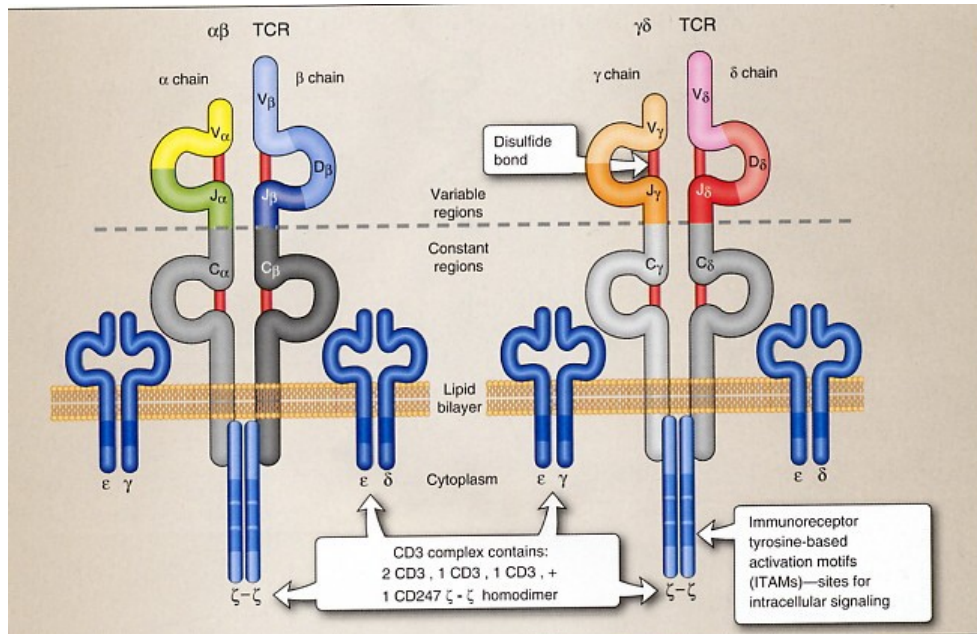




# Adaptivní imunita: charakteristické rysy

## Receptory:

*U adaptivní imunity receptory lymfocytů T a B vznikají somatickým přeskupováním genů.*



# Lymfocyty T a B jsou základními operačními jednotkami adaptivní imunity

- T-lymfocyty jsou zaměřeny na intracelulární antigeny
- T-lymfocyty ovlivňují další buňky především působením cytokinů
- B-lymfocyty na extracelulární antigeny
- B-lymfocyty produkují imunoglobuliny



