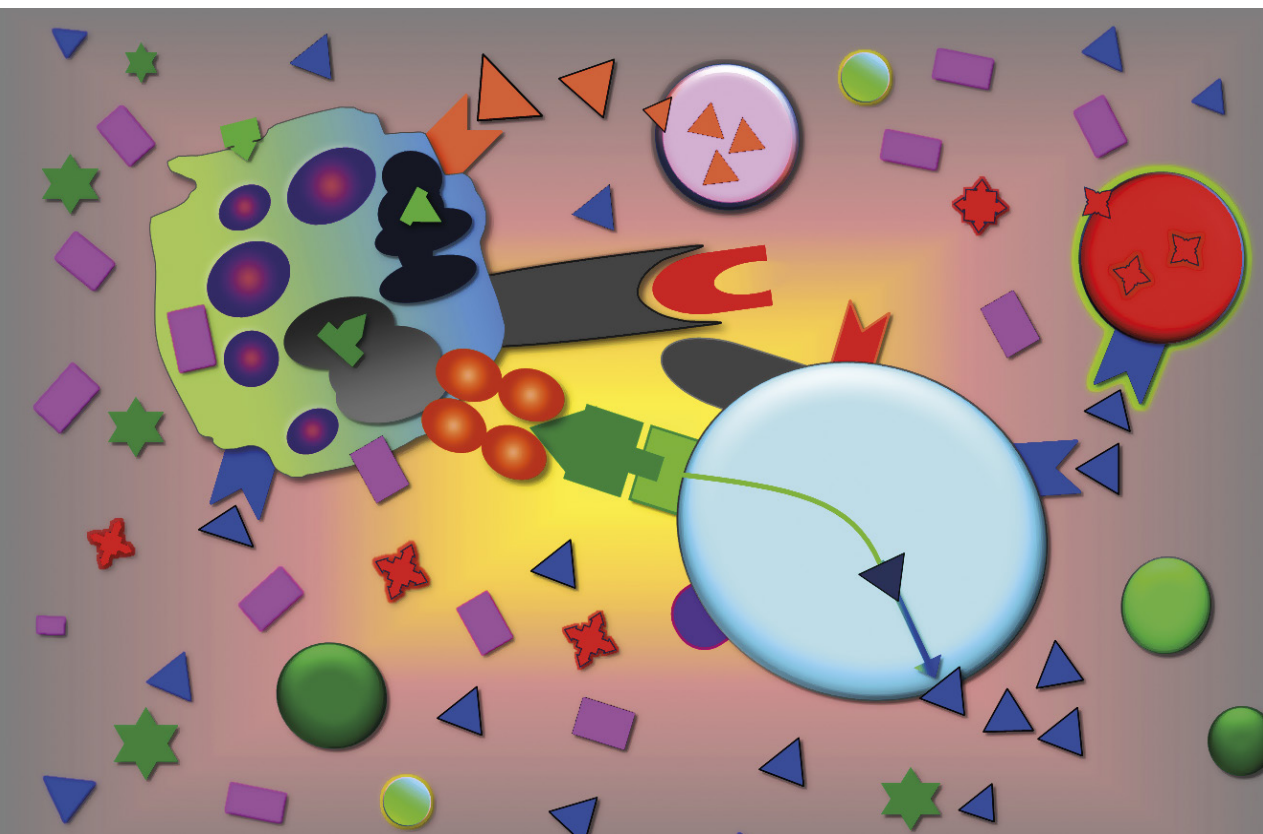


Petr Jílek

Imunologie

stručně, jasně, přehledně

2., doplněné vydání





Petr Jílek

Imunologie

stručně, jasně, přehledně

2., doplněné vydání

Tato publikace autora PharmDr. Petra Jílka, CSc., je 5., přepracovaným a doplněným vydáním knihy s původním názvem *ZÁKLADY IMUNOLOGIE*.

Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude trestně stíháno.

PharmDr. Petr Jílek, CSc.

IMUNOLOGIE

stručně, jasně, přehledně

2., doplněné vydání

5., přepracované a doplněné vydání knihy s původním názvem *Základy imunologie*

Autor:

PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Recenze:

prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

doc. Ing. Bc. Igor Šplíchal, CSc.

Vydání odborné knihy schválila Vědecká redakce nakladatelství Grada Publishing, a.s.

© Grada Publishing, a.s., 2019

Cover Design © Grada Publishing, a.s., 2019

Obrázek na obálce: PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 7168. publikaci

Odpovědná redaktorka Mgr. Viola Těšínská

Sazba a zlom Josef Pavlík

Obrázky vytvořil a dodal autor.

Počet stran 104

Páté vydání, v Grada Publishing druhé, Praha 2019

Vytiskly Tiskárny Havlíčkův Brod, a.s.

Názvy produktů, firem apod. použité v knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

Postupy a příklady v této knize, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávkování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění však pro autory ani pro nakladatelství nevyplývají žádné právní důsledky.

ISBN 978-80-271-2728-3 (pdf)

ISBN 978-80-271-0595-3 (print)

Obsah

Literatura rozšiřující tento text	10
Jak se orientovat v knize	10

Místo úvodu 10

1 Role imunity a imunologie	11
Milníky imunologie	11
Kmenové buňky zachraňují život	12
2 Struktura imunitního systému	12
2.1 Imunitní systém se podílí na udržení vnitřního prostředí	12
2.2 Buňky imunitního systému vznikají v kostní dřeni	12
2.3 Dozrávání krvinek podporují růstové faktory	13
Růstové faktory v terapii	13
Fabriciova burza	14
Thymové hormony	14
Levamisol – lék dvou využití	14
2.4 Buňky imunitního systému putují tělem se zastávkami v lymfoidních orgánech	14
2.5 Lymfatické orgány obsahují výkonné a podpůrné buňky	14
2.6 Primární lymfatické orgány slouží k dozrávání buněk	15
Povrchové znaky imunocytů umožňují jejich identifikaci	15
Dobrá znalost vývojových stadií buněk má význam v diagnóze některých chorob	15
Imunocyty se nacházejí ve tkáních, v krevních a mízních cévách i v lymfoidních orgánech	16
2.7 Sekundární lymfatické orgány jsou místem spolupráce imunocytů	16
3 Přirozená imunita zajišťovaná buňkami	17
3.1 Fagocytóza	17
Přehled buněkmonocyto-makrofágové linie	17
Příklady chemotaxinů	17
Od octomilky k člověku	18
Testování aktivity fagocytujících buněk	19
Fagocyty světélkují	20
Jak funguje systém rychlého varování PAMP – DAMP – NALP	20
Proč se kočka ze všeho vylíže	21
Defenziny – naše vlastní antibiotika	23
Aktivace buněk přirozené imunity	24
Selhávání imunity kvůli různým variantám téhož genu	26
4 Komplementový systém	26
4.1 Cesty aktivace komplementu	26
Poruchy komplementu	27

