

1. Úvod do imunitního systému

1.1 Antigen

1.2 Imunitní reakce

2. Složky imunitního systému

2.1. Lymfatické (imunitní) tkáně a orgány

2.1.1 Primární lymfatické orgány

2.1.2 Sekundární lymfatické orgány

2.2. Buňky imunitního systému (imunocyty)

2.3. Molekuly imunitního systému

2.3.1. Mezinárodní klasifikační systém buněk (CD molekuly)

2.3.2. Receptory leukocytů

2.3.3. Imunoglobuliny Ig (protilátky)

2.3.4. MHC molekuly (glykoproteiny)

2.3.5 Proteiny komplementu

2.3.6 Cytokiny

2.3.7 Adhezní molekuly

2.3.8 Ig domény

3. Nespecifická (vrozená) imunita

3.1. Receptory nespecifické imunity

3.1.1 TLR – Toll-like receptory

3.1.2 NLRs (NODs) – NOD-like receptory

3.1.3 RLRs – RIG-like receptory

3.1.4 CLR – C-typ lektinových receptorů

3.1.5 Skavangerové receptory

3.2. Nespecifická imunita na buněčné úrovni

3.2.1. Fagocytóza – základní proces nespecifické imunity

3.2.2. Cytotoxicita buněk nespecifické imunitní odpovědi

3.3. Humorální složka nespecifické imunity

3.4. Zánět

3. Nespecifická (vrozená) imunita

Nespecifická imunita je **evolučně původní, konzervovaný systém** zásahu proti patogenům, popř. dalším, potenciálně nebezpečným částicím. Vyskytuje se v různých formách napříč celou živočišnou říší od bezobratlých až po savce vč. člověka. Představuje **první linii imunitní obrany**. „Nástroje“ (rozpoznávací a výkonné mechanismy, receptory) nespecifické imunity jsou pro daný organismus **vrozené a během života neměnné**; jejich kvalita nepodléhá během ontogeneze žádným úpravám ani modifikacím (na rozdíl od receptorů specifické imunity – viz dále). S tím souvisí další rys nespecifické imunity: Vzhledem k neměnnosti jejich nástrojů, jsou mechanismy zásahu nespecifické imunity vždy stejné kvality (stejný mechanismus, rychlost i intenzita), bez ohledu na to, jestli jde o první nebo již opakované setkání s příslušným antigenem. Říkáme, že vrozená imunita **nemá imunologickou paměť**.

Klíčovým znakem vrozené imunity je však její nespecifičnost, tj. **schopnost reagovat proti širokému spektru patogenů** a dalším, potencionálně nebezpečným molekulám. Rozpoznává totiž jakési „vzory“¹, tj. chemické struktury typické pro skupiny patogenů nebo i vlastní, ale poškozené buňky. Rozlišujeme dvě základní skupiny antigenů, rozpoznávaných nespecifickou imunitou:

- **PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns)**. Jedná se o **exogenní antigeny patogenního původu** - bakterií, virů, plísní, hub, popř. mnohobuněčných parazitů aj. Z chemického hlediska jsou PAMPs např. lipopolysacharidy (LPS), peptidoglykany (mureiny), lipomanany, kys. (lipo)teichoová a flagelin bakterií, bakteriální DNA, virová dsRNA aj.
- **DAMPs (Danger/Damage-Associated Molecular Patterns)**. Jedná se o **endogenní „nebezpečné“** signály z vlastních poškozených nebo opotřebovaných buněk. Mohou to být jak tkáňové faktory produkované při zánětu, tak látky, které se za fyziologických podmínek volně mimo buňky nevyskytují, ale jsou od vnějšího prostředí izolovány membránami. Z chemického hlediska jsou DAMPs např. jaderné nebo cytosolové proteiny, heat-shock proteiny (HSPs), nukleové kyseliny a nukleotidy, ATP uvolněné z odumírajících buněk aj.

Nespecifická imunita má řadu výkonných složek na úrovni molekulární (receptory, proteiny komplementu, cytokiny), buněčné i tkáňové.

3.1. Receptory nespecifické imunity

Vzhledem k tomu, že se nespecifická imunita zaměřuje na detekci patogenních resp. nebezpečných molekulárních „vzorů“, označujeme receptory nespecifické imunity souhrnně termínem **Pattern Recognition Receptors (PRR)**. O receptorech nespecifické imunity platí:

- Rozpoznávají tzv. „pattern molekuly“, tj. chemické exogenní struktury sdílené patogeny (PAMPs) nebo endogenní molekuly sdílené poškozenými buňkami (DAMPs)
- Vyskytují se jak vázané na membrány (transmembránové receptory), tak rozpuštěné v cytosolu resp. tělních tekutinách
- Podle struktury, lokalizace a funkce rozlišujeme několik skupin pattern recognition receptorů (např. TLR, NLR, RLR, CLR, scavengerové receptory)

3.1.1 TLR – Toll-like receptor²

¹ Molecular Patterns

² Název Toll-like receptors je odvozen od genu „toll“ octomilky (*Drosophila melanogaster*), kde byly poprvé objeveny

TLR je jednou z nejstarších konzervovaných komponent imunitního systému, vyskytující se napříč celou živočišnou říší (bezobratlí i obratlovci). Jedná se o **membránové receptory**, vyskytujících se na povrchu různých imunocytů, ale také intracelulárně na membránách endosomů. Zprostředkují **první varovný signál o přítomnosti infekce**, prostřednictvím sekrece cytokinů aktivují zánětlivou reakci (viz dále) a mobilizují lymfocyty (buňky specifické imunity). S ohledem na typ rozpoznávaných chemických struktur rozlišujeme několik typů TLR receptorů (**tab. 3.1**)

Tab. 3.1 Přehled TLR receptorů u člověka (zdroj Abbas AK (2012). Cellular and molecular immunology; www.invivogen.com/review-tlr; poster xy)

		lokalizace	buňky	Typ detekovaného Ag
TLR1	CD 281	cytoplazmatická membrána (dimerizace s TLR2)	dendritické buňky monocyty, makrofágy neutrofilů	bakteriální lipoproteiny
TLR2	CD 282	cytoplazmatická membrána (dimerizace s TLR1)	dendritické buňky monocyty, makrofágy neutrofilů	bakteriální peptidoglykany
TLR3	CD 283	membrána endosomu	dendritické buňky monocyty, makrofágy T a B lymfocyty	virová dsRNA
TLR4	CD 284	cytoplazmatická membrána	dendritické buňky monocyty, makrofágy neutrofilů	bakteriální endotoxiny (LPS) DAMPs (HSPs, kys. hyaluronová)
TLR5		cytoplazmatická membrána	dendritické buňky monocyty, makrofágy neutrofilů	bakteriální flagelin
TLR6	CD 286	cytoplazmatická membrána (dimerizace s TLR2)	dendritické buňky monocyty, makrofágy	bakteriální endotoxiny (LPS) DAMPs (HSPs, kys. hyaluronová)
TLR7		membrána endosomu (dimerizace s TLR8)	dendritické buňky monocyty, makrofágy	virová ssRNA
TLR8		membrána endosomu (dimerizace s TLR7)	dendritické buňky monocyty, makrofágy T lymfocyty	Cytosin-Guanin DNA sekvence (CpG oligonukleotidy)
TLR9	CD 289	membrána endosomu	dendritické buňky monocyty, makrofágy neutrofilů T a B lymfocyty	Cytosin-Guanin DNA sekvence (CpG oligonukleotidy)
TLR10	CD 290	membrána endosomu	dendritické buňky neutrofilů T a B lymfocyty	Zatím bez známého ligandu; prokázán vztah k virovým infekcím ³

ROZŠÍŘUJÍCÍ INFO → TLR a Nobelova cena za fyziologii a medicínu

V souvislosti s TLR byli v r. 2011 oceněni Nobelovou cenou za fyziologii a medicínu tři vědci:

Jules A. Hoffmann (*2.8.1941, Francouzský biolog původem z Lucemburska). V r. 1996 dokázal, že bílkoviny zvané Toll-like receptory (TLR) dokážou u octomilek (*Drosophila melanogaster*) zprostředkovat obranu reakci organismu.