# Vývoj lymfocytů v thymu

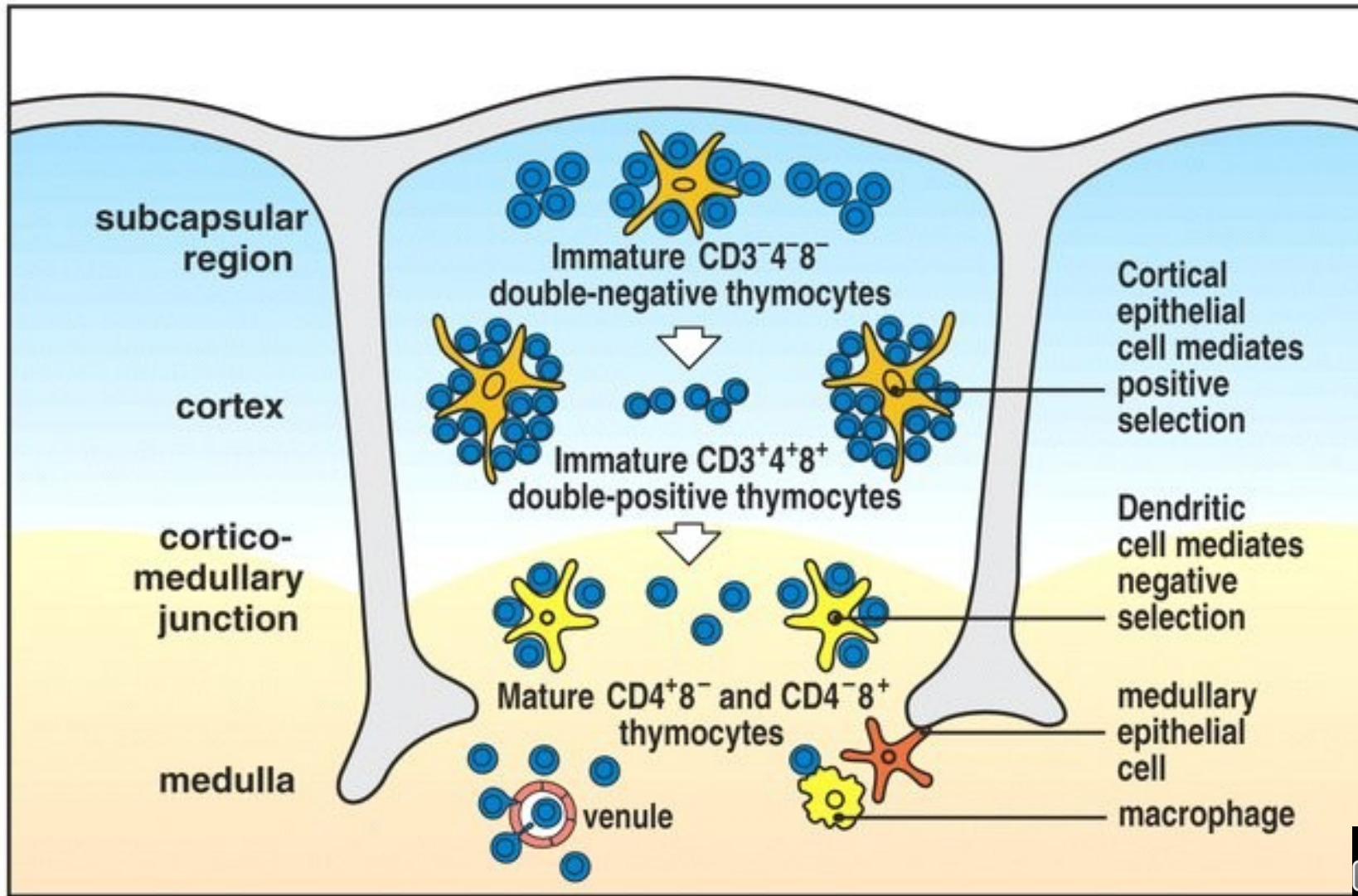
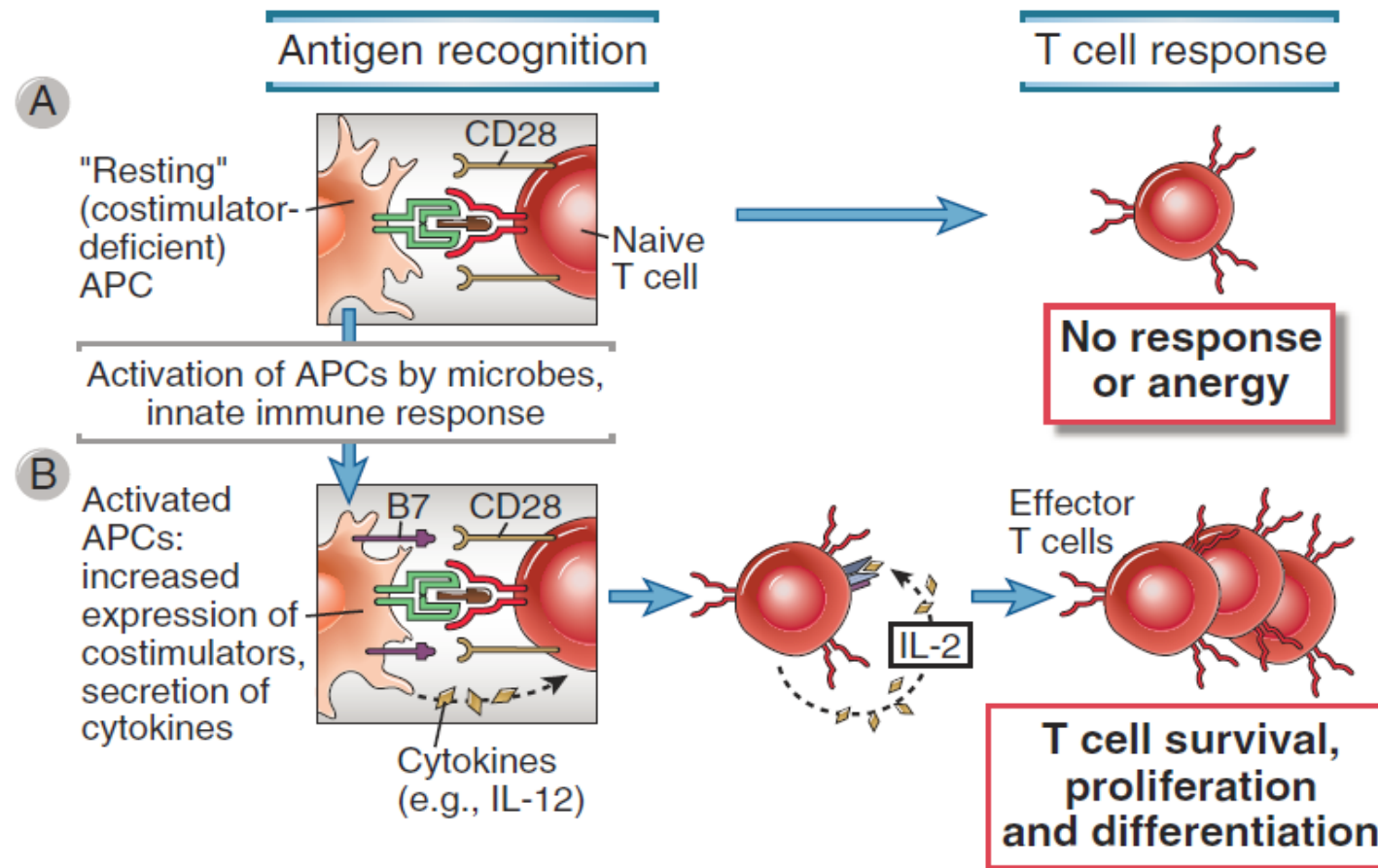


