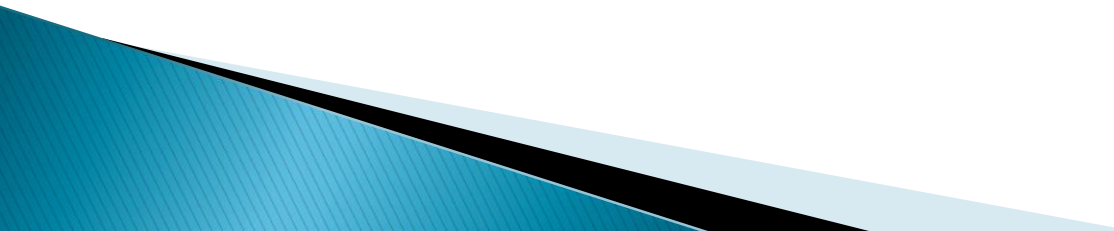


Úspechy v imunológii II.

Mojmír Vrlík

14. 4. 2015 Martinské centrum imunológie

Univerzita III. věku

- 7. 12. 2010
..... Imunológia v praxi
 - 16. 4. 2013
..... Úspechy v imunológii
 - 14. 4. 2015
..... Úspechy v imunológii II.
- 

Imunita

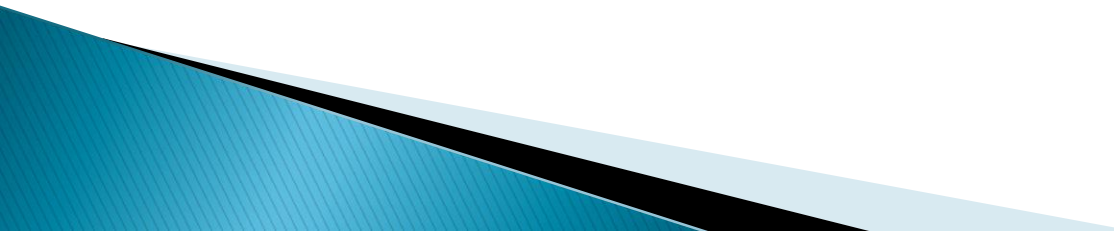
- z latinského „*immunitas*“ – oslobodenie rímskych senátorov od rôznych civilných služieb počas ich funkčného obdobia
- len neskôr výraz pre ochranu jedinca pred chorobami (najmä infekčnými)
- v Číne (XI.st.) – „kto prekonal pravé kiahne (variola), už ich nedostane“ – umelé navodenie imunity inhalovaním prášku z chrást pacientov, ktorí sa už zotavovali
. variolácia

Novodobá história rozvoja

- Jenner (1798) – dojičky po prekonaní kravských neochoreli na pravé kiahne
- Pasteur – cielené očkovacie látky proti antraxu oviec, ale aj besnote vakcinácia (z lat. *vacca* – krava)
- aktívna imunizácia („očkovanie“): variola len v r. 1977 v Somálsku, poliomyelitída od r. 1991 mimo západnej hemisféry, výskyt ďalších výrazne poklesol
(tbc, osýpky, ...)
- von Behring (NC r. 1901) – ochrana indukovaná vakcináciou = určité protektívne látky v krvi = protilátky koncept humorálnej imunity
- Mečnikov (NC r. 1908) – fagocytóza, bunky = hlavná úloha pri obrane proti infekcii

Imunitný systém

- v spolupráci s nervovým a endokrinným udržiava **homeostázu** – jednotu jeho vnútorného prostredia proti zmenám vznikajúcim:
 - transformáciou vlastných bb. (mutáciami, nádormi, starnutím),
 - po prekonaní vývinových stupňov embryogenézy
 - pôsobením faktorov vonkajšieho prostredia, ako sú:

- **infekčné agensy** (parazity, patogénne mikróby, plesne, huby, vírusy)
 - **chemické látky** (toxické xenobiotiká, vrátane mnohých liekov)
 - **nepriaznivé fyzikálne vplyvy** (ionizujúce žiarenie, ultrazvuk, mikrovlny)
 - **psychosociálne vplyvy** (chronický stres)
- 

Imunitný systém

- z morfológického hľadiska difúzny, neostro ohraničený orgán (cca 1 kg) tvorený:
 - A. **bunkami** (leukocyty = neutrofily, eozinofily, bazofily, lymfocyty, monocyty = nezrelé makrofágy, zrelé v spojivovom tkanive – histiocyty, v pečeni – Kupfferove bb., v kostiach – osteoklasty, v mozgu – mikrogangliá, v pľúcach – alveolové makrofágy, NK bb. + dendritové bb. cirkulujúce v krvi a lymfe, intersticiálne v orgánoch: srdce, pečeň, pľúca, obličky, GIT, Langerhansove v epiderme a membráne slizníc, mastocyty – nie v krvi, len v tkanivách s kontaktom na vonk. prostredie (koža, GIT, respir. trakt)

