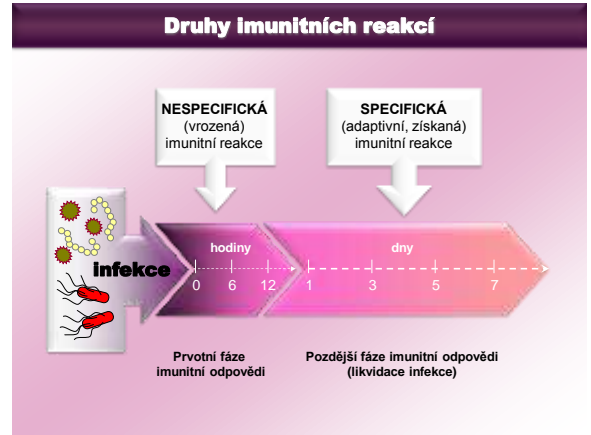


RNDr. Ivana Felnerová, Ph.D.
Katedra zoologie, PřF UP Olomouc

2. NESPECIFICKÁ IMUNITA

2015/10

Vyukové materiály: <http://www.zoologie.upol.cz/osoby/felnerova.htm>



NESPECIFICKÁ (vrozená) imunita

- Evolučně **původní, konzervovaný** systém zásahu proti patogenům, popř. dalším, potencionálně nebezpečným částicím
- Představuje **první linii imunitní obrany**
- „Nástroje“ nespecifické imunity jsou pro organismus **vrozené**, během života neměnné; **nemají imunologickou paměť**

- Namířena proti **širokému spektru patogenů** a potencionálně nebezpečných částic
- Rozpoznává chemické **struktury společné skupinám patogenů**, ale nevyskytující se u vlastních buněk.

STRUKTURY rozpoznávané vrozenou imunitou

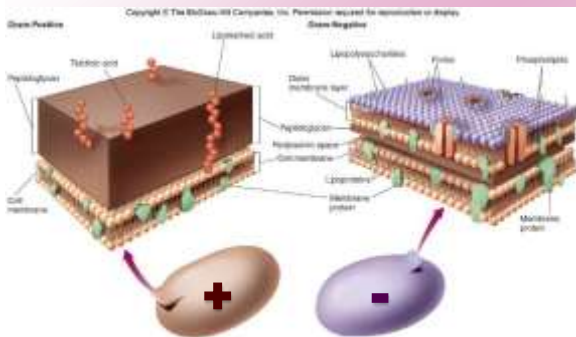
PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns) EXO-

- **Výskyt:** bakterie, viry, plísně, houby, mnohobuněčných parazity aj.
- **Chemické struktury („vzory“):** lipopolysacharidy (LPS), peptidoglykany (mureiny), lipomanany, kys. (lipo)teichoová a flagelin bakterií, bakteriální DNA, virová dsRNA aj.

DAMPs (Danger, Damage-Associated Molecular Patterns) ENDO-

- **Endogenní „nebezpečné“ signály** z poškozených buněk
- **Chemická struktura:** Jaderné nebo cytosolové proteiny, heat-shock proteiny, NK, nukleotidy, ATP uvolněné z odumírajících buněk
- Tkáňové faktory produkované při zánětu (prozánětlivé cytokiny, proteázy)

Struktura bakteriální stěny



Gram-pozitivní

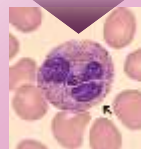
Gram-negativní

BUŇKY vrozené imunity

Neutrofilý

Monocyty

Makrofágy



... a další...