4.2	Zánět je soubor obranných dějů	29
	Od vrby k nejnovějším lékům	29
	Na zánět kdekoli v těle reagují játra zvýšenou tvorbou některých bílkovin	30
	CRP pomáhá v diagnóze i terapii	30
5	Antigeny	31
	Cizorodost nebo škodlivost?	31
	I malé rozdíly mezi antigenními determinantami protilátky rozeznají	32
5.1	Antigenní determinanty	32
5.2	Hapteny	33
	Alergie na léky	33
	Falešní dvojníci antigenů pomáhají mikrobům i nemocným	34
6	Molekuly hlavního histokompatibilního systému	35
6.1	Molekuly HLA se dělí do dvou tříd a mají mnoho strukturních variant	35
	Identifikace genů pro molekuly HLA	35
	Dědičnost molekul HLA a výběr dárců kmenových buněk shodných genotypů	36
6.2	Geny pro molekuly HLA jsou multialelické	36
6.3	Imunologická individualita jedince je vyjádřena skladbou HLA molekul	36
6.4	Molekuly HLA mají doménovou strukturu	37
	Stavba molekul HLA	37
	Význam variability HLA molekul	38
6.5	Biologické funkce molekul HLA	38
	Výběr partnera a molekuly HLA	39
	Typy interakcí, které se uplatňují při vzniku vazby mezi antigenní determinantou a vazebným místem protilátky:	40
7	Molekuly rozeznávající antigen	40
7.1	Protilátky jsou známy již přes sto let	40
7.2	Protilátky jsou globulární bílkoviny	40
	Vlastnosti tříd imunoglobulinů	42
7.3	Imunoglobuliny se dělí do 5 tříd	42
7.4	Jeden lymfocyt tvoří protilátky s identickými vazebnými místy	43
	Monoklonální protilátky	43
	Protilátky šité na míru (I.)	44
7.5	Molekuly protilátek jsou nesmírně variabilní	44
	I protilátka může být antigenem	46
7.6	Vazebné místo protilátky váže antigenní determinantu nekovalentními vazbami	46
	Protilátky šité na míru (II.)	47
	Toleranci se učíme už před narozením	48
8	Imunitní tolerance	48
8.1	Lymfocyty T se učí toleranci v thymu, lymfocyty B v kostní dřeni	48
8.2	Tolerance vzniká i na periférii	49
	Buňky, které brzdí	49

	Perorální tolerance	50
8.3	Porucha imunitní tolerance je příčinou některých chorob	51
	Autoprotilátky a nemoci	51
	Protilátky jsou nenahraditelným diagnostickým nástrojem v mnoha medicínských oborech	52
9	Protilátková odpověď	52
9.1	Tvorbu protilátek zajišťují lymfocyty B	52
9.2	V těle neustále vznikají buňky schopné rozeznat antigen	52
9.3	K aktivaci lymfocytu B jsou nutné nejméně 2 signály	52
	Proč se lymfocyty musí dělit	53
9.4	Izotypový přesmyk zajišťuje vznik protilátek různých tříd	54
9.5	Součástí protilátkové odpovědi je zmnožení efektorových buněk a vznik buněk paměťových	55
	Biologické role protilátek	55
	ELISA není jen ženské jméno	56
9.6	Sekundární protilátková odpověď je silnější než odpověď primární	56
	Antigeny, které vyvolají protilátkovou odpověď bez lymfocytů T, špatně imunizují	57
	Příklady některých CD znaků	58
10	Imunitní děje vykonávané lymfocyty T	58
10.1	Ústředními elementy specifické buněčné imunity jsou lymfocyty T	58
10.2	Lymfocyty T reagují s antigeny, které jsou jim předloženy ve žlábcích molekul HLA	58
10.3	Cytotoxické lymfocyty T chrání organismus před rozvojem virových infekcí a nádorů	59
	Průtoková cytometrie umožňuje určování povrchových znaků buněk	59
	Vztahy mezi T _H buňkami výrazně ovlivňují zdraví a nemoc	60
10.4	Pomocné lymfocyty T podporují imunitní děje pomocí cytokinů	60
10.5	Pomocné lymfocyty T se po antigenní stimulaci funkčně polarizují do více skupin	60
	Paměť imunity a mozku	61
	Jak odlišit T _H 1 a T _H 2 buňky?	62
10.6	Různé skupiny lymfocytů podporují odlišné imunitní děje	62
	Smrt pro život	63
	Vícesignálová aktivace probíhá i v lymfocytech T, její poznání přineslo užitečné praktické výsledky	64
11	Způsoby spolupráce buněk imunitního systému	65
11.1	Buňky imunitního systému komunikují prostřednictvím signálních molekul a jejich receptorů	65
11.2	Schopnost vázat signální molekuly je dána afinitou receptoru	65
11.3	Signál z obsazeného receptoru se přenáší do jádra a tam se přepisují geny	65
	Přehled vybraných cytokinů	65
	Cytokiny jsou využívány v terapii	66

11.4	Mezibuněčné interakce zajišťují kontaktní molekuly	67
	Výskyt receptorů pro signální molekuly na buňce není konstantní, ale odráží stav její aktivity	67
11.5	Pomocí cytokinů se buňky ovlivňují na větší vzdálenost	68
	„Anticytokiny“ v terapii	69
	Příklady léčebného použití anticytokinů	69
	Očkování dnes a zítra	70
	DNA vakcíny	70
12	Obrana těla před mikroby	70
12.1	Průniku mikrobusů do těla brání bariéry	70
12.2	Přirozená mikrobiota	70
12.3	Imunitní bariéry	71
	Přirozená mikrobiota chrání a pomáhá	71
	I slizniční imunitu lze povzbudit	72
12.4	Imunitní obrana sliznice	72
12.5	Lymfoidní tkáně všech sliznic tvoří kooperující systém	74
13	Obrana před vlastními buňkami, které jsou pro tělo nebezpečné	75
13.1	Nádorové a virem infikované buňky prezentují specifické antigeny a mohou být rozpoznány cytotoxickými lymfocyty T	75
13.2	NK buňky rozeznávají nádory podle složení jejich buněčných povrchů, podle absence HLA molekul nebo pomocí protilátek	76
13.3	Abnormální buňky jsou zabíjeny několika způsoby	77
	Jak se měří buněčná cytotoxicita	77
	Apoptóza je buněčná sebevražda	78
	Mechanismy cytotoxických reakcí	79
	Pro lepší aktivaci se buňky stěhují na čas mimo tělo	80
13.4	Využití poznatků imunologie v onkologii – biologická léčba	80
14	Imunopatologické reakce	83
14.1	Imunopatologická reakce I. typu – alergický zánět zprostředkovaný protilátkou IgE	83
14.2	Atopie je schopnost neadekvátní reakce na běžný podnět s vyšší tvorbou IgE	83
	Je výskyt alergií podmíněn dědičností?	83
	Čistota je skutečně jen půl zdraví	84
14.3	Imunopatologická reakce II. typu – cytotoxická	86
14.4	Imunopatologická reakce III. typu – imunokomplexová	86
14.5	Imunopatologická reakce IV. typu – pozdní přecitlivělost	87
	Transplantace – co znamená, když se řekne	87
	Stres a imunita	88
14.6	Transplantační reakce	88
14.7	Imunopatologická reakce V. typu	88
14.8	Obrana před poškozením imunitní reakcí, nebo před nemocí?	90

Rejstřík91

Souhrn96

Summary97

Literatura rozšiřující tento text

– *Mimořádně obsažný a fundovaný text pro ty, kteří hledají podrobné informace, a širší souvislosti lidské imunity:*

Krejsek, J., Andrýs, C., Krčmová, I.: Imunologie člověka. 1. vyd. Hradec Králové: Garamon, 2016, 496 s.

– *Základní učebnice pro zdravotníky je kniha:*

Bartůňková J., Špišek R., Brdička T., Hořejší V.: Základy imunologie. 6. vyd. Praha: Triton, 2017, 304 s.

