

Oddělení fyziologie a imunologie živočichů

Ústav experimentální biologie

Přírodovědecká fakulta

Masarykova univerzita

---

# IMUNOLOGIE

Milan Číž

Brno 2021

## **Poděkování**

Chtěl bych poděkovat doc. RNDr. Antonínu Lojkovi, CSc. a doc. Mgr. Lukáši Kubalovi, Ph.D. kteří se podílí nebo v minulosti podíleli na výuce Imunologie na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity v Brně a z jejichž přednášek jsem při přípravě tohoto textu částečně vycházel. Docentu Kubalovi bych chtěl poděkovat za cenné připomínky k rukopisu tohoto textu. Ostatním kolegům z Oddělení fyziologie a imunologie živočichů Ústavu experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity a z Oddělení biofyziky imunitního systému Biofyzikálního ústavu Akademie věd České republiky děkuji za příjemné pracovní prostředí a své rodině za poskytované zázemí.

## **Předmluva**

Milé studentky, milí studenti,

Dostávají se Vám do rukou skripta Imunologie, která pokrývají tento obor v rozsahu základní přednášky pro bakalářské studium na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity. Tento text Vám má především posloužit jako vhodná pomůcka pro samostudium při přípravě na závěrečnou zkoušku a jako doplněk prezentací z přednášek. Tento text vznikl na základě přednášek Imunologie a jako takový nemůže pokrývat více než naprostý základ oboru potřebný k potřebám našich studentů a k pochopení základních principů tak složitého oboru, jakým imunologie je. Pro studenty s hlubším zájmem o imunologii je na konci textu uveden seznam základní doporučené literatury, kde najdete rozšiřující informace.

V Brně 12. 1. 2021

Milan Číž

## Obsah

1	Imunitní systém – úvod.....	7
2	Buňky a tkáně imunitního systému.....	9
2.1	Primární lymfoidní orgány.....	9
2.2	Sekundární lymfoidní orgány.....	9
2.3	Lymfatický cévní systém.....	10
2.4	Buňky imunitního systému.....	11
2.4.1	Neutrofilý.....	11
2.4.2	Žírné buňky.....	11
2.4.3	Mononukleární fagocyty.....	11
2.4.4	Dendritické buňky.....	12
2.4.5	B-lymfocyty.....	12
2.4.6	T-lymfocyty.....	12
2.4.7	NK buňky.....	12
3	Vznik a vývoj B- a T-lymfocytů.....	14
3.1	Vznik a vývoj B-lymfocytů.....	14
3.2	Vznik a vývoj T-lymfocytů.....	14
4	Mechanismy nespecifické imunity.....	16
4.1	Zánět.....	16
4.2	Fagocytóza.....	17
4.3	Komplement.....	18
5	Antigeny.....	21
5.1	Hlavní histokompatibilitní komplex.....	22
5.2	Prezentace antigenů.....	22
6	Protilátky.....	24
6.1	Reakce antigen-protilátka.....	26
6.2	Monoklonální protilátky.....	26
7	Komunikace buněk imunitního systému.....	28
7.1	Buněčné receptory.....	28
7.1.1	Imunoreceptory.....	29
7.1.2	Fas receptory.....	29
7.1.3	PRR receptory.....	29
7.1.4	Adheziny.....	31
7.2	Cytokiny.....	32
8	Mechanismy imunitní obrany proti infekčním patogenům.....	35

8.1	Mechanické a fyzikální bariéry proti infekčním patogenům.....	35
8.2	Imunologie virových nákaz .....	36
8.3	Imunologie bakteriálních nákaz .....	37
8.4	Imunologie parazitárních nákaz .....	38
9	Imunopatologické reakce .....	39
9.1	Imunologická přecitlivělost.....	39
9.1.1	Reakce I. typu .....	39
9.1.2	Reakce II. typu .....	40
9.1.3	Reakce III. typu.....	40
9.1.4	Reakce IV. typu.....	41
9.1.5	Buněčná cytotoxická imunopatologická reakce.....	41
9.1.6	Imunopatologická reakce při sepsi.....	41
9.2	Imunodeficience .....	41
9.2.1	Primární deficiencie specifické imunity.....	41
9.2.2	Primární deficiencie nespecifické imunity.....	43
9.2.3	Sekundární imunodeficience.....	43
9.3	Autoimunita.....	44
9.3.1	Autotolerance .....	44
9.3.2	Autoimunitní reakce.....	44
9.3.3	Systemová autoimunitní onemocnění .....	45
9.3.4	Orgánově specifická autoimunitní onemocnění.....	45
10	Transplantační imunologie.....	47
10.1	Odvržení štěpu příjemcem .....	47
10.2	Antigeny krevních skupin.....	48
10.3	Rakce štěpu proti hostiteli .....	48
10.4	Testy histokompatibility .....	48
10.5	Imunosupresivní léčba .....	48
10.5.1	Terapeutické protilátky .....	48
11	Protinádorová imunita.....	50
11.1	Nádorové antigeny.....	50
11.2	Imunitní dohled.....	50
11.3	Únik z imunitního dohledu .....	51
11.4	Protinádorová imunoterapie.....	51
12	Modulace imunitního systému .....	52
12.1	Nespecifická imunosupresivní léčba .....	52

12.2	Nespecifická imunostimulační léčba .....	53
12.3	Antigenně specifická imunostimulační léčba .....	53
12.3.1	Aktivní imunizace .....	53
12.3.2	Pasivní imunizace .....	54
13	Doporučená literatura.....	55

# 1 IMUNITNÍ SYSTÉM – ÚVOD

Imunologie je vědní obor studující složení, funkce a reakce imunitního systému. Imunitní systém je difúzní, neohraničená soustava, skládající se z volných molekul, buněk a tkání nebo orgánů. Zabezpečuje obrannou reakci organismu na patogenní mikroorganismy (viry, bakterie, houbové mikroorganismy), jednobuněčné i mnohobuněčné parazity, cizorodé makromolekuly (např. toxiny) a další nepříznivé faktory vnějšího prostředí (např. UV záření), ale také na nežádoucí změny ve vlastním vnitřním prostředí (pozměněné a poškozené buňky). Správné fungování imunitního systému je nezbytné pro přežití všech živočichů, včetně člověka.

Reakce imunitního systému mohou být prospěšné (obrana organismu), inertní (tolerance vůči normálním vlastním antigenům) nebo škodlivé (autoimunitní reakce, reakce imunologické přecitlivělosti).

Mezi základní vlastnosti imunitního systému patří schopnost rozpoznat vlastní od cizorodého (včetně vlastních pozměněných struktur). Cokoliv, co imunitní systém rozpozná jako cizorodé, vyvolá reakci imunitního systému. Imunitní systém musí být naopak tolerantní vůči vlastním strukturám (molekulám a buňkám). Reaktivita imunitního systému je

přísně kontrolována a regulována tak, aby byla zachována vyvážená odpověď imunitního systému. Příliš slabá reakce imunitního systému je neúčinná, zatímco příliš silná reakce imunitního systému může vést k cílené destrukci okolních buněk a tkání. Oby tyto stavy jsou pro organismus stejně devastující a způsobují různá onemocnění. Intenzita a trvání imunitní odpovědi musí být dostatečné k účinné obraně před patogeny, zatímco imunitní odpověď musí být zastavena bezprostředně po vymizení (eliminaci) infekčního agens.

Složky a mechanismy imunitního systému mohou být volně rozděleny do dvou funkčních kategorií, nazývaných vrozená (nespecifická) a získaná (specifická, adaptivní) imunita. Mechanismy vrozené imunity představují první linii obrany před patogenními organismy. Složky vrozené imunity jsou vyvinuty od narození a organismus je má k dispozici už před vypuknutím infekce. Řadíme mezi ně fyzikální bariéry i biochemické faktory. Mechanismy vrozené imunity rozdělujeme na anatomické (kůže, mukózní povrchy), fyziologické (zvýšená teplota, nízké pH, chemické mediátory), fagocytární (pohlcování a destrukce mikroorganismů) a zánětlivé.

Tab.: Složky a mechanismy vrozené imunity

Složka	Mechanismus	Funkce
Anatomické a fyziologické bariéry	kůže a mukózní povrchy zvýšená teplota, nízké pH chemické mediátory	fyzikální bariéry zabraňující vstupu, rozšiřování a replikace patogenů
Zánětlivé mediátory	komplement	lýza patogenů a infikovaných buněk
	cytokiny a interferony	aktivace dalších složek imunitního systému
	lysozym, defensiny	destrukce bakterií
	proteiny akutní fáze, laktoferin leukotrieny a prostaglandiny	modulace imunitní odpovědi vazodilatace a zvýšená permeabilita cév
Buněčné složky	polymorfonukleární leukocyty (neutrofily aj.)	fagocytóza a intracelulární destrukce mikroorganismů
	monocyty a makrofágy	Prezentace cizorodých antigenů
	dendritické buňky	lymfocytům

Po překonání nespecifických bariér patogenem a jeho usazení v organismu hostitele musí imunitní systém pro boj s patogenem zapojit specifitější humorální a buněčné složky. Složitý systém molekulární komunikace a buněčných kontaktů umožňuje složkám vrozené imunity aktivovat buněčné složky adaptivní imunity. Složky vrozené a adaptivní imunity tak spolupracují v úzké součinnosti. Funkce složek adaptivní imunity spočívá ve specifickém rozpoznání cizorodých antigenních struktur pomocí receptorů přítomných na povrchu lymfocytů. Humorální adaptivní imunita je prostředkována B-lymfocyty, které produkují protilátky. Buněčná adaptivní imunita je zprostředkována T-lymfocyty, které produkují a uvolňují imunoregulační mediátory po interakci s antigen prezentujícími buňkami.

Reaktivita adaptivní imunity je založena na klonálním anticipačním principu, tzn. že alespoň několik z mnoha lymfocytů s různými receptory je schopno rozeznat antigen a reagovat množením, tj. vytvořením klonu. Důležitý je také princip druhého signálu od jiných buněk imunitního systému. Pokud

takovýto signál není přítomen, dochází k funkčnímu útlumu, což představuje ochranu proti nedostatečně specifické aktivaci lymfocytů. Mechanismy adaptivní imunity se zapojují později než mechanismy vrozené imunity (řádově ve dnech), protože potřebují čas pro proliferaci a diferenciaci specifických klonů B-lymfocytů a k indukci tvorby protilátek nebo vytvoření specifických klonů T-lymfocytů. Pro adaptivní imunitu je charakteristická přítomnost imunologické paměti.

Většina prvků imunitního systému je alespoň částečně nahraditelná jinými prvky. Tato redundance snižuje zranitelnost imunitního systému náhodnými malými poruchami.

Pro buňky imunitního systému je typický CD systém („Cluster of Differentiation“) označování povrchových molekul. Soubor povrchových molekul (znaků, antigenů) buněk mající stejné epitopy se využívá se pro rozpoznávání buněčných populací při imunofenotypizaci - stanovení zastoupení jednotlivých subpopulací krevních elementů (primárně leukocytů).

Tab.: Vybrané povrchové molekuly charakteristické pro různé typy leukocytů

Buněčný typ	Charakteristické povrchové molekuly
Leukocyty (všechny)	CD53, CD45, CD43
Hematopoetické prekurzory	CD34, CD117, CD137
T-lymfocyty	CD2, CD3, CD5, CD6, CD7, CD27, CD28, CD96, TCR
T pomocné lymfocyty	CD4
T cytotoxické lymfocyty	CD8
B-lymfocyty	CD19, CD20, CD22, CD37, CD39, CD40, CD79, BCR
Pre-B lymfocyty	CD9, CD10, CD138
Plazmatické buňky	CD28, CD138
NK buňky	CD2, CD11b, CD16b, CD56, CD57, CD94, CD158
Neutrofilní granulocyty	CD11b, CD15, CD87
Monocyty	CD14, CD33, CD64, CD87, CD89
Dendritické buňky	CD83, CD86, CD205, CD206, CD207, CD208, CD209



## 2 BUŇKY A TKÁŇ IMUNITNÍHO SYSTÉMU

Orgány imunitního systému jsou tvořeny lymforetikulární tkání, která představuje retikulární pojivo, vyplněné volnými buňkami. Retikulární pojivo je tvořeno retikulocyty. Volné buňky představují různá vývojová stadia leukocytů (bílých krvinek) – lymfocytů, makrofágů a mikrofágů. Podle toho, který buněčný typ převažuje, dělíme lymforetikulární tkáň na řídkou lymfoidní tkáň (převažují retikulocyty) a hustou lymfoidní tkáň (převažují volné buňky). Lymforetikulární tkáň tvoří lymfoidní orgány, které podle jejich funkce dělíme na primární a sekundární.

### 2.1 Primární lymfoidní orgány

Primární lymfoidní orgány jsou zodpovědné za vývoj a diferenciaci buněk imunitního systému. U člověka a savců obecně mezi ně řadíme kostní dřeň a brzlík (thymus). Ekvivalentem kostní dřene u ptáků je Fabriciův váček (bursa Fabricii). Během embryonálního a fetálního vývoje jedince vykonávají funkci primárního lymfoidního orgánu žlutkový váček, respektive fetální játra a slezina. Během postnatálního vývoje se přesouvá krvetvorba včetně tvorby leukocytů z kostní dřene dlouhých kostí do kostní dřene plochých kostí (pánev, hrudní kost) a páteře.

V **kostní dřeni** dospělých jedinců dochází ke krvetvorbě, tzn. že kromě bílých krvinek jsou zde tvořeny i červené krvinky (erytrocyty) a krevní destičky (trombocyty). Z bílých krvinek zde plně dozrávají B-lymfocyty, zatímco prekurzory T-lymfocytů vycestovávají do brzlíku, kde dochází k jejich dalšímu vývoji. Všechny krevní elementy včetně leukocytů vznikají v kostní dřeni z hematopoetické kmenové buňky. Vývoj leukocytů se následně štěpí na lymfoidní (vývoj lymfocytů a NK buněk) a myeloidní (vývoj monocytů/makrofágů, granulocytů, dendritických buněk) linii.

**Brzlík** je lymfoidní orgán tvořený hustou lymfoidní tkání, ohraničenou vazivovým

pojivem. Z tohoto vazivového obalu vycházejí směrem do středu brzlíku vazivová septa, která rozdělují tkáň brzlíku v jednotlivé laloky. Vlastní tkáň brzlíku je rozdělena na korovou (vnější) a dřeňovou (vnitřní) vrstvu. Zvláštním útvarem v brzlíku jsou Hassalova tělíska (koncentricky uspořádané keratinizované retikulární buňky se známky degenerativních změn). Brzlík se nachází v hrudní dutině za hrudní kostí. Jeho velikost se mění s věkem – největší brzlík se nachází u jedinců kolem 10. roku života a poté postupně involuje (je nahrazován tukovou a vazivovou tkání).

Lymfocyty, které se v brzlíku vyvíjejí do T-lymfocytů, se nazývají thymocyty. Ty putují směrem od kůry do dřene brzlíku a setkávají se s vlastními antigeny organismu. Během vývoje T-lymfocytů v brzlíku dochází k negativní a pozitivní selekci. Principem negativní selekce je eliminace buněk, které silně reagují s vlastními antigeny. Pozitivní selekce spočívá v eliminaci buněk, které nejsou schopny rozpoznávat molekuly hlavního histokompatibilního komplexu, které jsou důležité pro prezentaci cizorodých antigenů pomocným T-lymfocytům a pro rozpoznávání vlastních poškozených nebo virem napadených buněk cytotoxickými T-lymfocyty.

### 2.2 Sekundární lymfoidní orgány

Nejjednodušším typem sekundárních lymfoidních orgánů jsou **lymfatické uzlíky**. Jedná se o dočasné útvary husté lymforetikulární tkáně.

Základním sekundárním lymfoidním orgánem jsou **lymfatické uzliny**. Jsou místem, kam jsou aferentními lymfatickými cévami transportovány cizorodé antigeny, jsou zde prezentovány pomocným T-lymfocytům a dochází zde k aktivaci B-lymfocytů k produkci protilátek. Míza odchází z lymfatických uzlin jedinou eferentní lymfatickou cévou. Naivní zralé lymfocyty se do lymfatických uzlin dostávají z krevního řečiště přestupem přes

vysoký epitel vlásečnic. Kůra lymfatických uzlin obsahuje primární a sekundární folikuly, obsahující ve velkém množství B-lymfocyty. Sekundární folikuly mají patrná germinální centra, která obsahují aktivované B-lymfocyty. Dalším buněčným typem obsaženým ve folikulech lymfatických uzlin jsou folikulární dendritické buňky. Lymfatické uzliny se vyskytují v celém těle, mezi nejběžnější patří krční, podpažní, prsní, lumbální, pánevní a tříselné lymfatické uzliny.

Zvláštními nahlučenými lymfatických uzlin jsou **mandle**. Jsou prvním místem, kde se zachytávají antigeny, které přicházejí do organismu ústní a nosní dutinou. Rozeznáváme nosohltanové mandle (nosní mandle, adenoidy) – v klenbě nosohltanu, patrové mandle (krční mandle, tonsily) – mezi patrovými oblouky v místech přechodu dutiny ústní a hltanu, jazykové mandle – pod sliznicí kořene jazyka a tubární mandle – pod sliznicí hltanu okolo ústí Eustachovy trubice, které dohromady tvoří tzv. Waldeyerův okruh.

Dalším sekundárním lymfoidním orgánem je **slezina**. Nachází se v levé části břišní dutiny za žaludkem. Je obalena vazivovým pouzdrém a je tvořena červenou a bílou dřeví. Červená dřeví je tvořena erytrocyty a představuje zásobárnu asi 1% celkového objemu krve. Bílá dřeví obsahuje lymfocyty, monocyty a z nich odvozené tkáňové makrofágy. Jejich hlavní funkcí je odbourávání zanikajících červených krvinek v červené dřeví. V bílé dřeví sleziny dochází také k tvorbě protilátek a odstraňování imunitních komplexů.

**Slizniční imunitní systém** je souhrnný název pro oblasti lymforetikulární tkáň, nacházející se ve sliznicích. Zajišťuje obranu těla před patogenními mikroorganismy nacházejícími se na rozhraní vnitřního prostředí organismu a povrchu těla. Typickými rysy slizničního imunitního systému jsou obecné obranné mechanismy (pohyb řasinek, proudění vzduchu a tekutin, sekrety žláz) přítomnost organizovaného lymfatického systému (lymfoidní folikuly, kde dochází k

indukci imunitní reakce) a difúzního lymfatického systému (volné leukocyty s jejich efektorovými mechanismy). Sliznice obsahují velkou část všech lymfocytů v těle a dochází v nich k největší produkci protilátek (hlavně IgA). Rozlišujeme slizniční imunitní systém trávicí, dýchací a vylučovací soustavy. Význačným rysem slizničního imunitního systému dýchací soustavy je přítomnost bronchiálního řasinkového epitelu a pohárkových buněk, které vylučují na povrch sliznice mucin. Epiteliální výstelka střev obsahuje kromě pohárkových buněk i Panethovy buňky, které vylučují antibakteriální látky (např. lysozym, defensiny apod.). Další zvláštností střevního slizničního imunitního systému je přítomnost tzv. **Peyerových plátů**. Jedná se o shluky lymfoidních folikulů obsahujících hlavně folikulární dendritické buňky, B-lymfocyty a makrofágy.

### 2.3 Lymfatický cévní systém

Jednotlivé lymfoidní orgány jsou navzájem propojeny lymfatickým (mízním) cévním systémem. Ten není na rozdíl od krevního systému uzavřen. Lymfatický cévní systém začíná slepými zakončeními lymfatických kapilár (mízních vlásečnic) ve tkáních, které se postupně spojují v mízní cévy. Ty propojují jednotlivé typy lymfatických uzlin s ostatními lymfoidními orgány a nakonec se spojují v hrudní mízovod, který ústí do žilního systému.

Propojení mízních uzlin je hlavní úlohou lymfatického cévního systému v obranných mechanismech organismu. Pomocí lymfatických cév jsou do mízních uzlin prostřednictvím antigen-prezentujících buněk transportovány z tkání cizorodé antigeny, zde jsou prezentovány pomocným T-lymfocytům a následně dochází k rozvoji protilátkové imunitní odpovědi, zprostředkované B-lymfocyty.

Kromě podílu na obranných funkcích organismu plní lymfatický cévní systém celou

řadu dalších funkcí: podílí se na regulaci stálosti vnitřního prostředí (tzv. homeostáze), odvádí z tkání tkáňový mok, odvádí do horní duté žíly tuky ve formě kapének, odvádí z tkání produkty metabolismu (škodlivé nebo nepotřebné látky) a přivádí do krve živiny.

## 2.4 Buňky imunitního systému

Všechny volné buňky lymforetikulární tkáně vznikají ze společné pluripotentní hematopoietické kmenové buňky v kostní dřeni. Souhrně je nazýváme bílé krvinky (leukocyty). Během svého časného vývoje se dělí na myeloidní a lymfoidní linii.