RECEPTORY vrozené imunity

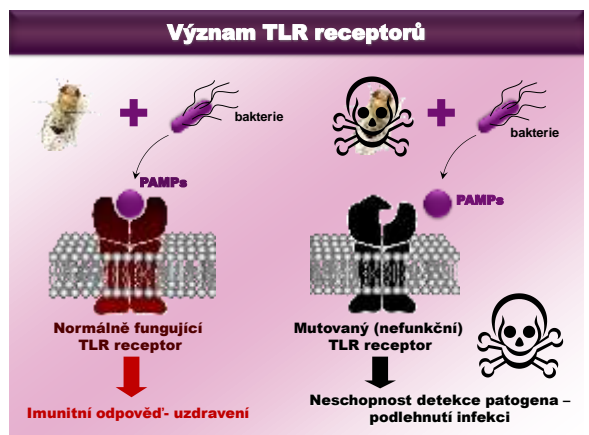
PRR = Pattern Recognition Receptors

- 🔦 **Rozpoznávají „pattern molekuly“** (PAMP a DAMP), „vzory“, tj. sdílené charakteristiky:
 - > Patogenů (PAMPs)
 - > Varovných endogenních signálů z poškozených tkání (DAMPs)
- 🔦 **Vyskytují se:**
 - > Vázané na membrány – transmembránové receptory
 - > Rozpuštěné v cytosolu buněk nespecifické imunity
- 🔦 **Základní funkční skupiny** Pattern Recognition receptorů:
 - > TLR = Toll-like receptors (vázané na membrány)
 - > NLR = NOD-like receptors (intracelulární, cytoplazmatické r.)
 - > RLR = RIG-like receptors (intracelulární, cytoplazmatické r.)
 - > CLR = C-type lectin receptors (vázané na membrány)
 - > Scavengerové („uklízecí“) receptory (vázané na membrány)

TLR – Toll-like receptory

- 🔦 Název odvozen od genu „toll“ octomilky, kde byl objeven
- 🔦 **Membránové proteiny** rozpoznávající molekuly patogenů (PAMPs – Pathogen-Associated Molecular Patterns)
- 🔦 Jedna z **nejstarších, konzervovaných komponent** imunitního systému
- 🔦 **Výskyt:** bezobratlí i obratlovců; povrch (popř. orgány) leukocytů:
 - > neutrofilý
 - > monocyty, makrofágy
 - > mastocyty
 - > dendritické buňky
- 🔦 **Zprostředkují první varovný signál o přítomnosti infekce**
- 🔦 **Aktivují zánětlivou reakci a mobilizuje lymfocyty**



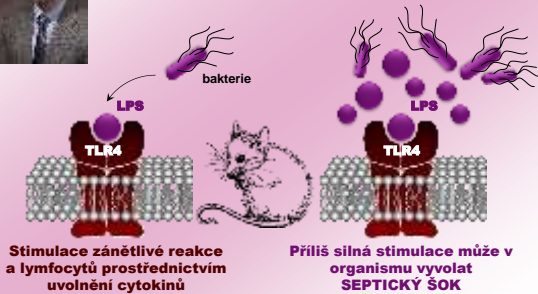


NC 2011: Bruce A. Beutler



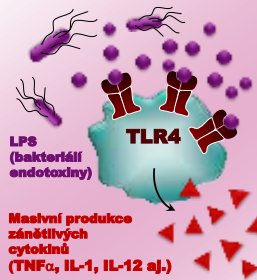
Bruce A. Beutler

V r. 1998 objevil u myši receptor TLR4 pro LPS (endotoxiny) bakterií. Popsal jeho funkci



Septický šok („otrava krve“)

- Systémová zánětlivá reakce organismu na masivní přítomnost patogena (lidově označovaná jako „otrava krve“)
- **Život ohrožující stav**, vyvolaný uvolněním velkého množství cytokinů, hl. TNF α , který se váže na receptory řady buněk organismu



- Vazodilatace cév
- Zvýšení permeability – ztráta plazmatické tekutiny
- Snížení objemu krve a tím tlaku
- Nedokrevní orgánů, hromadění laktátu v tkáních
- Intravaskulární koagulace působením TNF α
- Multiorganové selhání

Léčebná opatření: antibiotika, tekutiny, transfúze, adrenalin

Další Pattern Recognition Receptors

NOD-like Receptory

- **NOD** = receptory obsahující „Nucleotide-binding Oligomerization Domain“
- **INTRACELULÁRNÍ** receptory pro PAMPs i DAMPs (např. NOD-1, NOD-2 rozpoznávají peptidoglykany stěn bakterií)
- Vztah k **chronickým zánětům** a **autoimunitním onemocněním**

RIG-1-like Receptory

- **RIG-1** = „Retinoid-Induced Gene 1“
- **INTRACELULÁRNÍ** RNA-helikáza (degradace virové RNA)
- Nezbytné pro **antivirální imunitní odpověď** organismu

Další Pattern Recognition Receptors

C-Typ Lektinového Receptoru

- Velká skupina **transmembránových** i **intracelulárních** receptorů
- **Váží sacharidy** především **písní a kvasinek** a aktivují proti nim imunitní reakce; Např. **Manózoový receptor** makrofágů
- Makrofágy s **Galaktózoovým receptorem** pohlcují glykoproteiny s galaktózoovým zbytkem (jsou odstraňovány z krve v jaterním parenchymu)