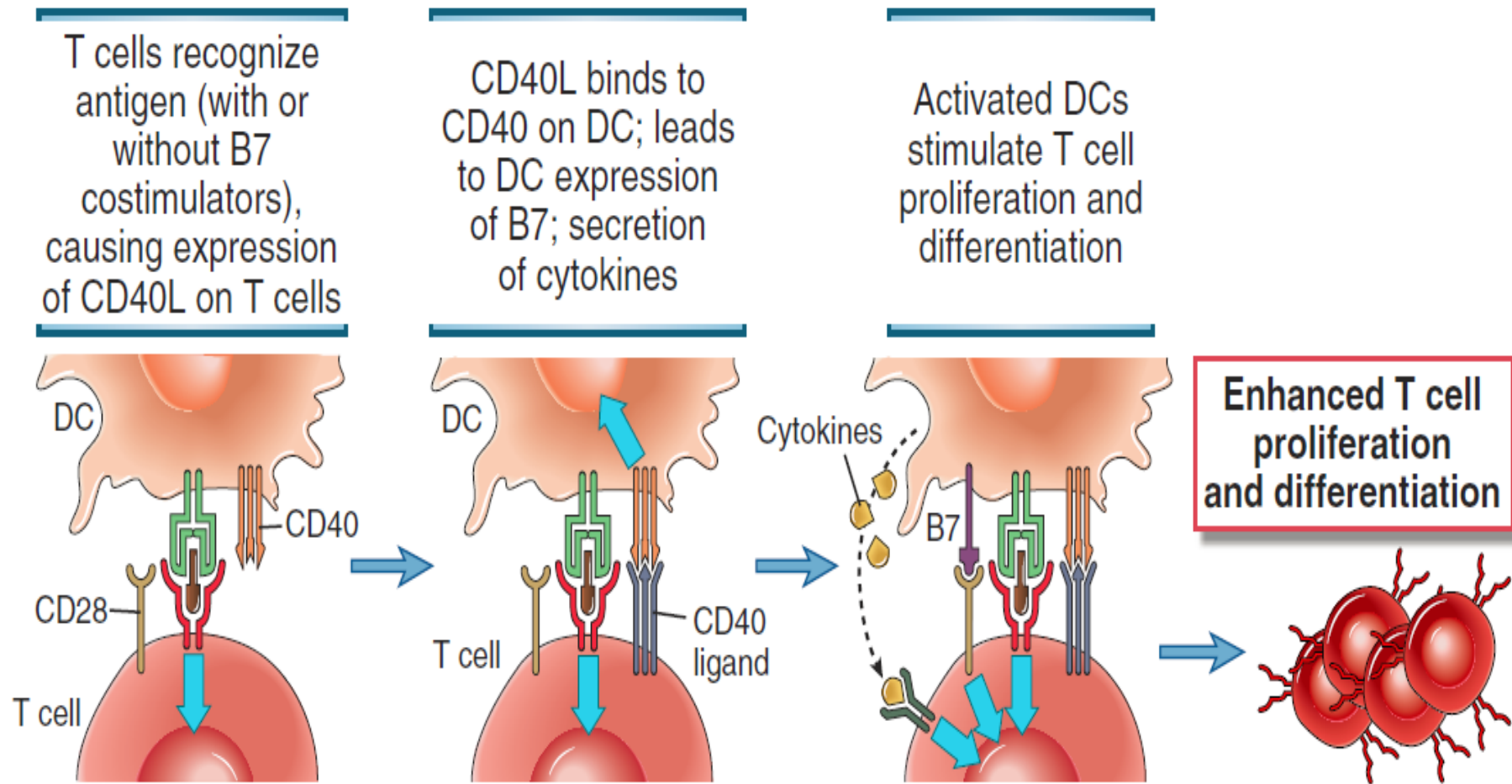
Figure 5-13 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

