

1. Co je imunologie, imunita, vztahy imunitního systému k systému neuroendokrinnímu.

IMUNOLOGIE

- věda, která zkoumá imunitní systém, odvětví medicíny s širokým záběrem
- zásluhy na vakcinačních programech, imunoterapii, biologické léčbě
- tradiční dělení na vrozenou a získanou imunitu

IMUNITA

- schopnost organismu bránit se antigenům z vnějšího i vnitřního prostředí (patogenní organismy, nádorové buňky), v užším smyslu znamená odolnost organismu proti chorobě
- jedna ze základních složek imunitního systému, vedle autotolerance a imunitního dohledu, pomáhá udržovat integritu organismu

IMUNITNÍ A NEUROENDOKRINNÍ SYSTÉM

- patří spolu s nervovým a endokrinním systémem k regulačním systémům
- fyziologicky významný vzájemný regulační vztah mezi systémy:
 - některé neurotransmitery působí přímo na leukocyty, které pro ně mají receptory
 - je přímý kontakt nervových zakončení a mastocytů, degranulace vyvolává stahy hladké svaloviny a bolest
 - na leukocyty působí mnoho endokrinních hormonů (kortikosteroidy, růstový hormon, tyroxin, endorfiny, ..), mají receptory
 - leukocyty produkují řadu hormonů (endorfiny, ACTH, TSH, STH, D3)
 - cytokiny aktivní v IS působí i na NS (IL-1, IL-6, TNF)
 - vliv emocionálního stresu na IS, zřejmě přes kortikosteroidy (hojení ran, aktivita fagocytů a NK buněk, imunopatologické reakce)

2. Struktura lymfatického systému - primární lymfatické orgány.

- lymfatické orgány jsou vysoce specializované orgány imunitního systému, kde probíhá tvorba a vyzrání buněčných elementů imunitního systému
- centrální (primární) lymfatické orgány jsou tvořeny retikulárním epitelem, patří sem thymus a kostní dřeň (u ptáků bursa Fabricii)
- v primárních orgánech vznikají „naivní“ lymfocyty (bez kontaktu s antigenem), jsou arteriální krví přiváděny do uzlin, přestupují přes cévní stěnu a dochází ke stimulaci

THYMUS

- důležitý především v dětství, hlavní funkcí je získání imunokompetence a autotolerance T-lymfocytů pod vlivem diferenciačních faktorů, asi 98% naivních T-lymfocytů zanikne apoptoticky
- thymus opouští prekursorů dvou subpopulací T-lymfocytů: prekursorů pomocných CD4+ T a prekursorů cytotoxických CD8+ T
- vzniká ze 3. a 4. Žaberní výchlípků (diGeorgeův syndrom)
- kontrola lymfopoese i v dalších orgánech

KOSTNÍ DŘEŇ

- tvorba formovaných krevních elementů hematopoiesou
- kmenové hematopoetické buňky pod vlivem růstových faktorů (EPO, ..) proliferují a diferencují ve funkční krevní elementy
- vyžívání B-lymfocytů
- obsahuje makrofágy, které likvidují apoptotické nezralé krvinky a staré ery, podílejí na řízení hemopoese uvolňováním faktorů

3. Struktura lymfatického systému - sekundární lymfatické orgány.

- vysoce specializované orgány, kde probíhá hlavní fáze antigenně specifických imunitních reakcí
- lymfatické orgány jsou s ostatními orgány propojeny sítí lymfatických a krevních cév, lymfatické cévy přivádějí nasbíranou lymfu ze tkání spolu s antigeny a APC, poté jsou odvedeny do krevního řečiště
- patří sem slezina, lymfatické uzliny a jejich organizované shluky (tonzily, appendix, Peyerovy plaky), lymfatická tkáň ve sliznicích (MALT), dochází zde k optimálně organizovanému styku T a B lymfocytů s různými APC, k jejich aktivaci, proliferaci, diferenciaci a vzniku efektorových lymfocytů
- v primárních orgánech vznikají „naivní“ lymfocyty (bez kontaktu s antigenem), jsou arteriální krví přiváděny do uzlin, přestupují přes cévní stěnu a dochází ke stimulaci a poté jsou odvedeny do tkání, kde je jich zapotřebí
- slezina má také za úkol odstraňovat staré buňky z oběhu

4. Buněčné elementy účastníci se imunitních reakcí - obecně.

- bílé krvinky (leukocyty), pocházejí z kmenových pluripotentních buněk v kostní dřeni (znak CD34+), kmenové buňky se v malém počtu udržují celý život, pod vlivem různých faktorů proliferují, část zůstává v zásobě, část se diferencuje na zralé elementy
- dvě základní linie:
 - myeloidní (základ nespecifické imunity, většina fagocyтуje, produkují cytokiny,
 - monocyty – cirkulují v krvi a ve tkáních se diferencují na makrofágy
 - neutrofilní granulocyty – polymorfonukleáry, nejvyšší podíl, krátký čas
 - eozinofilní granulocyty – účast na reakcích přecitlivělosti
 - bazofilní granulocyty – tkáňová forma mastocyty (žírné buňky)
 - dendritické buňky – hlavní APC (antigen-prezentující buňky) -> spojka nespecifické a specifické imunity
 - erytrocyty a trombocyty (podílí se na zánětu, primární funkce jiné)
 - lymfoidní (část T a B lymfocytů se po setkání s antigenem diferencuje na paměťové buňky -> imunologická paměť umožňuje rychlou aktivaci a sekundární odpověď při opakovaném setkání s antigenem; u lymfocytů dochází během diferenciaci k přeskupování genů variabilních úseků receptorů, velký soubor klonů)
 - lymfocyty B – vývoj v kostní dřeni, dokončuje se po setkání s antigenem v sekundárních orgánech, konečné stádium plazmatické buňky produkující protilátky
 - lymfocyty T – vývoj v thymu (některé subpopulace mimo), vývoj prekurzorů pomocných CD4+ (produkce regulačních cytokinů) a cytotoxických CD8+ (zabíjení buněk) lymfocytů, dozrávají po kontaktu s antigenem -> efektorové
 - NK buňky – vývojově bližší T-lymfocytům, přirození zabíječi, ochrana proti virovým infekcím
- typy buněk, které nepocházejí z hematopoetických buněk, ale mají úlohu v IS:
 - folikulární dendritické buňky (FDC) – úloha při stimulaci B-lymfocytů
 - endotelie cév – migrace leukocytů z cév do tkání
- interakce buněk IS s NS a epitelem sliznic

5. Buněčné elementy účastníci se na nespecifické obranyschopnosti - epitelie, leukocyty.

EPITELIE

- endotelie, epiteliální buňky, fibroblasty
- produkují některé cytokiny, exprimují adhezivní molekuly -> vytváří mikroprostředí (umožňuje diferenciaci, migraci a výkon efektorových buněk IS)
- produkují antimikrobní látky – podíl na přirozené obraně organismu
- interakce s endokrinním a nervovým systémem (mediátory)

LEUKOCYTY

- NK buňky – patří do nespecifické imunity, vývoj podobný T-lymfocytům
- neutrofilů, eozinofilů, monocytů (makrofágy), dendritické buňky (APC)
- všechny mají schopnost fagocytózy – evolučně velmi starý děj pohlcování částic, vydělila se populace buněk obranyschopnosti -> profesionální fagocyty (především neutrofilů a makrofágy, eozinofilů, dendritické buňky)
- buňky se liší receptorech a enzymech, ale v podstatě se shodují
 - neutrofilů za normálních okolností neexprimují MHC II, granulocyty proti extracelulárním patogenům
 - makrofágy – vlastní buňky a intracelulární patogeny, nutnost aktivovat T-lymfocyty
 - eozinofilů – parazitární infekce

FAGOCYTÓZA

průnik fagocytů

- neutrofilů a monocytů cirkulují, neutrofilů v rovnováze s adherovanou frakcí, velká zásoba v kostní dřeni (93%), vyplavování vlivem zánětu
- zachycení neutrofilů na povrchu endotelií (exprimace adhezivních molekul) -> rolling – reverzibilní vazba, ireverzibilní pomocí ICAM-1, diapedézou prostoupí (selektiny), pohyb v tkáni chemotakticky (IL-8) do místa poškození
- monocytů a eozinofilů adherují pomocí beta1-integrinů a VCAM-1, chemotaxe pomocí jiných cytokinů, také aktivace fagocytózy
- pohyb ve tkáni pomocí produkce hydrolytických enzymů, neutrofilů po splnění funkce odumírají (hnis), odstranění zbytků makrofágy, které mohou opakovaně fagocytovat