Myeloidní buňky představují první obrannou linii organismu a patří mezi hlavní buněčné složky vrozené imunity. Zahrnují především profesionální fagocyty (neutrofilny, monocyty, makrofágy) a dendritické buňky. Další myeloidní buňky představují eosinofily, bazofily a žírné buňky (mastocyty), uplatňující se hlavně při obraně proti mnohobuněčným parazitům a při rozvoji alergické reakce.

Buňky lymfoidní linie naopak představují buněčnou složku adaptivní imunity a nesou specifické receptory pro rozpoznání cizorodých antigenů. Zahrnují především B- a T-lymfocyty, dalšími typy jsou NK buňky (přirození zabíječi) a NKT buňky.

### 2.4.1 Neutrofilny

Neutrofilny (neutrofilní granulocyty) jsou vysoce adherentní, pohyblivé, fagocytující leukocyty, které jako první buňky migrují do místa zánětu. Jsou skladovány v kostní dřeni, odkud jsou při infekci rychle vyplavovány. Jejich hlavní funkcí je fagocytóza patogenů a jejich následná destrukce pomocí enzymů a toxických molekul, uvolňovaných z granul. Je to nejpočetnější typ leukocytů v krvi (u člověka až 70%). Nezralé terminálně diferencované granulocyty se nazývají tyčky. Zralé segmenty mají zaškrvcované jádro a v cytoplazmě obsahují 3 typy granul. Azurofilní (primární) granula obsahují myeloperoxidasu, neutrální serinové proteázy (katepsin G, elastázu),

defensiny, lysozym. Specifická (sekundární) granula obsahují laktoferin, lysozym, kolagenázu, gelatinázu, CD11b/CD18, fMLP receptor (receptor pro bakteriální chemotaktický faktor). Gelatinázová (terciární) granula obsahují lysozym, gelatinázu, CD11b/CD18, acetyltransferázu. Sekreční váčky zralých segmentů obsahují CD11b/CD18, komplementový receptor CR1, fMLP receptor, alkalickou fosfatázu. Neutrofilny jsou krátce žijící buňky. Po své aktivaci v místě infekce hynou apoptózou a jejich zbytky jsou odstraňovány makrofágy. Neaktivované cirkulující neutrofilny jsou transportovány z krevního oběhu zpět do kostní dřene, kde jsou odbourávány osteoblasty.

### 2.4.2 Žírné buňky

Žírné buňky se vyskytují především v kůži a v trávicí soustavě. Mají podobnou funkci jako bazofily v krvi. Mají vysoce exprimované receptory pro konstantní oblasti imunoglobulinových řetězců FcεR a po jejich aktivaci uvolňují např. histamin a heparin. Hrají důležitou úlohu v rozvoji reakcí imunologické přecitlivělosti I. typu.

### 2.4.3 Mononukleární fagocyty

Krevní **monocyty** představují u člověka 5 – 10% krevních leukocytů. Jsou to velké amoeboidní buňky s ledvinovitým jádrem, se zachovanou schopností mitózy a žijící kolem 80 dní. Jejich typickým membránovým znakem je molekula CD14. Během embryonálního vývoje vznikají ve žlutkovém vaku a později ve fetálních jádrech, v postnatálním období vznikají v kostní dřeni. Oby typy monocytů (embryonální i krevní monocyt po narození) vycestovávají do tkání, kde se diferencují do různých typů **tkáňových makrofágů**: osteoblasty v kostní tkáni, mikroglie v centrální nervové soustavě, alveolární makrofágy v plicích, Kupfferovy buňky v játrech, histiocyty v pojivové tkáni různé typy makrofágů ve slezině. Hlavní funkcí buněk mononukleárního fagocytárního systému je fagocytóza a zabití extracelulárních patogenů

a prezentace antigenu. Aktivují se působením cytokinů a samy cytokiny produkují. Fagocytují a likvidují i maligní a pozměněné vlastní struktury, čímž se podílí na obnově tkání.

#### 2.4.4 Dendritické buňky

Posledním typem buněk myeloidní linie jsou dendritické buňky. Jedná se o heterogenní populaci buněk s různými fenotypovými a funkčními znaky. Jejich hlavní úlohou je vylučování antigenů v periferních tkáních, jejich transport do lymfatických uzlin a prezentace T-lymfocytům – patří mezi profesionální antigen prezentující buňky. Příkladem dendritických buněk jsou Langerhansovy buňky nacházející se v pokožce.

#### 2.4.5 B-lymfocyty

B-lymfocyty jsou zodpovědné především za specifickou, protilátkami zprostředkovanou imunitní odpověď. Jako složka adaptivní imunity mají také velký význam pro imunitní paměť, čehož se využívá při očkování. Membránovým receptorem B-lymfocytů pro antigen je molekula imunoglobulinu IgM, v menší míře i IgD. B-lymfocyt, na jehož receptory se navázal specifický antigen, je pomocí kostimulačních signálů  $T_H2$  buněk stimulován k pomnožení a přeměně na plazmatické B-lymfocyty. Ty produkují velké množství protilátek stejné specifity, jako receptor mateřského B-lymfocytu. Uvolněné rozpustné protilátky mohou neutralizovat antigen (bránit jeho vazbě na buňky organismu), aktivovat složky komplementu a opsonizovat antigen, čímž umožňují dalším buňkám imunitního systému (např. makrofágům nebo neutrofilům), aby ho snáze fagocitovaly a zneškodnily.

#### 2.4.6 T-lymfocyty

T-lymfocyty dozrávají v brzlíku. Zralé T-lymfocyty ve své membráně exprimují T-buněčný receptor (TCR), skládající se z řetězců  $\alpha$  a  $\beta$  a přidružených molekul CD3. Dělí se na

tři základní populace – pomocné ( $T_H$ ) lymfocyty, cytotoxické ( $T_C$ ) lymfocyty a regulační ( $T_{reg}$ ) lymfocyty.

**Pomocné T-lymfocyty** dále dělíme na další subpopulace.  $T_H1$ -lymfocyty (zánětlivé T-lymfocyty) spolupracují s makrofágy a stimulují je k přeměně v aktivované makrofágy. Podílejí se tak na obraně proti intracelulárním patogenům. Rovněž se podílí na vzniku imunologické přecitlivělosti pozdního typu.  $T_H2$ -lymfocyty spolupracují s B-lymfocyty. Indukují pomnožení daného klonu B-lymfocytů a jejich diferenciaci do plazmatických buněk.  $T_H17$ -lymfocyty spolupracují s neutrofilů na obraně proti extracelulárním patogenům. Dalšími podtypy  $T_H$ -lymfocytů jsou  $T_H0$ -lymfocyty a  $T_H3$ -lymfocyty.

**Cytotoxické T-lymfocyty** rozpoznávají vlastní poškozené (např. nádorově transformované) a virem infikované buňky prostřednictvím rozpoznání antigenů prezentovaných pomocí MHC molekul I. třídy. Po rozpoznání cílové buňky jsou  $T_C$ -lymfocyty aktivovány a způsobují smrt cílové buňky pomocí svých cytotoxických mechanismů. Mezi ně patří degranulace cytotoxických granul a vyplavování perforinu (tvoří póry v buněčné membráně cílové buňky) a granzymů (enzymy typu serinových proteáz). Dalšími cytotoxickými mechanismy  $T_C$ -lymfocytů jsou exprese Fas-ligandu (po vazbě na Fas-receptor vyvolá apoptózu cílové buňky) a produkce lymfotoxinu (TNF- $\beta$ ).

#### 2.4.7 NK buňky

NK buňky (přirození zabíječi) jsou velké granulární lymfocyty rozeznávající buňky, které na svém povrchu exprimují málo MHC-I (nádorové buňky, buňky napadené virem). Exprimují stimulační (rozeznávají povrchové, adhezivní molekuly) a inhibiční receptory (rozeznávají MHC-I). Pokud převažuje signalizace inhibičních receptorů, zdravá cílová buňka je tolerována. Pokud převažuje stimulační signál, NK buňka je aktivována a

zabíjí poškozenou cílovou buňku podobnými mechanismy jako T<sub>C</sub>-lymfocyty. K tomu může dojít dvojitým způsobem. Principem rozpoznání chybějícího vlastního je snížená exprese MHC

molekul I. třídy na cílové buňce. Principem rozpoznání pozměněného vlastního je zvýšená exprese ligandů pro stimulační receptory na cílové buňce.

### 3 VZNIK A VÝVOJ B- A T-LYMFOCYTŮ

Časná stadia vývoje B- a T-lymfocytů vznikají stejně jako ostatní krevní buňky z kmenové hematopoietické buňky v kostní dřeni, která patří mezi primární lymfoidní orgány.

#### 3.1 Vznik a vývoj B-lymfocytů

Prekurzory B-lymfocytů se dále vyvíjejí v kostní dřeni. Během časného vývoje B-lymfocytů dochází k přeskupování genových segmentů pro imunoglobuliny a vytváří se povrchové receptory B-lymfocytů. Během vývoje v kostní dřeni také dochází k tzv. negativní selekci – odstraňování B-lymfocytů rozpoznávajících svými receptory vlastní antigenní struktury. K další selekci B-lymfocytů dochází po vycestování zralých buněk z kostní dřene do krve a periferních lymfoidních orgánů. V případě, že tyto buňky rozpoznávají vlastní struktury, vznikají z nich autotolerantní B-lymfocyty a B-lymfocyty neschopné odpovědi. B-lymfocyty, které nereagují s vlastními strukturami a nedostanou v periferních lymfoidních orgánech pozitivní signál nezůstávají v lymfatických uzlinách a mají krátký poločas života (asi 3 dny). B-lymfocyty, které nereagují s vlastními strukturami a dostanou pozitivní signál zůstávají v lymfatických uzlinách. Stávají se z nich dlouho žijící recirkulující naivní B-lymfocyty s poločasem života 3-8 týdnů. Po vazbě na cizorodé antigeny jsou zralé B-lymfocyty aktivovány. Aktivované B-lymfocyty se diferencují do plazmatických nebo paměťových buněk. Plazmatické buňky ve velké míře produkují a uvolňují protilátky. Paměťové B-lymfocyty jsou uchovávány v kostní dřeni, periferních lymfoidních orgánech a epitelech.

#### 3.2 Vznik a vývoj T-lymfocytů

Progenitory T-lymfocytů migrují z kostní dřene do brzlíku, kde dochází k přeskupování genových segmentů pro T-buněčné receptory. Nezralé T-lymfocyty podstupují v brzlíku pozitivní a negativní selekci. T-lymfocyty rozeznávající vlastní MHC antigeny dostávají signál k přežití (pozitivní selekce). Ty T-lymfocyty, které reagují s vlastními antigeny příliš silně, jsou však eliminovány (negativní selekce). Zralé T-lymfocyty migrují do periferních lymfoidních orgánů. Tam se setkávají s cizorodými antigeny a jsou aktivovány. Aktivované T-lymfocyty proliferují, migrují do místa infekce a přispívají k eliminaci patogenů.

U nezralých, dvakrát negativních prekursorů T-lymfocytů ( $CD3^-CD4^-CD8^-$ ) dochází k přeskupování genových segmentů pro  $\gamma$ ,  $\delta$  a  $\beta$  řetězce T-buněčného receptoru (TCR). V případě úspěšného seskládání  $\gamma$  a  $\delta$  řetězců jsou vypnuty geny pro  $\beta$  řetězec a T-lymfocyty směřují do linie exprimující  $\gamma:\delta$  TCR, které dále zrají a migrují do periferních lymfoidních orgánů. Signály vedoucí přes pre-TCR s úspěšně složeným  $\beta$  řetězcem vypínají naopak geny  $\gamma$  a  $\delta$  řetězců a směřují T-lymfocyty do linie exprimující  $\alpha:\beta$  TCR. Následuje přeskupení genových segmentů pro  $\alpha$  řetězce a vytvoří se funkční  $\alpha:\beta$  TCR. T-lymfocyty dále zrají a migrují do periferních lymfoidních orgánů.

Během vývoje T-lymfocytů v brzlíku dochází také ke změnám exprese povrchových antigenů CD3, CD4 a CD8. Z nezralých dvakrát negativních prekursorů T-lymfocytů ( $CD3^-CD4^-CD8^-$ ) vznikají buď  $\gamma:\delta CD3^+4^8^-$  nebo dvakrát pozitivní provizorní  $\alpha:\beta CD3^+4^+8^+$  velké aktivní T-lymfocyty. Z těch se diferencují malé klidové dvakrát-pozitivní T-lymfocyty, z nichž až 95% umírá apoptózou. Zbylé malé klidové dvakrát-pozitivní T-lymfocyty se dále diferencují do malých klidových cytotoxických ( $CD3^+4^+8^+$ ) a pomocných ( $CD3^+4^+8^-$ ) T-lymfocytů. Rozhodující úlohu v tom, jestli vzniknou cytotoxické nebo pomocné T-lymfocyty, hraje to, jestli TCR dvakrát-pozitivních T-lymfocytů rozpoznávají MHC molekuly I. nebo II. třídy.

Naivní pomocné T-lymfocyty dále diferencují do dalších subpopulací. Vznikají  $T_H2$ ,  $T_H1$ ,  $T_H17$  a  $T_{reg}$  pomocné T-lymfocyty.  $T_H2$ -lymfocyty jsou klasické pomocné T-lymfocyty, které aktivují B-lymfocyty k produkci protilátek.  $T_H1$ -lymfocyty aktivují makrofágy a NK buňky, uplatňující se při obraně proti intracelulárním patogenům.  $T_H17$ -lymfocyty aktivují neutrofilní granulocyty, důležité při obraně proti extracelulárním bakteriím, ale uplatňující se také při vzniku autoimunitních onemocnění.  $T_{reg}$ -lymfocyty produkují cytokiny s imunosupresivními účinky.

## 4 MECHANISMY NESPECIFICKÉ IMUNITY

Tělo je před proniknutím patogenních mikroorganismů při poranění chráněno fyzikálními a fyziologickými bariérami. V kůži se jedná o přítomnost keratinocytů v pokožce, které brání prostupu mikroorganismů do těla, a vylučování potu. V trávicím traktu zabraňuje přežívání a prostupu patogenních mikroorganismů nízké pH v žaludku, vylučování mastných a žlučových kyselin. Důležitou úlohu zde hraje i přirozená střevní mikroflóra, která soutěží s patogenními mikroorganismy o dostupné zdroje, nebo může patogenní mikroorganismy usmrcovat prostřednictvím svých mikrobicidních mediátorů. Sliznice dýchací soustavy je chráněna přítomností řasinek a mukózního pokryvu. Podobně je mukózním pokryvem chráněna i sliznice trávicí soustavy v nosohltanu. Některé tkáně mohou vylučovat lysozym, látku která rozrušuje buněčnou stěnu Gram negativních bakterií. Vyskytuje se např. ve slinách nebo v slzách.

Pokud dojde k překonání těchto bariér, dochází v místě průniku cizorodých částic nebo patogenních mikroorganismů do těla k rozvoji zánětlivé imunitní reakce.

### 4.1 Zánět

Zánět je definován jako souhrn imunitních a fyziologických reakcí na porušení integrity organismu, které vedou k lokalizaci poškození, ochraně poškozeného místa a k jeho zhojení. K rozvoji zánětu dochází v důsledku antigenních podnětů (průniku infekčních mikroorganismů do těla), poranění chemickými nebo fyzikálními vlivy, případně v důsledku ischemie tkání a orgánů (stav, kdy je do určitých tkání zastaven z různých příčin přísun kyslíku). Lokální zánět je charakterizován svými klasickými projevy: zčervenání (rubor), otok (tumor), bolestivost (dolor) a lokální zvýšení teploty (calor).

Zánětlivé reakce se dělí na **akutní a chronické**. Akutní zánět je fyziologická obranná reakce

organismu. Odezívá bez následků a poraněná tkáň se kompletně zahojí. Naopak chronický zánět bývá obvykle patologickou reakcí. Poškozená tkáň je do určité míry nahrazována vazivem. Chronický zánět může být i sterilní, tj. bez přítomnosti patogenních mikroorganismů.

První signály k rozvoji zánětlivé reakce pocházejí z degranulovaných žírných buněk ve tkáni, z fagocytů, které jsou prvními buňkami imunitního systému, vcestovávajícími do poškozené tkáně, a vlastních poškozených buněk nebo mezibuněčné hmoty. V průběhu rozvoje zánětlivé reakce dochází ke zvýšení permeability cév v poškozené tkáni, což je provázáno prostupem plazmatické tekutiny do extravaskulárního prostoru a vzniku otoku. Zvýšená permeabilita kapilár je spojená s aktivací kininového systému. Aktivovaný koagulační faktor XII působí na prekalikrein, z kterého vzniká kalikrein a následně bradykinin, zvyšující permeabilitu kapilár. V případě fyzického poranění tkání je jednou z prvních obranných reakcí hemokoagulace, která zabraňuje úniku krve. Hemokoagulace je aktivována faktory uvolňovanými z poškozených buněk a jejím hlavním principem je přeměna rozpustné bílkoviny fibrinogenu na nerozpustný fibrin. Šíření srážení krve mimo místa poranění zabraňuje aktivace fibrinolytického systému. Při fibrinolýze se z inaktivního plasminogenu vytváří enzym plasmin, který štěpí fibrin na řadu menších polypeptidů. Tím snižuje kompaktnost krevní sráženiny a krevní sráženinu částečně rozpouští. Dalšími ději doprovázejícími zánětlivou reakci je zvýšená exprese adhezivních molekul na cévním endotelu (to umožňuje zachycování fagocytů a později lymfocytů a jejich přestup přes cévní stěnu do místa zánětu), aktivace komplementového systému a fagocytů a zvýšená syntéza metabolitů kyseliny arachidonové (tromboxany, leukotrieny, prostaglandiny).



Zvýšená bolestivost zánětlivé tkáně je způsobena ovlivněním místních nervových zakončení v postižené tkáni. Zvýšení teploty je vyvoláno stimulací hypotalamového centra prozánětlivými cytokiny. Následně je aktivován tkáňový metabolismus mobilizací osy hypotalamus – hypofýza – kůra nadledvin. Zvýšení teploty zvyšuje metabolismus imunokompetentních buněk. Dochází k indukci exprese tzv. heat shock proteinů (Hsp), které fungují jako tzv. chaperony – váží se na nově syntetizované polypeptidové řetězce a na intracelulární denaturované proteiny a napomáhají jejich poskládání do nativních konformací.

Důležitou úlohu v zánětlivé reakci hrají játra. Dochází zde k vychytávání stopových prvků, důležitých pro růst bakterií. Cytokiny produkované v místě zánětu stimulují v játrech produkci proteinů akutní fáze (C-reaktivní protein = CRP, komplementové složky C3 a C4, sérový amyloid P).

Mezi mechanismy obranného zánětu řadíme srážení krve, reakce cévního endotelu, uvolňování prostanoidů, aktivitu kininového systému a především fagocytózu a aktivitu komplementového systému. V důsledku prezentace nedegradovaných antigenních štěpů lymfocytům prostřednictvím vazby s MHC proteiny dochází k rozvoji specifické fáze zánětu.

## 4.2 Fagocytóza

Proces fagocytózy poprvé pozoroval a popsal Ilja Mečnikov, který za tento objev v roce 1908 obdržel Nobelovu cenu. Mezi profesionální fagocyty řadíme neutrofile (mikrofágy) a buňky monocyto-makrofágové řady (tj. krevní monocyty a tkáňové makrofágy). Neutrofile představují první obrannou linii v boji proti patogenním mikroorganismům. V důsledku chemotaxe vcestovávají do zánětlivé tkáně, kde fagocytují patogenní mikroorganismy a intracelulárně je usmrcují prostřednictvím svých mikrobicidních mechanismů. Podobnou funkci v zánětlivé reakci hrají i makrofágy.

Kromě toho se podílejí na obnově poškozených tkání a prezentují antigenní štěpy pro specifickou imunitní odpověď, tj. patří mezi tzv. antigen prezentující buňky. Makrofágy rovněž likvidují i maligní a jiné pozměněné vlastní struktury.

Fagocyty jsou v zánětlivé reakci aktivovány tzv. SOS signály, mezi které řadíme N-Formyl-Met-Leu-Phe (fMLP, bakteriální chemotaktický peptid), metabolity kyseliny arachidonové (prostaglandiny, leukotrieny), komplemetové složky a prozánětlivé cytokiny. Na tyto signály fagocyty odpovídají chemotaktickým pohybem do místa zánětu, adhezí na cévní endotel a diapadézou přes cévní stěnu, následnou aktivací, fagocytózou a intracelulárním usmrcením patogenních mikroorganismů. Pro svoji funkci jsou fagocyty na svém povrchu vybaveny různými receptory: komplementovými receptory a receptory pro Fc části protilátek (oba patří mezi opsoninové receptory), Toll-like receptory, receptory pro chemotaktické mediátory (např. receptor pro fMLP), manózové receptory rozeznávající cukerné struktury na povrchu bakterií a scavengerové receptory (rozeznávají acetylované LDL, low density lipoproteins).