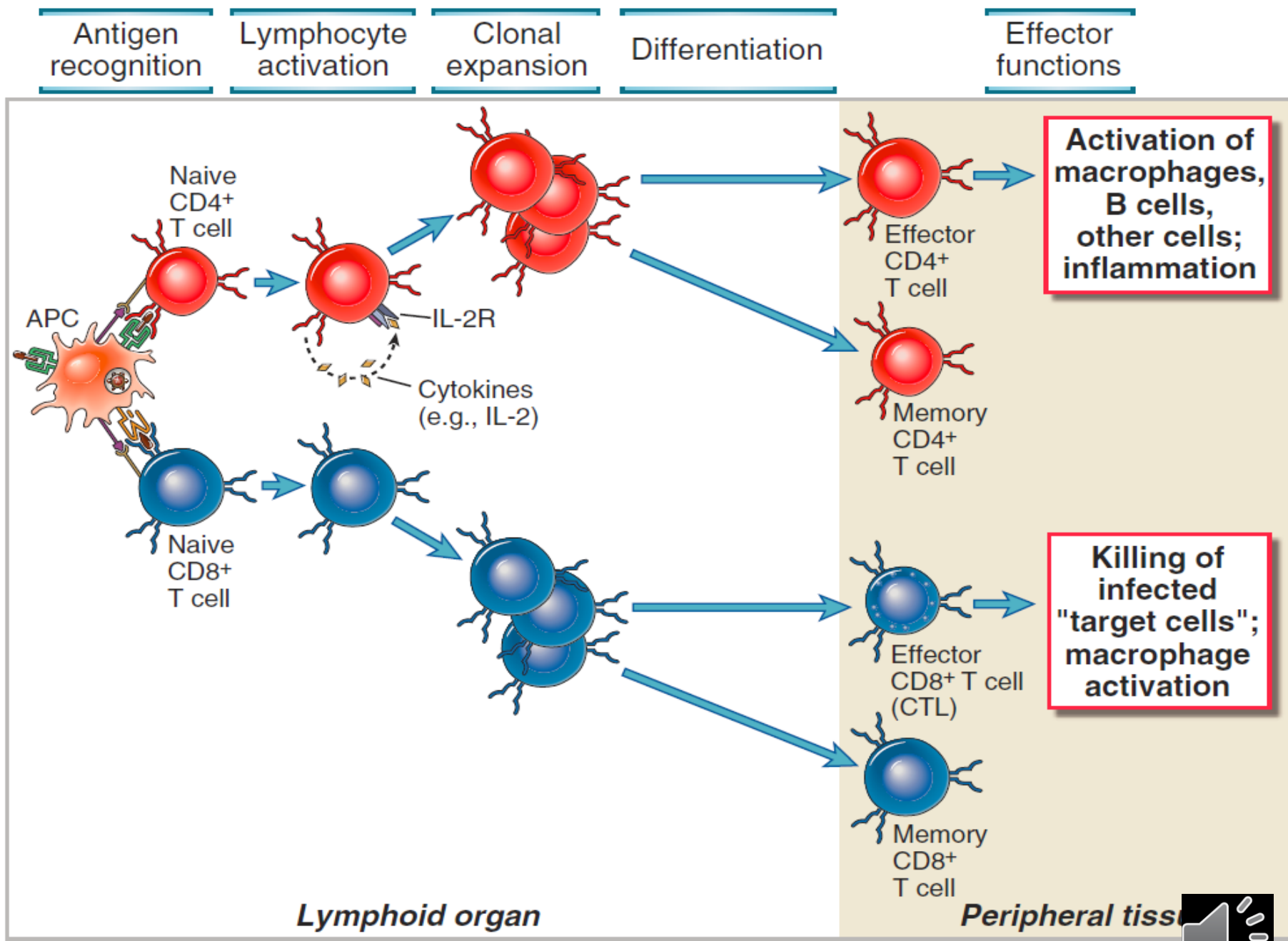


# Kostimulační signály nutné pro aktivaci T lymfocytu

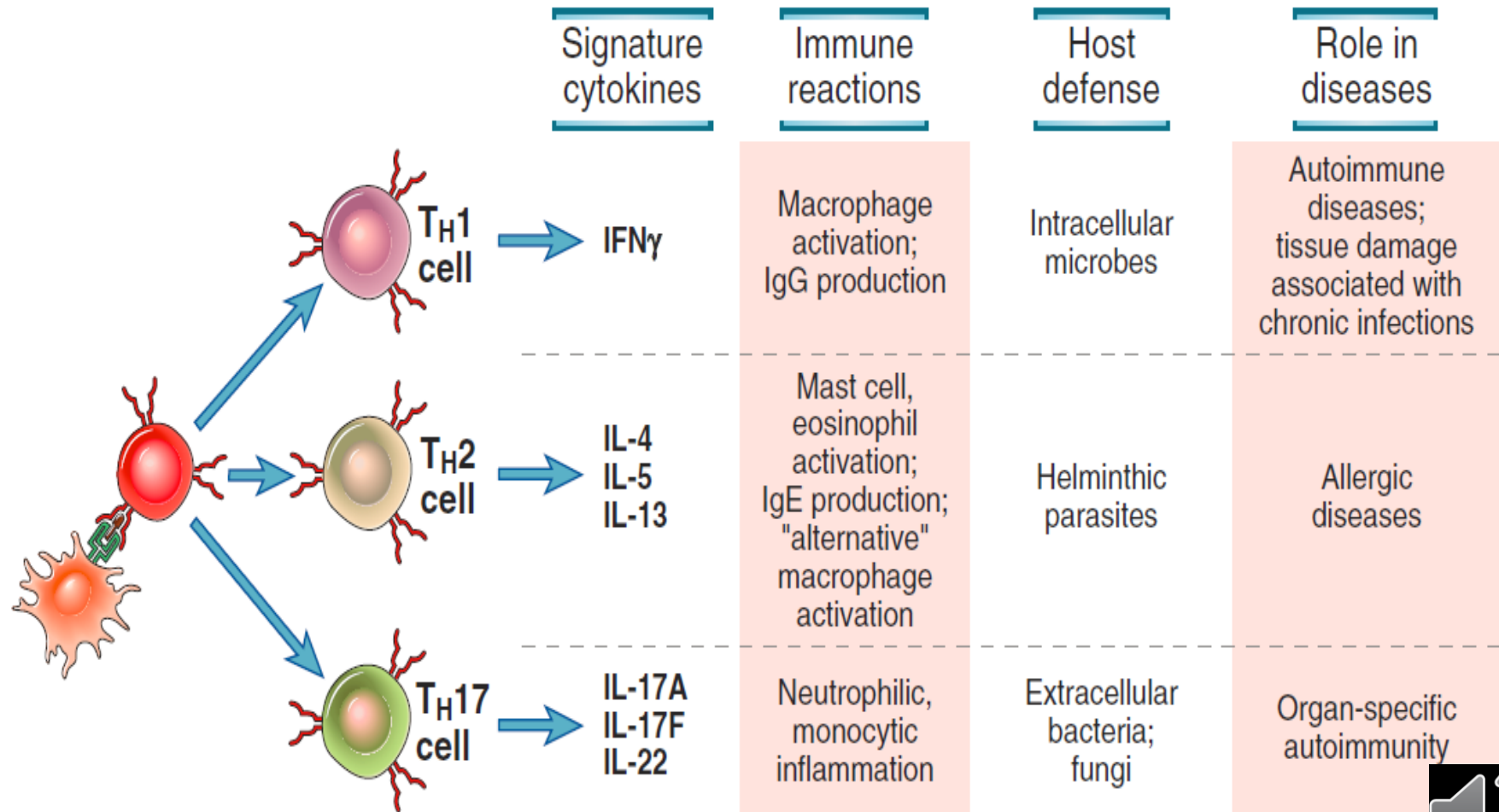


# Vazba CD40 – CD40L





# Th1, Th2 a Th17 lymfocyty



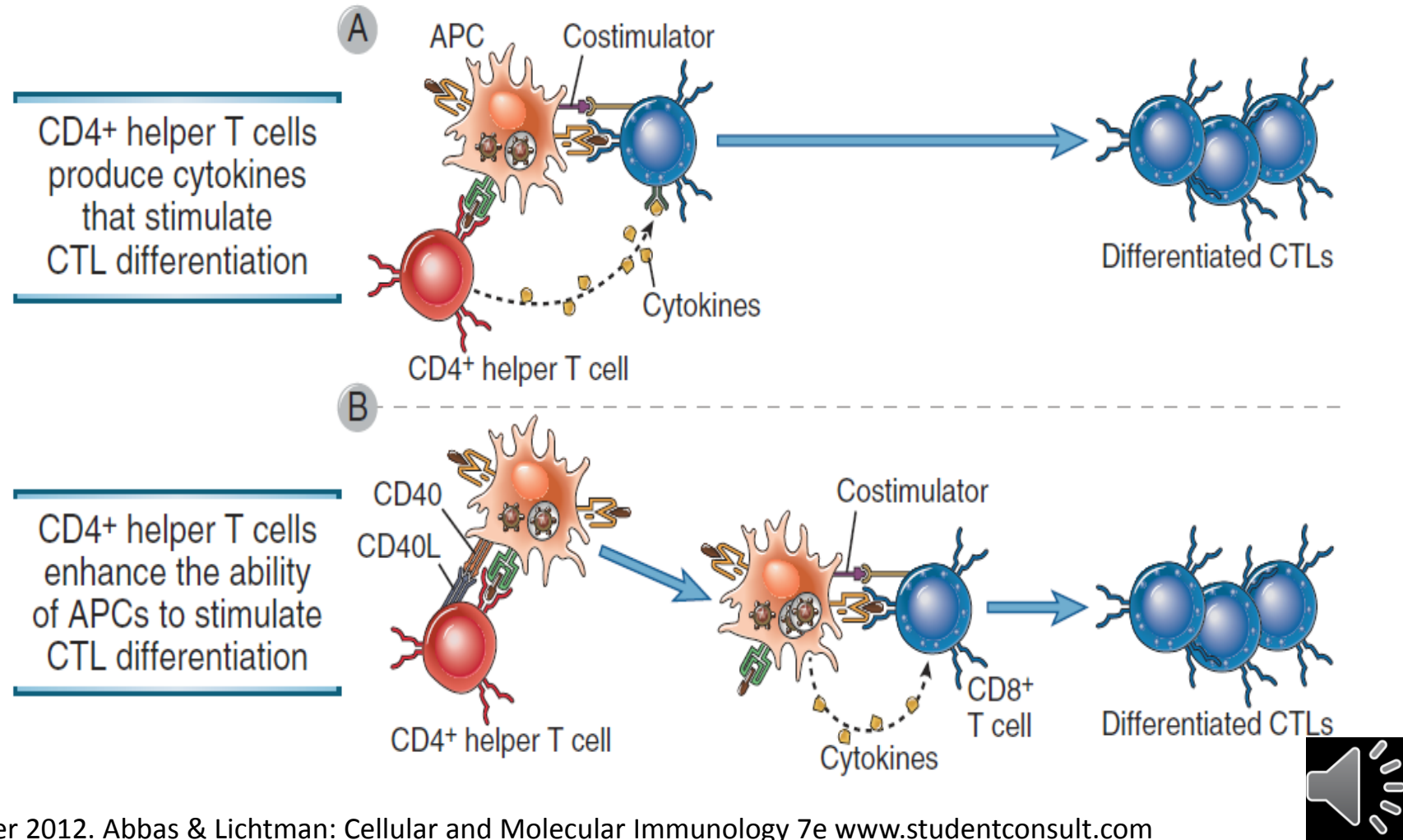
# Cytotoxické T-lymfocyty

- Jsou CD8+
- Rozznávají cizorodý antigen prezentovaný na HLA-I antigenech.
- Cytotoxicky působí perforin, dále různé mechanismy indukující apoptózu cílové buňky (granzymy, FasL, lymfotoxin).
- Jsou i důležitými producenty cytokinů (Tc1 a Tc2 buňky)





# Diferenciace efektorových cytotoxických T lymfocytů



# Mechanismy „zabíjení“ cytotoxických T lymfocytů