- fagocyty rozpoznávají struktury na povrchu patogenů (PAMP – pathogen associated molecular patterns – endotoxiny a peptidoglykany) pomocí receptorů (PRR – pathogen recognition receptors – mannózový a galaktózový receptor), receptory TLR (toll-like receptor)

fagocytóza

- opsonizace – působení protilátek (rozeznání Fc-receptory fagocytů) a komplementu (aktivace komplementového systému), MBL (lektin vázající mannózu), proteiny akutní fáze
- kontakt fagocytu s cizorodou částicí, obklopování pseudopodiemi, vytvoření fagosomu (podíl mikrotubulů a signály z povrchových receptorů)
- fúze fagosomu s lysozomem – baktericidní látky (defensiny), hydrolytické enzymy (katepsiny), nízké pH
- respirační vzplanutí – NADPH-oxidáza – extracelulární patogeny (tvoří kyslíkové radikály – peroxid, hydroxyl, singletový kyslík), NO-syntáza (NO) – intracelulární patogeny
 - mohou se uvolňovat do okolí a působit poškození (u chronických zánětů – ateroskleróza)
- regulační úloha neutrofilů a makrofágů – produkce IL-1, 3, 6, 8, 12, TNF, GM-CSF, C3
 - systémová odpověď na zánět (IL-1, 6, TNF), amplifikace zánětu (IL-8), regulace hematopoiezy (IL-3, GM-CSF), regulace diferenciací T-lymfocytů (IL-12)
 - cytokiny TGF alfa a beta – hojení tkání
 - metabolity kyseliny arachidonové
- ochranné proteiny CD47, CD200 -> „don't eat me“ signály

6. Antigen prezentující buňky - zapojení v indukci imunitní odpovědi, rozdělení.

- monocyty (makrofágy) a dendritické buňky

DENDRITICKÉ BUŇKY

- nejúčinnější APC, spojovací článek mezi rychlou antigenně nespecifickou a pomalou antigenně specifickou částí IS, nezralá a zralá forma
- není zcela jasno, kolik subpopulací DC existuje a jaké mají mezi sebou vztahy
- myeloidní
 - nezralé formy jsou rozmístěné ve tkáních na hranici organismu a okolí (kůže, sliznice, vystrkují výběžky mezi epiteliemi, odebírají vzorky antigenů), v menším množství téměř ve všech tkáních, dynamicky cestují mezi krví a lymfou (na podkladě chemokinů)

- za nepřítomnosti infekce pohlcují nezralé dendritické buňky průběžně odumřelé buňky zdravých tkání a molekuly mezibuněčné tekutiny, zpracují je a vystaví fragmenty v komplexu s MHC pro specifické T-lymfocyty, které nejsou aktivovány (buď jsou utlumeny, nebo se z nich vytvoří regulační lymfocyty T) -> nezralé DC se podílí na zachování autotolerance
- pokud nezralé DC rozpoznají patogenní podnět (mikroorganismy, nekróza - PAMP), aktivují se -> zralé DC, přesunují se do uzlin a sekundárních orgánů, ztrácí schopnost pohlcovat, mění se na účinné APC (exprese MHC, adhezivních molekul, cytokinů – 48 hodin)
- pouze zralé DC mohou aktivovat naivní T-lymfocyty (vydrží 2-3 dny)
- plazmacytoidní:
 - exprimují receptory nukleových kyselin TLR-7, TLR-9 -> po setkání s viry produkují velké množství interferonu alfa (aktivace NK buněk)
 - po stimulaci dochází k maturaci a přeměně na účinné APC pro antigenně specifické T-lymfocyty

7. Dendritické buňky rozdělení, význam při indukci Th1 a Th2 imunitní odpovědi.

- nejúčinnější APC, spojovací článek mezi rychlou antigenně nespecifickou a pomalou antigenně specifickou částí IS, nezralá a zralá forma
- není zcela jasno, kolik subpopulací DC existuje a jaké mají mezi sebou vztahy
- myeloidní
 - nezralé formy jsou rozmístěné ve tkáních na hranici organismu a okolí (kůže, sliznice, vystrkují výběžky mezi epiteliemi, odebírají vzorky antigenů), v menším množství téměř ve všech tkáních, dynamicky cestují mezi krví a lymfou (na podkladě chemokinů)
 - za nepřítomnosti infekce pohlcují nezralé dendritické buňky průběžně odumřelé buňky zdravých tkání a molekuly mezibuněčné tekutiny, zpracují je a vystaví fragmenty v komplexu s MHC pro specifické T-lymfocyty, které nejsou aktivovány (buď jsou utlumeny, nebo se z nich vytvoří regulační lymfocyty T) -> nezralé DC se podílí na zachování autotolerance
 - pokud nezralé DC rozpoznají patogenní podnět (mikroorganismy, nekróza - PAMP), aktivují se -> zralé DC, přesunují se do uzlin a sekundárních orgánů, ztrácí schopnost

pohlcovat, mění se na účinné APC (exprese MHC, adhezivních molekul, cytokinů – 48 hodin)

- pouze zralé DC mohou aktivovat naivní T-lymfocyty (vydrží 2-3 dny)
- plazmocytoidní:
 - exprimují receptory nukleových kyselin TLR-7, TLR-9 -> po setkání s viry produkují velké množství interferonu alfa (aktivace NK buněk)
 - po stimulaci dochází k maturaci a přeměně na účinné APC pro antigenně specifické T-lymfocyty

8. Úloha makrofágů v imunitním systému.

- makrofágy = tkáňová forma monocytů, profesionální fagocyty, fagocytují vlastní buňky a intracelulární patogeny, nutnost aktivace pomocí T-lymfocytů
- Žijí déle než neutrofily, mohou fagocytovat opakovaně, tvoří „uklízecí četu“ v ložisku

FAGOCYTÓZA

průnik fagocytů

- neutrofily a monocyty cirkulují
- zachycení neutrofilů na povrchu endotelií (expresce adhezivních molekul) -> rolling – reverzibilní vazba, ireverzibilní pomocí ICAM-1, diapedézou prostoupí (selektiny), pohyb v tkáni chemotakticky (IL-8) do místa poškození
- monocyty a eozinofily adherují pomocí beta1-integrinů a VCAM-1, chemotaxe pomocí jiných cytokinů, také aktivace fagocytózy
- pohyb ve tkáni pomocí produkce hydrolytických enzymů, neutrofily po splnění funkce odumírají (hnis), odstranění zbytků makrofágy, které mohou opakovaně fagocytovat
- fagocyty rozpoznávají struktury na povrchu patogenů (PAMP – pathogen associated molecular patterns – endotoxiny a peptidoglykany) pomocí receptorů (PRR – pathogen recognition receptors – mannózový a galaktózový receptor), receptory TLR (toll-like receptor)

fagocytóza

- opsonizace – působení protilátek (rozeznání Fc-receptory fagocytů) a komplementu (aktivace komplementového systému), MBL (lektin vázající mannózu), proteiny akutní fáze
- kontakt fagocytu s cizorodou částicí, obklopování pseudopodiemi, vytvoření fagosomu (podíl mikrotubulů a signály z povrchových receptorů)
- fúze fagosomu s lyzozomem – baktericidní látky (defensiny), hydrolytické enzymy (katepsiny), nízké pH

- respirační vzplanutí – NADPH-oxidáza – extracelulární patogeny (tvoří kyslíkové radikály – peroxid, hydroxyl, singletový kyslík), NO-syntáza (NO) – intracelulární patogeny
 - mohou se uvolňovat do okolí a působit poškození (u chronických zánětů – ateroskleróza)
- regulační úloha neutrofilů a makrofágů – produkce IL-1, 3, 6, 8, 12, TNF, GM-CSF, C3
 - systémová odpověď na zánět (IL-1, 6, TNF), amplifikace zánětu (IL-8), regulace hematopoiezy (IL-3, GM-CSF), regulace diferenciací T-lymfocytů (IL-12)
 - cytokiny TGF alfa a beta – hojení tkání
 - metabolity kyseliny arachidonové
- ochranné proteiny CD47, CD200 -> „don't eat me“ signály

9. Buněčné elementy účastníci se na specifické obranyschopnosti.

- lymfocyty T a B - lymfoidní linie
- lymfocyty B – vývoj v kostní dřeni, dokončuje se po setkání s antigenem v sekundárních orgánech, konečné stádium plazmatické buňky produkující protilátky
- lymfocyty T – vývoj v thymu (některé subpopulace mimo), vývoj prekurzorů pomocných CD4+ (produkce regulačních cytokinů) a cytotoxických CD8+ (zabíjení buněk) lymfocytů, dozrávají po kontaktu s antigenem -> efektorové
- Část T a B lymfocytů se po setkání s antigenem diferencuje na paměťové buňky -> imunologická paměť umožňuje rychlou aktivaci a sekundární odpověď při opakovaném setkání s antigenem
- u lymfocytů dochází během diferenciací k přeskupování genů variabilních úseků receptorů, velký soubor klonů
- aktivace založená na klonálním anticipačním principu – v organismu je předpřipraveno velké množství individuálně odlišných T a B lymfocytů (liší se strukturou vazebného místa receptorů), vždy se najde buňka schopná vázat konkrétní antigen -> proliferace, vytvoří klony stejné specifity, nutnost kostimulačního signálu (zábrana snadné aktivace)
- (NK buňky – vývojově bližší T-lymfocytům, přirození zabíječi, ochrana proti virovým infekcím – patří k nespecifické imunitě!!)