Scavengerové „uklízecí“ receptory

- **Transmembránové** receptory
- Váží negativně nabitě částice, hl. **oxidované lipoproteiny** - především LDL (low density lipoproteins); makrofágy pohlcující LDL → přeměna na pěnové buňky → **rozvoj aterosklerózy** cév
- Váží a pohlcují **apoptická tělíčka** odumřelých buněk

Rozpoznání PAMPs, DAMPs ... a co dál ?



Membránové receptory:

- Fagocytóza a následná degradace PAMPs, DAMPs
- Aktivace dalších imunitních buněk prostřednictvím cytokinů

Intracelulární receptory: formování Imflamazómu

- Rozvoj **zánětu** prostřednictvím produkce zánětlivých cytokinů (IL-1 β , IL-18)
- Aktivace buněčné smrti – **apoptózy** přes kaspázu-1
- Aktivace dalších imunocytů prostřednictvím cytokinů

FAGOCYTÓZA: video



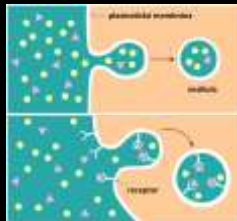
Prezentace z Enzygologie Educatio, Soluna Media Praha, s.r.l. s.r.o.

FAGOCYTÓZA x ENDOCYTÓZA

Endocytóza – všechny buňky

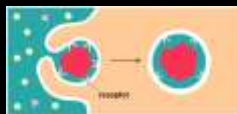
1. Pinocytóza – nespecifický transport tekutiny spolu s rozpuštěnými látkami
2. Receptorová endocytóza - vysoce specifický proces, kterým jsou transportovány selektivně částice

Exocytóza – opak endocytózy. Transportu nové syntetizovaných proteinů a vylučování buněčného odpadu z lyzozómů

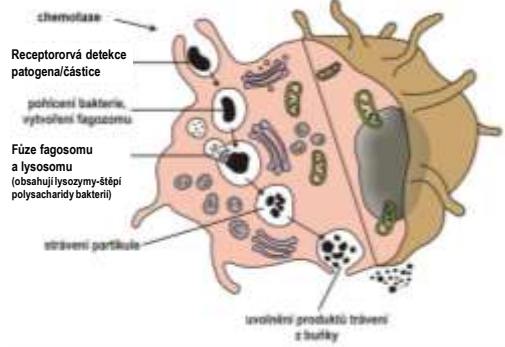


Fagocytóza – jen imunocyty

- Buňky pohlcují cizorodou částici do vakuu s částí membrány.
- Účast receptorů: TLR, manozový r, scavengerové r, Fc receptory (pro Ig)
- Váčky(vesikuly) splynou s lyzozómy které obsah vakuu rozloží



FAGOCYTÓZA: schéma

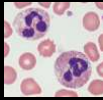


„Profesionální“ fagocyty

Monocyty, makrofágy



Neutrofil



Dendritické buňky



Vlastní poškozené buňky (DAMPs)

- **SCAVENGEROVÉ** („uklízeč“) receptory – rozpoznávají pozměněné struktury apoptických buněk a modifikované oxidované LDL lipoproteiny

Povrchové molekuly mikroorganismů (PAMPs)

- **TLR** – Toll Like Receptor – rozpoznávají bakteriální endotoxiny (lipopolysacharidy gramnegativních bakterií, peptidoglykany gram pozitivních bakt., NK aj.
- **LEKTINY** – receptory rozeznávající polysacharidy na povrchu bakterií (manózoový, galaktózoový receptor)

Makrofágy

- Vzniká z bílé krvinky monocyty (tkáňové formy monocytů)
- Exprimují nespecifické receptory (TLR, scavenger r., manozový r., receptor pro komplementové proteiny)
- Intenzivně fagocytující buňky (především pozůstatky vlastních odumřelých buněk, ale i mikroorganismů)
- Boj proti intracelulárním patogenům

Monocyt



Makrofág



Monocyty při dozrávání v makrofágy zvětšují svůj objem až 5x, takže se dají pozorovat pouhým okem.