Imunitný systém

B. organizovaný do tkanív a orgánov

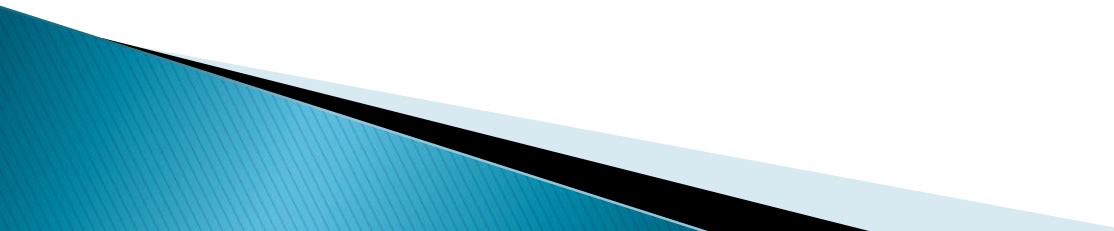
- primárnych (kostná dreň – B-ly, týmus – T-ly)
- sekundárnych
 - okapsulovaných: slezina, LU,
 - neokapsulovaných: MALT (*Mucosa Associated Lymphatic Tissue* – lymfatické tkanivo slizníc) priedušiek – BALT, čreva (Peyerove plaky, appendix) – GALT, nasopharyngu – NALT, exkrečných žliaz (slzných, slinných, mliečnych), tonzily a adenoidy (Waldeyerov kruh) – **slizničný IS**, relatívne nezávislý od **systémového IS** (kostná dreň, týmus, slezina, LU)

C. **molekulami** (10^{20}) protilátok (5 tried), regulačných a výkonných látok (HLA antigény, cytokíny, zložky komplementu, proteíny akútnej fázy zápalu, imunohormóny – tymozíny, ...)

Základné vlastnosti IS

1. Rozlíšenie vlastného (self) od nevlastného (not self), cudzieho alebo odcudzeného; vlastné tolerovať – **imunitná tolerancia** a cudzie likvidovať
 - od r. 1900 – Ehrlich: pri imunizácii kôž vlastnými ery na rozdiel od cudzích nevznikajú protilátky = existuje mechanizmus zabraňujúci reakcii proti vlastným štruktúram, teória “strachu organizmu z odpovede na vlastné” (horror autotoxicus), zaviedol tiež pojem autoimunita
 - r. 1960 – Burnet: klonová selekčná teória (NC)

Základné vlastnosti IS

2. **špecificita** – odpoveď len voči Ag, ktorý ju vyvolal
 3. **pamäť** – sekundárna odpoveď je rýchlejšia, intenzívnejšia a často aj kvalitatívne odlišná (efektívnejšia)
 4. **diverzita** – rozmanitosť odpovedí, IS stavovcov rozpoznáva $> 10^9$ Ag, aj tie, ktoré vznikajú de novo (v laboratóriu) a s ktorými sa doteraz nestretol
- 

Imunitná odpoveď

z fylogenetického a funkčného hľadiska:

- **nešpecifická** (vrodená, prirodzená)
 - vo fylogenéze a ontogenéze skôr (2 mld.r.), už u bezstavovcov
 - okamžité, uniformovane, prechodne
 - – **humorálna**: *komplement*
proteíny akútnej fázy zápalu
 - – **celulárna**: *fagocytóza*
NK bb. – natural killer = prirodzení zabijáci:
patria do lymfoidnej línie spolu s B a T-ly (do myeloidnej línie, ktorá tiež vzniká z hematopoetickej pluripotentnej kmeňovej b. – ery, tro, granylocyty, monocyty),
produkujú perforíny a granzýmy (proteolytické enzýmy, ktoré spôsobia apoptózu napadnutých bb.)

Imunitná odpoveď

- **špecifická** (adaptívna)
 - len u stavovcov (500 000 r.)
 - pomalšie, špecificky, dlhodobo
 - – *humorálna* (protilátky produkované plazmocytmi =
konečný diferenciačný stupeň *B-lymfocytov*)
 - – *celulárna* (*T-lymfocyty*)

Imunitná odpoveď

- lokálna: sekrečný sIgA v slizniciach (funkcia sérového menej známa, napr. uľahčenie fagocytózy)
- celková (systémová): ak sa Ag dostane do krvi a jej prostredníctvom do sek. lymf. orgánov = IgM, IgG, (IgE)
 - IgM**: pri prvom kontakte, resp. ak je Ag korpuskulárny (napr. cudzie ery alebo bb. baktérií)
 - IgG**: pri druhom a ďalšom kontakte, resp. ak je Ag rozpustný (napr. určité molekuly z baktérií)
 - IgE**: ak je Ag viac bb. parazit (napr. červy)
- IgD: obmedzene vo funkcii typických protilátok, súčasť receptorov rozpoznávajúcich Ag na B-ly

Ag + imunokompetentný ly

- imunologická tolerancia (inertná odpoved')
- imunita (prospešná o.)
- imunopatologické stavy
(imunodeficiencie – nedostatočná o.,
autoimunitné, resp. alergické choroby –
škodlivá o.)