Přechod neutrofilů přes endotel z krevního řečiště do zánětlivé tkáně je usnadněn postupnou zvýšenou expresí adhezivních molekul na buněčné membráně aktivovaných endoteliálních buněk a neutrofilů. V první fázi se na endoteliálních buňkách exprimuje P-selektin, který se váže na svůj ligand (PSGL-1) na neutrofilech, což způsobí volné rolování neutrofilů na cévním endotelu. Následně se na neutrofilech aktivují integriny LFA-1 a VLA-4, které se váží na endoteliální ICAM-1 a VCAM-1 a dochází k pevné adhezi neutrofilů na endotel. Poté neutrofile migrují přes endotel, což je usnadněnou vzájemnou vazbou molekul PECAM-1 na neutrofilech a endoteliálních buňkách.

Vlastní proces fagocytózy můžeme rozdělit do několika kroků. Nejprve dochází k adhezenci patogenních mikroorganismů na povrch

fagocytu prostřednictvím receptorů pro patogenní struktury nebo opsoninových receptorů. Kolem naadherovaného patogenu se vytváří pseudopodia, výběžky buněčné membrány fagocytu, které postupně patogenní mikroorganismus obklopí a v cytoplasmě fagocytu vznikne fagosom, obsahující pohlcenou cizorodou částici. Ten následně fúzuje s lyzosemem, obsahujícím trávicí enzymy, a vzniká fagolyzosom, kde dochází k usmrcení a natrávení fagocytovaného

mikroorganismu. Fagolyzosom se dále přeměňuje na reziduální tělíčko, obsahující nestrávitelný materiál, který je po fúzi reziduálního tělíska s buněčnou membránou fagocytu z buňky vypuzen exocytózou. V případě makrofágů mohou být antigenní štěpy patogenního mikroorganismu ve fagolyzosomu navázány na molekuly MHC komplexu, transportovány na povrch fagocytu a prezentovány T-lymfocytům.

Tab.: Mikrobicidní mechanismy fagocytů

Mechanismus	Specifické produkty
Acidifikace	pH = 3,5 – 4,0 (bakteriostatické, baktericidní)
Toxické reaktivní metabolity kyslíku	superoxidový aniont, peroxid vodíku, singletový kyslík, hydroxylový radikál, chlornany
Toxické reaktivní metabolity dusíku	oxid dusnatý
Antimikrobiální peptidy	defensiny, kationické proteiny
Enzymy	lysozym, kyselé hydrolázy
Další	laktoferin, protein vázající vitamín B12

Zásadním enzymem pro tvorbu mikrobicidních reaktivních metabolitů kyslíku fagocytu je NADPH oxidáza (NOX2). Tento enzym se skládá z pěti podjednotek, z nichž dvě (gp91<sup>phox</sup> a p22<sup>phox</sup>) jsou membránově vázané a další tři (p40<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> a p67<sup>phox</sup>) se v klidovém stavu nacházejí v cytoplasmě. Po aktivaci buněk dochází k sestavení aktivní formy enzymu na vnitřní membráně fagosomu a tvoří se superoxidový aniontový radikál, který je následně dismutován na peroxid vodíku. Ten slouží jako substrát pro myeloperoxidázu, uvolňovanou z granulí fagocytů, pro tvorbu kyseliny chlorné.

Dalším funkčním projevem aktivovaných neutrofilů je uvolňování neutrofilních extracelulárních pastí (NETs), tvořených rozvolněným chromatinem s asociovanými jadernými a granulárními (myeloperoxidáza, elastáza, antimikrobiální proteiny) proteiny neutrofilů. Tyto pasti primárně slouží k zachycení a imobilizaci patogenních bakterií. Imobilizované bakterie jsou následně fagocytovány dalšími migrujícími neutrofilů nebo přítomnými makrofágy. Proces uvolnění

neutrofilních extracelulárních pastí je považován za zvláštní typ aktivní buněčné smrti.

Správná funkce fagocytů je pro organismus nezbytná. Nedostatečnosti ve funkcích fagocytů mohou vést k těžkému průběhu jinak banálních infekcí. Příkladem je chronická granulomatózní choroba, což je souhrn patologických stavů, spojených s různými defekty NADPH oxidázy. Problematická je ale i hyperaktivace fagocytů, která může vést k poškození okolních buněk a tkání reaktivními metabolity kyslíku a proteolytickými enzymy.

### 4.3 Komplement

Komplementový systém se skládá z různých plazmatických proteinů, kterých je kolem 30. Jednotlivé složky komplementového systému mezi sebou navzájem reagují. Hlavními funkcemi komplementového systému jsou opsonizace patogenů a indukce zánětlivé reakce. Při aktivaci komplementu dochází ke změnám (štěpení) jednotlivých složek a jejich interakcím s dalšími komplementovými

složkami. Komplement je inaktivován tepelnou denaturací svých složek.

Mezi základní složky komplementového systému patří proteiny označované jako C1 komplex (sestavující z podsložek q, r a s), C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8 a C9. Dále sem řadíme faktory B, D, H a I a properdin (P). Nedílnou součástí komplementového systému jsou i manózu vázající lektin (MBL) a s MBL asociované serinové proteázy (MASP-1 a MASP-2). Aktivované složky komplementu se obvykle značí vodorovnou čarou nad danou složkou nebo komplexe. Několik komplementových proteinů jsou proteázy, které samotné jsou aktivovány proteolytickým štěpením. Takovéto enzymy jsou nazývány zymogeny. Po enzymatickém štěpení jednotlivých složek se větší štěp obvykle váže na aktivační komplex nebo membránu cílové buňky a menší peptid je uvolněn do okolí. Pro větší peptidy je obvykle používáno označení „b“, zatímco pro menší peptid označení „a“.

Komplementová kaskáda může být aktivována jedním ze tří způsobů. Klasická cesta je aktivována vazbou C1q podsložky především na imunokomplexy antigen-protilátka, ale i vazbou na některé povrchové struktury bakterií (proteiny, polyanionické struktury) nebo vazbou na C-reaktivní protein (CRP, protein akutní fáze, který se váže na fosfocholinové zbytky bakteriálních polysacharidů). Lektinová cesta je iniciována vazbou MBL (sérový protein, jehož koncentrace vzrůstá v průběhu akutní fáze imunitní odpovědi) na povrchové struktury bakterií a virů, které obsahují manózu. Poslední, alternativní cesta, je aktivována vazbou spontánně aktivované složky C3 na povrch patogenu. Klasická cesta aktivace komplementu je tedy závislá na priláčkách, zatímco cesty lektinová a alternativní na protiláčkách závislé nejsou.

Při aktivaci klasické cesty komplementu je vazebným místem pro imunokomplexy antigen-protilátka C1q komplex se 6 hlavičkami, asociovaný s molekulami C1r a C1s. Po vazbě C1q komplexu dochází

k aktivaci podsložky C1r, následně podsložky C1s a ke štěpení složky C4. V případě aktivace lektinové cesty je analogem C1qrs komplexu manózu vázající lektin (MBL) s asociovanými molekulami serinových proteas (MASP-1 a MASP-2). Vazba manózu vázajícího lektinu na povrch patogenu vede k aktivaci asociovaných serinových proteas a následnému štěpení složky C4. Další aktivace je pro obě cesty společná. Fragment C4b se naváže na povrch patogenu, následně se pomocí komplexu C1qrs štěpí složka C2, přičemž fragment C2b se váže na fragment C4b. Komplex C4b2b se nazývá C3 konvertáza, která štěpí složku C3.

Alternativní cesta aktivace komplementu je spouštěna spontánním štěpením složky C3 hydrolýzou thioesterových vazeb za vzniku funkčně aktivní C3b fragment. Na ten se váže faktor B, který je následně štěpen faktorem D. Vzniká rozpustná C3 konvertáza, která štěpí další složky C3 na C3a a C3b. C3b se potom váže na povrch vlastních buněk nebo na povrch patogenu. Fragment C3b je na povrchu vlastních buněk rychle inaktivován, zatímco na povrchu patogenu se na komplex C3bBb váže properdin, který stabilizuje C3bBb konvertasovou aktivitu. C3bBb je ekvivalentem C4b2b klasické cesty aktivace komplementu.

Komplexy C4b2b3b (klasická a lektinová cesta aktivace) a C3b<sub>2</sub>Bb (alternativní cesta aktivace) jsou C5 konvertázy, štěpící C5 složku na fragmenty C5a a C5b. Na fragment C5b se následně váží složky C6 a C7. Vzniklý komplex C5b67 se váže na membránu patogenu a dále se na něho váží složka C8 a 1 – 16 molekul složky C9 za vzniku membrány atakujícího komplexu. Jednotlivé molekuly složky C9 vytváří v membráně cílových buněk póry. Funkčními projevy aktivovaného komplementového systému jsou usmrcení patogenu nebo cílové buňky, opsonizace patogenu (C4b, C3b) a jeho usnadněná fagocytóza a aktivace zánětlivých buněk (C5a, C3a, C4a). Fragmenty C5a, C3a a C4a jsou také označovány jako anafylatoxiny. Způsobují degranulaci žírných buněk, zvýšenou cévní permeabilitu a anafylaxi.

Fragment C5a také působí jako atraktant a aktivátor neutrofilů, vyvolává jejich agregaci,

stimulaci oxidativního metabolismu a uvolnění leukotrienů.

## 5 ANTIGENY

Jako antigeny označujeme látky, které je imunitní systém schopen rozpoznat a vytvářet proti nim jeden nebo více typů protilátek. Antigeny můžeme podle jejich velikosti rozdělit do 3 základních skupin. Nejmenším typem antigenů jsou antigenní determinanty (epitopy). To jsou vlastní struktury, které jsou specificky rozpoznávány vazebnými místy protilátek pro antigeny. Střední kategorií antigenů jsou tzv. hapteny, neboli nekompletní antigeny. Ty mohou na svém povrchu exprimovat více (i různých) epitopů, ale nejsou dostatečně velké na to, aby vyvolali tvorbu protilátek. Největším typem antigenů jsou kompletní antigeny (imunogeny), které se skládají z různých haptenu, navázaných na vysokomolekulární nosič. Tento typ antigenů je schopen vyvolat tvorbu specifických protilátek u hostitele. Každý imunogen může na svém povrchu nést různé epitopy, specificky rozpoznatelné různými protilátkami proti jednotlivým epitopům.

Antigeny můžeme charakterizovat různými fyzikálními, chemickými a biologickými vlastnostmi, které více či méně určují jejich schopnost vyvolat tvorbu protilátek. Z fyzikálních vlastností jsou to relativní molekulová hmotnost antigenů (tvorbu protilátek jsou schopny vyvolat pouze větší imunogeny), jejich rozpustnost (korpuskulární antigeny jsou obecně silnějšími imunogeny než rozpustné antigeny) a elektrický náboj (vůči nabitým antigenům vznikají opačně nabité protilátky).

Z chemických vlastností antigenů hrají důležitou úlohu jejich struktura a degradovatelnost. Jako antigeny působí polypeptidy (hormony, syntetické antigeny), proteiny (plazmatické proteiny, enzymy, mikrobiální proteiny), polysacharidy (kapsuly bakterií, syntetické polysacharidy), peptidoglykany (z buněčných stěn bakterií), glykoproteiny (imunoglobuliny, antigeny hlavního histokompatibilního komplexu,

antigeny krevních skupin), nukleoproteiny (chromatin, ribosomy), lipoproteiny (složky plazmatické a buněčné membrány), lipopolysacharidy (endotoxiny ze stěny Gram negativních bakterií).

Podle vztahu k danému organismu dělíme antigeny na exogenní (do těla se dostávají z vnějšího prostředí při poranění, požití nebo vdechnutí), endogenní (vzniklé ve vlastních buňkách v důsledku pozměněného buněčného metabolismu nebo virové či bakteriální infekce) a autoantigeny (antigeny organismu vlastní, které nejsou za normálních okolností imunitním systémem organismu rozpoznávány). Podle vzájemného vztahu dvou organismů rozlišujeme antigeny xenogenní (heterologní, pocházející z jiného biologického druhu), alogenní (homologní, pocházející od jiného jedince stejného biologického druhu) a izogenní (syngenní, pocházející od geneticky příbuzného jedince stejného biologického druhu, např. jednovaječná dvojčata nebo jedinci inbredních kmenů živočichů).

Zvláštní skupinou antigenů jsou nádorové antigeny, prezentované na povrchu nádorových buněk pomocí molekul hlavního histokompatibilního komplexu. Rozlišujeme antigeny specifické pro nádory a antigeny asociované s nádory. Antigeny specifické pro nádory jsou prezentované pouze nádorovými buňkami a vznikají nádorově specifickými mutacemi. Antigeny asociované s nádory jsou běžnější a jsou prezentovány nádorovými i normálními buňkami. Patří sem například onkofetální antigeny,  $\alpha$ -fetoprotein, nebo karcinoembryonální antigen.

Jako superantigeny označujeme takové bakteriální nebo virové antigeny, které způsobují nespecifickou aktivaci T-lymfocytů. K tomu dochází v důsledku nespecifické vazby superantigenu vně vazebného místa pro antigen na molekulách MHC 2. třídy na antigen prezentujících buňkách a receptoru pro antigen na

T-lymfocytech. V důsledku polyklonální aktivace (až každý pátý T-lymfocyt je aktivován) dochází k masivnímu uvolňování cytokinů (především TNF), což může vést až k septickému šoku.

## 5.1 Hlavní histokompatibilitní komplex

Molekuly hlavního histokompatibilitního systému rozdělujeme na klasické MHC 1. třídy (u člověka HLA-A, HLA-B, HLA-C), neklasické MHC 1. třídy (HLA-E, HLA-F, HLA-G) a molekuly MHC 2. třídy (HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP). Molekuly MHC 1. třídy jsou exprimovány na všech jaderných buňkách organismu, zatímco molekuly MHC 2. třídy jsou exprimovány pouze na specializovaných buňkách prezentujících antigen.

MHC molekuly 1. třídy jsou tvořeny jedním transmembránovým řetězcem  $\alpha$  se 3 doménami a asociovaným  $\beta_2$  mikroglobulinem. Vazebné místo pro antigen je tvořeno prvními dvěma doménami  $\alpha$  řetězce. Antigenní peptidy o délce 8 – 10 aminokyselin jsou do tohoto vazebného místa vázány pouze svými konci. MHC molekuly 2. třídy jsou tvořeny dvěma transmembránovými řetězci –  $\alpha$  a  $\beta$ . Vazebné místo pro antigen je tvořeno první doménou  $\alpha$  řetězce a první doménou  $\beta$  řetězce. Antigenní peptidy o délce 15 – 35 aminokyselin jsou do tohoto vazebného místa vázány po celé své délce.

Základní funkcí MHC molekul 1. třídy je vázat peptidové fragmenty produkované buňkou a prezentovat je cytotoxickým T-lymfocytům. Cytotoxické lymfocyty takto rozpoznávají např. virem infikované buňky a prostřednictvím svých cytotoxických mechanismů u nich vyvolávají apoptózu. Základní funkcí MHC molekul 2. třídy je vázat peptidové fragmenty pohlcené buňkou a prezentovat je pomocným T-lymfocytům. V případě intravesikulárních patogenů makrofágů dochází k prezentaci antigenů  $T_H1$  pomocným lymfocytům a k aktivaci mikrobicidních mechanismů

makrofágů. V případě extracelulárních patogenů jsou jejich antigeny prezentovány  $T_H2$  pomocným lymfocytům, které následně aktivují antigenně specifické B-lymfocyty k produkci protilátek.

## 5.2 Prezentace antigenů

Proteiny produkované buňkou jsou štěpeny v proteasomu na peptidové fragmenty, které jsou pomocí peptidové pumpy TAP transportovány z cytosolu do endoplazmatického retikula. Zde se váží do vazebného místa pro antigen na vznikající molekule MHC 1. třídy a prostřednictvím Golgiho komplexu a post-Golgiho váček jsou transportovány do buněčné membrány.

Patogeny pohlcené buňkou jsou usmrceny a degradovány ve fagolysosomu. Mezitím vzniká v endoplazmatickém retikulu molekula MHC 2. třídy s navázaným invariantním řetězcem, který brání vazbě antigenů produkovaných buňkou na molekulu MHC. V této formě je MHC molekula 2. třídy transportována přes Golgiho komplex do post-Golgiho váček, které posléze fúzí s fagolysosomem. Po této fúzi dochází k postupnému rozštěpení invariantního řetězce a k vazbě antigenního štěpu na molekulu MHC 2. třídy. Tímto způsobem prezentují antigeny T-lymfocytům tzv. antigen prezentující buňky, mezi které řadíme dendritické buňky (prezentují virové a bakteriální antigeny, zachycené na rozhraní tělních povrchů s vnějším prostředím), makrofágy (prezentují extracelulární a intravesikulární antigeny) a B-lymfocyty (prezentují např. mikrobiální toxiny).

Příkladem specializovaných dendritických buněk jsou Langerhansovy buňky, vyskytující se v pokožce. V případě poranění vycytávají antigeny (patogeny) v místě poškození a transportují je aferentními lymfatickými cévami do lymfatických uzlin, kde přenáší některé antigeny na rezidentní dendritické buňky. Dendritické buňky prezentují antigeny naivním T-lymfocytům a aktivují je. K této aktivaci je zapotřebí specifický signál

zprostředkovaný vazbou MHC molekuly s navázaným antigenem na T buněčný receptor (TCR), stabilizovanou molekulou CD4 na T-lymfocyty, a ko-stimulační signál. Ten je zprostředkován vazbou molekuly B7 na dendritické buňce a molekuly CD28 na T-

lymfocyty. Ko-stimulační signál indukuje u T-lymfocytů expresi molekuly CD152 (CTLA-4), která se rovněž váže na molekulu B7 na dendritické buňce a inhibuje tak nadměrnou proliferaci T-lymfocytů.

## 6 PROTILÁTKY

Protilátky (imunoglobuliny) jsou glykoproteiny, produkované diferencovanými B-lymfocyty, tzv. plazmatickými buňkami. Jsou zodpovědné za specifickou humorální imunitu a jsou schopny vázat nekonečné množství specifických antigenů (včetně proteinů, sacharidů, glykoproteinů, polysacharidů, nukleových kyselin a lipidů).

Základní monomerní molekula imunoglobulinu má tvar písmene „Y“ a je tvořena dvěma identickými těžkými a dvěma identickými lehkými řetězci, navzájem propojenými pomocí disulfidických můstků. Lehké řetězce jsou tvořeny 215 aminokyselinami a mají relativní molekulovou hmotnost 23 kDa. Rozeznáváme 2 typy, označované jako  $\kappa$  (asi 2/3 lehkých řetězců u člověka) a  $\lambda$  (asi 1/3 lehkých řetězců u člověka). Každý lehký řetězec je tvořen 2 doménami. Těžké řetězce jsou tvořeny 440 – 450 aminokyselinami a mají různou molekulovou hmotnost. Rozeznáváme 5 typů těžkých řetězců:  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\epsilon$ . Každý těžký řetězec je tvořen 4 ( $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\alpha$ ) nebo 5 ( $\mu$ ,  $\epsilon$ ) doménami. Mezi druhou a třetí doménou těžkých řetězců se nachází pantová oblast, která molekulám imunoglobulinů skýtá určitou flexibilitu v otevírání a svírání ramen s vazebnými místy pro antigen.

Molekulu imunoglobulinů můžeme experimentálně štěpit pomocí papainu a pepsinu. Štěpení papainem v pantové oblasti nám skýtá 2 Fab fragmenty (první 2 domény těžkých řetězců s lehkými řetězci, fragment zachovávající si schopnost vázat antigen, tzn. obsahující vazebné místo pro antigen) a 1 Fc fragment (zbylé 2 – 3 konstantní domény těžkých řetězců). Ke štěpení pepsinem dochází těsně pod pantovou oblastí nebo v různých místech třetí domény těžkých řetězců a poskytuje jeden  $F(ab')_2$  fragment (první 2 domény těžkých řetězců s lehkými řetězci a pantová oblast, obsahuje 2 vazebná místa pro antigen) a jeden pFc' fragment o různé délce.

První doména těžkých i lehkých řetězců se nazývá variabilní, všechny ostatní domény těžkých i lehkých řetězců se nazývají konstantní. Variabilní domény jsou tvořeny 3 hypervariabilními úseky (oblastmi určujícími komplementárnost) a 4 kostrovými oblastmi. U hypervariabilních úseků je v porovnání s ostatními úseky vysoká variabilita aminokyselin. Hypervariabilní úseky jednoho těžkého a jednoho lehkého řetězce tvoří vždy jedno vazebné místo pro antigen na každém rameni imunoglobulinu.