Bruce A. Beutler (*29.12.1957, Chicago, IL, USA Americký genetik a imunolog). V r. 1998 objevil u myši receptor TLR4 pro endotoxiny bakterií (bakteriální lipopolysacharidy LPS). Popsal jeho funkci.

Ralph M. Steinman (14.1.1943 - 30.9.2011, Montreal, Kanadský imunolog.). V r. 1973 objevil tzv. dendritické buňky, které tvoří důležitou součást imunitního systému a mohou najít využití mimo jiné při léčbě nádorů.

³ Lee S. M.Y. et al. (2014) Toll-like receptor 10 is involved in induction of innate immune responses to influenza virus infection. PNAS, vol. 111, no. 10, pp 3793-3798

3.1.2 NLRs (NODs) – NOD-like receptor⁴

Jde o skupinu více než 20 **intracelulárních receptorů** rozpoznávajících jak PAMPs, tak DAMPs a schopných **iniciovat zánětlivou reakci** popř. buněčnou smrt. Podle typu efektorové domény jsou NOD receptory rozděleny do 4 základních skupin (NLRA, NLRB, NLRC, NLRP (některé zdroje uvádí pátou skupinu NLRX):

- **NLRC** (obsahují doménu CARD). Patří sem např. **NOD1** a **NOD2**, rozpoznávající peptidoglykany bakterií, které pronikly do intracelulárního prostředí. Oba typy receptorů mají úzký vztah především k rozpoznávání bakterií trávicího traktu. Mutace v receptoru NOD2 má vazbu na střevní zánětlivá onemocnění jako např. Crohnova nemoc.
- **NLRP** (dříve označ. NALPs; obsahují pyrin doménu PYDs). Na základě stimulace antigenem (PAMPs, DAMPs) formují v cytoplasmě proteinový komplex – tzv. **inflamazóm**, který stimuluje IL-1 β a IL-18 aktivuje zánětlivou reakci.

3.1.3 RLRs – RIG-like receptor

Jedná se o skupinu **intracelulárních** cytoplasmatických RNA helikáz. Rozpoznávají virovou ssRNA i dsRNA a aktivují sekreci protivirového typ-I interferonu (IFN- α). Nejlépe charakterizované receptory této skupiny jsou **RIG-I** (Retinoic acid-inducible gene I) a **MDA5** (melanoma differentiation-associated gene).

3.1.4 CLR - C-typ lektinových receptorů⁵

Patří sem jak **povrchové transmembránové receptory**, tak **solubilní receptory** rozpuštěné v krvi a jiných tělních tekutinách. Jde o receptory schopné vázat **sacharidové zbytky**, které jsou typické pro bakterie, plísňe, kvasinky, ale nevyskytují se na povrchu savčích buněk (D-manóza, glukosaminy, glukany). Stimulací C-typu lektinových receptorů je aktivováno pohlcení stimulačního antigenu, popř. aktivace dalších imunitních reakcí, směřujících k eliminaci patogena nesoucího rozpoznatelný sacharidový antigen.

- **MMR⁶ manózový receptor makrofágů** (CD 206) je dominantním membránovým receptorem makrofágů a má význam především pro **iniciaci fagocytózy** rozpoznané infekční částice (dosud není známá žádná intracelulární signální dráha, která by aktivovala kaskádu dalších imunitních reakcí).
- **MBL⁷ manózový solubilní receptor** je rozpuštěný v tělních tekutinách, kde se váže na sacharidové zbytky mikroorganismů a tím **aktivuje proteiny komplementu** (viz dále). MBL také váže zestárlé a apoptické buňky a stimuluje jejich **fagocytózu**.
- **Galaktózový receptor makrofágů** váže glykoproteiny s galaktózovým zbytkem (jsou odstraňovány z krve v jaterním parenchymu)
- **Dectin-1, Dectin-2** (dendritic cell-associated lectins) vyskytují se hl. u **dendritických buněk** a rozpoznávají povrchové sacharidové zbytky **kvasinek**. Jedná se o **signalizační receptory**, které aktivují intracelulární signální dráhy vedoucí k rozvoji zánětlivé reakce a iniciaci specifické imunity.
- **Langerin⁸** (CD 207) další lektinový **receptor dendritických buněk**. Hraje důležitou roli v patogenezi HIV. Epidermální dendritické buňky váží prostřednictvím langerinu povrchový virový glykoprotein (gp 120) a lymfatickým systémem ho transportují k CD4 T lymfocytům, které HIV infikuje.

⁴ Název podle přítomnosti Nucleotide-binding Oligomerization Domain; někdy označovány také jako Caterpillars

⁵ C-typ protože jejich proces aktivace je závislý na Ca⁺⁺; „lektin“ vyjadřuje vazbu na sacharidy

⁶ Mannose macrophage receptor

⁷ Mannose binding receptor

⁸ Pojmenován podle nejčastějšího výskytu u Langerhansových buněk = typ epidermálních dendritických buněk

3.1.5 Skavangerové receptory

Jedná se o skupinu **povrchových membránových receptorů** exprimovaných především makrofágy a označovaných také jako „uklízeč“ receptory. Váží negativně nabitě částice, především **oxidované lipoproteiny LDL**⁹. Aktivací receptoru je iniciována **fagocytóza** negativně nabitě částice. Makrofágy pohlcující LDL a usazující se ve stěnách cév formují tzv. „pěnové buňky“ a podílejí se tak na rozvoji aterosklerózy.

Některé typy skavangerových receptorů váží také PAMPs (LPS, glukany a další bakteriální antigeny).

Obecně lze tedy shrnout, že charakter nespecifické imunitní odpovědi závisí na typu a lokalizaci příslušného receptoru rozpoznávajícího PAMPs a/nebo DAMPs.

Stimulace povrchových membránových receptorů typicky iniciuje následující děje:

- *Fagocytózu* a intracelulární degradaci antigenní částice (PAMPs, DAMPs), která receptor aktivovala
- Aktivaci dalších nespecifických popř. specifických imunitních reakcí prostřednictvím signalizace a uvolněním příslušných cytokinů

Stimulace intracelulárních receptorů (solubilních nebo vázaných na intracelulární membrány) typicky iniciuje následující děje:

- *Formování inflamazómu* a rozvoj *zánětlivých reakcí* prostřednictvím produkce zánětlivých cytokinů (např. IL-1 β , IL-18)
- Aktivace programové buněčné smrti – *apoptózy* prostřednictvím aktivace kaspázy-1
- Aktivace dalších nespecifických popř. specifických imunitních reakcí prostřednictvím signalizace a uvolněním příslušných cytokinů