Jak se orientovat v knize

Hrubou osnovu tvoří názvy kapitol, základní informace jsou v textu jednotlivých kapitol a v obrázcích, doplňující poznámky jsou na okraji a slouží ke zpeřtření četby.

V těchto poznámkách jsou vedle doplňků k textu či obrázkům rovněž interpretovány vybrané vědecké poznatky z poslední doby. Nejde tedy o učebnicové údaje, ale o snahu přinést čtenáři některé aktuální informace s tím, že teprve budoucnost ukáže, zda jsou tyto poznatky užitečné a jejich interpretace byla dnes správná.

Na konci knížky můžete nalézt rejstřík nejčastěji používaných odborných pojmů s odkazy na místa v textu, kde lze daný výraz najít a z kontextu mu lépe porozumět.

Místo úvodu

Dnešní imunologie je věda, která přináší velké množství nových teoretických poznatků, z nichž mnohé jsou velmi rychle prakticky použity a podílejí se zásadním způsobem na rozvoji zdravotnictví.

V záplavě nových informací není snadná orientace pro samotné imunology, tím méně pro odborníky z jiných oborů. Na to jsem myslel, když jsem psal následující stránky. Při snaze o stručnost a srozumitelnost nebylo možné se vyhnout zjednodušování a účelovému výběru faktů. Cílem bylo popsat hlavní principy fungování imunity a současně vybavit čtenáře tak, aby se mohl orientovat ve složitějších materiálech s imunologickou tematikou.

Vzhledem k tomu, že všechna předchozí vydání této stručné učebnice byla přijímána vděčně jak studenty pregraduálního studia, tak i řadou kolegů z praxe, rozhodl jsem se text i obrázky inovovat podle současných poznatků. Zachovávám osvědčený styl umožňující jak soustavné studium, tak občasné nahlédnutí.

Využil jsem zkušeností z výuky imunologie na Farmaceutické fakultě UK, snažil jsem se lépe vysvětlit a ilustrovat témata, s jejichž pochopením měli moji studenti problémy.

Publikaci věnuji svým vnučkám Adině, Barboře, Karolíně a Stelle.



Hradec Králové, jaro 2019

1 Role imunity a imunologie

Imunita patří k základním homeostatickým mechanismům nezbytným pro existenci živých soustav. O imunitním systému hovoříme v souvislosti se zachováním integrity a identity vícebuněčného organismu. Zde se zaměříme na organismus savce, člověka, i když řada poznatků byla získána z myších modelů. Pokud by imunologie měla erb, zajisté by na něm byla myš.

Ve všeobecném chápání je imunita považována za mechanismus zodpovědný za obranu před mikrobiálním ohrožením. Postupně se do povědomí lidí dostává i role imunity v rezistenci proti nádorům, při problémech s odmítáním transplantovaných tkání a orgánů. Méně se ví, že imunitní systém je rovněž soustavou informační, jde o jakýsi x-tý smysl ovlivňující nejen tělesné, ale i psychické děje.

Pokud se podíváme na historii imunologie, vidíme to, že empirická praxe předbíhala teorii. Na této straně je přehled historických událostí. Jako příklad uveďme, že Edward Jenner zavedl očkování proti neštovicím, aniž by cokoli věděl o virech nebo o imunitní paměti, o sto let později Emil von Behring zahájil éru záchrany smrtelně nemocných dětí sérem proti difterii, aniž by měl poznatky o struktuře protilátek a jejich tvorbě v těle.

Imunologie se vyvíjela a vyvíjí společně s mikrobiologií. Toto spojení přineslo a přináší vůbec největší dobrodiní lidstvu, pokud jde o zachování zdraví či jeho obnovu. Především očkování zachránilo stamiliony lidských životů, to se nedá říci o žádném jiném zdravotnickém oboru.

Poznatky z imunologie se promítají do většiny lékařských disciplín, a to jak v oblasti diagnostiky, tak terapie.

Milníky imunologie

Uvedme některé vědce, kteří se zasloužili o rozvoj imunologie. Data jsou orientační a týkají se zpravidla zveřejnění nebo uznání objevů, na nichž pracovali badatelé a jejich spolupracovníci dlouhá léta. Hvězdičkou jsou označeni nositelé Nobelovy ceny.

- 1796 – E. Jenner zavádí očkování proti neštovicím*
- 1880 – L. Pasteur zavádí očkování proti vzteklině a antraxu*
- 1883 – I. Mečnikov* popisuje fagocytózu*
- 1888 – H. F. Nuttal objevil protilátky v séru*
- 1890 – E. von Behring* objevil léčbu záškrtu sérem imunizovaných zvířat*
- 1894 – H. Buchner a J. B. Bordet* popisují protibakteriální efekt komplexu*
- 1898 – P. Ehrlich* uvádí první teorii o vztahu antigen-protilátka*
- 1900 – K. Landsteiner* popisuje antigeny krevních skupin*
- 1905 – R. Koch* zavádí tuberkulinovou zkoušku*
- 1906 – C. E. von Pirquet popisuje alergickou reakci*
- 1936 – P. A. Gorer popisuje imunologickou podstatu tkáňové neslučivosti*
- 1939 – A. W. Tiselius* a E. A. Kabat určují, že protilátky jsou imunoglobuliny*
- 1953 – P. B. Medawar* a M. Hašek ukazují, jak vzniká imunitní tolerance*
- 1960 – J. Dausset* popisuje systém HLA*
- 1961 – J. Miller a R. Good objevují roli thymu v imunitě*
- 1965 – R. R. Porter* a G. M. Edelman* popisují strukturu imunoglobulinů*
- 1975 – C. Milstein* a G. Köhler* připravují monoklonální protilátku*
- 1978 – S. Tonegava* popisuje vznik genů pro imunoglobuliny pomocí přeskupování genových segmentů*
- 1983 – K. Haskins a K. Allison objevují TCR*
- 1986 – T. R. Mosmann a R. L. Coffman popisují dualismus T_H1 a T_H2 buněk*
- 1992 – L. Moretta a L. Lanier popisují receptory NK buněk*
- 1994 – P. Matzingerová uvádí názor o aktivaci imunity pomocí signálů nebezpečí*
- 1995 – S. Sakaguchi objevuje regulační lymfocyty T (T-reg)*
- 1997 – R. Medzhitov* popisuje savčí TLR*

Kmenové buňky zachraňují život

Ještě před 30 lety nebylo jasné, jak kmenové buňky vlastně vypadají, protože je nebylo možné odlišit od malých lymfocytů. Teprve když byla nalezena pro ně typická povrchová bílkovina (znak) **CD 34**, bylo možné kmenové buňky identifikovat a posléze i izolovat.

Kmenové buňky jsou základem transplantace kostní dřevě. Ta se provádí u nemocných, jejichž kostní dřevě nezajišťuje dostatek imunocytů kvůli vrozené vadě anebo (častěji) kvůli poškození při onemocnění leukémií či v důsledku velmi intenzivní léčby nádorů.

Vlastní transplantace není technicky náročná, o to složitější je období před ní, kdy je nutné opatřit **kostní dřevě** nebo přímo **kmenové buňky izolované z krve** (kde v malém počtu rovněž jsou).

Dalším vydatným zdrojem kmenových buněk je **pupečnická krev**, z níž lze buňky izolovat a hluboce zmrazené uchovat pro případné další použití. Dnes vznikají banky těchto buněk, do nichž se buňky získané po porodu ukládají.