10. Vztah a dominance buněčných elementů vrozené a antigenně specifické imunity.

vrozená imunita

- je připravená předem, účinná proti mnoha různým patogenům (reagují na společné rysy)
- představovaná buněčnou (fagocytující buňky a NK buňky) a humorální složkou (komplement, proteiny akutní fáze)
- reaguje rychle, řádově v minutách. nemá imunologickou paměť
- neutrofily jsou méně účinné, produkují méně cytokinů, ale je jich mnohonásobně víc než makrofágů, které jsou nejlepší fagocytující buňky
- fagocytující elementy představují spojku mezi nespecifickou a specifickou imunitou – APC (DC a makrofágy), prezentují antigen pomocí MHC glykoproteinu buňkám specifické imunity (T-lymfocytům)

získaná imunita

- mladší, adaptabilní, antigenně specifické, reagují na každou cizorodou strukturu tvorbou vysoce specifických molekul – protilátky, antigenně specifické receptory T-lymfocytů
- aktivují se po setkání s daným antigenem, který dostanou od fagocytů
- humorální (protilátky) a buněčná složka (B a T lymfocyty)
- k úplnému rozvoji je potřeba několik dnů až týdnů, mají imunologickou paměť -> na opakované setkání s antigenem zareagují mnohem rychleji
- oba dva typy mechanismy jsou životně důležité a nepostradatelné a vzájemně spolu kooperují

11. Humorální mechanismy obrany v systémové, slizniční a kožní imunitě (specifické, nespecifické).

KOMPLEMENT

- soustava asi 30 proteinů v séru a na membránách, kooperují mezi sebou i mezi dalšími mechanismy, hlavní složky (9) C1 – C9, po různých podnětech dochází ke kaskádové aktivaci
- centrální složka C3, C3b se pevně váže na antimikrobiální povrch, ostatní meziprodukty mají silné opsonizační a chemotaktické funkce
- terminální komplex C5b – C9 tvoří MAC (membrane attack complex) – perforuje membrány některých mikroorganismů -> lýza
- funkce: opsonizace, chemotaxe, lýza (+ aktivace B lymfocytů, ..)
- aktivace třemi cestami: alternativní (samovolné štěpení C3), klasickou a lektinovou (navázání C1 na odhalené vazebné místo)

KOAGULAČNÍ SYSTÉM

- kaskáda proteáz, které vedou ke změně protrombinu na trombin, který štěpí fibrinogen na fibrin
- fibrinolýza: plazminogen -> plazmin

PROTEINY AKUTNÍ FÁZE

- inhibitory proteáz (alfa2-makroglobulin, antitrombin, C1-inhibitor), CRP, ceruloplasmin, tranferin

INTERFERONY

- produkují je infikované buňky a plasmacytoidní dendritické buňky (hlavně) – interferony alfa a beta, váží se na receptory zdravých i infikovaných buněk a navozují antivirový stav (indukce syntézy některých enzymů k potlačení produkce viru)
- interferon gama – produkce Th1 lymfocyty, regulační látka

PROTILÁTKY (cirkulující imunoglobuliny)

- produkovány B-lymfocyty
- složeny ze dvou těžkých a dvou lehkých řetězců, které umožňují kombinacemi vytvořit širokou paletu vazebných míst pro antigeny
- třídy IgG (opsonizace, neutralizace, přestupuje placentu, sekundární odpověď), IgM (aktivace komplementu, primární odpověď, receptor), IgA (ochrana sliznic, opsonizace), IgE (ochrana proti parazitům), IgD (receptor)

HUMORÁLNÍ MECHANISMY SLIZNIČNÍHO IS

- kůže a sliznice jsou bráněny i nespecificky pomocí mastných kyselin na kůži, enzymy (lysozym ve slinách, slzách, potu, pepsin v žaludku a střevě), antibakteriální peptidy (defensiny), kyselé pH žaludku a moči, mikrobiom produkuje antibakteriální látky
- nejdůležitější je IgA (sekreční), je produkován B-lymfocyty a plazmatickými buňkami v submukóze, na vnitřní straně epitelu se IgA váže na transportní Fc receptor, komplex je endocytován a přenesen na lumenální stranu buňky, část receptoru zůstává s IgA po odštěpení -> sekreční komponenta (zajišťuje rezistenci vůči střevním proteázám) – celý proces se označuje jako transcytóza
- stejným způsobem se IgA dostává do mateřského mléka a do GITu novorozence (důležitá ochrana)
- sekreční IgA má dva izotypy: IgA1 – dýchací systém, IgA2 – trávicí systém

- se sekreční komponentou může být i IgM, ve sliznicích je produkován stejnou cestou a uplatňuje se především u novorozenců a při selektivním deficitu IgA (IgM je ale více náchylný na degradaci proteázami střeva)
- v dolních dýchacích cestách i IgG, není zde tak rychle degradován
- funkcí sekrečních protilátek je neutralizace antigenů na sliznici (imunitní exkluze), společně s dalšími mechanismy (řasinky, hlen, peristaltika) jsou imunokomplexy transportovány z organismu
- sIgA neaktivuje komplement – není poškození sliznice, mohou se vázat na Fc-receptory a být odstraňovány fagocytózou, mohou být zachycena APC -> imunitní eliminace (může vést k poškození tkání – celiakie)

12. Klasická a lektinová dráha komplementu - biologický význam, rozdíly.

KLASICKÁ

- poprvé popsána
- zahajuje se na površích, na které se navázaly protilátky, vazbou na povrch (bakterie) se odhalí vazebné místo pro protein C1 (komplex podjednotek), který po vazbě na protilátku získá proteolytickou aktivitu – štěpí C4 a C2 -> fragmenty C4b a C2a se naváží na povrch napadeného mikroorganismu a vytvoří C3-konvertázu (C4bC2a)
- tento enzym štěpí velké množství C3 na C3a (chemotaxe) a C3b (opsonizace), vytváří se C5-konvertáza (C4bC2aC3b), která štěpí C5 na C5a (chemotaxe) a C5b (součást MAC)
- fragmenty C5b tvoří MAC se složkami C6 – C8, zanoří se do povrchu membrány a připojí se několik (13-18) molekul C9 -> vznikne póry -> lýza
- většina mikroorganismů je odolná – buněčná stěna
- klasická cesta se dá aktivovat i CRP a sérovým amyloidem P – váží se na některé mikroorganismy a vážou protein C1
- kontrolovaná C1-inhibitorem, C3-konvertázy se rozpadají po interakci s membránovým proteinem DAF

LEKTINOVÁ

- podobná klasické cestě, ale místo protilátky ji iniciuje sérový lektin – lektin vázající mannózu (MBL), ten se váže na sacharidové struktury povrchů některých mikrobů přímo
- jeho funkce je podobná C1, po vazbě štěpí C4 a C2

13. Alternativní dráha komplementu - biologický význam.

- v pravém slova smyslu je neadaptivní, nespecifickou imunitní reakcí
- složka C3 se samovolně štěpí na fragmenty C3a (chemotaxe) a C3b – odhalení velmi reaktivní skupiny, která rychle reaguje s okolím, např. s povrchem bakterie (většinou se inaktivuje vazbou s vodou)
- vazba na povrch zahájí kaskádu, zároveň funguje jako opsonizační látka, připojí se k ní sérový protein B (štěpen na Ba a Bb), komplex C3bBb po stabilizaci properdinem působí jako alternativní C3-konvertáza – štěpí další C3 na fragmenty -> zesilování
- některé molekuly C3-konvertázy se přemění na složitější komplex (C3bBbC3b = alternativní C5-konvertáza) a štěpí C5 na C5a (chemotaxe) a C5b
- fragmenty C5b tvoří MAC se složkami C6 – C8, zanoří se do povrchu membrány a připojí se několik (13-18) molekul C9 -> vznikne pór -> lýza
- iniciace spontánním nespecifickým způsobem, k aktivaci může dojít jak na povrchu cizorodých částic, tak i vlastních -> regulační proteiny (CD47, CD200 – nejez mě)
- působí pouze na některé mikroby (bez buněčné stěny)

14. Třídy a podtřídy protilátek, fyziologické koncentrace, funkce v systému a na sliznicích.

- existují dva typy lehkých řetězců (kappa a lambda), liší se primární strukturou konstantních domén, podobné vlastnosti
- těžké řetězce jsou μ , delta, gama, alfa a eta
 - gama má 4 subtypy, alfa 2
- imunoglobuliny se podle těžkých řetězců řadí do tříd IgG (IgG1-4 – liší se počtem můstků v pantové oblasti), IgM, IgD, IgA (IgA1-2), IgE
- kterýkoliv těžký řetězec se může kombinovat s kterýmkoliv lehkým řetězcem
- sérové imunoglobuliny jsou velmi složitou směsí individuálních molekul, které se liší variabilní částí, lze ale připravit hybridomy, které produkují monoklonální protilátky
- idiotyp – specifické části molekul, struktura vazebných míst
- protilátky 1. generace (proti antigenu), antiidiotypové protilátky 2. generace (podobná struktura jako antigen, který vyvolat tvorbu 1. generace), protilátky 2. generace -> idiotypová síť – důležité v regulaci protilátkové odpovědi
- IgM (0,9 – 2,5 g/l) – monomerní se nachází na povrchu B-lymfocytů a tvoří BCR, sekretovaný se nachází ve formě pentamerů (spojeny jsou cystinovými můstky a J řetězcem), má 10 vazebných míst, první typ protilátky, která se tvoří po setkání s antigenem, dobře váže C1 a aktivuje komplement