Podle toho, jaký typ těžkých řetězců molekula imunoglobulinu obsahuje, dělíme protilátky do pěti izotypových tříd: IgG, IgM, IgD, IgA a IgE. Protilátky IgG, IgD a IgA mají vždy 4 domény těžkých řetězců, protilátky IgM a IgE vždy 5 domén těžkých řetězců. Sekretované protilátky IgM tvoří pentamery, kdy je 5 monomerních imunoglobulinů spojeno tzv. spojovacím (J) řetězcem. Sekretované protilátky IgA tvoří dimery, kdy jsou 2 monomerní molekuly imunoglobulinů opět spojeny spojovacím řetězcem a obsahují navíc tzv. sekreční komponentu. U protilátek IgM rozeznáváme ještě 4 podtřídy a u protilátek IgA 2 podtřídy, označované arabskými číslicemi. Protilátky stejných izotypových tříd u různých jedinců se liší aminokyselinovou sekvencí ve svých konstantních doménách těžkých i lehkých řetězců – takovéto rozdílné protilátky nazýváme jako allotypy. Pokud se protilátky různých jedinců liší v uspořádání svých variabilní domén, nazýváme takovéto protilátky jako idiotypy.

Protilátky IgG jsou hlavní částí sérových imunoglobulinů a jsou zodpovědné za podstatnou část protilátkových aktivit. Uplatňují se především při opakované imunizaci stejným antigenem. Tyto protilátky také představují hlavní protiinfekční ochranu novorozenců, protože se nacházejí v mateřském mléce.



Protilátky IgM jsou prvními imunoglobuliny, které se vyskytují ve fylogenezi obratlovců i ontogenezi jedince. Vznikají ve větší míře po prvním kontaktu s určitým antigenem a účinně především proti korpuskulárním antigenům. Tyto imunoglobuliny také tvoří membránový receptor B-lymfocytů pro antigen.

Protilátky IgA se vyskytují ve formě sérového a sekrečního (ve slinách, slzách, nosním sekretu, potu, kolostru, plicním sekretu, urogenitálním a gastrointestinálním traktu) imunoglobulinu. Jejich hlavní funkcí je ochrana sliznic a tělních povrchů.

Protilátky IgD se nachází v cytoplazmatické membráně B-lymfocytů, ale v daleko menší míře, než protilátky IgM. Jejich protilátková aktivita je v porovnání s ostatními izotypovými třídami protilátek slabá.

Protilátky IgE se v séru vyskytují v nejnižší koncentraci ze všech izotypových tříd protilátek a mají také nejkratší biologický poločas rozpadu. Protilátky IgE se váží na žírné buňky (mastocyty) a bazofily prostřednictvím Fcε receptorů a podílí se na rozvoji alergických reakcí časného typu. Původní biologická funkce této třídy protilátek je nejasná, podíleli se snad na ochraně proti mnohobuněčným parazitům.

Vysoká variabilita protilátek je dána uspořádáním genů pro imunoglobuliny. Ty sestávají z mnoha V (65), D (27) a J (6) genových segmentů pro variabilní oblasti těžkých řetězců a genových segmentů pro konstantní oblasti jednotlivých izotypových tříd a podtříd. Nejprve dochází k přeskupení dvou náhodně vybraných segmentů D a J, přičemž všechny ostatní D a J segmenty mezi těmito dvěma vybranými segmenty jsou vystřiženy. Následně dochází k podobnému přeskupení mezi vzniklým DJ kompletem a náhodně vybraným V segmentem. Primární mRNA vždy obsahuje rekombinovanou VDJ oblast a segmenty pro konstantní oblast těžkých řetězců C $\mu$  a C $\delta$ . Podobně dochází k přeskupování genů pro lehké řetězce s tím

rozdílem, že tyto geny neobsahují žádné D segmenty.

Mechanismus, který B-lymfocyty využívají ke změně izotypu produkovaných protilátek, se nazývá izotypový přesmyk. Dochází k němu pouze u aktivovaných B-lymfocytů. V reakci na signály z prostředí a okolních buněk dojde k deaminaci cytosinu na uracil v cílových oblastech. Nekomplementární uracil je rozpoznán a při působení DNA opravných mechanismů může dojít k vytvoření dvouvláknových zlomů před aktuálním C segmentem (většinou C $\mu$ ) a cílovým C segmentem. Repetitivní oblasti před C segmenty spolu rekombinují a úsek DNA mezi nimi je vyštěpen ve formě kruhové molekuly. Nyní po segmentech pro variabilní část těžkého řetězce následuje již cílový C segment a B-lymfocyt vytváří žádaný izotyp.

Každý B-lymfocyt produkuje současně pouze jeden typ těžkého a jeden typ lehkého řetězce. Jakmile proběhne úspěšná přestavba genových segmentů pro imunoglobulinový řetězec na jednom chromozomu, zastaví se další pokusy o přestavbu genových segmentů na druhém chromozomu. Tento jev se nazývá alelická exkluze a platí pro těžké i lehké řetězce imunoglobulinů.

Každý B-lymfocyt exprimuje pouze protilátky specifické pro jeden epitop a pokud se dále dělí, nepostupuje další V/J nebo V/D/J přeskupování. B-lymfocyt a jeho potomstvo jsou identičtí ve své antigenní specifitě a v izotypu lehkého řetězce. Tento jev se nazývá klonální restrikce.

Protilátky jsou přímo protektivní, pokud inhibují vazbu mikroorganismu nebo mikrobiálního toxinu na odpovídající buněčný receptor (neutralizace). Protilátky nepůsobí v izolaci, ale úzce spolupracují s jinými složkami imunitního systému. Dalšími funkcemi protilátek jsou opsonizace cizorodého materiálu (usnadněná fagocytóza cizorodého materiálu profesionálními

fagocyty) a aktivace komplementu (usnadněná fagocytóza, lýze bakterií).

Protilátky jsou rovněž zodpovědné za buňkami zprostředkovanou cytotoxicitu závislou na protilátkách. V takovém případě se protilátky naváží na povrchové antigeny cílové buňky a jsou rozpoznány Fc receptory na NK buňkách. Po přemostění jednotlivých Fc receptorů na NK buňkách dojde k jejich aktivaci a indukci apoptózy u cílové buňky.

## 6.1 Reakce antigen-protilátka

Síla reakce mezi jednotlivou antigenní determinantou a jednotlivým vazebným místem protilátky se označuje jako afinita. Avidita vyjadřuje celkovou sílu vazby mezi kompletním antigenem s mnoha antigenními determinantami a multivalentními protilátkami. Jako specifita se označuje schopnost jednotlivé protilátky a jejího vazebného místa reagovat pouze s jednou určitou antigenní determinantou. V případě velice si strukturně podobných antigenních determinant může docházet ke křížové reaktivitě, kdy jednotlivá protilátka může reagovat s více než jednou antigenní determinantou.

Imunitní systém každého jednotlivce odpovídá produkcí protilátek odlišně při prvním a opakovaném setkání s daným antigenem.

Primární protilátková odpověď proti danému antigenu se objevuje 3 – 4 dny po imunizaci. Je lokalizována v sekundárních lymfatických orgánech. Jako první se tvoří protilátky IgM s relativně nízkou afinitou k antigenu a hlavním cílem je účinně blokovat rozšiřování antigenu v organismu. Teprve později se začínají tvořit protilátky IgG a přebírají hlavní protilátkovou aktivitu. Imunokomplexy antigen-protilátky jsou uchovávány v lymfatických uzlinách na folikulárních dendritických buňkách v primárních lymfoidních folikulech velmi dlouho a opětovně stimulují B-lymfocyty. Dochází ke klonální expanzi buněk primárně stimulovaných antigenem.

Při opakovaném setkání s antigenem dochází k rozpoznání antigenů v imunokomplexech na folikulárních dendritických buňkách v primárních lymfatických folikulech společně se signálováním z  $T_H$ -lymfocytů. Dochází k novému dělení a diferenciaci B-lymfocytů společně s mutacemi ve V genovém segmentu pro těžké i lehké řetězce. Přežívají pouze B-lymfocyty s velmi silnou afinitou k antigenu, buňky se slabou afinitou k antigenu (neproduktivní mutace) hynou v důsledku rostoucího výběru a soutěže buněk, protože klesá množství dostupného antigenu na folikulárních dendritických buňkách. K těmto reakcím dochází v sekundárních lymfoidních folikulech v germinálních centrech. Sekundární protilátková odpověď je v porovnání s primární protilátkovou odpovědí daleko rychlejší a intenzivnější. Vznikají především protilátky IgG s vyšší afinitou (o 4 – 6 řádů) než při IgM při primární odpovědi.

Tvorba protilátek je regulována přítomností a intenzitou katabolismu antigenů, pozitivními signály od  $T_H$ -lymfocytů a antigen prezentujících buněk, přítomností anti-idiotypových protilátek a negativními signály od  $T_{reg}$ -lymfocytů.

## 6.2 Monoklonální protilátky

Monoklonální protilátky jsou protilátky produkované jediným klonem B-lymfocytů, uměle vytvořeným hybridizací B-lymfocytů s určitou antigenní specifitou (tzn. vytvářejí protilátky se stejnou antigenní specifitou) a nádorových buněk (jsou „nesmrtelné“). Použité nádorové buňky jsou deficientní na enzym hypoxantin-guanin fosforibosyltransferáza. Při následné kultivaci v HAT mediu (obsahuje hypoxanthin, aminopterin a thymidin) přežívají pouze úspěšně hybridizované buňky, zatímco nehybridizované B-lymfocyty a nádorové buňky hynou.

Monoklonální protilátky mají široké uplatnění v experimentální práci a v diagnostice (metody průtokové cytometrie, ELISA) i při léčbě

některých onemocnění (protilátky anti-IgE, anti-TNF- $\alpha$ , anti-CD3).

## 7 KOMUNIKACE BUNĚK IMUNITNÍHO SYSTÉMU

Buňky včetně buněk imunitního systému komunikují se svým okolím prostřednictvím receptorů na membráně, které rozpoznávají extracelulárně přítomné molekuly – ligandy. Ligandy mohou být rozpustné (např. cytokiny) nebo nerozpustné (např. struktury na povrchích jiných buněk nebo mezibuněčné hmoty). Jiné signální molekuly přecházejí přes cytoplazmatickou membránu a váží se na receptory v cytosolu nebo v jádře (např. steroidní látky).

### 7.1 Buněčné receptory

Buněčné receptory mohou být spřažené s enzymy nebo přímo mít enzymovou funkci (např. proteinové kinázy jako součást receptorů nebo jako asociované s receptory), spřažené s G-proteiny nebo mít povahu iontových kanálů. Po vazbě ligandu na receptor a přenosu signálu přes cytoplazmatickou membránu je signál v cytoplasmě dále přenášen pomocí druhých posílů (malé molekuly produkované enzymatickými reakcemi nebo uvolňované iontovými kanály) na efektorové proteiny, kterými mohou být enzymy (dochází ke změnám v metabolismu buňky), transkripční faktory (mění se exprese dotčených genů) nebo proteiny cytoskeletu (dochází ke změnám ve tvaru nebo pohyblivosti buňky).

Mezi základní mechanismy intracelulárního přenosu signálu u buněk imunitního systému patří změna proteinové konformace, fosforylace a defosforylace proteinů a záměna GDP za GTP.

Proteinové kinázy jsou aktivovány vazbou ligandu na receptor. Následně pak aktivují další intracelulární signální dráhy. Některé receptory mají ve své cytoplazmatické části doménu s přímou proteinázovou aktivitou, jiné receptory mají intracelulární domény asociované s cytoplazmatickými proteinovými kinázami. Proteinové kinázy se podílí na přenosu signálu prostřednictvím regulace stupně fosforylace cílových molekul. Při

fosforylaci dochází k navázání fosfátové skupiny díky aktivitě specifických proteinových kináz, může být jak aktivační, tak inhibiční. Při defosforylaci dochází k odštěpení fosfátové skupiny pomocí specifických fosfatáz, může být opět aktivační i inhibiční.

Přenos signálu pomocí receptorů spřažených s G-proteiny je jedním z nejrozšířenějších příkladů přenosu signálu přes buněčnou membránu. Po vazbě ligandu na receptor na vnější straně membrány je na druhé straně membrány aktivován G-protein záměnou GDP za GTP. G-protein se odloučí od receptoru, putuje cytolem a aktivuje zpravidla jiný enzym.

Důležitým principem v buněčném signálování je změna intracelulární koncentrace vápenatých iontů. Působením druhých posílů, hlavně inositoltrifosfátu (IP<sub>3</sub>), dochází k otevírání iontových kanálů a zvýšení cytoplazmatické koncentrace Ca<sup>2+</sup>. Fosfolipáza C gamma (PLC-γ) štěpí fosfatidylinositolbisfosfát (PIP<sub>2</sub>) na diacylglycerol (DAG) a IP<sub>3</sub>. IP<sub>3</sub> otevírá vápníkové kanály uvolňující Ca<sup>2+</sup> z endoplazmatického retikula a extracelulárního prostoru. Ty se váží na protein kalmodulin, dochází ke změně konformace kalmodulinu a vytvoření aktivního místa pro vazbu substrátu. Celý komplex kalmodulin/Ca<sup>2+</sup> se váže na regulační proteiny (např. proteinové kinázy) a mění jejich aktivitu. DAG aktivuje proteinkinázu C (PKC).

Povrchové receptory buněk imunitního systému dělíme podle funkce na imunoreceptory (receptory lymfocytů, NK buněk a žírných buněk), receptory prezentující antigen (MHC receptory), Fas receptory, receptory rozpoznávající struktury charakteristické pro patogeny a poškozené buňky (PRR – Pattern Recognition Receptors) a a dheziny (adherence a migrace buněk), které dále dělíme na integriny, selektiny, adheziny

patřící do velké rodiny imunoglobulinů, cadheriny a mucinové receptory.

### 7.1.1 Imunoreceptory

Imunoreceptory jsou multiproteinové komplexy klonálně variabilních řetězců vážících antigen (TCR a BCR) nebo protilátku (FcR) a invariantních přídavných řetězců zajišťujících signální funkce. Tyto přídavné řetězce obsahují ITAM (Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif) sekvence s funkčně důležitými tyrosinovými zbytky. Po vazbě ligandu na imunoreceptor tyto receptory migrují do lipidových raftů a agregují. Dojde ke zvýšení aktivity asociovaných proteinových kináz (u antigenních receptorů se jedná o rodinu tyrosinových kináz Src), fosforylaci sekvencí ITAM a následně aktivaci dalších signálních drah v buňce, které se projevují změnou transkripce genů, stavby cytoskeletu, sekrece látek apod. K návratu do původního stavu dochází defosforylací signálních molekul protein fosfatázami.

**Lipidové rafty** jsou nezbytné pro signálování TCR, BCR a FcR. Jde o specializované oblasti buněčných membrán, bohaté na nasycené lipidy a cholesterol. Hojně se zde vyskytují proteiny vázající glykosylfosfatidylinositol (GPI) a proteinové kinázy (např. Src-rodiny). Lipidové rafty velmi dynamicky mění strukturu a obsah proteinů. Některé typy receptorů po navázání ligandu migrují do těchto lipidových raftů a agregují zde.

Komplex **T-buněčného receptoru** se skládá z vlastního TCR (typické jsou řetězce  $\alpha$  a  $\beta$ , slouží k rozpoznání antigenu), asociovaného s molekulami CD3 a řetězci  $\zeta$  (obsahují ITAM sekvence, slouží k přenosu signálu do buňky). Navázání receptoru na antigen, prezentovaný MHC, vede k vazbě koreceptoru (např. CD4) na MHC a indukci fosforylace ITAM sekvencí kinázami Lck a Fyn (tyrosin kinázy ze Src rodiny). Na fosforylované ITAM sekvence se váže kináza ZAP-70 (tyrosin kináza ze Syk rodiny) a je následně sama fosforylována a aktivována.

Membránový **receptor B-lymfocytů** je tvořen především membránovým imunoglobulinem IgM (v menší míře i IgD), asociovaným s přídavnými řetězci  $\alpha$  a  $\beta$ , obsahujícími ITAM sekvence. Po vazbě antigenu na IgM dojde k indukci shlukování receptorů, které umožňuje kinázám asociovaným s těmito receptory (Src kinázy) fosforylovat ITAM sekvence. Na fosforylované sekvence ITAM se váže Syk kináza a je tím aktivována.

### 7.1.2 Fas receptory

Nepotřebné lymfocyty jsou odstraňovány apoptózou, která je indukována navázáním Fas ligandu (člen rodiny TNF cytokinů) na receptor Fas (rodina TNF receptorů) na povrchu lymfocytů. Dochází ke konformační změně Fas receptoru, který následně váže domény adaptorových proteinů. Adaptorové proteiny aktivují kaspázu 8, která následně aktivuje kaspázu 3. Kaspáza 3 štěpí další regulační proteiny, což vede k indukci apoptózy u cílové buňky.

### 7.1.3 PRR receptory

Receptory rozpoznávající struktury charakteristické pro patogeny a poškozené buňky dělíme na receptory rozpoznávající konzervované molekulární vzory asociované s patogeny (PAMPs, Pathogen-Associated Molecular Patterns) a receptory rozpoznávající konzervované molekulární vzory asociované s poškozenými hostitelskými (vlastními) buňkami (DAMPs, Damage-Associated Molecular Patterns). Mezi typické PAMP molekuly patří bakteriální sacharidy (lipopolysacharidy - LPS, lipoteichoová kyselina, manóza), bakteriální proteiny a peptidy (flagelin, N-formylmethioninefenylalanin), glukany hub (chitin), nukleové kyseliny (bakteriální DNA – nemetylované CpG dinukleotidy, virová dvouvláknová RNA - dsRNA). K typickým DAMP molekulám řadíme intracelulární proteiny (proteiny tepelného šoku - Hsp), komponenty extracelulární matrix (např.

fragmenty hyaluronanu), kyselinu močovou, ATP, DNA aj.

PRR receptory dělíme podle specificity ligandu a podle umístění na membránově vázané a cytoplazmatické receptory. Mezi membránově vázané (jak na povrchu buňky, tak v endosomech) PRR řadíme Toll-like receptory (TLR) a C-lektinové receptory (CLR). Mezi cytoplazmatické PRR receptory patří NOD-like receptory (NLR) a RIG-I-like receptory (RLR).

**Toll-like receptory** byly poprvé objeveny u octomilek (produkty genu *Toll* regulují ontogenetický vývoj a obranu). Podobné struktury byly postupně identifikovány i u vyšších rostlin, bezobratlých živočichů a obratlovců včetně člověka. U člověka bylo dodnes popsáno 10 funkčních členů TLR rodiny. Řetězce TLR jsou složeny z jednotlivých domén bohatých na leucin. Aktivace TLR je spojena s tvorbou dimerů, která spouští specifické signální dráhy.

Typickým příkladem receptorů TLR rodiny je receptor TLR4 vázající bakteriální LPS. Rozpoznání LPS vyžaduje interakci i dalších proteinů – LBP, CD14 aj. Aktivace TLR4 vede k asociaci intracelulárních domén s různými adaptorovými molekulami. Intracelulární signalizace závislá na adaptorové molekule MyD88 vede především k aktivaci MAP-kinázové dráhy a transkripčního faktoru NF- $\kappa$ B a následné indukci sekrece prozánětlivých cytokinů a kostimulačních molekul. Signalizace závislá na adaptorové molekule TRIF vede zejména k indukci interferonu  $\alpha$  a  $\beta$ .

**C-lektinové receptory** představují velkou skupinu membránově vázaných i solubilních receptorů s jednou a více C-lektinovými doménami. Rozpoznávají různé cizorodé struktury (např. manózu, fukózu a glukany) i nově exprimované povrchové antigeny vlastních poškozených či pozměněných buněk (např. onkofetální antigen). Mezi C-lektinové receptory řadíme např. manózový receptor (nachází se na povrchu makrofágů nebo

dendritických buněk, rozpoznává a váže opakujících se sekvence manózových jednotek na povrchu mikrobů), manózu vázající lektin (MBL, rozpustný, klíčový v aktivaci komplementu), dectin1 a dectin2 (na povrchu dendritických buněk, rozpoznává beta glukany kvasinek a plísní) a galaktózový receptor (rozpoznává galaktózové zbytky na stárnoucích erytrocytech).

**NOD-like receptory** (NLR, Nucleotide-binding Oligomerization Domain-like receptors) jsou intracelulárními sensory bakteriální infekce a poškození buněk. Jsou lokalizovány v cytosolu a rozpoznávají fragmenty peptidoglykanů z buněčné stěny bakterií. NOD1 rozpoznává  $\gamma$ -glutamyl-diaminopimelovou kyselinu, produkt rozpadu peptidoglykanů  $G^-$  bakterií (*Salmonella*) nebo  $G^+$  bakterií (*Listeria*). NOD2 rozpoznává muramyl-dipeptid (součást peptidoglykanů většiny bakterií). V neaktivním stavu se NOD proteiny vyskytují v cytosolu v podobě monomerů. Po rozpoznání ligandu dochází k jejich konformační změně a oligomerizaci. Typická je pro signálování NOD-like receptory aktivace dráhy NF- $\kappa$ B a indukce zánětlivé odpovědi.