3.2. Nespecifická imunita na buněčné úrovni

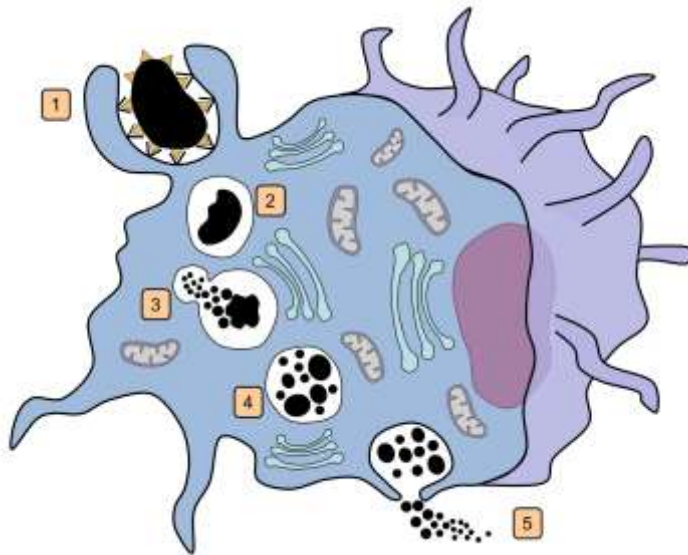
Buňky nespecifické imunity představují první rychlou obrannou linii při zásahu těla proti patogenům. K buňkám vrozené imunity patří především **granulocyty** (neutrofilní, bazofilní a eozinofilní), **mononukleáry (monocyty** a tkáňové **makrofágy)**, **dendritické buňky** a **NK buňky**. K základním obranným procesům, které tyto buňky využívají, patří **fagocytóza** (mnohdy spojena s **chemotaxí, adhezí** a **diapedézou**) a **cytotoxicita**.

3.2.1. Fagocytóza – základní proces nespecifické imunity

Fagocytóza je evolučně velmi starý proces, se kterým se setkáváme už u primitivních bezobratlých živočichů. Jedná se o specifický typ endocytózy, kdy buňka pohlcuje větší částice, které nemohou volně procházet přes buněčnou membránu¹⁰. U vyšších živočichů se vyvinula populace buněk, které využívají fagocytózu k zajištění obranyschopnosti organismu. Tyto buňky označujeme jako **profesionální fagocyty** a pohlcované částice představují **antigeny**. Proces fagocytózy není náhodný; jedná se o specializovaný děj, kterému předchází receptorová signalizace, následná přestavba cytoskeletu fagocytující buňky, změny jejího tvaru a vytvoření buněčných výběžků (pseudopodií), které obklopí fagocytovanou částici do **fagosomu** (obr. 3.1). Mezi profesionální fagocyty patří především **neutrofilní granulocyty, monocyty, makrofágy** a **dendritické buňky**. Jednotlivé fagocyty se liší místem výskytu, schopností rozpoznávat a fagocytovat konkrétní částice a charakterem reakce jako odpověď na druh antigeny (viz dále).

⁹ Low density lipoproteins

¹⁰ Potravní částice, proteiny, lipoproteiny a metaloproteiny (např. transportní LDL, HDL, transferin, ceruloplazmin aj.), měchýřky tekutin (tzv. pinocytóza), ale i bakterie nebo viry.

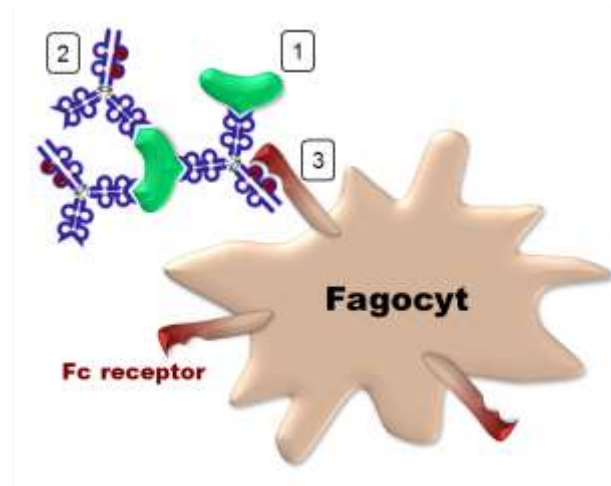
**Obr. 3.1****Schéma fagocytózy**

Po rozpoznání antigenní částice prostřednictvím receptoru, je antigen obklopen pseudopodií fagocytující buňky (1). Pohlčený antigen je uzavřen do fagosomu (2), který následně splývá s lysozomem (3). Ve váčku pak dochází účinkem enzymů k rozkladu pohlčené antigenní částice (4). Produkty rozkladu jsou nakonec exocytózou odstraněny z fagocytu (5)

Fáze fagocytózy

- **Rozpoznání antigenů.** Antigenem stimulujícím fagocytózu mohou být jak složky nebo produkty patogenů (exogenní infekční antigeny, tzv. PAMPs), tak stresové faktory vlastních tkání (látky produkované vlastními zestárými nebo poškozenými buňkami, tzv. DAMPs). Fagocyty rozpoznávají svoji „kořist“ prostřednictvím celé škály receptorů, které nespecificky rozpoznávají „molekulové vzory“ společné skupinám patogenů nebo poškozených vlastních buněk. Tyto receptory souhrnně označujeme jako PRR (pattern recognition receptors) - **kap. 3.1**
Důležitou roli při rozpoznání mikrobiálního antigenu fagocytem hraje také označení antigenu imunoglobuliny¹¹ a proteiny komplementu. Tato tzv. **opsonizace** „zviditelní“ fagocytům daný antigen a tím usnadní jeho rozpoznání. Fagocyty totiž, kromě PRR, obsahují tzv. **Fc receptory**, které rozpoznávají Fc doménu na imunoglobulinech obklopujících antigen (**obr. 3.2**).
- **Vlastní fagocytóza.** Po vzniku vazby povrchových receptorů fagocytu s antigenem je iniciován proces intracelulárního přeskupení cytoskeletu¹² a následného formování výběžků cytoplazmy (pseudopodií), které pohlcovaný antigen uzavřou v buňce do membránového váčku, tzv. **fagosomu**.
- **Likvidace pohlčeného antigenu.** V buňce splývá fagosom s **lysozomy**, „kyselými“ membránovými měchýřky (pH 4-5), které obsahují **antibakteriální látky** (např. protein defenzin) a **hydrolýtické enzymy** (proteázy katepsin, glykosylhydroláza lysozym). Během fagocytózy také dochází k aktivaci membránového enzymu NADPH-oxidázy. Jeho činností vznikají z NADPH¹³ a kyslíku reaktivní kyslíkové sloučeniny (**ROS, Reactive Oxygen Species**), jako např. superoxidový radikál O_2^- , peroxid vodíku, singletový kyslík¹⁴ a chlornanových aniontů ClO^- . Tyto sloučeniny jsou vysoce reaktivní a narušují DNA, enzymy a další biopolymery mikroorganismů. Děje spojené s aktivací NADPH-oxidázy jsou pro vysokou spotřebu kyslíku nazývány **oxidačním vzplanutím**.

¹¹ protilátky¹² především kontraktilních proteinů mikrofilament a mikrotubulů¹³ Redukovaná forma nikotinamidnukleotid fosfátu¹⁴ Singletový kyslík je vysoce reaktivní excitovaná forma kyslíku, u které dochází ke změně spinu vnějších elektronů.

**Obr. 3.2****Fc receptor a opsonizace**

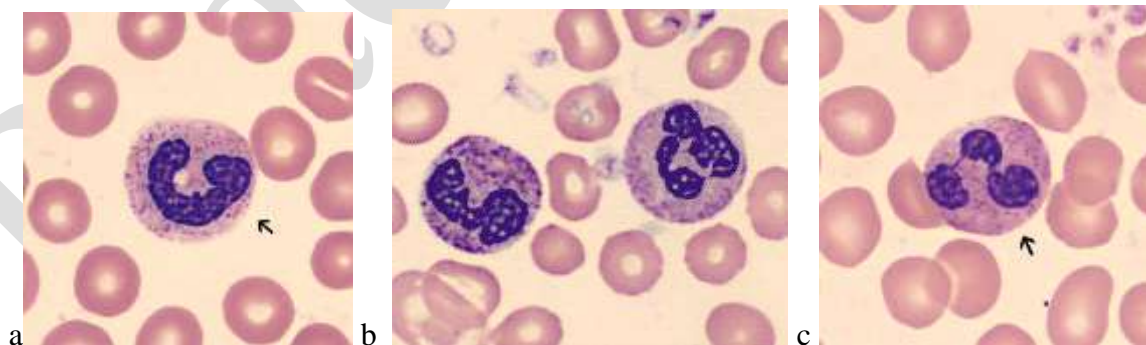
Na antigenní částice (1-zeleně) se mohou navázat protilátky (2-modře), jejichž součástí je také Fc doména (na obr. hnědě). Fagocyty obsahují Fc receptory, schopné vázat se s Fc doménou protilátek, opsonizujících antigen (3).