- IgG (8 – 18 g/l) – nejhojnější (hlavně IgG1), podtřídy se liší schopností vázat C1, dobře váží Fc-receptory fagocytů (3 a 1)
 - IgG3 a 1 dobře aktivují komplement
 - váží protein A stafylokoků (Fc-receptor bakterií) -> rychlá purifikace séra
- IgA (0,9 – 3,5 g/l) – dvě formy: slizniční a sérová
 - slizniční je důležitou ochranou proti mikrobům, ze dvou monomerů s J řetězcem a sekreční komponentou
 - sérový je monomer, dimer, trimer
 - neaktivuje komplement, opsonizační látka
 - IgA1 – plazmocyty, IgA2 – kostní dřeň
- IgE ($3 \cdot 10^{-4}$ g/l) – u zdravých lidí v séru v nepatrných koncentracích
 - obranné reakce proti mnohobuněčným parazitům na sliznicích, hlavní příčina alergických (atopických) reakcí
 - vysokoafinní receptory pro IgE na žírných buňkách a bazofilech, po vazbě multivalentního antigenu dojde k degranulaci a uvolnění mediátorů
- IgD (0,1 g/l) – receptor pro antigen na B-lymfocytech

15. Charakteristika vazby protilátka-antigen (afinita, avidita, specifita).

- vazebná místa tvoří nekovalentní komplexy s molekulami antigenů – uplatňují se iontové, hydrofobní, van der Waalsovy síly a vodíkové můstky
- vazebné místo je vždy svým tvarem a náboji nějak komplementární k struktuře antigenu (epitopu)
- komplexy antigen-protilátka jsou reverzibilní – mají vysokou rychlost vzniku i rozpadu -> rovnovážná konstanta K, pro typické komplexy 10^6 až 10^{12} l/mol, převrácená hodnota je disociační konstanta
 - Čím vyšší je K, tím vyšší je afinita protilátky k antigenu (jedno vazebné místo a jednoduchý epitop)
- avidita – síla interakce polyvalentní protilátky a polyvalentního antigenu, vzrůstá s afinitou jednoduché interakce jednoho vazebného místa a počtem najednou se uplatňujících vazebných míst (desetivalentní molekuly IgM se váží s vysokou aviditou např. na bakteriální povrch)
- komplexy antigenů a protilátkami (+ často fragmenty komplementu) = imunokomplexy – proměnlivé složení a velikost

16. Průběh aktivace B lymfocytů, protilátková odpověď primární a sekundární.

- dva typy reakcí založených na protilátkách: na T-lymfocytech závislé a nezávislé

NEZÁVISLÉ NA T-LYMFOCYTECH

- některé antigeny (polysacharidy), zůstává zachovaná i u poruchy T-lymfocytů
- dochází k tvorbě hlavně nízkoafinních protilátek IgM, antigeny lze dělit do dvou skupin:
 - skupina TI-1 – bakteriální lipopolysacharid (LPS), váže se na receptor pro LPS -> nespecifická stimulace velké množství B a produkce protilátek bez antigenní specifiity – polyklonální mitogen B-lymfocytů
 - skupina TI-2 – polymery (např. povrchové polysacharidy bakterií – opouzdřené) nebo polymerní proteiny (flagelin bičků) – simultánně reagují s mnoha B-lymfocyty a shlukují je -> vznik signálů k dělení a diferenciaci na plazmatické buňky – mohou být aktivovány pouze zralé buňky, nezralé jsou utlumeny (novorozenci nejsou schopni do 2 let tvořit protilátky proti polysacharidům)
- nezávislost není úplná, nepotřebují kontakt s T-lymfocyty, ale potřebují cytokiny jimi produkované (nebo z NK buněk a dalších zdrojů)

ZÁVISLÉ NA T-LYMFOCYTECH

- u novorozenců, po splenektomii nebo u některých imunodeficitů je jedinou cestou aktivace
- probíhá ve dvou fázích – primární a sekundární odpověď, mohou být jasně oddělené nebo na sebe bezprostředně navazují v závislosti na dávce a podání antigenu
- vznik paměťových buněk a vznik vysokoafinních protilátek (proces afinitní maturace)

primární fáze

- po prvním setkání s antigenem (imunizace nebo přirozená infekce), současně probíhají dva děje:
 - stimulace B-lymfocytu vazbou antigenu na BCR
 - pohlcení antigenu profesionální APC, které antigen prezentují v komplexu s MHC prekurzorům Th-lymfocytů -> vznik klonů antigenně specifických Th2 buněk – rozeznají stimulované B buňky a poskytují jim signály (cytokiny), které způsobí pomnožení, diferenciaci na plazmatické buňky a sekreci protilátek
- Část B buněk se přemění na plazmatické buňky, z části se stanou paměťové buňky (pokračují ve vývoji a v případě potřeby zahájí sekundární odpověď)

- protilátky produkované první fází jsou téměř výhradně IgM s nízkou afinitou k antigenu (3-4 dny od imunizace), jsou účinné při blokování šíření infekce, tvoří s antigeny imunokomplexy (spolu s přirozenými protilátkami – tvořeny konstantně) – jsou zachycovány v lymfatických uzlinách na povrchu folikulárních dendritických buněk (velmi dlouho, až roky) -> koncentrace antigenů, FDC fungují jako APC pro B-lymfocyty
- popsané děje probíhají především v sekundárních lymfatických orgánech, část plazmatických buněk je roznesena do systému a do kostní dřeně

sekundární fáze

- po rozeznání antigenu na FDC v primárních folikulech (a po pomocných signálech) začne nové kolo dělení a diferenciací B-lymfocytů
- dochází k intenzivní mutaci genů pro L a H řetězce a vznikem mutantních klonů B-buněk nesoucích BCR, která mají jiná vazebná místa pro antigen – přežijí pouze ty buňky, které nesou BCR s dostatečnou afinitou k antigenu na FDC (neproduktivní mutace hynou), s klesající dostupností antigenu roste selekční tlak
- proliferace je mikroskopicky viditelná jako vznik sekundárních folikulů se zárodečnými (germinálními) centry, proces se nazývá germinální reakce a jeho výsledkem je afinitní maturace vznikajících protilátek (afinita je o několik řádů vyšší oproti protilátkám z první fáze)
- dochází k izotopovému přesmyku -> tvorba IgG, IgA, IgE – původ izotypů je určen působením cytokinů (IL-4 -> IgG1 a IgE, TGF-beta a IL-10 -> IgA, IFN-gama -> IgG2, IgG3)
- velmi důležitý pro zahájení mutací, přesmyku a vznik paměťových buněk je kontakt s Th-lymfocyty (receptor CD40 na povrchu B buněk a povrchový cytokin CD40L na Th buňkách)
- výsledkem je vznik protilátek, které mají oproti IgM vyšší afinitu a jiné efektorové vlastnosti (aktivace komplementu a vazba na Fc-receptory), zůstává také množství paměťových buněk, které mohou po setkání s antigenem zahájit další kolo (opakované zvýšení afinity)
- oba popsané děje na sebe bezprostředně navazují a vedou ke vzniku paměťových buněk

primární a sekundární odpověď

- reakce prvního a opakovaného setkání s určitým antigenem (není to totéž jako výše popsané)
- při opakované infekci jsou rychle aktivovány paměťové buňky, které produkují účinné protilátky

- po primární infekci dlouhou dobu přetrvává poměrně vysoká hladina protilátek, které brání infekci v zárodku -> při opakované imunizaci dochází k novým cyklům „sekundárních“ fází, které vedou k dalšímu zvyšování kvality protilátek

17. IgE – jeho význam v imunologických reakcích, interakce s receptory na buňkách.

OBRANA PROTI MNOHOBUNĚČNÝM PARAZITŮM

- dominantním rysem je produkce IgE
- po setkání IS s antigenem parazita (prostřednictvím mastocytů, eozinofilů a bazofilů) se stimuluje proliferace a diferenciaci Th2, kritickým faktorem je IL-4 (mastocyty a další APC)
- efektorové Th2 stimulují proliferaci a terminální diferenciaci B-lymfocytů, které nesou specifické BCR, pod vlivem IL-4 dochází k izotypovému přesmyku a produkci IgE -> nasedají na vysokoafinní IgE receptory na mastocytech -> antigenně specifické receptory
- po kontaktu s parazitem dojde k agregaci receptorů a uvolnění mediátorů z granulí, zároveň aktivace fosfolipázy A2 -> metabolity kyseliny arachidonové
- v pozdějších stádiích stimulace Th1-lymfocytů a syntéza protilátek jiných tříd -> potlačení infestace
- efektorovými buňkami jsou eozinofily (diferenciaci pod IL-5), mohou fagocytovat komplexy antigen-IgE prostřednictvím IgE receptorů

IMUNOPATOLOGICKÁ REAKCE I. TYPU

- nejběžnější typ, tvorba IgE proti některým antigenům zevního prostředí (pyl, roztoči, potraviny, srst, ..)
- jediná imunopatologická reakce, která není u autoimunitních chorob
- atopik – jedinec, který na neškodné antigeny reaguje tvorbou IgE, genetická predispozice (atopie)
- po prvním setkání dochází k senzibilizaci (podobné reakce jako při mnohobuněčných parazitech), stimulace diferenciaci Th a následně B-lymfocytů, které secernují pod vlivem cytokinů IL-4, IL-5 protilátky IgE
- IgE se váže na vysokoafinní receptory na žírných buňkách a bazofilech, při opakovaném setkání může dojít k přemostění IgE, agregaci receptorů a okamžitému uvolnění mediátorů (histamin, heparin) + tvorba metabolitů kyseliny arachidonové