Někdy (pokud je to možné) je dárce sám pacient v době před nasazením terapie ničící spolu s nádorem i krevetvorbu, jindy je nutné najít vhodného dárce, buď mezi příbuznými, nebo mezi dobrovolníky sdruženými v **registrech dárců**.

Bezprostředně před transplantací je pacientova **krvetvorba zcela zničena léky nebo ozářením**, potom jsou **podány kmenové buňky**. Pacient je v této chvíli bez leukocytů, a tudíž zcela bezbranný vůči jakýmkoli mikrobům. Proto musí být umístěn v mimořádně čistém (**bezmikrobním prostředí**). Léčen je mj. antibiotiky, antimykotiky a růstovými faktory leukocytů (= CSF, viz pozn. na straně 13). Po obnovení krevetvorby (během 3–5 týdnů) se vrací do normálního života, ovšem s trvalou kontrolou přiměřené funkce transplantovaného štěpu.

2 Struktura imunitního systému

2.1 Imunitní systém se podílí na udržení vnitřního prostředí

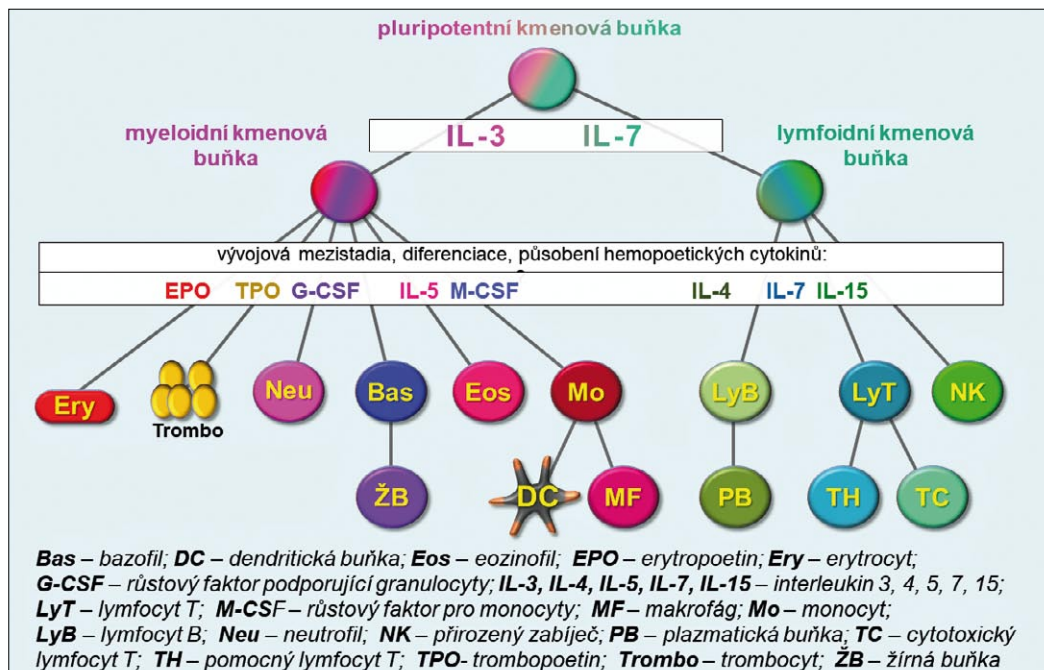
Rezistenci proti nebezpečným činitelům (mikroby, nádorové buňky) zajišťují specializované buňky (**imunocyty**) a jejich produkty (např. protilátky, cytokiny, komplement) a spolu s nimi **bariérové orgány** (např. kůže, sliznice) a některé fyziologické funkce (např. peristaltika, činnost řasinkového epitelu, kašel nebo deskvamace epitelii). Imunitní systém (**IS**) spoluzajišťuje **homeostázu**, především pak **integritu** (celistvost) a **identitu** (jedinečnost) organismu. IS komunikuje s centrálním nervovým systémem, kterému zprostředkuje některé **informace o vnitřním prostředí** organismu. Na druhé straně podléhá IS nervové i hormonální regulaci.

2.2 Buňky imunitního systému vznikají v kostní dřevě

Buňky imunitního systému mají rozmanitou strukturu i funkci, přesto mají též řadu společných rysů, např. **společný původ**. Všechny imunocyty (jejich nejznámější zástupci jsou krevní **leukocyty**) se vyvíjejí z pluripotentních kmenových buněk kostní dřevě.

Kmenové buňky jsou nadány velkou schopností dělení a sebeobnovy, vlivem prostředí v kostní dřevě se množí a postupně se rozrůžňují. Vznikají předchůdci dvou hlavních řad imunocytů: **kmenové buňky lymfoidní** a **kmenové buňky myeloidní**. Tyto kmenové buňky dávají vzniknout buněčnému potomstvu, které se postupně tvarově a funkčně mění a přes řadu mezistadií dozrává ve specializované výkonné buňky.

Zjednodušená představa o vývoji imunocytů a dalších krevních elementů je na následujícím schématu:



Obr. 2.1 Vývoj imunocytů a dalších krevních elementů

2.3 Dozrávání krvinek podporují růstové faktory

Předpokládáme, že rozhodující vliv na účelné dozrávání buněk v kostní dřeni mají růstové faktory, což jsou látky povahy peptidových hormonů, označované jako CSF (colony stimulating factor). Jednotlivé CSF se liší především typem buněk, jejichž množení, dozrávání a funkci podporují. Několik CSF se dnes využívá v terapii, což umožňuje významně urychlit proliferaci a diferenciaci buněk z transplantované kostní dřeneš nebo doplnit krvinky poškozené např. cytostatickou léčbou.

Tab. 2.1 Základní hematologie imunocytů v krvi

buňky	% leukocytů	v 1 l krve	doba života
neutrofil	45–70	$2,00\text{--}7,00 \times 10^9$	6–48 hodin
bazofil	0–2	$0,00\text{--}0,20 \times 10^9$	4–10 dnů
eozinofil	0–5	$0,00\text{--}0,50 \times 10^9$	8–12 dnů
monocyt	2–12	$0,08\text{--}1,20 \times 10^9$	60–100 dnů
lymfocyty	20–45	$0,80\text{--}4,00 \times 10^9$	4 dny – desetiletí

Růstové faktory v terapii

Příprava těchto látek je biotechnologická, to znamená, že se vychází z lidských genů pro jednotlivé faktory, jejichž vhodné kopie jsou vloženy do bakterií, kvasinek či savčích tkáňových kultur. Ty pak tvoří bílkoviny, které mohou lidské CSF plně nahradit.

růstový faktor	působí na:
IL-3	všechny krvinky
GM-CSF*	granulocyty a monocyty
M-CSF	monocyty
G-CSF*	granulocyty
EPO*	erythrocyty

*Tyto látky se používají v terapii.

Fabriciova burza

Zatímco vztah lymfocytů T k thymu je znám od 50. let, místo dozrávání lymfocytů B u savců nebylo dlouho známo. Nejprve se soudilo, že **lymfocyty B** dozrávají v lymfatické tkáni střeva či v mizních uzlinách, nyní se za místo dozrávání lymfocytů B považuje **kostní dřeň**.