**RIG-I-like receptory** (RLR) jsou RNA helikázy rozpoznávající cytoplazmatickou virovou RNA, jednovláknovou (ssRNA) i dvouvláknovou (dsRNA) RNA. RIG-I je exprimován v mnoha různých tkáních a buněčných typech, kde rozpoznává intracelulární RNA viry. Rozlišuje virovou a hostitelskou RNA na základě odlišnosti 5'konců RNA transkriptů. V neaktivní (autoinhibiční) konformaci se RIG-I vyskytuje v cytoplasmě. Po vazbě virové RNA dochází ke konformační změně, aktivaci dráhy NF- $\kappa$ B a spuštění antivirového programu buňky - produkci prozánětlivých cytokinů a interferonů typu I. RLR často interagují s TLR při regulaci adaptivní imunitní odpovědi.

**fMLP** (N-formylmethionyl-leucyl-phenylalaninereceptor) **receptor** 1 je exprimován především na fagocytech.

Rozpoznává fMLP uvolňovaný z invadujících mikroorganismů a poraněných tkání. Stimuluje leukocyty k destrukci patogenu nebo odstranění zbytků zničených tkání.

**Scavengerové receptory** jsou přítomné na membránách makrofágů. Rozeznávají zejména modifikované lipoproteiny. Uplatňují se v iniciaci procesu fagocytózy patogenů, ale také apoptotických buněk.

Dalšími PRR receptory jsou např. receptory pro různé plazmatické proteiny. Zahrnují receptory pro skupinu pentraxinů (do ní patří např. C-reaktivní protein) nebo receptory bohaté na leucin (např. CD14 vážící LPS).

#### 7.1.4 Adheziny

Jako adheziny označujeme receptory primárně zodpovědné za adhezenci a migraci buněk.

Tab.: Vybrané integriny

Skupina	Řetězce	Zástupci	Ligandy
β1 integriny	β1 + α1-α7	VLA (Very Late Antigens)	kolagen, fibronectin, laminin
B2 integriny	β2 + různé α řetězce	Leu-CAM (Leukocyte Cell Adhesion Molecule), LFA-(Lymfocyte Function-associated Antigen 1)	ICAM-1, -2 a -3, fibrinogen
B3 integriny	B3 + různé α řetězce	cytoadhesiny	von Willebrandtův faktor, vitronektin, fibrinogen

**Selektiny** se vyskytují na krevních a endoteliálních buňkách u obratlovců. Na povrchu buněk jsou často exprimovány pouze přechodně v závislosti na aktivaci buněk. Extracelulární část selektinové molekuly končí lektinovou doménou rozeznávající specifické sacharidové struktury, např. glykoproteinů. P-selektin je exprimován na aktivovaných trombocytech a endoteliích. E-selektin se nachází na aktivovaných endoteliálních buňkách. Jejich hlavní funkcí je zpomalovat leukocyty, což předchází jejich pevnému přichycení na endotel - tzv. rolování leukocytů. L-selektin se vyskytuje na leukocytech. Zprostředkovává vazbu leukocytů k endotelu postkapilárních žilek.

Řadíme mezi ně integriny, selektiny, adheziny patřící do velké rodiny imunoglobulinů, cadheriny a mucinové receptory.

**Integriny** jsou membránově vázané molekuly, skládající se ze 2 podjednotek, vzájemné kombinace různých typů α (10) a β (8) podjednotek. Ligandy integrinů jsou primárně proteiny mezibuněčné hmoty nebo membránové glykoproteiny. Aktivita integrinů je regulována povrchovou expresí integrinů (počtem integrinů na povrchu buněk), konformačním stavem integrinů (regulace vazbou Ca<sup>2+</sup> a Mg<sup>2+</sup>). V klidovém stavu jsou nízko afinitní, v aktivovaném stavu vysoko afinitní.

**Adheziny patřící do velké rodiny imunoglobulinů** jsou exprimovány na většině buněk v organismu. Během aktivace endoteliálních buněk se objevují později než selektiny a umožňují migraci leukocytů přes endotel. Základem jejich struktury je jedna nebo více imunoglobulinových domén. Tvoří velké množství typů s rozdílnými funkcemi. Vybranými adheziny této skupiny jsou ICAM-1 (InterCellular Adhesion Molecule), ICAM-2, VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule). Jsou to ligandy leukocytárních integrinů a jsou exprimovány na monocytech a aktivovaných endoteliálních buňkách.

**Cadheriny** jsou exprimovány na různých buněčných typech v organismu. Uplatňují se ve vzájemných kontaktech stejných buněčných

populací, ale také mezi leukocyty a endotelem. Vyskytují se většinou ve formě dimerů řetězců s 5 opakujícími se doménami. Např. E-cadherin zprostředkovává interakce mezi jednotlivými endoteliálními buňkami.

**Muciny** jsou silně glykosylované proteiny, vyskytující se membránově vázané, ale i sekretované do extracelulárního prostoru. Některé muciny fungují jako ligandy selektinů. Řadíme sem např. molekuly CD34 (exprimována na raných vývojových stádiích leukocytů a na endoteliálních buňkách) a CD43 (exprimována na leukocytech).

## 7.2 Cytokiny

Cytokiny jsou nízkomolekulární látky (~25 kDa), zejména proteiny, peptidy a glykoproteiny. V dnešní době jsou známy desítky cytokinů a neustále jsou popisovány nové. Jejich tvorba je regulována časově a místně. Jsou produkovány buňkami specifické i nespecifické imunity a jsou propojeny do jakési sítě – zprostředkovávají komunikaci mezi buňkami imunitního systému navzájem, ale i buňkami imunitního systému a ostatními buňkami organismu. Moduluje aktivitu a funkce buněk – ovlivňují průběh imunitních a zánětlivých reakcí (mají stimulační i inhibiční účinky), ale i jiné fyziologické a patofyziologické procesy v buňkách. Cytokiny nejsou antigeenně specifické.

Cytokiny působí prostřednictvím vysokoafinitních receptorů a díky tomu jsou účinné v extrémně nízkých koncentracích (řádově pM). Odpověď buňky na cytokin je závislá na koncentraci cytokinu v okolí a na míře exprese receptoru pro daný cytokin. Na cytokin může odpovídat stejná buňka, která ho vyprodukovala (autokrinní reakce), okolní buňka (parakrinní reakce) nebo vzdálená buňka (endokrinní reakce), čímž se cytokiny podobají klasickým hormonům. Většina reakcí imunitní odpovědi, závislých na cytokinech, probíhá kaskádovitě (změny v aktivitě určitého cytokinu se projevují ve změně aktivity dalších cytokinů). Stejný cytokin může působit na různé

buňky (pleiotropismus), stejný efekt může být vyvolán více různými cytokiny (redundance - nahraditelnost) a efekty různých cytokinů se mohou vzájemně násobit nebo potlačovat (synergismus a antagonismus).

Mezi základní funkce cytokinů patří regulace imunitní odpovědi (imunostimulace nebo imunosuprese) a zánětlivé reakce, chemotaxe (stimulovaný a usměrněný aktivní pohyb buněk, zejména fagocytů, ve směru nebo proti směru koncentračního gradientu chemotaktického faktoru), regulace hematopoézy v kostní dřeni, regulace angiogeneze (angiogenní a angiostatické faktory), embryogeneze aj.

Cytokinový systém je vysoce komplexní. Z toho vyplývá jejich nejednoznačná klasifikace a více způsobů třídění cytokinů, např. podle funkce nebo podle struktury. Mezi hlavní skupiny cytokinů patří interleukiny (IL), chemokiny, interferony (IFN), faktory nekrotizující nádory (TNF, Tumor Necrosis Factor), transformující růstové faktory (TGF, Transforming Growth Factor) a faktory stimulující růst kolonií (CSF, Colony Stimulating Factor).

**Interleukiny** regulují především různé aspekty vývoje a aktivace leukocytů.

**Chemokiny** jsou malé peptidy (<100 aminokyselin, 7-16 kDa), dělí se do čtyř podskupin podle umístění cysteinu v polypeptidovém řetězci na C, CC, CXC a CX3C chemokiny. Jsou to silné chemoatraktanty.

**Interferony** interferují s virovou a bakteriální infekcí, ale i s nádorovým bujením.

**Faktory nekrotizující nádory** mají cytotoxické a cytostatické efekty na nádorové buňky a silné prozánětlivé a proapoptotické účinky. TNF- $\alpha$  má silné prozánětlivé účinky a aktivuje endotel. Fas ligand indukuje apoptózu a cytotoxicitu nezávislou na vápenatých iontech. Molekula Trail vyvolává apoptózu



aktivovaných T-lymfocytů, nádorových buněk a buněk infikovaných virem.

Tab: Vybraní zástupci interleukinů

Interleukin	Producenti	Funkce
IL-1	Makrofágy, epiteliální buňky	Aktivace monocytů, makrofágů, neutrofilů a T-lymfocytů, pyrogen
IL-2	T-lymfocyty	Proliferace a diferenciaci T-lymfocytů
IL-3	T-lymfocyty, stromální buňky	Synergistická aktivita v rané hematopoéze
IL-4	T-lymfocyty, žírné buňky	Aktivace B-lymfocytů, indukce izotypového přesmyku na IgE, indukce diferenciaci T <sub>H</sub> 2-lymfocytů, inhibice T <sub>H</sub> 1-lymfocytů a makrofágů
IL-6	T- a B-lymfocyty, makrofágy, endotel	Aktivace monocytů, makrofágů a neutrofilů, indukce syntézy proteinů akutní fáze, pyrogen, proliferace a diferenciaci T- a B-lymfocytů
IL-10	Makrofágy, dendritické buňky, T- a B-lymfocyty	Silná inhibice funkcí makrofágů

**Transformující růstové faktory** regulují tumorogenezi, embryonální vývoj, proces hojení poškozených tkání a imunitní odpověď. TGF- $\alpha$  stimuluje mitózu, hojení ran a zánětlivé procesy. TGF- $\beta$  inhibice mitózy, izotypový přesmyk na IgA, má protizánětlivý účinek a reguluje angiogenezi.

**Faktory stimulující růst kolonií** regulují diferenciaci, proliferaci a maturaci hematopoietických progenitorových buněk, ale také funkční aktivitu zralých buněk. GM-CSF stimuluje diferenciaci buněk myeloidní linie, M-CSF diferenciaci monocytů a G-CSF diferenciaci granulocytů.

Cytokiny působí pouze na buňky exprimující odpovídající receptor. Exprese **receptorů pro cytokiny** se velmi dynamicky mění s aktivací buněk.

Přenos signálu z interleukinových receptorů je zprostředkován Janus kinázami (JAK), vážícími se na cytoplazmatické domény interleukinových receptorů spolu s transkripčními faktory STAT. Vazba cytokinu dimerizuje receptor, JAK se dostávají do kontaktu, vzájemně se aktivují a fosforylují receptor. Transkripční faktory (STATs) se váží k fosforylovanému receptoru a jsou samy fosforylovány Janus kinázami. Fosforylované

STATs tvoří dimery, které se translokují do jádra a iniciují genovou transkripci.

Chemokinové receptory jsou velké transmembránové proteiny se 7 transmembránovými doménami. Váží nejen chemokiny, ale i jiné molekuly, např. bakteriální peptidy obsahující aminokyselinu N-formyl-methionin (např. fMLP). Signální transdukce tohoto receptoru vede přes trimerní G-proteiny. V závislosti na typu chemokinu a receptoru vede aktivace receptoru k polymerizaci aktinu, adhezi buněk, změně tvaru buněk, chemotaxi, aktivaci NADPH oxidázy, degranulaci a usmrcení intracelulárních patogenů.

Trimerní G-protein je intracelulární signální molekula zprostředkovávající přenos signálu pro celou řadu receptorů leukocytů včetně chemokinových receptorů. V neaktivní formě váže G-protein GDP a jeho podjednotky  $\alpha$  a  $\beta\gamma$  jsou pohromadě. Po vazbě chemokinu se G-protein váže na chemokinový receptor a GDP je zaměněno za GTP. G-protein disociuje od chemokinového receptoru a disociuje také  $\alpha$  a  $\beta\gamma$  podjednotky, které pak aktivují další proteiny. Hydrolýza GTP na GDP umožní  $\alpha$  podjednotce opětovné spojení s  $\beta\gamma$  podjednotkami do neaktivního komplexu.

Odpověď buněk na cytokiny může být regulována 2 způsoby. Jedním z nich je přítomnost solubilních receptorů pro cytokiny, které jsou uvolňovány z povrchů buněk odloučením od jejich transmembranových a cytoplazmatických domén. Uvolněné receptory se váží na cytokiny v plasmě a extracelulárních tekutinách, čímž dochází k inhibici vazby cytokinu na jeho receptory na povrchu buněk. Druhou možností je použití antagonistů cytokinů. To jsou proteiny vážící se specificky na receptory určitých cytokinů, aniž by indukovaly aktivaci receptoru a následný přenos signálu.

Základními **lipidovými mediátory zánětu** jsou kyselina eikosapentaenová ( $\omega 3$ , 20:5), kyselina arachidonová ( $\omega 6$ , 20:4) a kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová ( $\omega 6$ , 20:3), uvolněné z membránových fosfolipidů.

Působením fosfolipázy A2 se z fosfolipidů uvolňuje kyselina arachidonová, která je následně metabolizována cyklooxygenázami (na cyklické prostanoidy – prostaglandiny,

prostacykliny a tromboxany) a lipoxygenázami (na acyklické prostanoidy – leukotrieny, lipoxiny). Prostaglandiny (např. PGD2 a PGE2) a leukotrieny (např. LTC4, LTD4 a LTE4) způsobují kontrakce hladké svaloviny, chemotaxi eosinofilů, bazofilů a TH2-lymfocytů, zvýšenou propustnost cév, stimulaci sekrece hlenu, konstriktci bronchů. Prostacykliny rozšiřují cévy a brání adhezi krevních destiček. Lipoxiny podporují ukončení akutního zánětu, brání přechodu akutního zánětu v chronický a indukují hojení. Inhibují chemotaxi a diapedézu neutrofilních a eozinofilních granulocytů, produkci reaktivních metabolitů kyslíku, produkci prozánětlivých cytokinů. Stimulují naopak fagocytózu apoptotických buněk a působí jako antagonisté receptorů pro leukotrieny (např. LTC4).

Faktor-aktivující destičky (PAF) indukuje migraci leukocytů, zesílení produkce ostatních lipidových mediátorů, aktivaci neutrofilů, eosinofilů a krevních destiček.

## 8 MECHANISMY IMUNITNÍ OBRANY PROTI INFEKČNÍM PATOGENŮM

Jako patogeny označujeme organismy (především mikroorganismy), které jsou u hostitele schopny vyvolat infekční onemocnění. Radíme mezi ně virové, bakteriální, mykobakteriální, protozoální a houbové patogeny a parazitické červy. Cílem patogenů je se v hostitelském organismu pomnožit a dále se šířit. Úspěšnost patogenů je dána jejich virulencí, která závisí na schopnosti patogenu poškodit organismus hostitele, na schopnosti patogenu nevyvolat imunitní reakci hostitele a na schopnosti patogenu bránit se před imunitní reakcí hostitele. Virulence patogenů je dána také stavem imunitního systému hostitele. U oslabených nebo imunodeficientních jedinců probíhají infekční onemocnění bouřlivěji, mohou přecházet v chronické stavy a dokonce i patogeny s nízkou virulencí mohou vyvolat vážné oportunní infekce.

Reakce imunitního systému proti typické akutní infekci probíhá v několika fázích. Na počátku infekce po prolomení mechanických bariér je koncentrace patogenu v hostitelském organismu nízká. Po dosažení optimálního prostředí dochází k namnožení patogenu a uvolňování mediátorů, které vedou k aktivaci nespecifických imunitních reakcí hostitele. Tyto mechanismy jsou aktivovány během prvních hodin infekce a zabraňují dalšímu šíření patogenů v hostitelském organismu. Po dosažení prahové koncentrace patogenu v hostitelském organismu dochází k indukci adaptivní imunitní odpovědi v řádu 4 – 5 dnů, která spočívá v klonální expanzi antigenně specifických T- a B-lymfocytů, což v optimálním případě vede až k úplné eliminaci infekčního patogenu. Po prodělané infekci v hostitelském organismu přetrvávají zbytkové efektorové buňky a protilátky, zprostředkovávající imunologickou paměť a přetrvávající ochranu proti opětovné infekci daným patogenem.

Funkční mechanismy imunitní odpovědi hostitele závisí na lokalizaci patogenů

v organismu. Účinným mechanismem vůči intracelulárním infekcím je aktivita NK buněk, T<sub>C</sub>-lymfocytů a makrofágů závislých na T<sub>H</sub>-lymfocytech, vůči patogenům v krevním nebo lymfatickém cévním systému a tkáních je to aktivita kompletnu, protilátek a mikrofágů (fagocytóza), a vůči patogenům ve sliznicích aktivita protilátek (IgA), antimikrobiálních peptidů a intraepiteliálních mikrofágů.

### 8.1 Mechanické a fyzikální bariéry proti infekčním patogenům

Organismus hostitele se brání proti proniknutí patogenů do organismu pomocí anatomických bariér, fyziologických reakcí, fagocytózy a indukce zánětlivé reakce.

Klíčovou mechanickou bariérou průniku patogenů do organismu hostitele je kůže, sestávající z tenčí vnější pokožky (epidermis) a silnější vnitřní škáry (dermis). Mazové žlázy v kůži produkují kožní maz, který snižuje pH kůže na hodnotu 3 – 5, které účinně inhibuje růst patogenních organismů. Slizniční epitely jsou pokryty řasinkami, které brání průniku patogenů hlouběji do organismu, zachycují je a vypuzují je z organismu.

Mezi fyziologické bariéry šíření patogenů v organismu hostitele radíme zvýšenou tělesnou teplotu (brání rozmnožování a přežívání patogenů), nízké pH (zabraňuje růstu bakterií v trávicím traktu) a přítomnost různých chemických mediátorů ve tkáních. Lysozym je látka, vyskytující se např. ve slinách, slzách, nosním hlenu, krevní plazmě a mateřském mléce. Štěpením 1,4-beta-glykosidické vazby peptidoglykanů narušuje buněčnou stěnu Gram-pozitivních bakterií. Interferony  $\alpha$  a  $\beta$  jsou přirozenými inhibitory růstu virů. Složky kompletnu se podílí na nespecifických i specifických imunitních reakcích vedoucích k poškození buněčných membrán patogenů.

Nedílnou součástí mechanismů zabraňujících šíření patogenů v organismu hostitele je

fagocytóza zprostředkovaná krevními monocyty, tkáňovými makrofágy a neutrofilními granulocyty. Po pochlčení jsou patogeny ve fagocytech usmrceny a natráveny.

## 8.2 Imunologie virových nákaz

Viry jsou vnitrobuněčné patogeny s různou strukturou a replikační strategií. Některé viry způsobí akutní infekce a po jejich úspěšném zvládnutí jsou z organismu odstraněny. Některé viry po zvládnutí akutní infekce v organismu trvale perzistují.

Imunitní odpověď hostitele na virové patogeny závisí na lokalizaci patogenu v organismu. Protilátková odpověď hraje důležitou úlohu v extracelulární fázi životního cyklu virů. Protilátky se váží na virové částice, inaktivují viriony (kompletní virové částice schopné infikovat hostitele) a zprostředkovávají odstranění virových částic prostřednictvím profesionálních fagocytů. Po proniknutí virů do buněk hostitele ztrácí protilátková ochrana svůj význam. Humorální mediátory brání přestupu virových částic do buněk hostitele zabráněním navázání virových částic na povrch hostitelských buněk. Sekreční IgA se uplatňuje při ochraně před virovými infekcemi ve sliznicích.

Obrana proti intracelulárním virovým infekcím je závislá především na T-lymfocytech. Většina jaderných buněk je schopna produkovat IFN- $\alpha$  a IFN- $\beta$ , látky, které zabraňují replikaci virů v hostitelských buňkách a navozují antivirový

stav v neinfikovaných buňkách. Tento nespecifický mechanismus však většinou není dostačující k úplné eliminaci patogenních virů. Dalším časným mechanismem imunitní odpovědi proti virovým infekcím je aktivita NK buněk. Tyto buňky nespecificky rozpoznávají a usmrcují buňky infikované viry. NK buňky navíc zprostředkovávají propojení mezi vrozenou a adaptivní imunitní odpovědí, protože produkují různé imunomodulační cytokiny (např. IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-10, IL-12). IFN- $\gamma$  a IL-12 uvolněné z NK buněk aktivují makrofágy a připravují T-lymfocyty pro účinnou antivirovou T<sub>H1</sub> odpověď.

Existuje celá řada mechanismů, kterými se viry snaží překonat imunitní odpověď hostitelského organismu na virovou infekci. Patří mezi ně vysoká antigenní variabilita virů, spočívající v antigenním posunu (drift) a antigenní změně (shift). Podstatou antigenního posunu jsou mutace, vedoucí ke změně struktury povrchových struktur virových částic. Antigenní změna spočívá ve výměně RNA segmentů mezi různými viry v sekundárním hostiteli. V důsledku obou těchto mechanismů se protilátky specifické pro původní virové antigeny při opakované infekci pozměněnými viry stávají neúčinné.