Vzhledem k tomu, že fagocyty odstraňují kromě patogenů nejen organismu vlastní ale také poškozené nebo zestárlé buňky, je třeba nepoškozené, normálně fungující buňky před fagocyty chránit. **Ochrana vlastních buněk před fagocyty** je zajištěna přítomností ochranných proteinů na povrchu normálních buněk. Tyto proteiny (např. CD47, CD200) jsou rozpoznávány inhibičními receptory fagocytů, jejichž stimulací je tlumena fagocytární aktivita.

Prezentace antigenu T lymfocytům

Fagocytující buňky mají, kromě schopnosti likvidace fagocytované částice, také schopnost prezentovat („vystavit“) její fragmenty na svém povrchu a tím informovat další imunocyty, konkrétně T lymfocyty o tom, jaká nebezpečná částice se v těle nachází. T lymfocyty pak prostřednictvím cytokinů aktivují specifickou imunitní odpověď. Tento proces propojuje nespecifickou a specifickou imunitu a patří v rámci obrany organismu k mimořádně významným.

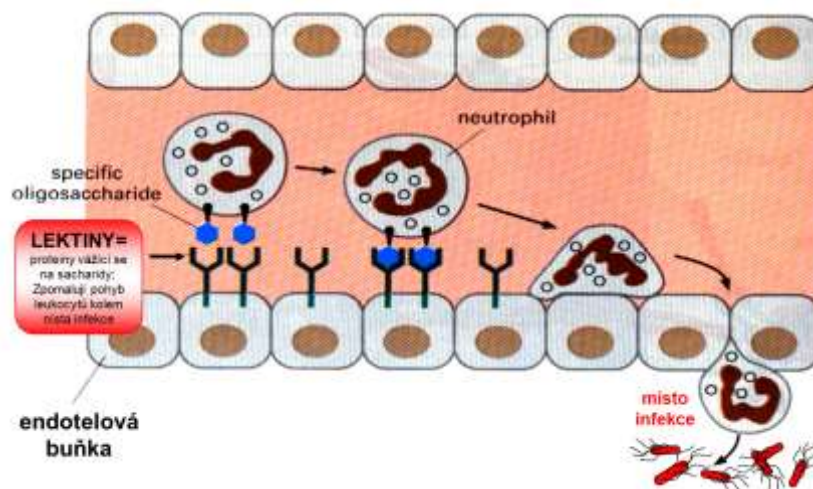
Fagocyty schopné prezentovat Ag označujeme jako **profesionální antigen prezentující buňky** (APC – Antigen Presenting Cell). Budeme se jim podrobněji věnovat v **kap. T lymfocyty, obr. xx a kap. Imunogenetika**.

**Obr. 3.3 Morfologie neutrofilních granulocytů a jejich jader:**

Stupeň segmentace jádra neutrofilů odráží stáří buňky. a) Ranější stádia mají jádro nesegmentované (ledvinovitého až „rohličkovitého“ tvaru) - stádium tzv. „tyčky“; b,c) Starší neutrofilny mají jádro segmentované do více laloků, často nitkovitě spojené. – stádium tzv. „segment“. (foto HOK FN OL).

Přehled profesionálních fagocytů

- **Neutrofilní granulocyty (neutrofilů).** Neutrofilů jsou součástí **první rychlé obrany** organismu především proti bakteriální infekci. Jedná se o nejpočetnější druh bílých krvinek ze skupiny granulocytů. **Granula** obsahují enzym **lysozym**, enzymy štěpící kolagen a elastin, a **baktericidní enzymy** (např. defenzin). V krvi představují 50-70% všech leukocytů. Mají **segmentované jádro**¹⁵, přičemž počet jaderných segmentů odráží stáří neutrofilu - čím je neutrofil starší, tím více segmentů jádro má (obr. 3.3). Neaktivované neutrofilů mohou přežít v krvi několik dní. Po aktivaci, za součinnosti endotelových buněk cév jsou přitahovány k místu infekce, kde procházejí cévní stěnou do postižené tkáně – proces nazývaný **diapedéza** (obr. 3.4). V tkáních kde intenzivně fagocytují, přežívají cca 6-12 hod a po odumření jsou hlavní součástí hnisu.



Obr. 3.4. Migrace (diapedéza) neutrofilů do místa infekce nebo poškození.

Migrace neutrofilů do místa poškození je výsledkem spolupráce chemokinů, selektinů a integrinů¹⁶. Proces je řízen chemotakticky: k látkám s chemotaktickými účinky uvolňovanými v místě zánětu patří chemokiny (např. IL-8), složky komplementu (C3a, C5a), leukotrieny nebo IFN-gamma. Přichycení a průnik fagocytů mezi endotelálními buňkami cév do poškozených tkání (diapedéza) je zprostředkován adhezními molekulami selektiny, exprimovanými endotelovými buňkami jako reakce na látky uvolňované v poškozené tkáni.

Neutrofilů mají řadu specializovaných receptorů: (1) Receptory pro chemokiny¹⁷ ovlivňují migraci buněk do místa poškození, (2) receptory pro lektiny endotelu cév umožňují rozpoznání a přichycení neutrofilu na endotel cévy v místě infekce. (3) **Fc receptor** rozpoznává Fc oblast protilátek IgG vázaných na mikroorganismy (obr. 3.2). Aktivace Fc receptorů stimuluje fagocytózu infekční částice opsonizované¹⁸ protilátkami. (4) **Receptory pro komplemetové proteiny** vázané na patogena opět aktivují fagocytózu neutrofilu. (5) Prostřednictvím **TLR receptorů** rozpoznávají především bakteriální lipopolysacharidy; aktivací TLR receptorů dochází prostřednictvím změny signálních drah ke změně transkripce genů pro cytokiny a uvolněné cytokiny pak mohou aktivovat fagocytózu infekční částice.

¹⁵ Často vypadá jako více menších jader, proto jsou neutrofilů také nazývány jako „polymorfonukleární leukocyty“ PMN

¹⁶ Membránové receptory leukocytů, napojené na cytoskelet; po aktivaci zprostředkovávají změnu tvaru leukocytu, např. protažení leukocytu mezi buňkami endotelu cév (diapedéza)

¹⁷ Chemokiny patří ke skupině cytokinů (nízkomolekulární peptidy) s chemotaktickým účinkem, produkované např. makrofágy jako reakce na infekci

¹⁸ = obklopené

Kromě fagocytózy, využívají neutrofilny k eliminaci patogena ještě další mechanismy, tzv. **neutrofilní extracelulární sítě (NETs)**¹⁹. Jde o síť vláken tvořených chromatinem, různými proteázami a dalšími antibakteriálními látkami uvolněnými do extracelulárního prostředí z neutrofilu. NETs představuje pro bakterii jak chemickou, tak fyzikální bariéru, která patogeny ničí a omezuje jejich šíření.

Poslední mechanismus likvidace patogena, využíván neutrofilny je **degranulace** - uvolnění antibakteriálních látek z granulí, např. lysozym, defenzin, oxidázy, proteázy.