18. Genetický základ protilátkové heterogenity, genové rekombinace, zdroje variability V_H a V_L .

- geny kódující řetězce imunoglobulinů se skládají z většího počtu úseků (genové segmenty), které při vývoji lymfocytů podléhají přeskupování (rearrangement)
- geny kódující H-řetězce IG se nachází na genovém komplexu chromosomu 14 – obsahuje skupinu několika set podobných úseků V (variabilita), několik úseků D (diversita) a pár úseků J (joining) + konstantní část (C)
 - po stranách C segmentů se nachází přesmyková sekvence, které jsou rozeznávány enzymy provádějící izotypový přesmyk
- genové komplexy L-řetězců jsou podobná, ale jednodušší

PROCES REKOMBINACE

- vyštěpení úseku IgH komplexu náhodně mezi D-segmentem a J-segmentem (D-J přeskupení), může probíhat opakovaně, pokud jsou k dispozici fragmenty
- poté vyštěpení úseku mezi V-segmentem a DJ-segmentem (V-D přeskupení), pokud se přeskupení efektivní, tj. může dojít k expresi na H-řetězec, proces se zastaví (totéž se stane s L-řetězcem) – alelická exkluze
- nejprve musí dojít k tvorbě H-řetězce, v okamžiku, kdy skončí přeskupování se z buňky stane pre-B-lymfocyt
- těžké řetězce místo s lehkým asociují s náhradními L-řetězci -> exprimace komplexu na povrchu -> pozitivní signál k dalšímu vývoji – přeskupování genů pro L-řetězce
- opakované vyštěpování velkých úseků mezi V-segmentem a J-segmentem do úspěšnosti pokusu (tvorba funkčního řetězce a IgM, který by nahradil pre-B-receptor) -> opět alelická exkluze
- pokud není pokus úspěšný s geny kappa ani na jednom chromozomu, pokračuje pokus s lambda, pokud neuspěje -> hyne (ne všechny těžké a lehké řetězce jsou kompatibilní, nejsou-li stabilní, buňka také hyne)
- expresí povrchového IgM vzniká nezralý B-lymfocyt, v dalším stádiu tvoří současně IgM i IgD – alternativním sestřihem preRNA -> zralý B-lymfocyt
- variabilita povrchových IG je daná tvorbou různých kombinací VDJ genových segmentů
- spojovací variabilita – po vyštěpení úseků během přeskupení nejsou konce odstřiženy zcela přesně a jejich spojením mohou vznikat nové varianty + enzym terminální transferáza prodlužuje konce o náhodné úseky N-sekvence
- pokud dojde ke kontaktu B-lymfocytu s antigenem na FDC, součástí primární aktivace jsou somatické mutace V-segmentů -> zvýšení počtu variant -> selekce mutantů s vysokou afinitou

(může dojít i k reaktivaci rekombinačních procesů – enzym aktivací indukovaná cytidin deamináza = AID)

IZOTYPOVÝ PŘESMYK

- nastává při terminální diferenciaci B-lymfocytů, vyštěpení velkých úseků IgH genů pro konstantní část H-řetězce – ztráta segmentů C, přepsán je potom ten C-segment, který leží nejbliž VDJ-segmentu
- mohou probíhat paralelně – současná produkce IgD a IgM

ELIMINACE AUTOREAKTIVNÍCH KLONŮ

- vznikají při tvorbě širokého repertoáru klonů B-lymfocytů, většina se eliminuje na úrovni nezralého B-lymfocytu (apoptoticky)
- pokud buňka unikne, nedojde k její plné aktivaci, chybí pomocný signál od Th-lymfocytu (přísnější eliminace)

19. Antigeny, superantigeny, hapteny, nosiče, imunogen, alergen, autoantigen.

ANTIGEN

- látka, která navozuje produkci jedné nebo více protilátek (teorie zámku a klíče), může být exogenní i endogenní, buňky IS se snaží neutralizovat jakýkoliv cizí nebo potencionálně nebezpečný antigen
- podle nové definice všechny molekuly nebo jejich fragmenty, které mohou být vázány molekulami MHC, vlastní antigeny jsou fyziologicky tolerovány, cizí napadeny

SUPERANTIGEN

- exoantigen, obvykle produkt infekčních mikroorganismů, vyvolá nespecificky aktivaci velkého počtu lymfocytů nezávisle na antigenní specifitě, pro aktivaci IS nevyžadují APC
- mají dvě vazebná místa: jedním se vážou na molekuly HLA II, druhým na TCR
- rychlá aktivace T-lymfocytů, sekrece cytokinů (až šokové stavy), produkce autoimunitních protilátek
- enterotoxin a TSST (SA), pyrogenní toxiny (streptokok), enterotoxin (Clostridium difficile), M protein (streptokok – vázaný na buňku)

HAPTEN = „osamělý epitop“, je imunogenní až po vazbě na nosič, neplnohodnotný antigen (epitop = antigenní determinanta, specifický povrchový rys antigenu, jeden klíč na svazku)

NOSIČ = makromolekula, která může vázat hapteny -> stává se imunogenním

IMUNOGEN = specifický typ antigenu, látka, která je schopná vyvolat adaptivní imunitní odpověď, zatímco antigen s může spojit s produkty imunitní odpovědi až po jejich vzniku

ALERGEN = exoantigen, látka schopná způsobit u vnímavého jedince alergickou reakci, může vzniknout po požití alergenu, inhalací, injekcí nebo kontaktem s kůží

AUTOANTIGEN

- obvykle protein nebo jejich komplex (DNA, RNA), rozeznány IS, ačkoliv fyziologicky rozeznány být nesmějí, dochází k poruše imunologické tolerance pro daný antigen
- vznikají autoprotilátky -> příčina autoimunitního onemocnění

20. Antigenicita, adjuvans, T dependentní a independentní antigeny.

ANTIGENICITA = schopnost specificky kombinovat finální produkty imunitní odpovědi – sekretované protilátky a/nebo povrchové receptory na T-buňkách, všechny imunogenní molekuly jsou antigenní, naopak to neplatí

ADJUVANS

- pomocná látka, která napomáhá pohlcení antigenu APC (popř. napomáhá nespecifické stimulaci imunity), využívá se při imunizaci zvířat a lidí se stimulací specifického IS, odpověď je silnější, protilátky přetrvávají déle a ve větším množství
- vytvoření podkožního depa, ze kterého se Ag postupně uvolňuje
- používaná adjuvancia: Freundovo adjuvans (experimentálně, veterina – olej, voda, usmrčená mykobakteria), hydroxid hlinitý (medicína – Ag se adsorbuje na částice Al, pomáhá pohlcení APC, indukuje zejména pomocné T-lymfocyty)

T-DEPENDENTNÍ ANTIGENY = takový antigen vyžaduje k indukci tvorby specifických protilátek T buňky, spadá sem většina proteinů, reakce probíhá ve dvou fázích (primární a sekundární odpověď), vznikají vysokoafinní protilátky a paměťové buňky (viz ot. 16 – aktivace B-lymfocytů)

T-INDEPENDENTNÍ ANTIGENY = antigen stimuluje B buňky přímo, jedná se většinou o polysacharidy, dochází hlavně k tvorbě nízkoafinních IgM, nevzniká paměť

21. MHC, genová lokalizace, buněčná distribuce, dědičnost, biologický význam variability MHC.

- MHC (major histokompatibilitý komplex), u lidí HLA (human leukocyte antigen) se nachází na krátkém raménku chromozomu 6 (HLA komplex) – kromě genů MHC gp I a II kóduje složky komplementu, cytokiny, proteasomy, HSP, ...
- MHC glykoproteiny I. třídy se nachází na všech jaderných buňkách, MHC gp II za fyziologických okolností jen na APC (dendritické buňky, monocyty, makrofágy, B-lymfocyty)
- klasické HLA I jsou HLA-A, B a C, neklasické HLA-E, F a G (nejsou produkty MHC, ale strukturně i funkčně jsou blízké), HLA II jsou HLA-DQ, DR, DP
- funkcí je vázat peptidové fragmenty proteinů buď produkovaných buňkou (MHC gp I), nebo pohlcených buňkou (MHC gp II) a vystavovat je na buněčném povrchu pro T-lymfocyty (TCR receptor), vazba antigenu je nutná pro udržení MHC gp na povrchu buňky, neklasické MHC gp váží i lipidy
- většina buněk má na svém povrchu desítky tisíc MHC molekul, na APC řádově vyšší

DĚDIČNOST, VARIABILITA

- většina MHC gp je extrémně polymorfní, desítky až stovky různých alelických forem jednotlivých izotypů
- dědí se kodominantně – většina jedinců má na buňkách dvě alelické formy HLA-A, DR, ..
- jednotlivé formy se liší záměnami aminokyselin ve vazebném místě pro peptidy a jeho okolí -> různé varianty váží různé strukturní typy peptidů, každý jedinec má aspoň tři izotypy MHC gp I, každou ve dvou alelických variantách (velká šance, že aspoň jedna forma naváže peptid viru, je prakticky jisté, že v populaci existuje struktura vázající jakýkoliv peptid)
- polymorfismus na ochranný význam na úrovni jedince i populace, působí zároveň komplikace při orgánových transplantacích
- neklasické MHC gp I. třídy: HLA-E, F a G (někdy CD1 – imunoregulační funkce)
 - HLA-E: mnoho typů buněk, váže signální peptidy z prekurzorů HLA-A, B a C
 - HLA-G: pouze na trofoblastu, váže široké spektrum peptidů, komplexy jsou rozeznávány inhibičními receptory NK buněk a pomáhají toleranci plodu v děloze