Některé viry jsou rezistentní k likvidačním mechanismům imunitního systému hostitele, což vede k modifikaci až rozvrácení imunitního systému hostitele a k indukci imunosuprese.

Tab : Modifikace (rozvrácení) imunitního systému hostitele virovými patogeny

Virová strategie	Specifický mechanismus	Výsledek
Inhibice humorální imunity	Viry kódované Fc receptory	Blokují efektorovou funkci protilátek vázajících se na infikované buňky
	Viry kódované komplementové receptory nebo komplementem kontrolované proteiny	Blokují efektorovou funkci komplementu nebo inhibují aktivaci buněk indukovanou komplementem
Inhibice zánětlivé odpovědi	Viry kódované solubilní receptory cytokinů	Vází cytokiny a inhibují mezibuněčnou komunikaci
	Virová inhibice povrchové exprese adhesivních molekul	Blokují adhezi buněk na infikované buňky a migraci buněk
	Virová inhibice aktivace NF- $\kappa$ B	Blokují zánětlivou odpověď buněk

Blokování zpracování antigenu a jeho prezentace	Inhibice MHC I	Zabraňuje rozpoznání infikovaných buněk cytotoxickými lymfocyty
	Inhibice transportu peptidů napovrch buněk	Blokuje prezentaci antigenu na MHC I
Systémová imunosuprese hostitele	Virem kódovaný homolog IL-10	Inhibuje funkci vybraných populací lymfocytů, redukuje produkci IFN- $\gamma$

Jiné viry jsou schopny v organismu hostitele po uplynutí akutní fáze infekce přetrvávat v latentní formě. Příkladem takových virů jsou herpetické viry (virus herpes simplex). Během akutní fáze infekce dochází k infekci epiteliálních buněk, které syntetizují a exprimují virové proteiny, které se dále rozšiřují do sensorických neuronů. V latentní formě virus přežívá v klidovém stadiu v sensorických neuronech. Ty mají jen velmi omezenou expresi MHC I a virové proteiny nejsou téměř vůbec syntetizovány. K reaktivaci do akutní formy infekce dochází při oslabení hostitelského organismu.

### 8.3 Imunologie bakteriálních nákaz

Při bakteriální infekci dochází z počátku k aktivaci tkáňových makrofágů. Složky povrchových struktur bakterií interagují s PRR receptory rozpoznávajícími struktury charakteristické pro bakterie, např. interakce LPS s Toll-like receptory. Aktivované makrofágy uvolňují cytokiny a chemokiny (např. TNF- $\alpha$  a IL-6), které indukují aktivaci endotelu přilehlých krevních kapilár. Zvýšená exprese P- a E-selektinů a VCAM, zvýšená produkce oxidu dusnatého a zvýšená permeabilita cév umožňují rolování, adhezi a průnik neutrofilů a monocytů do infikované tkáně.

Paraleleně dochází prostřednictvím receptorů rozpoznávajících struktury charakteristické pro bakterie (CD14 a TLR) k aktivaci dendritických buněk, přítomných ve většině tkání. Aktivované dendritické buňky zvyšují syntézu molekul MHC II. třídy a umožňují prezentovat zpracovaný antigen buňkám adaptivní imunity. Aferentní lymfatickou cévou antigen prezentující dendritické buňky přenáší antigen do nejbližšího periferního lymfoidního

orgánu, kde iniciují adaptivní imunitní odpověď.

Podobně jako viry, bakterie využívají různé mechanismy, kterými se vyhýbají imunitní odpovědi hostitele. Patří sem např. změna antigenních struktur (jeden patogen má více antigenních typů, tzv. serotypů), rezistence k likvidačním mechanismům komplementu, rezistence k likvidaci fagocyty, produkce proteinů vážících Fc fragmenty protilátek (např. A a G proteiny), schopnost intracelulárního přežívání v buňkách hostitele, produkce toxinů, apod.

Mezi mechanismy rezistence bakterií před likvidací komplementem patří přítomnost polysacharidové kapsule (ochrana před vazbou opsonizujících složek na stěnu bakterie), přítomnost rozsáhlých povrchových struktur (zábrana vazby mezi C3b opsonizujícím povrchem bakterie s receptory na fagocytech - inhibice fagocytózy bakterie), exprese proteinů inaktivujících funkci lytického C5b67 komplexu (MAC) (ochrana) před lyzí komplementem), exprese enzymů (např. elastázy) inhibujících nebo rozkládajících aktivované složky komplementu (inhibice komplementové kaskády), rezistence bakteriálního povrchu bakterií k vazbě lytického C5b67 komplexu (MAC).

Mezi mechanismy úniku bakterií před likvidací fagocyty patří přítomnost polysacharidové kapsule (může znemožňovat fagocytózu bakterie), inhibice opsonizace bakterie a adherence na fagocyt, únik bakterie z fagozomu do cytoplasmy, inhibice spojení fagosómu s lyzosomy, tvorba vlastní vakuoly v cytoplasmě a rezistence k antimikrobiálním mechanismům fagolyzosomu (inhibice proteáz

a nukleáz, produkce antioxidantů, inhibice acidifikace fagolysosómu).

#### 8.4 Imunologie parazitárních nákaz

Obrana proti protozoálním parazitům využívá podobných mechanismů jako obrana proti bakteriím. V případě extracelulárních parazitů (např. *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*) je klíčovým obranným mechanismem funkce protilátek. V případě intracelulárních parazitů (např. *Plasmodium*, *Trypanosoma*) hrají zásadní roli  $T_H1$ -lymfocyty a zvýšená aktivace makrofágů. Protozoální paraziti se brání proti eliminaci imunitním systémem změnou exprese genů svých povrchových antigenů. Např. *Trypanosoma* má mnoho kopií genu VSG kódujícího povrchové struktury a pouze jedno místo pro expresi tohoto genu. Konverze genů umožňuje kopírovat různé kopie genu do místa

exprese. Ke konverzi genu VSG dochází v pravidelných cyklech, a tím dochází k pravidelným změnám antigenních vlastností *Trypanosomy*.

Obrana proti mnohobuněčným parazitům je charakteristická produkcí IgE, který hraje klíčovou roli pro rozvoj imunitní reakce zprostředkované žírnými buňkami a eozinofily. Žírné buňky a eozinofily po kontaktu s parazitem masivně produkují IL-4. IL-4 stimuluje  $T_H2$ -lymfocyty a ty specifickou produkci IgE B-lymfocyty. IgE se váže na povrch žírných buněk a eozinofilů a indukuje degranulaci a uvolnění mikrobicidních látek a zánětlivých mediátorů z granulí. Zánětlivé mediátory stimulují chemotaxi dalších eosinofilů do místa infekce a zvyšují jejich aktivitu – uvolňují obsah granulí na povrch parazita.

## 9 IMUNOPATOLOGICKÉ REAKCE

Za určitých okolností může imunitní reakce vyvolat poškození vlastního organismu. V takových případech mluvíme o imunopatologických reakcích.

Imunopatologické reakce mohou nastat jako:

- výsledek neadekvátní reakce na jinak neškodné vnější antigeny (alergie, hypersenzitivita)
- vedlejší (a do jisté míry nevyhnutelný) důsledek obranných reakcí proti více či méně nebezpečným patogenům
- důsledek odchýlné imunitní reakce na normální autoantigeny (autoimunitní reakce)

Mechanismy imunopatologických reakcí jsou v zásadě stejné jako u normálních imunitních reakcí.

### 9.1 Imunologická přecitlivělost

Podle klasické klasifikace se reakce imunologické přecitlivělosti rozdělují do 4 základních typů:

- reakce založené na protilátkách IgE (reakce I. typu, atopie)
- reakce založené na protilátkách IgG (nebo IgM) asociovaných s buňkami nebo mezibuněčnou hmotou (reakce II. typu)
- reakce založené na tvorbě imunokomplexů (reakce III. typu)
- reakce oddáleného typu (reakce IV. typu)

Reakce imunologické přecitlivělosti I. – III. typu jsou humorální imunopatologické reakce, zatímco reakce imunologické přecitlivělosti IV. typu jsou imunopatologické reakce zprostředkované buňkami.

Mezi další imunopatologické reakce zprostředkované buňkami, které nejsou zahrnuty v klasické klasifikaci patří

imunopatologická buněčná cytotoxická reakce, reakce na cizí těleso nebo imunopatologická reakce při sepsi.

Definice alergie a hypersensitivity není jednotná. Buď se jako alergie označuje pouze I. typ imunologické přecitlivělosti, atopie, a ostatní typy imunologické přecitlivělosti se označují jako hypersenzitivity. V tomto případě atopie představuje abnormální schopnost dlouhodobé produkce IgE (abnormální imunitní reaktivita) a alergie představuje klinické manifestace atopie. V opačném případě se jako alergie označují všechny 4 typy imunologické přecitlivělosti. Antigen, který vyvolává alergie se nazývá alergen.

#### 9.1.1 Reakce I. typu

Je to nejběžnější typ reakcí imunologické přecitlivělosti, spojený s tvorbou protilátek IgE proti antigenům (alergenům) z vnějšího prostředí, označovaný také jako přecitlivělost časného typu. Nejběžnějšími alergeny jsou pylová zrna, roztoči, srst zvířat, potravinové antigeny, hmyzí štípnutí.

Při prvním setkání s alergenem dochází k senzibilizaci postiženého. Alergen je prezentován  $T_H2$ -lymfocytům, které diferencují a produkují cytokiny (především IL-4, ale i IL-10, IL-13 a další). Dochází k aktivaci B-lymfocytů, u kterých IL-4 indukuje izotypový přesmyk a tvorbu IgE. IgE se váže na vysokoafinitní receptory  $Fc\epsilon$  žírných buněk (a v menší míře bazofilů a eosinofilů). Vysokoafinitní  $Fc\epsilon$  receptory žírných buněk váží monomerní protilátky IgE s velmi vysokou afinitou i bez přítomnosti antigenu. Žírné buňky zůstávají po vazbě monomerního IgE neaktivovány. Žírné buňky se nacházejí v relativně vysokém množství poblíž epiteliálních povrchů, a to v submukózní tkáni gastrointestinálního a respiračního traktu, a ve škáře v kůži.

Tab.: Charakteristika alergenů, které mohou podnítit priming  $T_H2$ -lymfocytů, řídicích IgE odpověď

Protein, často se sacharidovými postranními řetězci	Indukují odpověď T-lymfocytů
Nízká dávka	Napomáhá aktivaci $T_H$ -lymfocytů, produkujících IL-4
Nízká molekulová hmotnost	Alergen může difundovat z částičky do mukózy
Vysoká rozpustnost	Alergen může být snadno uvolněn z částičky
Stabilita	Alergen může přežít ve vysušené formě
Obsahuje peptidy, vážící hostitelské MHC 2. třídy	Nezbytné pro priming T-lymfocytů

Při dalším setkání se stejným alergenem dochází k velmi rychlé reakci. Multivalentní alergen přemostí IgE na povrchu žírných buněk, dochází k produkci IL-4, rakce se amplifikuje a dochází k okamžitému uvolňování mediátorů, jako je např. histamin, z granul žírných buněk. Alergická reakce I. typu má dvě fáze. Okamžitá alergická reakce po předchozí senzibilizaci je způsobena aktivitou histaminu a dalších uvolněných, již existujících mediátorů a projevuje se kontrakcí hladké svaloviny a zvýšenou permeabilitou cév. Mediátory uvolněné z žírných buněk lákají do postižené tkáně další leukocyty, včetně eosinofilů a  $T_H2$ -lymfocytů, které způsobují projevy pozdní (sekundární) fáze alergické reakce, kterými jsou kontrakce hladké svaloviny, vznik otoku a remodelace postižené tkáně.

Alergické reakce probíhají v závislosti na vstupu alergenu lokálně (např. alergická rýma, zánět spojivek, bronchiální astma, atopická dermatitida) nebo systémově (anafylaktický šok). Ten nastává tehdy, když se do krve senzibilizovaného jedince dostanou alergeny. Následně je alergen roznesen do celého organismu a způsobí hromadnou degranulaci bazofilů a mastocytů. Uvolněné mediátory způsobí okamžité zvýšení permeability cév a pokles krevního tlaku, což se projeví otokem plic a bronchiální sliznice, bronchospasmem, ischemií mozku a multiorgánovým selháním.

Nejběžnějším způsobem léčby alergických reakcí je použití antihistaminik (blokují receptory pro histamin, inhibují syntézu histaminu), steroidních a nesteroidních protizánětlivých léčiv, blokátorů degranulace nebo kortikoidů (inhibují imunitní odpověď prostředkovanou T-lymfocyty, B-lymfocyty a

fagocyty). Další přístupem k léčbě alergických stavů je hyposenzibilizace, kdy se podávají postupně se zvyšující dávky alergenu. Během tohoto způsobu terapie jsou stimlovány  $T_H1$ -lymfocyty na úkor  $T_H2$ -lymfocytů.

### 9.1.2 Reakce II. typu

Tato reakce imunologické přecitlivělosti je založená protilátkách IgG a IgM, které aktivují komplement nebo způsobují reakci na protilátkách závislé buněčné cytotoxicity. V tomto případě jsou efektorovými buňkami NK buňky a makrofágy. Tento typ imunologické přecitlivělosti není příliš častý. Typickým příkladem je hypersenzitivní reakce na některá léčiva, např. na penicilin. Penicilin se váže na povrch krevních destiček, protilátky se váží na penicilin a vzniklý komplex penicilin/protilátka/krevní destička je odstraněn makrofágy nebo NK buňkami. Dalším typickým příkladem reakce II. typu je transfuzní reakce na antigeny krevních skupin, kdy se přirozeně vyskytující protilátky váží na povrch dárcovských erytrocytů, dochází k aktivaci komplementu klasickou cestou a lýzi dárcovských erytrocytů.

### 9.1.3 Reakce III. typu

Tento typ reakce imunologické přecitlivělosti je způsoben rozpustnými antigeny. Reakce se částečně podobá atopii, ale je způsobena protilátkami IgG. Ty tvoří s rozpustnými antigeny komplexy a v závislosti na jejich množství, velikosti a dalších vlastnostech dochází namísto jejich eliminace fagocyty k jejich ukládání do tkání (kůže, ledviny, plíce, klouby aj.). Tam se teprve váží na Fc receptory fagocytů nebo aktivují komplement. Dochází k rozvoji zánětlivé reakce, která může přejít do



chronického stadia. Přechodná imunokomplexová reakce je fyziologický mechanismus k odstraňování infekčních patogenů a projevy přechodného imunokomplexového poškození (bolesti kloubů a svalů) provází většinu akutních infekcí.

Příklady onemocnění způsobených imunopatologickými reakcemi III. typu jsou poststreptokoková glomerulonefritida (imunokomplexy se usazují v ledvinách), vaskulitidy (imunokomplexy se usazují na povrchu endoteliálních buněk) nebo artritidy (imunokomplexy se usazují v kloubních synoviích).

#### 9.1.4 Reakce IV. typu

Reakce imunologické přecitlivělosti oddáleného typu je způsobena  $T_H1$ -lymfocyty a buňkami monocyt-makrofágové řady. Po senzibilizaci vzniknou antigenně specifické  $T_H1$ -lymfocyty. Po opětovné aplikaci alergenu vznikne po 24 – 72 hodinách tvrdý otok s infiltrovanými  $T_H1$ -lymfocyty a makrofágy. Časová prodleva je způsobena nutností infiltrace poškozeného místa buňkami, tvorbou cytokinů  $T_H1$ -lymfocyty a vzájemnou interakcí mezi  $T_H1$ -lymfocyty a makrofágy. Reakce imunologické přecitlivělosti oddáleného typu jsou zodpovědné za poškozování tkání během některých infekčních onemocnění (např. lepra).

#### 9.1.5 Buněčná cytotoxická imunopatologická reakce

Tento typ reakce je podobný reakci imunologické přecitlivělosti oddáleného typu, ale v tomto případě  $T_H1$ -lymfocyty aktivují cytotoxické T-lymfocyty prostřednictvím cytokinů. Uplatňuje se u některých virových infekcí nebo kontaktních dermatitid (reakce na kovy jako nikl, chrom, nebo silice některých rostlin).

#### 9.1.6 Imunopatologická reakce při sepsi

Tento typ reakce hrozí při rozsáhlých poraněních či chirurgických výkonech a při masivní infekci. Hlavním faktorem zodpovědným za tuto reakci je TNF,

uvolňovaný z monocytů a makrofágů po stimulaci bakteriálními produkty, zejména lipopolysacharidy z Gram negativních bakterií. TNF se váže na receptory na různých buněčných typech a způsobuje vazodilataci, zvýšenou permeabilitu cév a tím ztrátu plazmatické tekutiny. To vede ke snížení krevního tlaku, nedokrevnosti orgánů, vzniku mikrotrombů a vyčerpání koagulačních faktorů (krvácení), zvýšené expresi adhezivních molekul a zesílení zánětlivé reakce. V konečné fázi může dojít k multiorgánovému selhání a úmrtí.

## 9.2 Imunodeficience

Jako imunodeficience se označují selhání imunitního systému spojená s poškozením funkcí jedné nebo více jeho složek a jsou charakterizovaná zvýšenou náchylností k infekcím. Podle původu rozlišujeme imunodeficience na primární (dědičné, vrozené) a sekundární (získané). Primární deficience jsou spíše vzácné, představují asi 10% všech imunodeficiencí. Jejich příčinou je chybějící nebo defektní gen kódující protein důležitý pro aktivitu imunitního systému, spojený s absencí nebo špatnou funkcí určité molekuly a projevující se poruchou funkce určité složky imunitního systému. Sekundární imunodeficience jsou velmi časté a jsou vyvolány v průběhu života nepříznivými faktory (fyzikálními, chemickými, biologickými nebo psychosociálními). Pokud působení nepříznivého faktoru ustane, mohou se normalizovat. Podle postižené složky dělíme primární i sekundární imunodeficience na poruchy specifické imunity a poruchy nespecifické imunity.

### 9.2.1 Primární deficience specifické imunity

Jedná se o protilátkové imunodeficience a poruchy buňkami zprostředkované imunity.

U protilátkových imunodeficiencí dochází k poruchám vývoje B-lymfocytů a tvorby protilátek, funkce T-lymfocytů bývá obvykle zachována.

- Agamaglobulinémie vázaná na chromozom X: mutace genu kódujícího protein kinázu zapojenou do signalizace přes BCR způsobuje zásadní problém při diferenciaci pre-B-lymfocytů v kostní dřeni. V důsledku toho se v periférii nenachází žádné B-lymfocyty, chybí protilátky všech izotypových tříd.
- Selektivní imunoglobulinové defekty: Projevují se částečnou nebo úplnou absencí některého izotypu protilátek, u nás je nejrozšířenější deficit protilátek IgA, provázený zvýšenou náchylností k respiračním infekcím a dalším chorobám (alergie, autoimunita). Pravděpodobnou příčinou je mutace genů pro molekuly MHC. U pacientů může dojít k částečnému zastoupení sIgA sekrečním IgM a IgG.
- Přechodná hypogamaglobulinémie v dětství (u kojenců): Po narození je novorozenec po určitou dobu chráněn transplacentárně přeneseným IgG od matky. Někdy může dojít k opožděnému nástupu tvorby vlastních IgG, tento deficit se však obvykle spontánně upravuje.
- Běžná variabilní imunodeficeience (CVID): projevuje se obvykle až v dospělosti poruchami tvorby zejména protilátek IgG a IgA, které v periferní krvi většinou zcela chybí. Počet B-lymfocytů bývá většinou normální, ale byly prokázány funkční poruchy T-lymfocytů spočívající v neschopnosti poskytnout signál k diferenciaci B-lymfocytů na plazmatické buňky.

Poruchy buňkami zprostředkované imunity se dělí na těžké kombinované imunodeficeience (SCID) a funkční poruchy T-lymfocytů.

Těžké kombinované imunodeficeience patří mezi nejzávažnější primární deficeience, počet definovaných SCID stále narůstá. Příčiny a molekulární podstata těchto imunodeficiencí jsou různorodé. Projevují se poruchami T-

lymfocytů a následně i B-lymfocytů a jsou provázeny úplnou absencí nebo významnou redukcí T-lymfocytů v periferní krvi.

- Porucha adenosin deaminázy: příčinou je deficeience nebo dysfunkce tohoto enzymu. Projevuje se akumulací produktů metabolismu purinů, toxických pro časně thymocyty, vzniká těžká T-lymfocytární lymfopenie
- SCID T-B-: Projevuje se absencí T- i B-lymfocytů, z periferních lymfocytů jsou zachovány pouze NK buňky. Příčiny jsou různorodé (např. deficit RAG-2 rekombinázy zodpovědné za přeskupování genů kódujících TCR a BCR, porucha exprese IL-7 receptoru)
- SCID T-B+: Představuje 60% všech SCID a projevuje se absencí T-lymfocytů a NK buněk, B-lymfocyty jsou zachovány. Příčinou je v 70% mutace genu kódujícího  $\gamma$  řetězec receptorů, společný pro několik interleukinů (IL-2, 4, 7, 9, 15) provázená funkční poruchou mnoha cytokinů. Ve 30% se jedná o autozomálně recesivní dědičnost – často porucha kinázy Jak 3.
- Retikulární dysgeneze: Postižena je kmenová buňka, jedná se o vzácné onemocnění. Projevuje se blokací vývoje myeloidních buněk i lymfocytů.
- DiGeorgeův syndrom: Příčinou jsou delece v genech na 22. a 10. chromozomu, vedoucí k defektům transkripčních faktorů kontrolujících migraci buněk v časném embryu. Důsledkem je absence nebo výrazná redukce brzlíku a projevuje se různě sníženým množstvím T-lymfocytů.