Stratégia nešpecifickej imunity

- ▶ **princíp:** detekcia konštitutívnych a konzervovaných molekúl (*molekulový vzor mikroorganizmu, PAMP – Pathogen Associated Molecular Patterns*), ktoré sú jedinečné len pre mikroorganizmus a hostiteľ ich nemá
- ▶ PAMP majú však nielen **patogénne**, ale aj **nepatogénne** mikroorganizmy (sú teda len podmnožinou MAMP – *Microbe Associated Molecular Patterns*)

PAMP – *molekulový vzor mikroorganizmu*

1. **iba** na mikroorganizmoch, nie na hostiteľských bb. (*self – not self*)
2. v danej čel'adi **nemenné** => limitovaný počet PRR deteguje prakticky akýkoľvek infekčný zárodok (lipopolysacharid = endotoxín **akejkoľvek** G– baktérie deteguje **jeden jediný PRR** !)
3. sú **nevyhnutné** pre život mikroorganizmu (mutácie v génoch pre PAMP sú letálne => **nevznikajú** teda nijaké **únikové mikroorganizmy**)

PRR – vzorkové receptory I.

- ▶ *receptory, ktoré ich rozpoznávajú, sú tzv. vzorkové (PRR – Pattern Recognition Receptors), majú ich aj bezstavovce a rastliny!!*
- ▶ *okrem PAMP rozpoznávajú aj vlastné molekuly (endogénne vznikajúce pri poškodení tkanív, či smrti bb.) – tzv. DAMP (Danger Associated Molecular Patterns)*
- ▶ *DAMP indukujú rovnaký zápal ako PAMP (mobilizáciu neutrofilov a makrofágov a indukciu tvorby prozápalových cc., najmä IL-1 a TNF), nezodpovedajú zaň mikroorganizmy → sterilný zápal*
- ▶ *mutácia génov kódujúcich PRR – autozápalové choroby*

PRR – vzorkové receptory II.

- ▶ prvé PRR (na základe biochemickej štruktúry a funkcie existuje t.č. 5 skupín) – receptory podobné Toll (**TLR** – *Toll-like Receptors*) – r. 1998 u mušiek *Drosophila melanogaster*, ich výskyt: bb. IS, ale aj tkanivá s možným prienikom mikroorganizmov: koža, dých. cesty, GIT, urogenitálny trakt – tzv. „pohraničné receptory“
- ▶ ďalšie skupiny rozpoznávajú najmä PAMP vírusov, kvasiniek, plesní ...
- ▶ !!! väčšinu patogénov detegujú viaceré PRR !!!

Molekulové vzory MAMP a vita-PAMP

- ? Prečo MAMP komenzálov či symbiontov nevyvolá zápalový proces ?
- ▶ napr. niektoré PRR sú len na bazolaterálnej strane a nie v apikálnej časti črevného epitelu – k nim sa dostanú len patogény ...
 - ▶ očkovanie **živými vakcínami** (vita-PAMP) – napr. TBC, osýpky, mumps, rubeola, je omnoho účinnejšie \leq mRNA usmrtených baktérií sa po preniknutí do cytoplazmy neviaže s PRR, okamžite sa degraduje a IS ju nestihne rozpoznať a reagovať na ňu