22. HLA-I a HLA-II - struktura molekul, MHC restrikce a prezentace antigenu.

STRUKTURA

- HLA I se skládají z transmembránového řetězce a asociovaného beta2-mikroglobulinu, alfa řetězec obsahuje 3 domény, alfa1 a 2 vytváří vazební místo pro peptid (rýha na povrchu, dno tvoří beta2-mikroglobulin)

- HLA II se skládají ze dvou nekovalentně spojených transmembránových podjednotek alfa a beta, domény společně vytváří místo pro peptidy (podobné MJC gp I)

MHC RESTRIKCE

- schopnost cytotoxických T lymfocytů likvidovat pouze buňky, které mají cizí antigen na svém povrchu prezentován ve spojení s vlastními HLA antigeny I. třídy

VAZBA PEPTIDŮ NA MHC gp I

- MHC gp I mají oba konce vazebného místa uzavřené -> peptidy se musí vejít celé (8-10 AMK)
- MHC gp II mají vazebné místo otevřené – může vázat i delší peptidy
- určitá molekula MHC váže peptidy, které mají společný vazebný motiv
- vazba peptidů produkovaných v buňce (MHC gp I) probíhá během syntézy v ER, po poskládání konformace nastává asociace s kompatibilním peptidem (fragmenty z proteasomu, ubikvitinované proteiny humánní i virové), na povrch se dostane MHC I složený z alfa a beta řetězce a peptidu
- zkřížená prezentace – vazba exogenních peptidů, fagocytované proteiny jsou transportovány do cytoplazmy, do proteasomu a ER

VAZBA PEPTIDŮ NA MHC gp II

- v ER vznikají komplexy alfa a beta řetězců s invariantním řetězcem (transmembránový protein) – blokuje místo pro peptidy pro I. třídu, prochází přes Golgiho komplex, na cestě na povrch fúzí z endosomy (endocytární váčky s proteiny zachycenými APC, splývají s lysozomy, proteiny jsou naštěpeny)
- po fúzi váček se invariantní řetězec rozštěpí a odhalí vazebné místo pro peptidy

23. Cytokiny a chemokiny - dělení, biologický význam.

- základní regulátory imunitního systému, tkáňové hormony – proteiny sekretované leukocyty a dalšími buňkami, působí prostřednictvím specifických receptorů
- membránové formy, patří sem i některé signální povrchové proteiny (CD80, CD40L, ..) – výhodou je, že nedochází k zředování a odplavování a mají výrazné lokální působení
- působení je pleiotropní (působí na různé druhy buněk), často působí v kaskádě a celý systém je částečně redundantní (nahraditelný), někdy je nutné současné působení více faktorů (cytokinová síť)
- působení autokrinní, parakrinní, endokrinní, kromě působení na IS mají i jiné funkce (regenerace tkání, embryonální vývoj, angiogeneze, kancerogeneze, ..)

- složitá nomenklatura (interleukiny + některé původní názvy – TNF, růstové faktory) – dnes asi 120 cytokinů, i některé hormony se mohou chovat jako cytokiny (prolaktin)
- Často se ve svých funkcích překrývají, těžký výzkum (pokusy myších, kterým je odstraněn gen pro určitý cytokin), rekombinantní cytokiny

KLASIFIKACE PODLE NÁZVŮ (nepřesné, historický vývoj)

- interleukiny: IL-1 – IL-32 (vývoj a aktivace lymfocytů)
- chemokiny: IL-8 a další (chemotaxe)
- interferony: INF-alfa, beta a gama (neadaptivní antivirové mechanismy)
- transformující růstové faktory: TGF alfa a beta
- faktory stimulující kolonie: G-CSF, M-CSF, GM-CSF
- faktory nekrotizující nádory: TNF, lymfotoxin
- jiné růstové faktory: EPO, FCF, NCF, LIF

KLASIFIKACE PODLE STRUKTURY

- hemopoetiny: IL-2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, ..., G-CSF, GM-CSF, M-CSF
- interferony a rodina IL-10: INF-alfa, beta a gama, IL-10, 19 20 22 24, ...
- skupina IL-12: IL12, 23, 27
- skupina TNF, skupina TGF, chemokiny (IL-8) a ostatní

KLASIFIKACE PODLE FUNKCE

- prozánětlivé cytokiny: TNF, IL-6, 1, 8, 12, 18, ...
- protizánětlivé: IL-4, 6, 10, 25, TGF-beta
- růstové faktory: IL-2, 3, 4, 5, 6, 7, ..., GM-CSF, M-CSF, ...
- humorální imunita: IL-4, 5, 9, CD40L, ...
- buněčná imunita: IL-1, 2, 12, 15, ... CD70, INF-gama, TNF
- antivirové účinky: IL-28, 29, INF-alfa, beta, gama

RECEPTORY CYTOKINŮ

- dvě až tři podjednotky, jedna specificky váže cytokin, zbylé zajišťují spojení se signalizačními molekulami v buňce
 - třetí podjednotka bývá společná pro několik receptorů -> receptorové rodiny (gamaC pro IL-2, 4, 7, 9, 13, 15, 21)
 - strukturně jsou podobné receptory pro interferony a IL-10
 - charakteristická struktura pro chemokiny – řetězec prochází 7x membránou a je spojený s G-proteinem

- imunoglobulinová rodina – váže SCF, M-CSF, IL-1 a PDGF
- vazba na receptor způsobí konformační změnu, která se projeví uvnitř buňky a zahájí přenos signálu, většina receptorů je asociována s proteinkinázami – po aktivaci receptoru dojde k agregaci molekul, jejich kinázy se navzájem fosforylují a spouští se kaskáda
 - proteinkinázy skupiny Jak, G-proteiny, receptorové kinázy
- výsledkem může být proliferace, diferenciace, spuštění efektorových mechanismů, zablokování buněčného cyklu a apoptóza

24. Adhezivní molekuly - dělení, biologický význam.

- většina dějů IS je závislá na mezibuněčných kontaktech (vývoj lymfocytů ve dření a thymu, kooperace mezi APC a Th-lymfocyty, adheze leukocytů k endotelu), založeny na interakcích mezi mnoha páry adhezivních molekul (každá na povrchu buňky – označení receptor ligand je vzájemné), funguje i v jiných systémech než IS
- molekuly plní víc než jen funkci lepidla, po vazbě přenášejí signály do buňky o adhezi, můžeme mezi ně zařadit i ty molekuly, jejich funkce je především signalizační (CD28-CD80, CD40-CD40L, TCR-MHCgp+peptid)
- některé jsou exprimovány konstitučně, jiné pouze po aktivaci (vazba cytokinu, jiný receptor)
- adhezivní molekuly zprostředkovávají komunikaci na základě přímého kontaktu (x cytokiny a hormony), mohou však existovat v solubilních formách (hranice splývá)
- dělí do několika skupin podle struktury:

INTEGRINY

- velká skupina adhezivních receptorů důležitá pro více systémů – váží komponenty mezibuněčné hmoty, membránové ligandy z imunoglobulinové skupiny
- dvě transmembránové, asociované podjednotky alfa a beta (několik podtypů, mohou se navzájem kombinovat)
- dvě konformace: klidová (nízkoafinní), stimulovaná (vysokoafinní)
- nejdůležitější pro IS jsou beta1, beta2, beta3 a beta 7 integriny
 - integriny beta1 váží složky mezibuněčné hmoty (fibronektin, kolageny, von Willebrandův faktor, ...), podílí se na vazbě leukocytů na endotel
 - integriny beta2 (leukocytární integriny) zahrnují tři členy:
 - LFA -1 (CD11a/CD18) – hlavní adhezivní molekula leukocytů

- CD11b/CD18 – komplementový receptor (fragment C3b), adhezivní molekula (jako LFA-1), váže bakteriální sacharidy
- Gp150/95 (CD11c/CD18) – podobné funkce + komplementový receptor CR4
- integriny beta3 – hlavní receptory trombocytů, zachycování destiček
- integriny beta7 – interakce subpopulací lymfocytů s endoteliemi

IMUNOGLOBULINOVÁ SKUPINA

- mnoho proteinů s doménami podobnými IG – ligandy leukocytárních integrinů, adhezivní receptor T-lymfocytů CD2, receptory TCR, BCR, koreceptory CD4 a CD8, ...