Příčiny a molekulární podstata funkčních poruch T-lymfocytů jsou různorodé. Projevují se normálním nebo sníženým počtem T-lymfocytů v periferní krvi, vykazujících různé funkční anomálie. Společným znakem těchto nemocí je zvýšená náchylnost k infekcím, autoimunitní a alergické projevy, maligní

onemocnění (především lymfoproliferativní). Řadí se sem poruchy v prezentaci antigenů a aktivační poruchy T-lymfocytů.

### 9.2.2 Primární deficiencie nespecifické imunity

Patří sem poruchy fagocytózy, které se klinicky projevují infekcemi způsobenými stafylokoky, enterobakteriemi, plísněmi a mykobakteriemi. Dělí se na poruchy v tvorbě neutrofilů a poruchy ve funkcích fagocytů. Dále byly opsány poruchy všech jednotlivých složek komplementu, některých inhibitorů i receptorů pro komplementové složky. Jde o velmi vzácné poruchy. V případě poruch rezistence ke specifickým infekcím se jedná o deficity postihující receptory a signální dráhy spouštějící vrozenou imunitní reakci. Důsledkem je zvýšená náchylnost k infekcím.

### 9.2.3 Sekundární imunodeficiencie

Sekundární imunodeficiencie jsou vyvolány v průběhu života nepříznivými vnějšími či vnitřními faktory. Příčinami jejich vzniku v našich podmínkách jsou nejčastěji metabolické choroby, poruchy výživy, dlouhodobé redukční diety, imunosupresivní a cytostatická léčba, ozařování, závažná poranění (polytrauma, popáleniny), chronické infekce, chronické expozice chemikáliím, alkoholismus, chronické stresové situace, věk (nedonošené děti, novorozenci, staré osoby).

Sekundární snížení koncentrace protilátek v krvi může být způsobeno jejich ztrátou - rozsáhlými střevními záněty (snížení všech tříd imunoglobulinů, často dochází i k lymfopenii), nefrotickým syndromem (únik bílkovin do moči), dlouhodobými průjmy (snížení IgG) nebo potlačením/poruchou jejich syntézy - dlouhodobá imunosupresivní či cytostatická léčba (potlačení syntézy imunoglobulinů), malignitami postihujícími B-lymfocyty (porucha syntézy imunoglobulinů, funkční protilátky jsou nahrazeny monoklonálními protilátkami produkovánými nádorově změněnými plazmatickými buňkami).

K přechodnému snížení buňkami zprostředkované imunity dochází po prodělání virových infekcí, především spalničkách, rubeole a jiných lymfocytotropních virózách. Nejzávažnější z těchto chorob je syndrom získané imunodeficiencie (AIDS).

**AIDS** je způsoben infekcí retrovirem HIV-1 nebo HIV-2, přenášeného krví, pre-ejakulátem, spermatem, vaginálními tekutinami, mateřským mlékem, nebo transplacentárně. Virus napadá T<sub>H</sub>-lymfocyty, makrofágy a buňky centrální nervové soustavy. Struktura genomu viru je kompletně známa (9 genů) a biologie viru je důkladně prostudována. Virová částice se pomocí gp120 váže na CD4 a koreceptor na T-lymfocytech. gp41 způsobuje fúzi virového obalu s buněčnou membránou a průnik genomu viru do buňky. Reverzní transkriptáza kopíruje virovou RNA do dvouvláknové cDNA. Virová cDNA vstupuje do jádra a je začleněna do hostitelské DNA. T-lymfocyty aktivované přes NF-κB indukují nízkou transkripci proviru. RNA transkripty jsou několikrát sestříhány, což umožňuje translaci raných genů *tat* a *rev*. Tat amplifikuje transkripci virové RNA, Rev zvyšuje transport virové RNA do cytoplazmy. Pozdní proteiny Gag, Pol a Env jsou začleněny do virové částice, která se pučením uvolňuje z buňky. Velké množství částic hostitelskou buňku zabije. Dendritické buňky mohou iniciovat infekci transportem HIV z mukózních povrchů do lymfatické tkáně a jejich prezentací T<sub>H</sub>-lymfocytům.

Průběh infekce má 4 fáze. Akutní fáze se projevuje chřipkovými příznaky nebo je asymptomatická. V krvi roste počet virových částic, což vyvolává silnou imunitní reakci (protilátkovou i cytotoxickou), přechodně klesá počet T<sub>H</sub>-lymfocytů. Během pár týdnů dojde ke zvýšení počtu virově specifických klonů T-lymfocytů, poklesu virových částic a nárůstu protilátek proti HIV. Druhá fáze (asymptomatická, latentní) trvá několi let, neprojevuje se žádnými příznaky nemoci, ale dochází k intenzivní reakci mezi virem a

imunitním systémem. Denně je infikováno a zničeno velké množství T<sub>H</sub>-lymfocytů, které zatím mohou být nahrazovány z brzlíku. Dochází k replikaci viru v aktivovaných T<sub>H</sub>-lymfocytech a vznikají mutanti HIV, doposud neznámé pro imunitní systém. Časem se vyčerpává produkce T<sub>H</sub>-lymfocytů v brzlíku a dochází k destrukci a funkční inaktivaci makrofágů a dalších antigen prezentujících buněk infikovaných virem. V průběhu symptomatické fáze se začínají projevovat poruchy imunity, provázené výskytem různých infekcí. V krvi dále roste počet virových částic, klesá počet T<sub>H</sub>-lymfocytů, protilátek proti HIV a antivirových T-lymfocytů. Postupně selhává většina složek imunitního systému, klesá rezistence k infekcím, stoupá výskyt nádorových onemocnění, autoimunitních chorob a alergií, je postižena centrální nervová soustava (demence). V poslední fázi (vlastní AIDS) klesá počet T<sub>H</sub>-lymfocytů téměř na nulu. Postižení jedinci umírají nejčastěji na oportunní infekce - infekce podmíněnými i primárně nepatogenními mikroorganismy (plísně, viry, atypické mykobakterie apod.).

### 9.3 Autoimunita

**Autoimunitní onemocnění** vznikají jako imunitní reakce na antigeny vlastních tkání, přičemž dochází k poškození vlastních buněk a tkání. Autoimunitním onemocněním je postiženo 5-7% populace. Většina autoimunitních onemocnění je charakterizována chronickým zánětem. Podle toho, jestli autoimunitní reakce postihuje jeden nebo více orgánů rozlišujeme orgánově specifická a systémová autoimunitní onemocnění.

#### 9.3.1 Autotolerance

Podmínkou pro vznik autoimunitního onemocnění je prolomení autotolerance. Autotolerance je zabezpečena na centrální a periferní úrovni. **Centrální tolerance** pro T-lymfocyty se ustavuje v brzlíku (pozitivní a negativní selekce) a pro B-lymfocyty v kostní dřeni (eliminování B-lymfocytů

rozpoznávajících vlastní rozpustné nebo membránové antigeny nacházející se v kostní dřeni).

**Periferní tolerance** je udržována několika mechanismy. Při klonální delecii autoreaktivní lymfocyty po rozpoznání vlastních antigenů hynou apoptózou, při klonální anergii autoreaktivní lymfocyty sice přežívají, ale protože jim chybí kostimulační signál jsou funkčně utlumeny, a při klonální ignoranci nejsou autoreaktivní lymfocyty schopny rozpoznat vlastní antigeny, protože jsou produkovány v podprahovém množství nezajišťujícím stimulaci dostatečného množství receptorů. Při supresi dochází k potlačení autoreaktivních lymfocytů jinými imunokompetentními buňkami a jejich cytokiny. Pro vznik autoimunitních onemocnění je nejčastější selhání právě periferních mechanismů autotolerance.

Vzhledem k redundanci mechanismů udržujících autotoleranci je však pro vznik autoimunitního onemocnění obvykle nutné spolupůsobení několika faktorů. Mezi hlavní **vnitřní faktory** patří genetické změny a hormonální nerovnováha – autoimunitní onemocnění jsou několikanásobně častější u žen. Mezi hlavní **vnější faktory** patří infekce (infekce odkryje pro imunitní systém jinak dosud nedostupný autoantigen - kryptický antigen, může také docházet ke zvýšené expresi MHC molekul II. třídy a kostimulačních molekul), stres (aktivuje neuroendokrinní osu a způsobuje hormonální dysbalanci) a další (léky, chemikálie, UV záření – mohou modifikovat vlastní struktury organismu tak, že vznikne autoantigen, mohou ovlivňovat regulační mechanismy imunity).

#### 9.3.2 Autoimunitní reakce

Rozlišujeme humorální a buněčné autoimunitní reakce. **Humorální autoimunitní reakce** spočívají v tvorbě autoprotilátek (většinou izotypu IgG), které působí buď cytotoxicky nebo vyvolávají poškození nadměrným ukládáním imunokomplexů. Autoprotilátky

mohou někdy způsobit i funkční změnu buňky nebo proteinu, na které se váží.

**Autoimunitní reakce buněčného typu** jsou charakterizovány poškozujícím zánětem, vyvolaným T<sub>C</sub>- nebo T<sub>H1</sub>-lymfocyty, tvorbou jejich cytokinů a aktivací makrofágů.

### 9.3.3 Systémová autoimunitní onemocnění

Mezi nejzávažnější systémová autoimunitní onemocnění patří autoimunitní hemolýza, revmatoidní artritida, revmatická horečka, systémový lupus erythematosus, Sjogrenova choroba, systémová sklerodermie, dermatopolymyozitida, vaskulitidy aj.

U **autoimunitní hemolýzi** se autoprotilátky proti erytrocytům váží na erytrocyty. V cévním řečišti je autoprotilátkami navázanými na erytrocyty aktivován komplement a dochází k intravaskulární hemolýze. Ve slezině autoprotilátky navázané na erytrocyty rovněž aktivují komplement, protilátkami a komplemtem opsonizované erytrocyty jsou následně fagocytovány a destruovány fagocyty.

Při **revmatoidní arthritidě** dochází k rozvoji zánětu v synoviální membráně a do tkáně jsou přitahovány leukocyty. Autoreaktivní T<sub>H</sub>-lymfocyty aktivují makrofágy. To vede k produkci prozánětlivých cytokinů a udržování zánětu. Uvolněné cytokiny indukují produkci MMP (matrix metaloproteinázy) a ligandu RANK fibroblasty. MMP narušují tkáň a RANK ligand aktivuje osteoklasty odourávající kostní tkáň, což má za následek poškození kloubů.

V případě **revmatické horečky** dochází ke stimulaci produkce protilátek složkami buněčné stěny streptokoka. Některé z produkovaných protilátek reagují s tkání srdečních chlopní.

### 9.3.4 Orgánově specifická autoimunitní onemocnění

Mezi nejdůležitější orgánově specifická autoimunitní onemocnění patří myasthenia gravis, diabetes mellitus 1. typu, roztroušená

skleróza, Crohnova choroba, Graves-Basedowova choroba, Hashimotova thyreoiditida, Adisonova choroba, primární biliární cirhóza, Goodpastureův syndrom aj.

U **myasthenia gravis** autoprotilátky způsobují internalizaci a degradaci acetylcholinových receptorů na nervosvalovém spojení. Postižený sval nereaguje na acetylcholinové signálování nervového zakončení a zůstává trvale v relaxovaném stavu.

Langerhansovy ostrůvky slinivky břišní obsahují několik buněčných typů sekretujících různé hormony. Každý buněčný typ exprimuje odlišné, tkáňově specifické proteiny. U **diabetes mellitus 1. typu** rozpoznávají efektorové T-lymfocyty peptidy specifických proteinů  $\beta$  buněk, které zabíjí. Zatímco  $\alpha$  a  $\delta$  buňky stále produkují glukagon a somatostatin, inzulin se netvoří.

Při **roztroušené skleróze** neznámý spouštěč vyvolá zánět v mozku a krevně-mozková bariéra se stane lokálně propustnou pro leukocyty a krevní proteiny. T-lymfocyty specifické pro mozkový antigen a aktivované v periferních lymfoidních tkáních se znovu setkají s antigenem prezentovaným na mikroglíích nebo dendritických buňkách v mozku. V důsledku aktivace žírných buněk a komplementu a produkce protilátek a cytokinů se zánětlivá reakce v mozku prohlubuje a dochází k demyelinizaci neuronů.

**Crohnova choroba** je chronické zánětlivé onemocnění nejasné etiologie, postihující jakékoli části trávicího ústrojí, nejčastěji však v oblasti spojení tenkého a tlustého střeva. Sklon k onemocnění je ovlivněn geneticky, chorobu mohou u náchylné osoby vyvolat vlivy vnějšího prostředí. Patologie tohoto onemocnění je pravděpodobně spojena se zvýšenou aktivitou T<sub>H1</sub>-lymfocytů v cytokinární odezvě při zánětu.

U **Graves-Basedowovy choroby** autoreaktivní B-lymfocyty tvoří protilátky proti TSH (hormon stimulující štítnou žlázu) receptoru

štítné žlázy, které stimulují nadměrnou produkci tyroidních hormonů.

## 10 TRANSPLANTAČNÍ IMUNOLOGIE

Transplantace rozdělujeme podle příbuznosti dárce a příjemce transplantované tkáně. U autologních transplantací dochází k transplantaci štěpu identickému jedinci (např. transplantace kůže, autotransfúze krve). Při isogenní (syngenní) transplantaci se štěp přenáší mezi geneticky shodnými jedinci (např. jednovaječná dvojčata nebo jedinci imbredního kmene). Alogenní transplantace jsou transplantace štěpu geneticky odlišnému jedinci stejného druhu a henogenní transplantace představují transplantace štěpu mezi jedinci odlišných druhů.

### 10.1 Odvržení štěpu příjemcem

Zatímco u autologních a isogenních transplantací je štěp příjemcem tolerován, v případě alogenních transplantací (klinicky nejběžnější typ transplantací) dochází k odvržení štěpu příjemcem. Klíčovou roli v tomto procesu hrají T-lymfocyty, které indukují komplexní imunitní odpověď na cizorodý štěp. Principem je schopnost T-lymfocytů příjemce rozeznávat cizorodé buňky dárce na základě odlišné alelické formy MHC antigenů, případně jiných antigenů. MHC antigeny dárce jsou schopny aktivovat až 5% celkového počtu klonů T-lymfocytů příjemce. Vedle MHC antigenů hlavního histokompatibilitního komplexu jsou schopny v menší míře indukovat odvržení štěpu i antigeny vedlejších histokompatibilitních komplexů,

Transplantační antigeny jsou příjemcem rozpoznávány přímo nebo nepřímo. Při přímém rozpoznání jsou antigeny štěpu rozpoznány na povrchu antigen prezentujících buněk pocházejících ze štěpu. Dendritické buňky ze štěpu migrují lymfatickým cévním systémem do sekundárních lymfatických orgánů příjemce, kde indukují aktivaci a klonální proliferaci imunokompetentních buněk. Ty infiltrují transplantovanou tkáň a dochází k odvržení štěpu.

V případě opakovaných alogenních transplantací rozlišujeme **prvotní a sekundární odvržení štěpu**, lišící se svou intenzitou. Při prvotním odvržení štěpu dochází k postupnému rozpoznání cizorodých antigenních struktur T-lymfocyty, jejich aktivaci, klonální proliferaci a následné indukci imunitní odpovědi. Sekundární odvržení štěpu při opakované alogenní transplantaci ze stejného dárce je rychlejší díky paměťovým buňkám (pro odvržení štěpu jsou důležité zejména T-lymfocyty), které okamžitě indukují silnou imunitní odpověď.

Na základě klinického průběhu imunitní odpovědi po transplantaci alogenního štěpu rozlišujeme akutní, hyperakutní a chronické odvržení (reakci) štěpu. K **akutní reakci** dochází v pozdější fázi prvotní nebo v časně fázi opakované reakce na transplantovaný štěp. Cytotoxické T-lymfocyty lyzují buňky štěpu. Pomocné T-lymfocyty produkují cytokiny (zejména IL-2, TNF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ ), stimující migraci fagocytů a dalších cytotoxických T-lymfocytů a stimující jejich cytotoxickou aktivitu. B-lymfocyty stimulované pomocnými T-lymfocyty produkují protilátky, specifické pro antigeny štěpu. Transplantovaná tkáň ztrácí funkčnost, je silně infiltrována lymfocyty a makrofágy a díky rozsáhlé zánětlivé reakci dochází k otoku tkáně.

K **hyperakutní reakci** štěpu dochází při opakované alogenní transplantaci mezi stejným dárce a příjemcem, při xenotransplantacích, a při neshodě v antigenech krevních skupin systému AB0 u krevních transfúzí. Příjemce má už před transplantací vytvořeny protilátky proti antigenům štěpu.

Chronická reakce se objevuje opakovaně měsíce a roky po úspěšné transplantaci, kdy transplantovaná tkáň vykonává svoji funkci. Je způsobena protilátkami i cytotoxickými T-lymfocyty a je charakterizována pozvolnou

ztrátou funkce transplantované tkáně. Primárně se jedná o chronický zánět malých arterií, vedoucí ke vzniku zánětlivých lézí, fibróze a postupnému selhání tkáně. Je důležité zavčas chronickou rejekci detekovat a opětovně nasadit silnou imunisupresivní léčbu, podobně jako krátce po transplantaci.

## 10.2 Antigeny krevních skupin

Hlavními systémy krevních skupin, uplatňujícími se při transplantačních reakcích, jsou systém AB0 a Rh systém.

V krvi každého jedince kolují přirozené protilátky IgM proti antigenům systému AB0, které daný jedinec sám neexprimuje. Při setkání těchto protilátek s odpovídajícími antigeny dochází k aglutinaci a hemolýze erytrocytů, nesoucích tyto antigeny. Antigeny systému AB0 jsou exprimovány také na povrchu jiných typů buněk, např. endoteliálních. Mají tedy význam i pro indukci odvržení jakýchkoli vaskularizovaných transplantovaných tkání (orgánů).

Protilátky proti antigenům Rh systému jsou třídy IgG a vznikají až po imunizaci příjemce antigenem.

## 10.3 Rakce štěpu proti hostiteli

Reakce štěpu proti hostiteli se objevuje tehdy, když transplantovaná tkáň (např. kostní dřev) obsahuje imunokompetentní buňky, které atakují buňky příjemce. V této reakci se uplatňují pomocné i cytotoxické T-lymfocyty. Obranou proti této reakci je odstranění imunokompetentních buněk ze štěpu a jejich obnova z kmenových buněk. Reakci štěpu proti hostiteli lze zabránit i zajištěním co možná nejvyšší histokompatibility mezi dárcem a příjemcem.

## 10.4 Testy histokompatibility

Při **sérologické detekci** se používá sada antisér nebo monoklonálních protilátek, reagujících specificky s produkty odlišných alel HLA (lidské MHC) genu. Tyto protilátky v přítomnosti komplementu indukují lýzi

testovaných lymfocytů nesoucích danou alelu příslušného HLA genu. Výsledkem je stanovení alel HLA antigenů dárce a příjemce – jejich sérologické typy.

Při **genotypizaci** se stanovují přímo specifické alely HLA genu dárce a příjemce, které se následně porovnávají.

Pomocí směsné lymfocytární reakce se testuje aloreaktivita T-lymfocytů dvou jedinců vůči svým antigenům (především MHC antigenům) navzájem. Při obousměrné lymfocytární reakci se smíchají lymfocyty z periferní krve dárce i příjemce a společně se inkubují. Pokud buňky silně proliferují, je to známkou, že testované T-lymfocyty jsou silně aloreaktivní. Při jednosměrné lymfocytární reakci jsou T-lymfocyty dárce ovlivěny tak, aby nemohli proliferovat (ozářeny nebo vystaveny mitomycinu c). Poté jsou smíchány s T-lymfocyty příjemce a společně inkubovány. Tímto způsobem se testuje aloreaktivita T-lymfocytů příjemce vůči antigenům dárce.

## 10.5 Imunosupresivní léčba

V současnosti neexistuje žádný zaručeně úspěšný klinický protokol, který by indukoval kompletní toleranci alogenního štěpu příjemcem. Transplantace je pro příjemce silné trauma, kdy se v důsledku chirurgického zákroku indukuje zánětlivá reakce, která dále aktivuje vrozené i adaptivní mechanismy imunitní reakce na přítomné antigeny štěpu. Aby se zabránilo odvržení štěpu, musí příjemce podstupovat každodenní, celoživotní imunosupresivní léčbu. K tomuto účelu se používají kortikosteroidy, inhibitory kalcineurinu, purinové analogy a inhibitory syntézy purinů, antagonisté receptoru pro IL-2 a terapeutické protilátky.