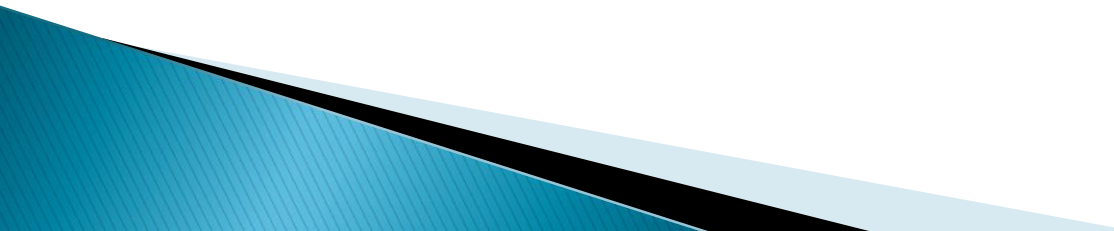
Väzba PAMP – PRR

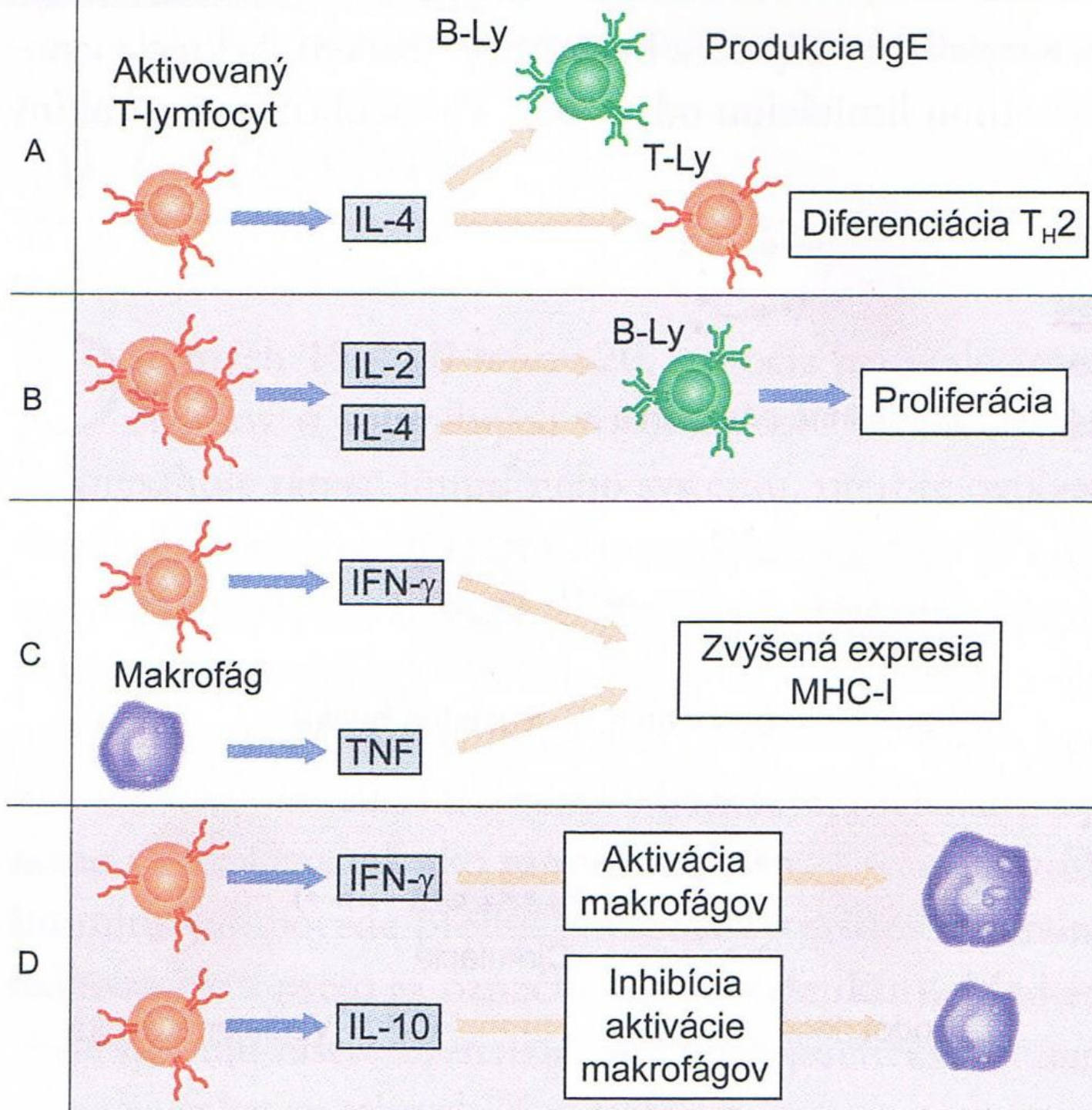
- ▶ **priamo** (bez transkripčných faktorov) → indukujú chemotaxiu, fagocytózu, aktivujú komplement
- ▶ tvoria sa **transkripčné faktory** → aktivácia génov, kt. produkty sa zúčastňujú zápalu (TNF, IL-1, 6, 12, IFN ...) – rozbieha sa nešpecifická a neskôr aj špecifická imunita – dochádza „*k amplifikácii*“ (zosilneniu) imunitnej reakcie

Cytokíny – mediátory imunitnej odpovede (špecifickej aj nešpecifickej)

- ▶ nie sú antigénovo špecifické
- ▶ pôsobia vo veľmi nízkych koncentráciách
- ▶ po stimulácii sa syntetizujú *de novo* (nie vopred a neskladujú sa)
- ▶ obyčajne na terčové bunky nepôsobí jeden, ale naraz viac (súčasne alebo postupne)
- ▶ tvoria tzv. **cytokínovú sieť**

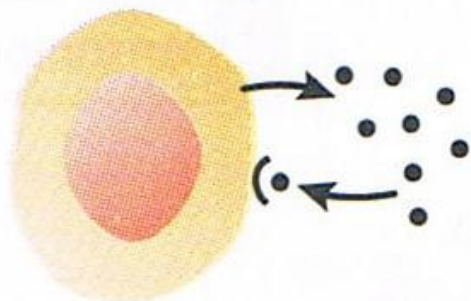
Pôsobenie cytokínov I.