Ovšem v dutých kostech ptáků je relativně málo kostní dřene, proto se u nich vyvinul zvláštní orgán, bursa Fabricii, nahrazující při tvorbě lymfocytů B kostní dřeň. Díky Fabriciově burze dostala část lymfocytů svůj „monogram“.

Thymové hormony

Epitelové buňky pokrývající vnitřní povrch thymu tvoří řadu peptidových hormonů, které mají nezastupitelnou úlohu při **vývoji lymfocytů T**. Tyto hormony se připravovaly a používaly k léčbě pacientů, jejichž thymus, resp. lymfocyty T dostatečně nefungují. Thymové hormony se uplatňují jako **náhrada** při vrozeném chybění thymu i jako **podpora** protinádorové imunity nebo jako **prostředek** obnovující regulaci neadekvátních imunitních dějů.

Levamisol – lék dvou využití

Francouzští imunologové – manželé Renouxovi – zaznamenali při svých pokusech u několika skupin myší výrazně vyšší aktivitu imunitního systému, než jakou měly ostatní myši stejného kmene. Vysvětlení této překvapivé odchylky bylo nalezeno ve zvířetníku.

Chovatelé podávali myším běžný protiparazitární lék – levamisol, aby předešli jejich ztrátám kvůli nákaze parazitickými červy, kteří se v té době ve viváriu objevili.

Renouxovi účinek levamisolu podrobně prozkoumali a doporučili jej pro léčbu poruch imunity v podobných indikacích, jaké mají thymové hormony.

2.4 Buňky imunitního systému putují tělem se zastávkami v lymfoidních orgánech

Imunitní systém (IS) je tvořen buňkami sdruženými do orgánů a buňkami, které volně migrují téměř všemi tkáněmi, krví a mizou. Nedílnou součástí imunitního systému jsou i látky produkované imunocyty. Odhaduje se, že IS člověka tvoří kolem 10^{12} buněk a o 2–3 řády více molekul, zpravidla bílkovinné povahy. K základním vlastnostem IS patří:

- rozptýlenost** – volné buňky prostupují v podstatě celý organismus,
- pohyb** – většina buněk během svého života putuje organismem, zdrží se v určité lokalitě a potom cestuje jinam. Vedle pohybu ve smyslu změny místa prodělává každá buňka pohyb ve smyslu vlastního vývoje.

Jednotlivé imunocyty jsou schopny samostatné existence, ale jejich plné uplatnění spočívá v součinnosti s ostatními buňkami.

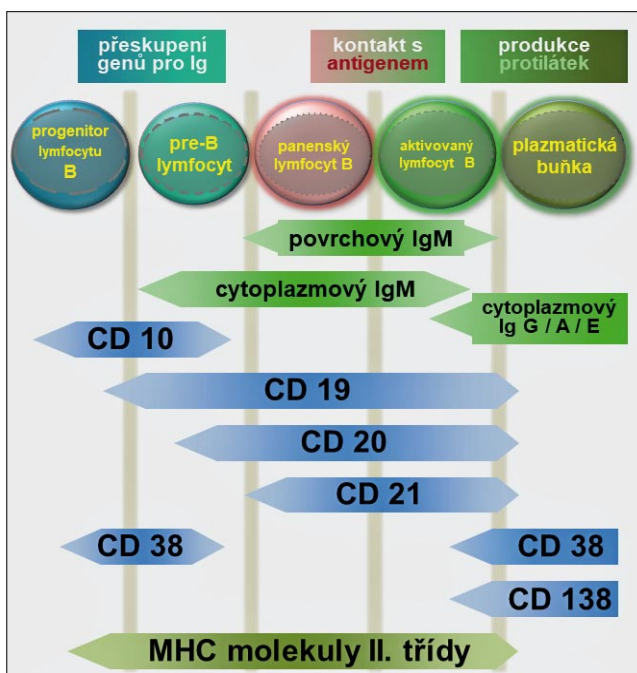
2.5 Lymfatické orgány obsahují výkonné a podpůrné buňky

Lymfatické orgány si můžeme zjednodušeně představit jako anatomicky definovaná místa pravidelného soustředování imunocytů. Nalezneme zde dva typy tkání s rozdílným posláním:

- Podpůrná tkáň** tvořící obal a vnitřní stroma (prostorovou síť) orgánu. Stroma protkané krevními cévami představuje prostor, v němž se soustřeďují imunocyty. Některé se v dané lokalitě usazují dlouhodobě, jiné pouze dočasně.
- Imunocyty**, které se do lymfatické tkáně dostávají především krevní cestou (do mizních uzlin navíc vstupují dostřednými mizními cévami).

2.6 Primární lymfatické orgány slouží k dozrání buněk

Thymus a kostní dřeň označujeme jako **primární lymfatické orgány**. Je to proto, že zde buňky imunitního systému vznikají (kostní dřeň) a vyžívají (**kostní dřeň** i **thymus**). Některé buňky vzniklé v kostní dřeni, např. **neutrofil**, vycestovávají do krve již jako funkčně zralé elementy. Naopak lymfocyty musí svůj potenciál rozvinout během dalšího „školení“. To probíhá jednak v thymu, jednak v kostní dřeni.



Obr. 2.2 Vývoj lymfocytů B a výskyt povrchových znaků během jednotlivých stadií

Nezralé lymfocyty předurčené pro tzv. specifickou buněčnou imunitu vycestují z dřene, putují krví a usadí se v thymu. Zde se vlivem **thymových hormonů** produkovaných podpůrnou tkání mění v buňky schopné reagovat s antigeny. Protože takto vznikají rovněž buňky schopné poškodit i vlastní organismus, probíhá v thymu účinná selekce a buňky namířené proti vlastním strukturám jsou eliminovány. Buňky opouštějící thymus označujeme jako

Povrchové znaky imunocytů umožňují jejich identifikaci

Klasická hematologie určuje krevní elementy morfologicky. Identifikace buněk včetně stupně jejich diferenciace je velice dobře propracovaná, přesto však v dnešní době nestačí. Proto imunologové začali využívat k přesnějšímu určení buněk jejich povrchových (cytoplazmových znaků).

Pod pojmem znak si můžeme představit určitou bílkovinu, která plní některou, pro buňku důležitou funkci. Dnes je jen u leukocytů charakterizováno už více než 370 povrchových buněčných bílkovin, které jsou zahrnuty do tzv. **CD (Cluster Designation) nomenklatury**. CD znaky jsou postupně číslovány. K identifikaci CD molekul slouží převážně monoklonální protilátky, pomocí nichž lze znaky na jednotlivých buňkách identifikovat.

Dobrá znalost vývojových stadií buněk má význam v diagnóze některých chorob

Podle zastoupení buněk nesoucích různé znaky, resp. ze současného výskytu vhodně volených znaků lze určit např. míru poškození krevetvorby nebo přesně určit typ krevní malignity, např. leukémie. Vývojová stadia leukocytů byla hematologové v minulosti velmi dobře popsána co do tvaru a vnitřní struktury, enzymové výbavy či změn chromozomů.

V posledních letech se uplatňuje i charakterizace buněk podle typických **membránových** či cytoplazmatických bílkovin – **znaků**. Výskyt určitých znaků je charakteristický pro jistou dobu vývoje buňky.

Některé znaky má buňka během krátkého vývojového období, jiné znaky nese poměrně dlouho. Dnes není problém určovat znaky i na velkém počtu leukocytů nebo buněk kostní dřene pomocí průtokové cytometrie. Více v kapitole 10.2.