Fagocytóza patogenních částic

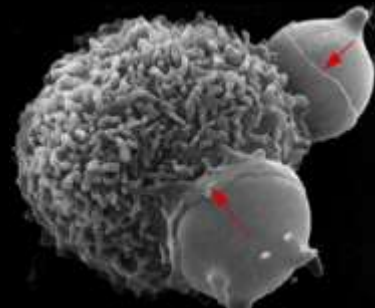


zdravý makrofág



odumřelý makrofág

Fagocytóza vlastních poškozených buněk



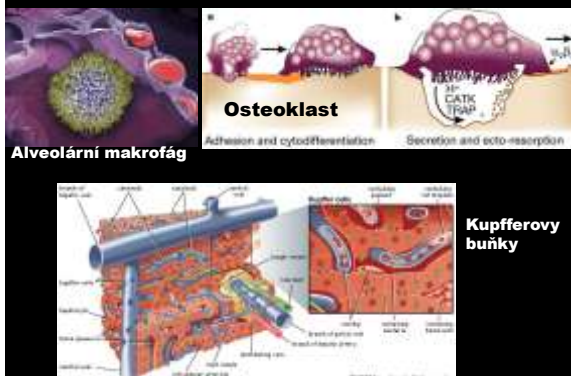
Makrofág fagocytující dva erythrocyty.
(Šipky ukazují na límečkovitý tvar pseudopodií obklopujících erythrocyty.)

Makrofágý - subpopulace

Podle místa výskytu –různé subpopulace:

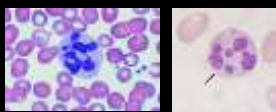
- **MIKROGLIE v CNS**, aktivovány zraněním, mrtvicí, roztroušenou sklerózou atd. Proliferují a migrují do místa poškození (chemotaxe), kde produkují cytokiny, růstové faktory, NO.
- **OSTEOKLASTY** v kostech. Účastní se procesu „resorpce kosti“ – rozkládají kost demineralizací a rozkladem organické složky kostí, kolagenu. Proces je reverzibilní.
- **KUPFFEROVY buňky** v játrech. Lemují okolí kapilár jaterních lalůčků. Jsou součástí retikuloendotelového systému (RES = soustava fagocytujících buněk v různých orgánech). Podílejí se na rozkladu červených krvinek a hemoglobinu a jeho recyklaci do žluče.
- **ALVEOLÁRNÍ MAKROFÁGY** („dust cells“) v plicích sklípcích. Zachycují prach a vdechnuté mikroorganismy. U kuřáků tmavé zbarvení uhlíkatými a dehtovými částicemi.

Makrofágý - subpopulace



Neutrofilní granulocyt („neutrofil“)

- Druh bílých krvinek ze skupiny granulocytů; velikost 10-14 μm ; krátce žijící (6-12 hod)
- Tvoří 50-70% všech bílých krvinek v krvi (nejpočetnější)
- Existuje rovnováha mezi neutrofilů v periferní krvi a kostní dřeni odkud jsou neustále doplňovány
- Mají segmentované jádro. Počet segmentů odráží stáří neutrofilu; normální 2-5 segmentů (více segmentů=starší)



Hypersegmentovaný (starý) neutrofil

Neutrofilie - funkce

- **První rychlá obrana** organismu (bakteriální infekce)
- Schopnost **diapedézy**
- Fagocytují patogeny cizorodé molekuly, které rozpoznávají prostřednictvím nespecifických receptorů (C-lectiny)
- Odumřelé neutrofilie tvoří hnis
- **Neutrofilie** = zmnožení při akutních infekcích
- **Neutropenie** = pokles neutrofilů (chemoterapie)

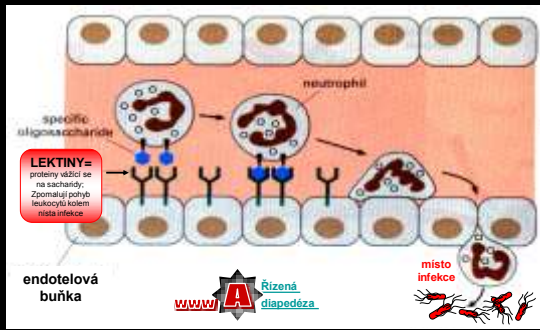


Diapedéza fagocytů

Migrace leukocytů z mikrocirkulace do tkáni



Fagocyty pronikají z krevního oběhu do tkáni mezi endoteliálními buňkami



Diapedéza: video

Migrace leukocytů z mikrocirkulace do tkáni



Převzato z: Encyclopédie Encarta, Sakura Motion Picture Co.LTD

Dendritické buňky (DC)