- ▶ špecifické – typické len pre daný cytokín
 - ▶ redundantné – prekrývajúce sa s iným cytokínom
 - ▶ synergické – dopĺňajúce sa s iným cytokínom
 - ▶ antagonistické – protichodné
 - ▶ pleiotropné – väčšinou nie iba na jeden typ bb., ale na viaceré
- 

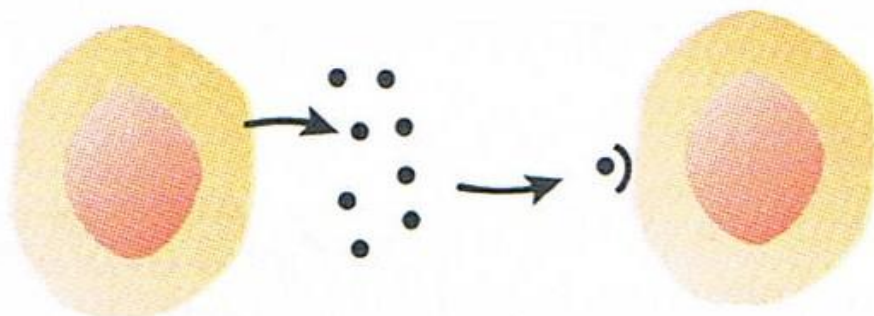


Pôsobenie cytokínov II.

- ▶ autokrinné – navodí expresiu vlastných receptorov na bunke, ktorá ho vyprodukovala a tak ju potom aktivuje
- ▶ parakrinné – iba na okolité bb. v bezprostrednej blízkosti (imunokompetentné bb. sú v neustálom pohybe a prakticky v celom organizme => z lokálneho celkové)
- ▶ endokrinné – systémové kdekoľvek v organizme („*imunohormóny*“)

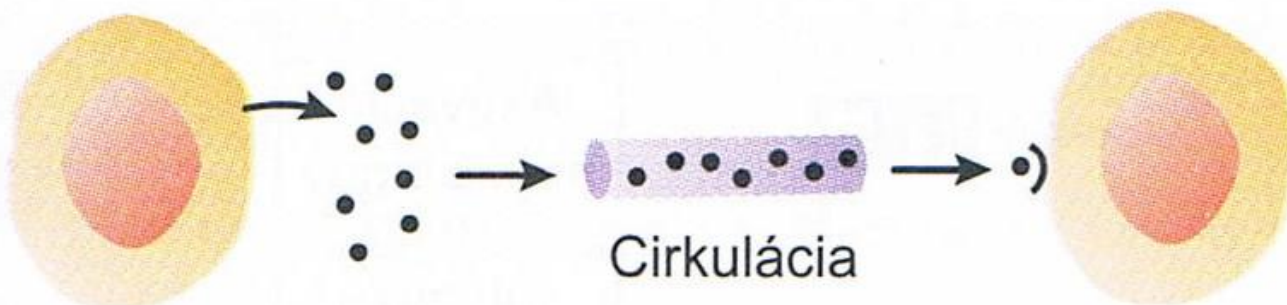


Autokrinné pôsobenie



Parakrinné pôsobenie

Susedná bunka



Endokrinné pôsobenie

Vzdialená bunka

Cytokíny (cc.)

- ▶ molekuly prenášajúce dôležité informácie medzi bb., kt. majú veľký vplyv na reguláciu rastu, delenie, diferenciáciu bb., zápal a obranyschopnosť
- ▶ **interleukíny** – pôvodne: mediátory lkc ovplyvňujúce ďalšie lkc (**lymfokíny** – zdrojom aktivované T-ly, **monokíny** – monocyty alebo makrofágy)
- ▶ **cytokíny** – tvoria ich aj bb. mimo IS a ovplyvňujú tiež nielen bb. IS... (napr. **faktory stimulujúce kolónie** – podporujú rast a diferenciáciu hematopoetických bb. v kostnej dreni)

Cytokíny

1. **prirodzenej imunity** (IL-1, 6, 12, 15, 23, 27, 32, 33, 35, 36, 37, 38, TNF, IFN α, β)
2. **špecifickej imunity** (IL-2, 4, 5, 13, 14, 16, 17, 18, 21, 23, 25, 27, 30, 31, 33, 35, INF γ)
3. **IL-10** a jemu príbuzné IL-19, 20, 22, 24, 26 – inhibícia prozápalových cc., gén EBV (aj CMV, HSV) determinuje proteín homológny s IL-10 (84%)
4. **chemokíny** (C3a, C5a, LTB4, PAF, z novších napr. RANTES, IL-8)
5. **stimulujúce hematopoézu** (G a/alebo M-CSF)
6. **adipokíny**

Cc. prirodzenej imunity – I.