Příklad výskytu povrchových znaků během vývoje lymfocytů B je na obrázku 2.2.

Imunocyty se nacházejí ve tkáňích, v krevních a mízních cévách i v lymfoidních orgánech

Většina imunocytů je nadána schopností migrovat organismem. Představme si životní cestu jedné buňky:

Vzniká v kostní dřeni jako potomek lymfoidní vývojové větve. Po uvolnění z dřene se buňka krví pohybuje tak dlouho, až dosáhne thymu, v němž dozraje.

Z thymu se buňka – zde již typický lymfocyt T – dostává do žíly a přes plicce a srdce do tepen. Projde kapilárami a v **postkapilárních venulách** se může zachytit na cévní výstelce, která umožní lymfocytu **projit z cévy do mimocévního prostoru** tkáně. K tomuto dochází zejména v poškozených tkáních.

Jimi lymfocyt prochází a vykonává **imunitní dozor** – pátrá po antigenech. Stává se součástí lymfy, kterou soustřeďují slepě končící lymfatické cévy. Těmito (přívodnými) cévami proudí lymfa **do lymfatické uzliny**. Do uzliny mohou imunocyty vstoupit i krevní cestou: kapilárou projdou do venuly s vysokým endotelem (**HEV – high endothelial venules**) a přes něj projdou do vnitřního prostoru uzliny.

V uzlině se může lymfocyt zastavit, a je-li mu zde předložen antigen, tak s ním reagovat. Dál buňka pokračuje (odvodnou) lymfatickou cévou **do mízovodu**.

Mízovody se spojují v **hrudní a pravý mízovod**, které ústí do přítoků **horní duté žíly**. Krví se buňka vydá na další pouť.

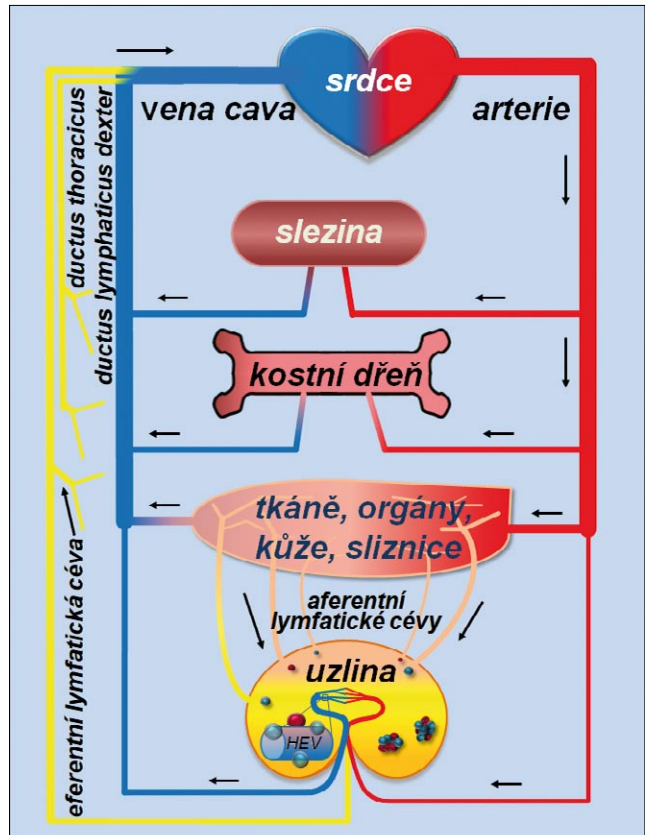
Tento koloběh se může opakovat mnohokrát, než se lymfocyt po setkání s antigenem změní ve výkonnou buňku, která antigen likviduje, uvědomuje o něm ostatní buňky nebo se na jeho popud množí. Dceřiné buňky opět vstupují do krve a celý oběh pokračuje.

Během své cesty se lymfocyt mění. Je pod vlivem vnějších podnětů (antigen, rozpustné informační molekuly – cytokiny nebo informační molekuly na površích jiných buněk). Mění se jeho struktura, mění se jeho povrchové znaky i funkce.

lymfocyty T. Druhá část lymfocytů dozrává v kostní dřeni, je určena k tvorbě protilátek, označuje se jako **lymfocyty B**.

2.7 Sekundární lymfatické orgány jsou místem spolupráce imunocytů

Mezi sekundární lymfatické orgány patří **lymfatické (mízní) uzliny, slezina, Peyerovy pláty** ve střevě, shluky lymfoidní tkáně ve sliznici úst nebo mandle – **tonzily**. Tyto různorodé struktury jsou osídleny především zralými imunocyty, které se zde mohou soustřeďovat do zón s jedním převládajícím buněčným typem – zóna T nebo B, označená podle převládajících lymfocytů. Zjednodušený pohled na **pohyb imunocytů** v těle nabízí obrázek 2.3.



Obr. 2.3 Pohyb imunocytů v těle

3 Přirozená imunita zajišťovaná buňkami

3.1 Fagocytóza

Fagocytóza patří k prastarým obranným mechanismům. Vždyť již např. měňavky chrání sebe i svoje „teritorium“ tím, že „nepřátele a konkurenty“ pohltí a využijí jako potravu. I lidské tělo má svoje „měňavky“. Jde o buňky vzniklé z myeloidní vývojové větve krvetvorby: **neutrofil** (též nazývané polymorfonukleáry, **PMN**) operují v krvi, odkud vycestovávají do tkání v místě a čase potřeby, např. při zánětu. **Monocyty** přestupují z krve do tkání průběžně a mění se zde na **tkáňové makrofágy** připravené k akci v místě svého usazení. **Dendritické buňky** vznikají také z monocytů, usazují se v tkáních a známe je např. jako Langerhansovy buňky v kůži.

Neutrofil a makrofágy se sice liší v řadě morfolo- gických i funkčních hledisek, ale proces fagocytózy má u obou buněčných typů hlavní rysy shodné, takže je můžeme popsat společně. Původně se pojem fagocytóza používal pro pohlcování pevných částic buňkami (fagein = požírat). Dnes je fagocytóza chápána jako komplexní imunitní děj, na němž se spolupodílí více složek imunitního systému.

Jako příklad uveďme rozfázovaný průběh likvidace bakterií proniklých do určitého okrsku těla:

a) Směřovaný pohyb k místu zásahu

Patogenní bakterie se dokážou rychle množit a poškozovat tkáň. Přitom vznikají působky (jak tkáňové, tak bakteriální), které působí na fagocyty i endotel nejbližších cév. Na povrchu endotelií se objeví ve zvýšeném počtu **adhezní molekuly**, tj. bílkoviny schopné dočasně k sobě připoutat buňky nesoucí jejich protějšky – **ligandy**. Takto se zachycují zejména fagocyty, které přilnou k vnitřnímu povrchu cévy a prostoupí pomocí **diapedézy** její stěnou. Vlivem působků z ložiska infekce fagocyty migrují měňavkovitým pohybem do místa poškození. Směřovaný pohyb za vyšší koncentrací atraktantu je znám jako **chemotaxe** a látky, které ji způsobují, označujeme souhrnně jako chemotaxiny (chemotaktické cytokiny jsou pak **chemokiny**).