SELEKTINY

- tři strukturně příbuzné receptory označené podle typů buněk, na kterých se vyskytují: L (leukocytární), E (endoteliární) a P (trombocytární) selektin (CD62L, E a P)
- dlouhý stonek, koncová lektinová doména (váže sacharidové struktury)
- zásadní význam v iniciální fázi zachycení leukocytů na endoteliích
- existují i lektiny C typu – mannózoové a galaktózoové receptory fagocytů, receptor NK buněk, ...
- další lektiny (proteiny vážící sacharidové struktury) – CD22 B-lymfocytů, galektiny
- rozpustné rostlinné lektiny: konkavalin A, fytohemaglutinin (fazole) – působí jako mitogeny velkého množství T-lymfocytů, napodobují interakci mezi TCR a APC

MUCINY

- silně glykosylované glykoproteiny, které mohou být buď sekretované, nebo membránově vázané (mohou být ligandy selektinů)
- povrchový sialoglykoprotein leukocytů CD43 – hlavní antiadhezivní molekula leukocytů (brání snadného kontaktu buněk)

JINÉ ADHEZIVNÍ MOLEKULY

- gp CD44 – receptor pro kyselinu hyaluronovou (mezibuněčná hmota) – interakce mezi leukocyty a endoteliemi
- endoglin – na povrchu endotelií
- scavengerové receptory

25. T-lymfocyty, CD klasifikace, význam, funkce, fyziologické koncentrace v periferní krvi.

- nezbytné pro antigenně specifické buněčně zprostředkované i protilátkové imunitní reakce, efektorové buňky mají zásadní úlohu při eliminaci infikovaných buněk a při regulaci vývoje B-lymfocytů v plazmocyty produkující protilátky

KLASIFIKACE

lymfocyty exprimující TCR alfa-beta nebo gama-delta

- na každé buňce je několik desítek tisíc klonů TCR, podle typu je lze rozdělit na alfa-beta, nebo gama-delta
 - alfa-beta TCR jsou u většiny savců konvenčním typem – potřebují thymus k vývoji, peptidy musí být vázané s MHC gp
 - gama-delta TCR jsou menšinové, mohou se vyvíjet i mimo thymus a rozeznávat antigeny i bez vazby na MHC gp (některé i nativní antigeny), podobají se NK buňkám, ochrana proti specifickým patogenům

intraepiteliální lymfocyty

- v epiteliích (kůže, sliznice), oba typy receptorů, většinou vyžívají mimo thymus, pravděpodobně obrana první linie a regulace slizniční imunity produkcí cytokinů

NK-T-lymfocyty

- zvláštní typ s TCR alfa-beta, receptory charakteristické pro NK buňky, rozeznávají komplexy molekul CD1d s glykolipidy mikrobiálního nebo vlastního původu
- bohatý zdroj cytokinů a regulační funkce, fenotypově i funkčně heterogenní

lymfocyty s koreceptory CD4 a CD8

- na lymfocytech s receptorem alfa-beta, dělení na nosiče CD4 (koreceptor pro MHC gp II) a CD8 (koreceptor pro MHC gp I)
 - většina CD8+ jsou prekurzory cytotoxických Tc buněk nebo paměťové buňky tohoto typu (měly by sem patřit i supresorové Ts buňky), mají i důležité regulační funkce (produkce cytokinů)
 - většina CD4+ jsou prekurzory pomocných Th buněk, lze je dělit podle produkovaných cytokinů na Th1 (IL-2, INF-gama) a Th2 (IL-4, 5, 6, 10) + Th0 (směs předchozích) a Th3 (TGF-beta)
 - poměr CD4/CD8 – 2:1, koncentrace CD4 – 1000/ul krve, koncentrace CD8 – 500/ul krve

regulační (tlumivé, supresorové) T-lymfocyty

- jsou schopny potlačovat aktivitu efektorových T-lymfocytů, nejlépe prozkoumané jsou přirozeně regulační CD4+ T-lymfocyty (asi 5% krevních lymfocytů)
 - vznikají v thymu a jsou závislé na IL-2, nesou autoreaktivní TCR, ale vlastní tkáň nenapadají a potlačují autoimunitní reakce, produkují tlumivé cytokiny, působí na aktivované T-lymfocyty kontaktem (cytotoxické působení perforinu a granzymů)
 - experimentální odstranění vedlo k těžkým autoimunitám -> patogeneze autoimunit u lidí
- indukované regulační T-lymfocyty – vznikají v periferních tkáních při antigenně specifických reakcích, působí přes tlumivé cytokiny, patří sem Th3 a Tr1, tlumí imunitní reakce
- infekční tolerance – schopnost regulačních lymfocytů přeměňovat jiné lymfocyty na sobě podobné
- jejich úloha je velmi důležitá, ale mohou být překážkou při odstraňování nádorů a některých infekcí

26. TcR, genová rekombinace a zdroje variability, struktura, funkce.

- receptor T-lymfocytů
- organizace genů kódujících TCR typu alfa-beta i gama-delta je podobná jako u genů pro IG (V, D, J a C segmenty) – genové komplexy pro TCR-beta a TCR-delta jsou shodné s komplexem pro IgH, komplexy pro TCR-alfa a TCR-gama s komplexem pro IgL
- přeskupování genů probíhá podobně jako u IG, provádějí je stejné enzymy -> stejné zdroje variability, u genů pro TCR nedochází k somatickým mutacím a afinitní maturaci

STRUKTURA

- TCR heterodimery jsou asociovány s přídatnými polypeptidy – vytváří TCR-komplex (skupina 3-5 polypeptidů, které jsou nutné, aby došlo k exprimaci TCR na povrchu lymfocytu a přenosu signálu do nitra buňky)
- heterodimer je složený ze 2 polypeptidových řetězců: alfa a beta řetězce (95%), gama a delta řetězce (5%)

VÝVOJ T-LYMFOCYTŮ

- děje na genové úrovni jsou podobné B-lymfocytům
- prekurzory T-lymfocytů přicházejí z kostní dřeně do thymu jako pro-thymocyty – začnou se přeskupovat geny pro TCR-beta a TCR-delta, po úspěšném přeskupení TCR-beta dojde k exprimaci pre-TCR (beta řetězec a pre-alfa) -> přeskupování genů pro TCR-alfa -> vznik definitivního TCR

- zároveň se povrchu exprimují CD4 a CD8 koreceptory, dochází k eliminaci autoreaktivních buněk (negativní selekce) a buněk s nefunkčním TCR (pozitivní selekce), selekcí projdou pouze ty, které s nízkou afinitou váží MHC proteiny, zachovávají si expresi CD4/CD8 a jdou do sekundárních lymfatických orgánů
- z některých autoreaktivních klonů se stávají regulační T-lymfocyty (periferní tolerance)
- podobně jako B buňky musí překonat několik kritických míst, mají ale mnohem přísnější výběr (98% lymfocytů vstupujících do thymu hyne)
- pokud přežijí autoreaktivní klony T buněk, nedostanou druhý, kostimulační signál

27. Th lymfocyty - rozdělení, funkce, spolupráce s ostatními buněčnými elementy.

- ty T-lymfocyty, které exprimují TCR alfa a beta a znak CD4
- subpopulace: Th1 (IL-2, INF-gama), Th2 (IL-4, 5, 6, 10), Th3 (TGF-beta), Th0 (směs Th1 a 2), Tr1 (IL-10)

IMUNITNÍ REAKCE TYPU Th1 (zánětlivá reakce)

- základní funkcí Th1 je spolupráce s makrofágy a jejich stimulace -> aktivované makrofágy (nutné ke zničení intracelulárních bakterií, tvorba ROI), je nutná stimulace cytokiny
- pro vznik a pomnožení zralých Th1 je nutný styk s infikovanými makrofágy, které vystavují fragmenty parazita s MHC gp II (+ produkují adhezivní a kostimulační molekuly), prekursor se pomnoží a terminálně diferenciuje na efektorové Th1 buňky -> kontaktují infikované makrofágy a dávají jim signál k aktivaci (INF-gama) -> stimulace lokálního zánětu
- buňky využívají IL-2 jako autokrinní růstový faktor
- vzájemné působení makrofágů a Th1-lymfocytů je základem imunopatologické reakce IV typu

IMUNITNÍ REAKCE TYPU Th2 (pomoc B-lymfocytům)

- základní funkcí je spolupráce s B-lymfocyty po předchozí stimulaci antigenem -> pomnožení klonu B-lymfocytů a diferenciaci na plazmatické buňky – produkce protilátek
- pomoc je založená na sekreci cytokinů (IL-4, 5, 6) a přímém kontaktu (kostimulační receptor CD40 na B-lymfocytech a ligand CD40L na aktivovaných Th2)
- prekursorová buňka dozrává po setkání s antigenem (komplex s MHC gp) na povrchu APC (DC – kostimulační signály CD80 a CD86) za přítomnosti IL-4 -> opakovaná proliferace a diferenciaci na efektorové Th2 -> dodávají B-lymfocytům potřebné signály
- imunologická synapse – místo kontaktu ACP a T-lymfocytu
- buňky mohou poskytovat pomoc dvě typům B lymfocytů:

- ty B-lymfocyty, které pomocí BCR rozeznaly stejný antigen jako APC -> ideální situace, Th2 poskytuje specifickou přímou pomoc B-lymfocytům, které byly stimulovány stejným antigenem, stačí kontakt TCR a adhezivních molekul B-lymfocytu, není třeba kostimulace CD28
 - o specifickou pomoc se jedná, i pokud BCR rozeznal jiný fragment stejné molekuly -> jeden Th2-lymfocyt poskytovat specifickou pomoc B-lymfocytům mnoha různých specifit (a naopak, B-lymfocyt může být stimulován více Th2)
- B-lymfocyty byly stimulovány rozeznáním jiného antigenu a na svém povrchu nemají MHC gp II s peptidy, které by mohl Th2 rozeznat – i v takovém případě může dojít ke kontaktu, sekreci cytokinů, vazbě CD40L na CD40 a plné stimulaci B buňky = nepřímá (bystander) pomoc
 - není jasná úloha mechanismu za fyziologických podmínek, nebezpečí aktivace autoreaktivních B-lymfocytů
- minimální model spolupráce – k plné aktivaci není nutná APC – zastane ji samotná B buňka, která je však zároveň nespecificky stimulována přes BCR bakteriálními produkty