IL-1 (už u bezstavovcov pred 350 mil. r.) –

„*endogénny pyrogén*“, „*katabolín*“

- ▶ kľúčová molekula lokálnej aj celkovej zápalovej r. (↑ TT, syntéza proteínov akútnej fázy zápalu, kachexia – redundancia s TNF)

IFN α, β – r.1957 Isaacs a Lindenmann: pri kultivácii bb. kuracieho embrya vírusmi vzniká proteín (*interferón*) chrániaci pred inými vírusmi („*interferenciou*“ zabránil ich replikácii)

- ▶ antivírusový a antiproliferačný efekt (↑ aktivita NK)
- ▶ **α** – protinádorová th. (niektoré leukémie, melanóm, – renálny ca, Kaposiho sarkóm ...)
- ▶ **β** – sclerosis multiplex, chronická hepatitída B, C

Adipokíny

- ▶ tukové tkanivo, príp. bb. IS v ňom (makrofágy) produkujú bioaktívne proteíny = **systemový subakútny zápal** (nielen v samotnom tukovom tkanive, ale aj inde: KVS choroby, DM2, tuková degenerácia pečene ...)
- ▶ mnohé patria **k prozápalovým cc.** (IL-1, 6, 18, TNF) či chemokínom
- ▶ ostatné sú špecifické pre tukové tkanivo (leptín, rezistín, lipokalín ...), ktoré však tvorí aj **protizápalové adipokíny** (adiponektín) a **protizápalové cc.** (IL-10): ↓ ich hladiny = DM2, a *vice versa* ↑ hladiny = nižšie riziko vývoja DM2

Epitop (determinanta)

- ▶ malá oblasť molekuly Ag (obyčajne < 10 aminokyselín), kt. je rozpoznávaná receptormi imunokompetentných bb.
(aktivuje **jeden klon** B-ly k tvorbe špecifickej monoklonovej protilátky – mPL)
- ▶ v potravinách bežne 2 – 10 (mak 3, jablko 4, zeler 6, lieskový orech 9, arašid 11 ...)
- ▶ za fyziologických okolností sú PL **polyklonové**

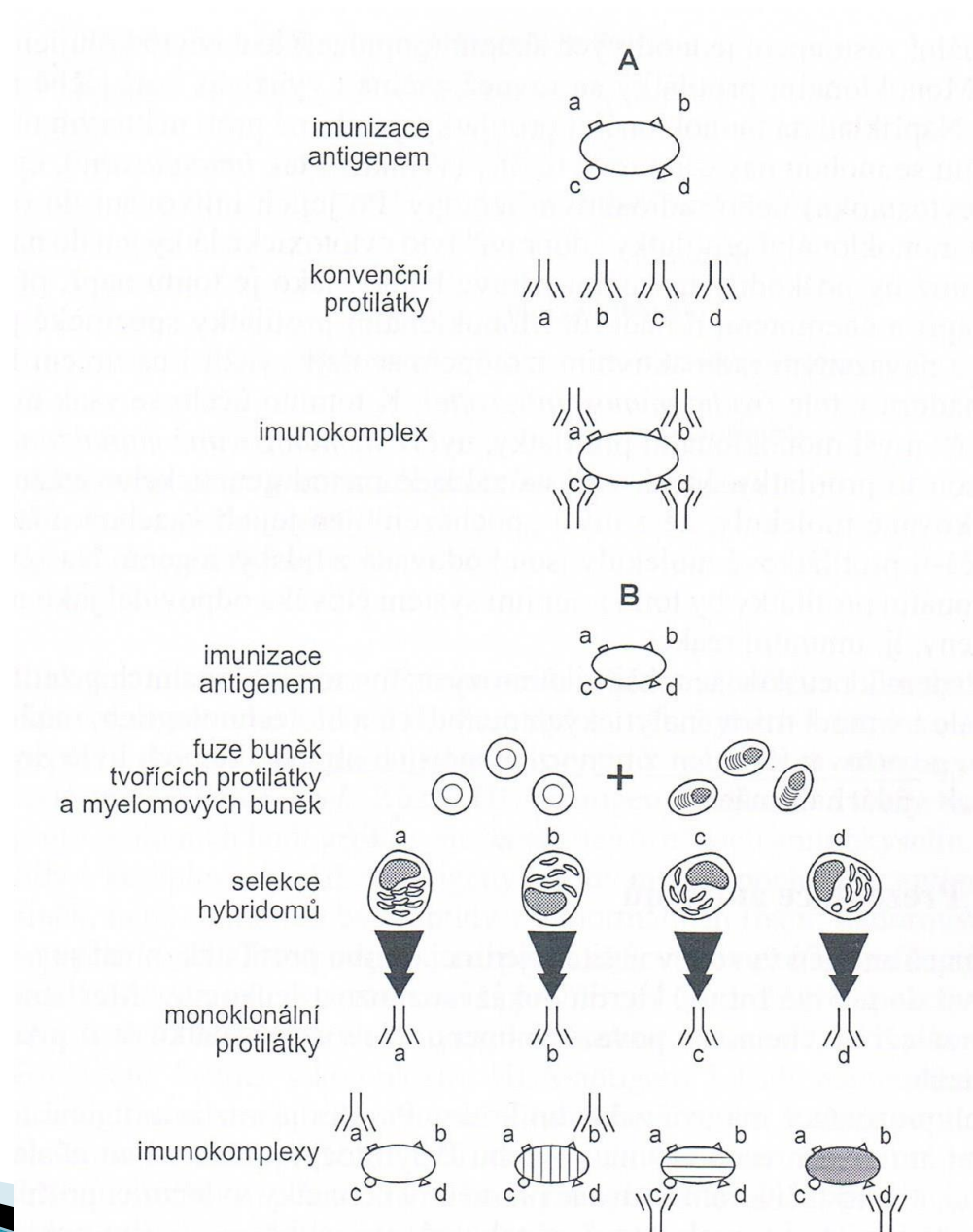
mPL špecifické pre daný Ag I.