Přehled buněk monocyto-makrofágové linie

buňka (b.)	lokalizace
monocyt	krv
Kupferova b.	játra
mesangiální b.	ledviny
alveolární MF	plice
serózní MF	mezotelové povrchy
mikroglie	mozek
osteoklast	kost
sinové MF	lymf. uzlina, slezina,
dendritická b.	lymf. tkáň
Langerhansova b.	kůže

MF – makrofágy

Příklady chemotaxinů

označení	zdroj	působí na:
fMLP	bakterie	Neu, Mo/MF
C5a	C	Neu, Mo/MF
IL-8	Mo, LyT	Neu
MCP1	Mo	Mo/MF
RANTES	Mo, LyT	Mo/MF

fMLP	– formylmetionyl-leucyl-phenylalanin : v nově syntetizovaném bílkovinném řetězci bakterií je vždy první aminokyselinou formylmetionin (fMet), který bakterie neodbourávají. Díky fMet na začátku bílkoviny se tedy bakterie „prozradí“ a přitahují fagocyty. fMLP je nejkratší peptid, který má chemotaktickou aktivitu
C	– komplementový systém
C5a	– štep 5. složky komplementu vznikající při jeho aktivaci
IL-8	– interleukin 8
MCP	– monocytový chemotaktický protein
RANTES	– chemokin
Mo	– monocyty
MF	– makrofágy
Neu	– neutrofil
LyT	– lymfocyty T

Od octomilky k člověku

Mušky octomilky (*Drosophila melanogaster*) umožnily v minulém století obrovský pokrok genetiky. Jméno těchto mušek se začalo objevovat i v imunologické literatuře.

Při studiu obranyschopnosti těchto organismů byla totiž na buňkách hemolymfy objevena skupina receptorových molekul, které reagují se složkami těl mikrobů a tím umožňují octomilkám obranu před infekcemi. Tyto receptory byly nazvány **Toll** (německy Toll = mj. skvělý).

Bylo poměrně překvapivé, když molekuly (receptory) velmi podobné Toll (**Toll like receptor – TLR**) byly objeveny i na buňkách imunitního systému savců. Ukázalo se, že plní obdobnou úlohu jako u hmyzu, tj. zprostředkují informaci o kontaktu s mikroby a jejich produkty, což zpravidla vede k aktivaci imunitního systému. Receptory **TLR** mají buňky jak na svých površích, tak uvnitř, umějí tedy rozpoznat jak extracelulární, tak nitrobuněčné patogeny i látky uvolněné z poškozených buněk.

Jde o historicky velmi starý (a velmi účinný) obranný mechanismus, který přebíráme od dávných předků.

Ještě univerzálněji se jeví receptory **NOD**, které mají vedle živočichů i rostliny a slouží k podobnému účelu jako TLR.

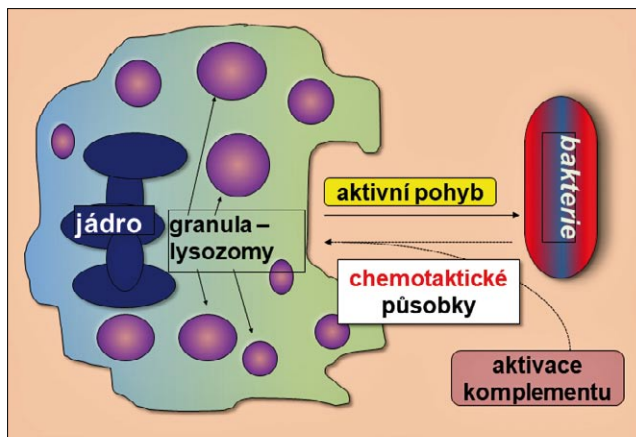
Složky mikrobiálních těl rozeznávané TLR patří mezi takzvané struktury (vzory) asociované s patogenitou (pathogen-associated molecular patterns) – **PAMP** (někdy též **MAMP** [microbe-associated molecular patterns]). Díky těmto strukturám buňky přirozené imunity (fagocyty, dendritické buňky) dokážou identifikovat mikroorganismy a rychle na ně reagovat.

Pro aktivaci fagocytů je patrně důležitá kombinace signálů působících přes různé TLR: předpokládáme, že daleko intenzivněji bude reagovat buňka na současně signály z mikroba a poškozené tkáň, než na samotné podněty pouze od mikrobů.

Jakýmsi protikladem TLR jsou receptory rozeznávající zdravé buňky vlastního těla, na nichž jsou tzv. **don't eat me** struktury.

Signály z těchto receptorů mají tlumivý efekt na fagocyty a brání tak neúčelnému, nebo dokonce poškozujícímu startu fagocytárního děje a zánětu.

Vedle vyprovokování cíleného pohybu chemotaxiny migrující buňky rovněž aktivují, to znamená, že je připravují na další fáze fagocytózy.



Obr. 3.1 Fáze fagocytózy: 1. Usměrněný pohyb (chemotaxe) k cizorodému materiálu

b) Aktivace buňky a přilnutí k antigenu (adheze)

Nastává ve chvíli, kdy buňka dosáhne cizorodou částici a váže se na její povrch. Fagocytóza je **nespecifický imunitní děj**, který nepostihne jemné rozdíly mezi antigeny, přesto musí fagocyty rozlišit mezi vlastními (normálními) a ostatními (poškozenými či cizími) buňkami. Dlouho panovala představa, že hlavním rozlišovacím znakem jsou fyzikálně-chemické vlastnosti povrchu, např. **nesmáčivost**. Fagocyty totiž dokážou přilnout k „nepřirozeným“ povrchům, např. k neupravenému sklu či plastu laboratorních nádob. Proto je nutné zajistit u kanyl, jimiž se vede krev, u dialyzačních membrán atd. takový povrch, k němuž buňky neadherují.

V poslední době byly nalezeny další významné mechanismy, které umožní rozeznat nebezpečné mikroby a aktivovat fagocytózu. Jde o skupinu receptorů (např. typu **Toll**, viz poznámka na této straně) na fagocytech (i na dalších buňkách imunitního systému), které rozeznají typické součásti mikrobiálních buněk, jako je např. **lipopolysacharid** gramnegativních bakterií, **teichoová kyselina** buněčných stěn grampozitivních bakterií, **peptidoglykan**, nebo dokonce určité posloupnosti bází DNA (CpG), typické pro bakterie. Souborně tyto látky označujeme jako PAMP (pathogen associated molecular pattern).

Dalším aktivačním impulzem fagocytózy (a posléze zánětu) jsou látky z vlastních tkání, např. šokové bílkoviny (HSP) nebo ATP, které upozorňují na napadení/poškození vlastních buněk. Hovoříme o signálech nebezpečí nebo poškození, **danger/damage signals** (damage associated molecular pattern – DAMP). Přítomnost DAMP je patrně silnějším impulzem pro rozvoj zánětu než výskyt PAMP bez známek poškození těla.

V tabulce 3.1 je přehled některých receptorů rozeznávajících typické vzory (struktury) mikrobu (pattern recognition receptors – PRR), které rozeznávají typické vzory (struktury) nebezpečných mikrobu (PAMP) nebo molekuly uvolňované z (jimi) poškozených buněk (DAMP). Uvedena jsou i léčiva, která působí prostřednictvím uvedených receptorů imunostimulačně.