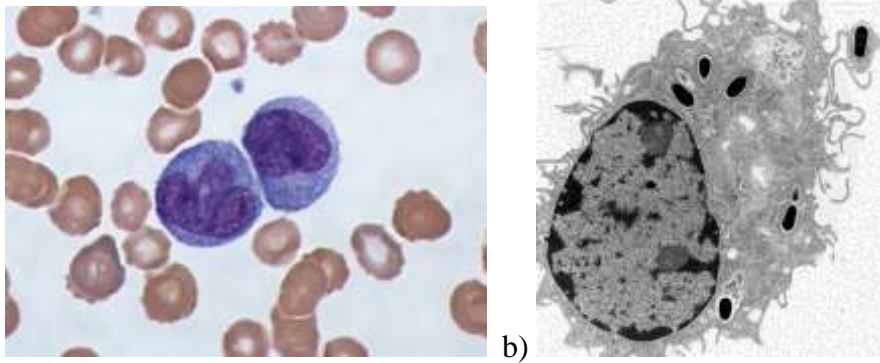
Neutrofilny běžně neexprimují proteiny MHC II a nepatří proto k antigen prezentujícím buňkám (viz dále).

- **Monocyty.** Jedná se o největší typ²⁰ leukocytů ze skupiny agranulocytů - představují 2-10% bílých krvinek. Monocyty spolu s makrofágy jsou vzhledem ke kulovitému minimálně členěnému jádru označovány jako *mononukleární fagocyty* (obr. 3.5.). V krvi kolují monocyty jen několik hodin a potom migrují z krevního řečiště do tkání a diferencují do různých subpopulací. Podle povrchových molekul a dynamiky migrace dělíme monocyty na několik subpopulací: (1) „*zánětlivé*“ *monocyty* na základě chemotaxe rychle vstupují do místa tkáňové infekce a diferencují na makrofágy, které intenzivně fagocytují a likvidují patogeny. Aktivované monocyty produkují především zánětlivé cytokiny (např. IL-1, IL-12 a TNF) a následně aktivují CD4⁺ Th₁ lymfocyty (viz kap. 6). Makrofágy v endotelu cév se mohou měnit na tzv. pěnové buňky a podílí se na aterosklerotických změnách cévní výstelky. (2) monocyty usazující se v různých tkáních a diferencující se do *specializovaných typů tkáňových makrofágů* (viz dále). (3) Monocyty diferencující se do různých populací *dendritických buněk* (konvenční DC, plazmacytoidní DC).
- **Makrofágy.** Představují různé populace specializovaných tkáňových fagocytujících buněk: **mikroglie** v nervové soustavě, **Kupfferovy buňky** v játrech, **alveolární makrofágy** v plicní tkáni, **osteoklasty** v kostech. Makrofágy exprimují receptory, rozpoznávající jak povrchové molekuly mikroorganismů (PAMPs), tak vlastní poškozené buňky (DAMPs): **Manózoové receptory** vážou bakteriální polysacharidy s terminální manózou a iniciují fagocytózu. Prostřednictvím signalizačních **TLR receptorů** rozpoznávají makrofágy různé patogenní, ale i endogenní stresové faktory a následně prostřednictvím cytokinů spouští imunitní reakce vedoucí k eliminaci antigenu. **Scavengerové receptory** rozpoznávají oxidované lipidy vlastních poškozených buněk a iniciují jejich fagocytózu. Makrofágy patří k **profesionálním antigen prezentujícím buňkám** (APC) – fagocytované částice prezentují na svém povrchu ve vazbě na proteiny MHC II, kde je komplex „Ag-MHC II“ rozpoznán pomocnými T_h lymfocyty, které pak zpětně modifikují činnost makrofágů a dalších buněk (kap. 6).

¹⁹ Volker B., Neutrophil extracellular Traps Kill Bacteria, Science 303 (5663): 1532-1535.

doi:10.1126/science.1092385

²⁰ 10 – 15 μm



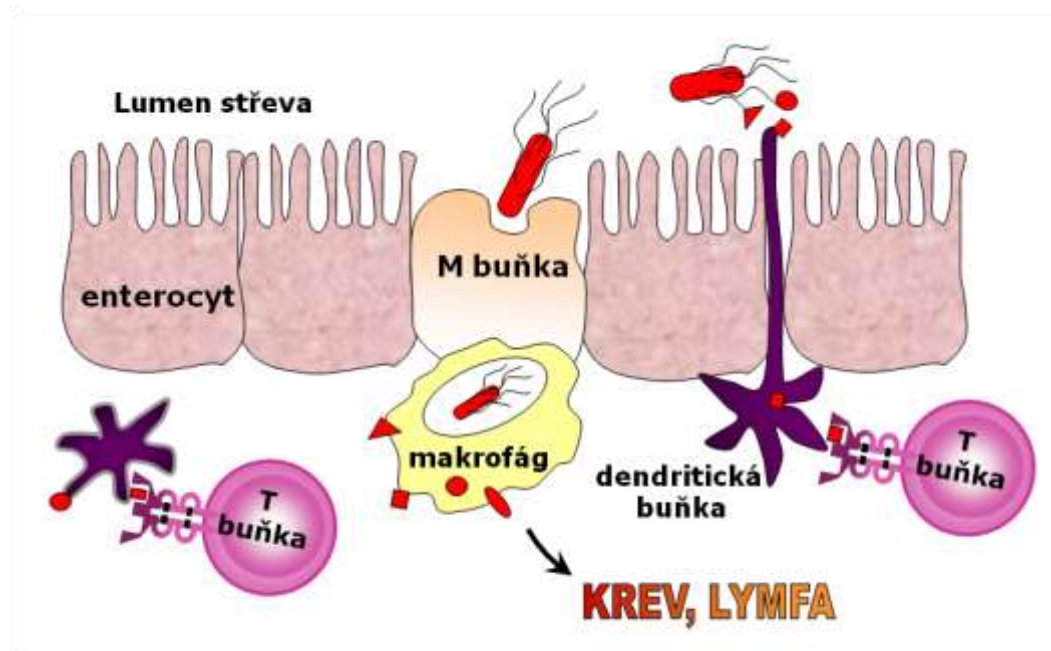
a) **Obr. 3.5.** a) Monocyt; b) makrofág (Washington University School of Medicine, Dept. of Pathology and Immunology) Richard Swartz, M.D., and Clifford Holmes, Ph.D. N Engl J Med 1995; 333:1546)

- **Eosinofilní granulocyty.** Další druh nespecifických bílých krvinek (1-6% celkového počtu), vyskytující se především na sliznicích (respirační, trávicí, urogenitální trakt), slezině a lymfatických uzlinách. Uplatňují se při imunitních procesech proti mnohobuněčným parazitům. V granulích **obsahují histamin, plasminogen, peroxidázy, lipázy, ribonukleázy, PAF²¹, prostaglandiny, leukotrieny** a další látky toxické pro parazity, ale i pro tkáň hostitele. Především leukotrieny udržují bronchokonstrikci, zvýšenou produkci hlenu a propustnost cévních stěn. Spolu s žírnými buňkami (**kap. 3.2.2**) se tak podílejí na procesech astmatu a alergií.
- **Dendritické buňky (DC, dendritic cell).** Heterogenní populace imunocytů, charakteristická četnými povrchovými výběžky²². **Nezralé DC** se vyskytují v organismu především v tkáních, které jsou v kontaktu s vnějším prostředím: kůže, epitely dýchací trávicí a urogenitální soustavy²³. Zde neustále fagocytují vzorky potencionálně škodlivých částic, které rozpoznávají především prostřednictvím **TLR receptorů**. Po stimulaci antigenem migrují **zralé DC** do lymfatických uzlin, kde **prezentují pohlcený antigen ve vazbě na MHC proteiny T lymfocytům** a tím tyto typické představitele specifické imunity aktivují. Dendritické buňky jsou nejúčinnější **antigen prezentující buňky (obr. 3.6) – více kap. 6**. Představují tak mezičlánek mezi nespecifickou a specifickou imunitní reakcí.