### 10.5.1 Terapeutické protilátky

Používané polyklonální protilátky (anti-lymfocytární globulin) se získávají z koní nebo králíků imunizovaných lidskými lymfocyty. Velice účinně redukuje počet cirkulujících lymfocytů. Mají však silné vedlejší účinky díky



reakci hostitele proti cizorodému imunoglobulinu.

Monoklonální protilátky jsou specificky zaměřené na konkrétní antigenní struktury (IL-2RA, CD3, CD52 aj.). S cílem minimalizovat jejich vedlejší účinky se monoklonální protilátky geneticky modifikují, kdy se část molekuly protilátky, která nekóduje oblasti vázající antigen, nahrazuje úsekem lidského imunoglobulinu. Vznikají tak chimérické protilátky (zvířecího původu je celý Fab úsek imunoglobulin) a humanizované protilátky (zvířecího původu jsou pouze hypervariabilní úseky, které tvoří vazebné místo pro antigen). Používají se i plně humánní monoklonální protilátky (lidské monoklonální protilátky).

Terapeutické protilátky cílené na antigeny na buňkách imunitního systému vyvolávají buněčnou smrt těchto buněk zprostředkovanou aktivací komplementu, na protilátkách závislou buněčnou cytotoxicitou, fagocytózou nebo apoptózou. Jsou zaměřené proti T-lymfocytům, B-lymfocytům nebo oběma typům lymfocytů. Jiné protilátky narušují cytokinové signálování a kostimulaci mezi T- a B-lymfocyty. Používají se např. protilátky proti  $\alpha$  řetězci receptoru pro IL-2, které tak zabraňují aktivaci T-lymfocytů. Další používané protilátky inhibují aktivaci komplementu (např. protilátky proti složce C5a).

## 11 PROTINÁDOROVÁ IMUNITA

Organismy se za normálních okolností brání proti proliferaci nádorových buněk a tvorbě nádorů různými mechanismy imunitního systému.

### 11.1 Nádorové antigeny

Nádorové buňky jsou imunitním systémem rozpoznávány na základě specifických antigenů (**antigeny specifické pro nádory** a antigeny asociované s nádory), které vyvolávají indukci protinádorové imunitní odpovědi. Antigeny specifické pro nádory mohou vznikat např. **abnormálními post-translačními modifikacemi proteinů** způsobujícími změny struktury proteinů, které mění jejich antigenní vlastnosti. U nádorů prsu a slinivky byly zaznamenány abnormální formy glykoproteinů v důsledku snížené glykosylace mucinů, produkovaných nádorovými buňkami. Dalším typem antigenů specifických pro nádory jsou **antigeny kódované virovými onkogeny**. Jedná se o proteiny kódované genomy virů indukujících nádorovou transformaci. Většinou jsou to proteiny klíčové pro deregulaci proliferace infikovaných buněk. Často jsou lokalizovány v jádře infikovaných buněk a bývají málo exprimované na povrchu buněk pomocí MHC molekul. Jiné antigeny specifické pro nádory vznikají **klonální amplifikací**. V případě lymfomů dochází k nekontrolované amplifikaci určitého klonu T- nebo B-lymfocytů za vzniku extrémního množství daného idiotypu T-buněčného nebo B-buněčného receptoru, případně cirkulujících monoklonálních protilátek. Nové antigeny specifické pro nádory vznikají i mechanismem **bodových mutací nebo přeskupování genů**.

**Antigeny asociované s nádory** jsou běžnější a jsou prezentovány nádorovými a za určitých okolností i normálními buňkami. Jedním typem takovýchto antigenů jsou **onkofetální antigeny**, které jsou normálně exprimovány pouze u nediferencovaných buněk. V případě obnovy jejich exprese u dospělých jedinců

dochází k jejich rozpoznávání imunitním systémem dospělce jako cizorodých antigenů. Některé proteiny jsou v nádorových buňkách **nadměrně exprimovány**, což vede ke zvýšené hustotě určitých peptidů na povrchu nádorových buněk a jejich následnému rozpoznání buňkami imunitního systému.

### 11.2 Imunitní dohled

Základem obranných imunitních reakcí organismu proti nádorovému bujení je specifické rozpoznávání nádorových buněk a jejich antigenů. Imunitní systém prostřednictvím lymfocytů vykonává **imunitní dohled**, rozpoznává a eliminuje průběžně vznikající nádorově transformované buňky. Na kontrole nádorového bujení se podílí mechanismy vrozené i adaptivní imunity. Důležitou úlohu v tom, který mechanismus imunitního systému bude aktivován k eliminaci nádorového bujení, hraje lokalizace nádoru nebo nádorově transformovaných buněk. Obecně platí, že dispersní nádory jsou imunitním systémem lépe eliminovány než nádory pevné, u kterých je potlačeno krevní zásobení a lymfatická drenáž.

Zásadní úlohu v obraně proti nádorovému bujení hrají **NK buňky**, které nespecificky usmrcují nádorové buňky. NK buňky rozpoznávají buňky s nízkou expresí povrchových MHC molekul (typický rys nádorových buněk) a usmrcují je uvolněním obsahu lytických granulí a tvorbou póru indukovanou perforinem. Dalším mechanismem účinku NK buněk na cílové buňky je indukce apoptózy prostřednictvím interakce Fas s Fas-ligandem. NK buňky mohou být aktivovány také vazbou nádorově specifických protilátek IgG na jejich povrchové Fc receptory a cílové buňky usmrcovat mechanismem **na protilátkách závislé buněčné cytotoxicity** (ADCC).

Nedílnou součástí protinádorové imunity jsou i mechanismy adaptivní imunity. Tyto

mechanismy využívají rozpoznání nádorových antigenů specifickými receptory pomocných i cytotoxických T-lymfocytů. T<sub>H</sub>1-lymfocyty rozpoznávají antigeny prezentované molekulami MHC II. třídy na antigen prezentujících buňkách a prostřednictvím uvolňovaných cytokinů (IL-2, IFN- $\gamma$ ) aktivují T<sub>C</sub>-lymfocyty. **T<sub>C</sub>-lymfocyty** usmrcují cílové buňky uvolňováním perforinu, granzymů a cytotoxických cytokinů (TNF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ ).

Dalšími mechanismy, podílejícími se na protinádorové imunitě, jsou lyze nádorových buněk protilátkami ve spolupráci s komplementem, osponizace nádorových buněk a jejich následná eliminace fagocyty nebo protilátkami zprostředkovaná ztráta adheze mezi nádorovými buňkami.

### 11.3 Únik z imunitního dohledu

Typickým znakem nádorového bujení je snaha o únik z imunitního dohledu. Nádorové buňky k tomu využívají celou řadu mechanismů, založených buď na **změnách ve vlastních nádorových buňkách nebo modulaci imunitní odpovědi** hostitele. Nádorové buňky např. redukuje expresi různých molekul (MHC molekul, adhezivních molekul, aj.) pozměňují nádorové antigeny nebo uvolňují povrchové nádorové antigeny, takže nádorová buňka nemůže být dále rozpoznána jako pozměněná vlastní. Protilátky proti nádorovým antigenům indukují jejich endocytózu a degradaci, čímž dochází ke snížení jejich exprese. Nádorové buňky uvolňují faktory, které vytvářejí mechanickou bariéru. Pokud jsou nádorové antigeny prezentovány bez přítomnosti kostimulačních receptorů, je navozena tolerance k těmto antigenům. Nádorové buňky

produkují imunosupresivní cytokiny a jiné imunosupresivní mediátory, které oslabují imunitní odpověď.

### 11.4 Protinádorová imunoterapie

Léčebné postupy v protinádorové imunoterapii jsou založené na indukci protinádorové imunity nebo na využití imunitních mechanismů k cílenému směřování léčiv do místa nádoru.

Při aktivní imunizaci proti nádorům se využívá **vakcinace** proti virům vyvolávajícím vznik určitých nádorů nebo vakcinace syntetickými analogy vybraných nádorových antigenů, lyzáty nádorových buněk nebo celými inaktivovanými nádorovými buňkami. Dobrým cílem pro protinádorovou imunoterapii jsou antigeny, které mají stejnou strukturu ve více typech nádorů (jsou např. společné pro různé typy melanomů).

**Využití monoklonálních protilátek** v protinádorové léčbě: Protilátky specifické pro nádorové antigeny se váží na nádorové buňky a vyvolávají protilátkami zprostředkovanou buněčnou cytotoxicitu. Protilátky s navázaným toxinem jsou po vazbě na nádorové buňky internalizovány a toxin nádorovou buňku usmrcuje. Podobně může být na protilátky navázán enzym, který v nádorové buňce lokálně metabolizuje pro-cytotoxický substrát na cytotoxickou látku. Používají se i protilátky s navázaným radioisotopem, z něhož uvolňovaná radioaktivita usmrcuje nádorové buňky.

K léčbě nádorového bujení se také využívá nescifická stimulace intenzivního zánětu v místě výskytu nádoru, např. pomocí suspenze inaktivované mykobakteriální směsi.

## 12 MODULACE IMUNITNÍHO SYSTÉMU

Z předchozích kapitol vyplývá, že imunitní systém nefunguje vždy optimálně a že nastávají situace, kdy je potřeba jeho aktivitu podpořit (imunodeficientní stavy) nebo utlumit (autoimunita, imunologická přecitlivělost, transplantace orgánů). Stejně jako u léčby jiných onemocnění, můžeme i u léčby imunitních poruch rozlišovat léčbu symptomatickou, kdy se mírní projevy daného onemocnění, a léčbu kauzální, kdy se léčí příčiny daného onemocnění. Jako příklady kauzální léčby můžeme uvést např. transplantaci kmenových buněk (u těžkých vrozených poruch imunity) nebo genovou terapii (u deficiencí různých složek imunitního systému). Substituční léčba spočívá v dodání náhrady chybějícího produktu imunitního systému (např. intravenózní imunoglobuliny, inhibitory komplementového receptoru C1, růstové faktory, již zmiňované transplantace kmenových buněk apod.)

Imunomodulační přístupy můžeme rozdělit podle dvou hledisek. Rozeznáváme imunosupresi (utlumení imunitního systému) a imunostimulaci (podpora imunitního systému). Podle toho, jestli je daná léčba cílena na aktivitu vůči určitému antigenu (patogenu) nebo jestli

se jedná o obecnou modulaci imunitního systému rozlišujeme specifickou a nespecifickou imunomodulační léčbu.

### 12.1 Nespecifická imunosupresivní léčba

Nespecifická imunosuprese (obecné utlumení imunitního systému) se využívá při léčbě autoimunitních onemocnění, alergií a při transplantacích orgánů. Patří sem např. léčba kortikosteroidy, imunosupresivy zasahujícímu do metabolismu DNA nebo imunosupresivy selektivně postihujícími lymfocyty.

Příkladem **kortikosteroidů** využívaných k imunosupresivní léčbě jsou např. kortisol a prednison. Receptory pro kortikosteroidy se nachází v cytoplazmě buněk v komplexu s navázaným proteinem tepelného šoku Hsp90. Steroidy díky svým vlastnostem přechází přes buněčnou membránu do cytoplazmy, kde se váží na uvolněný receptor poté, co od něho disociovala molekula Hsp90. Komplex kortikosteroidu s navázaným receptorem následně přechází přes jadernou membránu, kde se váže na regulační sekvence cílových genů a tím moduluje jejich transkripci.

Tab.: Příklady cílových molekul a fyziologických účinků léčby kortikosteroidy

Cílové molekuly	Fyziologické účinky
Cytokiny (IL-1, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, IL-3, IL-4, IL-5, CXCL8)	Inhibice zánětu způsobeného cytokiny
Syntáza oxidu dusnatého	Snížená produkce oxidu dusnatého
Fosfolipáza A2, cyklooxygenáza 2	Snížená produkce prostaglandinů leukotrienů
Adhezivní molekuly	Snížená emigrace leukocytů z cév

Imunosupresiva **zasahující do metabolismu DNA** způsobují inhibici replikace DNA. Využívají se např. alkylační látky (cyklofosamid), antagonisté purinových bazí (azathioprin) nebo antimetabolity kyseliny listové (methotrexát).

**Aktivita lymfocytů** může být modulována pomocí látek jako cyklosporin A nebo

takrolimus (FK506), zasahujících do regulace transkripce genů. Signálování přes T-buněčný receptor indukuje aktivaci transkripčního faktoru AP-1 a zvyšuje intracelulární koncentraci Ca<sup>2+</sup>. Intracelulární Ca<sup>2+</sup> aktivuje kalcineurin, fosfatázu aktivující členy rodiny NFATc (nukleární faktor aktivovaných T-lymfocytů). NFATc se v jádře váže na AP-1 a formuje aktivní transkripční faktor, který

aktivuje transkripci specifických genů (např. genu pro IL-2). Cyklosporin A a takrolimus s tímto mechanismem interferují v cytoplazmě. Cyklosporin A (CsA) se váže na cyklofylin (CyP), takrolimus (FK506) na protein

označovaný FKBP. Vzniklé komplexy CsA: CyP a FK506: FKBP se váží na kalcineurin a blokují aktivaci NFATc, čímž se inhibuje transkripce cílových genů.

Tab.: Imunosupresivní účinky cyklosporinu A a takrolimu

Buňky	Účinky
T-lymfocyty	Snížená exprese IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, TNF- $\alpha$ Snížená proliferace Snížená exocytóza serinových esteráz Inhibice apoptózy
B-lymfocyty	Inhibice proliferace (důsledek snížené produkce cytokinů T-lymfocyty) Indukce apoptózy
neutrofily	Snížená exocytóza serinových esteráz

Dalšími typy používaných nescifických imunosupresivních léčiv jsou nesteroidní protizánětlivé látky (NSAIDS), antihistaminika nebo inhibitory prozánětlivých cytokinů.

## 12.2 Nescifická imunostimulační léčba

K nescifické imunostimulaci se využívají např. syntetické imunomodulátory (např. isoprinosin), různé bakteriální nebo houbové extrakty, nebo produkty imunitního systému (thymové hormony, cytokiny apod.)

## 12.3 Antigeně specifická imunostimulační léčba

Za zakladatele očkování je považován Edward Jenner, který koncem 18. století provedl první účinné a bezpečné očkování virem kravských neštovic jako prevenci proti pravým neštovicím. Vypozoroval, že dojičky krav nedostávaly pravé neštovice. Krávy totiž přenášely svůj vlastní typ neštovic a dojičky se jím imunizovaly. Tak vznikl i pojem „vakcína“ z latinského slova *vacca* = kráva. Pravé neštovice (variola) patří mezi jedny z nejnebezpečnějších prudce nakažlivých onemocnění. Virus je patogenní pouze pro člověka a mimo hostitele nepřežije déle než několik dní, nemá tedy žádný přirozený rezervoár kromě lidské populace. Díky systematickému celosvětovému očkování byly

v roce 1977 pravé neštovice WHO prohlášeny za zcela vymýcené.

### 12.3.1 Aktivní imunizace

Očkování (vakcinaci) označujeme jako aktivní imunizaci, tzn. že u očkovaného jedince se vyvolává aktivní imunitní odpověď včetně produkce protilátek vůči danému patogenu. Očkování se využívá k prevenci (předcházení šíření určité nemoci), profylaxi (ochrana před určitou nemocí) nebo léčbě určité nemoci.

Existují různé typy očkovacích látek. Živé **atenuované** (oslabené) **vakcíny** obsahují živé mikroorganismy v nepatogenní formě (získané např. několikerým pomnožením patogenního organismu za zvláštních podmínek ve specifické buněčné kultuře) nebo kmen mikroorganismu, který je pro člověka nepatogenní. **Inaktivované vakcíny** jsou celobuněčné vakcíny obsahující patogeny, které jsou usmrceny a jsou zbaveny schopnosti replikace v hostitelském organismu. Patogeny jsou inaktivovány tepelně nebo chemicky tak, aby zejména povrchové antigeny nebyly poškozeny.

**Subjednotkové vakcíny** obsahují pouze určitou složku patogenní částice, která vyvolává imunitní odpověď a má imunizační vlastnosti. Eliminací reziduálních složek celého mikroorganismu se sníží četnost nežádoucích

účinků. Získávají se izolací imunogenů z celobuněčných mikroorganismů nebo mohou být připravovány ze syntetických peptidů a na základě rekombinantně konstruovaných imunogenů. Zvláštním typem subjednotkových vakcín jsou **DNA vakcíny**. Je to obdoba rekombinantních vakcín s tím rozdílem, že nosičem je celá DNA, která se vnese do buňky očkované osoby a očkovaná osoba sama produkuje imunogeny patogenního mikroorganismu.

K zesílení účinnosti očkovacích látek se využívají tzv. **adjuvancia**. Ta napomáhají pohlcení antigenu antigen prezentujícími buňkami, zvyšují retenci antigenu v organismu a napomáhají nespecifické stimulaci úvodních fází imunitní odpovědi. Nejznámějšími adjuvancii jsou nekompletní Freundovo adjuvans (emulze minerálních olejů), kompletní Freundovo adjuvans (emulze minerálních olejů obsahující usmrčené mykobakterie) a hydroxid hlinitý (alum).

Očkovací látky musí mít určité vlastnosti. Musí být především bezpečné – vakcína nesmí sama vyvolat nemoc, jinak poškozovat organismus nebo způsobit smrt. Vakcína musí chránit organismus proti chorobě, vyvolané expozicí danému živému patogenu a ochrana proti chorobě musí přetrvávat co možná nejdéle dobu. Z dalších praktických vlastností vakcín jsou důležité i jejich cenová dostupnost, biologická stabilita a jednoduchý způsob imunizace.

Československo a oba následnické státy vždy patřily mezi průkopnické státy v zavádění celoplošného očkování proti různým infekčním chorobám (spalničky, příušnice, zarděnky, záškrť, dáivý kašel apod.). Za jeden z největších úspěchů je považováno vymizení přenosné dětské obrny v 60. letech minulého století. Dnes rozlišujeme povinné očkování, které je regulováno a hrazeno státem a dobrovolné očkování. Cílem povinného

očkování je zabránit těžkým projevům infekčních onemocnění s trvalým postižením, vyloučit úmrtí z infekcí a zabránit šíření infekcí a vzniku epidemií. Dobrovolně se mohou občané ČR nechat očkovat např. proti chřipce, meningokokovým nákazám, virové hepatitidě typu A, klíšťové encefalitidě, bakteriální hemofilové naze typu b, břišnímu tyfu, choleře apod.

Podle dalších kritérií rozlišujeme pravidelné očkování (celoplošné očkování dětí podle očkovacího kalendáře), zvláštní očkování (u osob vystavených riziku příslušné infekce – např. proti virové žlutence typu B nebo proti tuberkulóze u osob pracujících ve zdravotnictví, proti vzteklině u laborantů pracujících s viry vztekliny apod.), mimořádné očkování (vznikne-li nebezpečí epidemie nebo vyžadují-li to jiné důležité zdravotní okolnosti), očkování osob do/z ciziny (podle celosvětového nařízení Světové zdravotnické organizace v závislosti na výskytu epidemií) nebo očkování při úrazech, poraněních a nehojících se ranách (proti tetanu při úrazech, poraněních, bércových vředech a jiných nehojících se ranách; proti vzteklině po pokousání nebo poranění zvířetem podezřelým z infekce vztekliny).

### 12.3.2 Pasivní imunizace

Jako pasivní imunizaci označujeme imunizaci, kdy jsou imunizovanému jedinci dodávány již vytvořené protilátky proti určitému patogenu. Biologickou analogií pasivní imunizace je přestup mateřských protilátek do krve plodu, které ho chrání proti případným infekcím v době, kdy si ještě sám protilátky nedokáže tvořit. Praktickými příklady pasivní imunizace jsou terapeutické využití zvířecích protilátek proti různým toxinům (např. hadí jed, některé bakteriální toxiny) a profylaktické využití lidských imunoglobulinů z imunizovaných jedinců.

## **13 DOPORUČENÁ LITERATURA**

ACTOR Jeffrey K.: Introductory Immunology. Basic Concepts for Interdisciplinary Applications, 2nd ed. Elsevier Inc., 2019, 178 s.

HOŘEJŠÍ Václav, BARTŮŇKOVÁ Jiřina - Základy imunologie, 6. vyd. Triton, 2017, 304 s.

KLIMOV Vladimír V.: From Basic to Clinical Immunology. Springer Nature Switzerland AG, 2019, 377 s.

MURPHY Kenneth, WEAVER Casey - Janeway's Immunobiology, 9th ed. Taylor & Francis Group,, 2016, 924 s.

SHARMA Anil K.: Immunology. An Introductory Textbook. Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., 2019, 246 s.

SOMPAYRAC Lauren: How the Immune System Works, 6th ed. John Wiley & Sons Ltd, 2019, 156 s.

VIRELLA Gabriel: Medical Immunology, 7th ed. Taylor & Francis Group, LLC, 2020, 462 s.