Tab. 3.1 Některé receptory PRR rozeznávající typické mikrobiální struktury (PAMP) nebo signály z poškozených vlastních tkání (DAMP)

receptor PRR	ligandy receptorů mikrobiálního původu (PAMP)	ligandy z vlastních tkání (DAMP)	buněčná lokalizace	léčiva ovlivňující tyto receptory
TLR 1	lipopolysacharid, triacyllipopeptidy		povrch	
TLR 2	peptidoglykan, zymosan, kyselina lipoteichoová	HSP70	povrch	
TLR 3	dvouvláknová (virová) RNA	endogenní DNA	nitro	poly I:C
TLR 4	lipopolysacharid, virové glykoproteiny	HSP70, fibrinogen	povrch	taxol
TLR 5	flagelin		povrch	
TLR 6	diacyllipoproteiny		povrch	
TLR 7	jednořetězcová RNA		nitro	loxoribin
TLR 8	jednořetězcová RNA		nitro	imidazol-chinolony: imiquimod
TLR 9	nemetylovaná DNA (CpG) (= bakteriální), virová dvouvláknová DNA	endogenní DNA	nitro	
TLR 11	profilin		nitro	
dectin	glukan		povrch	lentinan
NOD2	muramylpeptidy		nitro	mifamurtid

Testování aktivity fagocytujících buněk

Při podezření, že příčinou zdravotních problémů pacienta je nedostatečná funkce fagocytujících buněk, je třeba případnou poruchu odhalit.

Schopnost **migrace** za chemotaktickým podnětem zjišťujeme tak, že mezi suspenzi buněk izolovaných z krve a roztok chemotaktické látky vložíme překážku, např. membránu s póry menšími, než je průměr buněk. Buňky se vydají za chemotaktickou látkou a prolézají skrz póry. Čím větší počet buněk za určitou dobu (30–60 min.) membránou projde, tím lepší je jejich schopnost migrovat.

O účinnosti **ingesce**, tj. zda buňky pohlcují částice, se můžeme přesvědčit tak, že k buňkám (buď přímo v odebrané krvi, nebo k izolovaným) přidáme **kvasinky** nebo **mikroskopické kuličky** z polymerů a necháme zhruba 60 min. inkubovat. Během této doby by měly buňky částice pohltnout. Pokud buňky rozprostřeme na podložní mikroskopické sklíčko a obarvíme je, můžeme **pod mikroskopem spočítat**, kolik buněk skutečně částice pohltilo a zda je jejich **fagocytární aktivita** srovnatelná s buňkami zdravých lidí.

Schopnost zabíjet, tj. **cidie**, se může měřit podobně jako **ingesce** s tím rozdílem, že krev nebo izolované buňky s přidanými mikroby se po inkubaci (120 min.) místo rozetření na sklíčko nechají rozpadnout v destilované vodě a přenesou na vhodnou živnou půdu. Jak účinně byly působením fagocytů použité mikroby (kvasinky, bakterie) zabíjeny, poznáme **podle počtu** vyrostlých **kolonií** na půdě.

Baktericidní potenciál fagocytů lze hodnotit i podle schopnosti **respiračního vzplanutí**, což je popsáno v poznámce o světélkování na str. 20.

Fagocyty světélkují

Bylo zjištěno, že během fagocytózy vznikají ve fagocytech velmi slabé světelné záblesky. „Světélkování“ lze výrazně zesílit přidáním látek, které tvoří světelná kvanta při interakci s kyslíkatými sloučeninami při **re-spiračním vzplanutí**. Jev se nazývá chemiluminiscence.

Pomocí velmi citlivých přístrojů lze intenzitu **chemiluminiscence** zaznamenat a tím hodnotit metabolickou aktivitu buněk. Zpravidla se porovnává rozdíl mezi chemiluminiscencí buněk standardně aktivovaných např. škrobem a buňkami neaktivovanými.

K nárůstu světelných impulzů dochází během 10–30 minut po aktivaci, potom aktivita klesá. Počet impulzů v čase se zaznamenává a vzniklá křivka charakterizuje metabolickou aktivitu testovaných buněk. Metoda chemiluminiscence se využívá v experimentální i klinické imunologii.

Jak funguje systém rychlého varování PAMP – DAMP – NALP

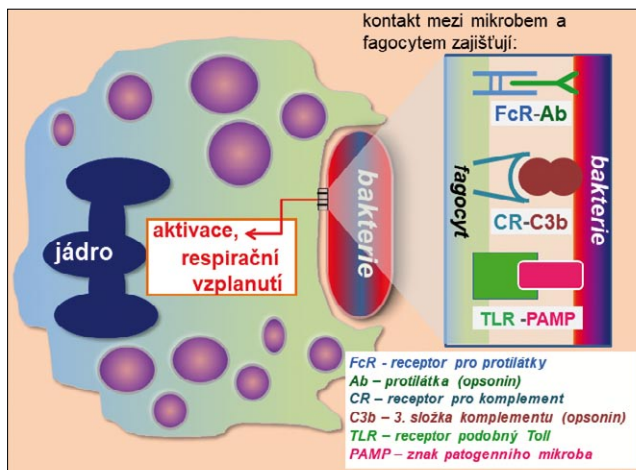
Buňky zajišťující první linii obrany při poškození mají schopnost rychle „vyhodnotit“ situaci na základě detekce **vzorů typických pro patogeny (PAMP)** nebo podle **látek uvolněných z poškozených buněk (DAMP)**, k čemuž slouží receptory podobné molekulám Toll (**TLR**) nebo receptorům NOD (**NLR**) – viz přehled v tab. 3.1. Do rodiny NLR patří mj. cytoplazmatické bílkoviny (senzory) nazývané **NALP**.

NALP proteiny jsou v cytoplazmě imunocytů přítomny (čekají) v **neaktivní** formě, která teprve po navázání PAMP nebo DAMP získá schopnost sdružovat se do šestic, tvořit hexamery neboli **inflamazomy**. Inflamazomy mají **enzymovou aktivitu** – umí měnit neaktivní prekurzory interleukinu 1 (IL-1) a IL-18 z buněčných zásob na aktivní cytokiny, které buňka během pár minut uvolňuje do okolí. Toto funguje **mnohem rychleji** než syntéza cytokinů v buňce de novo. IL-1 podporuje rozvoj obranného zánětu a další děje (např. aktivaci lymfocytů nebo horečku).

Pokud se signály nebezpečí uvolní bez mikrobiální kontaminace (např. po poškození buněk teplem), může se rovněž aktivovat fagocytóza a následný „sterilní“ zánět způsobí poškození tkáně.

Přilnutí fagocytu na mikroorganismus je zprostředkováno řadou povrchových interakcí typu receptor–ligand. K přilnutí fagocytu na mikroba účinně napomáhá jeho **opsonizace**, tedy pokrytí protilátkami, komplementem nebo dalšími bílkovinami. Fagocyty mají na svém povrchu receptory pro opsoniny (komplement, protilátky atd.) a mohou prostřednictvím těchto receptorů k sobě poutat opsonizované bakterie mnohem pevněji než bez opsonizace.

Adheze částic na povrch fagocytu je signálem pro aktivaci buňky, tedy pro přípravu na pohlčení a likvidaci mikroba.



Obr. 3.2 Fáze fagocytózy: 2. Interakce povrchu fagocytující buňky a bakterie (opsonizace, adheze)

c) **Pohlčení částice** (ingesce) začíná tím, že fagocyt vysune výběžky své protoplazmy (panožky) po povrchu částice tak dlouho, až ji celou a ze všech stran obklopí. Buněčná membrána kolem částice se uvnitř buňky spojí a vznikne útvar zvaný **fagozom**.