²¹ Platelet Activation Factor

²² název odvozen na základě morfologické podoby s dendrity neuronů

²³ DC v kůži se nazývají Langerhansovy b., DC v ostatních orgánech jako intersticiální b



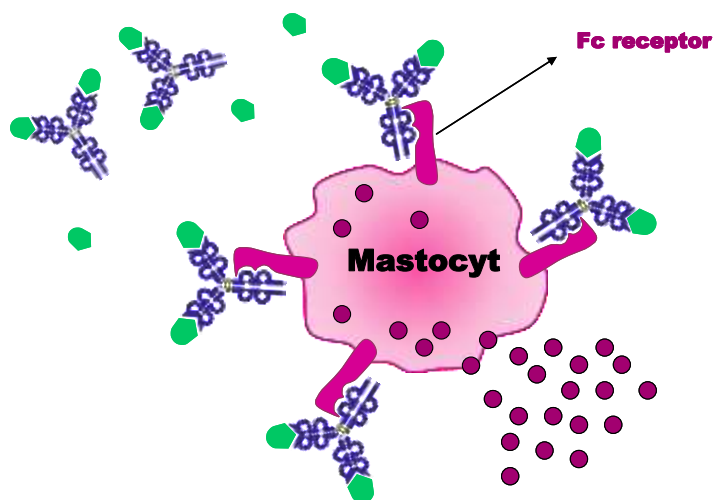
Obr. 3.6. Dendritické buňky na epitelu tenkého střeva

Dendritické buňky (tmavě fialová) fagocytují potenciální antigeny (vzorky bakterií, na obr. červeně) a prezentují je T lymfocytům (růžovo-fialová) nacházejícím se v tkáni pod epitelem.

3.2.2. Cytotoxicita buněk nespecifické imunitní odpovědi

- **Bazofilní granulocyty (bazofily)** tvoří méně než 1% leukocytů. Podobně jako mastocyty mají **Fc receptor s vysokou afinitou k IgE protilátkám**. V cytoplasmě obsahují granula s histaminem, heparinem a dalšími chemokiny. Účinkem histaminu dochází k dilataci cév, a zvýšení permeability vlásečnic. Uspodňuje se tak uvolnění proteinů a leukocytů do postižené tkáně, kde mohou zasáhnout proti patogenu. Podílejí se na vzniku alergických reakcí.
- **Žírné buňky (mastocyty)** – vyskytují se především v pojivkách a sliznicích – jedná se o tkáňové formy bazofilů. Jsou hlavními buňkami podílejícími se na rozvoji alergií a imunitě proti parazitům. Mastocyty obsahují granula s hydrolytyckými enzymy, heparinem, histaminem, serotoninem. Typickým receptorem mastocytů je **Fc receptor s vysokou afinitou k IgE protilátkám**. Při vazbě Fc receptoru mastocytu na IgE protilátku s navázaným antigenem, dochází k degranulaci, tj. uvolnění obsahu granul (**obr. 3.7**). Histamin působí jako vazodilatátor, ovlivňuje mimo jiné hladké svalstvo bronchů a napomáhá tak k mechanickému vypuzení parazita (kašel, peristaltika střev). Pokud dojde k masivní degranulaci a uvolnění většího množství histaminu, může se vyvinout silná alergická reakce postihující celý organismus. Mluvíme pak o tzv. **anafylaktickém šoku**²⁴.

²⁴ histamin způsobí systémovou vazodilataci cév a tím pokles tlaku, následné nedokrvění orgánů a jejich selhání; jde o život ohrožující stav

**Obr. 3.7****Degranulace mastocytu**

Pokud dojde k navázání antigenu (zeleně) na IgE protilátky (modře) vázané prostřednictvím Fc receptoru (růžově) k mastocytu, dojde k degranulaci buňky a uvolnění prozánětlivých látek do blízké okolí (hnědě).

- **Cytotoxické NK buňky** (Natural Killers, tj. „přirození zabíječi“). Velké granulární lymfocyty, které tvoří 5-15% lymfocytů v krvi a slezině. NK buňky jsou vývojově nejbližší T lymfocytům, ale na rozdíl od nich nemají antigenně specifický receptor. NK buňky rozpoznávají buňky infikované intracelulárními patogeny a buňky s narušenými funkcemi; specializují se tedy především na **obranu proti virům a nádorovým buňkám**. Využívají podobné cytotoxické mechanismy jako cytotoxické T lymfocyty. Granula NK buněk obsahují perforiny, granzymy a proteázy aktivující signální dráhy pro **spuštění buněčné smrti**. NK buňky jsou aktivovány jednak cytokiny produkovanými především makrofágy (IL-15 a IL-12) ale hlavně signály ze dvou typů povrchových receptorů:
 - A) pozitivní (stimulační) receptory:** Zahrnujeme k nim např. adhezni molekuly (lektiny) nebo **Fc receptor vážící se na IgG protilátky** opsonizující antigen. Signály z těchto receptorů aktivují cytotoxické mechanismy NK buněk, degranulaci a sekreci perforinů, granzymů a IFN- γ ²⁵.
 - B) negativní (inhibiční) receptory:** Jedná se o receptory **rozpoznávající glykoproteiny MHC-I**, které jsou běžně exprimovány všemi zdravými jadernými buňkami. Signály z těchto receptorů inhibují cytotoxickou aktivitu NK buněk, které buňku nesoucí odpovídající množství MHC-I proteinů, nezabíjí. Pokud je však zaznamenána snížená exprese MHC-I molekul²⁶, pak jsou signály z inhibičních receptorů nedostatečné a NK buňka nestandardní buňku zabíjí. Rozeznáváme dva typy inhibičních receptorů NK buněk:
 - KIR (**K**iller **I**nhibitor **R**eceptor), inhibiční receptory imunoglobulinového typu (obsahují Ig domény – **kap. 2.3.8**). Váží se na různé alely MHC-I glykoproteidů (HLA-A, HLA-B, HLA-C)
 - C-lektinové receptory, které se vážou na nestandardní MHC-I glykoproteiny (např. HLA-E)

Tab. 3.2 Přehled hl. buněk nespecifické imunity

Typ buňky	výskyt	receptory	funkce
Neutrofil	krv, tkáň	TLR, Fc pro protilátky, receptor pro komplemet, receptory pro chemokiny a lektiny endotelu	rozpoznávání PAMPs , diapedéza, fagocytóza

²⁵ děj označujeme jako cytotoxickou reakci závislou na protilátkách; ADCC-Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity

²⁶ nádorové buňky nebo některé viry se brání před rozpoznáním cytotoxickými lymfocyty tím, že potlačují expresi MHC-I glykoproteidů

Monocyt Makrofágy	krev, slezina, další tkáň	Receptory pro chemokiny, TLR, Fc pro protilátky, receptor pro komplemet	rozpoznání PAMPs, rozpoznání DAMPs diapedéza, fagocytóza,
Dendritické buňky	různé tkáň lymfatické uzliny	TLR	rozpoznání PAMPs fagocytóza, prezentace antigenu
NK buňky	krev, slezina	stimulační r.: Fc inhibiční r.: KIRs, C-lektinové	detekce virových a nádorových buněk; indukce apoptózy
Eozinofily	krev, sliznice	Fc receptor pro IgM, IgA a IgE	toxicita k parazitům tkáňová toxicita účast na alergických reak.
Bazofily	krev, sliznice	Vysoce afinitní Fc receptor pro IgE	zánětlivá alergická reakce (hypersensitivita)
Mastocyty (žírné buňky)	sliznice, další tkáň	Vysoce afinitní Fc receptor pro IgE	zánětlivá alergická reakce (hypersensitivita)