VZÁJEMNÁ REGULACE AKTIVIT Th1 A Th2

- extracelulární infekce – Th2 a protilátky, intracelulární infekce – Th1 a makrofágy -> špatná volba může mít fatální následky
- o vývoji prekurzorů CD4+ Th buněk rozhoduje poměr koncentrací IL-12 a IL-4
 - IL-12 – makrofágy a DC -> Th1 (zároveň inhibice Th2)
 - IL-4 – bazofily a mastocyty -> Th2 (zároveň inhibice Th1)
- jeden z nejdůležitějších imunoregulačních mechanismů

28. Regulační CD4, CD8 lymfocyty, mechanismy regulačního působení.

regulační (tlumivé, supresorové) T-lymfocyty

- vyvíjí se z helperů, nesou znaky CD4 i CD8
- jsou schopny potlačovat aktivitu efektorových T-lymfocytů, nejlépe prozkoumané jsou přirozeně regulační CD4+ T-lymfocyty (asi 5% krevních lymfocytů)
 - vznikají v thymu a jsou závislé na IL-2, nesou autoreaktivní TCR, ale vlastní tkáň nenapadají a potlačují autoimunitní reakce, produkují tlumivé cytokiny, působí na aktivované T-lymfocyty kontaktem (cytotoxické působení perforinu a granzymů)

- experimentální odstranění vedlo k těžkým autoimunitám -> patogeneze autoimunit u lidí
- indukované regulační T-lymfocyty – vznikají v periferních tkáních při antigenně specifických reakcích, působí přes tlumivé cytokiny, patří sem Th3 a Tr1, tlumí imunitní reakce
- infekční tolerance – schopnost regulačních lymfocytů přeměňovat jiné lymfocyty na sobě podobné
- jejich úloha je velmi důležitá, ale mohou být překážkou při odstraňování nádorů a některých infekcí

29. Cytotoxické lymfocyty a jejich efektorové a paměťové funkce.

- rozeznávají buňky infikované viry nebo jinými intracelulárními parazity nebo jinak poškozené (stres, nádorové buňky) a ničí je mechanismy závislémi na bezprostředním kontaktu mezi Tc a buňkou
- velmi radikální eliminace zdroj potenciálního poškození, riziková (poškození zdravých tkání může být horší než zisk ze zničení rizika)
- zahájení je podobné jako aktivace Th buněk – prekurzory musí rozeznat komplex antigenu na MHC gp I na APC (musí mít kostimulační molekuly CD80, CD86) – dendritické buňky nebo makrofágy – buňky jsou buď infikovány nebo pohlty antigeny z poškozených mrtvých buněk
- pokud buňka dostane pouze první signál na jiné buňce než APC, dojde k útlumu
- po signálu z APC se prekurzor začne dělit a diferencovat na klon zralých efektorových buněk, k optimálnímu procesu napomáhají i Th1 sekrecí IL-2
 - Th zároveň pomáhá APC, aby mohla sama stimulovat prekurzor
 - APC produkuje CD40 – spojení s CD40L na T-lymfocyty -> sekrece cytokinů
- efektorové Tc jsou roznášeny o oběhu do tkání, kde působí, zralým buňkám stačí k aktivaci pouze jeden signál přes TCR
- cytotoxické mechanismy:
 - cytotoxické granule v cytoplazmě (lysozomy s perforinem a granzymem), po rozeznání vadné buňky, granula migrují k místu kontaktu a exocyticky se vylíjí do štěrbin (degranulace Tc)
 - perforin je podobný komplexu C9, vytváří póry -> lýza, nebo místa cesty granzymů do buňky -> štěpí prekurzory kaspáz -> apoptóza

- na povrchu Tc je Fas-ligand – váže se na Fas-receptor -> signály, které přenesou, indukují v buňce apoptózu (Fas ligand je i na Tc -> Tc mohou páchat sebevraždu -> omezení jejich aktivity)
- třetí způsob nevyžaduje přímý kontakt, ale má za následek poškození i zdravých buněk – Tc produkují cytokin lymfotoxin, který podobně jako Fas-ligand indukuje apoptózu
- aktivace superantigeny – viz definice
 - antigen může propojit MHC gp II s TCR -> rychlá aktivace mnoha T-buněk současně a sekrece velkého množství cytokinů -> šokové stavy

30. NK buňky - efektorové a regulační funkce.

- natural killers – morfologicky velké granulární buňky, nemají antigenně specifické receptory
- NK buňky rozeznávají buňky, které mají na povrchu abnormálně málo MHC gp I – nádorové a viry infikované buňky se brání napadení potlačením exprese MHC gp I
- jsou spíše součástí nespecifické imunity, nicméně jsou to lymfocyty, cytotoxicky jsou podobné T-lymfocytům
- receptory:
 - pozitivní (stimulační) – adhezivní molekuly, rozeznávají struktury obecně přítomné na buňkách (MHC), signály aktivují buňku k cytotoxickým mechanismům
 - patří sem i Fc-receptor CD16 – NK buňka se může navázat na opsonizovanou částici a zničit ji (cytotoxická reakce závislá na protilátkách)
 - negativní (inhibiční) – rozeznávají MHC – negativní signály, inhibice cytotoxicity
 - imunoglobulinové (KIR – ruší signalizační dráhy zahájené stimulačními receptory) a lektinové receptory
- reakce NK buňky závisí, které signály převáží, buňky se zvýšeným množstvím ligandů aktivačních receptorů -> lýza (stres, virová infekce)
- cytotoxické granule obsahující perforin a granzymy
- aktivátory NK buněk jsou také interferony alfa a beta (produkují je virem infikované buňky)
- mají regulační funkce – produkce cytokinů (INF-gama, IL-3, M-CSF), diferenciací efektorových Th buněk a hematopoéza

31. Antigenně specifická a nespecifická spolupráce T a B lymfocytů při tvorbě protilátek.

IMUNITNÍ REAKCE TYPU Th2 (pomoc B-lymfocytům)

- základní funkcí je spolupráce s B-lymfocyty po předchozí stimulaci antigenem -> pomnožení klonu B-lymfocytů a diferenciaci na plazmatické buňky – produkce protilátek
- pomoc je založená na sekreci cytokinů (IL-4, 5, 6) a přímém kontaktu (kostimulační receptor CD40 na B-lymfocytech a ligand CD40L na aktivovaných Th2)
- prekuzorová Th buňka dozrává po setkání s antigenem (komplex s MHC gp) na povrchu APC (DC – kostimulační signály CD80 a CD86) za přítomnosti IL-4 -> opakovaná proliferace a diferenciaci na efektorové Th2 -> dodávají B-lymfocytům potřebné signály
- imunologická synapse – místo kontaktu APC a T-lymfocytu
- buňky mohou poskytovat pomoc dvě typům B lymfocytů:
 - ty B-lymfocyty, které pomocí BCR rozeznaly stejný antigen jako APC -> ideální situace, Th2 poskytuje specifickou přímou pomoc B-lymfocytům, které byly stimulovány stejným antigenem, stačí kontakt TCR a adhezivních molekul B-lymfocytu, není třeba kostimulace CD28
 - o specifickou pomoc se jedná, i pokud BCR rozeznal jiný fragment stejné molekuly -> jeden Th2-lymfocyt poskytovat specifickou pomoc B-lymfocytům mnoha různých specifit (a naopak, B-lymfocyt může být stimulován více Th2)
 - B-lymfocyty byly stimulovány rozeznáním jiného antigenu a na svém povrchu nemají nemají MHC gp II s peptidy, které by mohl Th2 rozeznat – i v takovém případě může dojít ke kontaktu, sekreci cytokinů, vazbě CD40L na CD40 a plné stimulaci B buňky = nepřímá (bystander) pomoc
 - není jasná úloha mechanismu za fyziologických podmínek, nebezpečí aktivace autoreaktivních B-lymfocytů
- minimální model spolupráce – k plné aktivaci není nutná APC – zastane ji samotná B buňka, která je však zároveň nespecificky stimulována přes BCR bakteriálními produkty

32. B1 lymfocyty a γδ T lymfocyty

B1 LYMFOCYTY

- T-nezávislé B lymfocyty – pro aktivaci a následnou produkci protilátek nepotřebují pomoc od T-lymfocytů

- produkují přirozené IgM protilátky, zejména po rozpoznání bakteriálních multivalentních antigenů – provádí jejich BCR natolik, že indukovaný signál je dostatečný k aktivaci buňky
- nachází se hlavně v peritoneální a pleurální dutině a ve slezině, některé rozpoznávají autoantigeny
- paměťové B1 buňky jsou udržovány v peritoneální dutině a po opakovaném setkání s antigenem se aktivují – na rozdíl od B2 paměťových buněk (na T-závislých) nemají žádné speciální vlastnosti, které by umožnily rychlejší a intenzivnější odpověď
- paměť je daná pouze udržením většího počtu specifických buněk k danému antigenu

gama-delta T LYMFOCYTY

- malá populace T buněk s odlišným typem TCR, fungují na pomezí vrozené a adaptivní imunity
- mají antigenně specifický receptor TCR (v porovnání s alfa-beta méně rozsáhlý repertoár), byla prokázána imunologická paměť
- pomocí TCR rozeznávají konzervované struktury (jako receptory PRR), navíc exprimují receptory vrozené imunity (PRR, Toll-like, ...), mohou pohlcovat antigen a sloužit jako profesionální APC
- dvě funkce: v první fázi poznají konzervované struktury a aktivují adaptivní imunitu, v druhé fázi rozeznají vlastní stresem indukované molekuly a přispívají k regulaci imunitní odpovědi založené na alfa-beta T-lymfocytech