- ▶ daným **Ag imunizujeme** (myši, potkany, morčatá...)
- ▶ **izolované B-ly** (produkujúce PL so známou a žiaducou špecifickosťou, tzn. proti konkrétnemu Ag) *fúzujú* s **myelómovými bb.** (sú „nesmrteľné“)

-
- ▶ myelómové bb. – nádorovo zvrhnuté B-ly, ktoré produkujú rovnaké PL (avšak ťažko zistiteľnej špecifity, nakoľko nepoznáme príslušný konkrétny Ag)

mPL špecifické pre daný Ag II.

- ▶ novovzniknuté bb. sa dajú od seba *oddeliť* (podľa špecificity danej PL), *oddelene kultivovať* (rozmnožiť)
- ▶ **hybridóm** = klon identických bb., z ktorých každá syntetizuje a vylučuje rovnaké (identické) molekuly PL s danou špecificitou (reagujúce s príslušným konkrétnym epitopom Ag)
- ▶ r. 1984 – *Köhler a Milstein* – Nobelova cena
- ▶ všetky mPL majú príponu **mab** (**m**onoclonal **antib**ody)



mPL špecifické pre daný Ag III.

- ▶ takéto mPL sú však heterológne => nevýhody:
 - nenahrádzajú úplne efektorové funkcie ľudských imunoglobulínov
 - u ľudí krátky polčas existencie
 - senzibilizujú (až anafylaktický šok)
- ▶ **génové inžinierstvo** – metódy „**na humanizáciu**“ heterológnych mPL

mPL špecifické pre daný Ag IV.

- ▶ chimérové – „rozpoznávacia“ časť molekuly napr. z myši, kým jej konštantná časť je z iného živočíšneho druhu (napr. IgG ľudí)
(–*ximab*)
- ▶ humanizované – vylepšené = len „vysoko rozpoznávacia“ časť molekuly napr. z myši, potkana, kým ostatná časť je ľudského pôvodu
(–*zumab*)
- ▶ humánne (ľudské) – *transfekciou* sa do genómu baktérie, kvasinky, transgénové zvieratá – napr. kozy, myši) vpraví potrebný gén a dôjde k produkcii mPL o známej a žiaducej špecificite
(–*numab*, –*mumab*)

Označenie mPL	Typ mPL	Terčová molekula	Indikácia
adalimumab	humánna	TNF	RA, JIA, psoriatická artritída, m. Crohn, AS
alemtuzumab	humanizovaná	CD52	rejekcia; CLL
basiliximab	chimérová	CD25	rejekcia
briakinumab	humánna	IL-12, 23	psoriasis vulgaris
golimumab	humánna	TNF	RA, psoriatická artritída, AS
mepolizumab	humanizovaná	IL-5	hypereozinofilný sy
ocrelizumab	humanizovaná	CD20	RA, SLE
omalizumab	humanizovaná	IgE	asthma bronchiale
* lebrikuzimab	humanizovaná	IL-13	asthma bronchiale
otelixizumab	hybridná	CD3	DM1A
rituximab	chimérová	CD20	RA, non-Hodgkinov ly, CLL
teplizumab	humanizovaná	CD3	DM1A

Meno	Vek	Rok	Krajina	Objav, oblasť práce
Emil von Behring	(60)	1901	Nemecko	Difterický antitoxín
Paul Ehrlich	(54)	1908	Nemecko	Adaptívna imunita, autoimunita
Ilja Mečnikov	(63)	1908	Francúzsko	Fagocytóza
Jules Bordet	(49)	1919	Belgicko	Komplement
Macfarlane Burnet	(61)	1960	Austrália	Teória imunitnej tolerancie
Peter Medawar	(45)	1960	UK	Experimenty imunitnej tolerancie
Gerald Edelman	(43)	1972	USA	Štruktúra imunoglobulínov
Rodney Porter	(55)	1972	UK	Štruktúra imunoglobulínov
Jean Dausset	(64)	1980	Francúzsko	MHC-komplex človeka (HLA)
George Snell	(77)	1980	USA	MHC-komplex myši (H-2)
Baruj Benacerraf	(60)	1980	USA	MHC-gény imunitnej odpovede
Nils Jerne	(73)	1984	Švajčiarsko	Idiotopová sieť
Cesar Milstein	(57)	1984	UK	Monoklonové protilátky
Georges Köhler	(38)	1984	Švajčiarsko	Monoklonové protilátky
Susumu Tonegawa	(46)	1987	Japonsko	Organizácia imunoglobulínových génov
Rolf Zinkernagel	(52)	1996	Švajčiarsko	MHC-reštrikcia
Peter Doherty	(56)	1996	Austrália	Bunkové imunitné obranné mechanizmy
Jules Hoffmann	(70)	2011	Francúzsko	Toll like receptory pri octomilkách (<i>Drosophila melanogaster</i>)
Bruce A. Beutler	(54)	2011	USA	Toll like receptory pri myšiach
Ralph Steinman	(68)	2011	USA	Dendritové bunky