3.3. Humorální složka nespecifické imunity

Proteiny komplementu (PK, komplement) představují soubor asi 30 sérových a membránových proteinů, které komplementují (tj. doplňují) funkce protilátek. Hlavními složkami komplementu je 9 sérových proteinů C1-C9 a řada fragmentů (např. C3a, C3b, C5a) Komplementové proteiny se v krvi vyskytují v inaktivní podobě, avšak mohou být různými mechanismy aktivovány. Aktivací je spuštěn řetězec kaskádovitých přeměn, kdy jednotlivé PK mezi sebou vzájemně interagují a výsledkem jsou efektorové formy eliminující mikroby. Finální produkty řetězové aktivace KP mají následující funkce:

- kovalentně se vážou na povrch mikroorganismů, kde perforují membránu patogena **tvorbou lýtických pórů**²⁷, které způsobí následnou **lýzi a smrt bakteriální buňky**
- vážou se na protilátky přichycené na antigen; touto **opsonizací** usnadní rozpoznání antigenu fagocyty
- v místě poškození nebo infekce působí jako **chemický atraktant** pro další leukocyty

Aktivace komplementu

Kaskáda komplementu se aktivuje třemi různými cestami: klasickou, alternativní a lektinovou

- **Klasická cesta:** Pro aktivaci je nezbytná vazba na imunoglobuliny IgG nebo IgM navázané na povrchu antigenu. Začíná vazbou C1 na protilátky, dále se postupně aktivují a štěpí jednotky C2 a C4 za vzniku C3-konvertázy, která rozštěpí ústřední jednotku C3 na C3b (váže se na povrch patogenu) a C3a (funguje jako volný, chemotaxin). C5-konvertáza umožní vznik MAC (odkaz na poznámku pod čarou) (C5b-C9)- vznikne lýtický pór. Klasická cesta je poměrně zdlouhavá a vyžaduje přítomnost protilátek.
- **Lektinová cesta.** Je alternativou klasické cesty. Pro její aktivaci je ale potřebný lektin vážící se na mannózové zbytky povrchu patogena a štěpící C2 a C4.
- **Alternativní cesta:** Spouští se přímo vazbou na mikroorganismy bez přítomnosti protilátek²⁸. C3 se samovolně rozštěpí na C3a a C3b, C3b se naváže na povrch patogena a za pomoci faktoru B a D, vznikne C5 konvertáza, která umožní vznik MAC.

I když se začátky jednotlivých aktivačních cest liší, všem je společné vytvoření enzymového komplexu C3 konvertázy (proteolyticky štěpí nejhodnější KP C3 na C3a, C3b) a C5

²⁷ MAC, Membrane Attack Complex

²⁸ Aktivují ji některé sacharidy, viry a buňky určitých typů nádorů.

konvertázy. Závěrečným krokem kaskády je formování MAC pomocí C9 a tím vytvoření lytického póru.

Receptory pro komplementové proteiny

Řada imunitních buněk má receptory pro fragmenty komplementových proteinů a jsou proto jejich aktivací ovlivňovány.

- **Typ 1. receptoru (CR1 = CD35).** Vyskytuje se u erytrocytů, neutrofilů, monocytů, eosinofilů, T a B lymfocytů a folikulárních dendritických buněk. Stimuluje fagocytózu imunitního komplexu opsonizovaného proteiny komplementu.
- **CR2 (CD21).** Stimuluje látkovou imunitu. Vyskytuje se u B lymfocytů, folikulárních dendritických buněk a některých epiteliálních buněk
- **CR3 (CD11b, CD18, někdy označ. jako Mac-1).** Jedná se o integrin²⁹. Iniciuje fagocytózu a stimuluje uchycení neutrofilů ke stěně cév a následnou diapedézu. Vyskytuje se u neutrofilů, monocytů, makrofágů, mastocytů a NK buněk.
- **CR4 (CD11c, CD18).** Jedná se o integrin s podobnými funkcemi jako Mac-1
- **CR1g:** Receptor imunoglobulinové rodiny, vyskytující se u Kupferových buněk (tkáňové makrofágy jaterních buněk)

3.4. Zánět

Komplex reakcí nespecifické imunity³⁰ ve vaskularizované tkáni se projeví jako **zánět**. Jde o **reakci živého organismu na poškození tkáně** infekcí, mechanicky, chemicky nebo ischemií. Zahrnuje komplex biochemických a imunologických změn, které vedou k ochraně a zhojení. Zánět je reakcí obrannou, ale může být i sebepoškozující.

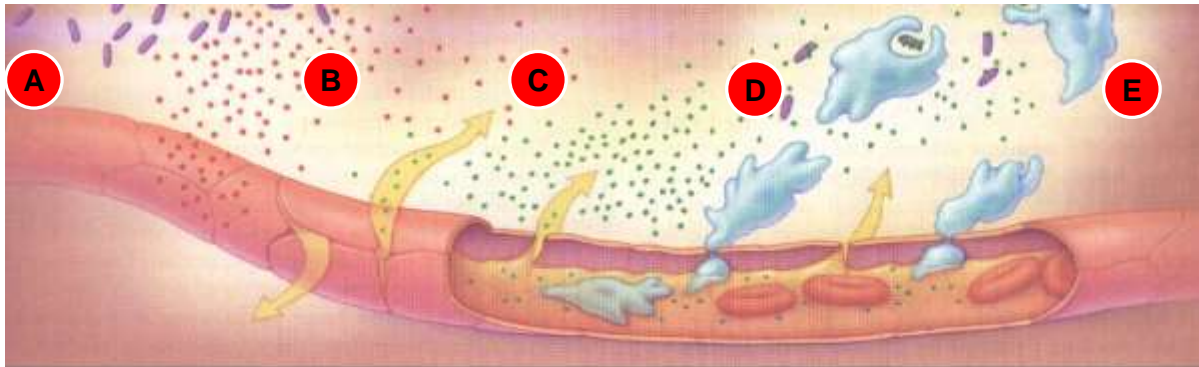
Obecnými signály k rozvoji zánětu jsou látky uvolněné z poškozených buněk (histamin, leukotrieny, prostaglandiny) a rozpoznání přítomnosti patogenů specializovanými tkáňovými buňkami (makrofágy, mastocyty). Tyto počáteční signály iniciují v místě poškození řadu dalších dějů (**obr. 3.8**):

- Jako reakce na škodliviny uvolňované poškozenou tkání, dochází k uvolnění spojů mezi endoteliálními buňkami a tím ke **zvýšení propustnosti cév**. To vede k prostupu plazmy spolu s makromolekulárními látkami (proteiny komplementu, protilátky) do extravaskulárního prostoru (**obr. 3.8 a, b, c**). Aktivované proteiny komplementu vytvářejí v membránách bakterií lytické póry a zároveň aktivují fagocytózu.
- Endoteliální buňky **exprimují adhezivní molekuly**, které zachytávají fagocyty. Ty pak prostupují stěnou cév do tkáně (**diapedéza**) a fagocytují patogeny popř. zbytky poškozených buněk (**obr. 3.8 d, e**).
- Dochází k vazodilataci cév a **zvýšení prokrvení**.
- Tlakem kumulované tekutiny jsou **aktivovány nervová zakončení**, což se projevuje bolestí.
- Dochází ke **změně regulace tělesné teploty**, protože některé uvolňované látky působí jako pyrogeny.
- V případě poškození cév se aktivuje **koagulační** a následně **fibrinolytický systém** ve snaze omezit krvácení.