- Mají četné výběžky (jméno podle podoby s dendrity nervových buněk)
- Vyskytují se především v tkáních, tvořící hranice s vnějším prostředím (nejvíce v kůži - označ. jako Langerhansovy b., sliznici dýchací a trávicí).
- Rozlišujeme několik podtypů DC:
 - > Myeloidní DC1 - nezralé tkáňové DC, receptory TLR2, 3, 4 a 7
 - > Plazmocytové DC2 – patogenem aktivované; receptory TLR7 a 9
 - > Folikulární DC – ve folikulech lymfat. uzlin; podílí se na imunitní paměti



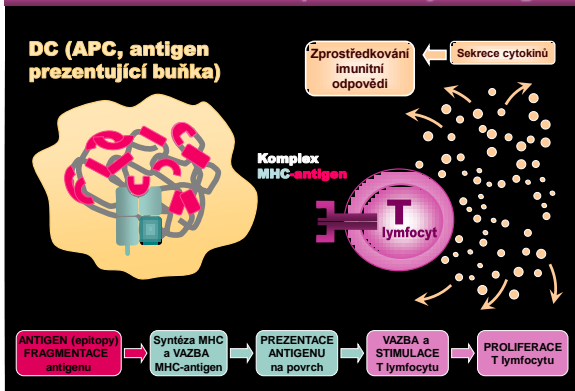
DC v kostní dřeni

Dendritické buňky v kůži

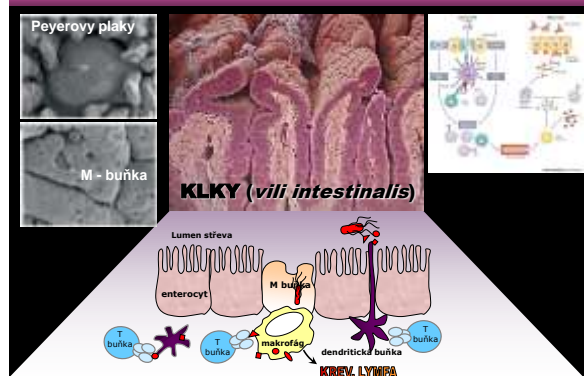
Funkce dendritických buněk

- Vznik v kostní dřeni. Nezralé DC cestují do periferie - neustále testují antigeny v okolí.
- Částice rozpoznávají prostřednictvím nespecifických TLR
- DC mají vysokou **fagocytární aktivitu**
- Pohlcením patogenní částice se DC aktivují a následně migrují lymfatickými cévami do lymfatických uzlin. Fragmenty pohlcených antigenů prezentují T-lymfocytům ve vazbě na membránové glykoproteiny, tzv. **MHC II**.
- Jsou označovány jako **antigen prezentující buňky (APC)**
- Představují spojnicí mezi nespecifickou a specifickou imunitou

Dendritická buňka prezentuje antigen



DC ve střevní sliznici



Bazofilní granulocyty („bazofily“)

- V krvi vzácné (do 1% leukocytů), více se vyskytují v epitelech kůže plic a trávicího traktu
- Navzájem se ovlivňují s eozinofily a mají podobné funkce

Granula obsahují:

- **Histamin** – vazodilatace spojená se sekrecí hlenu
- **Heparin** – snížení srážlivosti
- **Leukotrieny** – migrace neutrofilů, bronchokonstrikce, ↑ permeability cév
- **Prostaglandiny** – vliv na hl. svalovinu, shlukování destiček, bolest
- **Serotonin** – mj. kontrakce hl. svalstva, vliv na srážlivost krve



Mastocyty (žírné buňky)

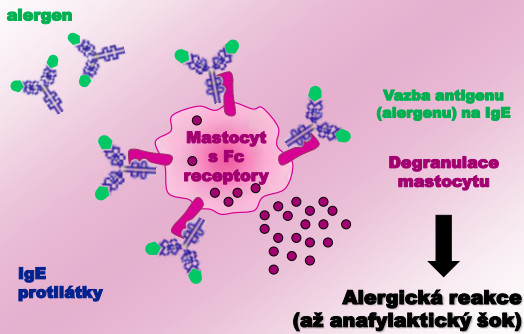
- Velmi podobné bazofilům (tkáňové formy bazofilů)
- Výskyt v pojivových tkáních a slizničních epitelech, vlivem mikroprostředí **diferencují do různých subpopulací**
- Obsahují granula s účinnými látkami:
 - hydrolytickými enzymy (přímé poškození parazita),
 - heparinem,
 - histaminem (vazodilatace spojená s tvorbou ochranného hlenu na sliznici; působení na hl. svalstvo – kašel, peristaltika napomáhající vypuzení parazita)



- Mají **Fc receptor** s vysokou afinitou k IgE protilátkám, které snadno rozpoznávají povrchové molekuly mnohobuněčných parazitů

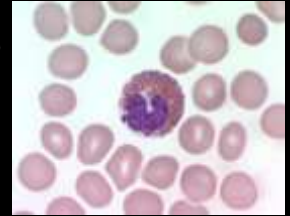
- Role při alergiích

Vazba IgE na Fc receptor mastocytů



Eozinofilní granulocyt („eozinofil“)

- Druh bílých krvinek ze skupiny granulocytů; tvoří do 3% leukocytů
- Větší výskyt v pojivové tkáni pod epitelem (dýchací, trávicí, močopohlavních cest); velikost 10-11 μm ;
- Jejich granula obsahují **histamin**, **enzymy peroxidázy, nukleázy** (přímo zabíjí parazity a mikroby) **plasminogen-** (rozpuští krev, sraženinu)
- Hrají roli především v obraně **proti extracelulárním parazitům** (mnohobuněčných červů)
- Počet se také zvyšuje při některých alergiích (hl. atopickém ekzému)



NK buňky („přirození zabíječi“)

- Cytotoxické buňky, schopné ničit druhé buňky
- Nejblíže vztah mají k lymfocytům; neexprimují ale ani TCR ani BCR
- Exprimují membránové receptory:
 - > **Receptory detekující membránové proteiny MHC I třídy** (CD94, Ly49, Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor- KIR). Při snížené expresi MHC-I proteinů dochází k aktivaci cytotoxicity NK buněk (u buněk napadených virem nebo nádorových b.)
 - > **Lektinové receptory** – detekují polysacharidy bakterií – zničení cílové buňky
 - > **Fc receptor** pro Fc region protilátek (umožňuje detekovat částice „označené“ protilátkami)
 - > **LIR (leukocyte inhibitory receptor)** – úloha při regulaci (inhibici) cytotoxicity NK buněk
- Obsahují v cytoplazmě granula s proteiny - při aktivaci se uvolňují:
 - > **Perforiny** – vytvoří póry v membráně cílové buňky, ta lyzuje
 - > **Proteázy (granzymy)** – pronikají do cílové b. přes póry a indukují apoptózu

Složky nespecifické imunity

Fyzikální a chemické bariéry organismu

- > Kůže
- > Sliznice (chráněné mukózním sekretem a řasinkovým epitelem)
- > Sliny a slzy (obsahují lysozymy, narušující bakteriální stěnu)
- > Žaludeční šťávy (nízké pH), dále také **TEPLOTA** atd...



Buněčná složka

- > Profesionální fagocyty (neutrofil, monocyt resp. makrofágy)
- > NK cytotoxické buňky („přirození zabíječi“)
- > Dendritické buňky (spojení nespecifické a specifické imunity)
- > Bazofily (uvolňující histamin)



Humorální (látková) složka

- > Proteiny komplementu (tkáňové a plazmatické proteiny)
- > Cytokiny (regulace a koordinace procesů nespecifické imunity)
- > Adhezní molekuly (lektiny, integriny)

Proteiny komplementu

- humorální složka nespecifické imunity
- systém cca 30 sérových a membránových proteinů (hl. C1-C9), které se po různých podnětech kaskádovitě aktivují

Hlavní funkce komplementu:

- OPSONIZACE cizorodých částic
- CHEMOTAXE
- OSMOTICKÁ LÝZA bakterií

Aktivace komplementu

- Klasická cesta: vazba C1 na IgM nebo IgG vázané na patogena; specifitější, pomalá
- Lektinová: vazba lektinu na manózu membrány bakterií
- Alternativní: C3 vazba přímo na patogena; nespecifická, rychlá

Aktivace komplementu