Oblasť príbuzná imunológii

Karl Landsteiner	(62)	1930	USA	ABO krvný systém
Arne Tiselius	(46)	1948	Švédsko	Elektroforéza proteínov séra
Max Theiler	(52)	1951	USA	Vakcína proti žltej horúčke
Rosalyn Yallow	(56)	1977	USA	Rádioimunoanalýza
Joseph Murray	(71)	1990	USA	Orgánové transplantácie
Donnall Thomas	(70)	1990	USA	Transplantácia kostnej drene
Françoise Barré-Sinoussi	(61)	2008	Francúzsko	Pôvodca AIDS (HIV)
Luc Montagnier	(76)	2008	Francúzsko	Pôvodca AIDS (HIV)
Harald zur Hausen	(72)	2008	Nemecko	Pôvodca cervikálneho karcinómu

Alergické choroby

civilizačné ochorenia spolu s kardiovaskulárnymi a onkologickými, v tomto storočí až 50 % výskyt, rizikové faktory:

- **dedičnosť** – mnohogénová (u atopikov až 20 génov)
 - tieto gény nie sú nové, dôležité obranné poslanie napr. v boji proti parazitom, v dôsledku zmeny život. podmienok sa uplatňujú inak
 - nealergickí rodičia – riziko 20%, jeden atopik – 50% (matka!), obaja atopici – 80%
- **zmeny životného prostredia a štýlu** („westernizácia“)
 - v 20.st. viac nových cudzorodých látok ako za celú dovtedajšiu existenciu ľudstva (konzumujeme – umelé farbivá, príchute, stabilizátory, antioxidanty, lieky ..., vdychujeme – smog – oxidy síry, dusíka, ozón, dieselové výfuk. častice, rôzny prach ..., vstrebávanie pokožkou – umelé materiály, čistiace prostriedky, insekticídy, pesticídy ...) – IS môže zlyhať **kvantitatívne** (imunodeficiencia) alebo **kvalitatívne** („prestreluje“ – autoimunita, alergie)

- **alergény**

- skorý styk – nedostatočné dojčenie a náhrada materského mlieka kravským, resp. aj kozím
- dojčiť 6 mesiacov, až potom ďalšia strava po jednom druhu á 14 dní
- nové netradičné – ovocie: mango, papaya, avokádo, ananás, kiwi, granátové jablko, mäsa: početné ryby, plody mora, pštosie, klokanie,

- **fajčenie, stres**

- najmä v gravidite a u dojčiacich matiek

- **úloha infekcie**

- chýbajú v rannom detstve – „škola IS“, i v dôsledku očkovania
- ATB – síce znížili infekcie, ale zmenou črevnej mikroflóry v detstve (bez prospešných baktérií mliečneho kysnutia – bifidobaktérie, laktobacily) nedochádza k vzniku imun. tolerance voči potravinovým alergénom a vzhľadom ku skríženým reakciám následne aj k respiračnej alergii

Hygienická hypotéza

zlepšenie zdravotnej starostlivosti aj hygieny znížilo množstvo stimulov potrebných pre zdravý vývin IS

- rizikové faktory atopických chorôb
 - prostredie bez mikroorganizmov vyvolávajúcich detské infekčné choroby („správna infekcia v správny čas“)
 - očkovanie, aplikácia ATB
 - rodina bez súrodencov
 - nedostatok probiotických baktérií v GIT (život na farme v prítomnosti zvierat – pitie surového mlieka, bryndza)
 - „tolerogénne okno“ (kontakt s bežnými potravinami počas dojčenia už v 3. – 6. mesiaci)
 - jedenie aditívami upravených potravín



**"Keď budem môcť voliť,
bude už neskoro"**

O 5 rokov bude polovica populácie trpieť alergiami

STRANA



ZELENÝCH

na kandidátke SDĽ č.

6



**Dostupné kvalitné
zdravotníctvo**

Sme cesta

voľte
číslo **13**

IVAN UHLIARIK | JÁN FIGEL | MÁRIA SABOLOVÁ

WWW.KDH.SK