²⁹ receptor, který aktivuje pohyb a změnu tvaru buňky

³⁰ V návaznosti na to se ale aktivuje také specifická imunita

Z hlediska původu může být zánět bakteriální, autoimunitní, neinfekční, mykotický aj. Z hlediska délky trvání rozlišujeme krátkodobý **akutní zánět**, který je považován za fyziologický a končí bez následků kompletním zhojením tkáně. Naproti tomu dlouhodobý **chronický zánět**, u kterého dochází k destrukci tkáně a jejímu nahrazení vazivem.



Obr. 3.8. Zánět – přehled dílčích jevů

V místě poškození tkáně dochází z poraněných buněk resp. patogenů k uvolnění škodlivých látek, které aktivují tkáňové makrofágy a ovlivňují činnost endotelu okolních cév (a,b). Postupně dochází ke zvyšování permeability cévní stěny a k průniku plazmatické tekutiny vč. imunologicky aktivních proteinů, do okolní tkáně (c, d). Jsou aktivovány komplementové proteiny, které poškozují bakterie tvorbou lýtických pórů. Endotelové buňky cév exprimují adhezní a chemotaktické molekuly, které přitahují fagocyty. Ty následně z cévy diapedézou vystupují a fagocytují patogeny popř. poškozené buňky (d,e).

V závislosti na rozsahu zánětu, rozlišujeme **zánět lokální** a **zánět systémový**, kdy se zánětlivé procesy projevují v celém těle.

Zánět má řadu typických projevů:

- **Zarudnutí (rubor)** - je způsobeno intenzivním prokrvením zanícené tkáně ve snaze přivést do místa poškození maximum imunocytů a látkových složek imunity (především fagocytů a později i lymfocytů)
- **Otok (tumor)** - je výsledkem průsaku plazmatické tekutiny a molekul do poškozené tkáně v důsledku zvýšené permeability stěny kapilár. Zajistí to lokální zvýšení koncentrace buněčných i nebuněčných složek IS (proteiny vč. komplementu, fagocyty aj.). To je spojeno se zvýšenou produkcí **adhezivních molekul**, které napomáhají zachytit fagocyty z protékající krve. V místě infekce pak vzniká **hnis**, tvořený odumřelými fagocyty, které vykonaly svoji práci.
- **Zvýšená teplota (calor)** - Lokálně dochází ke zvýšení teploty díky intenzivnímu prokrvení. Případné zvýšení tělesné teploty celého organismu je výsledkem změny regulace teploty prostřednictvím **pyrogenních látek**, uvolňovaných buňkami v místě zánětu a transportovaných do hypotalamu.
- **Bolest (dolor)** - Způsobená nahromaděním kyselých metabolitů v tkáních (acidóza) a mechanickým tlakem na nervová zakončení v místě poranění.

V případě déletrvajícího lokálního zánětu se látky uvolňované v místě poškození dostávají krevním oběhem do celého těla a dochází k **systémové zánětlivé reakci** spojené s těmito projevy:

- Zánětlivými cytokiny (TNF, IFN γ , IL-1) jsou stimulována termoregulační centra hypotalamu a **vzniká horečka**
- Zvýšením teploty dochází k indukci **exprese proteinů teplotního šoku (Hsp)**, které napomáhají poskládání denaturovaných proteinů do správné konformace.
- Zvyšuje se **syntéza jaterních sérových a transportních proteinů**

- Cytokiny a mediátory působí stimulačně na kostní dřeň, kde se indukuje **novotvorba a vyplavování nových leukocytů**
- Účinkem histaminu uvolněného především z granulocytů, dochází k **vazodilataci cév**, následnému **poklesu krevního tlaku** a tím **riziku selhání orgánů**.

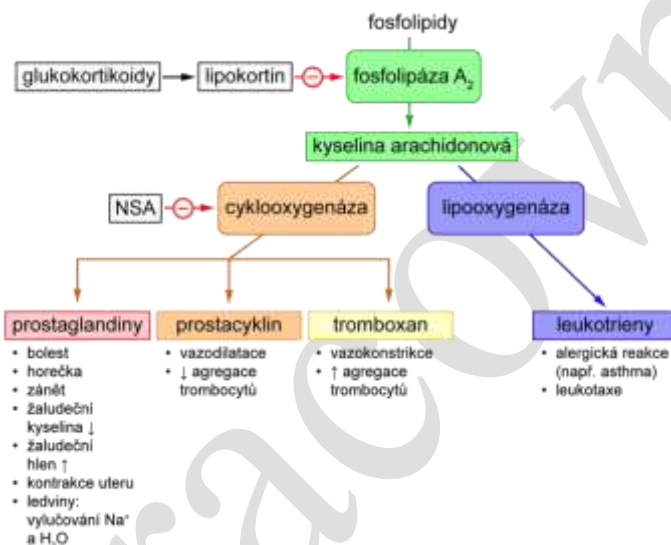
Jako tzv. **septický šok** označujeme intenzivní systémovou reakci organismu na masivní průnik **mikroorganismů do těla**. V případě, že organismus intenzivně reaguje na antigenní **podněty neinfekčního charakteru (tzv. alergeny)**, mluvíme o tzv. **anafylaktickém šoku**. V obou případech se jedná o vážný, život ohrožující stav spojený s rizikem multifunkčního selhání orgánů.

ROZŠIŘUJÍCÍ INFO → Mediátory odvozené od lipidů (lipidové mediátory)

Mediátory (signální molekuly) odvozené od lipidů představují **významnou skupinu bioaktivních látek**, které ovlivňují řadu fyziologických resp. imunitních procesů. Jsou syntetizovány lokálně, jako reakce na signály z extracelulárního prostředí a **působí na cévy, hladkou svalovinu průdušek** a v neposlední řadě **na aktivitu leukocytů**. Narušení regulace syntézy lipidových mediátorů je spojena s řadou patologických projevů jako **zánět, alergie, ateroskleróza, ischemie, kancerogeneze, metabolický syndrom** nebo **sterilita**.

Nejvýznamnější skupinou lipidových mediátorů jsou látky odvozené od **kyseliny arachidonové účinkem fosfolipázy A₂** (PLA₂). Existují dvě dráhy štěpení kyseliny arachidonové: (1) Enzym cyklooxygenáza³¹ dává vzniku prostaglandinům (PGD₂), prostacyklinu a tromboxanu. (2) Enzym lipooxygenáza dává vzniku leukotrienům, látkám významně se podílejícím na astmatické reakci (bronchokonstrikce, zvýšená tvorba hlenu v průduškách, zvýšení permeability cévní stěny a tím vzniku otoku, chemotaxe leukocytů).

NSAIDs³²



Obr. 3.9 Lipidové mediátory

Bioaktivní látky odvozené od lipidů resp. kyseliny arachidonové se významnou měrou podílejí na zánětlivých a alergických procesech.

Aktivita fosfolipázy A je regulována steroidními hormony kůry nadledvinek - glukokortikoidy (kortizol). Ty mají vliv - kromě metabolismu a kardiovaskulárního systému - na imunitní systém: prostřednictvím glukokortikoidního receptoru působí protizánětlivě. Toho využívají také léky na bázi syntetických steroidů (hydrokortison).

Blokáda cyklooxygenázy **nesteroidními** protizánětlivými léky NSAIDs³¹ (paracetamol: aspirin, ipubrofen) se využívá ke snižování horečky (antipyretikum) a bolesti (analgetikum).

³¹ = COX, nebo také nazývána prostaglandin-endoperoxide syntáza (PTGS)

³² Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs