

# IMUNOLÓGIA – AKO PRACUJE IMUNITNÝ SYSTÉM

Neuschlová Martina

Nováková Elena

Kompaníková Jana

Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine

2017



# **Imunológia – ako pracuje imunitný systém**

**MUDr. Martina Neuschlová, PhD.**

**Doc. MUDr. Elena Nováková, PhD.**

**MUDr. Jana Kompaníková, PhD.**

Táto učebnica je výstupom projektu KEGA č. 032UK-4/2015 MŠVVaŠ SR

**Autori:** Martina Neuschlová, Elena Nováková, Jana Kompaníková: Ústav mikrobiológie a imunológie. Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine

**Recenzenti:** doc. MUDr. Jurina Sadloňová, CSc.  
MUDr. Zuzana Lazarová, PhD.

**Vydavateľ:** Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine

**Elektronická verzia:** Portál MEFANET JLF UK

**Tlačená verzia:** KO&KA spol. s. r. o., Tlačiareň K-Print

**Vydanie:** prvé

---

© M. Neuschlová, E. Nováková, J. Kompaníková, 2017

ISBN 978-80-8187-031-6

EAN 9788081870316

## Obsah

### 1. ČO MÔŽE OHROZIŤ NAŠE TELO? ÚLOHA IMUNITNÉHO SYSTÉMU

1.1 Imunitný systém je – „tímová hra“ .....	15
1.2 Úloha imunitného systému .....	16
1.3 Hlavné funkcie imunitného systému .....	17
1.4 Druhy imunitných mechanizmov.....	17

### 2. VRODENÁ A ZÍSKANÁ IMUNITA

2.1 Definícia vrodenej a získanej imunity.....	19
2.2 Prvá obranná línia – bariéry .....	20
2.2.1 Mechanické bariéry .....	20
2.2.2 Chemické bariéry.....	22
2.2.3 Biologické bariéry .....	23
2.3 Druhá obranná línia – vrodená imunita .....	24
2.4 Tretia obranná línia – získaná imunita .....	25

### 3. HLAVNÉ ZLOŽKY IMUNITNÉHO SYSTÉMU - LYMFROIDNÉ TKANIVÁ A ORGÁNY

3.1 Lymfoidné tkanivá a orgány .....	27
3.1.1 Primárne lymfoidné orgány.....	28
3.1.2 Sekundárne lymfoidné orgány .....	30
3.2 Lymfatický cirkulačný systém .....	32

### 4. HLAVNÉ ZLOŽKY IMUNITNÉHO SYSTÉMU - BUNKY A MOLEKULY IMUNITNÉHO SYSTÉMU

4.1 Hematopoéza .....	35
4.2 Kritéria delenia bielych krviniek .....	36
4.2.1 Bunky myeloidnej línie .....	36
4.2.2 Bunky lymfoidnej línie .....	37
4.2.3 Mononukleárne a polymorfonukleárne leukocyty.....	37
4.2.4 Granulárne a agranulárne leukocyty.....	37
4.3 Vlastnosti buniek imunitného systému .....	38
4.3.1 Neutrofily.....	38
4.3.2 Eozinofily .....	38

4.3.3 Bazofily .....	39
4.3.4 Mastocyty .....	39
4.3.5 Monocyty.....	40
4.3.6 Makrofágy.....	41
4.3.7 Dendritové bunky .....	42
4.3.8 Lymfocyty .....	43
<i>T-lymfocyty</i> .....	44
<i>B-lymfocyty</i> .....	45
<i>Plazmatické bunky</i> .....	46
4.3.9 NK bunky.....	46
4.3.10 NKT bunky.....	47
4.3.11 K bunky .....	48
4.4 CD znaky buniek imunitného systému .....	48
4.5 Molekuly imunitného systému .....	48

## 5. ANTIGÉNY A RECEPTORY. ODLÍŠENIE VLASTNÉHO OD CUDZIEHO

5.1 Antigény.....	51
5.1.1 Rozdelenie antigénov .....	51
5.1.2 Epitop (antigénny determinant) – základná jednotka rozpoznávania .....	52
<i>Imunogény</i> .....	53
5.2 Receptory .....	54
5.2.1 Preformované receptory .....	54
<i>TLR – Toll-Like Receptors</i> .....	55
<i>KAR – receptory aktivujúce zabíjače</i> .....	55
<i>KIR – receptory inhibujúce zabíjače</i> .....	55
<i>CR – receptory pre komplement</i> .....	56
<i>FcR – receptory pre Fc fragment imunoglobulínov</i> .....	56
5.2.2 Somaticky generované receptory.....	57
<i>BCR – receptory na B bunkách</i> .....	57
<i>TCR – receptory na T bunkách</i> .....	57
5.3 Odlíšenie vlastného od cudzieho.....	58
<i>Rozpoznanie vlastného</i> .....	58
<i>Rozpoznanie neprítomnosti vlastného</i> .....	58
<i>Rozpoznanie cudzieho</i> .....	58

## 6. ZÁKLADNÉ FYZIOLOGICKÉ PRINCÍPY FUNGOVANIA IMUNITNÉHO SYSTÉMU

6.1 Aktivovanie vrodených imunitných mechanizmov.....	60
6.2 Aktivovanie získaných imunitných mechanizmov .....	61
6.3 Spolupráca vrodených a získaných imunitných mechanizmov .....	61

## 7. VRODENÉ IMUNITNÉ MECHANIZMY: ROZPOZNÁVACIE FUNKCIE

7.1 Nástroje vrodenej nešpecifickej imunity vo vnútri organizmu.....	63
7.2 Rozpoznávacie funkcie vrodenej imunity.....	63
7.2.1 PAMP – molekulárne vzory patogénov .....	64
7.2.2 PRR – vzor rozpoznávajúce receptory .....	64

## 8. VRODENÉ IMUNITNÉ MECHANIZMY: HUMORÁLNA ZLOŽKA

8.1 Komplement .....	68
8.1.1 Klasická cesta aktivácie komplementu .....	69
<i>Väzba C1 na komplex antigén-protilátka spúšťa klasickú cestu.....</i>	69
<i>C4b2a3b je C5-konvertáza.....</i>	70
<i>Terminálna fáza komplementovej kaskády.....</i>	70
8.1.2 Lektínová cesta aktivácie komplementu .....	71
8.1.3 Alternatívna cesta aktivácie komplementu.....	72
8.1.5 Regulácia komplementu.....	72
8.2 Mikrobicídne molekuly .....	73
8.2.1 Defenzíny .....	73
8.2.2 Lyzozým .....	73
8.2.3 Interferóny.....	74
8.2.4 Cytokíny a chemokíny.....	74
8.2.5 Proteíny akútnej fázy.....	75

## 9. VRODENÉ IMUNITNÉ MECHANIZMY: CELULÁRNA ZLOŽKA

9.1 Fagocytóza .....	78
9.1.1 Fagocyty.....	78
<i>Neutrofily.....</i>	78
<i>Eozinofily.....</i>	80
<i>Monocyty.....</i>	80

<i>Makrofágy</i> .....	80
9.1.2 Proces fagocytózy .....	82
<i>Chemotaxia</i> .....	82
<i>Adherencia</i> .....	82
<i>Ingescia</i> .....	83
<i>Fagozóm, fagolizozóm a deštrukcia pohlteného materiálu</i> .....	83
<i>Vylúčenie odpadového materiálu</i> .....	84
9.2 NK bunky v systéme vrodenej imunity .....	84
9.2.1 Receptory NK buniek .....	84
<i>Aktivačné receptory – KAR</i> .....	85
<i>Inhibičné receptory – KIR</i> .....	85
<i>Receptory pre protilátky – Fc</i> .....	86
9.2.2 Zničenie cieľových buniek NK bunkami .....	86
 <b>10. ZVÝŠENÁ TELESNÁ TEPLOTA A ZÁPÁL</b>	
10.1 Horúčka .....	87
10.1.1 Pyrogény .....	87
10.1.2 Sprievodné účinky horúčky .....	88
10.2 Zápal .....	88
10.2.1 Zápalová odpoveď .....	89
10.2.2 Zápalové bunky .....	89
10.2.3 Humorálne zložky zápalovej odpovede .....	90
10.2.3 Prostredie v mieste zápalu .....	90
10.2.4 Reparačné procesy .....	90
 <b>11. ZÍSKANÉ IMUNITNÉ MECHANIZMY: MOLEKULY IMUNOGLOBULÍNŮV</b>	
11.1 Základné znaky špecifickej imunity .....	92
11.2 Imunoglobulíny .....	93
11.2.1 Štruktúra imunoglobulínov .....	94
<i>Imunoglobulínové domény</i> .....	94
<i>Fragmenty imunoglobulínov</i> .....	94
<i>Afinita a avidita</i> .....	95
11.2.2 Triedy imunoglobulínov – izotypy .....	95
<i>Imunoglobulín IgM</i> .....	95



<i>Imunoglobulín IgG</i> .....	95
<i>Imunoglobulín IgA</i> .....	96
<i>Imunoglobulín IgE</i> .....	97
<i>Imunoglobulín IgD</i> .....	97
11.2.3 Alotypy, idiotypy, idiotypy a idiotypová sieť .....	97

## **12. MOLEKULY HLAVNÉHO HISTOKOMPATIBILNÉHO SYSTÉMU - MHC**

12.1 MHC – major histocompatibility complex .....	99
12.1.1 Molekuly MHC I. triedy .....	100
12.1.2 Molekuly MHC II. triedy .....	101
12.1.3 Molekuly MHC III. triedy .....	101
12.2 Funkcia molekúl MHC .....	101
12.2.1 Spracovanie antigénu a prezentácia molekulami MHC .....	101
<i>Prezentácia endogénnych antigénov molekulami MHC I. triedy</i> .....	102
<i>Prezentácia exogénnych antigénov molekulami MHC II. triedy</i> .....	103
<i>Krížová prezentácia</i> .....	103

## **13. ŠPECIFICKÁ IMUNITNÁ ODPOVEĎ: T A B BUNKY**

13.1 Základná charakteristika buniek špecifickej imunity .....	106
13.2 T-lymfocyty .....	107
13.2.1 Vývoj T-lymfocytov .....	107
<i>Receptory T buniek</i> .....	107
<i>Vývoj T-lymfocytov s <math>\alpha\beta</math> TCR</i> .....	108
<i>Vývoj T-lymfocytov s <math>\gamma\delta</math> TCR</i> .....	109
<i>Vývoj NKT buniek</i> .....	110
13.3 B-lymfocyty .....	110
<i>Receptory B buniek</i> .....	110
13.3.1 Vývoj B-lymfocytov .....	111
<i>Proces tvorby zrelých B-lymfocytov</i> .....	111
<i>Autoreaktívne B-lymfocyty a ich odstraňovanie</i> .....	112
<i>Diferenciácia B-lymfocytov na plazmatické bunky</i> .....	113

## 14. AKTIVÁCIA T-LYMFOCYTOV

14.1 Interakcia T-lymfocytov s antigén prezentujúcimi bunkami .....	116
14.1.1 Prezentácia antigénu pomocou MHC II. triedy .....	116
14.1.2 Prezentácia antigénu pomocou MHC I. triedy .....	118
14.1.3 Imunologická synapsa .....	119
14.2 Proliférácia a diferenciácia T-lymfocytov .....	120
14.2.1 Proliférácia a diferenciácia CD4+ T-lymfocytov .....	120
<i>Th1 bunky</i> .....	120
<i>Th2 bunky</i> .....	120
<i>Th17-lymfocyty</i> .....	121
<i>Vzájomná regulácia Th1 vs. Th2</i> .....	121
14.2.2 Proliférácia a diferenciácia CD8+ T-lymfocytov .....	122
14.2.3 Vznik pamäťových T-lymfocytov .....	123
14.2.4 Aktivácia T-lymfocytov superantigénmi .....	123
14.3 Mechanizmy bunkovej špecifickej imunity v organizme .....	123

## 15. AKTIVÁCIA B-LYMFOCYTOV

15.1 Imunitná odpoveď založená na protilátkach .....	126
15.1.1 Interakcia B-lymfocytov s antigénom .....	126
15.1.2 Protilátková imunitná odpoveď a vzťah k T-lymfocytom .....	127
<i>Protilátková odpoveď vyvolaná T-nezávislými antigénmi</i> .....	127
<i>Protilátková odpoveď vyvolaná T-závislými antigénmi</i> .....	128
15.2 Primárna a sekundárna fáza protilátkovej reakcie .....	129
15.2.1 Primárna fáza protilátkovej odpovede .....	129
15.2.2 Sekundárna fáza protilátkovej odpovede .....	130
15.3 Mechanizmy pôsobenia protilátok v organizme .....	132
15.4 Imunologická pamäť .....	132

## 16. REGULÁCIA ŠPECIFICKÝCH IMUNITNÝCH REAKCIÍ

16.1 Regulácia imunitných reakcií .....	135
16.2 Tolerancia .....	136
16.2.1 Centrálna tolerancia .....	136
16.2.2 Periférna tolerancia .....	136
16.3 Th1/ Th2 paradigma .....	137

16.4 Regulačné cytokíny.....	138
------------------------------	-----

## **17. ANTIINFEKČNÁ IMUNITA**

17.1 Imunita pri bakteriálnych infekciách .....	140
17.1.1 Obrana proti extracelulárnym baktériám.....	141
17.1.2 Obrana proti intracelulárnym baktériám .....	142
17.1.3 Rozdiely v obrane proti extracelulárnym a intracelulárnym baktériám.....	142
17.2 Imunita pri vírusových infekciách.....	143
17.3 Imunita pri nákeze parazitmi.....	144

## **18. HYPERSENZITÍVNE REAKCIE**

18.1 Rozdelenie hypersenzitívnych reakcií.....	146
18.2 Hypersenzitivita I. typu.....	148
18.2.1 Lokálne prebiehajúce reakcie .....	148
18.2.2 Systémové reakcie.....	148
18.3 Hypersenzitivita II. typu.....	149
18.4 Hypersenzitivita III. typu.....	150
18.5 Hypersenzitivita IV. typu.....	151

## **19. IMUNODEFICITNÉ STAVY**

19.1 Základná charakteristika imunodeficitných stavov .....	153
19.2 Primárne imunodeficity.....	154
19.2.1 Protilátkové imunodeficity .....	155
19.2.2 Bunkové a kombinované imunodeficity.....	155
19.2.3 Deficit vo fagocytóze .....	156
19.2.4 Deficit v systéme komplementu.....	157
19.3 Sekundárne imunodeficity .....	157
<i>Fyziologické následky .....</i>	157
<i>Následky terapeutických postupov.....</i>	157
<i>Rakovina .....</i>	158
<i>Ďalšie príčiny sekundárnych imunodeficitov .....</i>	158
<i>Následky infekcií .....</i>	158
19.4 Liečba imunodeficitov .....	160

## **20. AUTOIMUNITA**

20.1 Autoimunitné reakcie .....	162
20.1.1 Autoreaktivita .....	163
20.1.2 Humorálny a bunkový typ autoimunitných ochorení.....	163
<i>Autoimunitné ochorenia sprostredkované humorálnou odpoveďou</i> .....	164
<i>Bunkami sprostredkované autoimunitné ochorenia</i> .....	164
20.2 Tolerancia voči vlastnému .....	165
20.2.1 Centrálna tolerancia .....	165
20.2.2 Periférna tolerancia .....	165
20.3 Strata tolerancie voči vlastnému .....	165
20.3.1 Krížové reakcie a molekulárne mimikry .....	165
20.3.2 Rozšírenie epitopu .....	166
20.3.3 Strata supresie .....	166
20.3.4 Sekvestrované antigény .....	167
20.3.5 Neoantigény .....	167
20.4 Genetická predispozícia .....	167

## **21. METÓDY POUŽÍVANÉ V LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKE**

21.1 Diagnostika v imunológii .....	169
21.2 Metódy používané na vyšetrenie stavu bunkovej imunity .....	170
21.3 Metódy používané na vyšetrenie stavu humorálnej imunity .....	170

<b>KAZUISTIKY</b> .....	174
Brutonova agamaglobulinémia .....	174
Bežný variabilný imunodeficit – CVID.....	174
Alergia na kravské mlieko .....	175
Chladová a cholinergná urtikária.....	175
Erythema nodosum .....	176
Reumatická horúčka .....	176

<b>REFERENCIE</b> .....	178
-------------------------	-----

<b>REGISTER</b> .....	184
-----------------------	-----

## Úvod: Imunológia – ako pracuje imunitný systém

Učebnica Imunológia – ako pracuje imunitný systém je určená nielen pre študentov medicíny, zubného lekárstva, nelekárskych študijných programov, ale aj pre lekárov, vedecko-výskumných a zdravotníckych pracovníkov. Učebnica je výstupom projektu KEGA č. 032UK-4/2015 MŠVVaŠ SR.

Cieľom tejto učebnice je poskytnúť ucelený pohľad na fungovanie imunitného systému študentom, ktorí sa ešte nestretli s týmto predmetom. Primárne je určený pre študentov medicíny, ale dúfame, že si nájde čitateľov aj medzi tými, ktorí sa venujú biologickým vedám a biomedicíne.

Prečo je imunológia taká zložitá? Fyziologickou funkciou imunitného systému je rozpoznávať vlastné štruktúry od nevlastných a vlastné tolerovať a cudzorodé likvidovať. Vykonáva imunologický dohľad, zapája svoje výkonné zložky do činnosti a ukladá prebehnuté deje do pamäte. Má schopnosť reagovať s obrovským množstvom cudzorodých molekúl.

Učebnice je spracovaná tak, aby študent získal krok po kroku základné informácie o tom, ako pracuje imunitný systém od molekúl, buniek a tkanív imunitného systému, ktoré sa podieľajú na udržiavaní integrity organizmu a chránia ho pred širokým množstvom patogénov, ktorým sme neustále exponovaní.

Niektoré kapitoly sú náročnejšie a čitateľ sa pri ich štúdiu zdrží viac ako pri niektorých iných. Tieto kapitoly sú doplnené aj väčším počtom názorných obrázkov, ktoré majú pomôcť pri chápaní súvislostí ako pracuje taký zložitý mechanizmus v organizme človeka, akým imunitný systém bezpochyby je. V závere každej kapitoly sú zaradené kontrolné otázky a odpovede.

Výskum v imunológii je veľmi intenzívny. V predkladanej učebnici sme čerpali zo zdrojov dostupných do roku 2017. Pri obrovskom náraste nových informácií prirodzene očakávame, že pribudnú aj nové poznatky v tejto oblasti. Učebnica však predstavuje základ, z ktorého je možné vychádzať pri štúdiu predmetu. Učebnicu dopĺňajú aj ďalšie publikácie, a to Návod na praktické cvičenia z imunológie, ktoré poskytujú súhrn najčastejších metód používaných v imunologických laboratóriách a publikácia Abeceda imunológie – terminologický slovník, v ktorom je stručný prehľad základnej imunologickej terminológie.

Martina Neuschlová, Elena Nováková, Jana Kompaníková



## PRVÁ KAPITOLA

# Čo môže ohroziť naše telo? Úloha imunitného systému

## Hlavné témy

---

- ❖ Imunitný systém je – „tímová hra“
  - ❖ Úloha imunitného systému
  - ❖ Hlavné funkcie imunitného systému
  - ❖ Druhy imunitných mechanizmov
- 

## 1.1 Imunitný systém je – „tímová hra“

Imunitný systém je „tímová hra“, do ktorej je zapojených celý rad rozličných „hráčov“, ktorí pracujú spoločne na zabezpečení účinnej ochrany pred útočníkom. Existujú tisícky zložiek imunitného systému, ktoré boli a sú postupne identifikované a vďaka metódam molekulárnej biológie a genetiky sa posúvajú informácie až na subcelulárnu úroveň. V prípade, že by sme sa zamerali len na jedného „hráča“, bolo by veľmi ťažké porozumieť celej hre. Preto sa v tejto učebnici pozrieme na hru z pohľadu diváka – fanúšika, aby sme nestrannne mohli sledovať vzájomné vzťahy a interakcie a všetko, o čom imunitný systém je.

**Imunita** je definovaná ako odolnosť voči chorobám, najmä infekčným ochoreniam. Skupina molekúl, buniek a tkanív, ktoré zabezpečujú odolnosť proti infekciám, sa nazýva **imunitný systém**. Koordinovaná reakcia týchto buniek a molekúl proti infekčnému mikroorganizmu je **imunitná odpoveď**. **Imunológia** sa zaoberá štúdiom imunitného systému, vrátane jeho reakcií na mikrobiálne patogény, poškodené tkanivá, ako aj štúdiom jeho úlohy v zdraví a chorobe. Najdôležitejšou fyziologickou funkciou imunitného systému je, aby sa zabránilo vzniku infekcie a aby bola vzniknutá infekcia zlikvidovaná. O význame imunitného systému pre zdravie jedinca svedčí aj náchylnosť na závažné až život ohrozujúce infekcie u jedincov s poruchami imunitného systému. Na druhej strane, stimulácia imunitného systému očkovaním (vakcináciou) je efektívna metóda ako chrániť jedinca pred infekciou a jej následkami.

## 1.2 Úloha imunitného systému

Imunitný systém je jeden zo základných systémov, ktoré **udržujú homeostázu** a **zabezpečujú** predovšetkým **obranu organizmu** pred nepriaznivými faktormi vonkajšieho prostredia. Jedným zo základných mechanizmov, akými rozpoznáva organizmus okolité prostredie, je schopnosť prezentovať látky (antigény) imunitnému systému a jeho **schopnosť odlíšiť cudzie molekuly od vlastných**.

Imunitný systém je **komplexný, účinný, regulovaný systém**, ktorý chráni pred cudzími štruktúrami (antigénmi), rozpoznáva a odlišuje cudzie a vlastné štruktúry, reguluje a usmerňuje obranné reakcie. Imunitný systém je tvorený mnohými zložkami: proteínmi, bunkami a orgánmi, ktoré sa zúčastňujú na obrane jedinca, predovšetkým pri hrozbe ochorenia spôsobeného infekčným mikroorganizmom.

- Infekčný mikroorganizmus, ktorý zapríčiňuje ochorenie sa nazýva **patogén**.
- Jednotlivec, ktorý je infikovaný patogénom sa nazýva **hostiteľ**.

Nie všetky mikroorganizmy zapríčiňujú vznik ochorenia, naopak niektoré sú užitočné, napríklad baktérie žijúce v čreve pomáhajú v rozklade niektorých zložiek potravy. **Mikroorganizmy, ktoré pomáhajú hostiteľovi sa označujú ako komenzálne a sú súčasťou fyziologickej mikrofóry (FMF)**. Protektívne komenzálne mikroorganizmy FMF inhibujú rast patogénov. Interferujú s patogénmi pri ich invázii a kolonizácii, kontrolujú kolonizáciu slizníc patogénmi (bojujú o receptorové miesta a nutričné faktory), imunizujú hostiteľa proti patogénom prostredníctvom podobných alebo skrížene reagujúcich antigénov, podieľajú sa na tvorbe bakteriocínov (antimikrobiálnych látok proteínovej povahy, ktoré inhibujú rast niektorých baktérií).

Hoci je imunitný systém primárne zapojený do obrany proti infekčným mikroorganizmom, zohráva významnú úlohu aj pri mnohých iných ochoreniach. Zabezpečuje obranu pred niektorými **nádorovými ochoreniami**, zabraňuje rastu niektorých nádorov a existuje aj niekoľko metód v liečbe rakoviny tým, že sa stimuluje imunitná odpoveď proti vyvíjajúcim sa nádorovým bunkám. Tiež sa podieľa na odstraňovaní odumretých buniek a na opravných procesoch v tkanivách. Produkty buniek imunity majú praktické využitie pri liečbe imunologických ochorení.

Na rozdiel od týchto prospešných úloh, abnormálne fungovanie imunitného systému je tiež zodpovedné za mnohé ochorenia. Správne fungovanie imunitného systému je nevyhnutné pre dobrú zdravotnú kondíciu jedinca. Ale tak isto ako aj iné fyziologické systémy organizmu, tak aj imunitný systém môže fungovať zle a môže viesť ku vzniku ochorení. Najbežnejšou formou ochorení pri nesprávnom fungovaní imunitného systému sú **alergie**. Ďalšou kategóriou ochorení zapríčinených nesprávnym fungovaním imunitného systému sú **autoimunitné ochorenia**. Pri chýbaní jednej alebo viacerých zložiek imunitného systému alebo pri porušenej funkcii jeho zložiek dochádza ku vzniku **imunodeficiencií**. Imunitná odpoveď je tiež hlavnou prekážkou pre úspešné transplantovanie orgánov a tkanív, pretože je zodpovedná za **reakciu transplantátov**.



## 1.3 Hlavné funkcie imunitného systému

Hlavnou funkciou imunitného systému je udržiavať integritu organizmu.

- 1) Rozpoznáva, čo je pre organizmus **škodlivé** a čo je **neškodné**, a tým chráni organizmus proti rôznym škodlivinám (antigénom) pochádzajúcim z vonkajšieho aj vnútorného prostredia.
- 2) Zabezpečuje **obranyschopnosť** organizmu proti patogénnym mikroorganizmom a ich produktom.
- 3) Navodzuje mechanizmy tolerance voči vlastným tkanivám organizmu – **autotolerancia**
- 4) Zabezpečuje **imunitný dohľad** – rozpoznáva škodliviny vnútorného prostredia a priebežne odstraňuje staré, poškodené alebo patologicky zmenené bunky.

**Imunitný systém** veľmi úzko **komunikuje z nervovým a endokrinným systémom**, výsledkom je vzájomná interakcia, riadenie a dohľad.

## 1.4 Druhy imunitných mechanizmov

Imunitné mechanizmy možno rozdeliť do niekoľkých základných kategórií:

- **Vrodené** – rovnaké u všetkých, niektoré sú druhovo špecifické, sú vopred pripravené, evolučne staršie a odpovede sú vždy rovnaké.
- **Získané** – vytvorené sú až v priebehu života aktivitou vlastného imunitného systému po stimulácii, evolučne sú mladšie
- **Nešpecifické / neadaptívne** – nezávislé na antigéne (tiež označované ako vrodené)
- **Špecifické / adaptívne** – sú závislé na antigéne (tiež označované ako získané)
- **Bunkové** – sú vykonávané imunokompetentnými bunkami
- **Humorálne** – sú vykonávané rozpustnými látkami, ktoré sa nachádzajú v sére a v rôznych telesných tekutinách
- **Systémové** – účinkujú v celom organizme, v cirkulácii
- **Lokálne** – účinkujú len na určitom mieste organizmu, napr. slizniciach

## OTÁZKY a ODPOVEDE

Ako možno charakterizovať imunitný systém? Imunitný systém je jeden zo základných systémov, ktoré udržiavajú homeostázu a zabezpečujú predovšetkým obranu organizmu pred nepriaznivými faktormi vonkajšieho prostredia. Je to komplexný, regulovaný a účinný

## Kapitola: 1.4 Druhy imunitných mechanizmov

systém, rozpoznáva a odlišuje cudzie a vlastné štruktúry, reguluje a usmerňuje obranné reakcie.

Ktoré mikroorganizmy sa označujú ako komenzálne? Mikroorganizmy, ktoré pomáhajú hostiteľovi sa označujú ako komenzálne a sú súčasťou fyziologickej mikroflóry (FMF).

Aké sú hlavné funkcie imunitného systému? Rozpoznávať, čo je pre organizmus škodlivé a čo je neškodné. Zabezpečovať obranyschopnosť organizmu. Navodzovať mechanizmy tolerance voči vlastným tkanivám organizmu – autotoleranciu. Zabezpečovať imunitný dohľad.

Vymenujte druhy imunitných mechanizmov. Vrodené a získané, nešpecifické a špecifické, bunkové a humorálne, lokálne a systémové.

## DRUHÁ KAPITOLA

# Vrodená a získaná imunita

## Hlavné témy

---

- ❖ Definícia vrodenej a získanej imunity
  - ❖ Prvá obranná línia – bariéry
    - ✓ Mechanické bariéry
      - Koža
      - Sliznice
      - Dýchací trakt
      - Močové cesty
    - ✓ Chemické bariéry
      - pH prostredia
      - Mikrobicídne pôsobiace látky
    - ✓ Biologické bariéry
      - Význam fyziologickej mikroflóry
  - ❖ Druhá obranná línia – vrodená imunita
  - ❖ Tretia obranná línia – získaná imunita
- 

## 2.1 Definícia vrodenej a získanej imunity

**Obranné mechanizmy hostiteľa sa skladajú z troch obranných línií.** Prvá línia obrany je zabezpečovaná **súborom mechanických, chemických a biologických bariér**, ktoré chránia jedinca. Ak sú však tieto bariéry prekonané, začnú sa aktivovať mechanizmy druhej a tretej obrannej línie, teda mechanizmy vrodenej imunity a získanej imunity. Vrodená a získaná imunita používajú receptory na odhalenie potenciálnych hrozieb (predovšetkým mikroorganizmov). **Bunky a molekuly vrodenej imunity** odpovedajú na vstup mikroorganizmov veľmi rýchlo a mnohokrát stačia na účinné zabezpečenie obrany jedinca. Ak sú však prekonané aj bariéry, aj mechanizmy vrodenej imunity, vtedy sa dostávajú do hry mechanizmy získanej imunity, ktoré tvoria tretiu líniu obrany proti

potenciálnym hrozbám ľudského organizmu. **Získaná imunitná odpoveď** sa síce vyvíja pomalšie, pretože pred tým, ako vie poskytnúť dostatočne účinnú obranu, si vyžaduje expanziu a diferenciáciu buniek (lymfocytov) potrebných v reakcii na mikroorganizmy. Ale následne poskytuje vysoko špecializovanú a vysoko efektívnu obranu proti infekcii.

## 2.2 Prvá obranná línia – bariéry

Imunitný systém sa teda skladá z troch úrovní obrany. Prvú úroveň predstavujú mechanické, chemické a biologické bariéry, ktoré bránia vstupu mikroorganizmov do prostredia tkanív človeka. Tieto bariéry si môžeme predstaviť ako pevné hradby, ktoré poskytujú ochranu obyvateľom hradu pred útokmi nepriateľa.

Pre obranu organizmu proti infekcii a vôbec pre udržiavanie jeho integrity je dôležitý neporušený povrch kože a slizníc a existencia ich **prirodzených neimunitných obranných mechanizmov** – mechanických, chemických a biologických bariér.

### 2.2.1 Mechanické bariéry

Mechanické bariéry bránia vstupu potenciálne patogénnych mikroorganizmov do tela. Mechanickými bariérami kože a slizníc sú vonkajšia vrstva kože a epitel slizníc.

#### *Koža*

Koža je veľmi účinná bariéra proti prenikaniu mikroorganizmov do tela. Na rôznych miestach tela má rôznu hrúbku. Väčšina baktérií nedokáže prestúpiť cez neporušenú kožu. Vonkajšia vrstva kože – epidermis a jej najvrchnejšia vrstva – stratum corneum sa skladá z odumretých zrohovatených buniek, ktoré sa postupne odlupujú. Je vode odolná, bráni dehydratácii a suché prostredie na jej povrchu nie je vhodné pre mikroorganizmy. Ak sa aj niektorým mikroorganizmom podarí na nej prichytiť, neustálym odlupovaním zrohovatených odumretých buniek dochádza k ich odstraňovaniu. Neporušená koža predstavuje nielen účinnú mechanickú bariéru, ale spolupôsobí na nej aj chemické a biologické bariéry, ako pot, produkty mazových žliaz, nenasýtené mastné kyseliny, mikrobicídne látky a fyziologická mikroflóra kože.

#### *Sliznice*

Slizničný epitel pokrýva všetky dutiny tela, ktoré prichádzajú do kontaktu s rôznorodými časticami z vonkajšieho prostredia. Skladá sa z niekoľkých typov buniek. Niektoré z nich majú funkciu sekréčnú, iné absorbčnú alebo obrannú. Slizničný epitel pokrýva respiračný, gastrointestinálny a urogenitálny trakt. Produkuje hlien, ktorý pomáha chrániť bunky epitelu a príľahlé tkanivá, pomáha zachytávať mikroorganizmy. Je klzký a pokrýva jemnú sliznicu, čím ju chráni pred poškodením časťami potravy, tráviacimi enzýmami alebo prachom. Zároveň je väzký a lepkavý. Mikroorganizmy sa v ňom „prilepia“, a preto sa už nemôžu naviazať na vnímavé bunky. Na hlien sa viažu aj sekréčné protilátky IgA, ktoré tiež pomáhajú zachytávať mikroorganizmy. Obsahuje tiež látky, ktoré dokážu zlikvidovať alebo aspoň spomaliť množenie mikroorganizmov (lyzozým, laktoferín, laktoperoxidáza).

V oblasti respiračného traktu je hlien (a s ním aj mikroorganizmy) posúvaný riasinkami a následne je vylúčený kýchaním alebo kašľaním.

V oblasti gastrointestinálneho traktu (GIT) sa vytvára denne okolo 4 litre hlienu, ktorého väčšina sa reabsorbuje v oblasti hrubého čreva. Hlien s prilepenými mikroorganizmami sa posúva peristaltikou a je vylúčený z tela.

Dutina maternice je mechanicky chránená pred vniknutím mikroorganizmov prítomnosťou hlienovej zátky v krčku maternice.

Bunky slizničného epitelu sú obmývané tekutinami (sliny, slzy, moč), a tiež sa obmieňajú podobne ako bunky v pokožke, čo je dôležitý spôsob odstraňovania mikroorganizmov z mnohých slizníc.

### **Dýchací trakt**

Pohybom jemných chlpkov vo vchode do nosa sa pri dýchaní mechanicky zachytávajú nečistoty väčšie ako 10 µm. Riasinkový epitel dýchacích ciest posúva zachytené nečistoty smerom von z tela (nosový sekrét). Hlien, ktorý je produkovaný v respiračnom trakte zachytáva vdýchnuté mikroorganizmy a ďalšie častice. Mikroorganizmy a nečistoty zachytené v hliene sú posúvané riasinkovým epitelom a môžu byť z oblasti dýchacích ciest odstránené kýchaním alebo kašľaním. Pohyb riasiniek je synchronizovaný a usporiadaný tak, aby sa hlien posúval smerom von z tela. Pohyb riasinkového epitelu však môže byť do značnej miery poškodený (napr. fajčením, chronickým abúзом alkoholu, niektorými vírusovými infekciami, čiernym kašľom...), a to má negatívny dopad na čistiacu schopnosť v dýchacom trakte. O význame riasinkového epitelu a hlienu v respiračnom trakte svedčia aj opakované respiračné infekcie podmienené patogénnymi mikroorganizmami (*Pseudomonas aeruginosa*) u pacientov s vrodenou poruchou permeability chloridových iónov pri cystickej fibróze. To spôsobuje tvorbu nesmierne hustého a viskózneho hlienu, ktorého fyziologické odstraňovanie je veľmi problematické a často upcháva dýchacie cesty, následkom čoho vznikajú opakované respiračné infekcie.

### **Močové cesty**

Mechanickou bariérou v oblasti močových ciest je močenie, ktoré prostredníctvom prúdu tekutiny nasmerovanej von z tela, mechanicky bráni pohybu mikroorganizmov do močového traktu. Zároveň slúži na vylúčenie baktérií, ktoré sa do tejto oblasti dostali napr. nedostatočným dodržiavaním hygienických zásad (najčastejšie z oblasti konečníka), terapeutickým zavedením katétra, anatomickými zmenami, ktoré bránia pravidelnému a dostatočne silnému prúdu moču (pri striktúrach, kameňoch) a pod. Rovnako ako aj v iných oblastiach, tak aj v prípade urogenitálneho traktu spolupôsobia pri obrane aj chemické a biologické bariéry.

## 2.2.2 Chemické bariéry

Ako chemické bariéry proti mikroorganizmom slúžia pH určitých oblastí a mikrobicídne pôsobiace látky.

### *pH prostredia*

Medicínsky významné baktérie sú neutrofilné, to znamená, že pH menšie ako 6 je pre ich rast nevhodné.

**V koži** sa nachádzajú potné a mazové (tukové) žľazy, ktorých niektoré produkty sú mierne kyslé (kyselina mliečna v pote) a výsledkom je kyslé pH kože okolo 5,5. Pri nadmernej produkcii mazu sa môžu mazové žľazy upchať a pH kože sa môže zmeniť na nie veľmi vhodné. Navyše v upchatých mazových žľazách môžu zostať zachytené rôzne mikroorganizmy. Rast mnohých baktérií inhibuje aj vysoká koncentrácia chloridu sodného v pote.

**V žalúdku** je veľmi kyslé prostredie (pH 1,0 až 3,0) vďaka prítomnosti žalúdočnej šťavy. Preto prežije v žalúdku len málo mikroorganizmov. Táto chemická bariéra bráni vstupu mikroorganizmov do tenkého čreva. O jej význame svedčí prítomnosť častých črevných infekcií u pacientov s achlórhydriou (nedostatkem kyseliny chlorovodíkovej v žalúdočnej šťave).

**V dvanástniku** sa mení pH, lebo k črevnému obsahu sa primiešava aj zásaditý sekrét podžalúdkovej šťavy. Vyskytujú sa tu však žľčové soli, ktoré sú toxické pre nepatogénne baktérie. Na druhej strane treba povedať, že žlč je pre niektoré baktérie neškodná – bežné črevné baktérie tolerujú žľčové soli. Alebo je dokonca vhodná pre ich rast (napr. salmonely a ich nosičstvo práve z žlčníku).

**Vo vagíne** zdravých žien sa pohybuje pH okolo 4,4 až 4,6. Je to spôsobené prítomnosťou kyseliny mliečnej, ktorú produkuje *Lactobacillus acidophilus* (súčasť fyziologickej mikroflóry), ktorý dokáže štiepiť glykogén z vaginálnych epitelií. Niektoré kmene laktobacilov tiež produkujú peroxid vodíka, významná je aj tvorba mikrobicídnych látok (bakteriocínov - lakticínov).

### *Mikrobicídne pôsobiace látky*

Mikrobicídne pôsobiace látky inhibujú rast mikroorganizmov alebo ich ničia tým, že poškodzujú ich bunkové steny a membrány a spôsobujú lýzu. Priťahujú bunky vrodenných imunitných mechanizmov a uľahčujú fagocytózu. Nachádzajú sa v koži, pote, slzách, slinách, sekrétoch respiračného, gastrointestinálneho a urogenitálneho traktu.

V koži sa nachádza celý rad mikrobicídne pôsobiacich látok. **RNáza, DNáza, defenzíny, katelicidín, masťné kyseliny**, ktoré sú toxické pre gramnegatívne baktérie a niektoré huby. V pote je **lyzozým**, ktorý rozkladá peptidoglykán predovšetkým v stene grampozitívnych baktérií. Ústie vlasových folikulov a potných žliaz je chránené kyselinou mliečnou, lyzozýmom a nenasýtenými masťnými kyselinami.

V dýchacom systéme sa nachádzajú mikrobicídne pôsobiace beta-defenzíny, ktoré sa naviažu na mikroorganizmy a uľahčia tak ich ingesciu a deštrukciu fagocytózou.

V gastrointestinálnom trakte pôsobia mikrobicídne lyzozým, alfa-defenzíny (kryptidíny) a tráviace enzýmy v slinách, žalúdku a tenkom čreve. Tieto enzýmy účinkujú pri tráviacich procesoch, ale efektívne sú aj pri zabíjaní a odstraňovaní potenciálnych patogénov, ktoré sa dostali do GITu.

V slzách, ktoré oplachujú očnú spojovku, sa nachádza lyzozým, laktoferín a sekrečné imunoglobulíny IgA. Pri poruche sekrécie slz dochádza k ťažkému poškodeniu oka.

### 2.2.3 Biologické bariéry

Biologickou bariérou je fyziologická mikroflóra (FMF), ktorá obsahuje **spektrum komenzálnych mikroorganizmov, ktoré existujú vo vzájomnej symbióze s ľudským organizmom**. Tieto mikroorganizmy kolonizujú kožu, GIT a ostatné oblasti tela a inhibujú iné potenciálne patogény. Fyziologické osídlenie organizmu začína hneď po narodení, a to v závislosti od prostredia a typu stravy. V priebehu života sa vytvára krehká ekologická rovnováha medzi baktériami, ktoré fyziologicky osídľujú niektoré časti tela a ľudským organizmom (tzv. **eumikróbia** = prítomnosť baktérií na koži a slizniciach v optimálnom zložení a množstve). Narušenie eumikróbie = **dysmikróbia**, a to v zmysle zmeny zloženia alebo pomeru zastúpenia určitého druhu v danom tkanive (napr. premnoženia jedného druhu FMF), alebo zmeny fyziologickej lokalizácie mikroorganizmu (jeho preniknutie na miesta, ktoré majú byť sterilné), môžu viesť ku vzniku ochorenia. Zloženie FMF je rovnaké u jednotlivých zvieracích druhov a vytvorené bolo na základe ekologických vzťahov. Jej zloženie je relatívne stále v rámci druhu a jednotlivca, ovplyvnené je jeho zvyklosťami, vekom aj prostredím, v ktorom žije.

Kolonizácia patogénnymi baktériami je považovaná za prejav dysmikróbie, aj v prípade, že by neboli prítomné klinické príznaky (opuzdrené kmene *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* v nosohltane u osôb v uzavretých komunitách – vojenské tábory, sústredenia mladých, predškolské zariadenia). **Rovnako prítomnosť parazitov, plesní a vírusov aj bez klinických príznakov nie je považované za fyziologickú mikroflóru.**

#### Význam fyziologickej mikroflóry

Význam FMF spočíva v priaznivom pôsobení komenzálnych baktérií.

- **Sút'azia** o receptorové miesta a nutričné faktory s patogénnymi mikroorganizmami pri ich kolonizácii a invázii.
- **Imunizujú** hostiteľa proti patogénom prostredníctvom podobných alebo skrížene reagujúcich protilátok.
- **Vytvárajú vhodné prostredie** pre inhibíciu rastu patogénov (*Lactobacillus sp.*).
- **Podieľajú sa** na tvorbe bakteriocínov (antimikróbných látok proteínovej povahy, ktoré inhibujú rast niektorých baktérií).
- Podieľajú sa na tvorbe vitamínov (E. coli – K vitamín), eliminácii toxínov (*Bacteroides sp.*).



- Skorá expozícia vhodným nepatogénnym baktériám po narodení stimuluje Th1-lymfocyty, ktoré inhibujú aktivitu Th2-lymfocytov, a tým inhibujú uvoľňovanie cytokínov stimulujúcich alergické reakcie.

Baktérie FMF je možné omylom pokladať za etiologické agensy (pre ich prítomnosť na slizniciach a morfológickú podobnosť). Niektoré z nich môžu podporovať vznik neinfekčných ochorení (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus milleri* – zubný kaz). Pri zlyhávaní nešpecifických imunitných mechanizmov môže fyziologická mikroflóra prebrať funkciu patogénov (FMF je v podstate podmienené patogénna). Napríklad u imunokompromitovaných ľudí môžu baktérie FMF spôsobovať infekciu.

Baktérie FMF sa môžu dostať z kože na miesta, ktoré majú byť za fyziologických podmienok sterilné alebo na miesta, kde dané preniknuté baktérie netvoria súčasť FMF. Napr. počas zavádzania liečebných alebo terapeutických nástrojov (napr. katétrov) do tela. To následne vedie ku vzniku infekcie.

Typické zloženie FMF je možné narušiť napríklad podávaním širokospektrálnych antibiotík, hormónov alebo antiseptík. To sa môže prejaviť klinickými príznakmi – nechutenstvom, hnačkami, poruchami trávenia, svrbením a pod. Niekedy môže dôjsť aj k život ohrozujúcim ochoreniam. Príkladom je premnoženie anaeróbných baktérií v čreve pri podávaní širokospektrálnych antibiotík a následne môže vzniknúť pseudomembranózna kolitída. Pri pseudomembranóznej kolitíde patogénna anaeróbna baktéria *Clostridium difficile* produkuje toxín, ktorý poškodzuje GIT a vyvoláva početné vodnaté hnačky, horúčku a kŕče brucha.

## 2.3 Druhá obranná línia – vrodená imunita

Ak patogény preniknú cez prvú obrannú líniu – cez bariéry, druhú obrannú líniu poskytnú vrodené imunitné mechanizmy. Vrodená imunita je ale prvou imunologickou obrannou líniou. Je evolučne staršia a v organizme je vopred pripravená.

**Vrodená imunita** (tiež označovaná ako **nešpecifická**) poskytuje rýchlu obranu organizmu pred infekciou, lebo nastupuje okamžite. Je vždy prítomná u zdravých jedincov a vždy pripravená brániť vstupu mikroorganizmov alebo rýchlo odstraňovať tie, ktorým sa podarilo preniknúť cez bariéry hostiteľa. Systém vrodenej imunity je už pripravený pred expozíciou antigénu. Reakcie vrodenej imunity sú vždy rovnaké aj pri opakovanom kontakte s antigénom, sú nezávislé na antigéne, rovnaké v čase aj intenzite. Vždy reagujú akoby to bolo po prvýkrát.

Vrodené imunitné mechanizmy zahŕňajú rýchle zničenie vyvolávateľa infekcie, aktiváciu fagocytov a protektívnu odpoveď známu ako zápal. Pri zápale sú bunky a molekuly vrodenej imunity stimulované k tomu, aby izolovali a zničili patogény a aby sa spustili reparačné procesy v tkanivách.



Nešpecifické imunitné mechanizmy sú tvorené zložkami bunkovými a humorálnymi:

- K bunkovým nešpecifickým zložkám patria fagocytyujúce bunky a prirodzené zabíjače – NK bunky.
- K humorálnym zložkám nešpecifickej imunity patria komplement, lyzozým, transferín, bázické polypeptidy, lektíny, interferóny, proteíny akútnej fázy zápalu a mnohé cytokíny, ktoré ovplyvňujú nešpecifickú imunitu.

## 2.4 Tretia obranná línia – získaná imunita

Získaná (adaptívna) imunita predstavuje tretiu obrannú líniu, ale druhú imunologickú obrannú líniu. Keď mikroorganizmy preniknú prvou aj druhou líniou obrany, nastupujú reakcie získaných imunitných systémov.

**Získaná imunita** (tiež označovaná ako **špecifická**) je evolučne mladšia ako systém vrodenej imunity. Získaná imunita je charakteristická len pre konkrétneho jedinca. Nededí sa. Vytvára sa až v priebehu života po stretnutí sa s antigénom (je závislá na antigéne). Táto obrana je špecifická, to znamená adaptovaná alebo prispôbená je len určitému agensu (preto sa tiež označuje **adaptívna**).

V priebehu infekcie sa začína uplatňovať neskôr a pomalšie ako vrodená imunita a bohužiaľ niekedy sa nerozvinie dostatočne včas. Na rozdiel od vrodenej imunity predstavuje získaná imunita účinnú obranu **proti obligátnym patogénom**.

Pri opakovanom kontakte s určitým antigénom sú mechanizmy získanej imunity oveľa rýchlejšie a intenzívnejšie ako pri prvom kontakte s týmto antigénom. Takto funguje špecifická imunita vďaka prítomnosti **imunologickej pamäti**. Preto pri opakovanom kontakte s daným patogénom sa rozvinie špecifická imunita tak rýchlo a intenzívne, že sa ochorenie vôbec nemusí prejavovať klinickými príznakmi.

**Hlavnými nástrojmi získanej imunity sú T- a B-lymfocyty.** Ak je do obrany organizmu zapojený systém získanej imunity, tak obidva systémy – vrodené aj získané – úzko spolupracujú a koordinujú svoje aktivity, pretože na spustenie získanej imunity je potrebná aktivita zložiek vrodenej imunity.

Špecifické imunitné mechanizmy sú tvorené zložkami bunkovými a humorálnymi:

- Bunkami sprostredkované mechanizmy špecifickej imunity sú založené predovšetkým na T-lymfocytoch.
- Humorálne mechanizmy špecifickej imunity sú založené na B-lymfocytoch a protilátkach.

## OTÁZKY a ODPOVEDE

Ktoré mechanizmy využíva hostiteľ na svoju obranu? Obranné mechanizmy hostiteľa sa skladajú z troch obranných línií.

## Kapitola: 2.4 Tretia obranná línia – získaná imunita

Prvá línia obrany je zabezpečovaná súborom mechanických, chemických a biologických bariér, ktoré chránia jedinca. Druhá línia obrany je tvorená vrodenými imunitnými mechanizmami. Tretia línia obrany je získaná imunita.

**Ktoré imunologické obranné línie využíva hostiteľ?** Vrodenú imunitu, ktorá predstavuje prvú imunologickú obrannú líniu a získanú imunitu, ktorá predstavuje druhú imunologickú obrannú líniu organizmu hostiteľa.

**Čo je to fyziologická mikroflóra?** Je to spektrum komenzálnych mikroorganizmov, ktoré existujú vo vzájomnej symbióze s ľudským organizmom.

**Definujte pojem eumikróbia.** Prítomnosť baktérií na koži a slizniciach v optimálnom zložení a optimálnom množstve.

**Definujte pojem dysmikróbia.** Označuje narušenie eumikróbie v zmysle zloženia alebo pomeru zastúpenia určitého druhu v danom tkanive (napr. premnoženia jedného druhu fyziologickej mikroflóry) alebo zmeny fyziologickej lokalizácie mikroorganizmu (jeho preniknutie na miesta, ktoré majú byť sterilné).

**Prítomnosť ktorých organizmov sa nepovažuje za fyziologickú mikroflóru?** Prítomnosť parazitov, plesní a vírusov aj bez klinických príznakov nie je považované za fyziologickú mikroflóru.

## TRETIA KAPITOLA

# Hlavné zložky imunitného systému – lymfoidné tkanivá a orgány

## Hlavné témy

---

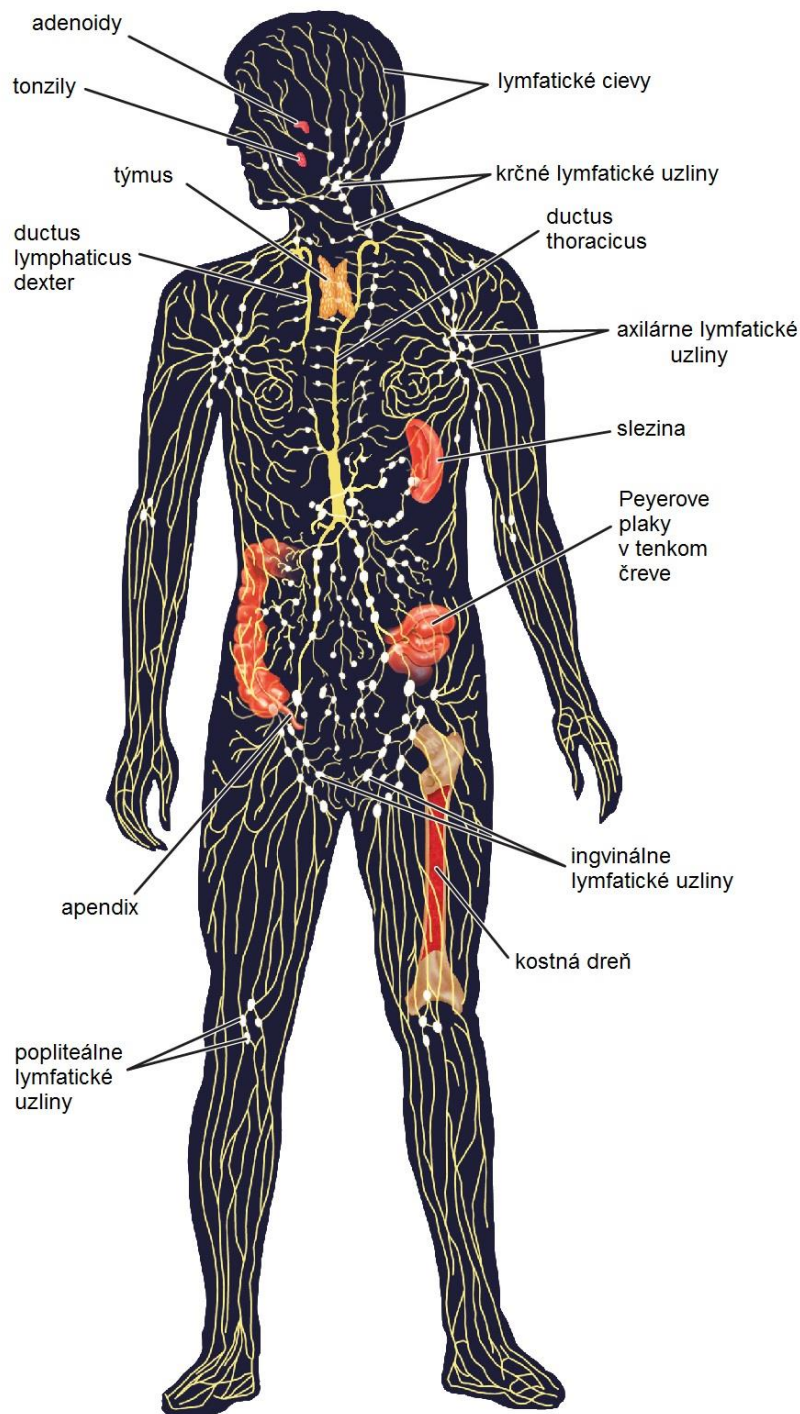
- ❖ Lymfoidné tkanivá a orgány
    - ✓ Primárne lymfoidné orgány
      - Týmus
      - Kostná dreň
    - ✓ Sekundárne lymfoidné orgány
      - Slezina
      - Lymfatické uzliny
      - Slizničné lymfoidné tkanivo
  - ❖ Lymfatický cirkulačný systém
- 

## 3.1 Lymfoidné tkanivá a orgány

Hlavnými zložkami imunitného systému sú **bunky a molekuly**, ktoré sa môžu nachádzať jednotlivo v cirkulácii a v tkanivách, alebo sú nahromadené v lymfoidných tkanivách a orgánoch (obr. 1). **Lymfoidné orgány sa delia na primárne a sekundárne.** V primárnych lymfoidných orgánoch (týmus a kostná dreň) sa lymfocyty vyvíjajú. V sekundárnych lymfoidných orgánoch (slezina, lymfatické uzliny, nahromadenie lymfocytov v tkanive) sa môžu cirkulujúce bunky imunity navzájom kontaktovať a sú tu vychytávané a zhromažďované antigény. **Interakciami, ktoré sa uskutočňujú v sekundárnych lymfoidných tkanivách, sa spúšťajú špecifické imunitné reakcie.**

Lymfoidné tkanivá a orgány sú s ostatnými orgánmi a tkanivami tela prepojené hustou sieťou lymfatických a krvných ciev. Lymfatické cievy, ktoré privádzajú lymfu do

uzlín sú aferentné lymfatické cievy. Tie, ktoré lymfu odvádzajú do krvného riečiska, sú eferentné lymfatické cievy. Výnimkou je slezina, pretože nemá priame prepojenie na lymfatické cievy.



© 2013 Encyclopædia Britannica, Inc.

**Obr. 1 Lymfatický systém** (upravené podľa: <https://www.britannica.com/media/full/352830/17656>)

#### 3.1.1 Primárne lymfoidné orgány

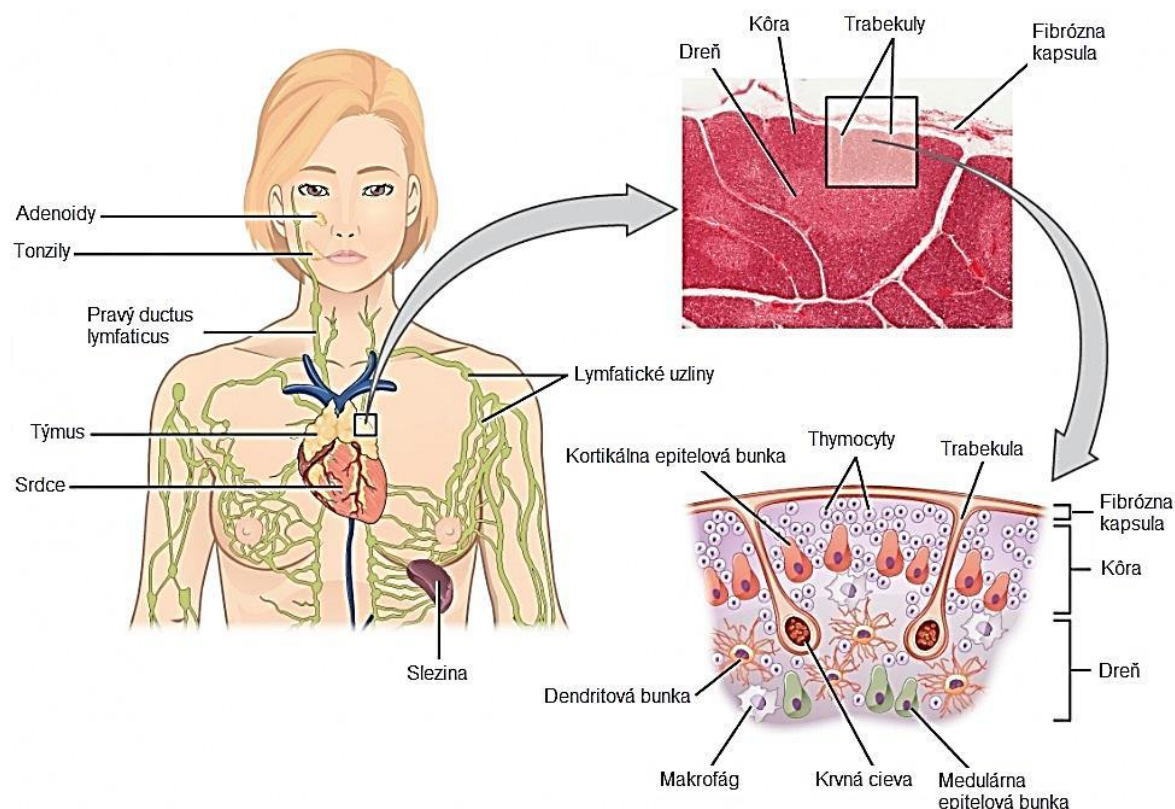
Primárne lymfoidné orgány sa označujú ako „primárne“, pretože **sú miestom vzniku, diferenciácie a dozrievania imunokompetentných buniek**. Primárnymi

lymfoidnými orgánmi sú u človeka **týmus a kostná dreň**. Všetky druhy leukocytov sa vyvíjajú v kostnej dreni z pluripotentnej kmeňovej hemopoetickej bunky, z ktorej sa diferencuje myeloidná a lymfoidná línia buniek.

#### Týmus

Bunky lymfoidnej línie, ktoré sa majú stať T-lymfocytmí, migrujú do týmusu vo včasnom období vývoja na „vysokú školu“. Vyššie vzdelanie, ktoré tu získajú, im umožní rozpoznávať cudzie a vlastné štruktúry.

Týmus je dvojlaločný orgán (obr. 2), ktorý sa v priebehu fetálneho a novorodeneckého obdobia zväčšuje a od puberty sa postupne znižuje. Prekursori T-lymfocytov prichádzajú do týmusu ako tzv. **pro-tymocyty** a dostávajú sa do kôry týmusu (tu sa nazývajú kôrové tymocyty). V tomto prostredí získajú definitívny TCR (antigén špecifický receptor na T-lymfocytoch) a CD3 komplex. Okrem toho na ich povrchu tu získavajú aj ďalšie dôležité molekuly. Významné sú povrchové molekuly CD4 a CD8, ktoré sú spolu s CD3 nevyhnutnou súčasťou T bunkového receptora pre antigén.



**Obr.2 Týmus – lokalizácia, štruktúra a histológia** (upravené podľa:

<https://courses.lumenlearning.com/ap2/chapter/anatomy-of-the-lymphatic-and-immune-systems/>)

Podstatou výchovy v týmuse, je vybrať také T bunky, ktoré budú vedieť rozpoznať vlastné molekuly hlavného histokompatibilného komplexu (MHC), ale nebudú reagovať na vlastné antigény. Tie z nich, ktoré nebudú vedieť vôbec rozpoznať vlastné molekuly MHC (lebo majú nefunkčný TCR), podľahnú apoptóze. Iba tie, ktorých receptory budú vedieť rozpoznať vlastné molekuly MHC a viazať sa na ne, sa môžu ďalej



množiť – tento proces sa označuje ako **pozitívna selekcia**. Na druhej strane, niektoré z týchto buniek sa ale viažu veľmi silno na komplex MHC proteínov (majú receptor s vysokou afinitou), stávajú sa potenciálne nebezpečnými, lebo sú autoreaktívne. Preto tiež podliehajú apoptóze – tento proces sa označuje ako **negatívna selekcia**.

Pozitívne vyselektované tymocyty sú teda také, ktoré v týmuse rozpoznávajú MHC proteíny, ale majú receptor s nízkou afinitou pre komplex MHC proteínov. Tymocyty, ktoré prešli pozitívnou selekciou už nemajú obidve molekuly (CD4 aj CD8), ale iba jednu z nich. Expresiu koreceptora **CD8** si zachovávajú tie, ktorých TCR **viaže MHC I. triedy**. expresiu **CD4** tie, ktorých TCR **viaže MHC II. triedy**. Zrelé T-lymfocyty opúšťajú týmus a usídli sa v sekundárnych lymfoidných orgánoch.

Do týmusu sa dostáva veľké množstvo protymocytov, ale až okolo 95-98 % z nich uhynie, to znamená, že výber na tejto „vysokej škole“ je naozaj veľmi prísny. Vývoj T-lymfocytov v týmuse regulujú stromálne bunky (viď štvrtá kapitola).

#### **Kostná dreň**

Tie línie lymfocytov, ktoré nemigrujú do týmusu, ale dostávajú výchovu „doma“ – teda v kostnej dreni, sa stanú B-lymfocytmi. V kostnej dreni podstupia tieto bunky včasnú diferenciáciu. Preskupením (rearrangementom) génov DNA vytvorí BCR (špecializovaný receptor B-lymfocytov) a ďalšie molekuly ako Igα a Igβ (potrebné pre spustenie kaskády intracelulárnych signálov) a na povrchu exprimujú IgM. Expresiou povrchového IgM sa stáva bunka nezrelým B-lymfocytom. V ďalšom vývoji nastáva súčasná expresia povrchového IgM aj IgD, a tým sa stáva z bunky zrelý B-lymfocyt.

V kostnej dreni môžu vznikať v niektorých B bunkách aj náhodne vytvorené BCR, ktoré dokážu rozpoznať a viazať vlastné molekuly. Tieto bunky sú potenciálne nebezpečné, reagujú na vlastné molekuly organizmu. Preto sa u nich spustí proces apoptózy, čím sa odstránia autoreaktívne bunky. Tak ako pri T bunkách v týmuse, aj stromálne bunky v kostnej dreni spolupracujú pri regulácii vývoja B buniek.

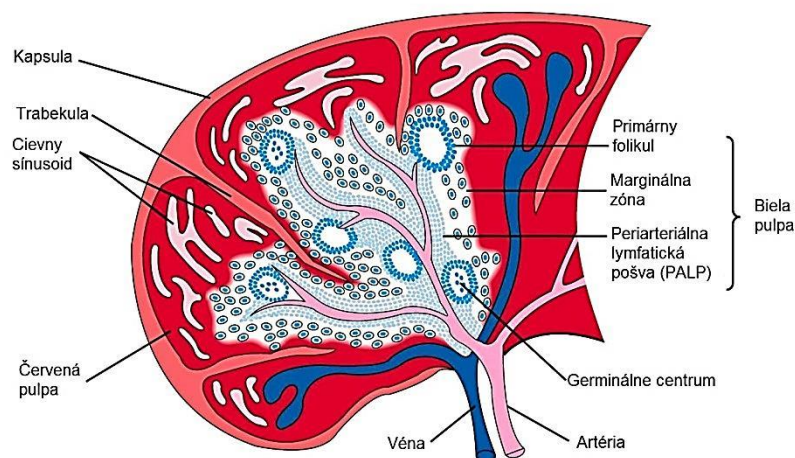
### **3.1.2 Sekundárne lymfoidné orgány**

Medzi hlavné sekundárne lymfoidné orgány patria **slezina** a **lymfatické uzliny**. **Slizničné lymfoidné tkanivá** predstavujú sekundárne nahromadenie lymfoidného tkaniva. Sekundárne lymfoidné orgány a tkanivá vycytávajú a koncentrujú antigény a predstavujú miesto, kde vstupujú do kontaktu veľké množstvá cirkulujúcich imunokompetentných buniek. Sekundárne lymfoidné tkanivo má zároveň filtračnú funkciu, odstraňuje cudzorodý materiál a odumreté bunky z cirkulácie. Sekundárne lymfoidné orgány a tkanivá sú miestami, v ktorých prebiehajú hlavné fázy antigén špecifických reakcií.

#### **Slezina**

Slezina je **najväčší lymfoidný orgán**. Koncentruje antigény z krvi a odstraňuje nepotrebné častice z krvi. Obsahuje B- aj T-lymfocyty, antigén prezentujúce bunky (APC) a ostatné leukocyty, veľký počet plazmatických buniek produkujúcich imunoglobulíny do cirkulácie. Má hladký lesklý povrch tmavočervenej farby a histologicky je rozdelená na červenú a bielu pulpu. Červená pulpa je bohatá na erytrocyty, biela pulpa na lymfocyty

(obr. 3). Nemá žiadne priame prepojenie zo systémom lymfatických ciev. Z imunologického hľadiska je slezina dôležitá pre obranu pred patogénmi, ktoré sa nachádzajú v krvi. Všetky tieto zložky sa dostávajú do sleziny krvným riečiskom.



**Obr. 3 Slezina** (upravené podľa:

<https://sites.google.com/site/glasgowunimedicine/home/immunology/immune-signals?tmpl=%2Fsystem%2Fapp%2Ftemplates%2Fprint%2F&showPrintDialog=1>)

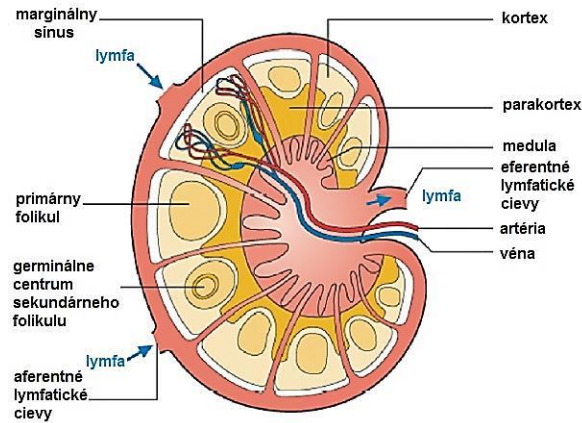
### Lymfatické uzliny

Lymfatické uzliny sú špecializované štruktúry oválneho až obličkovitého tvaru, ktorých veľkosť sa pohybuje od niekoľkých milimetrov do dvoch centimetrov na dĺžku. Lokalizované sú v blízkosti lymfatických ciev. Lymfatická uzlina je **miestom, kde dochádza ku kontaktu lymfocytov a antigén prezentujúcich buniek, ich aktivácii, proliferácii, diferenciácii a k spusteniu imunitných odpovedí**. Lymfatická uzlina predstavuje **filter lymfy**. Do každej uzliny vstupuje artéria a vystupuje vena, uzlina je dobre prekrvená. Do každej uzliny vstupuje tiež aferentná lymfatická cieva a vystupuje eferentná lymfatická cieva. Anatomicky sú lymfatické uzliny rozdelené na **kôru a dreň**. V kôre sa rozlišuje povrchová a hlboká časť.

- **V povrchovej časti kôry** sa nachádzajú predovšetkým **B-lymfocyty**. Táto oblasť sa nazýva aj týmus-nezávislá oblasť. Zhluky lymfocytov tu vytvárajú folikuly. V primárnych folikuloch sa nachádzajú nestimulované B bunky. Vo folikuloch sa počas imunitnej odpovede vytvárajú germinálne centrá (alebo sekundárne folikuly) s veľkými proliferujúcimi bunkami. V germinálnych centrách sa nachádzajú najmä plazmatické bunky a pamäťové B bunky.
- **V hlbokaj časti kôry** sa nachádzajú predovšetkým **T-lymfocyty**.

**Dreň** obsahuje T-lymfocyty, makrofágy a veľké množstvo plazmatických buniek. Bunky, ktoré sa dostanú do povrchovej časti kôry z lymfatických alebo krvných ciev, postupujú ďalej do hlbokaj časti kôry a do drene. Až potom opustia lymfatickú uzlinu (obr. 4).

## Kapitola: 3.2 Lymfatický cirkulačný systém



**Obr. 4 Lymfatická uzlina – prierez** (upravené podľa: Grays H. The Anatomical Basis of Clinical Practice, 40th ed. Spain: Elsevier; 2005. p. 75-6.)

### Slizničné lymfoidné tkanivá

Slizničné lymfoidné tkanivo je označované ako **MALT** (**M**ucosa-**A**ssociated **L**ymphoid **T**issue). MALT je tvorené zhlukmi lymfoidných folikulov (tonzily, adenoidné vegetácie, apendix, Peyerove plaky v tenkom čreve) a rozptýleným lymfoidným tkanivom. MALT teda predstavuje dobre organizované alebo rozptýlené lymfoidné tkanivo, ktoré chráni sliznice a lokalizované je práve na miestach najčastejšieho vstupu mikroorganizmov do tela. Nachádza sa v gastrointestinálnom, respiračnom aj urogenitálnom trakte. MALT obsahuje lymfoidné folikuly, ktoré sú podobné tým v slezine a lymfatických uzlinách.

## 3.2 Lymfatický cirkulačný systém

Lymfocyty neustále migrujú medzi krvou, lymfatickými cievami a lymfoidnými orgánmi. **Lymfatický cirkulačný systém** je rozsiahla kapilárna sieť, ktorá zbiera lymfu z rôznych orgánov a tkanív. Lymfatické kapiláry sa spájajú do lymfatických ciev, ktoré privádzajú lymfu do lymfatických uzlín. **Lymfa** je priehľadná vodnatá tekutina, ktorá obsahuje leukocyty a bunkové zvyšky. Predtým, ako sa vyleje do krvnej cirkulácie, je prefiltrovaná v lymfatických uzlinách a zbavená je bunkových zvyškov a mikroorganizmov. Lymfatické cievy v klkoch tenkého čreva obsahujú mliečnu tekutinu nazývanú **chylus**, ktorá je produkovaná počas trávenia.

Lymfocyty cirkulujú v krvi približne 30 minút. Okolo 45 % z nich vstupuje do sleziny, tu zotrvávajú asi 5 hodín a vracajú sa do krvného riečiska.

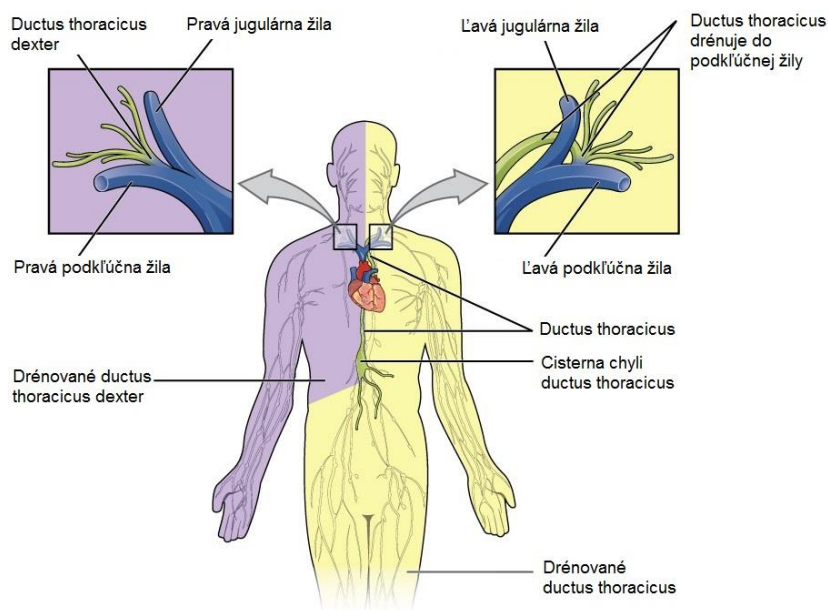
Lymfocyty majú jedinečnú schopnosť migrovať aj priamo z krvného riečiska do lymfatických uzlín prestupom cez špecializované krvné cievy, ktoré majú kubický endotel. Asi 40 % lymfocytov vstúpi takýmto spôsobom do lymfatických uzlín, v ktorých zotrváva 12 hodín. Následne opúšťajú uzliny prostredníctvom eferentných lymfatických ciev, sú transportované do ductus thoracicus, ktorý odvádza lymfu do krvného riečiska (obr. 5).

Približne 15 % lymfocytov vstupuje do lymfatických uzlín prostredníctvom aferentných lymfatických ciev. Zvyšných niekoľko percent lymfocytov vstupuje do



### Kapitola: 3.2 Lymfatický cirkulačný systém

slizničného lymfoidného tkaniva. Táto rozsiahla cirkulácia umožňuje lymfocytom migrovať z krvi do sleziny a lymfatických uzlín 1 až 2-krát za deň.



**Obr. 5 Lymfatický cirkulačný systém**

Ductus thoracicus drénuje oveľa väčšiu časť tela (žltá) ako ductus lymphaticus dexter (fialová) (upravené podľa: <https://courses.lumenlearning.com/ap2/chapter/anatomy-of-the-lymphatic-and-immune-systems/>)

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Aké sú dve hlavné funkcie lymfatických uzlín? Filtrovať a chrániť.

Aká je funkcia B buniek v imunitnej odpovedi? B bunky sa diferencujú na plazmatické bunky, ktoré produkujú protilátky. Protilátky sú proteíny, ktoré sa špecificky viažu na antigény, ktoré navodili ich tvorbu. B bunky zabezpečujú humorálnu (protilátkovú) imunitu.

Ktoré tri oblasti ľudského tela sú charakteristické veľkým nahromadením lymfatických uzlín? Inguinálna, axilárna a cervikálna oblasť tela.

Čo je lymfa? Lymfa je priesvitná žltkastá vodnatá tekutina, ktorá sa nachádza v tele. Obsahuje leukocyty, mikroorganizmy a bunkové zvyšky. Je filtrovaná v lymfatickom systéme.

Ako sa nazýva terminálny ductus, ktorý drénuje telo? Ductus thoracicus.

## ŠTVRTÁ KAPITOLA

# Hlavné zložky imunitného systému – bunky a molekuly imunitného systému

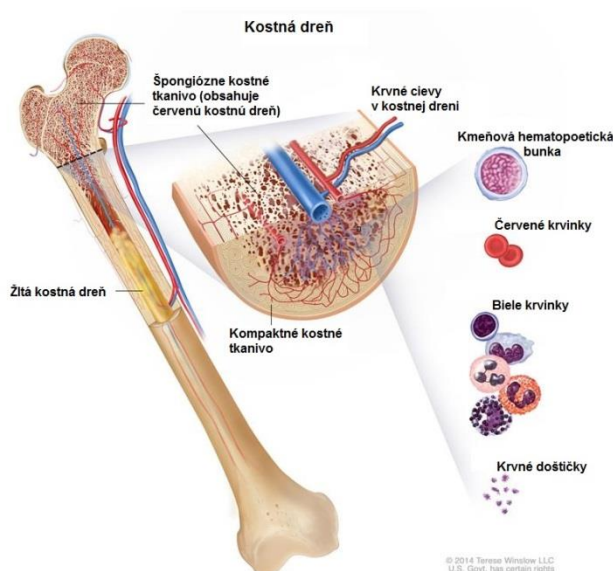
## Hlavné témy

---

- ❖ Hematopoéza
  - ❖ Kritériá delenia bielych krviniek
    - ✓ Bunky myeloidnej línie
    - ✓ Bunky lymfoidnej línie
    - ✓ Mononukleárne a polymorfonukleárne leukocyty
    - ✓ Granulárne a agranulárne leukocyty
  - ❖ Vlastnosti buniek imunitného systému
    - ✓ Neutrofily
    - ✓ Eozinofily
    - ✓ Bazofily
    - ✓ Mastocyty
    - ✓ Monocyty
    - ✓ Makrofágy
    - ✓ Dendritové bunky
    - ✓ Lymfocyty
      - T-lymfocyty
      - B-lymfocyty
      - Plazmatické bunky
    - ✓ NK bunky
    - ✓ NKT bunky
    - ✓ K bunky
  - ❖ CD znaky buniek imunitného systému
  - ❖ Molekuly imunitného systému
-

## 4.1 Hematopoéza

Bunky, ktoré zabezpečujú imunitné reakcie, sa označujú ako imunokompetentné bunky. Biele krvinky (leukocyty) tvoria podstatnú časť imunitného systému. Vznikajú z pluripotentnej hematopoetickej kmeňovej bunky v kostnej dreni. Kmeňové bunky sa nachádzajú v kostnej dreni počas celého života. Z kmeňových buniek sa diferencujú všetky krvné bunky: biele krvinky, červené krvinky a krvné doštičky. Biele krvinky vznikajúce z kmeňových buniek sú línie myeloidnej a lymfoidnej (obr. 6).



**Obr. 6 Hematopoéza v kostnej dreni** (upravené podľa:

<https://www.cancer.gov/images/cdr/live/CDR755927-750.jpg>)

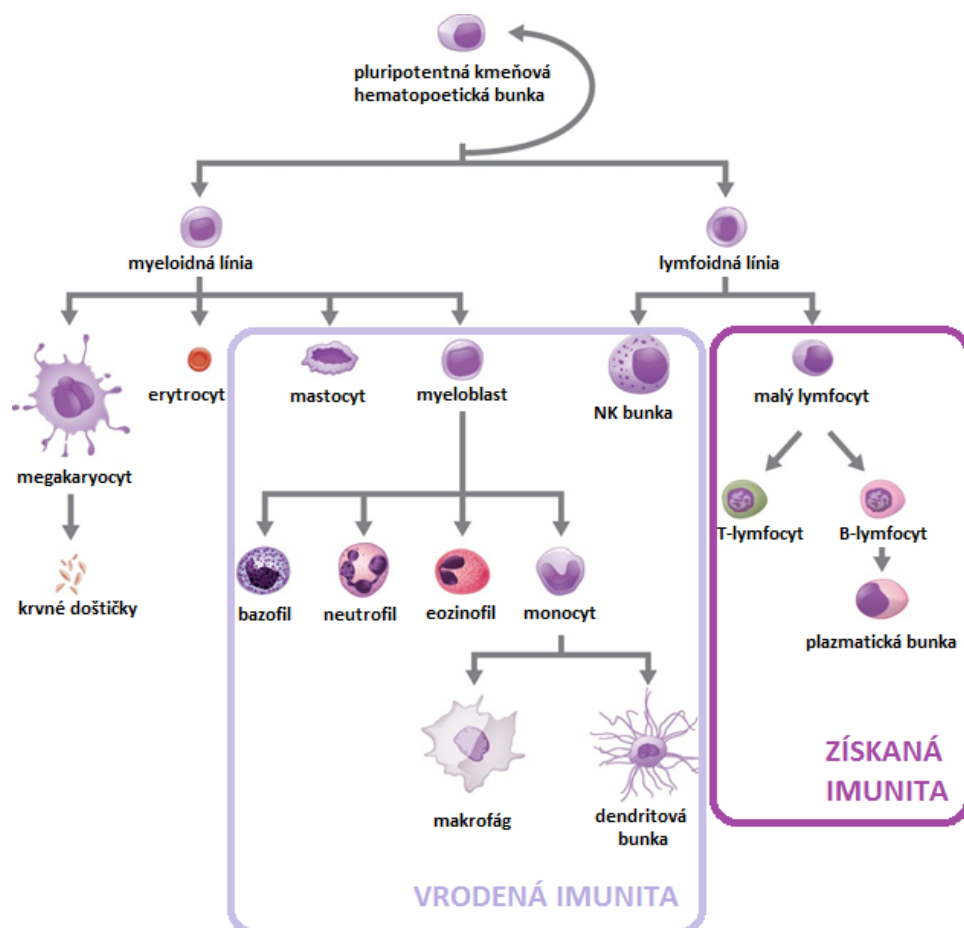
Z myeloidnej línie vznikajú monocyty, ktoré cirkulujú v krvi, ale v tkanivách sa diferencujú na makrofágy. Ďalšie biele krvinky, ktoré vznikajú z myeloidnej línie, sú granulocyty (polymorfonukleárne leukocyty): neutrofily, eozinofily a bazofily. Z myeloidnej línie sú tiež vytvorené červené krvinky (erytrocyty) a krvné doštičky (trombocyty). Hematopoéza je regulovaná cytokínmi (krvné rastové faktory, GM-CSF, M-CSF, G-CSF, erythropoetín, interleukíny IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9), niektorými hormónmi a nervovými vplyvmi. Pre správnu činnosť hematopoézy sú potrebné vitamíny a minerály. Percentuálne zastúpenie jednotlivých krvných leukocytov je znázornené v tabuľke 1. Bunky imunitného systému vzájomne spolupracujú prostredníctvom receptorov a cytokínov.

**Tab 1. Percentuálne zastúpenie krvných leukocytov u človeka** (vlastné spracovanie)

Granulocyty (PMNL)	Neutrofilné granulocyty		60 %
	Eozinofilné granulocyty		4 %
	Bazofilné granulocyty		< 0,2 %
Agranulocyty	Monocyty		8 %
	Lymfocyty	T-lymfocyty	25 %
		B-lymfocyty	
		NK bunky	

## 4.2 Kritéria delenia bielych krviniek

Podľa línie, z ktorej pochádzajú, sa delia na bunky myeloidnej a lymfoidnej línie (obr. 7). Na základe charakteristického tvaru jadra sa delia na polymorfonukleárne a mononukleárne leukocyty. V závislosti od prítomnosti a množstva granúl sa delia na granulocyty a agranulocyty.



**Obr.7 Prehľad buniek vznikajúcich pri hematopoéze** (upravené podľa: <https://courses.lumenlearning.com/microbiology/chapter/cellular-defenses/>)

### 4.2.1 Bunky myeloidnej línie

Bunky myeloidnej línie sú zapojené do mechanizmov vrodenej imunity. Väčšina z nich má schopnosť fagocytovať, produkovať cytokíny a iné rozpustné mediátory. Niektoré z nich (dendritové bunky, monocyty, makrofágy) sú antigén prezentujúce bunky (APC – **a**ntigen **p**resenting **c**ells) a prezentujú antigény T-lymfocytom. Monocyty a makrofágy plnia funkciu vychytávačov bunkových zvyškov, cudzorodých buniek a častíc, ktoré následne enzymaticky degradujú („upratujú“ v tele). Dendritové bunky aktívne fagocytojú (najmä v mieste vstupu mikroorganizmov) a môžu byť aj myeloidného aj lymfoidného pôvodu.

### 4.2.2 Bunky lymfoidnej línie

Bunky lymfoidnej línie sú zapojené zväčša do mechanizmov získanej imunity. Z lymfoidnej línie sa diferencujú T a B-lymfocyty a NK bunky. Vývoj B-lymfocytov prebieha v kostnej dreni a po stretnutí B-lymfocytu s antigénom v sekundárnych lymfatických orgánoch sa B-lymfocyty diferencujú na plazmatické bunky, ktoré produkujú protilátky. B-lymfocyty a plazmatické bunky ako jediné sú schopné produkovať imunoglobulíny.

Vývoj T-lymfocytov po opustení kostnej drene ďalej pokračuje v týmuse, kde získavajú dôležité membránové CD znaky. Zrelé T-lymfocyty opúšťajú týmus a usídľujú sa v sekundárnych lymfatických orgánoch. Významné sú povrchové molekuly CD4 a CD8, ktoré sú spolu s CD3 nevyhnutnou súčasťou T bunkového receptora pre antigén. Časť T a B-lymfocytov sa po stretnutí s antigénom diferencuje na pamäťové bunky, ktoré sú zodpovedné za imunologickú pamäť. Vďaka imunologickej pamäti sa pri opakovanom stretnutí s tým istým antigénom rozvinie imunitná odpoveď rýchlejšie a efektívnejšie (tzv. sekundárna imunitná odpoveď) ako pri prvom stretnutí sa s daným antigénom (tzv. primárnej imunitnej odpovedi).

NK bunky sa vyvíjajú tiež z lymfoidnej línie. Sú odlišné od T a B-lymfocytov. Sú to veľké nefagocytujúce granulárne bunky. Ničia abnormálne bunky hostiteľa (vírusmi infikované alebo nádorové bunky).

### 4.2.3 Mononukleárne a polymorfonukleárne leukocyty

Mononukleárne bunky majú v cytoplazme **jediné nelaločnaté jadro**. Medzi polymorfonukleárne leukocyty patria tie, ktoré majú **viac laločnaté jadro**.

**K mononukleárom patria:** z myeloidnej línie monocyty, makrofágy, mastocyty a dendritové bunky (tieto však môžu pochádzať aj z lymfoidnej línie). NK bunky, T a B-lymfocyty patria k mononukleárom pochádzajúcim z lymfoidnej línie. **K polymorfonukleárom patria:** neutrofily, eozinofily a bazofily – tieto pochádzajú z myeloidnej línie (obr. 7).

### 4.2.4 Granulárne a agranulárne leukocyty

Biele krvinky sa môžu deliť aj podľa prítomnosti granúl v cytoplazme. Biele krvinky, ktoré obsahujú v cytoplazme granuly, sa zaraďujú medzi **granulocyty** (granulárne leukocyty). Z myeloidnej línie sú to neutrofily, eozinofily, bazofily a mastocyty. Z lymfoidnej línie sú to NK bunky.

Biele krvinky, ktoré nemajú v cytoplazme granuly, sa označujú ako **agranulocyty**. Z myeloidnej línie sú to monocyty, makrofágy, dendritové bunky. Z lymfoidnej línie sem patria T a B-lymfocyty (obr. 7).

## 4.3 Vlastnosti buniek imunitného systému

### 4.3.1 Neutrofilny

Neutrofilné granulocyty (tiež označované ako mikrofágy) predstavujú viac ako polovicu všetkých leukocytov (60 % z leukocytov). Patria medzi polymorfonukleárne leukocyty. Majú viaclaločné jadro a v cytoplazme obsahujú granuly, ktoré sa nefarbia ani bázickými ani kyslými farbivami (obr. 8). Zdraví ľudia majú asi 5000 neutrofilov v každej kvapke krvi. Nezrelé neutrofilny (juvenilné formy) majú jadro v tvare tyčky, zrelé neutrofilny majú segmentované jadro. V cytoplazme sa nachádzajú dvojaké typy granúl, ktoré obsahujú antimikrobiálne pôsobiace látky:

- **Primárne azurofilné granuly** obsahujú hydrolázy, myeloperoxidázy.
- **Sekundárne granuly** obsahujú laktoferín, lyzozým, alkalickú fosfatázu, kolagenázu a iné.

Patria k najaktívnejším leukocytom s veľmi vyvinutou schopnosťou fagocytózy. Zaraďujú sa medzi **profesionálne fagocyty**. Sú to základné bunky **1. obrannej línie proti patogénom**, cudzorodým bunkám.

Sú to **veľmi výkonné bunky imunitného systému** („ťažné kone“), významné sú v obrane proti infekcii tým, že napádajú baktérie. Majú dôležitú úlohu v zápalovom procese, pretože sa rýchlo mobilizujú do miesta zápalu a sú to **prvé bunky prichádzajúce na miesto poškodenia**. V mieste zápalu sa na endoteliách ciev objavia molekuly, ku ktorým neutrofilny pevne adherujú a prestúpia diapedézou cez stenu cievy. Následne zamieria do miesta, odkiaľ prichádzajú chemotaktické signály. Látka uvoľnené z granúl neutrofilov majú silný baktericídny účinok a slúžia na likvidáciu pohltých častíc. **Fagocytujú, ale nie sú antigén prezentujúce bunky.**

Neutrofilny žijú iba krátko, necelý deň, nemajú mitochondrie. Ako zdroj energie využívajú cytoplazmatický glykogén, ten je zdrojom glukózy pri anaeróbnej glykolýze. Neutrofilny tak môžu účinkovať aj v mieste bakteriálnej infekcie – v poškodenom tkanive s nízkym obsahom kyslíka. Neutrofilny sú veľmi aktívne pri zabíjaní baktérií. Ich zvýšený počet v periférnej krvi je často ukazovateľom akútnej infekcie. Počas infekčných ochorení sa zvyšuje množstvo juvenilných foriem neutrofilov v cirkulácii.

### 4.3.2 Eozinofily

Eozinofilné granulocyty patria medzi polymorfonukleárne leukocyty, majú viaclaločné jadro a v cytoplazme granuly, ktoré sa farbja kyslými farbivami na červeno (obr. 8). Tvoria približne 4 % z leukocytov. Zdraví ľudia majú niekoľko sto eozinofilov v kvapke krvi. V cytoplazme majú eozinofily okolo 200 granúl, ktoré obsahujú špecializované proteíny: hlavný bázický proteín, eozinofilný kationický proteín, eozinofilnú peroxidázu a ďalšie, ktoré pôsobia toxicky na parazity (hlavne červy) a nádorové bunky.

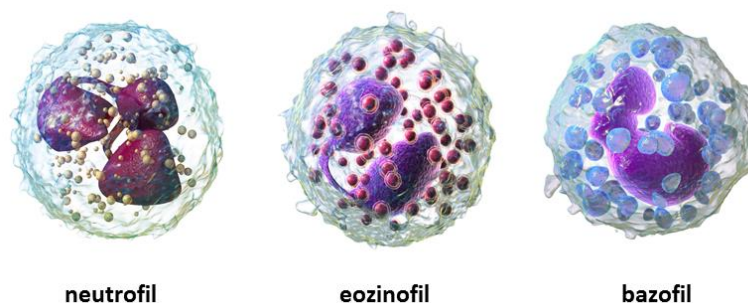
Eozinofily sú schopné **len slabo fagocytovať**. Avšak po aktivácii sa z granúl uvoľňujú aktívne metabolity, secernujú sa leukotriény, prostaglandíny a cytokíny, ktorými je

poškodzovaný povrch parazita. **Počet eozinofilov je pri parazitárnej infekcii zvýšený**, čo je jedným z laboratórnych diagnostických znakov. Na bunkovej membráne eozinofilov sa nachádzajú receptory pre imunoglobulíny IgE a pre zložky komplementu. Zohrávajú dôležitú úlohu pri **alergických reakciách**, aj pri **chronickom zápale**.

#### 4.3.3 Bazofily

Bazofilné granulocyty patria k polymorfonukleárnym leukocytom, majú dvojľaločnaté jadro a v cytoplazme granuly, ktoré sa farbia bázickými farbivami na tmavomodro (obr. 8). Bazofilov je menej ako 0,2 % z leukocytov. Cirkulujú v krvi a morfológicky sú podobné mastocytom. V cytoplazme bazofilov sú granuly, ktoré obsahujú veľké množstvo zápalových mediátorov: histamín, heparín a ďalšie. Neobsahujú peroxidázu.

Aktivované sú predovšetkým **pri alergickej reakcii** (zápal je bežnou súčasťou alergických reakcií). Histamín rozširuje cievy a podieľa sa na vzniku žihľavky, ktorá je často prítomná pri alergických reakciách. V bunkovej membráne sa nachádzajú receptory pre imunoglobulín IgE. Bazofily **nefagocytujú**.

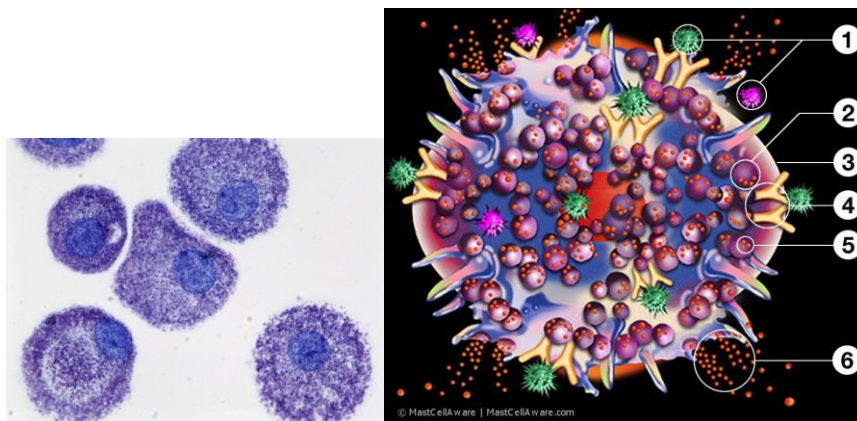


**Obr. 8 Neutrofil, eozinofil a bazofil** (upravené podľa: Blausen Medical. Blausen.com staff (2014). "Medical gallery of Blausen Medical 2014". WikiJournal of Medicine 1 (2). DOI:10.15347/wjm/2014.010. ISSN 2002-4436)

#### 4.3.4 Mastocyty

Mastocyty (žírne bunky) patria k mononukleárnym leukocytom, majú jediné nelaločnaté relatívne malé jadro a v cytoplazme veľké množstvo metachromaticky sa farbiacich granúl (obr. 9). Sú to tkanivové bunky. Vyskytujú sa v spojivovom tkanive, hlavne pri krvných, lymfatických cievach a pri periférnych nervoch. Sú lokalizované predovšetkým v blízkosti epitelových povrchov dýchacieho, tráviaceho systému a kože, ktoré sú vystavené pôsobeniu alergénov vonkajšieho prostredia. Morfológicky sa podobajú bazofilom, ktoré cirkulujú v krvi. Ich granuly obsahujú mnohé zápalové mediátory (heparín, histamín...). Neobsahujú peroxidázu.





**Obr. 9 Mastocyty** (<http://mastcellaware.com/mast-cells/mast-cells-illustrated.html>)

Vysvetlivky: 1 alergén; 2 zásobné granuly; 3 mastocyt; 4 IgE protilátky; 5 histamín; 6 degranulácia

Mastocyty sú **najdôležitejšie bunky pri alergických reakciách**. V ich bunkovej membráne sa nachádzajú receptory pre imunoglobulíny IgE (FcεRI). Pri prvom kontakte s alergénom dochádza k senzibilizácii jedinca, vytvoria sa špecifické protilátky triedy IgE, ktoré sa naviažu svojim Fc-fragmentom na mastocyty (alebo bazofily), ktoré majú pre protilátky IgE špecifické receptory (FcεRI). Po následnej expozícii jedinca tomu istému antigénu sa antigén spojí s nadviazanými protilátkami IgE, čo spôsobí degranuláciu mastocytov (alebo bazofilov) a **uvoľnenie mediátorov alergickej reakcie do extracelulárneho priestoru**. Tieto mediátory sú dvojakého druhu, primárne a sekundárne:

- ✓ Primárne mediátory sú tie, ktoré sú už vopred vytvorené a uskladnené v granulách: histamín, proteoglykány (heparín, chondroitínsulfát), proteázy a niektoré cytokíny.
- ✓ Sekundárne mediátory sú tie, ktoré sa syntetizujú *de novo*. Patria sem leukotriény, prostaglandíny, faktor aktivujúci trombocyty – PAF.

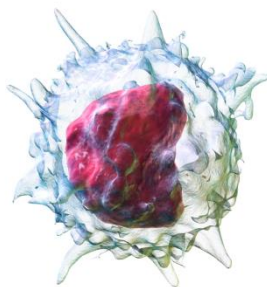
Výsledkom ich pôsobenia je kontrakcia hladkého svalstva, bronchov, značná vazodilatácia a prienik tekutiny do extravaskulárneho priestoru.

#### 4.3.5 Monocyty

Monocyty sú mononukleárne leukocyty, bez granúl v cytoplazme (agranulocyty). Predstavujú približne 6-8 % z leukocytov. Pre monocyty je typická silne vakuolizovaná cytoplazma, ktorá sa farbí slabo bazofilne sivo-modro. Majú okrúhly alebo nepravidelný tvar s veľkým excentricky uloženým jadrom, ktoré má zvyčajne nepravidelný obličkovitý tvar (obr. 10). Zdraví ľudia majú okolo 500 monocytov v kvapke krvi.

Pre fagocytózu sú vybavené početnými receptormi, pomocou ktorých rozoznávajú častice určené na pohltnutie a likvidáciu. Zrelé monocyty putujú z kostnej drene do krvi, po troch dňoch opúšťajú krvné riečisko diapedézou a premiestňujú sa do tkanív, kde sa premenia na **tkanivové makrofágy**, ktoré prežívajú niekoľko mesiacov (ak nie sú aktivované zápalovým procesom) a na **dendritové bunky**.





**Obr. 10 Monocyt** (Blausen Medical. Blausen.com staff (2014). "Medical gallery of Blausen Medical 2014". WikiJournal of Medicine 1 (2). DOI:10.15347/wjm/2014.010. ISSN 2002-4436)

#### 4.3.6 Makrofágy

Makrofágy sú mononukleárne bunky so silnou schopnosťou fagocytovať. V cytoplazme nemajú granuly (patria k agranulocytom). Sú to **profesionálne fagocyty** a zároveň **antigén prezentujúce bunky**. Prekurzorom makrofágov sú monocyty. Tkanivové makrofágy sú **významné v 1. obrannej línii proti patogénom**. Fixné makrofágy sú nepohyblivé a sú usadené v spojivách, v prípade potreby sa môžu meniť na voľné makrofágy, ktoré sú schopné amébovitého pohybu a fagocytózy (obr. 11).



**Obr.11 Makrofág fagocytuje baktériu**

(<http://www.welt.de/img/gesundheit/crop140859009/9200855667-ci3x2s-w220/Macrophage-feeding-bacteria-artwork.jpg>)

Nachádzajú sa v rôznych tkanivách a podľa miesta výskytu majú svoje pomenovanie. Väčšina makrofágov sa nachádza na strategických miestach, kde sa predpokladá invázia mikroorganizmov alebo je pravdepodobná akumulácia cudzorodých častíc. Prvýkrát popísal makrofágy Mečnikov v roku 1892 na základe ich schopnosti fagocytovať mikroorganizmy.

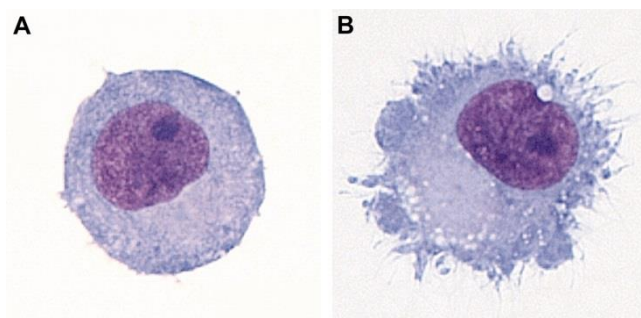
Makrofágy: v spojivovom tkanive sa označujú ako histiocyty,  
v pečeni sú Kupfferove bunky,  
v kostiach osteoklasty,  
v mozgu mikroglie,  
v pľúcach alveolárne makrofágy,  
v serózných dutinách peritoneálne a pleurálne makrofágy  
v podslizničnom tkanive sú súčasťou MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) a ďalšie.

Makrofágy žijú dlho, niekoľko mesiacov, pokiaľ ich neaktivuje zápalový proces alebo poškodenie tkaniva. Ich úlohou je okrem fagocytózy aj prezentácia antigénov T-lymfocytom, regulácia zápalu, deštrukcia mikroorganizmov, odstraňovanie odumretých buniek („upratovanie“ v tele), deštrukcia nádorových buniek a buniek infikovaných hubami a parazitmi, produkcia rôznych signálnych a antimikrobiálnych proteínov, podpora hojenia rán a obnova tkanív (v rane najskôr pohltia a usmrtia baktérie, potom produkujú enzýmy potrebné na rozklad poškodeného tkaniva a nakoniec syntetizujú rastové faktory potrebné na remodeláciu tkaniva).

### 4.3.7 Dendritové bunky

Dendritové bunky (DC) sú najdôležitejšie antigén prezentujúce bunky. Zohrávajú rozhodujúcu úlohu v iniciovaní získanej imunitnej odpovede. Môžu byť myeloidného aj lymfoidného pôvodu. Pôsobia ako poslovia medzi vrodenu a získanou imunitnou odpoveďou. Aktivované dendritové bunky predstavujú aktivačný signál pre naivné T-lymfocyty. Svoje pomenovanie dostali podľa charakteristického vzhľadu s početnými membránovými výbežkami (vetvami; dendrón je po grécky strom). Ich prekursorom sú monocyty.

**Lokalizované** sú predovšetkým v nelymfatických periférnych tkanivách na miestach kontaktu s vonkajším prostredím. Vyskytujú sa v tkanivách, najmä v koži (v pokožke sa označujú ako Langerhansove bunky), v sliznici dýchacieho systému a tráviaceho traktu (intersticiálne DC), v aferentných lymfatických cievkach (závojnaté DC), v cirkulácii v periférnej krvi (0,4 %), v sekundárnych lymfatických tkanivách (vmedzerené DC), v medule týmusu (týmusové DC). Nezrelé formy dendritových buniek sú tiež v krvi. DC sa môžu deliť na zrelé a nezrelé (obr. 12).



**Obr. 12 Dendritová bunka** (<http://www.bloodjournal.org/content/104/8/2235?sso-checked=true>)

Vysvetlivky: A Nezrelá dendritová bunka vznikajúca z monocytu; B Zrelá dendritová bunka

**Nezrelé dendritové bunky** nie sú schopné účinne aktivovať T-lymfocyty. Zachytávajú však veľké množstvá rozpustných a korpuskulárnych častíc fagocytózou a makropinocytózou. Vo fagolizozómoch je pohltý materiál spracovaný na peptidy. **Dendritové bunky slúžia ako vyhľadávače.** Svojimi výbežkami zasahujú medzi epitelové bunky a ak zachytia antigén, migrujú do regionálnych lymfatických uzlín. Popritom zároveň spracujú zachytený antigén a predstavia ho ako peptid viazaný na molekuly HLA II. triedy Th-lymfocytom. Táto väzba predstavuje prvý signál potrebný pre aktiváciu naivných Th-lymfocytov. Počas tohto procesu dendritové bunky dozrievajú.

Výsledkom je zvýšená expresia kostimulačných molekúl v dendritových bunkách, ktoré reagujú s partnerskými molekulami Th-lymfocytov. Tieto kostimulačné interakcie predstavujú druhý signál potrebný pre optimálnu aktiváciu naivných Th-lymfocytov do subpopulácií Th-lymfocytov, ktoré sú schopné uvoľňovať rôzne cytokíny a tým regulovať imunitnú odpoveď. Nie všetky antigény však vstupujú do bunky prostredníctvom fagocytózy. Niektoré sú naviazané na povrch cieľovej bunky a následne degradované pomocou proteazómov, potom sa prezentujú v spojení s HLA I. triedy cytotoxickým Tc-lymfocytom.

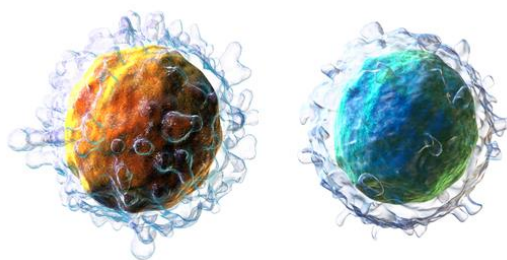
**Zrelé dendritové bunky** teda prezentujú antigén podľa toho, či ide o extracelulárny antigén (exogénna dráha prezentácie – antigén prezentujú DC na svojom povrchu v spojení s HLA molekulami II. triedy) alebo intracelulárny antigén (endogénna dráha prezentácie – antigény autológne, vírusové, nádorové sú prezentované dendritovými bunkami v spojení s HLA molekulami I. triedy).

Dendritové bunky sa delia tiež na myeloidné a plazmacytoidné. **Myeloidné dendritové bunky** (mDC – myeloid dendritic cell) sa nachádzajú v lymfoidných orgánoch, v miestach najpravdepodobnejšieho vstupu antigénov, v koži, respiračnom a gastrointestinálnom trakte. Ich najzákladnejšou biologickou úlohou je prezentácia antigénu a následná polarizácia imunitnej odpovede. **Plazmacytoidné dendritové bunky** (pDC – plasmacytoid dendritic cell) cirkulujú v krvi a boli nájdené aj periférnych lymfatických orgánoch. Produkujú veľké množstvo interferónov (najmä alfa), čo vedie k aktivácii buniek imunitného systému, a to k aktivácii NK buniek a makrofágov a vedie k zintenzívneniu fagocytózy. Je známe, že interferóny sú dôležité na vytvorenie antivírusovej imunitnej reakcie.

Ďalšou skupinou sú **folikulárne dendritové bunky**, ktoré sú takto pomenované podľa miesta svojho výskytu v lymfoidných folikuloch, kde vytvárajú mikroarchitektúru (sieť) a hoci majú tiež dlhé „dendritické“ výbežky, nie sú to dendritové bunky v pravom zmysle slova. Nemajú hematopoetický pôvod, neexprimujú HLA II. triedy, nefagocytujú a ani neprezentujú antigén. Zachytávajú antigény opsonizované komplementom alebo protilátkami. Na svojom povrchu výrazne koncentrujú antigény, ktoré potom môžu byť rozpoznávané B-lymfocytmi, a to hlavne tými, ktoré vznikli klonálnou expanziou B buniek stimulovaných primárnym kontaktom s takýmto antigénom. Podieľajú sa tiež na vytváraní budúcich pamäťových B buniek.

### 4.3.8 Lymfocyty

Lymfocyty tvoria 25-30 % všetkých leukocytov. Patria medzi mononukleárne bunky, ktorých cytoplazma neobsahuje granuly, sú agranulocyty (obr. 13). Pochádzajú z lymfoidnej línie. Zabezpečujú špecifické imunitné reakcie. Vyskytujú sa hlavne v lymfe a vo všetkých orgánoch lymfatickej sústavy. Základom pre klasifikáciu je prítomnosť membránových znakov (CD znakov, uvedené nižšie v texte) a expresia receptorov pre rozpoznávanie antigénov (TCR, BCR).

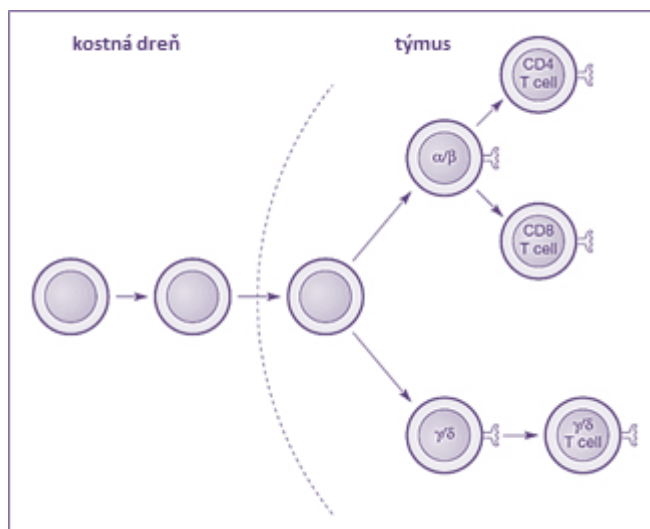


**Obr.13 T a B- lymfocyty** (upravené podľa: Blausen Medical. Blausen.com staff (2014). "Medical gallery of Blausen Medical 2014". WikiJournal of Medicine 1 (2). DOI:10.15347/wjm/2014.010. ISSN 2002-4436)

### *T-lymfocyty*

T-lymfocyty sa vyvíjajú z kmeňovej pluripotentnej hematopoetickej bunky v kostnej dreni a migrujú do týmusu, kde získavajú svoju konečnú morfológickú a funkčnú podobu.

Sú zodpovedné za bunkami sprostredkovanú špecifickú imunitu (celulárnu). Antigénové receptory T-lymfocytov rozpoznávajú peptidové fragmenty proteínových antigénov, ktoré sú viazané na molekuly HLA na povrchu antigén prezentujúcich buniek. Receptor T-lymfocytu rozpoznáva malú časť antigénu, ktorá je spojená s HLA na povrchu APC. Na základe expzie antigénového receptora (TCR) sa delia T-lymfocytyna dve základné populácie: s receptorom  $TCR\alpha\beta$  a s receptorom  $TCR\gamma\delta$  (obr. 14). T-lymfocyty s receptorom  $TCR\alpha\beta$  sú v prevahe (95 %) v porovnaní s T-lymfocytmi s receptorom  $TCR\gamma\delta$  (5 %). T-lymfocyty, ktoré majú receptor  $TCR\alpha\beta$  sa ďalej delia na pomocné (Th, helper), cytotoxické (Tc) a prirodzené regulačné (nTreg) lymfocyty. Všetky majú membránové znaky CD2 a CD3, navyše pre subpopuláciu pomocných Th-lymfocytov je typický znak CD4, pre subpopuláciu cytotoxických Tc-lymfocytov je to znak CD8 a regulačné nTreg-lymfocyty majú znak CD25.



**Obr. 14 Tvorba T-lymfocytov v týmuse** (upravené podľa: Wood P. Understanding immunology. 2nd edition. Harlow: Pearson Education Limited. 2006; pp. 315. ISBN: 978-0-13-196845-5)

- **Pomocné Th-lymfocyty** napomáhajú B-lymfocytom v produkcii protilátok a pomáhajú fagocytom pri zničení pohltených mikroorganizmov.
- **Cytotoxické Tc-lymfocyty** zabíjajú intracelulárne prežívajúce mikroorganizmy.
- **Prirodzené regulačné nTreg-lymfocyty** sú ďalšou skupinou T-lymfocytov, tlmia imunitnú odpoveď a podieľajú sa na udržiavaní tolerancie na vlastné antigény a na zabránení vzniku autoimunitných procesov. Riadia imunitné odpovede na vlastné antigény a na neškodné cudzie antigény. Produkujú cytokín IL-17. Údaje zo štúdií uskutočnených na zvieracích modeloch naznačujú, že v odlišnom mikroprostredí sekundárnych lymfoidných tkanív a orgánov sa môžu vyskytovať špecializované podskupiny Treg buniek s odlišným mechanizmom pôsobenia.

T-lymfocyty sa po aktivácii antigénom diferencujú na **efektorové bunky** a **pamäťové bunky**. Aby boli naivné T-lymfocyty aktivované antigénom, antigén im musí byť prezentovaný prostredníctvom aktivovanej APC, ktorá exprimuje aj kostimulačné molekuly. TCR receptorom je rozpoznaný antigén, ktorý je vo forme peptidového fragmentu naviazaný na HLA molekulu na povrchu APC. TCR vie rozpoznať antigén iba vo väzbe s molekulami HLA I. (endogénna dráha prezentácie antigénu) alebo HLA II. triedy (exogénna dráha prezentácie antigénu). Aktivácia T-lymfocytov sa potom môže uskutočniť, ak budú APC súčasne exprimovať aj kostimulačné molekuly potrebné ako druhý signál pre aktiváciu naivných T-lymfocytov.

**Efektorové T-lymfocyty** priamo napádajú a eliminujú bunky napadnuté vírusmi alebo tumorózne zmenené a riadia spoluprácu rôznych buniek imunity tým, že syntetizujú molekuly, ktoré napomáhajú iným bunkám zničiť patogéna.

**Pamäťové T-lymfocyty** prežívajú v organizme mnoho rokov a pri opakovanom stretnutí sa s antigénom zabezpečujú rýchlejšiu a intenzívnejšiu imunitnú odpoveď. Charakteristickou vlastnosťou T-lymfocytov je ich neustály pohyb. Opúšťajú týmus a krvou sa dostávajú do sekundárnych lymfoidných orgánov (slezina, lymfatické uzliny), odtiaľ vycestujú do tkanív, vracajú sa späť do lymfatických uzlín a nakoniec do krvného obehu. Tento cyklus trvá priemerne 24-48 hodín.

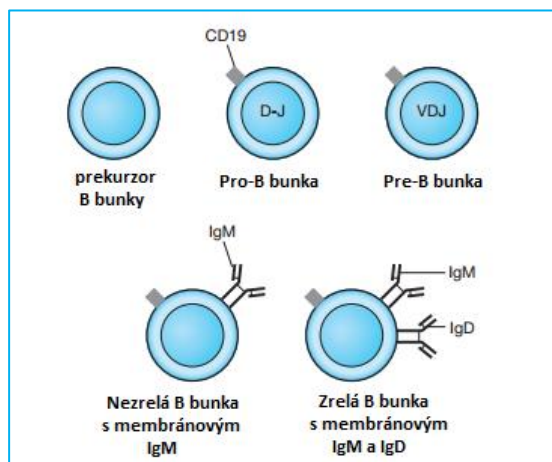
### **B-lymfocyty**

B-lymfocyty sa vyvíjajú v kostnej dreni, kde aj dozrievajú. Zrelé B-lymfocyty nesú na svojom povrchu molekuly imunoglobulínov (obr. 15), ktoré slúžia ako špecifický receptor pre antigén (BCR).

Sú **zodpovedné za humorálnu časť špecifickej imunity**. V prítomnosti antigénu (ak ide o týmus nezávislý antigén) alebo aj v spolupráci s T-lymfocytmi (ak ide o týmus závislý antigén) sa menia B-lymfocyty na **plazmocyty (plazmatické bunky)**, ktoré produkujú veľké množstvo špecifických protilátok (samotné B-lymfocyty nemajú schopnosť produkovať protilátky). Časť aktivovaných B-lymfocytov sa nemení na



plazmatické bunky, ale zostáva v relatívnom klude v organizme dlhú dobu ako **pamäťové B-lymfocyty**.



**Obr. 15 Vývoj B-lymfocytov** (upravené podľa: Wood P. Understanding immunology. 2nd edition. Harlow: Pearson Education Limited. 2006; pp. 315. ISBN: 978-0-13-196845-5)

### Plazmatické bunky

Plazmatické bunky majú excentricky uložené jadro, veľké množstvo cytoplazmy s početnými mitochondriami, s množstvom mohutného endoplazmatického retikula a Golgiho aparátom.

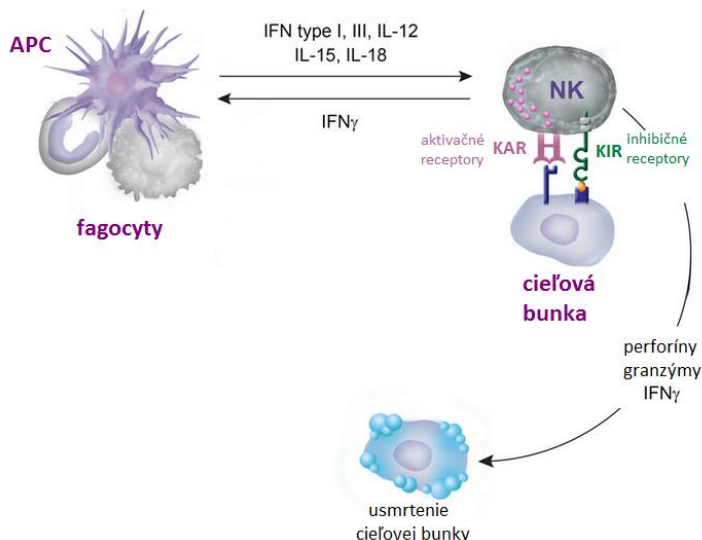
Plazmatické bunky sú vydifferentované efektorové bunky B-lymfocytovej línie prispôbené na účinnú produkciu protilátok. Ich **úlohou je produkovať protilátky rovnakej špecifickosti ako mal pôvodný B-lymfocyt, z ktorého sa vyvinuli**. Plazmatické bunky vykazujú vlastné antigény, ktoré sa nenachádzajú na jej B bunkových prekurzoroch, nemajú povrchové Ig receptory, majú na svojom povrchu membránový CD38 znak. Žijú len niekoľko dní. Protilátka, ktorá je produkovaná určitou plazmatickou bunkou (a jej špecifickým klonom) môže byť z ktorejkoľvek triedy (IgM, IgG, IgA, IgE, IgD), ale bude viazať len taký antigén, ktorý navodil jej tvorbu.

### 4.3.9 NK bunky

NK bunky označované aj ako prirodzené zabíjače, sú mononukleárne bunky, ktoré vo svojej cytoplazme obsahujú granuly. Pochádzajú z lymfoidnej línie. Charakterizované sú ako non B a non T-bunky, neexprimujú TCR ani BCR. Majú schopnosť nešpecificky rozpoznávať niektoré cudzorodé bunky a zabíjať ich.

NK bunky sú **komponentami vrodenej imunity (jej bunkovej zložky)**. Sú schopné rýchlo napadnúť infikované bunky bez predchádzajúcej senzibilizácie. NK bunky majú **význam v protinádorovej a protivírusovej imunite** a svojou produkciou početných cytokínov sa zapájajú aj do **regulácie imunitných procesov**. Sú hlavným efektorom cytotoxicity závislej na protilátkach (ADCC – **antibody-dependent cellular cytotoxicity**), obsahujú receptor pre protilátky (Fc). Uvoľnené cytokíny IL-2, IFN- $\gamma$  zvyšujú proliferáciu a cytotoxickú aktivitu NK buniek. Pod vplyvom produkcie interleukínu IL-2 sa diferencujú do agresívnejšej skupiny buniek, tzv. LAK buniek (lymphokine activated killer cells). IFN-

$\gamma$  aktivuje makrofágy k efektívnejšej fagocytóze pohltených mikroorganizmov. NK bunky a makrofágy sú jedným z príkladov, kedy dva bunkové typy účinne spolupracujú pri eliminácii intracelulárnych patogénov. Makrofágy pohltnú mikroorganizmy a produkujú IL-12, interleukín IL-12 aktivuje NK bunky k sekrécii IFN- $\gamma$ , ktorý následne aktivuje makrofágy, aby zničili pohltené mikroorganizmy (obr. 16).



**Obr. 16 NK bunky a ich efektorové funkcie** (upravené podľa:

<http://www.discoverymedicine.com/Fernando-Souza-Fonseca-Guimaraes/2016/03/nk-cell-based-immunotherapies-awakening-the-innate-anti-cancer-response/>)

Vysvetlivky: NK bunky a ich efektorové funkcie závisia na interakcii s myeloidnými bunkami: makrofágmi alebo dendritovými bunkami. IL-12 je uvoľňovaný z týchto buniek a stimuluje NK bunky, ktoré následne začnú produkovať IFN- $\gamma$ , čo vedie k pozitívnej spätnej väzbe, tzn. stimuluje makrofágy, aby zničili pohltené štruktúry. Interakcie medzi NK bunkami a cieľovými bunkami (vírusom infikovanými, nádorovými alebo stresovými) a rozhodnutie, či sa spustí proces bunkovej smrti zahŕňa vyváženosť medzi aktivačnými a inhibičnými receptormi a ich ligandami, ktoré sú exprimované na povrchu cieľových buniek.

NK bunky zohrávajú kľúčovú úlohu v rejekcii nádorov, imunitnom dohľade, odolnosti proti infekciám a regulácii imunitných reakcií. Zničenie nádorových a vírusom infikovaných buniek si vyžaduje najskôr ich rozpoznanie. NK bunky potom vyprázdnia obsah svojich cytoplazmatických granúl do extracelulárneho priestoru v mieste kontaktu s infikovanou bunkou. Uvoľnené proteíny ako perforín, granzým, serínová esteráza vnikajú do rakovinových alebo infikovaných buniek a napokon dôjde k ich zničeniu. NK bunka je potom znovu uvoľnená a znovu sa môže viazať na ďalšiu rakovinovú alebo infikovanú bunku, celý proces sa tak môže opakovať.

#### 4.3.10 NKT bunky

NKT bunky predstavujú menšiu samostatnú **subpopuláciu T-lymfocytov** (v krvi okolo 0,01-1 %). Dozrievajú v týmuse. Rozpoznávajú rôzne typy antigénov. Podieľajú sa na modulácii imunitnej odpovede, pretože po stimulácii vedú veľmi rýchlo produkovať množstvo cytokínov. Majú schopnosť lýzy buniek, podobne ako NK bunky sa uplatňujú predovšetkým v **protinádorovej a antimikrobiálnej imunite**.

### 4.3.11 K bunky

K bunky (**killer cells**) predstavujú skôr funkčný druh lymfocytov, ktoré **sú schopné zničiť bunku v spojení s protilátkou, ktorá je na ňu naviazaná**. K bunky sa zúčastňujú na ADCC reakcii – bunkami sprostredkovanej cytotoxicite závislej od protilátky. K bunky sú zložkami vrodenej imunity.

## 4.4 CD znaky buniek imunitného systému

Bunky imunitného systému sú charakterizované prítomnosťou membránových znakov (glykoproteínových antigénov). Tie sa objavujú v membráne buniek počas ich vývoja a označujú sa CD (**C**luster of **D**esignation).

**CD znak je jedinečná molekula alebo komplex molekúl, ktoré bunka exprimuje.** Tieto molekuly pomáhajú diferencovať typ alebo subtyp bunky, jej maturationálne štádium, stupeň aktivácie atď.

Názov pozostáva z písmen CD a číslíc (napr. CD1, CD2,...). Niektoré CD znaky sú špecifické len pre niektoré bunky, a preto je možné ich využiť na presnejšiu identifikáciu rôznych bunkových populácií. Prehľad niektorých najdôležitejších CD znakov a typov buniek je uvedený v tabuľke 2. Do roku 2017 bolo oficiálne známych 417 CD znakov, okrem toho pribúdajú ďalšie. Aktuálny prehľad oficiálne uznaných CD znakov je dostupný na internetovej adrese: <http://www.hcdm.org> v časti „Molecule Information“

**Tab 2. Prehľad niektorých CD znakov a typov buniek** (vlastné spracovanie)

CD2	Nezrelé T-lymfocyty
CD3	Všetky T-lymfocyty (súčasť TCR)
CD4	T helper lymfocyty
CD8	T cytotoxické lymfocyty
CD14	Monocyty a makrofágy
CD15	Neutrofily a eozinofily
CD16	NK bunky, neutrofily
CD19	B-lymfocyty
CD38	Plazmatické bunky
CD56	NK bunky
CD58	Endotelové bunky, bunky predkladajúce antigén T-lymfocytom
CD68	Dendritové bunky, makrofágy
CD80 a 86	Bunky predkladajúce antigén T-lymfocytom
CD203	Bazofily, mastocyty

## 4.5 Molekuly imunitného systému

Imunitné reakcie sú zabezpečované nielen mnohými bunkami, ale aj rôznymi molekulami a ich vzájomnými interakciami. Základnými molekulami imunitného systému sú receptory nachádzajúce sa na povrchoch buniek, molekuly MHC I. a II. triedy, rozličné adhezívne a kostimulačné molekuly, imunoglobulíny, cytokíny, jednotlivé zložky komplementu, receptory pre zložky mikroorganizmov. Tieto molekuly sa môžu nachádzať



na povrchu hostiteľských buniek alebo sa môžu vyskytovať v rozpustnej forme. Viac o molekulách imunitného systému bude popísané v jednotlivých kapitolách.

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Ktoré leukocyty sú vo zvýšenom množstve pri parazitárnych infekciách? Eozinofily sú vo vyššom počte, čo je jedným z laboratórnych diagnostických znakov.

Ktoré leukocyty patria k najaktívnejším fagocytom? Neutrofily sú veľmi výkonné bunky imunitného systému, prichádzajú ako prvé na miesto poškodenia, intenzívne fagocytujú, avšak nie sú antigén prezentujúce bunky.

V ktorom orgáne dochádza k ďalšiemu vývoju T-lymfocytov? V týmuse.

V ktorom orgáne dochádza k ďalšiemu vývoju B-lymfocytov? V kostnej dreni.

Ako by ste charakterizovali NK bunky? Sú to lymfocyty, obsahujú granuly, rozpoznávajú abnormálne bunky alebo vírusmi infikované bunky a viažu sa na ne. Z granúl uvoľnia perforíny a granzýmy, ktoré vedú k zničeniu abnormálnej bunky.

K akému typu buniek patria Kupfferove bunky v pečeni? Patria k makrofágom.

Čo je CD znak? CD znak je jedinečná molekula alebo komplex molekúl, ktoré bunka exprimuje. Tieto molekuly pomáhajú diferencovať typ alebo subtyp bunky, jej maturationálne štádium, stupeň aktivácie atď.

Aký je rozdiel medzi monocytmi a makrofágmi? Monocyty sú veľké mononukleárne leukocyty, ktoré cirkulujú v krvi. Môžu prenikáť z krvného riečiska do rôznych tkanív tela, kde sa diferencujú a stávajú sa tkanivovo-špecifickými makrofágmi alebo dendritovými bunkami.

## PIATA KAPITOLA

# Antigény a receptory. Odlíšenie vlastného od cudzieho.

## Hlavné témy

---

- ❖ Antigény
    - ✓ Rozdelenie antigénov
    - ✓ Epitop (antigénny determinant) – základná jednotka rozpoznávania
      - Imunogény
      - Haptény
      - Tolerogény
      - Imunogenicita
  - ❖ Receptory
    - ✓ Preformované receptory
      - PRR – vzor rozpoznávajúce receptory
      - TLR- toll like receptory
      - KAR –receptory aktivujúce zabíjače
      - KIR – receptory inhibujúce zabíjače
      - CR – receptory pre komplement
      - FcR – receptory pre Fc fragment imunoglobulínov
    - ✓ Somaticky generované receptory
      - BCR – receptory na B bunkách
      - TCR – receptory na T bunkách
  - ❖ Odlíšenie vlastného od cudzieho
    - ✓ Rozpoznanie vlastného
    - ✓ Rozpoznanie neprítomnosti vlastného
    - ✓ Rozpoznanie cudzieho
-

## 5.1 Antigény

**Antigény sú látky, ktoré imunitný systém rozpozná a reaguje na ne.** Antigény môžu byť organizmy, molekuly alebo časti molekúl, ktoré sú rozpoznateľné imunitným systémom. Môžu byť jednoduché alebo komplexné, proteíny, uhl'ovodíky, syntetické látky.

Najmenšia identifikovateľná časť antigénu, ktorá je rozpoznateľná receptormi, sa nazýva **epitop** alebo tiež **antigénny determinant**. Je to tá časť antigénu, proti ktorému je namierená imunitná odpoveď.

Imunitný systém je stimulovaný k imunitnej odpovedi interakciou medzi receptorom a ligandom. **Receptor** sa môže nachádzať **na povrchu buniek** (povrchové receptory) alebo môže byť prítomný vo forme **rozpustných molekúl** (napr. produkty leukocytov). **Ligandy** sa nachádzajú **na povrchu buniek** (povrchové molekuly mikroorganizmov) alebo sú to **rozpustné molekuly** (produkty buniek). Pre spoluprácu je dôležitý tvar a náboj receptora a ligandu, pretože to ovplyvňuje účinnosť a silu väzby – **väzbovú afinitu**. Väzbová afinita predstavuje silu interakcie jedného väzbového miesta s jedným antigénom. Kolektívna afinita sa označuje ako **avidita** a je daná jednak silou jedného väzbového miesta a zároveň počtom súčasne sa uplatňujúcich väzbových miest, to znamená, že je daná silou viacerých väzieb. Okolnosti, za akých dostane bunka signál, môžu ovplyvniť, ako bude bunka odpovedať. Bunka musí zvyčajne zosúladiť informácie z viacerých aktivovaných receptorov. Niektoré môžu predstavovať pozitívne signály, iné zas negatívne signály. Takže bunka musí najskôr zosúladiť signály a potom rozhodne, ktorá aktivita sa uskutoční.

Zoskupenia ligandov, ktoré môžu byť rozpoznávané bunkami imunitného systému, sa označuje názvom antigény. Antigénmi môžu byť akékoľvek chemické štruktúry, ale také, aby ich rozpoznal imunitný systém ako makromolekuly (či už rozpustné alebo viazané na povrchu buniek). Najvýznamnejšie sú antigény proteínové, potom polysacharidové, ďalej lipidové a lipoproteínové.

### 5.1.1 Rozdelenie antigénov

Antigény je možné rozdeliť na základe viacerých kritérií.

Antigény sa delia podľa pôvodu na:

- **prirodzené** (nachádzajú sa v prírode, sú aj súčasťou rôznych mikroorganizmov),
- **syntetické** (pripravené umelo, preto je známa ich štruktúra).

Podľa vzťahu antigénu k organizmu jedinca sú:

- **exogénne** – pochádzajúce z vonkajšieho prostredia,
- **endogénne** – (autoantigény, autológne antigény) sú súčasťou vlastných buniek a tkanív (napr. jadrové, cytoplazmatické antigény).

Podľa rozpustnosti sa rozlišujú antigény na korpuskulárne (nerozpustné) a koloidné (rozpustné).

- ✓ Medzi **korpuskulárne antigény** patria napr. baktérie, vírusy, kvasinky, latexové častice, erytrocyty a pod.

- ✓ Medzi **koloidné antigény** patria bakteriálne toxíny, enzýmy, extrakty mikroorganizmov a pod.

Pri prenose tkanív alebo orgánov (transplantáciách) je dôležité rozdelenie antigénov na základe vzájomného vzťahu organizmov, medzi ktorými nastáva prenos antigénov. Tu sa rozdeľujú antigény na:

- **Syngénne** – pochádzajú od darcu geneticky identického s príjemcom (napr. identické dvojčatá).
- **Alogénne** – pochádzajú od darcu geneticky neidentického, ale z toho istého živočíšneho druhu (napr. medzi dvoma rôznymi ľuďmi).
- **Xenogénne** – pochádzajú od jedinca iného živočíšneho druhu (zvíra → človek).
- **Autológne** – pochádzajú z vlastného organizmu toho istého jedinca (prenos tkaniva alebo buniek v rámci jedinca z jedného miesta na druhé).

V závislosti od mechanizmu navodenia imunitnej odpovede existuje niekoľko druhov antigénov:

- **T-nezávislé antigény** – tiež **independentné**; tieto antigény dokážu stimulovať B-lymfocyty priamo k produkcii protilátok, bez pomoci T-lymfocytov (napr. polysacharidy a lipopolysacharidy).
- **T-závislé antigény** – tiež **dependentné**; tieto antigény stimulujú B-lymfocyty k produkcii protilátok len s pomocou T-lymfocytov po predchádzajúcom spracovaní v antigén prezentujúcich bunkách (APC).
- **Superantigény** – sú cudzorodé látky zvyčajne z vonkajšieho prostredia (exoantigény), ale môžu byť aj endogénneho pôvodu. Sú schopné navodiť aktiváciu veľkého množstva lymfocytov nezávisle na ich antigénnej špecificite. Nešpecificky stimulujú množstvo klonov T alebo B-lymfocytov. Nevyžaduje si spracovanie v APC (napr. stafylokokový enterotoxín, toxín syndrómu toxického šoku, streptokokový pyrogénny exotoxín, stafylokokové exfoliatívne toxíny). Následkom pôsobenia superantigénov je masívna produkcia cytokínov, vaskulárne presakovanie a systémová toxicita, vyúsťuje do šoku a smrti následkom multiorgánového zlyhania.
- **Alergény** – sú cudzorodé látky z vonkajšieho prostredia – exoantigény schopné vyvolať u citlivého človeka patologickú imunitnú reakciu. Alergény stimulujú predovšetkým tvorbu protilátok IgE, a tým rozvoj alergických reakcií. Častými alergénmi bývajú proteíny alebo glykoproteíny (napr. peľové zrnká niektorých rastlín, bielkovinové alergény na koži a srsti zvierat, alergény hmyzu, niektorých roztočov, potravinové alergény...)

### 5.1.2 Epitop (antigénny determinant) – základná jednotka rozpoznávania

Najmenšie časti antigénu, ktoré sú rozpoznateľné receptormi na T a B-lymfocytoch a sú schopné väzby s receptormi, sa nazývajú **antigénne determinanty alebo epitopy**. Niektoré receptory (napr. BCR) dokážu rozpoznať epitopy, ktorými môžu byť časti

voľných rozpustných molekúl, povrchových molekúl alebo degradované proteolytické fragmenty antigénov. Iné receptory (napr. TCR) dokážu rozpoznať len epitopy, ktoré sú naviazané na malé fragmenty pripojené na špecializované hostiteľské bunkové povrchové molekuly, ktoré ich takto prezentujú T bunkám. Podľa charakteristickej imunitnej odpovede, ktorú vyvolávajú, sa delia na tri typy, a to imunogény, haptény a tolerogény.

### Imunogény

**Imunogény obsahujú epitopy, ktoré indukujú imunitnú odpoveď.** Tento jav sa označuje ako imunogenicita. Antigény, ktoré vyvolávajú imunitnú odpoveď, sa nazývajú imunogény. Sú to kompletné funkčné antigény. Vyznačujú sa základnými vlastnosťami: **imunogénnosť** (schopnosť navodiť imunitnú odpoveď) a **antigénnosť** (špecifickosť). Nie všetky antigény sú imunogénne. Dobrými imunogénmi bývajú molekuly bielkovín (v drvivej väčšine sú to čisté proteíny alebo glykoproteíny a lipoproteíny), menej polysacharidy. Lipidy a nukleové kyseliny sú veľmi slabé imunogény, zvyčajne až po väzbe na proteíny.

### Haptény

Veľmi malé antigény, tzv. **haptény** nedokážu samé osebe vyvolať imunitnú odpoveď. Sú to nekompletné antigény. Ich základné vlastnosti sú: neimunogénnosť a antigénnosť. Až po väzbe na inú, väčšiu imunogénnu molekulu – na tzv. **nosič**, sa stávajú imunogénnymi a získajú schopnosť indukovať imunitnú odpoveď. V takomto prípade je nosič zodpovedný za imunogénnosť a haptén za antigénnosť (špecifickosť) imunitnej reakcie. Hoci sú samotné haptény neimunogénne, s protilátkami však dokážu reagovať.

### Tolerogény

Antigény, ktoré nevyvolávajú imunitnú odpoveď, ale toleranciu, sa nazývajú tolerogény. Počas vývoja imunitného repertoáru (teda súboru všetkých epitopov, na ktoré boli vygenerované imunitné receptory) sa ako prvá vyvinie tolerancia na vlastné bunky a molekuly (tzv. vrodená tolerancia). V priebehu života sa tiež vytvára tolerancia na niektoré antigény (napr. perorálne podané). Táto špecifická neodpovedavosť (nereaktivita) imunitného systému na tolerogén je v dôsledku jeho chemickej štruktúry (vďaka ktorej ho imunitný systém toleruje). Ak by sa zmenila chemická štruktúra tolerogénu, už by sa mohol premeniť na imunogén, ktorý vyvolá imunitnú odpoveď. Závisí tiež od dávky a spôsobu podania antigénu, prídavných pomocných látok, ale aj genetických faktorov a veku, raz môže byť tolerogénom, inokedy imunogénom. Tolerogény stimulujú špecifickú neodpovedavosť imunitného systému. V stave zdravia je takáto nereaktivita imunitného systému na vlastné antigény fyziologická.

### Imunogenicita

**Je to schopnosť vyvolať imunitnú odpoveď. Je niekoľko faktorov, ktoré ovplyvňujú imunogenicitu (imunogénnosť):**

- **veľkosť** – nedá sa jednoznačne povedať veľkosť, od ktorej začne byť látka imunogénna, ale vo všeobecnosti platí, že čím je molekula väčšia, tým je

viac pravdepodobné, že bude imunogénnejšia. Napríklad, zvyčajne sú imunogénnejšie proteíny veľkosti viac ako 10 kDa.

- **chemické zloženie** – všeobecne platí, že čím je látka zložitejšia, tým je imunogénnejšia. Napr. proteíny sú veľmi dobrými imunogénmi. Čisté polysacharidy a lipopolysacharidy sú tiež imunogénne, steroidy a lipidy a nukleové kyseliny sú slabšie imunogény, zvyčajne až po väzbe na proteíny. Samostatné aminokyseliny a haptény sú neimunogénne.
- **konformácia** – antigénne determinanty (epitopy) musia byť rozpoznateľné a dostupné imunitnému systému.
- **komplexnosť** – komplexné proteíny, ktoré majú dostatok rôznych epitopov vyvolávajú s väčšou pravdepodobnosťou imunitnú reakciu ako jednoduché proteíny, ktoré majú málo epitopov alebo len jeden epitop.
- **fyzikálna forma** – všeobecne korpuskulárne antigény sú imunogénnejšie ako antigény rozpustné. Denaturované antigény sú imunogénnejšie ako antigény v natívnej forme.
- **degradovateľnosť** – antigény, ktoré sú ľahko sfagocytovateľné sú zvyčajne imunogénnejšie. Je to preto, lebo pre väčšinu antigénov si vývoj imunitnej odpovede vyžaduje, aby bol antigén sfagocytovaný, spracovaný a prezentovaný Th-lymfocytom (pomocným T-lymfocytom) prostredníctvom antigén prezentujúcich buniek (APC).
- **cudzorodosť** – imunitný systém dokáže odlíšiť cudzie (*nonself*) od vlastného (*self*).

Imunogenicitu však ovplyvňujú aj **biologické faktory**, akými sú vek, hormóny a genetické faktory jedinca, ale aj **spôsob podania imunogénu**. Na imunogenicitu môže mať vplyv dávka imunogénu, tiež cesta podania, ako aj prítomnosť pomocných látok, ktoré môžu zvýšiť imunitnú odpoveď na imunogén.

## 5.2 Receptory

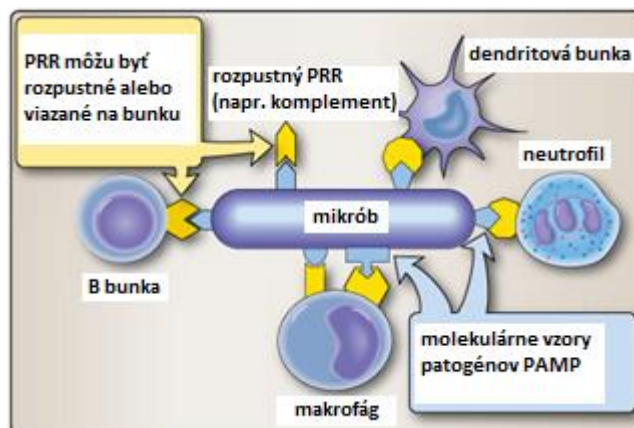
Imunitný systém je stimulovaný k imunitnej odpovedi interakciou medzi receptorom a ligandom. V závislosti od ligandu a receptora, podľa typu molekuly alebo bunky, s ktorou sa receptor spojí, dôjde k rôznym aktivitám. Niektoré receptory viažu molekuly a vytvoria signály pre bunku. Bunka potom vytvára signály, ktoré využíva na komunikáciu s ďalšími bunkami. Iné receptory zase sledujú okolie a zachytávajú súčasti z prostredia, aby odhalili prítomnosť votrelcov. Ďalšie receptory sledujú svoje blízke okolie (svojich susedov), aby monitorovali, či patria k vlastným (*self*) a či nie sú nebezpečné.

### 5.2.1 Preformované receptory

Preformované (hotové) receptory sú súčasťou systému vrodenej imunity. Umožňujú rýchlu reakciu, preto poskytujú ochranu na čas, kým sa pripravia mechanizmy špecifickej imunity. Medzi preformované receptory patria:

### PRR – vzor rozpoznávajúce receptory

PRR (**P**attern **R**ecognition **R**eceptors) sú vzor rozpoznávajúce receptory. Sú to receptory vrodenej imunity. Nachádzajú sa na povrchoch hostiteľských buniek alebo v rozpustnej forme (napr. proteíny komplementu, čo bude diskutované neskôr). PRR rozpoznávajú široké spektrum vzorov, ktoré sa vyskytujú na mikroorganizmoch (a nie na vlastných bunkách). PRR rozpoznávajú tzv. PAMP (**P**athogen **A**ssociated **M**olecular **P**atterns) – teda molekulárne vzory patogénov. Ide o rôzne kombinácie cukrov, proteínov, lipidov a nukleových kyselín, ktoré súvisia s mikroorganizmami. Táto väzba medzi PRR a PAMP následne spúšťa rôzne formy zápalu s cieľom zničiť patogéna (obr. 17).



**Obr. 17 Rôzne typy PRR receptorov a väzba s PAMP patogéna** (upravené podľa: Doan et al. Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology. 2013)

### TLR – Toll-Like Receptors

TLR sú preformované receptory u ľudí. Sú to tiež vzor rozpoznávajúce receptory (patrí teda k PRR). Nachádzajú sa na hostiteľských bunkách. Po väzbe s PAMP mikroorganizmov spúšťajú imunitné odpovede, ako aktivácia makrofágov, sekrécia zápalových cytokínov, ktoré majú pritiahnúť bunky imunitného systému do miesta infekcie a podporiť zápal.

### KAR – receptory aktivujúce zabíjače

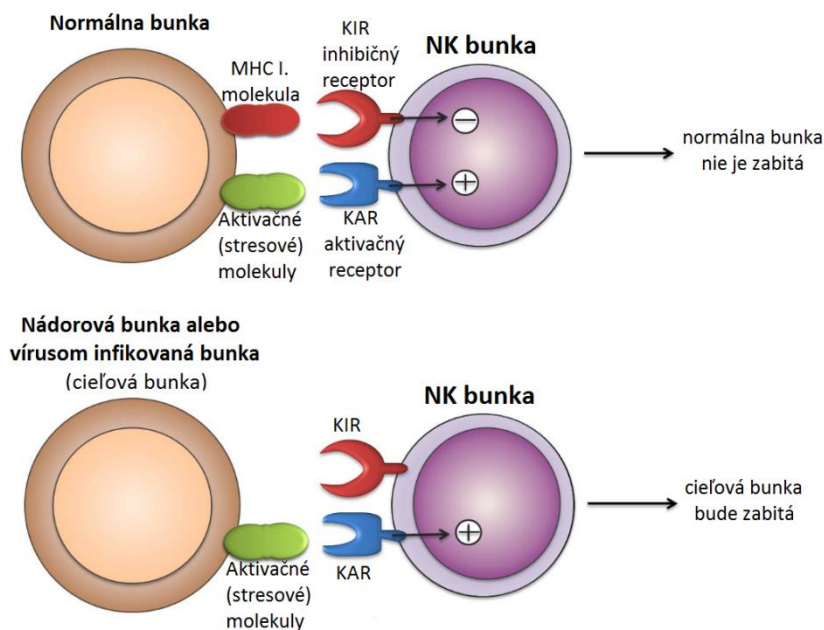
KARs (**K**iller **A**ctivation **R**eceptors) sú receptory, ktoré sa nachádzajú na NK bunkách a sú schopné zaznamenať zmeny na hostiteľských bunkách, ktoré boli infikované predovšetkým vírusmi alebo sú zmenené karcinogénnym procesom. KARs dokážu rozpoznať na hostiteľských bunkách človeka prítomnosť stresových molekúl (tzv. MICA a MICB molekúl). Takéto stresové molekuly sa vyskytujú na hostiteľských bunkách, ktoré nie sú zdravé. Väzbou receptorov KAR so stresovými molekulami dôjde k prichyteniu NK buniek na cieľovú hostiteľskú bunku (napr. vírusom infikovanú alebo rakovinou zmenenú) a k jej následnému zničeniu (obr. 18).

### KIR – receptory inhibujúce zabíjače

KIRs (**K**iller **I**nhibition **R**eceptors) sú receptory, ktoré sa nachádzajú na NK bunkách. Tieto receptory monitorujú MHC molekuly I. triedy, ktoré sa prirodzene



nachádzajú na povrchoch všetkých jadrových buniek ľudského organizmu. Týmto spôsobom sledujú NK bunky, či sú hostiteľské bunky normálne. V prípade, že sú hostiteľské bunky infikované vírusom alebo nádorovo zmenené, znižuje sa na ich povrchu počet molekúl MHC I. triedy. Ak sa naviaže cieľová hostiteľská bunka prostredníctvom KAR, vtedy NK bunka použije svoje KIR na ohodnotenie počtu molekúl MHC I. triedy na tejto cieľovej bunke. Ak zistí, že počet molekúl MHC I. triedy je pod normou, tak NK bunka pokračuje v procese zabíjania cieľovej bunky. Ak však zistí, že úroveň expzie je normálna, tzn. počet molekúl MHC I. triedy je v norme, vtedy je proces ukončený a bunka nie je zabíjaná, ale je uvoľnená bez poškodenia (obr. 18).



**Obr. 18 Mechanizmus, akým NK bunky rozpoznávajú cieľové bunky (vlastné normálne a nádorové alebo vírusmi napadnuté) (upravené podľa:**

<http://www.stream.wum.edu.pl/en/knowledge-base/96-nk-cells-applications-in-immuno-oncology>)

### CR – receptory pre komplement

Komplement je komplex približne 30 sérových glykoproteínov, ktoré vytvárajú jeden zo základných efektorových systémov vrodenej nešpecifickej imunity. Jeho jednotlivé zložky sa kaskádovo aktivujú a konečným výsledkom aktivácie je lýza cieľovej bunky (zničenie patogéna). Súčasti komplementu sa viažu na mikroorganizmy. Receptory pre komplement, ktoré sa nachádzajú na povrchu fagocytujúcich buniek a B buniek, rozpoznávajú tieto fragmenty komplementu naviazané na mikróby a uľahčujú likvidáciu označeného mikróba.

### FcR – receptory pre Fc fragment imunoglobulínov

Receptory FcR sa nachádzajú na povrchoch fagocytujúcich buniek. Imunoglobulíny IgA, IgM a IgG dokážu viazať svojím Fab fragmentom epitopy, čo vedie ku konformačnej zmene v Fc fragmente imunoglobulínu. Receptory FcR na fagocytujúcich bunkách rozpoznávajú túto konformačnú zmenu a naviažu sa na Fc fragment imunoglobulínu (ktorý už má na Fab fragmente naviazaný epitop). Výsledkom je fagocytóza. V prípade, že



imunoglobulín nemá naviazaný epitop, neviaže sa ani na FcR a zostáva v cirkulácii. Výnimkou sú FcR, ktoré viažu imunoglobulíny IgE, pretože ich viažu aj keď sa ešte nestretli so svojimi epitopmi (IgE sa môže naviazať svojim Fc fragmentom na mastocyty).

### 5.2.2 Somaticky generované receptory

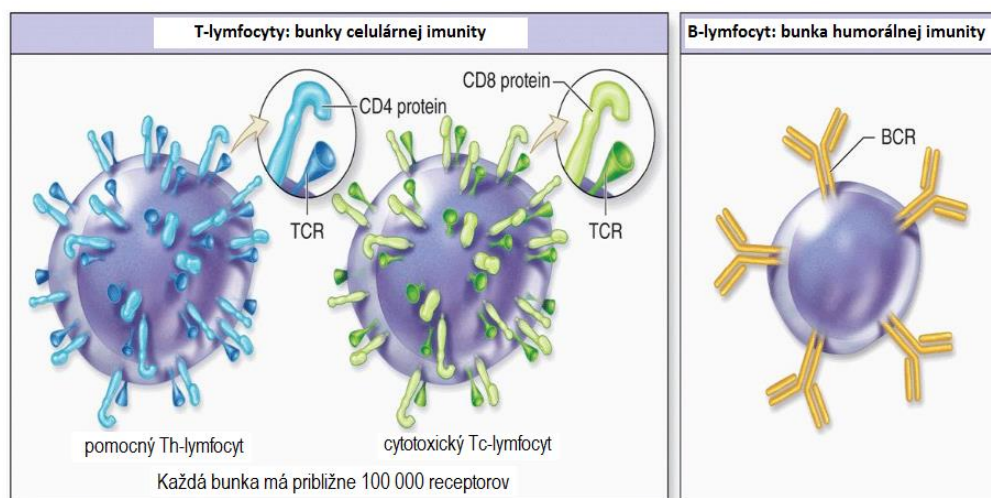
Zatiaľ čo preformované receptory sú dôležité v mechanizmoch vrodenej imunity, somaticky generované receptory používa získaná imunita. Generované receptory sa vytvárajú *de novo*, a to u každého jedinca náhodnými chromozomálnymi preskupeniami a mutáciami. U každého jedinca teda vzniká obrovské množstvo receptorov so špecifickými molekulárnymi detailami. Vzniká obrovské množstvo špecifít, s ktorými sa môže jednotlivec stretnúť, tzn. že u každého jednotlivca je individuálna variabilita čo sa týka generovaných receptorov.

#### BCR – receptory na B bunkách

BCR (**B** Cell Receptor) sú receptory na B bunkách (obr. 19). Sú tvorené z monoméru imunoglobulínu, ktorý je spojený disulfidickými mostíkmi s transmembránovými heterodimérmi nazývanými Ig $\alpha$  a Ig $\beta$ . Po naviazaní epitopu na BCR spúšťa cytoplazmatická časť Ig $\alpha$  a Ig $\beta$  vnútrobunkový kaskádový prenos signálu a aktivuje sa B bunka. Následne sa niektoré aktivované B bunky diferencujú na plazmatické bunky, ktoré syntetizujú a secerujú imunoglobulíny rovnakej špecificity ako má ich BCR. Monoméry imunoglobulínov teda slúžia ako epitop-špecifické receptory B buniek (BCR).

#### TCR – receptory na T bunkách

TCR (**T** Cell Receptor) sú receptory na T bunkách (obr. 19). Štrukturálne sú podobné ako molekuly imunoglobulínov. Sú to heterodiméry, ktoré sa skladajú z  $\alpha/\beta$  a  $\gamma/\delta$  párov reťazcov. TCR receptory sú vždy viazané na membránu a kombinujú sa vždy s CD3. TCR rozpoznávajú epitopy v kombinácii s MHC molekulami v spolupráci s koreceptormi CD4 alebo CD8, ktoré fungujú ako kofaktory.



**Obr. 19 Špecifické receptory na T a B-lymfocytoch** (upravené podľa: <https://basicmedicalkey.com/the-immune-system-lymphoid-organs/>)

## 5.3 Odlíšenie vlastného od cudzieho

Základnou funkciou imunitného systému je získavanie informácií z vonkajšieho a vnútorného prostredia, ich spracovanie, rozpoznanie cudzieho a vlastného a nakoniec vytvorenie primeranej imunitnej odpovede. Organizmus človeka je neustále vystavený rozličným škodlivinám, predovšetkým mnohým infekčným alebo toxickým agensom pochádzajúcim z vonkajšieho prostredia, ale aj hrozbám pochádzajúcim z vnútorného prostredia (napr. staré, poškodené alebo nádorovo zmenené bunky). Imunitný systém človeka musí byť schopný odlíšiť cudzie (*non self*) molekuly (ktoré sú škodlivé) od vlastných (*self*) molekúl (ktoré sú neškodné). Na rozpoznanie škodlivých molekúl používa systém vrodenej a získanej imunity receptory, ktoré sa môžu nachádzať buď na povrchu buniek, alebo môžu byť prítomné vo forme rozpustných molekúl.

Dôležitou vlastnosťou imunitného systému je **imunologická pamäť** – schopnosť pamätať si kontakt s určitým antigénom z minulosti (rôzne dlhú dobu, niekedy aj celý život). Za normálnych okolností imunitný systém toleruje a nereaguje na vlastné zdravé bunky a tkanivá. Rozpoznáva však cudzie bunky, poškodené vlastné bunky, vlastné bunky infikované mikroorganizmami aj nádorovo zmenené bunky. Navodí primeranú imunitnú odpoveď s cieľom zničiť, čo je v organizme cudzie alebo poškodené a zabrániť, aby sa cudzia štruktúra šírila ďalej. Imunitný systém pritom veľmi úzko spolupracuje s nervovým a endokrinným systémom a tvorí jednotný informačný neuro-endokrinno-imunitný systém.

### Rozpoznanie vlastného

Schopnosť rozpoznať, čo je vlastné, umožňuje bunkám človeka zistiť, či ostatné bunky, s ktorými prichádzajú do kontaktu, sú vlastné, patriace tomu istému jedincovi a nepredstavujú nebezpečenstvo. Tieto vlastné štruktúry sa normálne nenachádzajú na mikroorganizmoch, môžu chýbať na poškodených bunkách vlastného organizmu, a tiež môžu chýbať na bunkách iných jedincov toho istého druhu (pri transplantáciách).

### Rozpoznanie neprítomnosti vlastného

V prípade, že je vlastná bunka infikovaná vírusom alebo nádorovo zmenená, imunitný systém pomocou receptorov určí, že takáto bunka nemá dostatočné množstvo povrchových molekúl ako máva za normálnych okolností, lebo na bunkách s jadrom sa zníži expresia molekúl MHC I. triedy ak sú infikované vírusom alebo nádorovo zmenené. Imunitný systém (NK bunky) zabezpečí zničenie týchto abnormálnych buniek, na ktorých bola rozpoznaná neprítomnosť alebo znížená prítomnosť vlastných štruktúr (vyhodnocuje sa prítomnosť molekúl MHC I. triedy).

### Rozpoznanie cudzieho

Rozpoznanie cudzieho je umožnené prítomnosťou širokého množstva receptorov vrodenej a získanej imunity.

**Systém vrodenej imunity používa preformované hotové receptory PRR**, ktoré rozpoznávajú molekuly na bunkách mikroorganizmov, ale nie na ľudských bunkách. Ide

o geneticky stály súbor receptorov, ktorý je prenášaný z generácie na generáciu a u každého jedinca sa nachádzajú v základnej identickej forme.

**Systém získanej imunity používa somaticky generované receptory SGR na B a T-lymfocytoch, ktoré sú vytvárané náhodne a u každého človeka sú individuálne a prítomné v obrovskom množstve. Sú extrémne variabilné. Každá bunka produkuje len jediný typ receptora, ktorý rozpozná len jediný typ štruktúry. Ale celkový počet buniek, u ktorých dôjde k procesom tvorby receptorov je obrovský, a tak je obrovské aj množstvo SGR na rozpoznanie množstva štruktúr (viac ako  $10^{10}$ ).**

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Akým iným pojmom sa označuje epitop? Antigénny determinant. Je to najmenšia identifikovateľná časť antigénu, ktorá je rozpoznateľná receptormi, a proti ktorej je namierená imunitná odpoveď.

Vysvetlite pojem väzbová afinita. Väzbová afinita predstavuje silu interakcie jedného väzbového miesta s jedným antigénom.

Vysvetlite pojem avidita. Avidita je kolektívna afinita a je daná silou jedného väzbového miesta a zároveň počtom súčasne sa uplatňujúcich väzbových miest. To znamená, že je daná silou viacerých väzieb.

Ktoré receptory sú súčasťou vrodenej imunity? Preformované hotové receptory, medzi ktoré patria vzor rozpoznávajúce receptory – PRR, TLR, KAR, KIR, CRFcR

Ktoré receptory používa získaná imunita? Somaticky generované receptory – na B bunkách BCR a na T bunkách TCR.

Akým spôsobom je možné rozpoznanie cudzieho? Systém vrodenej imunity na to používa preformované vopred pripravené receptory. Systém získanej imunity využíva na rozpoznávanie somaticky generované receptory.

## ŠIESTA KAPITOLA

# Základné fyziologické princípy fungovania imunitného systému

### Hlavné témy

---

- ❖ Aktivovanie vrodených imunitných mechanizmov
  - ❖ Aktivovanie získaných imunitných mechanizmov
  - ❖ Spolupráca vrodených a získaných imunitných mechanizmov
- 

## 6.1 Aktivovanie vrodených imunitných mechanizmov

Jednotlivé zložky imunitného systému sú navzájom prepojené a vzájomne spolupracujú. **Ako prvé sa však do obranných reakcií organizmu zapájajú vrodené (nešpecifické) imunitné mechanizmy**, ktoré sú **založené** v prvom rade **na rozpoznaní chemických štruktúr pochádzajúcich z mikroorganizmov (PAMP)**. Po rozpoznaní cudzorodých štruktúr sa aktivujú bunkové mechanizmy vrodenej imunity – najmä fagocyty, ale tiež humorálne mechanizmy vrodenej imunity – komplement. Cieľom je zlikvidovať cudzorodý mikroorganizmus. **Časť fagocytov je dôležitá aj pre aktivovanie získaných imunitných mechanizmov**, pretože plnia funkciu antigén prezentujúcich buniek T-lymfocytom. V tejto súvislosti sú dôležité aj molekuly MHC, v spolupráci s nimi sú na povrch APC vystavované (ukazované) fragmenty antigénov (pohltených v APC), aby ich dokázali T-lymfocyty rozpoznať.

## 6.2 Aktivovanie získaných imunitných mechanizmov

Mechanizmy získanej imunity využívajú široké spektrum molekúl. Niektoré z nich sú využívané aj vrodenými imunitnými mechanizmami, iné sú využívané iba získanými imunitnými mechanizmami. **Získané imunitné mechanizmy sú antigén špecifické.** V organizme je vopred pripravené obrovské množstvo T a B-lymfocytov (viac ako  $10^{10}$ ), s rozličnými antigén špecifickými povrchovými receptormi (TCR, BCR). Ak sa teda do organizmu dostane nejaký **antigén**, po určitej dobe **sa stretne s lymfocytmi, ktoré majú preňho špecifické povrchové receptory** a dokážu ho viazať dostatočne pevnou väzbou. Tieto lymfocyty za vhodných podmienok (za prítomnosti pomocných, tzv. kostimulačných signálov) vytvoria klony buniek s rovnakou špecifitou, vznikajú príslušné efektorové populácie lymfocytov, ktoré potom môžu antigén zlikvidovať. Imunitný systém je vopred pripravený v zmysle predvídania, že sa v priebehu života môže stretnúť s akýmkoľvek antigénom a bude na to reagovať pomnožením klonov antigén špecifických lymfocytov. Dôležité sú pritom pomocné (kostimulačné) signály od iných buniek imunitného systému (niektorých buniek vrodenej imunity). **Keď je antigén rozpoznaný bunkami získanej imunity (lymfocytmi), je to prvý signál**, avšak nestačí to na ich aktiváciu. Potrebné je, aby bol prítomný aj **druhý signál vo forme kostimulačného signálu**. Ak by existoval iba prvý signál bez prítomnosti druhého signálu, nedošlo by k aktivácii lymfocytu a viedlo by to k dlhodobému funkčnému útlmu (anergii) alebo až k apoptóze lymfocytu. To, že na aktiváciu musia existovať a zapojiť sa obidva signály, má zásadný význam pre regulačné procesy. Zabezpečuje sa tým, aby nedochádzalo k príliš jednoduchej až potenciálne nebezpečnej aktivácii lymfocytov, aká by nastávala, keby na ich aktiváciu postačoval len prvý signál.

## 6.3 Spolupráca vrodených a získaných imunitných mechanizmov

**Imunitná odpoveď v organizme prebieha za fyziologických okolností na základe vzájomnej spolupráce a súhry mechanizmov vrodených aj získaných.** Proti niektorým antigénom je účinnejšia vrodená imunita, proti iným antigénom sa viac uplatňuje získaná imunita, proti niektorým antigénom bunková, proti iným humorálna imunita. **Proti extracelulárnym baktériám** sa uplatňuje najmä humorálna zložka získanej imunity – B-lymfocyty, pomocné Th-lymfocyty, ale aj bunková zložka vrodenej imunity – fagocyty. **Proti intracelulárnym baktériám** sa uplatňujú prevažne bunkami sprostredkované reakcie. **Proti vírusom** najmä cytotoxické Tc-lymfocyty a NK bunky, ale aj ostatné zložky imunity spolupracujú na likvidácii vírusov. **Proti hubám** bojujú hlavne bunkové mechanizmy vrodenej imunity a humorálne zložky získanej imunity. **Proti parazitom** vnútrobunkovým pôsobia skôr bunkami sprostredkované reakcie, proti mnohobunkovým parazitom skôr humorálne reakcie v spolupráci s vrodenou imunitou (fagocytmi, komplementom, NK bunkami). Na všetkých úrovniach sú prítomné mnohopočetné regulačné mechanizmy, ktoré optimalizujú imunitnú odpoveď, aby došlo k eliminácii daného antigénu. V iných prípadoch nedochádza k eliminácii antigénu, ale k navodeniu tolerancie (napr. k bunkám a molekulám vlastného organizmu). **Imunitný systém sa tak podieľa na udržiavaní integrity organizmu zabezpečením tolerovania**

**vlastných buniek a molekúl a schopnosťou reagovať na nebezpečné podnety.** Reakcie voči nim sú výsledkom vzájomnej spolupráce bunkových a humorálnych zložiek vrodenej a získanej imunity. Vzájomná spolupráca je zároveň regulovaná, aby bola odpoveď na antigén primeraná tomu, aké nebezpečenstvo predstavuje (vlastná zdravá bunka alebo vlastná bunka infikovaná vírusom, alebo patogénny mikroorganizmus). **Priebeh imunitných odpovedí závisí aj od toho, či sa organizmus stretol s daným antigénom po prvýkrát alebo už opakovan.** Vďaka imunologickej pamäti (prítomnosti pamäťových buniek), ktorá je významnou vlastnosťou získanej imunity, sa pri opakovanom kontakte s tým istým antigénom imunitné mechanizmy naštartujú oveľa rýchlejšie a prebiehajú intenzívnejšie ako pri prvom kontakte s daným antigénom.

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Ktoré mechanizmy sa zapájajú do obrany organizmu ako prvé? Ako prvé sa do obrany zapájajú vrodené (nešpecifické) mechanizmy, založené sú v prvom rade na rozpoznaní štruktúr pochádzajúcich z mikroorganizmov, tzv. PAMP. Následne sa aktivujú bunkové a humorálne mechanizmy vrodenej imunity, ktorých cieľom je zlikvidovať patogény.

Ktoré mechanizmy sú antigén špecifické? Získané imunitné mechanizmy sú antigén špecifické. V organizme je vopred pripravené obrovské množstvo T a B-lymfocytov s rozličnými antigén špecifickými povrchovými receptormi TCR a BCR, ktoré dokážu rozpoznať rozličné antigény a viazať ich.

Ktoré signály sú potrebné na aktiváciu lymfocytov? Ako prvý signál je potrebné rozpoznanie antigénu lymfocytmi, ale to nestačí na aktiváciu lymfocytov. Na aktiváciu lymfocytov musí spolupôbiť aj druhý signál, ktorým je tzv. kostimulačný (alebo pomocný) signál od iných buniek imunitného systému.

Ktorá zložka imunity sa uplatňuje v obrane proti extracelulárnym baktériám? Najmä humorálna zložka získanej imunity – B-lymfocyty a Th-lymfocyty, ale aj bunková zložka vrodenej imunity - fagocyty.

Ktorá zložka imunity sa uplatňuje v obrane proti intracelulárnym baktériám? Najmä bunkami sprostredkované reakcie.

Uved'te, vďaka čomu sa naštartujú imunitné mechanizmy oveľa rýchlejšie a prebiehajú intenzívnejšie pri opakovanom kontakte s tým istým antigénom? Vďaka imunologickej pamäti, ktorá je významnou vlastnosťou získanej imunity.

## SIEDMA KAPITOLA

# Vrodené imunitné mechanizmy: rozpoznávacie funkcie

## Hlavné témy

---

- ❖ Nástroje vrodenej nešpecifickej imunity vo vnútri organizmu
  - ❖ Rozpoznávacie funkcie vrodenej imunity
    - ✓ PAMP – molekulárne vzory patogénov
    - ✓ PRR – vzor rozpoznávajúce receptory
- 

## 7.1 Nástroje vrodenej nešpecifickej imunity vo vnútri organizmu

Vrodené imunitné mechanizmy **predstavujú rýchly spôsob obrany pred infekciou**, ak mikroorganizmy prenikli cez prvú obrannú líniu – cez mechanické, chemické a biologické bariéry. **Používajú na to geneticky naprogramované receptory, ktoré sú schopné rýchlo rozpoznať štruktúry charakteristické pre mikroorganizmy, a ktoré sa nevyskytujú u hostiteľa.** V prípade, že je do obrany zapojený aj systém získanej imunity, potom obidva systémy navzájom komunikujú a spolupracujú. Vrodené imunitné mechanizmy prítomné v krvi a tkanivách je možné rozdeliť na bunkové (fagocyty, NK bunky) a humorálne zložky (komplement, interferóny...) a zahŕňajú rozpoznanie a rýchlu deštrukciu mikróbov. V súvislosti s nimi treba spomenúť aj zvýšenú teplotu a funkciu zápalu. Pri zápale sú stimulované bunky a molekuly k tomu, aby izolovali a zničili infekčné mikroorganizmy a aktivovali reparačné procesy v poškodenom tkanive.

## 7.2 Rozpoznávacie funkcie vrodenej imunity

Na rozpoznanie patogénnych mikroorganizmov používa vrodená imunita preformované (hotové) receptory. Tieto vopred pripravené receptory sa označujú PRR a sú



to vzor rozpoznávajúce receptory. Nachádzajú sa na povrchu hostiteľských buniek alebo v rozpustnej forme (obr. 17). Gény, ktoré ich kódujú, sa nachádzajú v genóme a nevyžadujú ďalšiu modifikáciu. **PRR rozpoznávajú vzory, ktoré sa nachádzajú iba na patogénnych mikroorganizmoch (PAMP), ale nenachádzajú sa na vlastných bunkách organizmu. Preto sú PRR vzor rozpoznávajúce receptory vrodenej imunity schopné ľahko odlíšiť cudzie štruktúry od vlastných.** Zistilo sa, že vzor rozpoznávajúce receptory dokážu rozpoznať aj vlastné molekuly, ktoré vznikli pri patologickom poškodení tkaniva (nekróze = násilnej smrti bunky). Tieto boli označené ako DAMP (danger-associated molecular patterns) alebo alarmíny. Vznikajú pri smrti buniek a aktivujú zápalové procesy. Patria sem rôzne antimikrobiálne peptidy, molekuly teplotného šoku, cytokíny IL-33, IL-1 $\alpha$  a ďalšie. Dokážu pritiahnúť zápalové bunky, aktivovať syntézu cytokínov a aktivovať APC, aby sa do obrannej reakcie prostredníctvom APC mohli zapojiť aj mechanizmy získanej imunity.

### 7.2.1 PAMP – molekulárne vzory patogénov

PAMP (**P**athogen **A**ssociated **M**olecular **P**atterns) sú molekulárne vzory patogénov. **Ide o molekulárne štruktúry, ktoré sa nachádzajú iba na patogénnych mikroorganizmoch, nie na bunkách hostiteľa, nie na nepatogénnych mikroorganizmoch.** Sú súčasťou štruktúr, ktoré sú nevyhnutné pre prežitie alebo patogenitu mikroorganizmov a sú spoločné pre celé skupiny patogénnych mikroorganizmov. Môžu to byť cukry, proteíny, lipidy, nukleové kyseliny alebo kombinácie týchto molekúl. Významné štruktúry obsahujúce PAMP sú lipopolysacharidy bunkovej steny gramnegatívnych mikroorganizmov a peptidoglykán bunkovej steny hlavne grampozitívnych mikroorganizmov. Následkom väzby PRR (receptora) a PAMP (ligandu) dochádza k imobilizovaniu mikroorganizmu, jeho pohlteniu a degragovaniu, aktivácii makrofágov, uvoľneniu cytokínov a spusteniu rôznych foriem zápalu s cieľom zničiť patogéna.

### 7.2.2 PRR – vzor rozpoznávajúce receptory

Akonáhle vzor rozpoznávajúce receptory PRR (**P**attern **R**ecognition **R**eceptors) **rozpoznávajú molekulárny vzor patogéna PAMP, okamžite podnietia bunku k činnosti** (naproti tomu, v systéme získanej imunity musia bunky s príslušným receptorom najskôr proliferovať a vytvoriť klon). Preto **môžu** mechanizmy vrodenej imunity **reagovať na prítomnosť cudzorodej štruktúry mikroorganizmu prakticky okamžite.** V procese rozpoznávania PAMP sú zvyčajne zapojené naraz viaceré PRR, ktoré sprostredkujú pohltenie a zničenie mikroorganizmu, tvorbu zápalových cytokínov a chemokínov. Ak by teda niektoré z nich nefungovali z nejakého dôvodu, sú nahraditeľné inými. Tým sa znižuje pravdepodobnosť zraniteľnosti imunitného systému. Vie si totiž väčšinu svojich zložiek a mechanizmov nahradiť aspoň čiastočne inými. Táto významná vlastnosť imunitného systému sa označuje ako **redudancia**.

Z funkčného hľadiska možno rozdeliť vzor rozpoznávajúce receptory na niekoľko skupín. Najznámejšími z nich sú **receptory TLR** rozpoznávajúce rôzne patogénne mikroorganizmy. Podľa ligandov, ktoré dokážu rozpoznať, sa delia zatiaľ na 10 skupín



TLR1 až TLR10. Po rozpoznaní PAMP sa vedú signály do vnútra bunky, aktivuje sa nukleárny faktor NF- $\kappa$ B, dostáva sa do jadra, kde aktivuje gény kódujúce tvorbu antimikrobiálnych faktorov, cytokínov, chemokínov, adhezívnych a kostimulačných molekúl, ktoré potom stimulujú zápalové procesy, nahromadenie leukocytov v mieste infekcie, procesy vrodenej a neskôr aj získanej imunity.

Významnou skupinou vzor rozpoznávajúcich receptorov sú tie, ktoré fungujú ako **opsoníny**. Ide o molekuly, ktoré **sa naviažu na povrch mikroorganizmu a tak ho označia („ochutia“), aby bol prítiažlivejší pre fagocyty a pre pôsobenie komplementu**. Príkladom je manózu viažúci lektín MBL, ktorý spúšťa lektínovú dráhu aktivácie komplementu. Receptory pre opsoníny sa nachádzajú na fagocytoch a vďaka nim sa zosilní fagocytóza. Proces, pri ktorom sa zvyšuje účinnosť fagocytózy cudzorodej častice, sa označuje ako **opsonizácia**.

Medzi ďalšie PRR sa zaraďujú endocytárne receptory, napr. **manózový receptor MR**, ktorý **rozpoznáva sacharidy s veľkým množstvom manózových zvyškov** (oligo alebo polysacharidy s manózou sú typické pre mikroorganizmy). MR sa nachádzajú prevažne na makrofágoch. Po väzbe dochádza ku sfagocytovaniu patogéna. Jeho antigénne determinanty (epitopy) sa objavujú na povrchu fagocyta a v spolupráci s molekulami MHC I. alebo II. triedy sú predložené T-lymfocytom, aby slúžili na aktiváciu mechanizmov získanej imunity.

Ďalším príkladom sú **scavenger receptory**, ktoré **sa zúčastňujú pohltienia baktérií a tiež fagocytózy hostiteľských buniek, ktoré podstúpili apoptózu**. Apoptóza je programovaná smrť, je to zánik bunky, na ktorom sa bunka sama aktívne podieľa. Staré, opotrebované bunky sa apoptózou odstránia bez poškodenia okolitého tkaniva. Scavenger (odstraňovacie, odpadkové, smetiarske) receptory sa nachádzajú najmä na makrofágoch. Vedia rozpoznať modifikované lipoproteíny nízkej hustoty a iné molekuly, ktoré sa nachádzajú na povrchu buniek podstupujúcich apoptózu. Po rozpoznaní ich fagocyty pohltnú a degradujú, avšak neprebehne syntéza prozápalových cytokínov a chemokínov (ako by nastalo pri fagocytóze patogénov). Naopak, nastane syntéza cytokínov, ktoré zápalovú aktivitu potlačia. **Proces apoptózy teda nie je doprevádzaný zápalom**.

Niektoré PRR rozpoznávajú zmeny, ktoré sa vyskytujú na hostiteľských bunkách infikovaných vírusmi alebo na nádorovo zmenených bunkách – na ich povrchu sa objavujú molekuly teplotného šoku a stresové molekuly (MICA a MICB), čím upozorní bunka imunitný systém na nebezpečenstvo. Stresové molekuly sú rozpoznávané **receptormi NK buniek (KAR)** a prebehne zničenie danej bunky. Navyše na vírusom infikovaných jadrových bunkách hostiteľa nastáva aj znížená expresia molekúl MHC I. triedy, čo rozpoznávajú receptory NK buniek (**KIR**) a prebehne proces zničenia danej hostiteľskej bunky (obr. 18).

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Ktoré mechanizmy využíva vrodená imunita na rozpoznanie patogénov? Využíva preformované (hotové) receptory, ktoré sa označujú ako PRR – vzor rozpoznávajúce receptory.

Aké štruktúry rozpoznávajú PRR? Rozpoznávajú vzory, ktoré sa nachádzajú iba na patogénnych mikroorganizmoch (PAMP), ale nenachádzajú sa na vlastných bunkách organizmu.

Definujte PAMP. Ide o molekulárne štruktúry, ktoré sa nachádzajú iba na patogénnych mikroorganizmoch, nie na bunkách hostiteľa, nie na nepatogénnych mikroorganizmoch. Sú súčasťou štruktúr, ktoré sú nevyhnutné pre prežitie alebo patogenitu mikroorganizmov. Môžu to byť cukry, proteíny, lipidy, nukleové kyseliny, alebo kombinácie týchto molekúl.

Ktoré sú najznámejšie vzor rozpoznávajúce receptory? Medzi najznámejšie patria TLR, opsoníny, manózový receptor, scavenger receptory, KAR, KIR.

Akú úlohu zohrávajú scavenger receptory? Zúčastňujú sa pohltenia baktérií, a tiež fagocytózy hostiteľských buniek, ktoré podstupujú apoptózu. Vedia rozpoznať modifikované lipoproteíny nízkej hustoty a iné molekuly, ktoré sa nachádzajú na povrchu buniek podstupujúcich apoptózu.

## ÔSMA KAPITOLA

# Vrodené imunitné mechanizmy: humorálna zložka

### Hlavné témy

---

- ❖ Komplement
    - ✓ Klasická cesta aktivácie komplementu
      - Väzba C1 na komplex antigén-protilátka spúšťa klasickú cestu
      - Aktivovaná zložka C1 vytvára produkty zo zložiek C4 a C2
      - C4b2a je C3-konvertáza
      - C4b2a3b je C5-konvertáza
      - Terminálna fáza komplementovej kaskády
    - ✓ Lektínová cesta aktivácie komplementu
    - ✓ Alternatívna cesta aktivácie komplementu
    - ✓ Regulácia komplementu
  - ❖ Mikrobicídne molekuly
    - ✓ Defenzíny
    - ✓ Lyzozým
    - ✓ Interferóny
    - ✓ Cytokíny a chemokíny
    - ✓ Proteíny akútnej fázy
- 

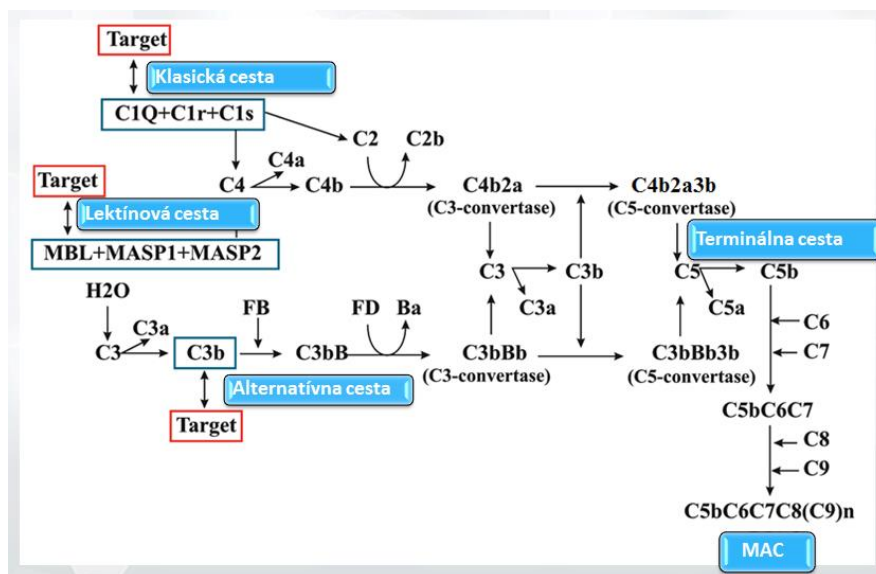
Rovnako ako systém získanej imunity, aj systém vrodenej imunity má bunkové aj humorálne zložky. Medzi najvýznamnejšie humorálne zložky vrodenej imunity patrí komplement. Ďalej sem patria lyzozým, bázičné polypeptidy, interferóny, prozápalové cytokíny, proteíny akútnej fázy zápalu a iné rozpustné látky, ktoré ovplyvňujú nešpecifickú imunitu.

## 8.1 Komplement

Komplement je komplex tvorený približne 30 sérovými glykoproteínmi. Komplement predstavuje **jeden zo základných efektorových mechanizmov vrodenej imunity**. Syntéza jednotlivých zložiek prebieha prevažne v pečeni, v menšej miere aj v mononukleárných fagocytoch, slezine a kostnej dreni. Vyskytuje sa v plazme (je to plazmatický proteín). Hlavné zložky komplementu sú sérové proteíny označené C1 až C9. Jednotlivé zložky komplementu sa kaskádovo aktivujú premenou z neaktívnej formy na aktívne enzýmy, ktoré pôsobia na ďalšie zložky tejto kaskády. Správna funkcia komplementu závisí od dokonalej súhry všetkých jeho zložiek.

Podstatou pri aktivácii jednotlivých zložiek komplementu je premena jednej neaktívnej zložky na aktívny proteolytický enzým, ktorý rozštípe molekulu nasledujúcej zložky na dva fragmenty (väčší fragment b, menší fragment a; výnimkou je C2 zložka komplementu, kde je to naopak). Jeden z fragmentov máva proteolytickú aktivitu a rozštípe nasledujúcu zložku komplementu. Tento fragment sa označuje písmenom „b“, je väčší a ostáva naviazaný na povrchu antigénu. Druhý menší fragment, označovaný ako fragment „a“ má inú biologickú aktivitu. Malé fragmenty (C3a, C4a, C5a) zohrávajú úlohu anafylatoxínov, to znamená, že do miesta infekcie priťahujú a aktivujú rôzne druhy leukocytov a ďalšie bunky, a tým pomáhajú eliminovať mikroorganizmy. Na povrchu fagocytujúcich buniek a B buniek sa nachádzajú receptory pre komplement (CR), ktoré rozpoznávajú tieto fragmenty komplementu naviazané na mikróby a uľahčia deštrukciu označeného mikróba. Horizontálna čiara nad zložkou komplementu označuje jeho enzymatickú aktivitu. Niektoré zložky komplementu nie sú číslované, ale označené ako faktory: faktor B, D, H, I, P = properdín. Fragment, ktorý stratil biologickú aktivitu, sa označuje na začiatku písmenom „i“ (napr. iC3b). Niektoré zložky komplementu sa označujú podľa funkcie: MASP, MBL.

**Ústrednou zložkou komplementu je glykoproteín C3**, ktorého fragmenty majú početné biologické účinky, jeho fragment C3b je najvýznamnejší opsonín komplementového systému, viaže sa na mikrobiálne povrchy. C3 zložka komplementu (ale aj C5-C9) sú zapojené do všetkých ciest aktivácie komplementu. **Konečným výsledkom aktivácie komplementu je vytvorenie membránového útočného komplexu (MAC) a lýza cieľovej bunky** (obr. 20).



**Obr. 20 Cesty aktivácie komplementu** (upravené podľa: <http://www.intechopen.com/source/html/43780/media/image1.jpeg>)

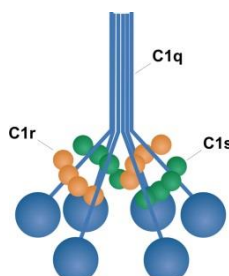
### 8.1.1 Klasická cesta aktivácie komplementu

Hlavné zložky klasickej cesty aktivácie komplementu sú glykoproteíny C1-C9. Číslované sú v poradí, v akom boli objavené a našťastie sú v kaskáde aktivácie komplementu zapojené v tom istom číselnom poradí (až na jednu výnimku, a to C4 zložku). Klasická cesta sa začína aktiváciou C1 (obr. 20).

#### *Väzba C1 na komplex antigén-protilátka spúšťa klasickú cestu*

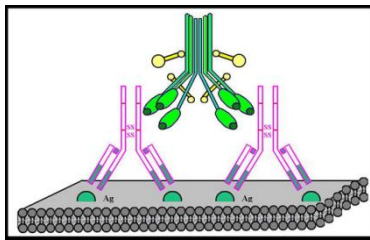
Keď sa protilátka naviaže na antigén, dôjde ku konformačnej zmene molekuly imunoglobulínu a odkryje sa väzbové miesto pre prvú zložku komplementu C1. Toto väzbové miesto sa nachádza v Fc časti molekuly imunoglobulínu. Proces je tiež známy ako fixácia komplementu. Nie všetky imunoglobulíny môžu viazať C1: najúčinnější je IgM, ďalej IgG1, IgG2 a IgG3, ktoré môžu viazať C1 (IgG4 nemôže viazať C1).

C1 má tri fragmenty: C1q, C1r a C1s. Celý C1 vyzerá ako kytica tulipánov s hlavičkami a šiestimi stopkami fragmentu C1q, ku ktorým sa viažu dva fragmenty C1r a dva fragmenty C1s (ako ozdobná stužka) (obr. 21).



**Obr. 21 Štruktúra C1 zložky komplementu** (<http://www.clinsci.org/content/118/2/99>)

Po naviazaní C1q sa zmení konformácia C1r a C1s. Každá C1q „má na svojej stopke kvietok“, ktorým sa viaže na Fc časť molekúl imunoglobulínov IgM alebo IgG. Na aktiváciu celej zložky C1 je potrebné, aby sa naviazali najmenej dva „kvietky“ fragmentu C1q na Fc väzbové miesto. To znamená, že pre molekuly IgG, ktoré majú len jedno Fc, musia byť naviazané najmenej dve molekuly IgG na povrch baktérii blízko pri sebe, aby mohla prebehnúť aktivácia C1 (obr. 22). V prípade molekuly IgM, ktorá má päť Fc, na aktiváciu C1 stačí, aby bola naviazaná aspoň jedna IgM na povrch baktérie. Po úspešnom naviazaní C1q na tieto molekuly nastane konformačná zmena C1r a následne aj C1s, ktoré sa stanú serínovými proteázami a svojimi proteolytickými vlastnosťami štiepia ďalšie zložky komplementu. Substrátom pre aktivovaný fragment C1s je zložka C4 a C2.



**Obr. 22 C1 zložka komplementu a jeho väzba na IgG protilátky**

(<https://www.intechopen.com/books/a-comprehensive-review-of-urticaria-and-angioedema/pathophysiology-of-bradykinin-mediated-angioedema-the-role-of-the-complement-system>)

### *Aktivovaná zložka C1 vytvára produkty zo zložiek C4 a C2*

Aktivovanie C1 vedie ku kaskádovej aktivácii zložky C4 a C2. Zložka C4 je fragmentom C1s rozštiepená na malý fragment C4a a veľký fragment C4b. A zložka C2 je rozštiepená fragmentom C1s na väčší fragment C2a a menší fragment C2b. C2a sa spojí s C4b, a tým vznikne klasická C3-konvertáza (obr. 20, 23).

### *C4b2a je C3-konvertáza*

C3-konvertáza štiepi neaktívnu C3 zložku na fragmenty C3a a C3b. Jedna molekula C3-konvertázy môže viesť k tvorbe až 200 molekúl C3b. Väčšina C3b funguje ako opsonín a podporuje fagocytózu. Práve schopnosť C3b pôsobiť ako opsonín je jedna z najvýznamnejších funkcií komplementu. O význame zložky C3 svedčí aj fakt, že jedinci, ktorí majú deficit zložky C3, sú náchylnejší na opakujúce sa, až život ohrozujúce bakteriálne infekcie. Časť fragmentov C3b sa viaže na C4b2a a vytvára klasickú C5-konvertázu (obr. 23).

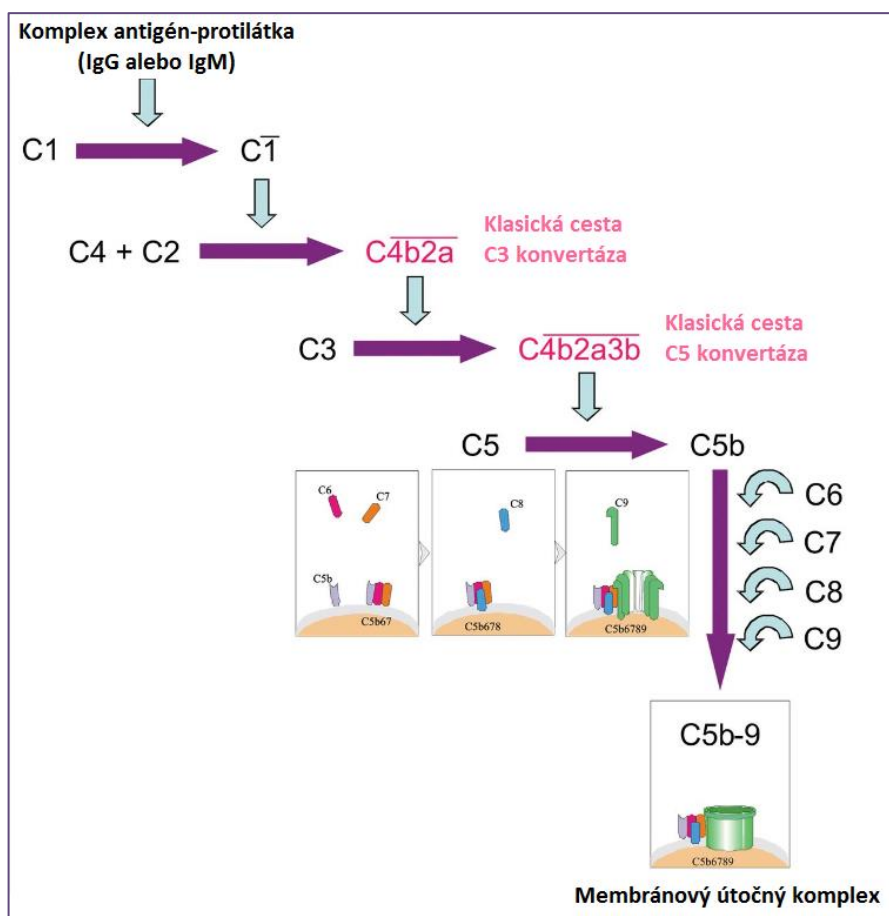
### *C4b2a3b je C5-konvertáza*

C5-konvertáza štiepi neaktívnu C5 zložku na fragmenty C5a a C5b. Štiepenie C5 je posledný enzymatický krok v komplementovej kaskáde.

### *Terminálna fáza komplementovej kaskády*

Nasleduje už len vytvorenie komplexu C5b s ďalšími zložkami komplementu (C6, C7, C8) a tento komplex C5b678 sa zanorí do membrány atakovanej bunky, kde vytvorí malé póry, čo môže viesť k lýze niektorých mikroorganizmov (obr. 23). Väčšina

mikroorganizmov je však voči lytickému pôsobeniu tohto komplexu C5b678 odolná a potrebuje poslednú zložku komplementu C9. Až keď sa pripojí C9, vytvorí sa v membráne atakovanej bunky veľké póry. Vznikne membránový útočný komplex MAC. Póry vytvorené MAC sú veľké. Uniká nimi z bunky rôzny cytoplazmatický obsah, ióny, malé molekuly, naruší sa osmotická rovnováha. Atakovaná bunka začne cez póry nasávať vodu a to vedie k lýze a „roztrhnutiu“ bunky.



Obr. 23 Klasická cesta aktivácie komplementu a tvorba membránového útočného komplexu (upravené podľa: <http://www.clinsci.org/content/118/2/99>)

### 8.1.2 Lektínová cesta aktivácie komplementu

Veľmi podobná klasickej ceste aktivácie komplementu je lektínová cesta, okrem prvých krokov tejto cesty (obr. 20). Významnú úlohu tu zohráva manózu viažuci proteín MBP (tiež označovaný ako manózu viažuci lektín MBL), ktorý sa viaže na sacharidy (napr. manóza, fukóza, glukóza...) na povrchu patogénov, ale nie na povrchu eukaryotických buniek (vlastné bunky organizmu teda nie sú ohrozené). MBL patrí medzi proteíny akútnej fázy, zvyšuje sa pri zápale. Po naviazaní MBL na povrch patogéna sa naň naviažu serínové proteázy MASP, a tým vznikne komplex podobný ako C1qrs pri klasickej ceste. Substrátom pre komplex MBL-MASP je C4 zložka (ktorú štípe na C4b a C4a) a C2 zložka (ktorú štípe na C2a a C2b). Ďalší priebeh lektínovej cesty je identický s klasicou cestou. Význam lektínovej cesty spočíva v tom, že môže reagovať okamžite a nepotrebuje, aby boli vytvorené špecifické protilátky ako pri klasickej ceste.



### 8.1.3 Alternatívna cesta aktivácie komplementu

Rovnako ako lektínová cesta, tak aj **alternatívna cesta sa aktivuje okamžite a nie je závislá od prítomnosti špecifických protilátok** (obr. 20). Obidve sa aktivujú predovšetkým v prvých fázach infekcie, keď špecifická imunita ešte nie je zapojená do obranných mechanizmov.

Najvýraznejším rozdielom oproti klasickej a lektínovej ceste je to, že pri alternatívnej ceste nie je zahrnutá zložka C1, C4 ani C2. Avšak zložky C3 a C5-9 sú súčasťou aj tejto cesty (tvoria súčasť všetkých ciest aktivácie komplementu).

Za normálnej situácie dochádza v plazme k spontánnej pomalej aktivácii C3 zložky komplementu, pretože je veľmi labilná a podlieha spontánnej hydrolýze na C3a a C3b. Väčšina zo vzniknutého fragmentu C3b je hydrolyzovaná na neaktívnu formu počas niekoľkých sekúnd od jeho vzniku. Niektoré C3b sa naviažu na vlastné bunky tela, ale tu sú inaktivované špecifickými regulačnými proteínmi (tie ich buď priamo rozštiepia, alebo pomôžu iným proteolytickým enzýmom, aby C3b rozložili). Mikroorganizmy však nemajú tieto regulačné proteíny, a preto C3b naviazaný na membránu mikroorganizmov nie je inaktivovaný. Tento systém poskytuje zaujímavý mechanizmus, ktorým dokáže vrodenný imunitný systém ochrániť vlastné bunky a odlíšiť ich od cudzích. Vlastné bunky sú teda schopné C3b fragment inaktivovať pomocou regulačných proteínov, a preto za normálnych okolností aktivácia komplementu nepokračuje. Mikroorganizmy toho nie sú schopné, lebo nemajú regulačné proteíny, a teda aktivácia komplementu alternatívnou cestou pokračuje ďalej. Na C3b sa naviaže ďalší sérový proteín faktor B a ten je štiepený sérovou proteázou faktorom D na fragmenty Ba a Bb. Fragment Bb sa naviaže na C3b a vzniknutý komplex C3bBb pôsobí ako alternatívna C3-konvertáza (ekvivalent ku klasickej C3-konvertáze = C4b2a). Alternatívna C3-konvertáza je stabilizovaná properdínom (faktorom P). Mechanizmom pozitívnej spätnej väzby vyvoláva lavínovitú aktiváciu celého systému (veľmi účinne štiepi C3 zložku na ďalšie a ďalšie fragmenty C3b a C3a. C3b fragment teda na jednej strane pôsobí ako opsonín a práve v klasickej ceste hrá dôležitú úlohu pri eliminácii mikroorganizmov, lebo uľahčuje fagocytózu. Na druhej strane je zapojený do procesu tvorby MAC, pretože je tiež súčasťou C5-konvertázy alternatívnej cesty (C3bBb3b), čím sa začína terminálna – lytická fáza komplementovej kaskády.

### 8.1.5 Regulácia komplementu

Aktivácia komplementovej kaskády je regulovaná. Regulácia komplementu je zabezpečená viacerými mechanizmami. Jednotlivé zložky komplementu sa tvoria v inaktívnej forme. Po aktivácii majú veľmi krátky polčas rozpadu. Na povrchu vlastných buniek sa nachádzajú špecifické regulačné proteíny, ktoré umožňujú inaktivovať zložky komplementu, a tým chrániť vlastné bunky pred poškodením.

Klasickú cestu hneď na začiatku reguluje C1 inhibítor, ktorý blokuje aktiváciu C1 zložky. Tvorbu alternatívnej C3-konvertázy blokujú faktory H a I, ktoré štiepia C3b, ale aj mnohé ďalšie regulačné proteíny, ktoré vyvolávajú rozpad C3-konvertázy. Terminálna lytická fáza je inhibovaná proteínom CD59, ktorý sa viaže medzi posledné zložky komplementu a bráni vzniku MAC.



## 8.2 Mikrobicídne molekuly

Mikrobicídne molekuly inhibujú rast mikroorganizmov. Na koži sa nachádzajú molekuly ako napr. RNáza, DNáza, defenzíny, katelicidín. V respiračnom trakte secernujú bunky epitelu  $\beta$ -defenzíny, niektoré epitelové bunky produkujú  $\alpha$ -defenzíny, kryptidíny.

### 8.2.1 Defenzíny

Defenzíny sú **prirodzené antimikrobiálne peptidy**. Patria medzi bázické polypeptidy. Majú nielen antimikrobiálne pôsobenie, ale aj chemotaktické a imunostimulačné vlastnosti. Chemotakticky priťahujú imunitné bunky do miesta zápalu, navodzujú syntézu cytokínov a chemokínov. Zistilo sa, že napr. koža atopika má výrazne znížené defenzíny, a to v kombinácii s poruchou kožnej bariéry vedie k zvýšenej náchylnosti k bakteriálnym a vírusovým infekciám kože u atopikov.

### 8.2.2 Lyzozým

Lyzozým je proteín s veľmi nízkou molekulovou hmotnosťou (14,6 KDa), ktorý sa skladá z jediného polypeptidového reťazca tvoreného 129 jednotkami. Jeho vnútorná stabilita je zabezpečená disulfidickými mostíkmi. Je to dôležitý **hydrolytický enzým s antibakteriálnym účinkom**, ktorý deštruuje bunkovú stenu grampozitívnych baktérií tým, že **štiepi 1,4-beta-D-glykozidickú väzbu** medzi N-acetylmuramovou kyselinou a N-acetylglukozamínom **v mureíne bunkovej steny**.

Mureín (peptidoglykán) je základnou stavebnou súčasťou bunkovej steny baktérií. Jeho polysacharidové reťazce obsahujú striedavo zvyšky N-acetylglukozamínu a kyseliny N-acetylmuramovej, na jej karboxyl je naviazaný reťazec štyroch aminokyselín v poradí L alanín, D glutamová kyselina, ľubovolná aminokyselina a D alanín. Jednotlivé reťazce sú vzájomne prepojené. Účinkom lyzozýmu sú väzby štiepené a nastáva lýza bunkovej steny zvonku. Keďže bunková stena je pre baktérie veľmi dôležitá, jej poškodenie vedie k poruche jej funkcie.

Lyzozým bol objavený v roku 1922 Alexandrom Flemingom. Vyskytuje sa ako súčasť špecializovaných bunkových organel – lyzozómov, nachádza sa tiež v granulách leukocytov. Lyzozým sa zúčastňuje degradačných a mikrobicídnych procesov a usmrcuje mnohé grampozitívne baktérie. Patogény však bývajú na lyzozým rezistentné. Čo sa týka gramnegatívnych baktérií, ich vrstva mureínu býva pod vonkajšou lipidovou membránou, preto lyzozým vyžaduje pre svoje pôsobenie spoluprácu s komplementom. Komplement rozruší vonkajšiu membránu tým, že vďaka membránovému útočnému komplexu vytvorí diery vo vonkajšej membráne. Pôsobí synergicky s komplementom a protilátkami pri lýze baktérií.

Lyzozým sa nachádza v pomerne vysokej koncentrácii v granulách neutrofilov, v krvnom sére a vo väčšine telesných sekrétov, napríklad aj v nosovom hliene, slinách, slzách, materskom mlieku, kde dosahuje vysoké koncentrácie. Vo všeobecnosti možno povedať, že tento nešpecifický humorálny faktor sa nachádza u bezstavovcov i stavovcov, uvoľňuje sa však aj z bičíka bakteriofága, a tým dochádza k perforácii hostiteľskej bunky. Uplatňuje sa potom aj keď sa nové bakteriofágy uvoľňujú z bunky von. Veľa lyzozýmu

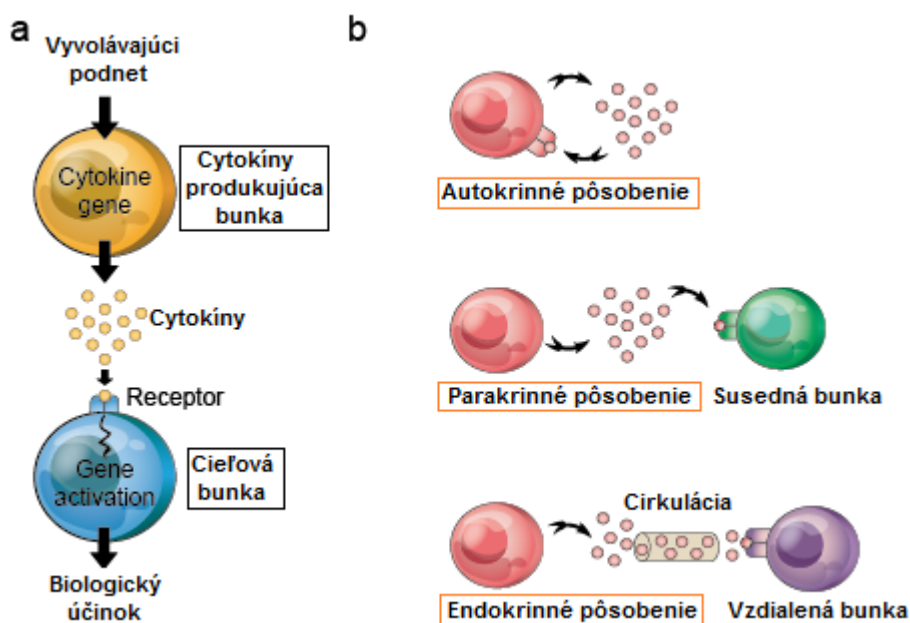
obsahuje aj vaječný bielok. V prípade infekčných procesov prebiehajúcich v ústnej dutine alebo hltane je možné ho podávať ako lokálne antiseptikum, napr. aj v podobe tabliet.

### 8.2.3 Interferóny

Interferóny majú mnohé imunoregulačné funkcie. **Potláčajú replikáciu vírusov v infikovaných bunkách.** Buď môžu potláčať replikáciu vírusov priamo v bunkách, v ktorých sa interferóny vytvorili, alebo môžu byť z bunky uvoľnené a naviazané na receptory iných buniek, ktoré sa následne stanú rezistentné voči vírusovej infekcii (tým, že indukujú tvorbu niektorých enzýmov, ktoré potláčajú replikáciu vírusov). Interferóny aktivujú makrofágy a NK bunky, čím zvyšujú odpovede vrodenej imunity. Interferóny I. typu sú IFN- $\alpha$  a IFN- $\beta$ . Sú produkované mnohými bunkami, vrátane makrofágov, fibroblastov, lymfocytov, endotelových a epitelových buniek. Množstvo interferónov I. typu produkujú dendritové bunky po kontakte s vírusom. Štruktúrou aj funkciou sa odlišuje ďalší interferón IFN- $\gamma$ , ktorý je produkovaný aktivovanými Th1-lymfocytmi a NK bunkami. Indukovať tvorbu interferónov môžu nielen vírusy, ale aj ďalšie patogény.

### 8.2.4 Cytokíny a chemokíny

Cytokíny sú signálne molekuly bielkovinovej povahy prenášajúce informácie medzi bunkami (obr. 24b). **Pôsobia autokrinne** – priamo na bunku, ktorá ich vyprodukovala, **parakrinne** – na bunky v tesnej blízkosti, alebo **endokrinne** – po transporte cievnym riečiskom aj na bunky vo vzdialených tkanivách. Produkujú ich bunky imunitného systému (lymfocyty, makrofágy a ďalšie) a regulujú aktivitu iných buniek. Majú vplyv na zápal, uplatňujú sa v procesoch vrodenej imunity, ale aj v procesoch získanej imunity. Ovplyvňujú bunky, ktoré majú pre cytokíny receptory (obr. 24a). V organizme sa vyskytujú v plazme, tkanivovej tekutine, alebo sú viazané na membrány.



**Obr. 24 a) Expresia cytokínov a ich receptory na cieľových bunkách, b) Pôsobenie cytokínov na iné bunky** (upravené podľa: <http://www.creative-diagnostics.com/cytokines-and-cytokine-receptors-elisa-kits.htm>)

**Chemokíny** sú podskupinou cytokínov, majú nízku molekulovú hmotnosť. Majú chemotaktický účinok, stimulujú pohyb leukocytov. Podskupinou cytokínov sú aj **interleukíny**. Majú rozmanité účinky. Ovplyvňujú sa vzájomne, ovplyvňujú iné bunky imunitného systému, aj bunky iných systémov. Ich pôsobenie je komplexné, majú okrem hlavných aj vedľajšie a regulačné účinky. Uvedieme len niekoľko príkladov interleukínov. Protizápalovo pôsobia interleukíny IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 a TNF. Napr. IL-1 je zodpovedný za vznik horúčky, IL-6 zvyšuje produkciu proteínov akútnej fázy v pečeni, IL-8 má výrazné chemotaktické vlastnosti pre neutrofile a prispieva k tvorbe hnisu v mieste zápalu. IL-12 stimuluje tvorbu IFN- $\gamma$  v NK bunkách. Tumor nekrotizujúci faktor (TNF) je schopný ničiť nádorové bunky a v priebehu infekcie a nádorového bujnenia vyvoláva kachexiu a horúčku.

### 8.2.5 Proteíny akútnej fázy

Proteíny akútnej fázy sú bielkoviny, ktorých koncentrácia sa zvyšuje v akútnej fáze zápalu v organizme. Z tohto dôvodu je možné využiť ich meranie na diagnostické účely. Väčšinou sú produkované v pečeni a ich syntéza sa zvyšuje vplyvom zápalových cytokínov (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ). Medzi často vyšetrované proteíny akútnej fázy zápalu patria  $\alpha$ -1-antitrypsín (A1AT),  $\alpha$ -2-makroglobulín (A2M), orosomukoid (Oroso), ceruloplazmín (Cpl), transferín, fibrinogén, C-reaktívny proteín, prokalcitonín. Proteíny akútnej fázy sa nachádzajú v sére u zdravých ľudí v určitých bazálnych (nízkych) hladinách. Pri rozbiehaní zápalu sa koncentrácie niektorých proteínov akútnej fázy zvyšujú iba 1,5 až 5-krát, zatiaľ čo iné sa zvyšujú 100 až 1000-krát. Zvýšená koncentrácia vedie k ich nahromadeniu v mieste zápalu, zvýšenému prietoku krvi, zvýšenej cievnej permeabilite.

Všetky proteíny akútnej fázy zápalu majú v tele konkrétnu funkciu. Priamo sa zúčastňujú obranných reakcií, opsonizujú baktérie (napr. CRP), regulujú zápalovú odpoveď tým, že môžu blokovať proteázy uvoľnené z granulocytov, a tak do istej miery chrániť tkanivá pred masívnym poškodením ( $\alpha$ -1-antitrypsín). Ďalej môžu mať funkciu prenášačov iónov (transferín, ceruloplazmín), zúčastňujú sa hemokoagulácie (fibrinogén).

Medzi najčastejšie vyšetrované proteíny akútnej fázy zápalu patria **CRP, prokalcitonín a orosomukoid**.

**CRP** je citlivý a veľmi dynamický ukazovateľ akútnej fázy zápalu (jeho dynamika je rýchlejšia ako sedimentácia erytrocytov (FW)). Zvýšenie hladiny CRP v priebehu rádozo hodín je významným ukazovateľom rozbiehajúceho sa zápalu. Reflektuje na závažnosť zápalu, ale keďže ide o nešpecifický parameter, neurčí samotnú podstatu ochorenia. Pomenovaný je podľa jeho schopnosti viazať sa na polysacharid C (fosforyl cholín) v puzdre baktérie *Streptococcus pneumoniae*. Viaže sa aj na mnohé iné baktérie, kvasinky, plesne a parazity, ale aj na poškodené a odumierajúce bunky, čím napomáha v opravných procesoch v poškodenom tkanive. Pomáha fagocytom v rozpoznaní baktérií alebo poškodených buniek. Jeho koncentrácia výrazne stúpa pri zápaloch bakteriálnej etiológie, pri niektorých neinfekčných zápaloch (infarkt myokardu, v pooperačnom období, pri niektorých reumatických ochoreniach).

**Orosomukoid** (tiež označovaný ako kyslý  $\alpha$ -1-glykoproteín) je syntetizovaný hlavne v pečeni. Zvyšuje sa pri zápale s podobnou dynamikou ako CRP, ale jeho zvýšenie má o niečo pomalší nástup a pretrváva dlhšie.

**Prokalcitonín** je prekursor kalcitonínu (hormónu produkovaného štítnou žľazou, ktorý sa podieľa na regulácii hladiny kalcia). Za fyziologických okolností sa nedá detegovať, jeho hladiny sa zvyšujú až pri zápale (bakteriálnom, mykotickom). U pacientov s podozrením na závažné infekcie sa stanovujú hladiny prokalcitonínu, ktorý sa zvyšuje najmä pri bakteriálnych, ale nie pri vírusových ochoreniach. Z tohto dôvodu sa využívajú jeho zvýšené hladiny na oddiferencovanie bakteriálneho pôvodu zápalu od zápalu inej etiológie.

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Kde prebieha syntéza jednotlivých zložiek komplementu? Syntéza jednotlivých zložiek komplementu prebieha prevažne v pečeni, v menšej miere aj v mononukleárných fagocytoch, slezine a kostnej dreni.

Čo je podstatou pri aktivácii zložiek komplementu? Premena jednej neaktívnej zložky na aktívny proteolytický enzým, ktorý rozštípe molekulu nasledujúcej zložky na dva fragmenty.

Ktorým mechanizmom sa začína klasická cesta aktivácie? Klasická cesta sa začína aktiváciou C1 zložky komplementu, čo následne vedie ku kaskádovej aktivácii zložky C4 a C2 a ku vzniku C3-konvertázy.

Ako prebieha terminálna fáza komplementovej kaskády? Vytvorí sa komplex C5b s ďalšími zložkami komplementu C6, C7 a C8 a tento komplex C5b678 sa vnorí do membrány atakovanej bunky, kde vytvorí malé póry. Po pripojení poslednej zložky komplementu C9 sa vytvoria veľké póry, kadiaľ z bunky uniká rôzny cytoplazmatický obsah a nasáva sa voda. To vedie k lýze bunky.

Ktoré zložky nie sú zahrnuté pri alternatívnej ceste aktivácie komplementu? Nie sú zahrnuté zložky C1, C4 ani C2.

Ktoré zložky sú súčasťou všetkých ciest aktivácie komplementu? Zložky C3 a C5 – C9.

Čo sú cytokíny a ako môžu pôsobiť na ostatné bunky? Ako cytokíny označujeme signálne molekuly bielkovinovej povahy prenášajúce informácie medzi bunkami. Sú produkované bunkami imunity a regulujú aktivitu iných buniek. Môžu pôsobiť autokrinne – priamo na bunku, ktorá ich vyprodukovala, parakrinne – na bunky v tesnej blízkosti, alebo endokrinne – po transporte cievnym riečiskom aj na bunky vo vzdialených tkanivách.

Ktoré proteíny akútnej fázy patria medzi najčastejšie vyšetrované? Sú to CRP, prokalcitonín a orosomukoid (tiež označovaný ako kyslý  $\alpha$ -1-glykoproteín).

## DEVIATA KAPITOLA

# Vrodené imunitné mechanizmy: celulárna zložka

### Hlavné témy

---

- ❖ Fagocytóza
    - ✓ Fagocyty
      - Neutrofilý
      - Eozinofily
      - Monocyty
      - Makrofágy
    - ✓ Proces fagocytózy
      - Chemotaxia
      - Adherencia
      - Oponizácia
      - Ingescia
      - Fagozóm, fagolyzozóm a deštrukcia pohlteného materiálu
      - Vylúčenie odpadového materiálu
  - ❖ NK bunky v systéme vrodenej imunity
    - ✓ Receptory NK buniek
      - Aktivačné receptory – KAR
      - Inhibičné receptory – KIR
      - Receptory pre protilátky – Fc
    - ✓ Zničenie cieľových buniek NK bunkami
- 

Okrem humorálnej zložky využíva systém vrodenej imunity aj celulárne (bunkové) zložky v boji proti infekcii. Medzi najvýznamnejšie patria likvidácia mikroorganizmov a abnormálnych buniek tela fagocytmí a NK bunkami.

## 9.1 Fagocytóza

V mechanizmoch vrodenej imunity je najdôležitejšou prekážkou šírenia mikroorganizmov ich likvidácia prostredníctvom fagocytov. Navyše fagocyty sú významné pre čistiace procesy v organizme, pretože odstraňujú zvyšky buniek a molekuly, ktoré vznikajú aj pri normálnych fyziologických procesoch.

**Fagocytóza je schopnosť profesionálnych fagocytov rozpoznať, pohltiť, usmrtiť a degradovať usmrtený cudzorodý materiál.** Medzi profesionálne fagocyty sa zaraďujú dva typy fagocytov:

- o na jednej strane sú to **polymorfonukleárne leukocyty (PMNL) – nazývané aj mikrofágy**
- o na druhej strane **makrofágy** a ich prekursori monocyty. Všetky sa vyvíjajú z kmeňových hematopoetických buniek kostnej drene.

Výnimočným typom fagocytov sú dendritové bunky, ktoré zohrávajú úlohu v spracovaní a prezentovaní antigénov (exprimujú molekuly MHC). **Funkcia fagocytov je na jednej strane efektorová** – fagocytóza a eliminácia mikroorganizmov za účasti baktericídnych látok a hydrolytických enzýmov. Na druhej strane je to funkcia **regulačná** – sprostredkovaná produkciou cytokínov, prostaglandínov, leukotriénov atď. K mikrofágom patria hlavne neutrofily a eozinofily. Cirkulujú v krvi a sú pripravené rýchlo sa presúvať do miesta zápalu. Výhodou týchto granulocytov je, že sú pripravené ihneď vykonávať svoje efektorové funkcie.

### 9.1.1 Fagocyty

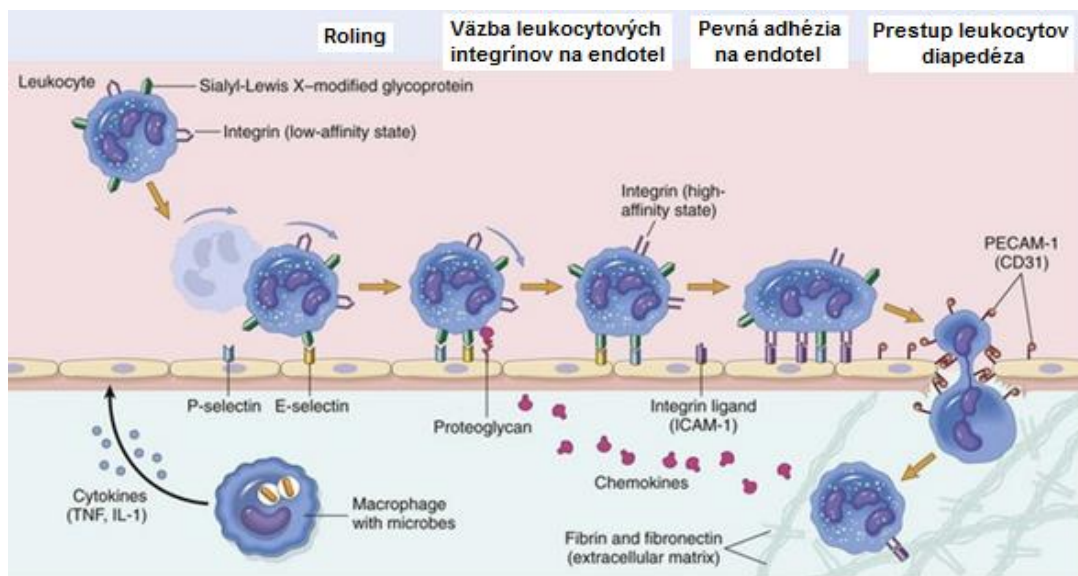
#### *Neutrofily*

Neutrofily žijú veľmi krátko, približne 24 hodín. Sú najpočetnejšou skupinou leukocytov u človeka. Predstavujú až 60-70 % leukocytov ( $4,3-11 \times 10^9$ /l liter krvi), sú veľmi aktívne a hrajú dôležitú úlohu pri akútnom zápale. Výhodou je ich rýchla mobilizácia a uvoľňovanie mediátorov zápalu. Ich **hlavnou úlohou je fagocytóza a deštrukcia patogénov**. Sú **základné bunky 1. obrannej línie proti patogénom, cudzorodým bunkám**. Pre tieto ich schopnosti bývajú označované ako „foot soldiers – vojaci pešiaci“. Neutrofily však **nepatria medzi antigén prezentujúce bunky** (neexprimujú MHC II. triedy).

Neaktívne neutrofily sú v cirkulácii približne 6-7 hodín. Po aktivácii a migrácii do tkanív prežívajú 1-2 dni (hnis obsahuje živé alebo odumreté neutrofily a usmrtené baktérie). Nezrelé mladé formy neutrofilov majú jadro v tvare tyčky a majú nižšiu schopnosť fagocytózy ako zrelé formy. Zrelé formy neutrofilov majú segmentované jadro, ktoré obsahuje 4-5 segmentov. Denne dozrieva približne  $10^{10}$  neutrofilov. Časť z nich adheruje na cievny endotel, keďže väzba je reverzibilná a nie je príliš silná, pomaly sa po ňom kotúľajú („rolling“). **Po ich aktivácii vhodnými chemotaktickými signálmi neutrofily opúšťajú krvné riečisko a migrujú do miest infekcie alebo poškodeného tkaniva po traume, kde pohlcujú a likvidujú baktérie.**



Prichádzajú do kontaktu s mikroorganizmami skôr ako makrofágy. Rýchlo ich však nasledujú krvné monocyty, ktoré sa následne v mieste invázie diferencujú na makrofágy, ktoré fagocytujú a zabíjajú baktérie. Adhézia neutrofilov je umožnená vďaka receptorom neutrofilov a ligandom na endotelových bunkách (obr. 25). Počas tohto procesu vplyvom zápalových cytokínov sa na povrchu endotelií zapálených tkanív exprimujú adhezívne molekuly. Interakciou medzi adhezívnymi molekulami endotelií (selektínmi) a oligosacharidmi na povrchu neutrofilov sa kotúľanie spomalí. V prítomnosti zápalových cytokínov alebo chemokínov potom dochádza k väzbe povrchových molekúl neutrofilov – leukocytárných integrínov na povrchové molekuly endotelových buniek – ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1). Táto väzba je už ireverzibilná, neutrofil pevné adheruje na endotel kapilár v postihnutej oblasti. Pôsobením chemotaktických látok (pre neutrofil je hlavnou chemotaktickou látkou interleukín 8) uvoľnených v mieste poškodenia, prestúpia neutrofil pomedzi endotelové bunky ciev. Tento proces sa označuje ako diapedéza (extravazácia) a následne je ich pohyb riadený chemotaktickými látkami uvoľňovanými v mieste poškodenia (zápalu) tkaniva.



**Obr. 25 Prienik fagocytov do infikovaných a poškodených tkanív** (upravené podľa: Kumar et al. Robbins Basic Pathology 8th ed. 2013, <http://www.studentconsult.com>)

**V cytoplazme neutrofilov sa nachádzajú primárne a sekundárne granuly:**

- **Primárne (azurofilné) granuly** sú väčšie a obsahujú myeloperoxidázu, hydrolázy, elastázu, lyzozým, katepsín G a ďalšie.
- **Sekundárne (špecifické) granuly** sú menšie a obsahujú laktoferín, lyzozým, alkalickú fosfatázu, kolagenázu a ďalšie.

Neutrofil uvoľňuje enzýmy z granúl do extracelulárneho priestoru, čo im umožňuje aktívne sa presúvať do miesta zápalu. Ak sa im nepodari stretnúť baktérie v primeranom čase, postupne odumierajú. Ak sa uvoľní väčšie množstvo enzýmov do extracelulárneho priestoru, dôjde ku skvapalneniu tkaniva a odumretiu niektorých neutrofilov, čo má za následok **vytvorenie hnisu**. Taktiež neutrofil, ktorý splnil svoju



úlohu, odumierajú a sú odstraňované ďalšími fagocytmi (najmä makrofágmi). Väčšie množstvo odumretých neutrofilov je súčasťou hnisu.

### Eozinofily

Eozinofily predstavujú 1-3 % leukocytov. **V cytoplazme obsahujú veľké množstvo malých acidofilných granúl.** Eozinofily majú na svojom povrchu receptory pre zložky komplementu (pre C3b) a receptory pre protilátky IgE. V cirkulácii perzistujú 8-12 hodín, v tkanivách 8-12 dní. Eozinofily fagocytujú len veľmi slabo. Pre eozinofily (a tiež monocyty) platí, že adherujú na cievnú stenu prostredníctvom iného typu adhezívnych molekúl ako neutrofily, a to  $\beta 1$  integrínov a ich partnerskou molekulou na endoteli je VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1).

Po aktivácii však tvoria veľké množstvo metabolitov. Produkujú leukotriény, prostaglandíny a množstvo cytokínov. Zohrávajú dôležitú úlohu **pri alergických reakciách, v obrane proti parazitárnym infekciám vyvolaných mnohobunkovými červami** (hlavne proti helmintom v gastrointestinálnom trakte), **v obrane proti nádorovým bunkám.** Eozinofília je prítomná pri parazitárných ochoreniach, alergiách a pri niektorých typoch nádorov kostnej drene a lymfatických uzlín.

### Monocyty

Monocyty sa aktivujú rýchlo po neutrofiloch. V mieste invázie mikroorganizmov v tkanive sa monocyty diferencujú na makrofágy, ktoré fagocytujú baktérie. Monocyty predstavujú 5-10 % leukocytov. Sú to veľké mononukleárne bunky, majú veľké excentricky uložené jadro obličkovitého tvaru a vakuolizovanú cytoplazmu. Cirkulujú v krvnom riečisku približne 1-3 dni. Potom adherujú na cievny endotel a opúšťajú krvné riečisko procesom diapedézy. Monocyty adherujú na cievnu stenu prostredníctvom  $\beta 1$  integrínov a ich partnerskou molekulou na endoteli je VCAM-1. Monocyty sa po premiestnení do tkanív premieňajú na makrofágy (obr. 26). Monocyty dozrievajú na odlišné typy makrofágov podľa odlišnej anatomickej lokalizácie.

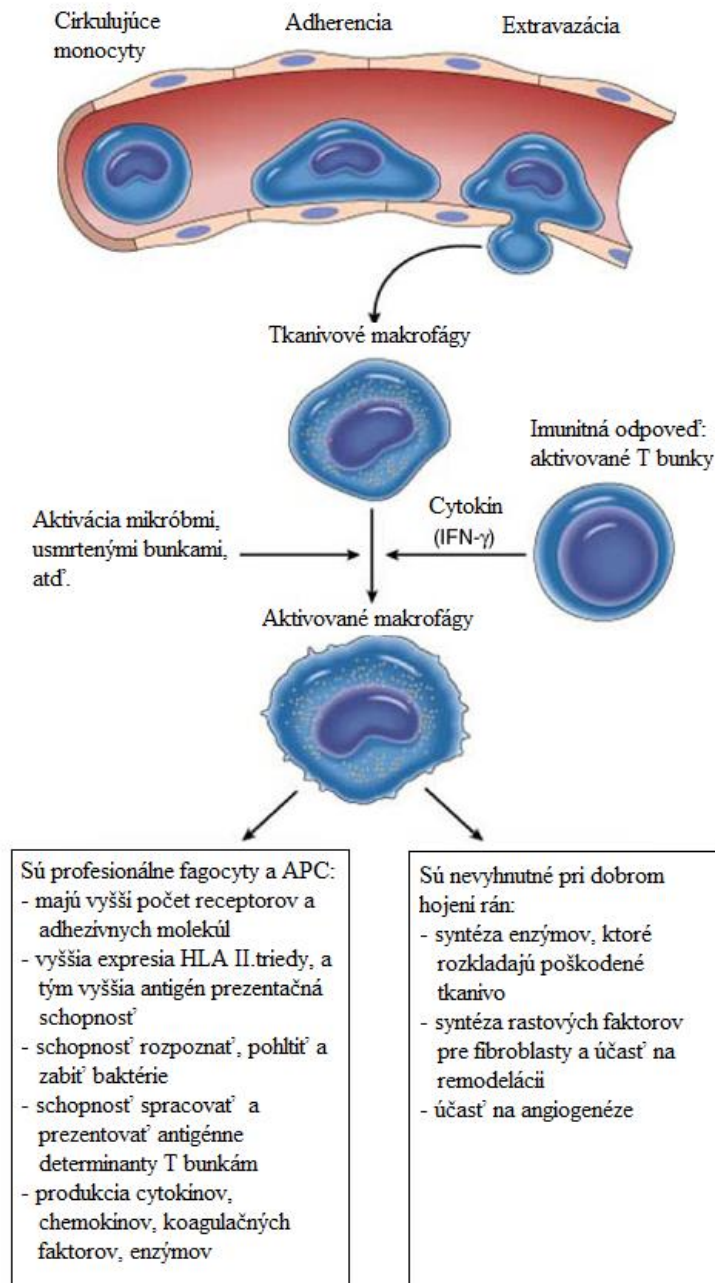
### Makrofágy

Makrofágy sú veľké mononukleárne bunky vznikajúce z monocytov (po ich prechode z krvného riečiska do tkaniva). Podľa odlišnej anatomickej lokalizácie dostali tkanivové makrofágy odlišné pomenovanie. Napríklad v pľúcach sa vyskytujú alveolárne makrofágy, v pečeni sú to Kupfferove bunky, histiocyty v spojivovom tkanive, mikroglia v centrálnej nervovej sústave, osteoklasty v kostiach, Langerhansove bunky v koži, peritoneálne a pleurálne makrofágy v serózných dutinách, makrofágy v podslizničnom tkanive sú súčasťou MALT.

**Tkanivové makrofágy sú významné v 1. obrannej línii hostiteľa.** Sú to **profesionálne fagocyty** a zároveň sa zaraďujú k **antigén prezentujúcim bunkám.** Exprimujú MHC II. triedy. **Makrofágy majú na svojom povrchu receptory pre zložky komplementu (pre C3b) a Fc receptory.** Dokážu **opakovane fagocytovať**. Za svoj život môžu sfagocytovať viac než 100 baktérií. Makrofágy bývajú označované aj „large eaters – veľkí jedáci“. Sú schopné rozpoznať, pohltiť, spracovať a prezentovať antigén T bunkám.

Môžu byť aktivované napríklad fragmentom komplementu C3b, interferónom IFN- $\gamma$ , endotoxínmi gramnegatívnych baktérií, čo následne zvýši ich schopnosť fagocytovať.

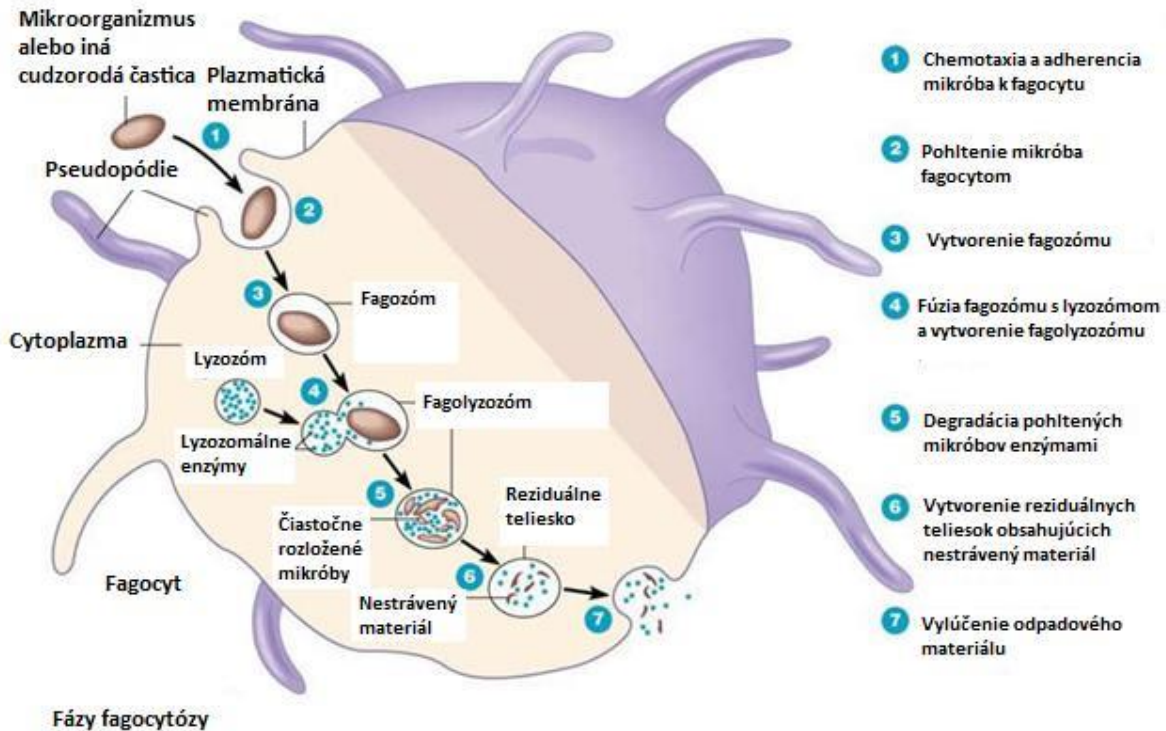
Okrem toho však produkujú rozličné imunoregulačné látky, signálne a antimikrobiálne proteíny. Niektoré z týchto molekúl sú schopné zúčastniť sa na spúšťaní špecifických imunitných reakcií a výsledkom je špecifická bunková imunitná odpoveď. Makrofágy tak **predstavujú prechod medzi nešpecifickou a špecifickou imunitou** (obr. 26).



**Obr. 26 Monocyty opúšťajú cirkuláciu a usídli sa v tkanivách ako diferencované makrofágy** (upravené podľa: Kumar et al. Robbins Basic Pathology, 8th ed. 2007, Copyright Elsevier, [https://www.researchgate.net/figure/278695533\\_fig12\\_Figure-11-11-Activation-of-macrophages-and-production-of-various-cytokines-Circulation](https://www.researchgate.net/figure/278695533_fig12_Figure-11-11-Activation-of-macrophages-and-production-of-various-cytokines-Circulation))

### 9.1.2 Proces fagocytózy

Fagocytóza je proces pohltienia, usmrtenia a rozkladu mikroorganizmov (cudzorodého materiálu). Je **základom vrodenej imunity**. Začína sa vtedy, keď sa fagocytujúca bunka naviaže na bunku alebo molekulu, a to prostredníctvom receptorov (rôznych PRR) na povrchu fagocytov (obr. 27). Vlastnej fagocytóze predchádza chemotaxia.



Obr. 27 Fagocytóza a jej fázy (upravené podľa: <http://classes.midlandstech.edu>)

#### Chemotaxia

Pri chemotaxii **fagocyty putujú do miesta zápalu alebo poškodeného tkaniva**. Do tohto miesta sú **príťahované fagocyty molekulami**, ktoré sa nazývajú **chemotaxíny**. Medzi najúčinnnejšie chemotaxíny patria niektoré zložky komplementu, leukotriény, interleukín IL-8, ale hlavne súčasti baktérií. Fagocyty smerujú do miesta zápalu podľa chemotaktického gradientu. Hlavným chemotaxínom pre neutrofily je interleukín IL-8. Pre monocyty a eozinofily sú to MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MCP-1 a RANTES. Chemotaxíny spoločné pre všetky fagocyty sú C3a, C5a zložky komplementu, leukotrién LTB<sub>4</sub>, PAF (faktor aktivujúci trombocyty), fMLP (formyl-metionyl-leucyl-fenylalanín – peptid z bakteriálnych proteínov). Na povrchu fagocytov sa nachádzajú pre všetky tieto chemotaxíny príslušné receptory. Ich stimuláciou dochádza k chemotaxii a následnej aktivácii fagocytózy.

#### Adherencia

Adherencia je **prichytenie cudzorodého materiálu na povrch fagocytu**. Na povrchu fagocytov sa nachádzajú receptory PRR, ktoré dokážu rozpoznať cudzie štruktúry

nachádzajúce sa na povrchu mikroorganizmov označované ako PAMP. V tomto prípade je fagocytóza nezávislá na opsonínoch.

### Opsonizácia

Ďalším spôsobom, akým fagocyt môže rozpoznať a sfagocytovať cudzorodú časticu, je opsonizácia. Vtedy ide o fagocytózu závislú na opsonínoch. **Opsonizácia je „ochutenie“ častíc, aby boli atraktívnejšie pre fagocyty.** Ako opsoníny pôsobia napr. fragment C3b komplementu, ktorý adheruje na mikrobiálne povrchy a rozpoznávaný je receptormi komplementu CR na povrchu fagocytov. Dôležité opsoníny sú imunoglobulíny IgG (najmä IgG1 a IgG3), ktoré sa naviazali na mikrobiálne povrchy a rozpoznávané sú Fc receptormi. Ďalšími významnými opsonínmi sú MBL alebo proteíny akútnej fázy. Keďže fagocyty dokážu odstraňovať nielen patogény, ale aj vlastné apoptotické bunky alebo poškodené bunky, vedia ich rozpoznať podľa neobvyklých štruktúr na ich povrchu. Tieto štruktúry (modifikované lipoproteíny) sa za normálnych okolností vyskytujú na vnútornej strane membrány buniek, ale pri apoptotických bunkách sa vyskytujú na ich povrchu a rozpoznávané sú scavenger receptormi. Apoptotické alebo poškodené bunky vedia rozpoznať aj po ich opsonizácii protilátkami alebo zložkami komplementu.

### Ingescia

**Po rozpoznaní a prichytení cudzorodej častice dochádza k jej pohlteniu – ingescii.** Nastáva remodelácia membrány a cytoskeletu závislá na bunkovom aktíne a myozíne, **fagocyt začne vysielat' panôžky – pseudopódie, ktorými cudzorodú časticu obopne a vsunie do bunky endocytózou.** Dendritové bunky využívajú aj ďalší mechanizmus známy ako makropinocytóza, pri ktorej sa vytvoria v plazmatickej membráne „jamky“ smerom do vnútra dendritovej bunky. Do týchto jamiek pohltia extracelulárnu tekutinu s veľkým množstvom rozpustných molekúl a uzavrujú ju do cytoplazmatickej vezikuly. Po ingescii sa stáva fagocyt veľmi aktívny, zväčšuje sa a zvyšuje produkciu niektorých molekúl, ktoré prispejú k deštrukcii pohltenej častice, alebo pôsobia ako chemotaktické faktory. Interleukíny IL-1, IL-6, TNF, MIP (makrofágový zápalový faktor), IFN- $\alpha$  a IFN- $\beta$  pôsobia ako endogénne pyrogény a vedú k vzostupu telesnej teploty. Zvyšuje sa priepustnosť ciev a prestup molekúl a buniek z ciev do tkanív. Priťahujú a aktivujú sa ďalšie leukocyty.

### Fagozóm, fagolyzozóm a deštrukcia pohlteneho materiálu

Keď je častica úplne obklopená, **ocitá sa vo vnútri vakuoly, ktorá sa nazýva fagozóm.** Následne dochádza ku **splynutiu fagozómu s lyzozómom a vzniká fagolyzozóm.** Baktericídne pôsobiace látky a početné hydrolytické enzýmy lyzozómov napadnú pohltené častice a ničia ich. K optimálnej funkcii hydroláz prispieva aj kyslé prostredie (pH 4-5) vo fagolyzozómoch. Okrem kyslého prostredia a kyslých hydroláz využívajú lyzozómy aj iné mechanizmy na zničenie a degradáciu pohlteneho materiálu. Vo fagocytoch **nastáva po pohltení častíc oxidačné vzplanutie, počas ktorého sa vytvárajú reaktívne kyslíkové radikály s baktericídnym účinkom** (superoxidový radikál, peroxid vodíka, hydroxylové radikály, hypochloridový ión). Celý proces je katalyzovaný NADPH-oxidázou a myeloperoxidázou (na rozdiel od neutrofilov makrofágy nemajú

myeloperoxidázu, ale viažu ju zo svojho okolia). Pri nedostatku alebo absencii niektorých enzýmov dochádza k funkčným poruchám až defektom v schopnosti likvidovať baktérie. Ďalším veľmi **významným mikrobicídny prostriedkom fagocytov je oxid dusnatý (NO)**, ktorý je produkovaný po aktivácii enzýmového systému NO syntázy. NO syntáza sa aktivuje v makrofágoch pod vplyvom cytokínov Th1-lymfocytov (interferónu- $\gamma$ , TNF). NADPH-oxidázový systém je dôležitý na likvidáciu pohltených extracelulárnych patogénov, NO systém je dôležitý na likvidáciu intracelulárnych patogénov.

### *Vylúčenie odpadového materiálu*

Po deštrukcii pohlteného materiálu nestráviteľný alebo ťažko stráviteľný materiál zostáva v reziduálnych telieskach a následne dochádza k jeho vylúčeniu ako odpadového materiálu.

## 9.2 NK bunky v systéme vrodenej imunity

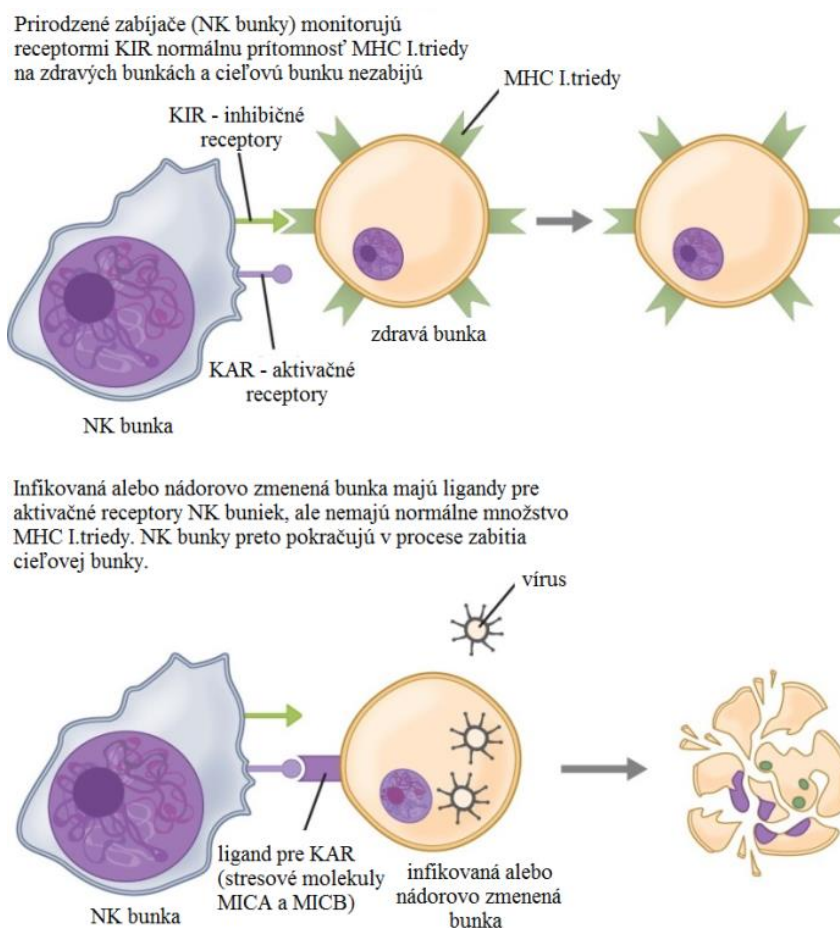
NK bunky **pochádzajúce z lymfoidnej línie** sa zameriavajú na rozpoznanie a zničenie zmenených buniek tela. **Sú schopné rýchlo zabíjať niektoré nádorovo zmenené a vírusmi infikované bunky.** Sú to veľké granulárne bunky, ktoré obsahujú vo svojich granulách perforíny a granzýmy, ktoré sú hlavnými cytotoxickými nástrojmi NK buniek. NK bunky zohrávajú dôležitú úlohu v obrane proti intracelulárnym vírusovým, bakteriálnym aj parazitárnym infekciám (napr. ľudia s deficitom NK buniek vykazujú zvýšenú vnímavosť k herpes vírusom).

NK bunky vstupujú do miesta zápalu, kde môžu byť stimulované cytokínom IL-12, ktorý je produkovaný aktivovanými makrofágmi. Začnú produkovať interferón IFN- $\gamma$ , ktorý je zas veľmi silným aktivátorom makrofágov. Tým sa vzájomne zvyšuje aktivácia NK buniek aj makrofágov (sú jedným z príkladov, kedy dva bunkové typy účinne spolupracujú pri eliminácii patogénov alebo zmenených buniek tela). NK bunky sú tiež aktivované interferónmi I. typu (IFN- $\alpha$  a IFN- $\beta$ ), ktoré sú produkované bunkami pri vírusovej infekcii. Produkciou početných cytokínov sa NK bunky zapájajú aj do regulácie imunitných procesov, ovplyvňujú prostredníctvom TNF- $\alpha$  a IFN- $\gamma$  diferenciáciu Th buniek do subpopulácie Th1, a to vedie k následnému rozvoju prevažne bunkového typu imunitnej odpovede (stimulácii makrofágov, ktoré zvyšujú svoju schopnosť fagocytovať patogény aj zvyšky poškodených tkanív).

### 9.2.1 Receptory NK buniek

Nato, aby NK bunky mohli fungovať v systéme vrodenej imunity, disponujú na svojom povrchu receptormi (obr. 28).





**Obr. 28 Rozpoznanie cieľových buniek NK bunkami** (upravené podľa:

<https://courses.lumenlearning.com/microbiology/chapter/cellular-defenses/>)

### Aktivačné receptory – KAR

**Aktivačné receptory KARs sú schopné rozpoznať na hostiteľských bunkách človeka prítomnosť stresových molekúl MICA a MICB.** Tieto stresové molekuly sa vyskytujú na bunkách, ktoré nie sú zdravé. Po väzbe receptorov KAR na stresové molekuly dôjde k prichyteniu NK buniek na cieľovú bunku a jej následnému zničeniu (obr. 28).

### Inhibičné receptory – KIR

Pred samotným zničením označenej cieľovej bunky vstupujú do hry ešte inhibičné receptory KIRs, ktoré monitorujú MHC molekuly I. triedy (prirodzene sa nachádzajúce na všetkých jadrových bunkách ľudského organizmu). Ak sa pomocou KIR vyhodnotí nízka úroveň expzie molekúl MHC I. triedy, tak NK bunka pokračuje v procese zabitia cieľovej bunky. Ak je však úroveň expzie molekúl MHC I. triedy v norme, vtedy je signál z aktivačných KAR zablokován (vyhráva informácia z KIR) a cieľová bunka nie je zabitá, ale je uvoľnená z NK bunky a zostáva žiť (obr. 28).

### Receptory pre protilátky – Fc

NK bunky sú tiež významným efektorom cytotoxicity závislej na protilátkach – ADCC. Disponujú na svojom povrchu receptormi pre protilátky (Fc receptor) a tie sú schopné viazať Fc časť protilátok. Ak sa stretne NK bunka s patogénom, ktorý bol opsonizovaný protilátkami, naviaže sa naň prostredníctvom Fc receptora a aktivujú sa cytotoxické mechanizmy, ktoré vedú k zničeniu infikovanej bunky. Je treba vedieť, že ADCC nie je to isté ako fagocytóza, kde sú patogény pohltené a usmrtené vnútri fagocytu. Pri ADCC sú patogény príliš veľké na pohltenie fagocytmi a usmrtené sú extracelulárne.

#### 9.2.2 Zničenie cieľových buniek NK bunkami

Zničenie nádorových alebo vírusom infikovaných buniek (cieľových buniek) prebieha po rozpoznaní NK bunkami, ktoré vyprázdnia obsah svojich cytoplazmatických granúl do extracelulárneho priestoru v mieste kontaktu s cieľovou bunkou. Perforíny vytvoria diery v membráne cieľovej bunky, granzýmy a ďalšie enzýmy vstúpia cez diery do cieľovej bunky a zničia jej vlastné enzýmy. Cieľová bunka je potom zničená apoptózou a zlikvidovaná makrofágmi (obr. 28).

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Definujte, čo je fagocytóza? Fagocytóza je schopnosť profesionálnych fagocytov rozpoznať, pohltiť, usmrtiť a degradovať usmrtený cudzorodý materiál.

Ktoré typy fagocytov sa zaraďujú medzi profesionálne fagocyty? Na jednej strane sú to polymorfonukleárne leukocyty, nazývané aj mikrofágy (hlavne neutrofily). Na druhej strane sú to makrofágy a ich prekursori monocyty. Výnimočným typom sú dendritové bunky, ktoré zohrávajú významnú úlohu v spracovaní a prezentovaní antigénov T-lymfocytom.

Akým termínom sa označuje proces, pri ktorom neutrofily prestupujú pomedzi endotelové bunky ciev? Je to diapedéza alebo extravazácia.

Ktoré bunky imunity sú významné pri akútnom zápale a ich úlohou je fagocytovať a usmrtiť patogény, ale neprezentujú antigén a po splnení úlohy odumierajú a sú súčasťou hnisu? Sú to neutrofily.

Vymenujte základné kroky fagocytózy? Samotnej fagocytóze predchádza chemotaxia. Fagocytóza začína adherenciou, ingesciá, vznik fagozómu, fúziou s lyzozómom za vzniku fagolyzozómu, deštrukciou pohltenej látky a vylúčením odpadového materiálu.

Aký význam majú NK bunky v organizme? Pochádzajú z lymfoidnej línie a zameriavajú sa na rozpoznanie a zničenie zmenených buniek tela. Sú schopné rýchlo zabíjať niektoré nádorovo zmenené a vírusmi infikované bunky. Sú to veľké granulózne bunky, ktoré majú vo svojich granulách perforíny a granzýmy, ktoré sú hlavnými cytotoxickými nástrojmi NK buniek.



## DESIATA KAPITOLA

# Zvýšená telesná teplota a zápal

## Hlavné témy

---

- ❖ Horúčka
    - ✓ Pyrogény
    - ✓ Sprievodné účinky horúčky
  - ❖ Zápal
    - ✓ Zápalová odpoveď
    - ✓ Zápalové bunky
    - ✓ Humorálne zložky zápalovej odpovede
    - ✓ Prostredie v mieste zápalu
    - ✓ Reparačné procesy
- 

Normálna telesná teplota meraná v axile je 37 °C, pri meraní v rekte je 37,5 °C. Nad tieto hodnoty je zvýšená telesná teplota. Ak presiahne 38 °C v axile alebo 38,5 °C v rekte, ide o horúčku.

## 10.1 Horúčka

Horúčka predstavuje fyziologickú reakciu organizmu zvyčajne na prítomnosť infekčného vyvolávateľa, ale existujú aj neinfekčné príčiny horúčky (napr. nádory). Na druhej strane však môžu nastať prípady, kedy aj závažné infekcie prebiehajú bez horúčky (napr. u novorodencov, starých ľudí a pod.). Horúčka **je reakcia organizmu na rozličné látky označované ako pyrogény**.

### 10.1.1 Pyrogény

Pyrogény môžu pochádzať z vonkajšieho prostredia (exogénne pyrogény) alebo z vnútorného prostredia (endogénne pyrogény). Najčastejšími **exogénnymi pyrogénmi** sú patogény a ich mikrobiálne produkty – napr. zložky bakteriálnej steny, exotoxíny,

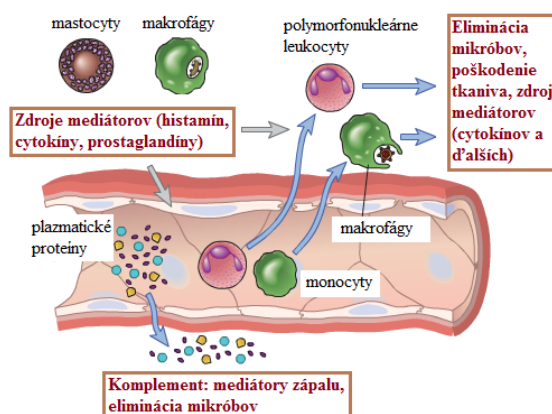
endotoxíny, komplexy antigénu s protilátkou. Pôsobením týchto látok na bunky imunity dochádza k uvoľňovaniu rozličných zápalových mediátorov, ktoré môžu pôsobiť ako **endogénne pyrogény** – ide predovšetkým o rôzne cytokíny (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ). Endogénne pyrogény (IL-1) sa dostávajú z obehu do termoregulačného centra v mozgu, kde sa zvýši tvorba prostaglandínu E<sub>2</sub> a centrum sa nastaví na vyššiu teplotu. Nasleduje triaška a vazokonstrikcia v koži, čím sa zvyšuje tvorba tepla a zároveň sa zníži jeho výdaj, čo napokon vedie k samotnému zvýšeniu telesnej teploty. Endogénne pyrogény (IL-6) sa dostávajú aj do pečene, kde stimulujú tvorbu proteínov akútnej fázy.

### 10.1.2 Sprievodné účinky horúčky

K sprievodným **negatívnym účinkom horúčky** patria tachykardia, tachypnoe, zvýšený metabolizmus a spotreba kyslíka, zmätenosť až delírium, prípadne febrilné kŕče pri vysokej horúčke pozorované najmä u malých detí. K **pozitívnym účinkom horúčky** patrí mobilizácia imunitnej odpovede, rýchlejšie reagovanie imunitných buniek, zosilnenie fagocytózy a intracelulárneho ničenia patogénov. Najmä u vírusov je vplyv horúčky významný, pretože sa horšie množia a ľahšie inaktivujú pri zvýšenej telesnej teplote. Od pravej horúčky je treba odlíšiť **hypertermiu**, ktorá vzniká pri fyzikálnom prehriatí organizmu (prehriatie, úpal) a ovplyvňuje sa len fyzikálnymi spôsobmi.

## 10.2 Zápal

**Zápal je reakcia organizmu na poškodenie chemické, mechanické alebo infekčné, na ktorom sa zúčastňujú vrodene aj získané imunitné mechanizmy.** Zápalová odpoveď môže byť lokálna alebo celková; akútna alebo chronická. Základnými prejavmi akútneho zápalu sú bolesť (dolor), teplo (calor), začervenanie (rubor), opuch (tumor) a poškodenie funkcie (functio laesa). **Hlavným cieľom zápalovej odpovede je pritiahnúť do miesta zápalu bunky a rozpustné molekuly, ktoré by pomohli v obrane proti patogénom a škodlivinám (obr. 29).**



**Obr. 29 Akútny zápal** (upravené podľa: Abas et al. Basic Immunology: Functions and Disorders of the immune system 4th ed., 2014) Bunky imunity produkujú v tkanive rôzne cytokíny a mediátory ako odpoveď na produkty mikróbov a poškodené hostiteľské bunky. Ich pôsobením sa zvyšuje permeabilita ciev, vedú k prestupu plazmatických proteínov (zložiek komplementu) a leukocytov z krvi do tkaniva. Leukocyty ničia mikroorganizmy, odstraňujú poškodené bunky a podporujú zápal a reparačné procesy.

Ak organizmus nedokáže akútnym zápalom zlikvidovať škodlivinu, zápal prechádza do chronického. **Akútny zápal** zvyčajne odoznie bez následkov a postihnuté tkanivo sa úplne zhojí. V prípade **chronického zápalu** dochádza k vzniku následkov v zmysle určitého stupňa deštrukcie postihnutého tkaniva, nezriedka vedie k zjazvovateniu a trvalému poškodeniu. Medzi najvýznamnejšie zložky zápalu patria zápalové bunky (najmä neutrofily, makrofágy, mastocyty a ďalšie), humorálne zložky (komplement, lyzozým, transferín, proteíny akútnej fázy, zložky hemokoagulačného a kinínového systému a ďalšie) a prostredie v mieste zápalu (nízke pH).

### 10.2.1 Zápalová odpoveď

Počas zápalu dochádza k štyrom dôležitým procesom:

- **Vazodilatáciou** sa rozšíria kapiláry, čo vedie k začervneniu a zvýšeniu teploty v mieste zápalu a k zvýšenému prísunu imunitných buniek a molekúl.
- **Zvýšená vaskulárna permeabilita** umožňuje bunkám a molekulám ľahšie prestupovať z krvi do tkanív, v ktorých prebieha zápal. Únik plazmatickej tekutiny z krvi do tkanív a infiltrácia leukocytmí prispievajú k opuchu.
- **Aktivácia endotelových buniek** kapilár v postihnutej oblasti vedie k zvýšenej produkcii rôznych mediátorov, ktoré robia kapiláry priepustnejšie pre tekutiny, bunky aj molekuly. Na povrchu endotelií zapálených tkanív sa vplyvom zápalových cytokínov exprimujú adhezívne molekuly, ktoré na seba „nalepia“ leukocyty.
- **Pôsobením chemotaktických látok** uvoľnených v mieste poškodenia prestúpia tieto leukocyty pomedzi endotelové bunky kapilár do tkaniva. Tento proces sa označuje ako diapedéza (extravazácia), potom je ich ďalší pohyb riadený chemotakticky látkami uvoľnenými v mieste poškodenia tkaniva (zápalu).

### 10.2.2 Zápalové bunky

Počas zápalu sa aktivujú zápalové bunky, najmä **neutrofily a tkanivové makrofágy**, ktoré na jednej strane pohlcujú a likvidujú patogény fagocytózou a na druhej strane produkujú množstvo cytokínov, zápalových mediátorov, ktoré zvyšujú vaskulárnu permeabilitu, aktivujú endotelové bunky a disponujú mnohými ďalšími funkciami. **Mastocyty** po degranulácii sú zdrojom histamínu, heparínu a proteolytických enzýmov, ktoré prispievajú k vazodilatácii, zvýšenej vaskulárnej permeabilite a chemotakticky priťahujú neutrofily.

Bunky, ktoré sú pritiahnuté do miesta zápalu, produkujú enzýmy, ktoré poškodzujú aj zdravé bunky. Ak sa uvoľní väčšie množstvo enzýmov do extracelulárneho priestoru, dôjde k skvapalneniu tkaniva a odumretiu niektorých neutrofilov. Taktiež neutrofily, ktoré si splnili svoju úlohu, odumierajú a odstraňované sú ďalšími fagocytmi – makrofágmi. Odumreté bunky a tekutina skvapalneného tkaniva sú súčasťou hnisu.

Antigény mikroorganizmov sú zachytené v mieste zápalu **antigén prezentujúcimi bunkami** a dostávajú sa do regionálnych lymfatických uzlín a stimulujú **T a B-lymfocyty**. Efektorové bunky subpopulácie T-lymfocytov spätne stimulujú makrofágy, zvyšujú

fagocytózu a cytotoxickú aktivitu, čím pomáhajú odstraňovať mikroorganizmy a zvyšky poškodeného tkaniva. **Plazmatické bunky**, ktoré vznikli z B-lymfocytov pomáhajú pri opsonizácii mikroorganizmov a aktivácii komplementu (klasickou cestou). Na zápalovej odpovedi sa teda zúčastňujú aj vrodené aj získané mechanizmy imunity.

### 10.2.3 Humorálne zložky zápalovej odpovede

**Mediátory uvoľnené z fagocytov** stimulujú lokálne nervové zakončenia a spôsobujú bolesť. Niektoré mediátory pôsobia ako endogénne pyrogény a podieľajú sa na zvýšení telesnej teploty (jeden zo systémových prejavov zápalu). Aktivuje sa **hemokoagulačný systém**, významný je fibrinogén, a to nielen pri reparačných procesoch, ale aj pri zábrane šírenia patogénov do krvného riečišťa a jeho chemotaktickým pôsobením na fagocyty. **Bradykinín** zapríčiňuje bolesť, vazodilatáciu a zvyšuje vaskulárnu permeabilitu. Významné sú pri zápale tiež **zložky komplementu** pre svoje opsonizačné, degranulačné, chemotaktické a lytické účinky.

Na zápalovej odpovedi sa podieľa aj mnoho ďalších typov buniek a biochemických ciest. Podľa toho, aký je rozsah poškodenia a aká je dĺžka trvania zápalu, dochádza k systémovej odpovedi organizmu. Ak dôjde k masívnemu preniknutiu mikroorganizmov do krvného obehu vzniká septický šok. Uvoľní sa množstvo zápalových mediátorov, ktoré môžu spôsobiť masívnu vazodilatáciu, následnú hypotenziu až obehové zlyhanie. **Charakteristickým systémovým prejavom zápalu je horúčka**, ktorá je spôsobená stimuláciou termoregulačného centra v mozgu prostaglandínom  $E_2$ . Stimuláciou hepatocytov zas dochádza k produkcii **proteínov akútnej fázy**, ktoré disponujú mnohými biologickými schopnosťami s cieľom pomáhať v eliminácii infekčných vyvolávateľov, napr. ako opsoníny uľahčujú fagocytom rozpoznávanie patogénov. V priebehu rozsiahlejšieho zápalu vplyvom **cytokínov** dochádza k zvýšenej tvorbe nových a nových leukocytov v kostnej dreni, a tým aj k ich zvýšenej koncentrácii v krvi – leukocytóze.

### 10.2.3 Prostredie v mieste zápalu

V mieste zápalu **klesá pH, pretože sa hromadí kyselina mliečna produkovaná zápalovými bunkami**. Nízke pH potom pôsobí **antimikrobiálne**. Mení sa aj parciálny tlak kyslíka, ktorý sa v mieste zápalu najskôr zvýši, kvôli lepšiemu prekrveniu. Neskôr však klesá parciálny tlak kyslíka kvôli opuchu a nekróze, čo ovplyvňuje množenie mikroorganizmov.

### 10.2.4 Reparačné procesy

Napokon dochádza k reparačným procesom, na ktorých sa zúčastňuje celé spektrum cytokínov, enzýmov, hormónov. Dochádza k odstráneniu poškodených fagocytov a aktivujú sa fibroplastické mechanizmy, regenerácia a remodelácia tkaniva. Bohužiaľ v prípade chronického zápalu prevažujú fibrotizačné mechanizmy s deštrukciou tkaniva a často aj so zjazvovatením a trvalým poškodením.

## OTÁZKY a ODPOVEDE

Čo sú pyrogény? Pyrogénmi môžu byť rôzne patogény a ich mikrobiálne produkty, ale aj rozličné zápalové mediátory, napr. cytokíny, ktoré sa dostávajú z obehu do termoregulačného centra v mozgu a centrum sa nastaví na vyššiu teplotu. Reakciou organizmu na pyrogény je horúčka. Pyrogény môžu pochádzať z vonkajšieho prostredia (exogénne pyrogény) alebo z vnútorného prostredia (endogénne pyrogény).

Aké sú negatívne účinky horúčky? Tachykardia, tachypnoe, zvýšený metabolizmus a spotreba kyslíka, zmätenosť až delírium, u malých detí pri vysokej horúčke aj febrilné kŕče.

Aké sú pozitívne účinky horúčky? Mobilizácia imunitnej odpovede, rýchlejšie reagovanie buniek imunity, zosilnenie fagocytózy a intracelulárnej likvidácie patogénov, horšie množenie vírusov.

Definujte zápal? Zápal je reakcia organizmu na poškodenie chemické, mechanické alebo infekčné, na ktorom sa zúčastňujú vrodené aj získané imunitné mechanizmy. Zápalová odpoveď môže byť lokálna alebo celková; akútna alebo chronická.

Čo je hlavným cieľom zápalovej odpovede? Hlavným cieľom zápalovej odpovede je priťahnúť do miesta zápalu bunky a rozpustné molekuly, ktoré by pomohli v obrane proti patogénom a škodlivinám.

Charakterizujte prostredie v mieste zápalu? V mieste zápalu klesá pH (hromadí sa kyselina mliečna produkovaná zápalovými bunkami). Nízke pH pôsobí antimikrobiálne. Mení sa aj parciálny tlak kyslíka. Najskôr sa zvýši, kvôli lepšiemu prekrveniu. Neskôr klesá kvôli opuchu a nekróze.

## JEDENÁSTA KAPITOLA

# Získané imunitné mechanizmy: molekuly imunoglobulínov

### Hlavné témy

---

- ❖ Základné znaky špecifickej imunity
  - ❖ Imunoglobulíny
    - ✓ Štruktúra imunoglobulínov
      - Imunoglobulínové domény
      - Fragmenty imunoglobulínov
      - Afinita a avidita
    - ✓ Triedy imunoglobulínov - izotypy
      - Imunoglobulín IgM
      - Imunoglobulín IgG
      - Imunoglobulín IgA
      - Imunoglobulín IgE
      - Imunoglobulín IgD
    - ✓ Alotypy, idiotopy, idiotypy a idiotypová sieť
- 

### 11.1 Základné znaky špecifickej imunity

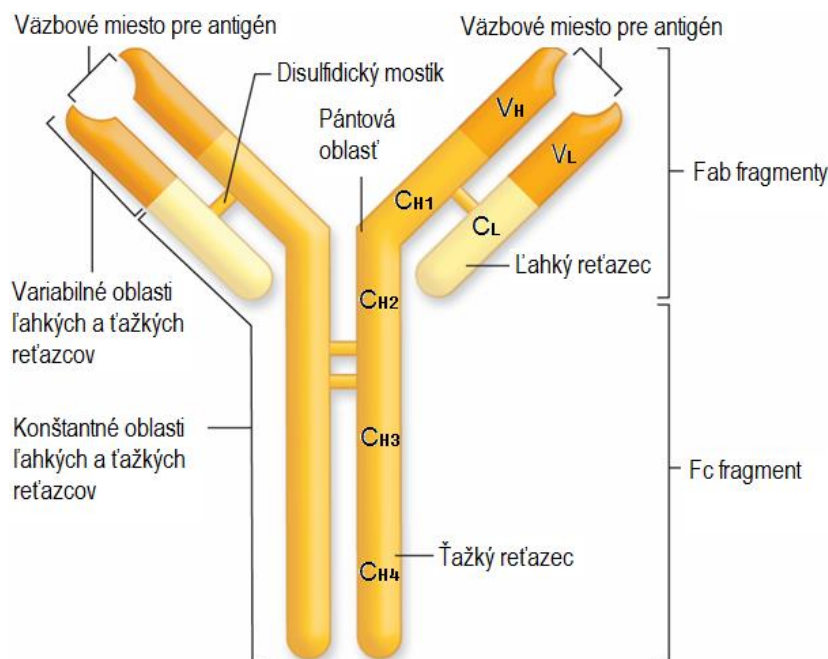
**Získané špecifické (tiež adaptívne) imunitné mechanizmy využívajú niektoré molekuly, ktoré sú spoločné aj pre získanú aj pre vrodenú imunitu.** Niektoré sú charakteristické len pre procesy získanej imunity (receptory na T a B bunkách). Špecifické aj nešpecifické imunitné mechanizmy sú navzájom dômyselne prepojené. Kľúčovými bunkami v systéme špecifickej imunity sú T bunky pochádzajúce z týmusu a B bunky z kostnej drene. Obidva imunitné mechanizmy **sú navzájom prepojené antigén prezentujúcimi bunkami a mnohými molekulami.**

**Špecifická imunita je prispôsobená len na určitý agens, nededí sa, získava sa až v priebehu života a je jedinečná pre každého jedinca.** Hlavnými znakmi špecifickej imunity sú **pamäť a špecificita**. Vďaka imunologickej pamäti je špecifická odpoveď pri opakovanom kontakte s tým istým antigénom rýchlejšia a intenzívnejšia ako pri prvom kontakte s daným antigénom. Špecifická imunita umožňuje veľmi jemné rozlišovanie antigénov.

Podobne ako systém vrodenej imunity, aj **získaná imunita má zložku humorálnu a celulárnu**. Humorálna zložka získanej imunity je reprezentovaná protilátkami – imunoglobulínmi, ktoré sú produkované B bunkami. Účinné sú v obrane najmä proti patogénom vyskytujúcim sa v extracelulárnom prostredí. Celulárna zložka získanej imunity (bunkami sprostredkovaná imunita) je reprezentovaná T bunkami a má význam najmä v obrane proti intracelulárnym patogénom.

## 11.2 Imunoglobulíny

Imunoglobulíny (protilátky) sú **glykoproteíny** (obr. 30). **Produkované sú plazmatickými bunkami, ktoré vznikajú z B-lymfocytov po kontakte s antigénom.** Vytvorené imunoglobulíny sú následne schopné **špecificky reagovať s tým antigénom, ktorý navodil ich tvorbu.** Okrem schopnosti špecificky viazať antigén sa imunoglobulíny podieľajú aj na neutralizácii antigénov. Väzba medzi antigénom a protilátkou vyvoláva ďalšie reakcie, ktoré vedú k odstráneniu antigénu (napr. opsonizácia, aktivácia komplementu, aktivácia makrofágov).



**Obr. 30 Štruktúra imunoglobulínu** (upravené podľa: <https://basicmedicalkey.com/the-immune-system-lymphoid-organs/>)



### 11.2.1 Štruktúra imunoglobulínov

Základnú štruktúru imunoglobulínu tvoria dva identické dlhé ťažké (H – heavy) reťazce a dva identické krátke ľahké (L – light) reťazce polypeptidov navzájom prepojené disulfidickými väzbami (obr. 30). Imunoglobulín má tvar písmena Y. Pántová oblasť molekuly imunoglobulínu je veľmi flexibilná, umožňuje otváranie a zatváranie ramien imunoglobulínu, aby sa umožnila lepšia väzba medzi imunoglobulínom a antigénnymi determinantami na povrchu antigénu. Ľahké reťazce imunoglobulínov môžu byť typu kappa ( $\kappa$ ) alebo lambda ( $\lambda$ ). **Ľahké reťazce môžu byť iba jedného typu, buď  $\kappa$  alebo  $\lambda$ .** Nikdy nie sú kombinované obidva v rámci jednej molekuly imunoglobulínu. **Ťažké reťazce môžu byť typu mí ( $\mu$ ), gamma ( $\gamma$ ), alfa ( $\alpha$ ), epsilon ( $\epsilon$ ) alebo delta ( $\delta$ ).** Podľa typu ťažkého reťazca v molekule imunoglobulínu sa rozlišuje 5 tried (5 izotypov): IgM (mí –  $\mu$ ), IgG (gamma –  $\gamma$ ), IgA (alfa –  $\alpha$ ), IgE (epsilon –  $\epsilon$ ) a IgD (delta –  $\delta$ ).

#### Imunoglobulínové domény

Ťažké aj ľahké reťazce sa skladajú z menších častí, ktoré sa označujú ako domény (oblasti). Každá doména obsahuje približne 110 aminokyselín a prepojené sú navzájom disulfidickými mostíkmi. **Ťažké reťazce majú štyri až päť domén, ľahké reťazce majú dve domény.** Všetky reťazce majú aj variabilné aj konštantné domény. Domény, ktoré sa nachádzajú na N-konci ťažkých a ľahkých reťazcov, sa nazývajú **variabilné domény** ( $V_H$  a  $V_L$ ).  $V_H$  je variabilná doména ťažkého reťazca a  $V_L$  je variabilná doména ľahkého reťazca. Sekvencie aminokyselín vo variabilných doménach sa líšia medzi jednotlivými imunoglobulínmi, pretože boli vyprodukované rôznymi klonmi plazmatických buniek. Variabilné domény obidvoch (ťažkých aj ľahkých) reťazcov tvoria väzbové miesto pre antigén. Ostatné domény sa nazývajú konštantné, pretože sa neodlišujú u reťazcov toho istého typu. **Konštantné domény** ľahkých reťazcov sú označované  $C_L$ . Konštantné domény ťažkých reťazcov sa označujú  $C_H$  ( $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$ , prípadne  $C_{H4}$ ), pričom tri konštantné domény na ťažkom reťazci majú IgG a IgA, štyri konštantné domény majú ostatné imunoglobulíny – IgM, IgE a IgD.

#### Fragmenty imunoglobulínov

Molekuly imunoglobulínov je možné proteolyticky štiepiť na fragmenty. Po rozštípení papaínom sa získajú dva identické fragmenty Fab a jeden fragment Fc. Fab fragment obsahuje variabilné časti ľahkého aj ťažkého reťazca, konštantnú časť ľahkého reťazca a prvú konštantnú časť ťažkého reťazca (v uvedenom poradí je to:  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  a  $C_{H1}$ ). Každý z Fab fragmentov obsahuje jedno väzbové miesto pre antigén (jedno epitop viažuce miesto), ktoré predstavuje kombináciu jednej variabilnej domény ľahkého  $V_L$  reťazca a jednej variabilnej domény ťažkého  $V_H$  reťazca ( $V_L + V_H$ ). Fc fragment je C-koncová časť imunoglobulínu. Tvorená je konštantnými časťami ťažkého reťazca ( $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$ , prípadne  $C_{H4}$ ). Fc fragment nemá schopnosť viazať antigén. Ale má schopnosť viazať sa na bunky, ktoré majú príslušné receptory pre tento fragment. Tieto receptory sú označované ako Fc receptory (FcR) a nachádzajú sa na povrchu niektorých buniek imunitného systému (makrofágov, neutrofilov, mastocytov, B-lymfocytov, dendritových buniek, NK buniek a ďalších).

### *Afinita a avidita*

Sily, ktorými sa viaže antigén s protilátkou sú pomerne slabé, ide o van der Waalsove, ionové, vodíkové a hydrofóbne väzby. **Sila väzby medzi jedným epitopom určitého antigénu a väzbovým miestom protilátky** sa označuje ako **afinita protilátky**. Súvisí so špecificitou protilátok. Afinita rastie v priebehu špecifickej imunitnej odpovede na špecifický antigénny podnet. Názov **avidita** sa používa pre **označenie celkovej sily väzby polyvalentnej protilátky s polyvalentným antigénom**, čiže celkovej sily väzby medzi komplexným antigénom s mnohými epitopmi a súčasne zapojenými väzbovými miestami protilátky. Napríklad IgM je pentamér a má 10 väzbových miest. Môže preto viazať antigény s veľmi veľkou aviditou, aj v prípade, že by afinita jednotlivých väzbových miest bola malá. **Komplexy antigénov s protilátkami sa nazývajú imunokomplexy.**

### **11.2.2 Triedy imunoglobulínov – izotypy**

**Izotypy (triedy) imunoglobulínov sú určené typom ťažkého reťazca.** Existuje 5 základných typov ťažkých reťazcov, a preto aj 5 izotypov imunoglobulínov. Reťazce  $\gamma$  môžu mať štyri subtypy ( $\gamma_1 - \gamma_4$ ). Reťazce  $\alpha$  môžu mať dva subtypy ( $\alpha_1$  a  $\alpha_2$ ). Imunoglobulíny, ktoré sú tvorené týmito typmi a subtypmi reťazcov sa nazývajú IgM, IgG (IgG1 – IgG4), IgA (IgA1 a IgA2), IgE a IgD. Jednotlivé izotypy imunoglobulínov sa môžu vyskytovať vo viacerých formách, ale prevažne vo forme monomérov. Na povrchu B buniek sa nachádza monomér IgM a IgD, ktoré tvoria receptor BCR (monomér imunoglobulínu viazaný na B bunky slúži ako epitop-špecifický receptor). V rozpustnej forme sa vyskytujú ako monoméry IgG a IgE, ako pentamér IgM a vo forme monoméru alebo diméru IgA (tab. 3).

#### *Imunoglobulín IgM*

Imunoglobulín IgM sa môže nachádzať buď viazaný na povrchu buniek ako monomér (väčšina B buniek má na svojom povrchu IgM) alebo v rozpustnej forme ako pentamér. Štruktúra pentaméru je tvorená piatimi monomérmi, ktoré sú spojené do kruhu a viazané sú disulfidickými mostíkmi a jedným extra proteínom nazývaným J reťazec. Ťažký reťazec IgM má štyri konštantné domény ( $C_{H1} - C_{H4}$ ). Ako pentamér má až 10 väzbových miest pre antigén (10 epitop viažucich miest). Je prvým izotypom protilátok, ktoré sa začnú tvoriť po kontakte organizmu s antigénom. Je účinný pri imobilizácii antigénu, pôsobí ako opsonín, uľahčuje fagocytózu, aktivuje komplement klasickou cestou, pretože najúčinnnejšie viaže C1 zložku komplementu. Je dôležitý v primárnej imunitnej odpovedi.

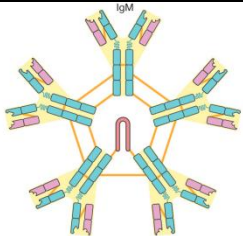
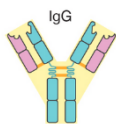

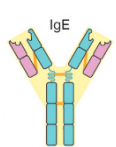
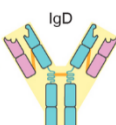
#### *Imunoglobulín IgG*

Imunoglobulín IgG je najväčšou mierou zastúpený imunoglobulín v sére. Vyskytuje sa vo forme monoméru. U ľudí sa vyskytuje v štyroch podtriedach označovaných IgG1 – IgG4 (podľa subtypu reťazca  $\gamma$ ). Najčastejší je IgG1. Imunoglobulín IgG aktivuje komplement klasickou cestou, dobre sa viaže na FcR receptory fagocytov. Účinne opsonizuje a neutralizuje mikroorganizmy, zúčastňuje sa na reakciách ADCC, na

hypersenzitívnych reakciách. IgG ako jediné prechádzajú cez placentu do krvného obehu plodu. Transplacentárne prenesené IgG sú podkladom prirodzenej pasívnej imunity novorodenca. Sú protektívne. Sú dôležité v sekundárnej imunitnej odpovedi.

**Tab. 3 Izotypy imunoglobulínov** (vlastné spracovanie)

(obrázky použité v tabuľke: <https://www.britannica.com/science/antibody>)

	Názov	Typ reťazca	Fixácia komplementu	Funkcie
	IgM	mí – $\mu$	Áno	dôležité sú v primárnej odpovedi, po kontakte s antigénom sa začínajú tvoriť ako prvé, fixujú komplement, pôsobia ako opsonín, uľahčujú fagocytózu, vo forme monoméru slúži ako BCR
	IgG	gamma – $\gamma$	Áno	dôležité sú v sekundárnej odpovedi, hlavné imunoglobulíny séra, opsonizujú, neutralizujú antigény, aktivujú komplement, prenášajú sa aj transplacentárne
	IgA	alfa – $\alpha$	Nie	vyskytuje sa ako sérový (monomér alebo dimér) alebo slizničný (len dimér) v sekrétoch slizníc, mlieku, slzách, slinách, opsonizuje, nefixuje komplement, zabezpečuje obranu slizníc
	IgE	epsilon – $\epsilon$	Nie	uplatňujú sa v obrane proti mnohobunkovému parazitu, pri alergických reakciách, viažu sa svojim Fc koncom na receptory niektorých buniek imunity (hlavne mastocytov, bazofilov, eozinofilov)
	IgD	delta – $\delta$	Nie	je monomér, slúži ako BCR, v sére sa vyskytuje v nestabilnej forme

### Imunoglobulín IgA

Imunoglobulín IgA sa vyskytuje ako sérový alebo slizničný imunoglobulín. V sére (sérový IgA) sa nachádza väčšinou vo forme monoméru alebo aj diméru. V sekrétoch slizníc gastrointestinálneho, respiračného traktu, v slinách, pote, materinskom mlieku a kolostre sa nachádza iba vo forme diméru (slizničný IgA). Monoméry IgA sú v dimére spojené J reťazcom. Slizničný IgA obsahuje navyše aj sekrečný komponent, ktorý chráni IgA pred pôsobením proteolytických enzýmov v sekrétoch. IgA sa vyskytuje u ľudí v dvoch podtriedach IgA1 a IgA2. Pôsobia ako opsoníny, neaktivujú komplement. Zabezpečujú obranu slizníc. Bránia adhéziu mikroorganizmov na povrch slizníc a neutralizujú vírusy. Denne je vyprodukované a uvoľnené na slizničné povrchy veľké

množstvo týchto imunoglobulínov (denne je to viac ako všetkých ostatných izotypov spolu).

### *Imunoglobulín IgE*

Imunoglobulín IgE sa nachádza v sére u ľudí vo veľmi nízkych koncentráciách (najnižšie zo všetkých tried imunoglobulínov). Podobne ako IgM má štyri konštantné domény na ťažkom reťazci. IgE má špeciálne uplatnenie, a to v obrane proti mnohobunkovému parazitom na slizniciach, zapojený je do alergických reakcií (hypersenzitívnych reakcií I. typu), zúčastňuje sa na reakciách ADCC. Na povrchu mastocytov, bazofilov, monocytov a eozinofilov sa nachádzajú receptory FcR pre tieto imunoglobulíny. Väzbou antigénu na IgE naviazané na membráne týchto buniek dochádza k ich degranulácii a uvoľneniu biologicky aktívnych mediátorov. Uvoľní sa množstvo hydrolytických enzýmov, proteoglykanov (heparín, chondroitínsulfát), biogénnych amínov (histamín, serotonin) a tiež sa aktivuje metabolizmus kyseliny arachidonovej a následná tvorba prostaglandínov a leukotriénov. Zároveň sa uvoľňujú prozápalové cytokíny, ktoré ovplyvnia ďalšie imunitné procesy (aktivácia fagocytov, tvorba adhezívnych molekúl endotelu, stimulácia eozinofilov, ďalšia produkcia imunoglobulínov...). Uvoľnené enzýmy môžu priamo poškodzovať parazita alebo napomáhať jeho mechanickému odstráneniu – kašľom, peristaltikou. Vazoaktívne látky uvoľnené z granúl vedú takmer okamžite k prejavom včasnej alergickej reakcie (napr. na koži, v respiračnom trakte, GITe a pod.).

### *Imunoglobulín IgD*

Imunoglobulín IgD sa nachádza v sére v nestabilnej forme. Je to monomér. Viaže sa na povrch B buniek, kde pôsobí ako receptor spolu s IgM. Zistilo sa, že IgD sa nachádza aj v slinách, slzách, hliene nosa, mandliach – miestach, ktoré môžu byť častejšie atakované rôznymi mikroorganizmami.

### **11.2.3 Alotypy, idiotypy, idiotypy a idiotypová sieť**

Domény vo variabilných oblastiach ťažkých a ľahkých reťazcov imunoglobulínov sa odlišujú sekvenciou aminokyselín, ak sú vytvorené rôznymi B bunkami alebo plazmatickými bunkami. Ostatné domény majú len obmedzenú variabilitu, ak ide o ten istý izotyp imunoglobulínu. **Alotypy sú odlišné determinanty na molekule imunoglobulínu, ktoré odrážajú drobné rozdiely medzi jedincami rovnakého druhu v sekvenciách aminokyselín.** Nimi sa ľudia medzi sebou navzájom líšia, sú charakteristické pre každého človeka a dedia sa. Tieto determinanty alebo alotypy sú produktami jednotlivých aliel určitého génu a predstavujú typ imunoglobulínu charakteristický pre daného jedinca.

Jednotlivé protilátky sa navzájom odlišujú štruktúrou väzbového miesta pre antigén (majú odlišné variabilné oblasti  $V_H$  a  $V_L$ ). Tieto špecifické oblasti molekúl imunoglobulínov sa označujú ako **idiotypy**. Súhrn idiotopov sa označuje ako **idiotyp**. Ide teda o identické imunoglobulínové molekuly, ktoré boli vytvorené proti určitému antigénu. Proti idiotypom sa vytvárajú ďalšie protilátky, ktoré sa nazývajú antiidiotypové = v podstate je to protilátka proti protilátke. Je to zrkadlový obraz idiotypu (pôvodne vytvoreného proti antigénu), a preto má rovnakú štruktúru ako antigénny determinant,

ktorý navodil tvorbu prvej protilátky. Je to teda v istom zmysle „vnútorný obraz“ antigénu v našom imunitnom systéme a môžu sa vytvárať ďalšie generácie protilátok, ktoré sa môžu viazať s pôvodným antigénom.

Interakciami medzi prvými protilátkami a antiidiotypovými protilátkami vzniká **idiotypová sieť**, ktorá sa môže podieľať na regulácii protilátkovej odpovede.

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Čím je tvorená základná štruktúra imunoglobulínov? Základná štruktúra imunoglobulínu je tvorená dvoma identickými ťažkými reťazcami (H) a dvoma identickými ľahkými (L) reťazcami polypeptidov navzájom prepojených disulfidickými väzbami. Ťažké reťazce môžu byť typu  $\mu$  –  $\mu$ , gamma –  $\gamma$ , alfa –  $\alpha$ , epsilon –  $\epsilon$  a delta –  $\delta$ . Ľahké reťazce môžu byť typu kappa –  $\kappa$  alebo lambda –  $\lambda$ .

Ktorý imunoglobulín má najväčšie množstvo väzbových miest pre antigén a koľko? Imunoglobulín IgM, ktorý má ako pentamér až 10 väzbových miest pre antigén.

Aké funkcie má IgM? Je účinný pri imobilizácii antigénu, pôsobí ako opsonín, uľahčuje fagocytózu, aktivuje komplement klasickou cestou, pretože najúčinnšie viaže C1 zložku komplementu. Dôležitý je v primárnej imunitnej odpovedi.

Ktoré imunoglobulíny prechádzajú cez placentu? Ako jediné prechádzajú cez placentu do krvného obehu plodu imunoglobulíny IgG. Sú podkladom prirodzenej pasívnej imunity novorodenca.

Ktorý imunoglobulín sa vyskytuje v sekrétoch slizníc, slzách, slinách, materinskom mlieku a kolostre? Slizničný imunoglobulín IgA.

Vysvetlite uplatnenie IgE. IgE zohráva úlohu v obrane proti mnohobunkovým parazitom na slizniciach, zapojený je do alergických reakcií (hypersenzitivita I. typu), zúčastňuje sa na ADCC reakciách. IgE sú naviazané na receptory na povrchoch niektorých buniek. Keď sa na ne naviažu antigény, dôjde k degranulácii týchto buniek a uvoľnia sa rôzne enzýmy a biologicky aktívne látky (tie môžu priamo poškodzovať parazita alebo napomáhať jeho mechanickému odstráneniu napr. kašľom, peristaltikou). Vazoaktívne látky uvoľnené z granúl vedú takmer okamžite k prejavom včasnej alergickej reakcie.

Ktoré imunoglobulíny slúžia ako BCR na B-lymfocytoch? Imunoglobulíny vo forme monomérov IgM a IgD.

## DVANÁSTA KAPITOLA

# Molekuly hlavného histokompatibilného systému – MHC

### Hlavné témy

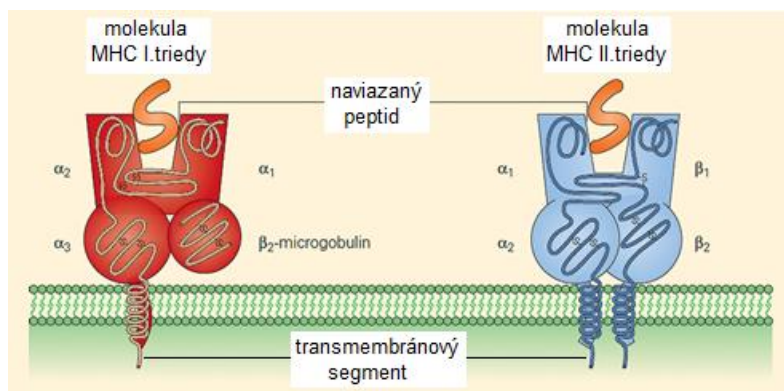
---

- ❖ MHC – major histocompatibility complex
    - ✓ Molekuly MHC I. triedy
    - ✓ Molekuly MHC II. triedy
    - ✓ Molekuly MHC III. triedy
  - ❖ Funkcia molekúl MHC
    - ✓ Spracovanie antigénu a prezentácia molekulami MHC
      - Prezentácia endogénnych antigénov molekulami MHC I. triedy
      - Prezentácia exogénnych antigénov molekulami MHC II. triedy
      - Krížová prezentácia
- 

### 12.1 MHC – major histocompatibility complex

Je to **súbor génov, ktorý sa nachádza na krátkom ramienku šiesteho chromozómu** v oblasti 6p21.31. Gény, ktoré sa tu nachádzajú, **kódujú množstvo enzýmov a molekúl, ktoré sú potrebné na aktiváciu a funkciu T a B buniek**. U ľudí je tiež označovaný ako HLA komplex (human leucocyte antigen complex) – ľudské leukocytové antigény. **Zodpovedné sú predovšetkým za prezentáciu antigénu**. Na povrchu MHC je žliabok, do ktorého môže byť zachytený peptidový fragment antigénu (obr. 31). Molekuly MHC sú jedinečné pre každého jedinca. Delia sa do troch tried: I., II. a III. triedy.



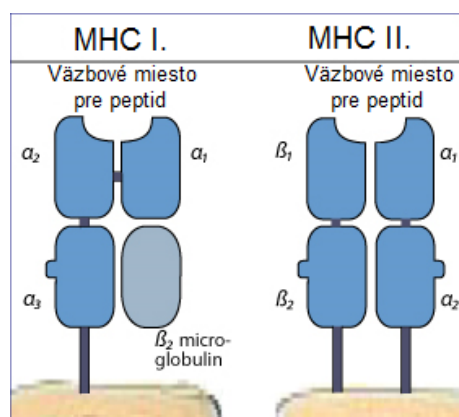


**Obr. 31 Štruktúra molekúl MHC I. a II. triedy s peptidovým fragmentom** (upravené podľa: Bellanti, JA (Ed). Immunology IV: Clinical Applications in Health and Disease. I Care Press, Bethesda, MD, 2012; <https://www.immunopaedia.org.za/immunology/basics/4-mhc-antigen-presentation/>)

### 12.1.1 Molekuly MHC I. triedy

Molekuly MHC I. triedy sú **glykoproteíny, ktoré exprimujú na svoj povrch všetky jadrové bunky**. Majú dva proteínové reťazce. Dlhší reťazec sa označuje  $\alpha$ . Má tri domény ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$ ). Tento reťazec je transmembránový a je nekovalentne viazaný na  $\beta_2$ -mikroglobulín, ktorý je podobný imunoglobulínovým doménam a je lokalizovaný výlučne na vonkajšom povrchu membrány (nemá ani transmembránový, ani intracelulárnu oblasť). Domény  $\alpha_1$  a  $\alpha_2$  vytvárajú väzbové miesto pre peptidy a to predstavuje akoby žliabok (alebo tiež kliešte) na povrchu molekuly MHC, pričom boky tohto žliabku tvoria práve domény  $\alpha_1$  a  $\alpha_2$  (obr. 31, 32). Molekuly MHC I. triedy môžu viazať do väzbového miesta peptidy s dĺžkou 8-10 aminokyselín.

V rámci molekúl MHC I. triedy sa rozlišujú **u ľudí tri klasické molekuly označované ako HLA-A, HLA-B a HLA-C**. Vyznačujú sa vysokou polymorfnosťou – s viac ako 100 alelami v každom lokuse. Okrem nich existujú aj ďalšie, menej významné, tzv. **neklasické molekuly** (napr. HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H), ktoré sú exprimované iba niektorými typmi buniek a majú limitovanú variabilitu. Môžu zohrávať úlohu v prezentácii uhl'ovodíkových, lipidových a peptidových fragmentov.



**Obr. 32 Štruktúra molekúl MHC I. a II. triedy schematická** (upravené podľa: <http://medweb4.unige.ch/immunologie/popup/barriers/ending/8MHCmolecules.htm>)



### 12.1.2 Molekuly MHC II. triedy

Molekuly MHC II. triedy sú **glykoproteíny, ktoré sa za normálnych okolností vyskytujú na antigén prezentujúcich bunkách** (dendritové bunky, monocyty, makrofágy, B-lymfocyty) **a na niektorých aktivovaných T-lymfocytoch**. Majú dva proteínové reťazce a obidva sú transmembránové. Reťazec  $\alpha$  má dve domény  $\alpha_1$  a  $\alpha_2$ . Reťazec  $\beta$  má rovnako dve domény  $\beta_1$  a  $\beta_2$ . Domény  $\alpha_1$  a  $\beta_1$  vytvárajú väzbové miesto pre peptidy (žliabok), podobne ako je to u molekúl MHC I. triedy (obr. 31,32). Molekuly MHC II. triedy môžu viazať do väzbového miesta peptidy s dĺžkou 15-35 aminokyselín.

V rámci molekúl MHC II. triedy sa rozlišujú **u ľudí tri typy označované ako HLA-DP, HLA-DQ a HLA-DR**.

### 12.1.3 Molekuly MHC III. triedy

Molekuly MHC III. triedy sa ani štruktúrne ani funkčne nepodobajú molekulám I. a II. triedy. V oblasti kódujúcej tieto molekuly sa nachádzajú gény pre niektoré zložky komplementu (C2, C4 a faktor B), gény pre TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , proteíny teplotného šoku Hsp70 a iné.

## 12.2 Funkcia molekúl MHC

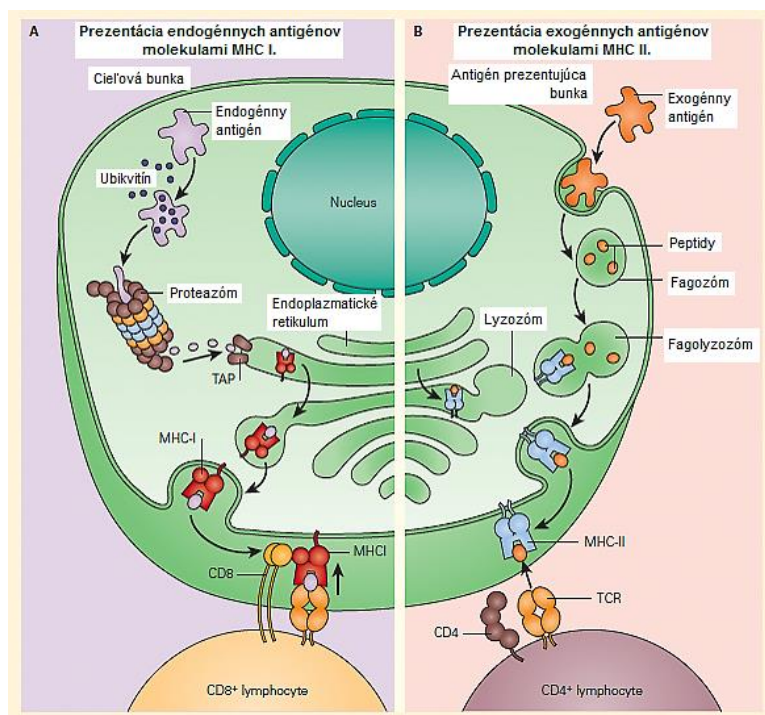
Základnou funkciou molekúl MHC je **viazať peptidové fragmenty a prezentovať ich na povrchu buniek tak, aby boli rozpoznateľné pre T-lymfocyty**. T-lymfocyty majú pre ne antigén-špecifické somaticky generované receptory TCR.

### 12.2.1 Spracovanie antigénu a prezentácia molekulami MHC

Peptidy, ktoré môžu molekuly MHC viazať do svojich väzbových miest, majú určité limitované množstvo aminokyselín (8-10, prípadne 15-35). Antigény však majú oveľa väčšiu veľkosť (môžu obsahovať až 1000 aminokyselín). Ako sa teda môžu dostať na MHC? Na to, aby sa mohli viazať do väzbových miest MHC molekúl, musia byť najskôr spracované na menšie peptidy vo vnútri buniek. MHC molekuly, ktoré majú naviazané peptidy, sú potom prepravené a exprimované na povrchu buniek. Spôsob, akým to prebehne, je však odlišný pre molekuly MHC I. a II. triedy. Tiež závisí od toho, či sa pôvodný antigén nachádza vnútri bunky (endogénny, intracelulárny) alebo pochádza z vonkajšej strany bunky (exogénny, extracelulárny).

**Endogénne antigény** pochádzajú zvnútra buniek, **sú spracované a prezentované molekulami MHC I. triedy**.

**Exogénne antigény** pochádzajú z vonkajšej strany bunky a **sú spracované a prezentované molekulami MHC II. triedy** (obr. 33).



**Obr. 33 Presentácia antigénov molekulami MHC I. a II. triedy** (upravené podľa: Bellanti, JA (Ed). Immunology IV: Clinical Applications in Health and Disease. I Care Press, Bethesda, MD, 2012; <https://www.immunopaedia.org.za/immunology/basics/5-overview-of-t-cell-subsets/>)  
 Vysvetlivky: **A** – prezentácia endogénnych antigénov molekulami MHC I. triedy; **B** – prezentácia exogénnych antigénov molekulami MHC II. triedy

### *Presentácia endogénnych antigénov molekulami MHC I. triedy*

Keď napríklad vírus infikuje bunku, začne bunka produkovať vírusové proteíny do cytoplazmy vo vnútri bunky. Peptidy, ktoré pochádzajú z týchto vírusových proteínov, sú prezentované molekulami MHC I. triedy (obr. 33A). Vírusy alebo iné intracelulárne mikroorganizmy sa viažu na bunkové membrány a vstupujú do vnútra bunky priamo (nie fagocytózou alebo makropinocytózou). V cytoplazme sú tieto proteíny označené na likvidáciu ubikvitínom. V cytoplazme bunky sa nachádzajú štruktúry rúrkovitého tvaru, ktoré sa nazývajú proteazómy. Majú proteolytickú aktivitu a sú schopné štiepiť ubikvitínom označené proteíny na peptidové fragmenty o veľkosti 5-15 aminokyselín (pričom optimálna veľkosť peptidových fragmentov pre väzbu s MHC I. triedy je 8-10 aminokyselín). Vzniknuté peptidové fragmenty sa dostanú peptidovou pumpou prostredníctvom transportných proteínov TAP-1 a TAP-2 do endoplazmatického retikula. V endoplazmatickom retikule po vytvorení reťazcov  $\alpha$  a  $\beta_2$ -mikroglobulínu dôjde k správne priestorovému poskladaniu MHC a do vytvoreného väzbového miesta (žliabku) na molekule MHC je naviazaný vhodný peptidový fragment. Následne prechádza do Golgiho aparátu, odtiaľ sa v špeciálnych transportných vezikulách presúva k bunkovému povrchu. Napokon sa objaví na povrchu bunky ako pMHC I. (peptid viazaný na molekulu MHC I. triedy) a tu môže byť rozpoznaný CD8+ T bunkami. MHC I. molekuly nerozlišujú medzi vlastnými (self) a cudzími (non-self) peptidmi, ale vlastné antigény vystavené na povrch zostávajú obvykle nerozpoznané, lebo väčšina autoreaktívnych CD8+ T buniek bola eliminovaná počas vývoja v týmuse.

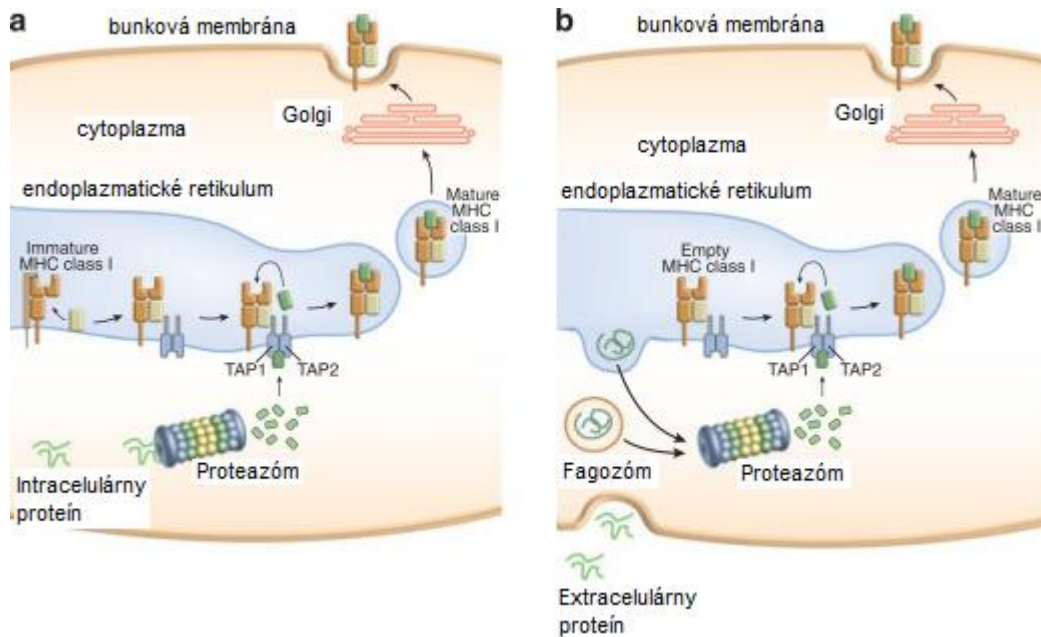
Neklasické molekuly I. triedy sa síce štruktúrne podobajú klasickým MHC I., ale špecializujú sa na väzbu zvláštnych antigénov. Napríklad NKT bunky odpovedajú na lipidy, glykolipidy alebo hydrofóbne peptidy prezentované neklasickými MHC I. molekulami.

### *Prezentácia exogénnych antigénov molekulami MHC II. triedy*

Molekuly MHC II. triedy prezentujú peptidové fragmenty antigénov pochádzajúcich z vonkajšej strany bunky (obr. 33B). Extracelulárne mikroorganizmy ako exogénne antigény vstupujú do bunky z okolia endocytózou, a to buď fagocytózou alebo makropinocytózou. V týchto procesoch majú význam predovšetkým antigén prezentujúce bunky. Po pohltení exogénneho antigénu sa vytvorí endozóm (endocytická vezikula), v ktorej je uzavretý pohltený antigén. Splynutím endozómu s lyzozómom vzniká endolyzozóm a v ňom je proteolytickými enzýmami štiepený antigén na malé peptidové fragmenty. V endoplazmatickom retikule vznikajú komplexy  $\alpha$  a  $\beta$  reťazcov, ktoré sú spojené s tretím proteínovým reťazcom nazývaným invariantný reťazec (invariantný reťazec blokuje väzbové miesto pre peptidové fragmenty na molekule MHC II. triedy, takže sa do neho nemôžu naviazať peptidy, ktoré majú byť prezentované molekulami MHC I. triedy). Vytvorené molekuly následne prechádzajú do Golgiho aparátu a vytvoria sa vezikuly, v ktorých sú tieto molekuly MHC II. triedy aj s invariantným reťazcom. Vezikuly Golgiho aparátu splynú s endolyzozómom, invariantný reťazec sa odštiepi a uvoľní sa väzbové miesto pre peptidové fragmenty exogénneho antigénu. Vzniká komplex pMHC II. triedy, transportovaný je na povrch bunky (peptid viazaný na molekulu MHC II. triedy) a tu môže byť rozpoznaný CD4<sup>+</sup> T bunkami. MHC II. molekuly nerozlišujú medzi peptidmi vlastnými a cudzími, ale ak sú na povrch vystavené vlastné antigény, tak sú obvykle nerozpoznané, lebo väčšina autoreaktívnych CD4<sup>+</sup> T buniek bola odstránená počas vývoja v týmuse.

### *Krížová prezentácia*

**V niektorých prípadoch sa exogénne antigény (pôvodne určené do žliabku MHC II. triedy) prezentujú pomocou MHC I. triedy** (napr. keď infikované bunky nemajú MHC II. triedy). V tomto prípade ide o krížovú prezentáciu – cross-presentation (obr.34b). Aktivácia T-lymfocytov (CD8<sup>+</sup>), ktoré ich rozpoznávajú, sa v tomto prípade nazýva krížová aktivácia. Môže k tomu dôjsť mechanizmom, kedy je exogénny antigén po sfagocytovaní transportovaný do cytoplazmy a rozštiepený v proteazómoch na peptidové fragmenty. Tie sa dostanú peptidovou pumpou do endoplazmatického retikula a tu sa naviažu do vhodného väzbového miesta molekuly MHC I. triedy (obdobne ako endogénne antigény). Ku krížovej prezentácii môže dochádzať aj mechanizmom, kedy sa peptidové fragmenty exogénneho antigénu vytvoria už v endolyzozómoch a potom sa priamo naviažu na MHC I. triedy.



**Obr. 34** Prezentácia endogénnych (a) a niektorých exogénnych (b) antigénov molekulami MHC I. triedy (upravené podľa: Andersen et al. Cytotoxic T Cells 2006, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X1532621X#f0015>)

## OTÁZKY a ODPOVEDE

Ktoré molekuly rozlišujeme u ľudí v rámci MHC I. triedy? Klasické molekuly označované ako HLA-A, HLA-B a HLA-C, ďalej neklasické molekuly (napr. HLA-E, HLA-F, HLA-G atď.), ktoré sú exprimované iba niektorými typmi buniek.

Ktoré molekuly rozlišujeme u ľudí v rámci MHC II. triedy? Tri typy molekúl označované HLA-DP, HLA-DQ a HLA-DR.

Čo je základnou funkciou molekúl MHC? Viazajú peptidové fragmenty a prezentovať ich na povrchu buniek tak, aby boli rozpoznateľné pre T-lymfocyty.

Ktoré molekuly MHC sa zúčastňujú prezentácie endogénnych antigénov? Endogénne antigény (peptidy pochádzajúce z vírusov alebo intracelulárne mikroorganizmy) sú prezentované molekulami MHC I. triedy. Vírusy alebo iné intracelulárne mikroorganizmy sa viažu na bunkové membrány a vstupujú do vnútra bunky priamo a sú rozštiepené na peptidové fragmenty, ktoré sa naviažu do žliabku molekuly MHC I. triedy.

Ktoré molekuly MHC sa zúčastňujú prezentácie exogénnych antigénov? Exogénne antigény sú extracelulárne mikroorganizmy, ktoré vstupujú do bunky z okolia endocytózou, a to buď fagocytózou alebo makropinocytózou. Po rozštiepení exogénnych antigénov na peptidové fragmenty sú prezentované molekulami MHC II. triedy.

Vysvetlite, čo znamená krížová prezentácia. Niektoré exogénne antigény sa môžu prezentovať aj prostredníctvom MHC I. triedy (hoci sú pôvodne určené pre MHC II.). Exogénny antigén je po sfagocytovaní transportovaný do cytoplazmy a rozštiepený v proteazómoch na peptidové fragmenty. Tie sa dostanú peptidovou pumpou do

## **Kapitola: 12.2 Funkcia molekúl MHC**

endoplazmatického retikula a tu sa naviažu do žliabku MHC I. Alebo sa peptidové fragmenty exogénneho antigénu vytvoria už v endolyzozómoch a potom sa priamo naviažu na MHC I.

## TRINÁSTA KAPITOLA

# Špecifická imunitná odpoveď: T a B bunky

### Hlavné témy

---

- ❖ Základná charakteristika buniek špecifickej imunity
  - ❖ T-lymfocyty
    - ✓ Vývoj T-lymfocytov
      - Receptory T buniek
      - Vývoj T-lymfocytov s  $\alpha\beta$  TCR
      - Vývoj T-lymfocytov s  $\gamma\delta$  TCR
  - ❖ B-lymfocyty
    - Receptory B buniek
    - ✓ Vývoj B-lymfocytov
      - Proces tvorby zrelých B-lymfocytov
      - Autoreaktívne B-lymfocyty a ich odstraňovanie
      - Diferenciácia B-lymfocytov na plazmatické bunky
- 

### 13.1 Základná charakteristika buniek špecifickej imunity

Špecifickú imunitnú odpoveď zabezpečujú T a B-lymfocyty. Na rozdiel od buniek vrodenej imunity, nie je morfológické odlišenie lymfocytov možné, pretože vyzerajú rovnako. Odlišiť ich možno len podľa veľkosti, podľa prítomnosti antigén špecifických receptorov a podľa orgánu, v ktorom prebieha ich vývoj. Malé lymfocyty majú v priemere 4 – 7  $\mu\text{m}$ , stredné 7 – 11  $\mu\text{m}$  a veľké 11 – 15  $\mu\text{m}$ . Na svojom povrchu môžu mať lymfocyty odlišné antigén špecifické receptory. Ide o **somaticky generované receptory**, vygenerované sú náhodnou rekombináciou génov na každom jednotlivom lymfocyte ešte pred samotným stretnutím antigénu a **označujú sa TCR na T-lymfocytoch a BCR na B-lymfocytoch**. Tieto receptory sú vygenerované náhodne, a preto sa môžu vytvoriť náhodne aj také receptory, ktoré reagujú na vlastné antigény. Vďaka selekčným mechanizmom sú



ale takéto bunky zlikvidované ešte predtým, ako sa stanú úplne zrelými, funkčnými a schopnými napadnúť vlastné tkanivá človeka. Vývoj lymfocytov prebieha v týmusu alebo v kostnej dreni, tzn. v primárnych lymfoidných orgánoch. Odtiaľ putujú do sekundárnych lymfoidných tkanív a orgánov (do sleziny, lymfatických uzlín a slizničného lymfoidného tkaniva), kde sa ďalej diferencujú na zrelé formy schopné odpovedať na antigén.

T-lymfocyty sú zodpovedné za bunkami sprostredkovanú imunitnú reakciu a B-lymfocyty za protilátkovú odpoveď, pretože po väzbe s antigénom sa menia na plazmatické bunky, ktoré sú schopné produkovať protilátky. Okrem týchto dvoch hlavných typov lymfocytov sú ešte ďalšie dve samostatné skupiny, a to NK bunky (veľké granulárne lymfocyty bez antigén špecifických somaticky generovaných receptorov – bez TCR a BCR) a NKT bunky, ktoré majú niektoré vlastnosti spoločné s NK bunkami a niektoré s T-lymfocytmi.

## 13.2 T-lymfocyty

T-lymfocyty vznikajú z kmeňových krvotvorných buniek v kostnej dreni. Považujú sa za najdôležitejších hráčov vo väčšine špecifických imunitných mechanizmov. Priamo sa zúčastňujú na imunitných reakciách, ale tiež regulujú a riadia aktivitu iných buniek. Sú nevyhnutné pre antigén špecifické bunkami sprostredkované (bunkové) a protilátkové imunitné odpovede. Majú rozhodujúcu úlohu pri likvidovaní buniek infikovaných intracelulárnymi parazitmi a pri regulovaní vývoja B-lymfocytov na plazmatické bunky.

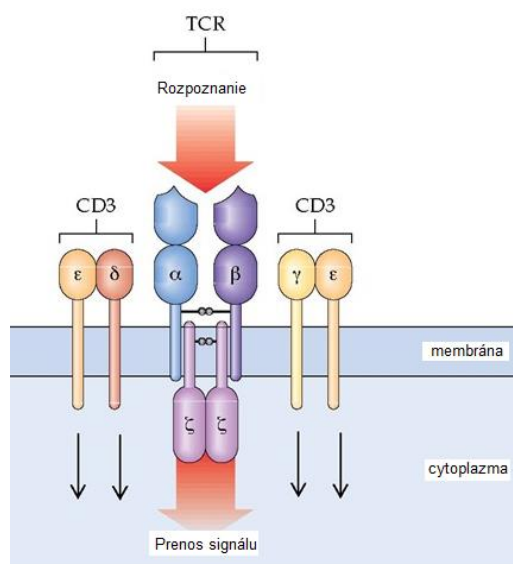
### 13.2.1 Vývoj T-lymfocytov

T bunky sa diferencujú niektorou z troch možných vývojových ciest. Môžu vzniknúť  $\alpha\beta$  T bunky,  $\gamma\delta$  T bunky alebo NKT bunky. V kostnej dreni vznikne nezrelá T bunka, ktorá sa nazýva **prothymocyt**. Prothymocyt migruje do týmusu a vstupuje do kôry týmusu. Označuje sa ako **kortikálny thymocyt** a po príchode zatiaľ neexprimuje žiadne povrchové molekuly. V krátkom čase ich rýchlo získa a môže podstúpiť náročné selekčné testy. Ak ich splní, môže prejsť do drene týmusu, pričom sa mení na **medulárny thymocyt**. **Zo všetkých thymocytov prejde úspešne selekčnými testami približne 1-5% a stanú sa zrelými T bunkami**, ktoré sa potom usídľujú v sekundárnych lymfoidných orgánoch. Ostatné thymocyty ( 95-99 %) buď opúšťajú týmus ešte pred týmito selekčnými testami (to sú  $\gamma\delta$  T bunky) alebo nesplnia náročné selekčné testy („nespravlia skúšky“) a musia podstúpiť apoptózu (programovanú smrť).

### Receptory T buniek

Antigén špecifický receptor T buniek patrí medzi somaticky generované receptory (obr. 35). Označuje sa ako TCR. Je to heterodimér viazaný na membránu, ktorý sa skladá sa z  $\alpha\beta$  alebo  $\gamma\delta$  párov ľahkých a ťažkých polypeptidových reťazcov spojených s CD3 komplexom a CD4 alebo CD8. CD3 komplex obsahuje 1 CD3 $\delta$ , 1 CD3 $\gamma$ , 2 CD3 $\epsilon$  a CD247 ( $\zeta$ - $\zeta$  homodimér).





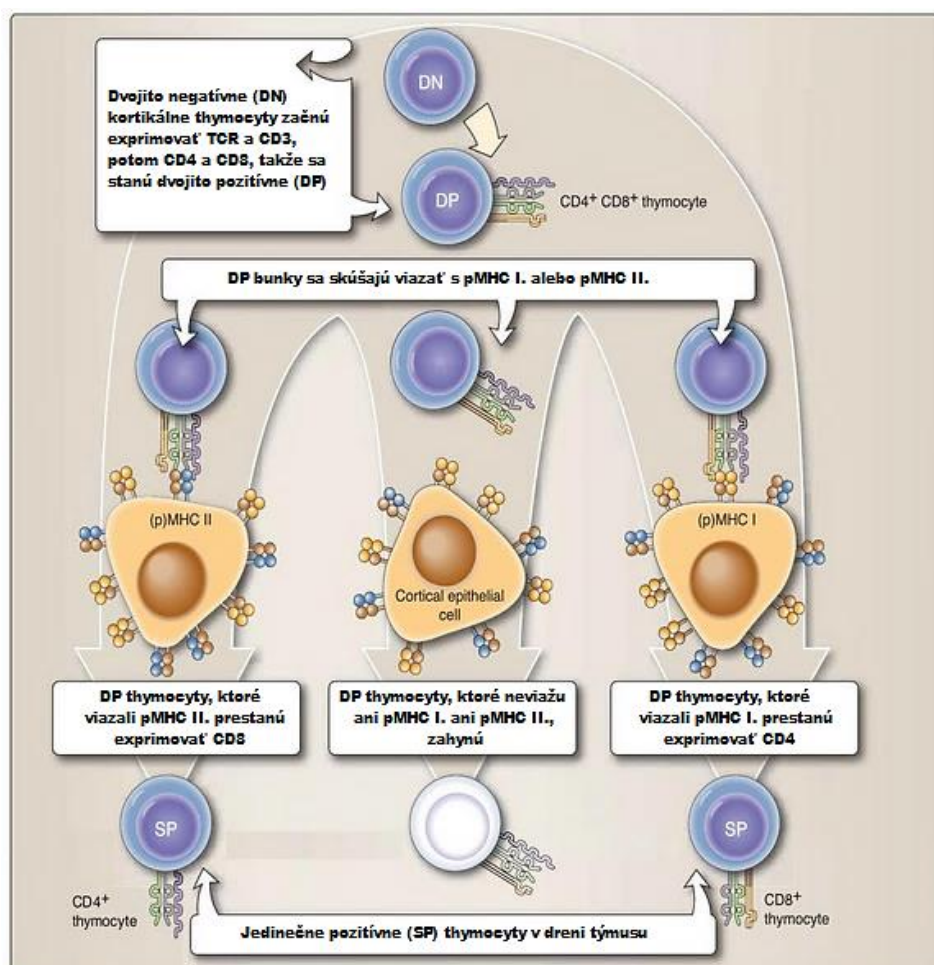
**Obr. 35 Receptor T buniek** (upravené podľa: <http://what-when-how.com/acp-medicine/adaptive-immunity-antigens-antibodies-and-t-cell-and-b-cell-receptors-part-2/>)

TCR neviažu rozpustné epitopy. Viažu len fragmenty väčších molekúl, ktoré sú prezentované pomocou komplexu peptidu a MHC I. alebo II. triedy. Variabilné oblasti  $\alpha\beta$  (alebo  $\gamma\delta$ ) reťazcov tvoria jedinečné oblasti, s jedinečnou špecifitou, ktoré sa spájajú s komplexom peptidu a MHC (pMHC). Pri rozpoznávaní spolupracujú tieto oblasti s molekulami CD4 alebo CD8, ktoré stabilizujú interakciu s pMHC. TCR má len krátku cytoplazmatickú časť a nedokáže preniesť signál do vnútra bunky. Toto je zabezpečené CD3 komplexom, ktorý sa zúčastňuje na procese prenosu aktivačného signálu do bunky hneď ako sa TCR spojil s epitopom. Každá vyvíjajúca sa T bunka náhodne vytvára jedinečnú kombináciu ľahkého a ťažkého reťazca (typu buď  $\alpha\beta$  alebo  $\gamma\delta$ ) s jedinečnou špecifitou. Odhaduje sa, že počet možných kombinácií by mohol dosahovať od 1 do 5 miliónov rôznych špecifít TCR receptorov.

### Vývoj T-lymfocytov s $\alpha\beta$ TCR

T-lymfocyty nesúce TCR typu  $\alpha\beta$  sú u ľudí väčšinovým typom lymfocytov. Prothymocyty migrujú z kostnej drene do týmusu, kde proliferujú a vstupujú najskôr do kôry – tu sa už označujú ako kortikálne thymocyty a sú tzv. dvojito negatívne, pretože nemajú ani CD4, ani CD8 (zatiaľ nemajú ani antigén špecifický receptor TCR a CD3 komplex). Rýchlo ich však začnú exprimovať na svojom povrchu a stanú sa dvojito pozitívne – majú aj CD4 aj CD8. Okrem toho kortikálne thymocyty obsahujú už aj TCR a CD3 komplex. Proces pokračuje prechodom thymocytov z kôry do drene dochádza k selekcii autoreaktívnych buniek a buniek s nefunkčným TCR. Ako prvá začína **pozitívna selekcia, pri ktorej sú vyselektované iba tie thymocyty, ktoré sú schopné rozpoznať a naviazať molekuly MHC**. Ak v priebehu niekoľkých dní tieto thymocyty nerozpoznajú a nenaviažu molekulu MHC alebo pMHC, vyhodnotia sa ako bunky neschopné rozpoznať vlastné MHC a sú eliminované, odumrú. Bunky, ktoré týmto testom prešli, neodumrú, ale úspešne postupujú ďalej do drene. Označujeme ich ako medulárne thymocyty. Dvojito pozitívne bunky, ktoré

sa viazali s MHC I. triedy, prestanú exprimovať CD4 a stanú sa z nich jedinečne pozitívne CD8+ bunky. Tie, ktoré sa naviazali na molekuly MHC II. triedy, prestanú exprimovať CD8 a stanú sa z nich jedinečne pozitívne CD4+ bunky (obr. 36).



Obr. 36 Vývoj jedinečne pozitívnych CD4+ a CD8+ T-lymfocytov s receptorom  $\alpha\beta$  TCR (upravené podľa: Doan et al. Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology 2e, 2013)

**Bunky, ktoré úspešne prešli pozitívnou selekciou, postupujú do ďalšieho testovania – do negatívnej selekcie.** Stretávajú sa a spolupracujú s antigén prezentujúcimi bunkami. V prípade, že thymocyt rozpozná na APC vlastný (*self*) peptid s MHC I. alebo II. triedy a silno ho viaže svojím TCR receptorom, stáva sa pre človeka potenciálne autoreaktívny, a preto musí podstúpiť apoptózu. Takýmto spôsobom **sú zničené autoreaktívne T bunky**. Niektoré autoreaktívne T bunky však nie sú zničené, ale vyvíjajú sa z nich regulačné T bunky (Treg), ktoré zohrávajú úlohu pri tolerancii na vlastné tkanivá. Tie thymocyty, ktoré prešli aj pozitívnou aj negatívnou selekciou, opúšťajú týmus a ako zrelé T bunky sa dostávajú do cirkulácie a usídli sa v sekundárnych lymfoidných orgánoch.

### Vývoj T-lymfocytov s $\gamma\delta$ TCR

Lymfocyty, ktoré nesú TCR typu  $\gamma\delta$  sú menšinovou populáciou T-lymfocytov. Počas vývoja  $\gamma\delta$  T buniek začnú thymocyty exprimovať  $\gamma\delta$  TCR receptory a CD3 komplex. Neexprimujú však ani CD4, ani CD8 a nepodstupujú pozitívnu a negatívnu selekciu, ale

opúšťajú týmus hneď po vytvorení TCR a CD3 komplexu. Pravdepodobne sa vyvíjajú nielen v týmuse, ale aj mimo neho. Rozpoznávajú antigény iným spôsobom, nie v spojení s pMHC. Vedia rozpoznať jednoduché organické látky, majú omnoho menší repertoár rozpoznávania ako bunky s  $\alpha\beta$  TCR. Odpovedajú rýchlejšie, ale nevytvára sa imunologická pamäť. Uplatňujú sa pri obrane kože a slizníc.

#### Vývoj NKT buniek

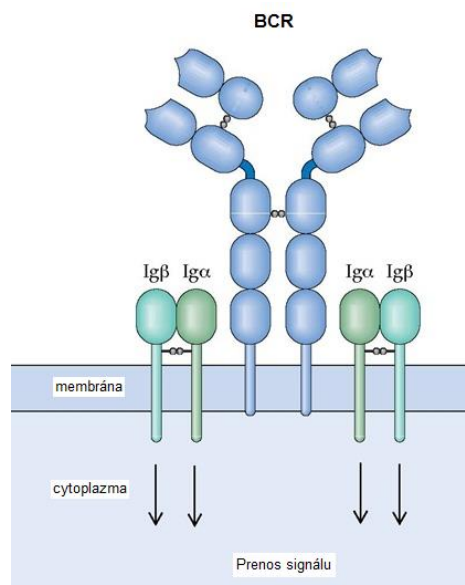
Ďalšou vývojovou cestou sa tvoria NKT bunky, ktoré majú niektoré funkčné charakteristiky a povrchové receptory ako NK bunky, ale vyvíjajú sa v týmuse a exprimujú TCR. Ich TCR majú výrazne obmedzený repertoár čo sa týka rozpoznávania. Zamerané sú skôr na lipidy, glykolipidy a niektoré peptidy. Rozpoznávajú epitopy prezentované v spojení s neklasickými molekulami MHC I. triedy.

### 13.3 B-lymfocyty

Nie všetky bunky lymfoidnej línie, ktoré vzniknú v kostnej dreni postupujú do týmusu. B-lymfocyty vznikajú z kmeňových krvotvorných buniek v kostnej dreni a zároveň sa tu aj vyvíjajú. Sú dôležité v protilátkovej imunitnej odpovedi. Sú prekursori pre bunky, ktoré budú produkovať imunoglobulíny. B-lymfocyty syntetizujú imunoglobulíny, ktoré tvoria BCR receptor.

#### Receptory B buniek

Antigén špecifický receptor B buniek (BCR) patrí medzi somaticky generované receptory. Tvorený je molekulou imunoglobulínu a zložený je z dvoch identických ľahkých a dvoch identických ťažkých reťazcov. Monomér imunoglobulínu je ďalej spojený s transmembránovými heterodimérmi  $Ig\alpha$  a  $Ig\beta$ , ktoré zabezpečujú vnútrobunkový kaskádový prenos signálu s následnou aktiváciou bunky (obr. 37).



**Obr. 37 Receptor B buniek** (upravené podľa: <http://what-when-how.com/acp-medicine/adaptive-immunity-antigens-antibodies-and-t-cell-and-b-cell-receptors-part-2/>)

Preskupenie génov pre imunoglobulín BCR receptora prebieha v skorých štádiách diferenciácie prekursorov B buniek ešte pred expozíciou antigénu. Preskupenie génov je antigén nezávislé, a teda určenie špecificity imunoglobulínu sa uskutoční nezávisle na tom, kedy sa jedinec stretol s antigénom. Tento proces začína prebiehať už počas prenatálneho a neonatálneho života a nie je závislý od cytokínov ani od imunitných funkcií matky. Jedna B bunka však dokáže produkovať imunoglobulín iba jednej epitopovej špecificity a je určená náhodnou kombináciou variabilných oblastí ľahkých a ťažkých reťazcov. Vytvorí sa tak obrovské množstvo variabilných oblastí BCR (imunoglobulínov), ktoré sú schopné rozpoznať obrovské množstvo najrôznejších epitopov. Odhaduje sa, že vzniká teoreticky viac ako 26 miliónov možných epitop viažucich kombinácií.

#### 13.3.1 Vývoj B-lymfocytov

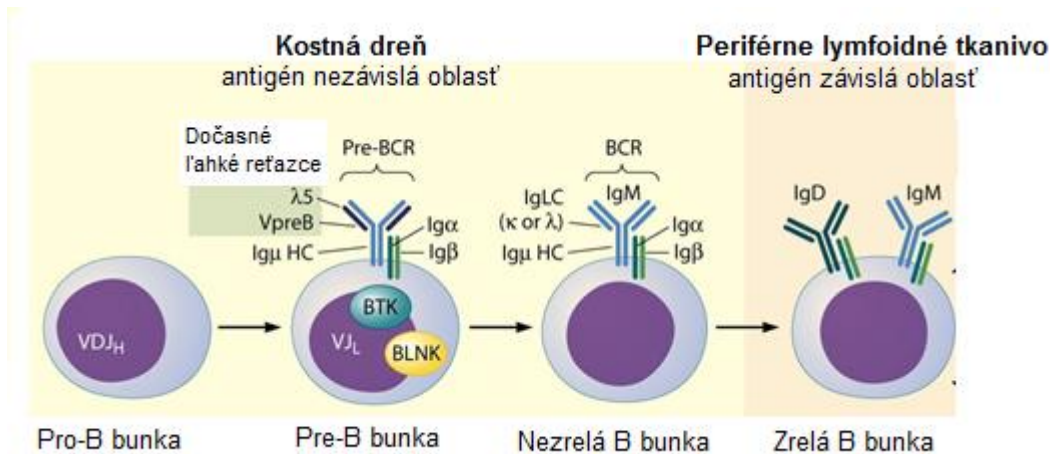
Počas vývoja B-lymfocytov dochádza k preskupovaniu ľahkých a ťažkých reťazcov imunoglobulínov a k povrchovým zmenám. **B-lymfocyty vznikajú z dvoch línií:** z B-1 a B-2 línie. **B-1 línia** je populácia samoobnovujúcich sa buniek a **nachádzajú sa hlavne v tkanivách, kde je vysoká pravdepodobnosť vstupu mikroorganizmov** – respiračný trakt, peritoneálna dutina atď. Vznikajú vo fetálnom období. **Na svoju aktiváciu nepotrebuje T-lymfocyty. Majú v porovnaní s B-2 líniou len obmedzený repertoár epitopov, ktoré dokážu rozpoznať.** Rozpoznávajú **najmä polysacharidy**. Majú malú schopnosť vytvoriť imunologickú pamäť, slabú schopnosť preladiť triedy (a zmeniť izotyp protilátky), ale majú význam v procesoch vrodenej imunity a v autoimunitných procesoch.

**B-2 línia** je populácia **nachádzajúca sa v lymfatických orgánoch a tkanivách v celom tele**. Vznikajú v perinatálnom aj postnatálnom období. B-2 bunky sa vytvárajú a nahrádzajú z kostnej drene. **Na svoju aktiváciu si vyžadujú interakciu s T-lymfocytmi. Repertoár epitopov, ktoré dokážu bunky B-2 línie rozpoznať, je obrovský. Rozpoznávajú najmä proteíny.** B-2 línia má veľkú **schopnosť vytvoriť imunologickú pamäť**. Pri opakovanom stretnutí s tým istým antigénom odpovedajú B-2 bunky omnoho rýchlejšie a efektívnejšie ako pri predchádzajúcom stretnutí. Tvorba protilátok je rýchlejšia, vytvorených protilátok je viac a sú kvalitnejšie. Sprevádzané sú **aj zmenami izotypu protilátky**.

#### Proces tvorby zrelých B-lymfocytov

B-lymfocyty sa vyvíjajú z buniek určených na vývoj B línie. V priebehu dozrievania B-lymfocytov dochádza k preskupovaniu génov pre imunoglobulínové reťazce. Náhodná kombinácia variabilných oblastí ľahkých a ťažkých reťazcov určuje špecificitu väzbového miesta pre antigén na imunoglobulíne. Počas dozrievania B buniek sa najskôr **lymfoidná prekurzorová bunka** diferencuje do najvčasnejšej progenitorovej pro-B bunky, ktorá exprimuje transmembránové heterodiméry Igα a Igβ pôsobiace ako pomocné molekuly (obr. 38). **Pro-B bunka** sa potom diferencuje na prekurzorovú **pre-B bunku**. Diferenciácia pro-B na pre-B bunku si vyžaduje spoluprácu z fibroblastami kostnej drene a pôsobenie početných adhezívnych molekúl. Preskupujú sa gény pre ťažké  $\mu$  reťazce a objavujú sa dočasné ľahké reťazce. Pre-B bunky na svojom povrchu začnú exprimovať CD4 molekulu a predbežný antigénový receptor pre-BCR (je to pseudo IgM –

obsahuje preskupené ťažké  $\mu$  reťazce a dočasné ľahké reťazce). Ďalej sa preskupujú gény pre ľahké reťazce  $\kappa$  a  $\lambda$  a vytvoria sa  $\kappa$  alebo  $\lambda$  ľahké reťazce, ktoré nahradia tie dočasné. Vznikajú tak **nezrelé B bunky** obsahujúce  $\mu$  ťažké reťazce a  $\kappa$  alebo  $\lambda$  ľahké reťazce na svojom povrchu. V ďalšom vývoji dochádza k súčasnej expresii aj IgM aj IgD a z bunky sa stáva **zrelý B-lymfocyt**. **Zrelé B-lymfocyty sa vyznačujú tým, že už majú na svojom povrchu súčasne aj IgM aj IgD antigénový receptor**. Prevažuje však IgM. Veľká individuálna variabilita molekúl Ig na povrchu zrelých B-lymfocytov je daná najmä obrovským množstvom kombinácií génových segmentov pre Ig, variabilitou spájania génových úsekov po ich vyštípení a somatickými mutáciami segmentov preskupených génov. Zrelý B-lymfocyt opúšťa kostnú dreň a putuje do periférnych lymfoidných tkanív, primárnych lymfoidných folikulov. Keď príde zrelý B-lymfocyt do kontaktu s antigénom na folikulárnej dendritovej bunke v lymfoidných folikuloch, tak sú vyselektované somatickými mutáciami tie, ktorých BCR majú vysokú afinitu k antigénu. V tomto štádiu prežijú iba také B-lymfocyty, ktorých BCR má najvyššiu afinitu k antigénu.



**Obr. 38 Vývoj B-lymfocytov schematicky** (upravené podľa: Fried et al. Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Primary Antibody Deficiencies and Infections. 2009; <http://cmr.asm.org/content/22/3/396/F1.expansion.html>)

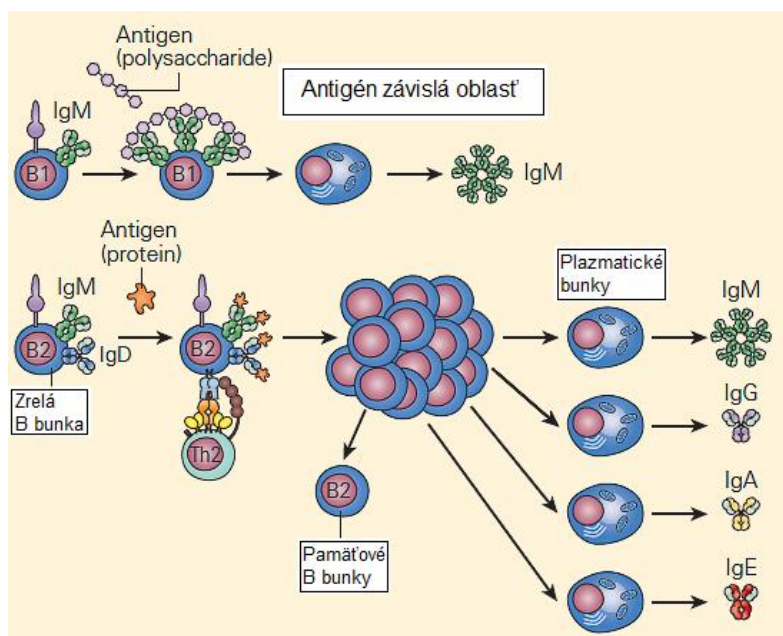
### Autoreaktívne B-lymfocyty a ich odstraňovanie

Všetky tieto deje prebiehajú na základe náhody, a preto môžu vzniknúť aj také klony, ktoré reagujú autoreaktívne. Nesú autoreaktívne receptory a produkujú autoreaktívne imunoglobulíny. **Na úrovni nezrelých B buniek však prebieha kontrola, či nie sú autoreaktívne. Ak sa nezrelá B bunka v kostnej dreni stretne s autoantigénmi a naviaže ich na svoj autoreaktívny BCR, dôjde k jej apoptóze.** Môže sa však stať, že niektoré z týchto autoreaktívnych B buniek prežijú, dozrejú, ale našťastie sa zvyčajne neprejavia, lebo na ich úplnú aktiváciu by boli potrebné Th-lymfocyty. A proces selekcie a eliminácie autoreaktívnych klonov T-lymfocytov v týmuse prebieha oveľa prísnejšie. Navyše mnohé autoantigény sú pre B-lymfocyty (a aj protilátky) v podstate nedostupné, lebo sa nachádzajú na privilegovaných miestach alebo sú v takom malom množstve, že ich náš imunitný systém odignoruje.



*Diferenciácia B-lymfocytov na plazmatické bunky*

**B-lymfocyty, ktoré nikdy neboli v kontakte s antigénom, majú na svojom povrchu len IgM a IgD.** Tieto lymfocyty dokážu viazať antigén, ale nedokážu produkovať protilátky. Každý jedinečný B-lymfocyt má na svojom povrchu IgM a IgD, ktoré majú identické variabilné oblasti ťažkého a ľahkého reťazca, a preto majú rovnakú antigénnu špecificitu. Rozličné B-lymfocyty majú špecificitu pre rozličné antigény. Na to, aby sa z B-lymfocytu po stimulácii antigénom stala plazmatická bunka, musí podstúpiť **proces diferenciácie**. Mnoho typov buniek, nielen bunky imunitného systému, podstupuje diferenciáciu v dôsledku rozličných vonkajších signálov. Dochádza pritom k zmenám v expresii génov, čo následne ovplyvní funkciu bunky. B-lymfocyty musia tiež podstúpiť rad zmien počas ich diferenciácie **na plazmatické bunky. Zahŕňa to zmeny z bunky, ktorá mala Ig na svojom povrchu a používala ho ako BCR receptor, na bunku, ktorá bude produkovať obrovské množstvo protilátok.** Plazmatické bunky sú väčšie, majú väčšiu metabolickú aktivitu a sú v podstate akoby továrne produkujúce protilátky (obr. 39).



**Obr. 39 Diferenciácia B-lymfocytov na plazmatické bunky** (upravené podľa: Bellanti, JA

(Ed). Immunology IV: Clinical Applications in Health and Disease. I Care Press, Bethesda, MD, 2012,

<http://www.immunopaedia.org.za/immunology/basics/6-antibody-generation-by-b-cells/?print=print>)

Vysvetlivky: B-1 línia rozpoznáva najmä polysacharidové antigény a má slabú schopnosť preladenia tried B-2 línia rozpoznáva najmä proteínové antigény a má veľkú schopnosť vytvoriť imunologickú pamäť aj preladit' triedy.

**B-lymfocyty pritom musia zvyčajne prejsť dvoma špecializovanými diferenciačnými procesmi. Sú to dozrievanie afinity a izotypový prešmyk.** Tieto procesy prebiehajú tak, aby sa zvýšila kvalita a rozsah protilátok.

**Dozrievanie afinity** predstavuje procesy, ktorých následkom je vytvorenie protilátok s vysokou afinitou s antigénom, čo je veľmi účinné hlavne pri antigénoch pochádzajúcich z patogénnych mikroorganizmov. Ide o somatické hypermutácie, ktoré zvyšujú afinitu väzby protilátok pre určitý epitop a toto zvýšenie afinity vedie k rýchlejšej

proliferácii buniek po väzbe antigénu. Väzba protilátky a epitopu je potom pevnejšia a efektívnejšia. Vďaka tomu sa vylepší protilátková odpoveď na také antigény, s ktorými sa jedinec stretáva často.

Ďalej počas diferenciácie B-lymfocytov dochádza aj k javu, ktorý sa označuje **izotypový prešmyk**. Primárna odpoveď na určitý epitop je charakterizovaná tvorbou protilátok izotypu IgM. Časť B-lymfocytov sa mení na plazmatické bunky, ktoré budú produkovať tento izotyp. Jeden aktivovaný B-lymfocyt a celý jeho klon plazmatických buniek produkuje protilátky určené iba proti jednému epitopu. Časť B-lymfocytov sa ale zmení na pamäťové bunky, ktoré budú uchovávané pre prípad, že by sa jedinec v budúcnosti stretol s tým istým antigénom. Ak k tomu dôjde, vplyvom cytokínov a ďalších signálov, môžu pamäťové B bunky podstúpiť preskupenie DNA segmentov, dôjde k preladeniu tried a vytvoreniu nového izotypu (avšak s rovnakou antigénnou špecificitou). To znamená, že variabilné oblasti Ig zostanú nezmenené (nezmení sa antigénna špecifita), ale zmenia sa konštantné oblasti – čo sú nosné časti pre variabilné oblasti. Tým vzniknú protilátky rôznych izotypov (IgG, IgA alebo IgE), ale rovnakej špecificity ako mal izotyp IgM.

Kým v **primárnej odpovedi dominujú izotypy IgM, v sekundárnej odpovedi prevládajú izotypy IgG, prípadne IgA a IgE**. Rôzne izotypy sú schopné navodiť rôzne imunitné odpovede. Izotyp určí, či bude protilátka aktivovať komplement, alebo bude secernovaná na slizničné povrchy alebo do lúmenu, alebo bude lokalizovaná v niektorých tkanivách tela atď. Proces preladenia tried alebo izotypový prešmyk ovplyvňuje, aký bude charakter humorálnej imunitnej odpovede. Preladenie tried (izotypový prešmyk) aj dozrievanie afinity sa vyskytuje len pri B-lymfocytoch. Nevyskytuje sa pri T-lymfocytoch.

## OTÁZKY a ODPOVEDE

Ktoré bunky zabezpečujú špecifickú imunitnú odpoveď? T a B-lymfocyty.

Ako sa označujú somaticky generované receptory na T a B-lymfocytoch a ako vznikajú? Na T-lymfocytoch sa označujú TCR a na B-lymfocytoch sa označujú BCR. Vygenerované sú náhodnou rekombináciou génov na každom jednotlivom lymfocyte ešte pred samotným kontaktom s antigénom.

Ktorý ty TCR je väčšinovým typom T-lymfocytov? Typ  $\alpha\beta$  TCR je väčšinovým typom.

Čím sú charakterizované dvojito negatívne T-lymfocyty? T-lymfocyty, ktoré nemajú ani CD4, ani CD8, zatiaľ nemajú ani TCR a CD3 komplex.

Čím sú charakterizované dvojito pozitívne T-lymfocyty? T-lymfocyty, ktoré majú aj CD4, aj CD8 a exprimujú aj TCR a CD3 komplex.

Čo znamená pozitívna selekcia? Pri pozitívnej selekcii sú vyselektované iba tie thymocyty, ktoré sú schopné rozpoznať a naviazať molekuly MHC.

Čo je typické pre jedinečne pozitívne T-lymfocyty? Vznikajú z dvojito pozitívnych T-lymfocytov. Ak sa viazali s pMHC I., prestanú exprimovať CD4 a stanú sa z nich jedinečne



pozitívne CD8+ bunky. Ak však naviazali pMHC II., prestanú exprimovať CD8 a stanú sa z nich jedinečne pozitívne CD4+ bunky.

**Čo znamená negatívna selekcia?** Ak thymocyt, ktorý prešiel pozitívnou selekciou, rozpozná v procese negatívnej selekcie vlastný (self) peptid pMHC I. alebo pMHC II. a silno ho viaže svojím TCR receptorom, stáva sa potenciálne autoreaktívny a musí podstúpiť apoptózu.

**Popíšte B-1 líniu B-lymfocytov.** Vznikajú vo fetálnom období. Rozpoznáva len obmedzený repertoár epitopov, najmä polysacharidy. Majú slabú schopnosť vytvoriť imunologickú pamäť a slabú schopnosť preladiť triedy imunoglobulínov.

**Popíšte B-2 líniu B-lymfocytov.** Vznikajú v perinatálnom aj postnatálnom období. Dokážu rozpoznať obrovský repertoár epitopov, najmä proteíny. Majú obrovskú schopnosť vytvárať imunologickú pamäť a preladiť triedy imunoglobulínov.

**Čím sa vyznačujú zrelé B-lymfocyty?** Zrelé B-lymfocyty exprimujú na svoj povrch súčasne aj IgM aj IgD antigénový receptor. Prevažuje však IgM.

**Čo znamená izotypový prešmyk?** Vplyvom cytokínov a ďalších signálov môžu pamäťové B bunky podstúpiť preskupenie DNA segmentov a dôjde k preladeniu tried a vytvoreniu nového izotypu. Variabilné oblasti imunoglobulínu zostanú nezmenené, nezmení sa teda antigénna špecificita. Ale zmenia sa konštantné oblasti, a tým vzniknú protilátky rôznych izotypov (IgG, IgA, IgE), ale rovnakej antigénnej špecificity.

## ŠTRNÁSTA KAPITOLA

# Aktivácia T-lymfocytov

## Hlavné témy

---

- ❖ Interakcia T-lymfocytov s antigén prezentujúcimi bunkami
    - ✓ Prezentácia antigénu pomocou MHC II. triedy
    - ✓ Prezentácia antigénu pomocou MHC I. triedy
    - ✓ Imunologická synapsa
  - ❖ Proliferácia a diferenciácia T-lymfocytov
    - ✓ Proliferácia a diferenciácia CD4<sup>+</sup> T-lymfocytov
      - Th1 bunky
      - Th2 bunky
      - Th17 bunky
      - Vzájomná regulácia Th1 vs. Th2
    - ✓ Proliferácia a diferenciácia CD8<sup>+</sup> T-lymfocytov
    - ✓ Vznik pamäťových T-lymfocytov
    - ✓ Aktivácia T-lymfocytov superantigénmi
  - ❖ Mechanizmy bunkovej špecifickej imunity v organizme
- 

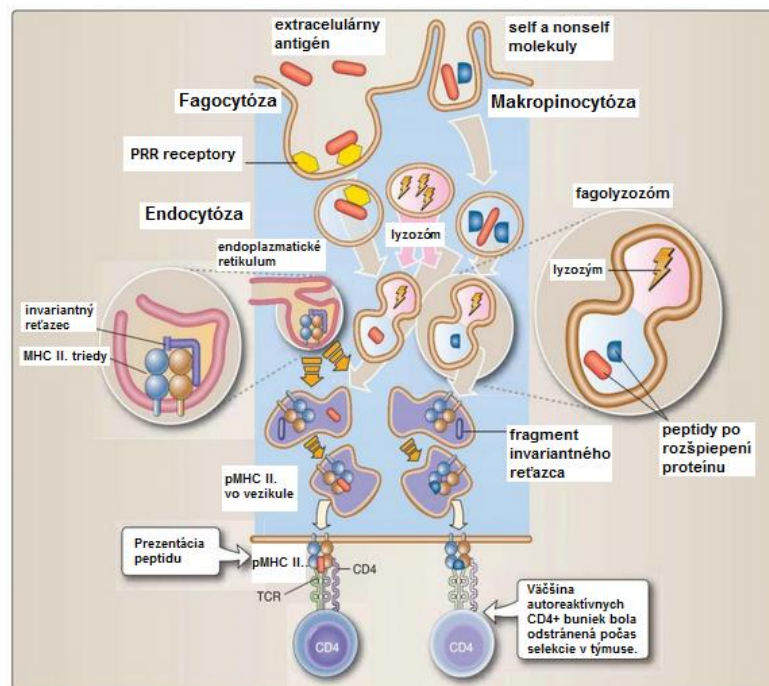
### 14.1 Interakcia T-lymfocytov s antigén prezentujúcimi bunkami

Vzťah medzi APC a T-lymfocytom sa označuje ako **imunologická synapsa**. Receptory TCR nemôžu rozpoznať rozpustné molekuly. Dokážu rozpoznať iba peptidy naviazané na MHC a prezentované antigén prezentujúcimi bunkami. Ako dochádza k prezentácii antigénu?

#### 14.1.1 Prezentácia antigénu pomocou MHC II. triedy

Antigény sú pohltené z okolia bunkami APC, a to fagocytózou alebo makropinocytózou. Najvýznamnejšími APC sú dendritové bunky lokalizované v miestach

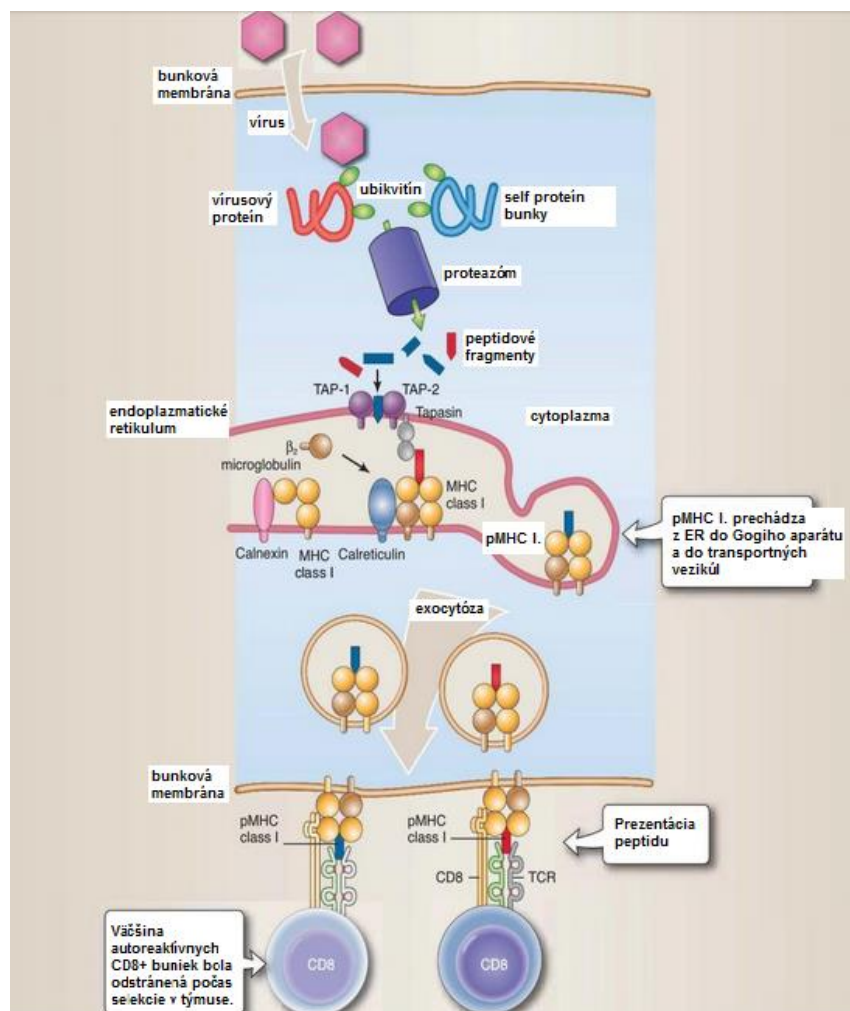
pravdepodobného vstupu mikroorganizmov. Pri fagocytóze sa najskôr kontaktuje fagocyt s malou časťou antigénu prostredníctvom rozmanitých povrchových receptorov. Významné sú pritom klatrínom pokryté jamky, ktoré sa vytvoria na dendritových bunkách, do nich sa uzavrie fagocytovaný antigén a vzniká fagozóm. Pri makropinocytóze sú antigény nachádzajúce sa v extracelulárnej tekutine obklopené cytoplazmatickými výbežkami – pseudopódiami, ktoré uzatvoria antigény do vezikuly a vytvorí sa endozóm (fagozóm). V tomto prípade ide o proces nezávislý na klatríne. Fagozóm sa spojí s lyzozómom a ich fúziou vzniká fagolyzozóm, v ktorom je pohltený antigén enzýmami rozložený na menšie peptidové fragmenty. Ak nezrelá dendritová bunka zaznamená hrozbu v podobe antigénu, začne rýchlo dozrievať a pritom migruje do oblasti regionálnych lymfatických uzlín. Zároveň znižuje schopnosť fagocytózy a makropinocytózy a zvýši syntézu MHC II. triedy v endoplazmatickom retikule. Reťazce  $\alpha$  a  $\beta$  sú spojené s invariantným reťazcom, ktorý bráni naviazaniu peptidov, ktoré majú byť prezentované MHC I. triedou. Z endoplazmatického retikula prechádza MHC II. do Golgiho aparátu. Vytvoria sa vezikuly, ktoré splynú s fagolyzozómami, invariantný reťazec sa odštiepi a uvoľní sa väzbové miesto pre peptid. Vzniknutý komplex pMHC II. triedy sa presunie na povrch bunky, kde je prezentovaný (ukáže sa okoliu), aby mohol byť rozpoznaný CD4<sup>+</sup> T-lymfocytmi (obr. 33, 40). MHC II. molekuly nemajú schopnosť rozlišovať čo je vlastné a čo je cudzie, preto viažu aj vlastné aj cudzie. Avšak v prípade prezentovania vlastného peptidu na MHC II. triedy, zostanú tieto peptidy nerozpoznané, lebo počas vývoja T-lymfocytov v týmuse bola väčšina autoreaktívnych CD4<sup>+</sup> T buniek odstránená.



**Obr. 40 Prezentácia extracelulárnych antigénov pomocou MHC II. triedy** (upravené podľa: Doan et al. Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology 2e, 2013)

### 14.1.2 Prezentácia antigénu pomocou MHC I. triedy

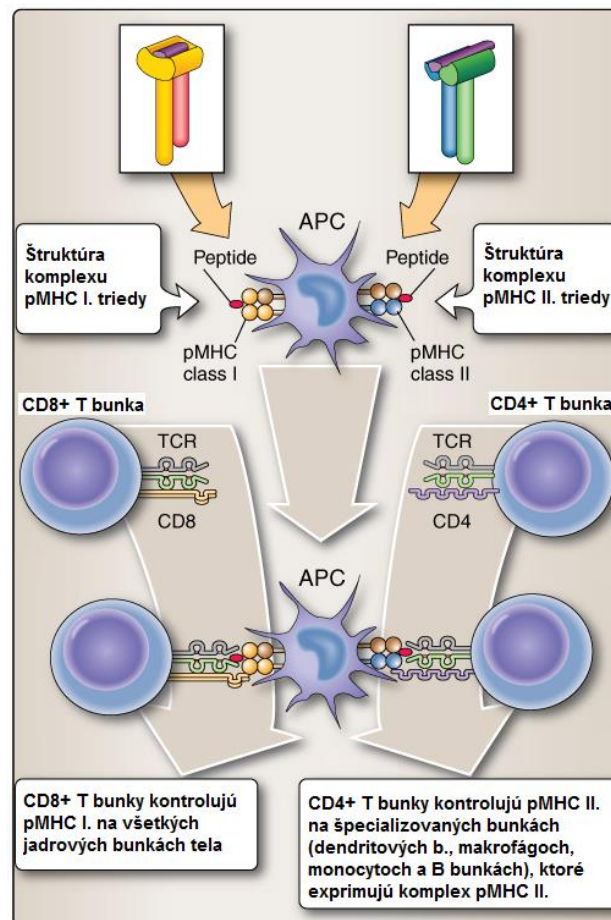
Nie všetky antigény vstupujú do APC fagocytózou alebo makropinocytózou. Časť antigénov sa dostáva do bunky priamo vstupom do cytoplazmy. Ide o intracelulárne mikroorganizmy a vírusy, ktoré sa naviažu na bunkovú membránu a vstúpia do bunky. Vo vnútri bunky sú označené ubikvitínom na likvidáciu v proteazómoch. Sú to rúrkovité útvary, v ktorých prebehne proteolýza označených proteínov na malé peptidové fragmenty. Tie sa dostanú peptidovou pumpou do endoplazmatického retikula a tu sa naviažu do vytvoreného väzbového miesta na MHC I. triedy, ktorý tvoria reťazce  $\alpha$  a  $\beta_2$ -mikroglobulínu. Vzniká pMHC I. triedy, ktorý prejde do Golgiho aparátu a odtiaľ sa v transportných vezikulách presunie na povrch bunky, kde je prezentovaný a môže byť rozpoznaný CD8<sup>+</sup> T-lymfocytmi (obr. 33, 41). Aj tu platí, že MHC I. nevie rozpoznať, či ide o vlastné alebo cudzie peptidy, ale vlastné pMHC I. zostanú nerozpoznané, lebo autoreaktívne CD8<sup>+</sup> T-lymfocyty boli väčšinou eliminované počas vývoja v týmuse.



**Obr. 41** Prezentácia intracelulárnych antigénov pomocou MHC I. triedy (upravené podľa: Doan et al. Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology 2e, 2013)

### 14.1.3 Imunologická synapsa

Na povrchu APC sú po spracovaní antigénov prezentované rozličné peptidové fragmenty ako komplexy pMHC. Ak TCR na T-lymfocyte rozpozná takto prezentovaný peptid, nastane aktivácia T-lymfocytu. **Pri samotnom rozpoznávaní spolupracuje TCR s koreceptormi CD4 (pomáhajú viazať pMHC II. triedy) alebo CD8 (pomáhajú viazať pMHC I. triedy).** Pre lepšie zapamätanie si týchto vzťahov platí **pravidlo ôsmich**: CD4 spolu s pMHC II. ( $4 \times 2 = 8$ ). CD8 spolu s pMHC I. ( $8 \times 1 = 8$ ). Tieto koreceptory stabilizujú inak veľmi slabú interakciu TCR s pMHC. Vytvorí sa tak komplex TCR:pMHC:CD(4 alebo 8), čo predstavuje prvý signál imunologickej synapsy. Prvý signál sa prenesie do vnútra T-lymfocytu cez komplex CD3. Komplex CD3 má cytoplazmatické nožičky s imunoreceptorovými na tyrozíne založenými aktivačnými motívmi (ITAMs), ktoré keď sa priblížia, tak sa spustí prenos signálu. Na aktiváciu T-lymfocytu je však potrebný ešte druhý signál, ktorý predstavujú interakcie medzi kostimulačnými molekulami na APC a kostimulačnými receptormi na T-lymfocyte: interakcia CD80/86 na APC s CD28 na T-lymfocyte; v rovnakom poradí ICAM-1 s LFA-1; LFA-3 s CD2. Prvý a druhý signál spustia prenos signálu a intracelulárnu kaskádu aktivácie T-lymfocytu. Bez kostimulačných signálov sa T-lymfocyty stanú selektívne neodpovedajúce (čo je známe ako anergia) alebo podstúpia apoptózu.



**Obr. 42** CD4+ sa viažu iba s pMHC II. triedy a CD8+ sa viažu iba s pMHC I. triedy  
(upravené podľa: Doan et al. Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology 2e, 2013)



## 14.2 Proliferácia a diferenciácia T-lymfocytov

Po aktivácii T-lymfocytov nasleduje ich dozrievanie. Pritom je potrebný pre ich ďalší vývoj interleukín IL-2, ktorý funguje ako rastový faktor.

### 14.2.1 Proliferácia a diferenciácia CD4+ T-lymfocytov

Dozrievanie Th-lymfocytov nastáva po predchádzajúcom spojení CD4+ T-lymfocytu s antigénom, čo sa označuje ako **priming**. Po primingu vznikajú Th-lymfocyty (T helper alebo T pomocné). Ich úlohou je pomáhať iným bunkám imunitného systému pri reakciách. **Prekurzory T helperov (Thp) produkujú cytokín IL-2. Tento rastový faktor stimuluje proliferáciu CD4+ (ale aj CD8+ T-lymfocytov a B-lymfocytov). Na povrchu Thp sa začínajú tvoriť receptory pre IL-2, a tým sa stávajú Th0 bunkami.** Th0 sa ďalej vyvíjajú jednou z funkčných ciest v závislosti od charakteru kontaktu s APC a prítomnosti cytokínov v mikroprostredí. **V prítomnosti cytokínu IL-12 sa bude diferencovať Th0 do Th1 subpopulácie, v prítomnosti IL-4 do Th2 subpopulácie a v prítomnosti cytokínu IL-1 alebo IL-6 do Th17 subpopulácie.** Ďalšie subpopulácie sa vytvárajú v prítomnosti antigénov v mikroprostredí s obsahom iných cytokínov.

#### Th1 bunky

Dendritová bunka okrem toho, že prezentuje peptidy z pohltených mikroorganizmov, zvýši aj produkciu kostimulačných molekúl a cytokínov. V prítomnosti mikrobiálnych lipopolysacharidov dendritové bunky vytvárajú hlavne IL-12, ktorý je dôležitým diferenciačným faktorom pre **Th1 bunky**. Th1 bunky spolupracujú s makrofágmi, stimulujú ich premenu na aktívne makrofágy a podporujú diferenciáciu cytotoxických CD8+ T-lymfocytov. Th1 bunky **sú dôležité na ochranu pred intracelulárnymi parazitmi – intracelulárnymi baktériami, vírusmi a niektorými ďalšími mikroorganizmami.** Produkujú najmä **interferón IFN- $\gamma$** , ktorý spolu s ďalšími kostimulačnými signálmi **aktivuje makrofágy** a pripravuje ich na to, aby likvidovali intracelulárne patogény. **Aktivované makrofágy** (podobne ako dendritové bunky) tiež **secernujú IL-12, ktorý podporuje vývoj Th1 buniek.** Toto vzájomné pôsobenie Th1 a makrofágov stimuluje lokálny zápal a napomáha **bunkami sprostredkovaným imunitným reakciám.** Okrem IFN- $\gamma$  produkujú Th1 bunky aj IL-2. IFN- $\gamma$  zvyšuje množstvo Fc receptorov pre IgG na makrofágoch, čím sa podporujú ADCC reakcie. Th1 typ imunity sa uplatňuje pri IV. type hypersenzitívnych reakcií (oneskorený typ hypersenzitivity) aj pri orgánovo-špecifických autoimunitných ochoreniach.

#### Th2 bunky

Druhou z funkčných ciest vývoja Th0 je vznik **Th2 buniek**. Ich základnou úlohou je **ochrana pred extracelulárnymi parazitmi – extracelulárnymi mikroorganizmami aj mnohobunkovými veľkými parazitmi.** Na to, aby z Th0 vznikol klon Th2 buniek, musí dôjsť ku kontaktu s APC, ktorá prezentuje antigénny peptid v spojení s MHC II. a za prítomnosti **interleukínu IL-4.** Najideálnejšou APC je dendritová bunka, ktorá produkuje MHC II. a potrebné kostimulačné molekuly (CD80/86). **Zdrojom pre IL-4 sú najmä mastocyty, bazofily a eozinofily.** Zrelé efektorové Th2 bunky produkujú cytokíny



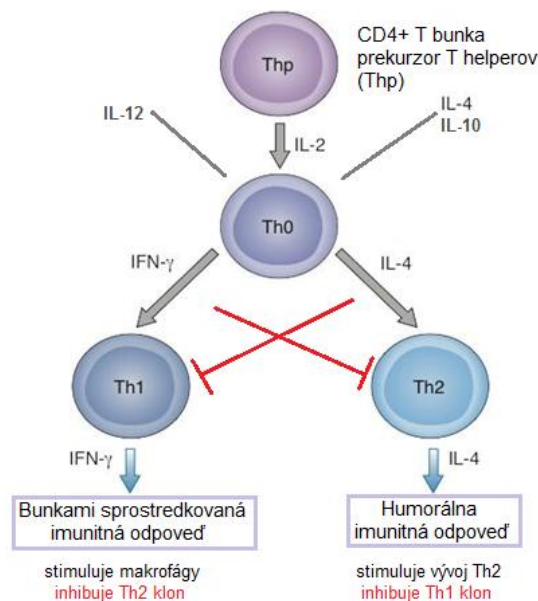
(IL-4, IL-5, IL-10, IL-13). **Stimulujú B-lymfocyty** a ich diferenciáciu na **plazmatické bunky a pamäťové B bunky**, čím **Th2 pomáhajú humorálnej imunitnej odpovedi**. Interakcia medzi B-lymfocytom a Th2 je jednak priama (bunka-bunka), prostredníctvom adhezívnych molekúl (CD154 ligandom na Th2 a CD40 receptorom na B-lymfocyte) a prostredníctvom cytokínov uvoľnených z Th2, ktoré poskytujú pomocné signály. Na stimuláciu B-lymfocytov je zvyčajne potrebná spolupráca medzi APC – Th2 – B-lymfocytom. Alebo ak sa stane z B-lymfocytu funkčná APC, potom stačí kontakt medzi Th2 – B-lymfocytom. Th2 typ imunity sa uplatňuje pri obrane proti parazitom mechanizmom ADCC (kde majú úlohu IgE a eozinofily) a pri alergii.

### Th17 bunky

Th17-lymfocyty navodzujú prozápalovú odpoveď v infikovaných tkanivách. Uvoľňujú **cytokíny IL-17**, ktoré **stimulujú ďalšie bunky k produkcii prozápalových cytokínov a chemokínov**. Tie podporujú migráciu neutrofilov do miesta zápalu, aktivujú ich, pričom sa z nich uvoľnia antibakteriálne peptidy. Th17-lymfocyty **podporujú imunitu proti baktériám**.

### Vzájomná regulácia Th1 vs. Th2

O tom, či sa budú Th0 lymfocyty vyvíjať cestou Th1 alebo Th2 rozhoduje prítomnosť cytokínov IL-12 a IL-4 (obr. 43).



**Obr. 43** Vzájomná regulácia Th1 versus Th2 (upravené podľa: <https://www.studyblue.com/notes/hh/b-cells-pathogens/032762053538785436>)

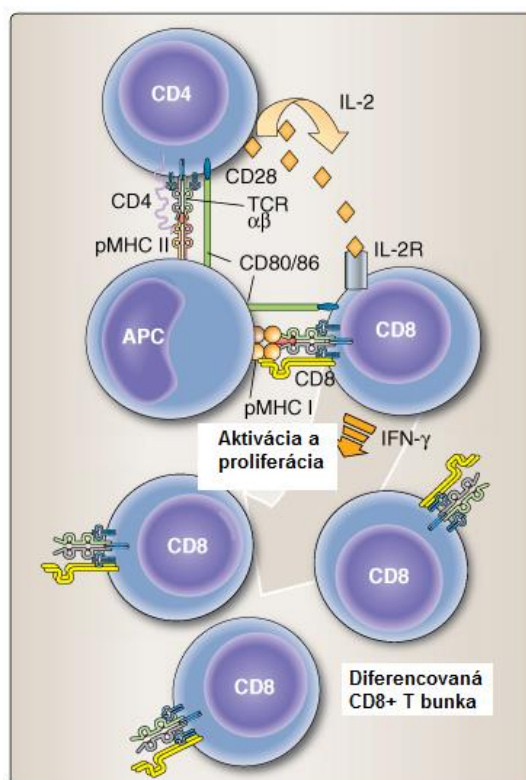
Na to, aby vznikol z Th0 klon Th1, je potrebná prítomnosť IL-12. Ak v imunitnej odpovedi na niektoré mikroorganizmy budú na začiatku zapojené makrofágy a dendritové bunky, budú produkované cytokíny IL-12, a tie stimulujú vznik Th1 bunkovej línie. Na vznik Th2 klonu z Th0 je potrebná prítomnosť IL-4, ktorý je produkovaný hlavne bazofilmi a mastocytmami.

Cytokíny, ktoré vyprodukujú Th1 bunky (IFN- $\gamma$ ), podporujú ďalší vývoj tohto klonu, ale súčasne inhibujú vývoj Th2. Cytokíny Th2 buniek (IL-4, IL-10) podporujú vývoj Th2 a súčasne inhibujú vývoj Th1. To znamená, že ak sa už spustí Th1 odpoveď, bude potláčaná odpoveď Th2. A platí to aj naopak: rozvinutie Th2 odpovede znamená potlačenie Th1 odpovede. Vzájomný vzťah medzi Th1 a Th2 klonmi je dôležitým regulačným mechanizmom imunitného systému.

### 14.2.2 Proliferácia a diferenciácia CD8+ T-lymfocytov

Cytotoxické T-lymfocyty (Tc) **rozpoznávajú bunky napadnuté intracelulárnymi parazitmi, najmä vírusmi, nádorovo zmenené bunky a bunky poškodené stresom.** Ničia ich veľmi radikálnym spôsobom, aj keď na druhej strane to môže viesť k výraznejšiemu poškodeniu okolitého tkaniva.

**Naivné CD8+ T-lymfocyty rozpoznávajú pomocou TCR peptid viazaný s MHC I. na povrchu infikovaných APC alebo iných cieľových buniek (prvý signál) a vytvoria si receptor pre IL-2 (obr. 44).**



**Obr. 44 Proliferácia CD8+ T-lymfocytov** (upravené podľa: Doan et al. Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology 2e, 2013)

Cytokín IL-2 je produkovaný Th1 bunkami a je potrebný na proliferáciu klonu Tc-lymfocytov, lebo je rastovým faktorom pre CD8+ T-lymfocyty a oni samotné ho produkujú len veľmi málo. **Th1 bunky teda napomáhajú pri vývoji Tc produkciou IL-2.** Významnú pomoc poskytujú CD4+ T-lymfocyty aj inak. Po sfagocytovaní zvyškov poškodenej bunky sa prezentujú peptidy pMHC II. a rozpoznané sú CD4+ T-lymfocytmi.

Spojením CD4<sup>+</sup> T-lymfocyту s APC sa na APC zvýši expresia CD80/86, ktoré sa viažu s CD28 na CD8<sup>+</sup> T-lymfocyte (kostimulačný signál). **Správne stimulovaný CD8<sup>+</sup> T-lymfocyt je vtedy, keď rozpozná pMHC I. cez svoj TCR receptor a dostane kostimulačné signály cez CD28.** Za pomoci Th1-lymfocytov produkujúcich IL-2 sa začne proliferácia a diferenciácia na zrelé efektorové cytotoxické Tc-lymfocyty. Tie sa dostávajú krvným obehom do tkanív a potom už stačí k aktivácii cytotoxických mechanizmov prvý signál – cez TCR (kostimulačný signál cez CD28 už nie je nevyhnutný). Zrelé Tc-lymfocyty obsahujú cytotoxické granuly. V nich sa nachádzajú **perforíny** – vytvárajú póry v cytoplazmatickej membráne napadnutej bunky, a **granzýmy** – serínové proteázy, ktoré vniknú do bunky cez póry a dôjde k apoptóze cieľovej bunky (ktorá exprimovala pMHC I. komplex).

### 14.2.3 Vznik pamäťových T-lymfocytov

Charakteristickou vlastnosťou špecifickej imunity je pamäť. **Pri primárnej odpovedi na antigén vznikajú nielen efektorové, ale aj pamäťové bunky.** Efektorové T-lymfocyty po splnení svojej úlohy zahynú apoptózou (až 90-95 %). Niektoré z nich sa ešte pred úplnou diferenciáciou na efektorové bunky stanú pamäťovými T-lymfocytmi (5-10 %). Vo väčšom množstve sa u nich nachádzajú rôzne adhezívne molekuly, ktoré nie sú na naivných T-lymfocytoch alebo sa na nich nachádzajú len v malom množstve. Vďaka početným adhezívnym molekulám sa uľahčí interakcia medzi spolupracujúcimi bunkami. Pamäťové T-lymfocyty migrujú do miesta infekcie, ľahko sa aktivujú, reagujú s APC rýchlejšie, a preto sa rýchlejšie vyvíja sekundárna imunitná odpoveď.

### 14.2.4 Aktivácia T-lymfocytov superantigénmi

**Superantigény sú antigény, ktoré nepodliehajú spracovaniu a prezentácii APC bunkami, ale priamo a nešpecificky stimulujú T-lymfocyty.** Superantigény sa spájajú s molekulami MHC II. na APC a zároveň s TCR na T-lymfocytoch. Toto prepojenie predstavuje **signál, ktorý vedie naraz k aktivácii veľkého množstva T-lymfocytov.** Z aktivovaných T-lymfocytov sa uvoľní veľké množstvo cytokínov, ktoré aktivujú množstvo imunitných buniek a môže dôjsť až k šokovému stavu. Medzi najznámejšie superantigény patria toxín toxického šoku, stafylokokový enterotoxín, pyrogénne exotoxíny *Streptococcus pyogenes*, superantigény mykoplazmiem...

## 14.3 Mechanizmy bunkovej špecifickej imunity v organizme

Mikroorganizmy používajú často únikovú taktiku – ukrytie vo vnútri hostiteľských buniek, kde ich nemôžu zachytiť protilátky alebo komplement. Na tieto mikroorganizmy, ktoré uniknú mechanizmom humorálnej imunity, sú nasmerované mechanizmy bunkovej imunity:

- **Hypersenzitivita oneskoreného typu** – DTH (delayd typ of hypersensitivity) Sprostredkovaná je CD4<sup>+</sup> T-lymfocytmi, konkrétne Th1 subpopuláciou. Zahŕňa procesy, ktoré sa uplatňujú najmä pri obrane proti intracelulárne parazitujúcim

mikroorganizmom. Mikrobiálne antigény sú bunkami APC prezentované T-lymfocytom a vznikajú antigén-špecifické Th1-lymfocyty. Pri následnom kontakte organizmu s daným mikrobiálnym antigénom sa Th1-lymfocyty aktivujú a začnú uvoľňovať cytokíny (hlavne IFN- $\gamma$ ), ktoré priťahujú a aktivujú makrofágy. Aktivované makrofágy zvýšia svoju fagocytárnu aktivitu, pohltnú a usmrtnú baktérie a celý obranný proces sa môže ukončiť. Pri nadmerne aktívnej alebo chronickej DTH odpovedi však aktivované makrofágy vo svojej aktivite pokračujú, tvoria interleukíny (hlavne IL-12), ktoré podporujú vývoj ďalších nových Th1 buniek. Tie znovu uvoľňujú IFN- $\gamma$ , ktorý následne stimuluje makrofágy a vzniká tak uzavretý kruh. Makrofágy nie sú antigén špecifické, a preto napádajú nielen infikované bunky, ale aj zdravé tkanivo v blízkom okolí. Vyvinie sa chronická reakcia, aktivované makrofágy obkolesujú baktérie (napr. *Mycobacterium tuberculosis*) a vytvoria sa granulómy so značným poškodením tkaniva.

- **Reakcie cytotoxických T-lymfocytov** – sprostredkované sú CD8<sup>+</sup> T-lymfocytmi. Aktivované CD8<sup>+</sup> T-lymfocyty (cytotoxické T-lymfocyty) cirkulujú v tele a vyhľadávajú pMHC I. na bunkách. MHC I. sa nachádzajú na všetkých jadrových bunkách tela, takže cytotoxické T-lymfocyty môžu kontrolovať jadrové bunky po celom tele. Keď nájdú bunky s rovnakým pMHC I., aký viedol k ich aktivácii, naviažu sa na ne a použijú mechanizmy na zničenie cieľových buniek. Uvoľnia perforíny a granzýmy. Perforíny vytvoria diery v membránach infikovaných buniek a granzýmy vstúpia cez diery do vnútra buniek, kde navodia degradáciu DNA infikovanej bunky a apoptózu bunky. Okrem toho cytotoxické T-lymfocyty majú na svojom povrchu molekuly Fas ligandy (FasL), ktoré sa viažu na Fas proteín prítomný na povrchu cieľovej infikovanej bunky. Po ich väzbe sa spustí apoptóza. Apoptóza je dôležitý obranný mechanizmus, pretože dochádza k zničeniu vlastnej DNA aj nukleovej kyseliny infekčných mikroorganizmov, čo pomáha pri prevencii šírenia infekcie.

## OTÁZKY a ODPOVEDE

Ako sa označuje vzťah medzi antigén prezentujúcimi bunkami a T-lymfocytmi? Imunologická synapsa.

Ktoré bunky sú považované za najvýznamnejšie antigén prezentujúce bunky? Najvýznamnejšie APC sú dendritové bunky, ktoré sú lokalizované v miestach pravdepodobného vstupu mikroorganizmov.

Čo sú proteazómy? Sú to rúrkovité útvary v cieľových bunkách, v ktorých prebieha proteolýza proteínov na malé peptidové fragmenty.

Ktoré bunky rozpoznávajú komplexy pMHC I. triedy? CD8<sup>+</sup> T-lymfocyty.

Ktoré bunky rozpoznávajú komplexy pMHC II. triedy? CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty.

Na čo slúži CD3 komplex? Komplex CD3 má cytoplazmatické nožičky s aktivačnými motívmi (ITAM), ktoré keď sa priblížia, tak sa spustí prenos signálu do vnútra T-lymfocytu.

Čo je potrebné na aktiváciu T-lymfocyту? Prvý signál, ktorý sa prenesie do vnútra lymfocyту cez komplex CD3 a druhý signál, ktorý predstavujú interakcie medzi kostimulačnými molekulami na APC a kostimulačnými receptormi na T-lymfocyte. Potom sa spustí proces intracelulárnej kaskády aktivácie T-lymfocyту.

Čím je ovplyvnený vývoj Th1 a Th2 klonov? Prítomnosťou cytokínov (najmä IL-12 a IL-4) v mikroprostredí. Ak budú na začiatku imunitnej odpovede na mikroorganizmy zapojené makrofágy a dendritové bunky, budú produkované cytokíny IL-12, ktoré stimulujú vývoj Th1 subpopulácie. V prípade zapojenia mastocytov a bazofilov je produkovaný IL-4 a ten stimuluje vývoj Th2 populácie.

Ako dochádza k aktivácii T-lymfocytov superantigénmi? Superantigény sa spájajú s molekulami MHC II. na APC a zároveň s TCR na T-lymfocytoch. Toto prepojenie predstavuje signál, ktorý vedie naraz k aktivácii veľkého množstva T-lymfocytov. Z nich sa uvoľní veľké množstvo cytokínov, ktoré následne aktivujú množstvo ďalších imunitných buniek.

## PÄTNÁSTA KAPITOLA

# Aktivácia B-lymfocytov

## Hlavné témy

---

- ❖ Imunitná odpoveď založená na protilátkach
    - ✓ Interakcia B-lymfocytov s antigénom
    - ✓ Protilátková imunitná odpoveď a vzťah k T-lymfocytom
      - Protilátková odpoveď vyvolaná T-nezávislými antigénmi
      - Protilátková odpoveď vyvolaná T-závislými antigénmi
  - ❖ Primárna a sekundárna fáza protilátkovej odpovede
    - ✓ Primárna fáza protilátkovej odpovede
      - Germinálne centrá
    - ✓ Sekundárna fáza protilátkovej odpovede
  - ❖ Mechanizmy pôsobenia protilátok v organizme
  - ❖ Imunologická pamäť
- 

## 15.1 Imunitná odpoveď založená na protilátkach

### 15.1.1 Interakcia B-lymfocytov s antigénom

Imunitná odpoveď založená na protilátkach je spojená s rozpoznaním antigénu prostredníctvom BCR receptorov B-lymfocytov. Na rozdiel od TCR vedia BCR rozpoznať a naviazať nielen epitopy viazané na bunkách, ale aj na rozpustných molekulách. BCR receptor je tvorený IgM a IgD s rovnakou špecificitou a je zodpovedný za rozpoznanie antigénu. Za prenos signálu zodpovedá transmembránový heterodimér zložený z reťazcov Ig $\alpha$  a Ig $\beta$ . Tieto postranné reťazce majú vo svojej cytoplazmatickej časti úsek nazývaný ITAM. Keď sa antigén naviaže na dva alebo viac receptorov, dôjde k prekríženiu BCR. Antigen teda musí mať najmenej dva identické epitopy, aby sa mohlo uskutočniť prekríženie. Prekríženie BCR vedie ku konformačným zmenám a aktivácii tyrozínkináz, čo

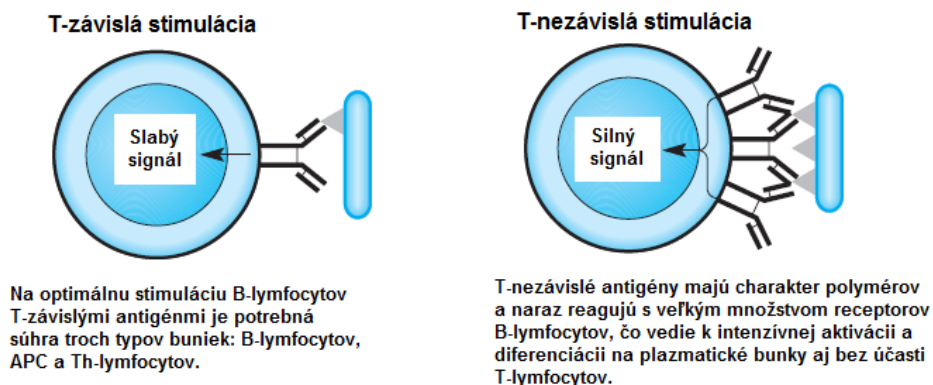


spôsobí fosforyláciu ITAM úseku postranných reťazcov  $I\gamma\alpha$  a  $I\gamma\beta$ . Fosforylácia ITAM spustí kaskádu transdukcie signálu, aktiváciu transkripčných faktorov a aktiváciu génov.

V ďalšom procese sa antigén dostáva endocytózou do vnútra bunky a je rozštiepený na malé peptidové fragmenty. Vzniknuté peptidové fragmenty sa viažu na MHC II., vznikajú kostimulačné molekuly a celý komplex pMHC II. sa presúva na povrch bunky, aby mohol byť prezentovaný  $CD4^+$  T-lymfocytom. To znamená, že **B-lymfocyt môže fungovať ako APC**. Keďže B-lymfocyty **majú schopnosť rozpoznat' antigén špecificky, lebo vlastnia špecifický receptor, vedia prezentovať antigén prítomný aj vo veľmi malom množstve**. V prípade, že sa antigén vyskytuje vo vysokej koncentrácii, ako APC slúžia predovšetkým dendritové bunky a makrofágy. Ak koncentrácia antigénu poklesne na nízke hodnoty, vtedy pôsobia ako APC práve B-lymfocyty.

### 15.1.2 Protilátková imunitná odpoveď a vzťah k T-lymfocytom

Väčšinou sú antigény schopné vyvolať protilátkovú imunitnú odpoveď závislú na spolupráci  $T_H$  a B-lymfocytov. Vtedy ide o **T-závislé (dependentné) antigény** a sú to najmä **proteíny**. Niektoré antigény vedia vyvolať aktiváciu B-lymfocytov, ich diferenciáciu na plazmatické bunky a sekréciu protilátok aj bez  $T_H$ -lymfocytov. Vtedy ide o **T-nezávislé (independentné) antigény** a sú to najmä **polysacharidy** (obr. 45).



**Obr. 45 Stimulácia protilátkovej odpovede T-závislými a T-nezávislými antigénmi**

(upravené podľa: Wood P. Understanding immunology. 2nd edition. Harlow: Pearson Education Limited. 2006; pp. 315. ISBN: 978-0-13-196845-5)

### Protilátková odpoveď vyvolaná T-nezávislými antigénmi

T-nezávislé antigény (TI) sú charakteristické tým, že aktivujú B-lymfocyty bez pomoci T-lymfocytov. Delia sa do dvoch skupín TI-1 a TI-2. Prvá skupina TI-1 sú hlavne **lipopolysacharidy** baktérií. Neviažu sa na BCR, ale na iné receptory (TLR) a spôsobujú aktiváciu veľkého počtu B-lymfocytov s následnou produkciou protilátok nezávislou na špecificite antigénu. Tieto antigény pôsobia vo vysokej koncentrácii ako polyklonálne aktivátory, a preto sa tiež označujú mitogény B-lymfocytov (ak sa TI-1 vyskytujú v nízkych koncentráciách, tak aktivujú antigén špecifické T-lymfocyty).

Druhá skupina TI-2 sú hlavne **polysacharidové** (puzdrové), prípadne **proteínové** (flagelárne/bičíkové) antigény mikroorganizmov vytvárajúce **polyméry** (mnohonásobne sa opakujúce základné jednotky). Takéto **polymérne antigény reagujú naraz s veľkým množstvom BCR, a tým ich intenzívne prekrížia. Spustí sa veľmi intenzívna aktivácia B-lymfocytov a ich diferenciácia na plazmatické bunky bez pomoci T-lymfocytov.** Takýmto spôsobom môžu byť špecificky aktivované iba zrelé B-lymfocyty. Nezrelé B-lymfocyty sú pôsobením TI-2 antigénov anergizované a neodpovedajú. Tým sa vysvetľuje, prečo malé deti (u ktorých je typické vysoké zastúpenie nezrelých B-lymfocytov) do veku asi dvoch rokov nedokážu tvoriť protilátky proti polysacharidom mikroorganizmov. Imunitná odpoveď na túto skupinu antigénov však nie je absolútne T-nezávislá, pretože sa zistila zvýšená tvorba protilátok, ak sa pridalo malé množstvo T-lymfocytov. Potrebné sú totiž niektoré cytokíny produkované T-lymfocyty. Priamy kontakt s Th však nie je potrebný (obr. 45).

Výsledkom aktivácie T-nezávislými antigénmi je vznik protilátok iba v triede IgM. Nedochádza ani k preladeniu tried (izotypovému prešmyku), ani k dozrievaniu afinity.

### *Protilátková odpoveď vyvolaná T-závislými antigénmi*

T-závislé antigény sú charakteristické tým, že **aktivujú B-lymfocyty iba s pomocou T-lymfocytov.** Patria sem hlavne **proteíny.** Prebieha v dvoch fázach – primárnej a sekundárnej. Primárna fáza protilátkovej odpovede na T-závislé antigény začína prvým stretnutím s antigénom. Prebieha v sekundárnych lymfoidných orgánoch a tkanivách. Väzbou antigénu na BCR dochádza k stimulácii B-lymfocytov. **Na optimálnu stimuláciu B-lymfocytov je ale potrebná súhra troch typov buniek, a to B-lymfocytov, APC (hlavne dendritových buniek) a Th-lymfocytov** (obr. 45). V prípade, že sa z B-lymfocytu stane dobrá APC (bude exprimovať kostimulačné molekuly CD80/86), potom bude postačovať súhra Th a B-lymfocytov. Protilátkové reakcie závislé na Th-lymfocytoch **vyvolávajú vznik vysokoafinitných protilátok** vďaka dozrievaniu afinity a charakteristický je **vznik pamäťových buniek.**

Prvý signál je rozpoznanie antigénu BCR receptorom, ktorý sa nachádza na B-lymfocyte. Podmienkou je, že B-lymfocyt stimulovaný určitým antigénom musí dostať pomoc od Th-lymfocytu, ktorý rozpozna ten istý antigén. Antigén po pohltení endocytózou do APC je rozštiepený na peptidové fragmenty, ktoré sa spoja s MHC II. a po presunutí na povrch bunky sa prezentujú ako komplex pMHC II. Tento komplex je potom rozpoznaný CD4+ T-lymfocytom a vzniknú prekursori Th-lymfocytov. Druhý signál teda poskytne Th-lymfocyt. Vzniká príslušný klon Th2-lymfocytov a ten musí mať antigén špecifický TCR, ktorý bude rozpoznávať rovnaký antigén aký rozpoznal B-lymfocyt. B-lymfocyt teda musí byť stimulovaný rovnakým antigénom, aký vyvolal vznik špecifického klonu Th2-lymfocytov.

Prenos signálu v B-lymfocyte prebehne za účasti BCR (cez  $I\alpha$  a  $I\beta$ ), ďalej kostimulačných molekúl (CD40, CD80/86...) a spojením komplexu pMHC II. s príslušným TCR. To vedie k vzniku receptora IL-4R na B-lymfocyte, ktorý sa viaže s cytokínom IL-4 (produkt Th2-lymfocytov). Jedná sa teda o priamu špecifickú pomoc Th-lymfocytu, ktorou pomáha stimulovať diferenciáciu B-lymfocytu na plazmatickú alebo pamäťovú bunku.

Plazmatické bunky sú terminálne diferencované B bunky produkujúce protilátky (imunoglobulíny) a obehovým systémom sa dostávajú do rôznych častí tela. Imunoglobulíny produkované plazmatickými bunkami môžu viazať epitopy rovnaké, aké dokáže viazať povrchový imunoglobulín nachádzajúci sa na B-lymfocyte, z ktorého sa plazmatické bunky vyderencovali. Niektoré z B-lymfocytov sa po stimulácii stanú pamäťovými bunkami a tiež sú určené proti rovnakému epitopu ako bol určený povrchový imunoglobulín pôvodného B-lymfocytu.

## **15.2 Primárna a sekundárna fáza protilátkovej reakcie**

**Protilátkové reakcie závislé na Th-lymfocytoch prebiehajú v dvoch fázach: primárnej a sekundárnej.** Tieto fázy môžu prebiehať oddelene (keď je množstvo antigénu malé a k opakovanému kontaktu dochádza až po istom čase) alebo môžu prebiehať bezprostredne za sebou (keď je množstvo antigénu relatívne veľké a pretrváva v organizme napr. pri infekcii).

### **15.2.1 Primárna fáza protilátkovej odpovede**

Pri prvom stretnutí s antigénom dochádza k dvom dejom. Po prvé je to stimulácia B-lymfocytu (naviazaním antigénu na jeho BCR) a po druhé je to pohltienie antigénu APC s následnou prezentáciou peptidových fragmentov (v komplexe pMHC II.) CD4+ T-lymfocytom a vznik antigén špecifických klonov Th-lymfocytov, ktoré budú pomáhať B-lymfocytom v proliferácii a diferenciácii.

**V lymfatických uzlinách** v kôre sa nachádzajú lymfatické folikuly, ktoré majú kortikálnu B-zónu a parakortikálnu T-zónu. Bunky, ktoré sa v nich nachádzajú, sú zo začiatku oddelené. Keď B-lymfocyt rozpozná antigén, začne migrovať do hraničnej oblasti medzi kortikálnou a parakortikálnou zónou folikulu. Do tých istých miest budú migrovať aj stimulované Th-lymfocyty (po rozpoznaní pMHC II. na dendritových bunkách), kde rozoznajú príslušným antigénom stimulované B-lymfocyty a poskytnú im signály na proliferáciu a diferenciáciu na plazmatické bunky, ktoré migrujú krvným obehom do celého organizmu a tvoria protilátky. **V slezine** antigény stimulujú B-lymfocyty v oblasti spojenia marginálnej zóny a primárnych folikulov. T-lymfocyty sú antigénmi stimulované v oblasti periarteriálnej lymfatickej pošvy (PALP), ktorá je týmusdependentnou zónou (je osídlená T-lymfocytmi). Stimulované B-lymfocyty migrujú k hranici primárneho folikulu a PALP, aby sa stretli s T-lymfocytmi, nastáva interakcia T a B-lymfocytov vyúsťujúca do proliferácie B-lymfocytov a vzniku plazmatických buniek (obdobne ako v lymfatických uzlinách). Plazmatické bunky potom migrujú do marginálnej zóny a produkujú protilátky.

**Prevažujúcim izotypom protilátok pri primárnej fáze sú IgM.** Majú pomerne nízku afinitu k antigénu, ale zvyčajne dobre blokujú šírenie infekcie a prispievajú k tvorbe imunokomplexov. Nie všetky B-lymfocyty sa po stimulácii diferencujú na plazmatické bunky. Niektoré B a Th-lymfocyty vstupujú po 4 – 7 dňoch od stimulácie antigénom do primárnych folikulov, kde sa začnú formovať germinálne (zárodočné) centrá.

### Germinálne centrá

V germinálnych centrách sa uskutočňuje:

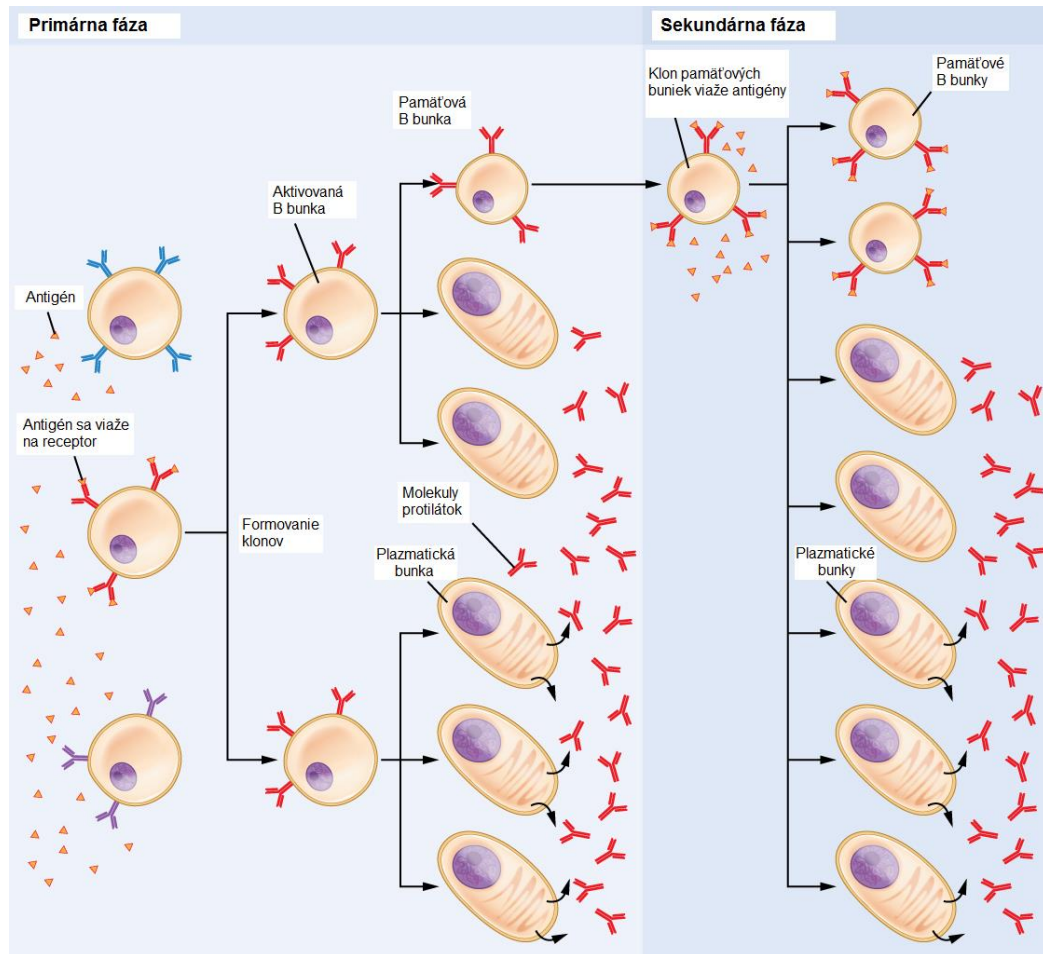
- **Preladenie tried imunoglobulínov** – zmena protilátky na povrchu B-lymfocyty z IgM a IgD na inú triedu (IgG, IgA alebo IgE).
- **Dozrievanie afinity** – vedie k vzniku protilátok s vysokou afinitou k antigénu, ktoré sú účinnejšie pri likvidácii patogénov.
- **Vznik pamäťových B-lymfocytov** – B-lymfocyty, ktoré podstúpili preladenie tried aj dozrievanie afinity, ale nediferencovali sa na plazmatické bunky. Prežívajú v organizme dlhú dobu, aj keď už bola pôvodná hrozba odstránená.
- **Vznik plazmatických buniek** – secernujú veľké množstvo protilátok potrebné na zvládnutie aktuálnej hrozby, kým pamäťové bunky poskytujú obranu pred potenciálnymi budúcimi hrozbami.

Dva z týchto uvedených procesov sa uskutočňujú **výhradne v germinálnych centrách, a to: dozrievanie afinity a tvorba pamäťových B buniek**. Dôležitou súčasťou germinálnych centier sú folikulárne dendritové bunky, ktoré sú schopné vytvárať sieť v celom folikule. Dokážu veľmi dobre a dlho uchovávať veľa antigénov vo forme imunokomplexov a prezentovať ich B-lymfocytom. Folikulárne dendritové bunky teda fungujú ako APC pre B-lymfocyty.

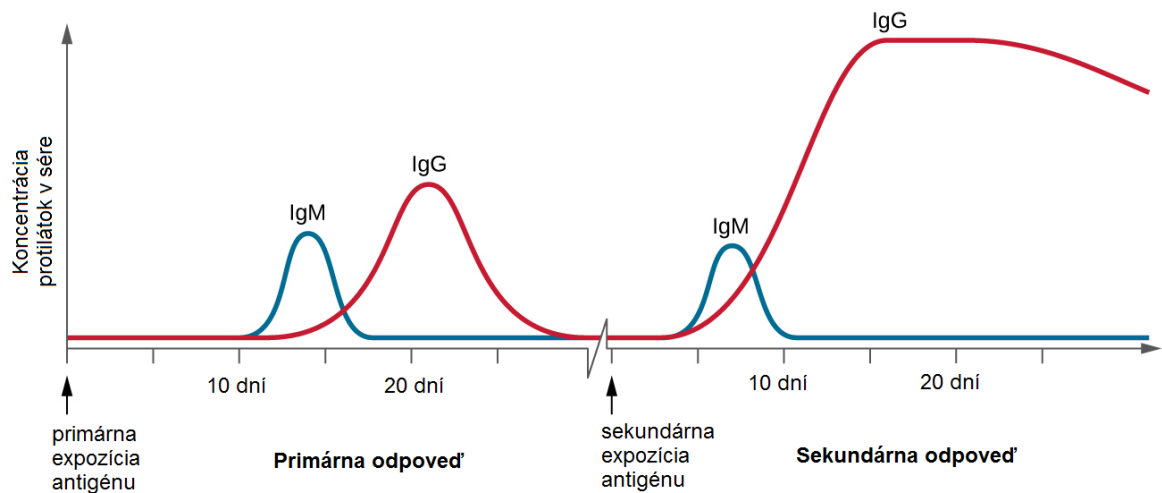
#### 15.2.2 Sekundárna fáza protilátkovej odpovede

Antigén špecifické bunky, u ktorých došlo ku klonálnej expanzii a podstúpili určitý stupeň aktivácie počas predchádzajúceho kontaktu s antigénom (pamäťové bunky) sa môžu mobilizovať rýchlo a vo veľkom počte, čím sa skracuje čas potrebný na odpoveď. Jedná sa o sekundárnu fázu protilátkovej odpovede, pri ktorej **vznikajú protilátky majúce vyššiu afinitu ako v primárnej fáze a v závislosti od izotypu majú aj rôzne efektorové vlastnosti**. Primárna a sekundárna fáza protilátkovej odpovede počas infekcie nastáva bezprostredne po sebe (keď je množstvo antigénu relatívne veľké a v organizme pretrváva, napr. pri infekcii). Vedie k vzniku pamäťových buniek schopných produkovať kvalitnejšie vysokoafinitné protilátky rôznych izotypov (nielen IgM ako v primárnej fáze).

V prípade, že k opakovanému kontaktu s rovnakým antigénom dochádza až po istom čase, tzn. pri opakovanej infekcii, sú pamäťové bunky rýchlo aktivované a vytvorené protilátky účinne potlačia infekciu. Oproti odpovedi na primárnu infekciu je odpoveď na opakovanú infekciu rýchlejšia a významne silnejšia. A to nielen vďaka pamäťovým bunkám, ale aj vďaka pretrvávaniu kvalitných protilátok po primárnej infekcii, ktoré sú schopné už v zárodku zabrániť vzniku opakovanej infekcii. Kým pri primárnej odpovedi je prevažujúcim typom protilátok IgM, tak **pri sekundárnej odpovedi sú to najmä IgG, ale prítomné sú aj IgA a IgE** (obr. 46, 47). Vytvorené protilátky majú vyššiu afinitu k antigénu ako pri primárnej odpovedi.



**Obr. 46 Primárna a sekundárna fáza protilátkovej odpovede** (upravené podľa: [https://cnx.org/contents/FPtK1zmmh@6.27:AY5\\_7yUs@4/The-Adaptive-Immune-Response-B](https://cnx.org/contents/FPtK1zmmh@6.27:AY5_7yUs@4/The-Adaptive-Immune-Response-B))



**Obr. 47 Graf vývoja koncentrácie protilátok v sére pri primárnej a sekundárnej protilátkovej odpovede** (upravené podľa: [https://bio.libretexts.org/TextMaps/Map%3A\\_Microbiology\\_\(OpenStax\)/18%3A\\_Specific\\_Adaptive\\_Host\\_Defenses/18.4%3A\\_B\\_Lymphocytes\\_and\\_Antibodies](https://bio.libretexts.org/TextMaps/Map%3A_Microbiology_(OpenStax)/18%3A_Specific_Adaptive_Host_Defenses/18.4%3A_B_Lymphocytes_and_Antibodies))



## 15.3 Mechanizmy pôsobenia protilátok v organizme

K mechanizmom pôsobenia protilátok v organizme patria:

- **Neutralizácia** – je viazanie protilátok na epitopy mikróbov alebo na ich rozpustné molekuly (napr. toxíny), a to vyvolá neschopnosť mikróbov naviazať sa na cieľové bunky organizmu a preniknúť do nich. Neutralizujúce protilátky sú najmä izotypy IgG a IgA. Prítomnosť neutralizujúcich protilátok na začiatku infekcie poskytuje najväčšiu ochranu pred následnou reinfekciou rovnakým mikroorganizmom.
- **Opsonizácia** – je naviazanie protilátok (izotypov IgG1 alebo IgG3) na povrch mikroorganizmu, čím sa stane prítiažlivejším pre fagocyty. Na povrchu fagocytujúcich buniek sa nachádzajú receptory FcR, ktoré rozpoznávajú protilátky s naviazanými antigénmi a pohltia ich. Inak povedané, protilátky označia mikroorganizmus, ktorý má byť zlikvidovaný fagocytmi. Tento proces je súčasne podporovaný aj komplementom. Na povrchu fagocytov sa nachádzajú aj receptory pre komplement CR. Viaceré fragmenty komplementu majú funkciu opsonínov a pomáhajú stimulovať fagocytózu.
- **Aktivácia komplementu** – protilátky naviazané na antigén aktivujú klasickú cestu komplementu. Prispieva to k opsonizácii, chemotaxii fagocytov, k rozvoju zápalu a k lýze buniek mikroorganizmov (vytvorením membránového útočného komplexu).
- **ADCC** – je cytotoxicita závislá na protilátkach. Označením mikroorganizmu protilátkami sa môže spustiť nielen pritiahnutie fagocytov, ale aj iných cytolytických buniek: NK buniek a eozinofilov. Na nich sa nachádzajú receptory FcR, ktoré rozpoznávajú protilátky IgG, IgA alebo IgE s naviazanými mikroorganizmami a usmrťia ich cytolytickými mechanizmami. Tento proces využívaný NK bunkami a eozinofilmi pri ADCC je podobný ako mechanizmus využívaný cytotoxickými bunkami.
- **Okamžitá hypersenzitivita** – na povrchu mastocytov a bazofilov sa nachádzajú receptory FcR pre protilátky IgE. Na týchto receptoroch sú naviazané IgE. Keď povrchový IgE rozpozná vhodný epitop a dôjde k vzájomnému prekríženiu, mastocyt alebo bazofil je stimulovaný k degranulácii. Z cytoplazmatických granúl sú uvoľnené mediátory, ktoré spustia typické prejavy okamžitej hypersenzitívnej reakcie (alergia, astma).

## 15.4 Imunologická pamäť

Organizmus, ktorý príde do kontaktu opätovne s tým istým antigénom, vyvinie **imunitnú odpoveď rýchlejšie a intenzívnejšie ako pri prvom kontakte** s týmto antigénom vďaka imunologickej pamäti. Imunologická pamäť **je dôležitým rozdielom medzi vrodenu a získanou imunitou**. Imunologická pamäť je vlastnosťou získanej (špecifickej) imunity. Bunky špecifickej imunity, u ktorých došlo ku klonálnej expanzii a podstúpili aktiváciu počas predchádzajúceho kontaktu s antigénom (pamäťové bunky), sa pri opakovanom kontakte s týmto antigénom rýchlo mobilizujú, a tým sa skráti čas odpovede na antigén. Počas procesov preladenia tried dochádza k vzniku ďalších izotypov



protilátok a dozrievaním afinity sa vytvárajú kvalitné vysokoafinitné protilátky schopné silno viazať antigény. Výsledkom je, že sekundárna odpoveď je rýchlejšia a účinnejšia ako primárna.

Imunologická pamäť **je dôležitá pri vakcinácii** (očkovaní). Počas očkovania je jedinec vystavený určitému infekčnému agensu vo forme, ktorá nie je schopná vyvolať plne rozvinuté infekčné ochorenie. Očkovanie však môže poskytnúť ochranu pri potenciálnej expozícii virulentnej forme daného mikroorganizmu v budúcnosti. Podobne pri očkovaní toxoidom (anatoxínom = toxicita toxínu je potlačená formaldehydom alebo teplom) sa vyvinie ochrana pri potenciálnej budúcej expozícii prirodzenej forme toxínu. V priebehu primárnej odpovede pri očkovaní si vytvára organizmus obranné zásoby v podobe pamäťových T a B-lymfocytov. Pri budúcej expozícii danému mikroorganizmu, ktorý už bude vo virulentnej forme, je organizmus vybavený veľkým množstvom buniek, ktoré budú rýchlejšie a účinnejšie odpovedať na prítomnosť daného mikroorganizmu. Protilátky vytvorené počas tejto sekundárnej odpovede silno viažu a neutralizujú mikroorganizmus, čím minimalizujú riziko vzniku a rozvoja infekcie. Odstránenie infekčného mikroorganizmu môže byť také účinné, že sa u človeka ochorenie klinicky vôbec neprejaví.

### OTÁZKY a ODPOVEDE

S čím sa spája imunitná odpoveď založená na protilátkach? Je spojená s rozpoznaním antigénu prostredníctvom BCR receptorov na B-lymfocytoch.

Charakterizujte T-nezávislé antigény. Označujú sa tiež ako T-independentné antigény. Aktivujú B-lymfocyty bez pomoci T-lymfocytov. Môže ísť o antigény, ktoré sa neviažu priamo na BCR, ale na iné receptory (TLR) a spôsobia aktiváciu veľkého počtu B-lymfocytov a produkciu protilátok nezávisle na špecificite antigénu. Alebo môže ísť o polymérne antigény s veľkým množstvom epitopov, ktoré sa naraz viažu s veľkým množstvom BCR, a tým ich intenzívne prekrížia. Následne sa spustí veľmi intenzívna aktivácia B-lymfocytov bez pomoci T-lymfocytov.

Charakterizujte T-závislé antigény. Sú to antigény, ktoré aktivujú B-lymfocyty iba s pomocou T-lymfocytov. Sú to najmä proteíny. Na optimálnu aktiváciu B-lymfocytov a produkciu protilátok je potrebná súhra troch typov buniek: B-lymfocytov, APC a Th-lymfocytov.

Uved'te typické vlastnosti protilátkových odpovedí závislých na Th-lymfocytoch. Sú typické tvorbou vysokoafinitných protilátok vďaka dozrievaniu afinity a vznikom pamäťových buniek.

Ktorý izotyp protilátok je v prevahe v primárnej fáze protilátkovej odpovede? Prevažujúcim typom sú IgM. Majú pomerne nízku afinitu k antigénom, ale zvyčajne dobre blokujú šírenie infekcie a prispievajú k tvorbe imunokomplexov.

Kde prebieha dozrievanie afinity a tvorba pamäťových buniek? Výhradne v germinálnych centrách.

#### Kapitola: 15.4 Imunologická pamäť

Ktorý izotyp protilátok prevláda v sekundárnej fáze protilátkovej odpovede? Sú to IgG, ale prítomné sú aj IgA a IgE. Protilátky majú vyššiu afinitu k antigénu ako pri primárnej odpovedi.

Čo znamená anatoxín? Označovaný je tiež ako toxoid. Využíva sa pri očkovaní. Je to toxín zbavený toxicity, jeho toxicita je potlačená (napr. formaldehydom alebo teplom).

## ŠESTNÁSTA KAPITOLA

# Regulácia špecifických imunitných reakcií

### Hlavné témy

---

- ❖ Regulácia imunitných reakcií
  - ❖ Tolerancia
    - ✓ Centrálna tolerancia
    - ✓ Periférna tolerancia
  - ❖ Th1/ Th2 paradigma
  - ❖ Regulačné cytokíny
- 

### 16.1 Regulácia imunitných reakcií

Imunitná odpoveď je regulovaná mnohými mechanizmami, ktoré by mali zabezpečiť jej optimálny priebeh. Ak imunitný systém pracuje správne, rozpoznáva a útočí na cudzie molekuly a vlastné štruktúry neohrozuje. Za normálnych podmienok by mala byť výsledná imunitná reakcia by mala byť úmerná vyvolávajúcemu podnetu, aby viedla k eliminácii škodliviny a aby nedošlo k poškodeniu vlastného tkaniva. Regulácia prebieha na viacerých úrovniach. **Začína sa prítomnosťou samotného antigénu**, pretože jeho vlastnosti a množstvo ovplyvňujú kvalitu a rozsah odpovede. Vymiznutie antigénu vedie k zníženiu a ukončeniu imunitnej odpovede. Naopak veľmi veľké množstvo antigénu vedie k vyčerpaniu imunitného systému.

Imunitný systém je schopný rozpoznávať antigény vlastných tkanív a reagovať s nimi tak, aby sa zabezpečila homeostáza organizmu. Toleruje vlastné tkanivá a odstraňuje staré, poškodené bunky vlastného organizmu.

## 16.2 Tolerancia

Schopnosť tolerovať vlastné antigény sa vytvára v priebehu dozrievania T a B-lymfocytov. Lymfocyty sa vychovávajú k tomu, aby vedeli rozpoznať a odlíšiť vlastné (self) od nevlastného (non-self). Ak zlyhajú mechanizmy tolerancie k vlastným tkanivám, rozvíjajú sa autoimunitné ochorenia. Tolerancia prebieha na úrovni centrálnej a periférnej.

### 16.2.1 Centrálna tolerancia

**Centrálna tolerancia sa vyvíja v týmuse pre T-lymfocyty a v kostnej dreni pre B-lymfocyty.**

V kôre týmusu prebieha najskôr pozitívna selekcia, pri ktorej sú zachované iba tie T-lymfocyty, ktoré sú schopné rozpoznať svojimi receptormi TCR vlastné MHC molekuly prezentujúce vlastné peptidy. Tie, ktoré nebudú vedieť rozpoznať vlastné MHC, podľahnú apoptóze. Pozitívnu selekciou sú teda vybrané tie, ktoré vedia rozpoznať vlastné MHC. V dreni týmusu prebieha následne negatívna selekcia, počas ktorej sú eliminované ďalšie T-lymfocyty rozpoznávajúce komplexy vlastného peptidu na MHC s vysokou afinitou. Pre organizmus sú potenciálne nebezpečné, lebo sú autoreaktívne, a preto podľahnú apoptóze. Negatívnu selekciou sú teda vyradené potenciálne autoreaktívne T-lymfocyty. Takýmto spôsobom je v týmuse počas výchovy T-lymfocytov zlikvidovaných až 95-98 % zo všetkých, ktoré tam vstúpili.

V kostnej dreni prebieha negatívna selekcia a odstraňované sú B-lymfocyty s receptorom BCR, ktorý dokáže rozpoznať a viazať vlastné molekuly. Tieto B-lymfocyty sú potenciálne nebezpečné, autoreaktívne. Preto sú odstránené apoptózou.

Na vlastné antigény sa teda navodí tolerancia. Napriek mechanizmom pozitívnej a negatívnej selekcie môžu niektoré bunky (T aj B) uniknúť, nezískajú toleranciu na vlastné a môžu sa dostať do sekundárnych lymfoidných orgánov. Po ich aktivácii sa môže spustiť autoimunitný proces. Navyše niektoré vlastné peptidové antigény sú v takých anatomických oblastiach, že nie sú dosiahnuteľné imunitným systémom, a preto môžu niektoré autoreaktívne T-lymfocyty uniknúť pozitívnej a negatívnej selekcii.

### 16.2.2 Periférna tolerancia

Procesy získania centrálnej tolerancie sú významne dopĺňané mechanizmami **periférnej tolerancie priamo v tkanivách alebo regionálnych lymfatických uzlinách**. Výsledkom periférnej tolerancie sú:

**Klonálna anergia** – je stav neodpovedavosti lymfocytov, ktorý sa vyskytuje, ak lymfocyty dostali stimul prostredníctvom TCR alebo BCR, ale chýbali ďalšie správne signály poskytované APC alebo T-lymfocyty. Lymfocyt síce rozpozná autoantigén, ale chýbajú kostimulačné signály nevyhnutné na úplnú aktiváciu bunky a imunitný systém neodpovedá. Anergia je teda formou regulácie naivných T a B-lymfocytov. Anergizované bunky nie sú zabité, zostávajú v cirkulácii, ale za normálnych okolností nemôžu byť opätovne aktivované.

**Klonálna delécia** – je zničenie autoreaktívnych klonov lymfocytov, ktoré rozpoznávajú autoantigén a aktivujú sa. Takéto lymfocyty sú zničené apoptózou.

**Klonálna ignorancia** – znamená, že lymfocyty nevedia rozpoznať autoantigén, lebo sa vyskytuje len v malom množstve a nevznikne dostatočný signál na aktiváciu receptorov lymfocytov.

**Supresia** – je potlačenie autoreaktívnych lymfocytov inými bunkami alebo produktami imunitného systému, najmä regulačnými T-lymfocytmi. Regulačné T-lymfocyty tak prispievajú k tolerancii. Inhibujú aktivitu autoreaktívnych lymfocytov. Regulačné CD4+ Treg lymfocyty tlmia aktivitu iných buniek imunitného systému produkciou tlmivých cytokínov a ďalšími mechanizmami. Považované sú za významné v prevencii niektorých autoimunitných reakcií (autoimunitná gastritída, chronická kolitída). Podobné tlmivé vlastnosti majú aj supresorové Ts lymfocyty, ktoré sú inhibujúcou subpopuláciou CD8+ T-lymfocytov (supresorové CD8+ Ts lymfocyty). Ich prítomnosť bola spojená tiež s inhibíciou niektorých autoimunitných ochorení (napr. experimentálnej autoimunitnej encefalomyelitídy).

### 16.3 Th1/ Th2 paradigma

Tento mechanizmus je považovaný za významný prvok v regulácii imunitných odpovedí. Imunitné reakcie predstavujú často rovnovážny stav medzi rôznymi reakčnými mechanizmami. Príkladom sú pomocné T-lymfocyty. Môžu produkovať mnoho rôznych cytokínov (TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, IL-21), ktoré využívajú na komunikáciu s ostatnými bunkami imunitného systému. Jedna bunka však neprodukuje celé spektrum cytokínov. Th-lymfocyty majú skôr tendenciu produkovať určité podmnožiny cytokínov, ktoré sú vhodné na imunitnú reakciu proti určitým útočníkom. Vzniká tak určitý cytokínový profil, ktorý sú schopné Th-lymfocyty vytvoriť.

Akonáhle **Th-lymfocyty začnú tvoriť určitý cytokínový profil, začnú vylučovať rastové faktory**, ktoré sú **špecifické pre daný typ lymfocytov**. Tým vzniká **pozitívna spätná väzba** a vybraný Th-lymfocyt začne proliferovať a produkovať ešte viac svojho vlastného rastového faktora, čo vyvolá ešte intenzívnejšiu proliferáciu vybraného typu pomocných Th-lymfocytov. Avšak okrem pozitívnej spätnej väzby nastáva aj **negatívna odozva**. Napríklad **hlavný cytokín subpopulácie Th1-lymfocytov IFN- $\gamma$  podporuje vývoj Th1, ale negatívne ovplyvňuje (inhibuje) proliferáciu Th2-lymfocytov**. To znamená, že sa vytvorí menej Th2 buniek. Platí to aj naopak, hlavné **cytokíny subpopulácie Th2-lymfocytov IL-4, IL-10 podporujú Th2, ale výrazne inhibujú proliferáciu Th1-lymfocytov**. Výsledkom týchto pozitívnych a negatívnych spätých väzieb je vytvorenie veľkého počtu pomocných Th-lymfocytov, ktoré budú určené na tvorbu určitej podskupiny cytokínov. Ak sa teda začne Th1 odpoveď, automaticky sa začne stabilizovať a potláčať konkurenčná Th2 odpoveď. A platí to aj naopak.

Podobné princípy sa uplatňujú aj v regulácii Th17 subpopulácie. Cytokíny subpopulácií Th1 a Th2 (IFN- $\gamma$ , IL-4) inhibujú Th17. Naopak cytokín subpopulácie Th17 (TGF- $\beta$ ) inhibuje Th1 a Th2.

## 16.4 Regulačné cytokíny

Regulácia odpovedí získanej imunity je významnou mierou zabezpečovaná cytokínmi. **Cytokíny sú považované za základné regulačné látky imunitného systému.** Prenášajú dôležité informácie medzi bunkami. Môžu pôsobiť buď na veľmi krátke vzdialenosti alebo aj vo vzdialených tkanivách. **Pôsobia autokrinne** – priamo na bunku, ktorá ich vyprodukovala, **parakrinne** – na bunky v tesnej blízkosti, alebo **endokrinne** – po transporte cievnym riečiskom aj na bunky vo vzdialených tkanivách. Cytokíny sa delia na viacero skupín a podľa rôznych kritérií. Medzi cytokíny sa zaraďujú interleukíny, interferóny, chemokíny, faktory stimulujúce kolónie, faktory nekrotizujúce tumory, transformujúce rastové faktory a ďalšie rastové faktory. Môžu regulovať mechanizmy vrodenej imunity, čím sa podieľajú predovšetkým na ochrane organizmu pred baktériami a vírusmi. Môžu regulovať mechanizmy špecifickej imunity. Do tejto skupiny cytokínov patria predovšetkým tie, ktoré sú vytvárané T-lymfocytmi. Napríklad cytokíny, ktoré sú odvodené od T-lymfocytov sú potrebné pre aktiváciu B-lymfocytov a preladenie tried. Naopak zase B-lymfocyty môžu cytokínmi ovplyvniť aktiváciu T-lymfocytov. Tiež rôzne poddruhy T-lymfocytov produkujú rôzne cytokíny, ktoré môžu ovplyvňovať iné poddruhy T-lymfocytov (napr. Th1 vs. Th2). Niektoré cytokíny, ktoré sa podieľajú na regulácii lymfocytov sú uvedené v tabuľke 4.

**Tab. 4 Vybrané cytokíny podieľajúce sa na regulácii lymfocytov**

Cytokín	Funkcia
IL-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>- rastový faktor pre T-lymfocyty</li> <li>- podporuje produkciu ďalších cytokínov (napr. IFN-<math>\gamma</math>)</li> </ul>
IL-4	<ul style="list-style-type: none"> <li>- rastový a diferenciačný faktor pre Th2-lymfocyty</li> <li>- indukuje proliferáciu a dozrievanie B-lymfocytov a preladenie syntézy protilátok do tried IgE, IgG1, IgG3, IgG4</li> <li>- v zreých B-lymfocytoch zvyšuje expresiu MHC II. a kostimulačných molekúl, čím zvyšuje antigén prezentačnú schopnosť B-lymfocytov</li> </ul>
IL-10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- podporuje Th2 a inhibuje Th1 odpoveď</li> <li>- inhibuje produkciu cytokínov tvorených makrofágmi (IL-12, IFN-<math>\gamma</math>)</li> <li>- znižuje expresiu MHC II. a kostimulačných molekúl, čím znižuje antigén prezentačnú schopnosť</li> </ul>
IL-12	<ul style="list-style-type: none"> <li>- nie je produkovaný T-lymfocytmi, ale aktivovanými makrofágmi, dendritovými bunkami a B-lymfocytmi</li> <li>- stimuluje produkciu IFN-<math>\gamma</math>, a tým podporuje Th1 cestu a inhibuje Th2 odpoveď</li> <li>- rastový faktor pre NK bunky</li> </ul>
IFN- $\gamma$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- podporuje Th1 imunitnú odpoveď, inhibuje Th2 odpoveď</li> <li>- ovplyvňuje predovšetkým funkciu makrofágov, NK buniek a T-lymfocytov</li> </ul>
TGF- $\beta$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- inhibuje diferenciáciu a aktiváciu T-lymfocytov</li> <li>- pôsobí chemotakticky na neutrofily a monocyty</li> <li>- podporuje preladenie protilátok na IgA</li> <li>- je rastovým faktorom pre mnohé bunky</li> </ul>
IL-17	<ul style="list-style-type: none"> <li>- je produkovaný Th17-lymfocytmi a spätne stimuluje ich proliferáciu</li> <li>- reguluje špecifickú imunitu</li> <li>- stimuluje epitelové, endotelové bunky a fibroblasty do produkcie ďalších cytokínov, čím ovplyvňuje zápalový proces</li> </ul>



Cytokín môže mať veľmi špecifické pôsobenie, ktoré je typické len pre daný cytokín. Pôsobenie niektorých cytokínov sa môže prekrývať s pôsobením iných cytokínov. Účinky rôznych cytokínov sa môžu vzájomne dopĺňať alebo môžu byť antagonistické. Väčšinou pôsobia cytokíny na viacero typov buniek. Tiež platí, že na cieľovú bunku môže pôsobiť súčasne alebo následne za sebou viacero rôznych cytokínov. Výsledný efekt teda závisí aj od koncentrácie daného cytokínu, aj od typu cieľovej bunky a tiež od prítomnosti ďalších cytokínov pôsobiacich na cieľovú bunku.

### OTÁZKY a ODPOVEDE

V ktorých orgánoch alebo tkanivách sa vyvíja centrálna tolerancia? Centrálna tolerancia sa vyvíja v týmuse pre T-lymfocyty a v kostnej dreni pre B-lymfocyty.

Kde sa vyvíja periférna tolerancia? Periférna tolerancia dopĺňa mechanizmy centrálnej tolerancie a vyvíja sa priamo v tkanivách alebo regionálnych lymfatických uzlinách. Jej výsledkom sú klonálna anergia, delécia, ignorancia a supresia.

Vysvetlite pojem klonálna anergia. Je to stav neodpovedavosti lymfocytov, ktorý sa vyskytuje v prípade, keď lymfocyty síce dostali podnet prostredníctvom receptorov (TCR alebo BCR), ale chýbali kostimulačné signály na úplnú aktiváciu lymfocytov a imunitný systém neodpovedá.

Vysvetlite, aký je rozdiel medzi klonálnou deléciou a ignoranciou? Klonálna delécia znamená zničenie autoreaktívnych klonov lymfocytov, ktoré rozpoznali autoantigén a aktivovali sa. Klonálna ignorancia znamená, že lymfocyty nevedia rozpoznať autoantigén, pretože sa vyskytuje v malom množstve a nevznikne dostatočný signál na aktiváciu lymfocytov.

Charakterizujte cytokíny. Cytokíny sú považované za základné regulačné látky imunitného systému, prenášajú dôležité informácie medzi bunkami, delia sa na viacero skupín podľa rôznych kritérií, zaraďujú sa medzi interleukíny, interferóny, chemokíny, faktory stimulujúce kolónie, faktory nekrotizujúce tumory, transformujúce rastové faktory a ďalšie rastové faktory. Regulujú mechanizmy vordenej aj získanej imunity.

Čo znamená autokrinné pôsobenie cytokínov? Ide o pôsobenie cytokínov priamo na bunku, ktorá ich vyprodukovala.

Čo znamená parakrinné pôsobenie? Týmto pojmom sa označuje pôsobenie cytokínov na bunky v tesnej blízkosti od miesta, kde boli cytokíny uvoľnené.

Čo znamená endokrinné pôsobenie cytokínov? Ide o pôsobenie cytokínov na bunky vo vzdialených tkanivách, pričom cytokíny sa do vzdialených tkanív dostávajú cievnyim riečiskom.

## SEDEMNÁSTA KAPITOLA

# Antiinfekčná imunita

## Hlavné témy

---

- ❖ Imunita pri bakteriálnych infekciách
    - ✓ Obrana proti extracelulárnym baktériám
    - ✓ Obrana proti intracelulárnym baktériám
    - ✓ Rozdiely v obrane proti extracelulárnym a intracelulárnym baktériám
  - ❖ Imunita pri vírusových infekciách
  - ❖ Imunita pri nákeze parazitmi
- 

## 17.1 Imunita pri bakteriálnych infekciách

Imunitný systém má schopnosť reagovať s obrovským množstvom cudzorodých molekúl. Existujú tri základné obranné línie organizmu proti infekčným agensom:

- ✓ **Prirodzené bariéry**, ktoré bránia vstupu mikroorganizmu do tela (koža, sliznice, riasinkový epitel, žalúdočná kyselina, atď.)
- ✓ **Vrodené antigén nešpecifické imunitné mechanizmy** poskytujúce rýchlu lokálnu odpoveď na prítomnosť mikroorganizmu (horúčka, neutrofily, makrofágy, NK bunky, atď.)
- ✓ **Získané antigén špecifické imunitné mechanizmy** zamerané na určitý antigén, ktorý napádajú a eliminujú ho v prípade, že prekonal dve predchádzajúce línie obrany (T a B-lymfocyty a protilátky).

Hoci existuje určitý prevažujúci typ imunitnej odpovede voči určitej skupine patogénov (baktérie intracelulárne, extracelulárne, vírusy...), prakticky sa určitou mierou na odpovedi podieľajú viaceré zložky nešpecifickej aj špecifickej imunity. To je veľmi dôležité, pretože mnohé mikroorganizmy majú mechanizmy ako uniknúť imunitě. Aktiváciou viacerých typov imunitných odpovedí voči konkrétnemu útočníkovi sa zvyšuje pravdepodobnosť, že

infekcia bude odstránená alebo lepšie kontrolovaná. V závislosti od toho, či mikroorganizmy dokážu vyvolať ochorenie, sa môžu zaradiť do niekoľkých skupín. Komenzálné (saprofytické) mikroorganizmy žijú s organizmom hostiteľa vo vzájomnej symbióze a niekedy môžu zabezpečovať aj rôzne prospešné funkcie (udržiavajú vhodné pH, súťažia s patogénmi o spoločný zdroj živín a energie a iné). Potenciálne patogénne mikroorganizmy môžu vyvolať infekčné ochorenie u ľudí, ktorí majú oslabený imunitný systém. Patogénne mikroorganizmy môžu byť pôvodcami infekčných ochorení aj u ľudí s plne funkčným imunitným systémom.

Intaktná koža a sliznice mechanicky bránia prieniku mnohých mikroorganizmov. Rôzne ďalšie prirodzené obranné mechanizmy účinne zabraňujú prieniku baktérií (fyziologická mikroflóra, vhodné pH, mikrobicídne molekuly...). Ak však preniknú baktérie do tkanív, potom závisí od efektívnosti ďalších línií imunitnej odpovede organizmu, do akej miery sa obmedzí poškodenie tkanív a ako budú baktérie eliminované. Väčšinou je obrana zameraná voči vonkajším zložkám baktérií alebo molekulám, ktoré vylučujú. Väčšina baktérií preniknutých do organizmu sa zdržiava v extracelulárnom priestore – označujú sa ako extracelulárne baktérie. Ďalšie sa zdržiavajú väčšinu času vo vnútri hostiteľských buniek – označujú sa ako intracelulárne baktérie (hoci určitý krátky čas sa aj tieto vyskytujú v extracelulárnom priestore, a to pri navodení infekcie alebo pri šírení infekcie do ďalších buniek).

### 17.1.1 Obrana proti extracelulárnym baktériám

Medzi extracelulárne baktérie sa zaraďuje množstvo patogénnych baktérií, vrátane stafylokokov, streptokokov, neisserií, bordetel, hemofilov, črevných baktérií, atď.). Extracelulárne baktérie sú po pohltení fagocytmi usmrtené. **Fagocytóza** predstavuje najvýznamnejšiu bariéru proti ďalšiemu prieniku baktérií. Aktivované fagocyty produkujú **cytokíny**, ktoré vplyvajú na odpovede organizmu, podporujú **zvyšovanie telesnej teploty**, **syntézu proteínov akútnej fázy** (napomáhajú opsonizácii baktérií), aktivuje sa **zápal**. Ďalším významným mechanizmom je **komplementový systém**, ktorý pôsobí cytolyticky po vytvorení MAC. Zároveň mnohé štiepne fragmenty zložiek komplementu fungujú ako opsoníny (uľahčujú proces pohltenia opsonizovaných baktérií fagocytózou), chemoatraktanty (chemotakticky priťahujú leukocyty do miesta zápalu) a majú aj mnohé ďalšie biologické účinky.

V ďalších fázach infekcie dochádza k stimulácii antigén špecifickej imunity. **Špecifická imunitná odpoveď proti extracelulárnym baktériám je predovšetkým protilátkového charakteru.** V prvej fáze dochádza k stimulácii B-lymfocytov a následne k produkcii protilátok IgM. Za pomoci Th-lymfocytov dochádza k proliferácii a diferenciacii B-lymfocytov a k preladeniu tried imunoglobulínov. Nastáva produkcia protilátok rôznych izotypov a s vyššou afinitou. Vytvorené **protilátky majú významnú úlohu v antiinfekčnej obrane proti extracelulárnym baktériám:**

- dokážu baktérie opsonizovať,
- aktivujú klasickú cestu komplementu,
- neutralizujú toxíny,
- sekrečné imunoglobulíny sIgA bránia prichyteniu baktérií na epitel.

Ak sú baktérie opuzdrené, polysacharidové puzdro je T-nezávislý antigén a dokáže naraz reagovať s veľkým množstvom BCR, a tým ich poprepájať (prekrižiť). Spustí sa veľmi intenzívna aktivácia B-lymfocytov a ich diferenciácia na plazmatické bunky aj bez pomoci T-lymfocytov. Vytvorené protilátky sa po naviazaní na antigén podieľajú na aktivácii komplementu klasickou cestou. Takto reaguje organizmus na polysacharidové antigény až cca po 2. roku života. Dovtedy je fyziologická odpoveď na polysacharidové antigény nedostatočná. Podobne ako aj u ľudí, ktorým musela byť slezina odstránená alebo zle funguje. Na infekcie extracelulárnymi baktériami sú náchylnejší ľudia s poruchou funkcie fagocytov, komplementu a poruchou tvorby protilátok. Na infekcie opuzdrenými extracelulárnymi baktériami sú vnímavé deti do 2 rokov a jedinci s poškodením sleziny.

### 17.1.2 Obrana proti intracelulárnym baktériám

Medzi intracelulárne baktérie patria mykobaktérie, chlamýdie, rickettsie, listérie, salmonely, brucely, yersínie, ale aj kvasinky a plesne. Zapríčiňujú chronické infekcie. Na rozdiel od extracelulárných baktérií netvorí výrazne toxíny. Tieto baktérie prežívajú a množia sa vo vnútri bunky (napr. v mononukleárných fagocytoch, epitelových, endotelových bunkách). Replikácia môže prebiehať v intracelulárných granulách alebo voľne v cytoplazme. Niektoré intracelulárne baktérie sú v bunkách len prechodne, niektoré takmer natrvalo. Sú schopné vyhnúť sa vnútrobunkovému zničeniu vo fagocytoch. Musia teda disponovať účinnými mechanizmami, pomocou ktorých prekonávajú nepriaznivé prostredie vo vnútri hostiteľskej bunky. Hlavnou zložkou obrany pred intracelulárnymi baktériami sú **T-lymfocyty**. Uplatňuje sa **oneskorený typ precitlivenosti (DTH)**. Po pohltení intracelulárných baktérií fagocytmí, nie sú v nich usmrtené a množia sa. Vplyvom cytokínov vytvorených v aktivovaných fagocytoch (IL-12) dochádza k diferenciácii pomocných Th-lymfocytov na Th1, ktoré produkujú IFN- $\gamma$ . Tento interferón stimuluje Th1 bunkovú líniu a aktivuje ďalšie makrofágy. **Pod vplyvom cytokínov Th1-lymfocytov sa aktivuje v makrofágoch NO syntáza.** NO systém je dôležitý na likvidáciu intracelulárných baktérií. Aktiváciou enzýmového systému NO syntázy sa vytvára **oxid dusnatý (NO)**, ktorý je významným mikrobicídny prostriedkom fagocytov. Účinná spolupráca medzi makrofágmi a Th1 bunkami teda predstavuje dôležitý mechanizmus v obrane proti intracelulárnym baktériám. Keďže dochádza k nahromadeniu makrofágov v mieste infekcie, vedie to k vzniku granulómov, ktoré zamedzujú diseminácii baktérií do iných miest v tele. Okrem Th1-lymfocytov zohrávajú úlohu v obrane aj **cytotoxické T-lymfocyty (Tc)**, ktoré rozpoznávajú komplexy pMHC I. na povrchoch infikovaných buniek a usmrťia napadnutú bunku. Na infekciu intracelulárnymi baktériami sú vnímaví ľudia s porušenou funkciou špecifickej aj nešpecifickej bunkovej imunity.

### 17.1.3 Rozdiely v obrane proti extracelulárnym a intracelulárnym baktériám

Infekcie spôsobené extracelulárnymi baktériami sa odlišujú v niektorých charakteristických prejavoch od infekcií intracelulárnymi baktériami. Niektoré rozdiely sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke (tab. 5).

**Tab. 5 Súhrn rozdielov medzi infekciami vyvolanými extracelulárnymi a intracelulárnymi baktériami**

Extracelulárne baktérie	Intracelulárne baktérie
Väčšinu svojho života sa nachádzajú mimo buniek svojho hostiteľa	Väčšinu svojho života sa nachádzajú vo vnútri hostiteľských buniek
Najdôležitejšiu úlohu v obrane zohrávajú fagocyty, komplement a protilátky	Najdôležitejšiu úlohu v obrane zohrávajú T-lymfocyty
Zapríčiňujú skôr akútne infekcie	Zapríčiňujú skôr chronické infekcie
Produkujú početné enzýmy a toxíny, ktoré sú priamo zodpovedné aj za poškodenie tkaniva	Produkujú len zanedbateľné množstvo toxínov a za poškodenie tkaniva sú zodpovedné imunitné mechanizmy namierené proti nim
Infekcie sú sprevádzané tvorbou hnisu aj systémovými reakciami	Infekcie sú sprevádzané tvorbou granulómov v tkanivách

## 17.2 Imunita pri vírusových infekciách

V obrane proti vírusom existuje celý rad mechanizmov. **V prvej obrannej línii** sa uplatňujú **nešpecifické mechanizmy**, predovšetkým pôsobenie **interferónov, NK a NKT buniek**.

Interferóny sa tvoria vo vírusom napadnutých bunkách. Zabraňujú replikácii vírusu a aktivujú obranné mechanizmy človeka. Interferóny uvoľnené z infikovanej bunky zabezpečujú protivírusový účinok aj na okolité bunky (parakrinne) a indukujú syntézu množstva protivírusových bielkovín (napr. proteínkinázu). Sú veľmi účinné, lebo inhibujú rôzne štádiá replikačného cyklu vírusov. Významné v obrane proti vírusom sú NK bunky, a to predovšetkým na začiatku infekcie, kedy sa ešte špecifická imunitná odpoveď nestihla dostatočne vytvoriť. NK bunky sú aktivované interleukínom IL-12, ktorý sa tvorí v napadnutých makrofágoch. Aktivované NK bunky napadnú ďalšie nainfikované bunky a zabezpečia ich zničenie.

**V druhej obrannej línii** proti vírusom sa uplatňujú **špecifické mechanizmy, aj protilátkové aj bunkové**. Protilátky, ktoré sú účinné proti vírusom, pôsobia viacerými mechanizmami. Na slizniciach sa nachádzajú sekrečné IgA protilátky, ktoré bránia prichyteniu vírusov na sliznice. Významné sú najmä v respiračnom a gastrointestinálnom trakte. Bránia prichyteniu respiračných vírusov a enterovírusov. V obehovej sústave sa uplatňuje pôsobenie neutralizačných protilátok (najmä IgG), ktoré sa naviažu na vírus a zabránia jeho prieniku do cieľovej bunky. Fagocytózu niektorých vírusov uľahčujú opsonizačné protilátky. Protilátky tiež aktivujú klasickú cestu komplementu, ktorý má membranolýtické účinky na niektoré vírusy. Niektoré vírusy sa uvoľnia z bunky pučaním a priamo infikujú okolité bunky, pričom neprichádzajú do kontaktu s protilátkami. Protilátky neutralizujú len voľný vírus, preto ak sa dostane vírus už do bunky, musia nastúpiť ďalšie mechanizmy – bunkové. Bunkové špecifické mechanizmy zohrávajú

v protivírusovej obrane veľký význam. Hlavne cytotoxické T<sub>c</sub> (CTL) lymfocyty, ktoré sú aktivované po rozpoznaní komplexu peptidu s MHC I. Zrelé efektorové T<sub>c</sub>-lymfocyty ničia bunky, ktoré sú už vírusmi nainfikované. Tiež produkujú cytokíny, najmä lymfotoxín, ktorý využívajú T<sub>c</sub>-lymfocyty na zabíjanie cieľových buniek, ale pritom sa môžu poškodiť aj okolité normálne bunky zdravého tkaniva.

Vírusy majú mnoho spôsobov ako využiť oslabenie imunitného systému, ako sa vyhnúť imunitným mechanizmom alebo ich narušiť. Niektoré vírusy môžu zostať chránené pred deštrukciou vo vnútri infikovanej bunky, môžu sa integrovať do genómu napadnutej bunky a perzistovať v organizme. Za rôznych okolností pri znížení imunity sa môžu znovu aktivovať a vyvolať chorobu (napr. vírus varicelly perzistuje v nervových gangliách zadných miechových koreňov a môže viesť k vzniku herpes zoster). Viac ohrození vírusovými infekciami sú pacienti s deficitmi T-lymfocytov, NK buniek alebo kombinovanými deficitmi. Tiež ľudia s deficitmi protilátkovej imunity majú zvýšenú náchylnosť na niektoré vírusové infekcie (echovírusové). Veľmi mladí a veľmi starí jedinci sú vnímavejší, lebo ich imunitná odpoveď je slabšia. U malých detí sa zvyšuje riziko častejších respiračných a črevných vírusových infekcií po 3.-6. mesiaci (po vymiznutí materských protilátok).

### 17.3 Imunita pri nákaze parazitmi

V rámci parazitárnych ochorení sa tu bude jednať o choroby vyvolané prvokmi (protozoa), červami (helminthy) a prenášané článkonožcami. Už samotné rozmery parazitov napovedajú, že budú obsahovať ďaleko viac antigénov ako baktérie alebo vírusy. Mnohé parazity majú navyše veľmi zložitý životný cyklus a v rôznom vývojovom štádiu môžu disponovať rôznymi antigénmi. Od toho závisí, či je v určitých štádiách vývojového cyklu významnejšia bunková alebo protilátková imunita. Parazity sa snažia adaptovať sa na svojho hostiteľa, aby v ňom mohli prežívať čo najdlhšie, a preto majú parazitárne ochorenia zvyčajne chronický charakter.

V prípade, že sa jedná o **protozoa, imunitné mechanizmy sú podobné ako u baktérií**. Vo všeobecnosti sa dá povedať, že proti intracelulárnym protozoam sú účinnejšie bunkami sprostredkované imunitné mechanizmy a proti extracelulárnym protozoam protilátky.

V prípade helmintov ide o veľké mnohobunkové parazity. V obrane **proti helmintom** majú významnú úlohu **najmä eozinofily, bazofily, mastocyty, Th2-lymfocyty a dominantná je produkcia protilátok IgE**. Dôležité je cytokínové prostredie s prítomnosťou interleukínov IL-4, IL-5, IL-9, IL-13. Pod vplyvom IL-4 a IL-13 dochádza k tvorbe protilátok IgE, ktoré sa viažu svojím Fc fragmentom na vysokoafinitné receptory pre IgE na povrchu mastocytov a bazofilov. Tieto bunky sú tak pripravené viazať sa na antigény helmintov. Po interakcii parazita s nadviazanými protilátkami IgE dôjde k degranulácii mastocytov a bazofilov a k uvoľneniu mediátorov. Tieto mediátory sú dvojakého druhu, primárne a sekundárne. Primárne mediátory predstavujú tie, ktoré sú už vopred vytvorené a uskladnené v granulách (histamín, proteoglykany, početné proteázy). Sekundárne mediátory nie sú vopred pripravené, syntetizujú sa *de novo* pri metabolizme kyseliny arachidonovej (leukotriény, prostaglandíny, tromboxány). Výsledkom pôsobenia



mediátorov je kontrakcia hladkého svalstva, vazodilatácia a prienik tekutiny do extravaskulárneho prostredia. Ich úlohou je priamo poškodiť parazita alebo ho vypudiť z organizmu. Napr. histamín pôsobí na hladké svalstvo a pomáha vypudiť parazita kašľom, alebo zvýšenou peristaltikou. Vazodilatácia a prienik tekutiny do extravaskulárneho prostredia bránia prichyteniu parazita na sliznice a pomáhajú jeho odplaveniu. IL-9 aktivuje ďalšie mastocyty. IL-5 aktivuje eozinofily, ktoré majú tiež významné postavenie popri mastocytoch a bazofilo. Prostredníctvom eozinofilov a IgE protilátok sa môže spustiť reakcia ADCC (na protilátkach závislá bunková cytotoxicita). Eozinofily majú na svojom povrchu receptory pre Fc fragmenty IgE. Protilátky IgE sa viažu Fc fragmentami na eozinofily a Fab fragmentami sa naviažu na antigény helmintov. To vedie k degranulácii eozinofilov a uvoľneniu obsahu granúl do prostredia. Granuly eozinofilov sú bohaté na rôzne enzýmy. Najznámejšie sú hlavný bázický proteín, eozinofilný kationický proteín, eozinofilná peroxidáza, metaloproteinázy a ďalšie. Svojím pôsobením poškodzujú helminty, ale aj tkanivo, do ktorého sa uvoľňujú. Súčasne s obranou proti helmintom teda musia prebiehať aj reparačné procesy na opravu poškodeného tkaniva.

## OTÁZKY a ODPOVEDE

Ktoré obranné línie využíva človek proti infekčným mikroorganizmom? Využíva tri základné obranné línie: prirodzené bariéry, vrodene nešpecifické a získané špecifické imunitné mechanizmy.

Ktoré mechanizmy sa najvýznamnejšou mierou uplatňujú v obrane proti extracelulárnym baktériám? Najvýznamnejšiu bariéru proti ďalšiemu prieniku baktérií je fagocytóza, cytokíny uvoľnené z fagocytov podporujú zvyšovanie telesnej teploty, produkciu proteínov akútnej fázy a rozvoj zápalu. Ďalším významným mechanizmom je komplement a špecifická imunitná odpoveď, ktorá je predovšetkým protilátkového typu.

Aký význam majú protilátky v antiinfekčnej obrane proti extracelulárnym baktériám? Protilátky dokážu opsonizovať baktérie, aktivujú komplement klasickou cestou, neutralizujú toxíny, sekrečné imunoglobulíny sIgA bránia prichyteniu baktérií na epitel.

Ktoré mechanizmy sa významnou mierou podieľajú na obrane proti intracelulárnym baktériám? Dôležitý mechanizmus je spolupráca medzi makrofágmi a Th1 bunkami. Vplyvom cytokínov Th1-lymfocytov sa aktivuje v makrofágoch NO syntáza. NO je významným mikrobicídny prostriedkom fagocytov v obrane proti intracelulárnym baktériám. Okrem Th1-lymfocytov zohrávajú úlohu aj Tc-lymfocyty, ktoré rozpoznávajú pMHC I. na povrchoch infikovaných buniek a usmrť napadnutú bunku.

Ktoré mechanizmy sú účinné v obrane proti vírusom? V prvej línii sú to nešpecifické mechanizmy zastúpené pôsobením interferónov, NK buniek. V druhej línii sú to špecifické mechanizmy aj protilátkové aj bunkové.

Uveďte špecifiká imunity pri nákaze parazitmi. Ak ide o protozoa, mechanizmy sú podobné ako u baktérií. Ak ide o helminty, význam majú eozinofily, bazofily, mastocyty, Th2-lymfocyty a dominantná je produkcia IgE.

## OSEMNÁSTA KAPITOLA

# Hypersenzitívne reakcie

## Hlavné témy

---

- ❖ Rozdelenie hypersenzitívnych reakcií
  - ❖ Hypersenzitivita I. typu
    - ✓ Lokálne prebiehajúce reakcie
    - ✓ Systémové reakcie
  - ❖ Hypersenzitivita II. typu
  - ❖ Hypersenzitivita III. typu
  - ❖ Hypersenzitivita IV. typu
- 

## 18.1 Rozdelenie hypersenzitívnych reakcií

Hypersenzitívne reakcie spôsobujú poškodenie tkaniva uvoľnenými chemickými látkami, ktoré priťahujú a aktivujú bunky a molekuly, s následným vznikom zápalu. Tieto reakcie sa rozdeľujú do štyroch typov podľa Coombsa a Gella, a to na základe mechanizmov, akými poškodia tkanivo.

- **reakcie I. typu** (včasná hypersenzitivita) – je najbežnejší typ hypersenzitívnych reakcií, spojený s tvorbou protilátok IgE, s degranuláciou mastocytov a bazofilov, reakcie sú veľmi rýchle, v priebehu niekoľkých minút od expozície antigénu
- **reakcie II. typu** – (cytotoxický typ) spúšťané sú naviazaním protilátok IgG alebo IgM na antigény, ktoré sa nachádzajú v membráne cieľových buniek, alebo sú na ne naviazané, reakcie sú spojené so schopnosťou aktivovať komplement alebo spúšťajú ADCC reakcie
- **reakcie III. typu** – (imunokomplexový typ) zahŕňajú interakciu protilátok s rozpustnými molekulami, vytvoria sa komplexy antigén-protilátka

(imunokomplexy), ktoré sa ukladajú do rôznych tkanív, kde spôsobujú poškodenie, rozvíjajú sa až za niekoľko dní od kontaktu s antigénom

- **reakcie IV. typu** – (oneskorená hypersenzitivita) pri tejto hypersenzitívnej reakcii útočia bunky imunity priamo na bunky človeka bez účasti protilátok, vyskytuje sa fyziologicky pri tuberkulínovej reakcii, patologicky pri alergickej kontaktnej dermatitíde, pri tvorbe granulómov, v niektorých prípadoch pri odpovedi sprostredkovanej cytotoxickými Tc-lymfocyty.

Prvé tri typy hypersenzitívnych reakcií sú závislé na reakcii antigénu s protilátkou. Štvrtý typ je nezávislý na protilátkach, zahŕňa reakcie bunkovej imunity. Súhrn je uvedený v tabuľke 6.

**Tab. 6 Typy hypersenzitívnych reakcií**

Typ	Známe tiež ako	Príklady ochorení	Reakcie sú sprostredkované	Mechanizmy pôsobenia
I.	Alergia Atopia Anafylaktická hypersenzitivita	- Alergická reakcia - Anafylaxia - Astma	IgE protilátkami, bez účasti komplementu	Po kontakte s alergénom vzájomným prekrížením IgE protilátok na mastocytoch dôjde k degranulácii mastocytov a uvoľneniu vazoaktívnych amínov, čo vedie ku kontrakcii hladkej svaloviny, vazokonstrikcii steny ciev, vazodilatácii endotelu kapilár, úniku tekutiny do extravaskulárneho priestoru (edém), poklesu tlaku krvi.
II.	Cytotoxicita	- Hemolytická choroba novorodencov - Autoimunitná hemolytická anémia - Graves- Basedowova choroba	IgM alebo IgG ± komplement	IgM alebo IgG protilátky sa viažu na epitopy na bunkách alebo tkanive, čím dochádza k stimulácii fagocytózy, ADCC reakciám, protilátkami sprostredkovanej funkčnej poruche (blokujú receptory) alebo komplementom sprostredkovanej lýze.
III.	Choroba z imunokomplexov	- Sérová choroba - Arthusova reakcia - SLE	IgG ± komplement	Imunokomplexy Ag + Ab v tkanivách alebo sére aktivujú komplement a priťahujú neutrofily, ktoré zohrávajú hlavnú úlohu, uvoľňujú lytické molekuly. Vzniká zápal, ktorý prechádza do chronického stavu.
IV.	Bunkami sprostredkovaná imunita	- Kontaktná dermatitída - Tuberkulóza	Bunkami sprostredkované, bez účasti protilátok	Uvoľnenie mediátorov zo senzibilizovaných CD4+ T-lymfocytov (Th1) vedie k poškodeniu tkaniva makrofágmi. Cytotoxické CD8+ T-lymfocyty (Tc) môžu zničiť chemicky modifikované hostiteľské bunky alebo bunky s nízkou expresiou MHC molekúl.

## 18.2 Hypersenzitivita I. typu

Hypersenzitivita I. typu sa bežne nazýva **alergická reakcia alebo včasná hypersenzitivita**. Začína sa vyvíjať veľmi rýchlo po expozícii antigénu. U niektorých ľudí vzniká aj po expozícii v podstate neškodným antigénom pochádzajúcim z vonkajšieho prostredia alebo alergénom. Vytvorené IgE sa viažu na Fc receptory (FcRε) mastocytov a bazofilov. Tieto receptory vedia naviazať protilátky IgE bez antigénu a potom fungujú ako špecifické povrchové receptory na týchto bunkách. Pri opakovanom kontakte jedinca s daným alergénom dochádza k interakcii alergénu s nadviazanými protilátkami a k následnej degranulácii mastocytov a bazofilov. Mediátory uvoľnené z granúl sú veľmi účinné (najmä histamín) a vedú k rozvoju alergického zápalu s charakteristickými klinickými príznakmi. V prvej fáze alergickej reakcie sa okamžite uvoľnia vopred vytvorené a v granulách uskladnené primárne mediátory (histamín, heparín, chondroitín sulfát a rôzne proteázy). Proces pokračuje tvorbou sekundárnych mediátorov, ktoré vznikajú ako metabolity kyseliny arachidonovej v druhej fáze alergickej reakcie (prostaglandíny, leukotriény, tromboxány). Pôsobením mediátorov nastáva kontrakcia hladkého svalstva (bronchov, GITu), vazodilatácia (narušia sa bunkové spojenia endotelu), zvyšuje sa permeabilita ciev, nastáva únik tekutiny do extravaskulárneho priestoru (tvorba edému), klesá tlak krvi. Histamín tiež vyvolá kontrakciu hladkej svaloviny steny artérií (vazokonstrikciu) a zrýchli distribúciu z centrálnych do periférnych tkanív.

### 18.2.1 Lokálne prebiehajúce reakcie

Hypersenzitívne reakcie I. typu môžu prebiehať lokálne alebo systémovo. Mastocyty sa nachádzajú najmä v oblasti dýchacích ciest, črevnej steny a v koži, preto sa hypersenzitívne reakcie I. typu vyskytujú často práve v týchto oblastiach. Ide o miesta, kde sa organizmus najčastejšie dostáva do kontaktu s antigénmi. Lokálne prebiehajú napr. alergická nádcha, konjunktivitída, astma bronchiale, atopická dermatitída. Antigény, ktoré opakovane vstúpili do tela inhaláciou, sa lokalizujú v tkanive dýchacích ciest. Kontrakcia hladkej svaloviny v bronchoch vedie k bronchospazmom, zároveň vazodilatácia a zvýšená produkcia hlienu spôsobia uzatvorenie dýchacích ciest, čo môže vyústiť do astmy. Ak sa napríklad alergén dostane do organizmu jedlom, potom primárne postihuje GIT.

### 18.2.2 Systémové reakcie

V niektorých prípadoch môže nastať diseminácia antigénov krvou (napr. pri i. v. podaní antigénu) a môže vyvolať systémové príznaky. Systémové reakcie nastanú vtedy, ak sa alergén dostane do krvi senzibilizovaného jedinca a môžu vyvolať až život ohrozujúci anafylaktický šok (po poštípaní hmyzom, po aplikácii niektorých liečiv alebo potravín). Je to klinický šokový syndróm, pri ktorom nastane masívna degranulácia mastocytov a bazofilov a dôjde k masívnemu uvoľneniu mediátorov. Charakterizovaný je zúžením hladkej svaloviny ciev (vazokonstrikciou), spojené s tvorbou trhlín v endotelových bunkách priľahlých kapilár (vazodilatáciou) a masívnym únikom tekutiny do extravaskulárneho priestoru. To má za následok ťažkú stratu tekutiny v obeh, pokles krvného tlaku, tachykardiu, rozvíja sa anafylaktický šok. Niekedy môže dôjsť k akútnemu

obehovému zlyhaniu. Anafylaktická reakcia môže viesť k smrti aj v priebehu niekoľkých minút a vyžaduje si urgentnú a intenzívnu liečbu.

### 18.3 Hypersenzitivita II. typu

Označuje sa tiež ako **cytotoxická hypersenzitivita**. **Spúšťaná je interakciou protilátok IgM alebo IgG s antigénmi** v membráne cieľových buniek alebo s antigénmi, ktoré sú na bunku naviazané. Vzniknuté komplexy antigénu a protilátky potom **aktivujú komplement klasickou cestou a výsledkom je lýza cieľovej bunky**. Vzniknuté štiepne fragmenty zložiek komplementu fungujú ako opsoníny a umožňujú fagocytom ľahšie rozpoznať a pohltiť opsonizované antigény. Týmto spôsobom protilátky a komplement zvyšujú fagocytózu a zničenie mikroorganizmov.

Ďalším mechanizmom je **ADCC** (na protilátkach závislá bunková cytotoxicita). Nie je závislá na komplemente. Využíva bunky s receptorom pre Fc fragment protilátok (monocyty, neutrofily, eozinofily, NK bunky). Pomocou Fc receptorov môžu tieto bunky viazať Fc fragmenty protilátok IgM alebo IgG, ktoré označili cieľové bunky určené na zničenie cytotoxickými mechanizmami. Najvýznamnejším efektorom ADCC reakcií sú NK bunky.

Do skupiny hypersenzitívnych reakcií II. typu patria aj **reakcie pri transfúziách**. Väzbou IgM protilátok na oligosacharidy erytrocytov dôjde k ich fagocytóze a v prítomnosti komplementu k rýchlej lýze (hemolýze). Protilátky IgG proti určitým molekulám erytrocytov (Rh faktor) aktivujú komplement slabšie ako IgM, ale erytrocyty sú zničené fagocytózou. Podobne vzniká **hemolytická choroba novorodencov**, spôsobená protilátkami proti antigénu RhD. Ak je matka RhD negatívna a plod je RhD pozitívny, tak pri pôrode môže dôjsť k imunizácii matky erytrocytmi dieťaťa a matka si začne vytvárať anti-RhD protilátky proti antigénu RhD. Tieto protilátky pri ďalšom tehotenstve budú prestupovať transplacentárne do plodu a reagovať s erytrocytmi plodu, lyzovať ich a spôsobovať vznik anémie až vážneho poškodenia plodu. Preto sa musia žene po prvom pôrode podať protilátky anti-RhD do 72 hodín od pôrodu, aby sa zablokoval antigén RhD, ktorý prenikol do krvného obehu matky počas pôrodu (pri oddeľovaní placenty od maternice).

Ďalším podtypom hypersenzitívnych reakcií II. typu sú reakcie, kedy protilátky priamo neaktivujú komplement, ani nepôsobia prostredníctvom ADCC cytotoxicky na bunky, ale stimulujú alebo inhibujú funkcie bunky. Interakcia protilátky s receptorom má stimulačný účinok vtedy, ak stimuluje funkciu prirodzeného ligandu. Napr. pri Graves-Basedowovej chorobe sú prítomné **stimulačné autoprotilátky** proti receptoru TSH. TSH receptor je stimulovaný týmito autoprotilátkami rovnako ako keby to bol TSH (tyreotropný hormón), avšak nefunguje spätná väzba ako za fyziologických podmienok. V dôsledku tejto stimulácie štítna žľaza neprestajne produkuje hormóny štítnej žľazy, a to vyústí do hypertyreoidizmu. Naopak, interakcia protilátky s receptorom má inhibičný resp. blokujúci účinok, ak bráni väzbe prirodzeného ligandu. Príkladom sú **blokujúce autoprotilátky** proti receptoru TSH, ktoré sa naviažu na tento receptor, ale nestimulujú ho. Naopak, bránia prístupu prirodzeného ligandu (teda TSH) na tento receptor, ktorý je následne vyradený

z funkcie. Tento stav napokon vedie k hypotyreóze. Pôsobenie blokujúcich protilátok sa vyskytuje aj pri iných autoimunitných ochoreniach ako napr. myasthenia gravis alebo IDDM.

## 18.4 Hypersenzitivita III. typu

Hypersenzitívne reakcie III. typu sú imunopatologické reakcie **spojené s tvorbou imunokomplexov**. Cirkulujúce komplexy antigénu s protilátkou sú veľkosťou malé až stredne veľké a môžu sa ukladať do tkanív a orgánov, kde vyvolávajú zápal a môžu spôsobiť ich poškodenie. Môžu sa ukladať do steny ciev a vyvolať vaskulitídy, do glomerulov obličiek (glomerulonefritídy) a do kĺbov (artritídy). Prebiehajú lokálne alebo systémovo.

**Príkladom lokálne prebiehajúcej reakcie III. typu** je Arthusova reakcia, ktorá je modelovým príkladom. Po intradermálnej aplikácii malého množstva antigénu u zvierat sa vyvíja za 4 - 6 hodín lokálny zápal s erytémom a edémom s následnou nekrózou a ulceráciami. Lézie bývajú v rozsahu od nekrotizujúcej vaskulitídy s infiltráciou PMNL až po tvorbu sterilných abscesov.

**Príkladom systémovo prebiehajúcej reakcie III. typu** je sérová choroba, ktorá sa vyskytuje pri rozsiahlej diseminácii imunokomplexov po celom tele. Ak sú imunokomplexy veľké, sú odstránené z tela fagocytmi. Ašak malé, cirkulujúce imunokomplexy sú zle odstraňované fagocytózou a cirkulujú v tele dlhšie. Práve tieto malé imunokomplexy spôsobujú väčšie patologické následky. Sérovú chorobu môžu navodiť exogénne antigény (ktoré sa podajú buď vo veľkých dávkach alebo veľmi dlho) alebo endogénne antigény.

Sérová choroba sa môže vyvinúť u ľudí po aplikácii exogénneho antigénu vo forme heterológneho zvieracieho séra (antitetanového, antirabického atď.) alebo po aplikácii niektorých liekov (sulfonamidov, penicilínov, cefalosporínov). Príznaky ochorenia z imunokomplexov sa vyvinú po 7 až 10 dňoch, čo korešponduje s vytvorením protilátkovej odpovede proti podaným antigénom. Zvýši sa telesná teplota, objavia sa bolesti svalov a kĺbov, žihľavka, zväčšenie regionálnych lymfatických uzlín. Sérová choroba je samolimitujúca, pretože exogénny antigén sa postupne z tela odstráni. Imunokomplexy sú zodpovedné aj za poškodenie (tzv. sterilné následky) po niektorých infekčných ochoreniach. Napríklad poststreptokoková glomerulonefritída, reumatická horúčka, postinfekčné artritídy.

Pri autoimunitných ochoreniach sa uplatňujú endogénne antigény, ktoré sú zodpovedné za chronickú expozíciu antigénu, chronickú imunizáciu a prolongovanú chorobu z imunokomplexov, s chronickým priebehom. Príkladom je systémový lupus erythematosus (SLE), kedy postihnutí jedinci produkujú autoprotilátky proti množstvu vlastných antigénov. Následkom je tvorba imunokomplexov, tie sa ukladajú v cievach a vzniká vaskulitída.



## 18.5 Hypersenzitivita IV. typu

Hypersenzitivita IV. typu je často označovaná ako **oneskorená hypersenzitivita (DTH – delayed type hypersensitivity)**. Tento typ hypersenzitivity **je vyvolaný zápalom závislým na Th1 bunkách a monocytoch/ makrofágoch, nie je závislý na tvorbe protilátok**. Môže prebiehať ako fyziologická (odpoveď na intracelulárne patogény) alebo patologická odpoveď (odpoveď na lokálne aplikovaný antigén).

Typickým príkladom fyziologickej oneskorenej hypersenzitivity je **kožná tuberkulínová reakcia**, ktorú popísal už Robert Koch a zisťuje sa ňou stav imunity proti tuberkulóze. Nastáva pri intradermálnej aplikácii tuberkulínu senzibilizovanému pacientovi. Reakcia sa dostaví až po určitom časovom intervale od aplikácie, pretože do miesta vpichu sa musia najskôr dostať Th1 bunky a makrofágy, ktoré sa navzájom stimulujú. V priebehu 24 – 72 hodín nastane v mieste vpichu charakteristická lokálna reakcia, ktorá sa javí ako tvrdá vyvýšená časť kože nazývaná indurácia a je zreteľne ohraničená od okolitej oblasti. Priemer indurácie sa meria a vyhodnocuje. Pozitívny je test u ľudí, ktorí majú tuberkulózu, alebo ju už prekonali, alebo boli očkovaní BCG vakcínou, alebo majú latentnú tuberkulóznú nákazu. Kožné testy na dôkaz oneskoreného typu precitlivenosti sa používajú aj pri iných infekčných chorobách (lepre, brucelóze, histoplazmóze...).

Príkladom patologickej odpovede oneskorenej hypersenzitivity je **kontaktná dermatitída** (tiež nazvaná alergická kontaktná dermatitída). Koža človeka prichádza do kontaktu s rôznymi chemickými reaktívnymi látkami, ktoré sú absorbované a viažu sa na proteíny v koži. Ide o rozličné syntetické chemikálie, niektoré kovy, rastlinné produkty, súhrnne sa označujú ako kontaktné senzibilizátory a sú to haptény. Sú veľmi malé na to, aby boli rozpoznané imunitným systémom. Majú menej ako 10 000 daltonov. Spolupracujú však s vlastnými proteínmi organizmu a vytvoria na nich imunogénne neoepitopy alebo neoantigény. Prvá expozícia kontaktnému senzibilizátoru prebehne spravidla nepozorovane, ale spôsobí senzibilizáciu jedinca. Opakovaná expozícia alebo chronická expozícia vedie k lokálnemu zápalu kože, ktorý sa vyvinie do klinických príznakov za 24 – 72 hodín od opakovanej expozície.

Mechanizmus oneskorenej precitlivenosti je zodpovedný aj za **tvorbu granulómov**, za poškodzovanie tkaniva pri niektorých infekciách (tuberkulóza, lepra, sarkoidóza), uplatňuje sa tiež pri **hypersenzitívnej pneumonitíde** (predtým pomenované napr. farmárske pľúca, kožušnicke pľúca, pľúca chovateľov holubov...).

Pri hypersenzitivite IV. typu pôsobia predovšetkým mechanizmy založené na pomocných Th1-lymfocytoch. Okrem toho sem patria aj mechanizmy cytotoxických Tc-lymfocytov, ktoré môžu odpovedať na antigén v napadnutej bunke a spôsobiť priamo lýzu danej bunky. To sa uplatňuje napr. pri vírusových exantémoch, pri poškodení buniek Langerhansových ostrovčekov pankreasu pri autoimunitnom diabetes mellitus, pri transplantčných reakciách, poškodení buniek pečene pri hepatitíde, poškodení buniek pri autoimunitnej tyreoiditíde, v transplantčných reakciách (hlavne GvH) atď.

## **OTÁZKY a ODPOVEDE**

Ktorý typ hypersenzitívnych reakcií je najbežnejší? Včasná hypersenzitivita, označovaná tiež ako reakcia I. typu podľa Coombsa a Gella. Spojená je s tvorbou protilátok IgE, s degranuláciou mastocytov a bazofilov. Reakcie sú veľmi rýchle a prejavia sa v priebehu niekoľkých minút od expozície antigénu.

Ako sa označuje hypersenzitívna reakcia II. typu? Označuje sa cytotoxická hypersenzitivita. Spúšťa sa naviazaním protilátok IgG alebo IgM na antigény, ktoré sa nachádzajú v membráne cieľových buniek alebo sú na bunku naviazané. Dochádza k aktivácii komplementu klasickou cestou alebo sa spúšťajú ADCC reakcie (na protilátkach závislá bunková cytotoxicita).

Čím sú charakteristické hypersenzitívne reakcie III. typu? Zahŕňajú interakciu protilátok s antigénmi a tvorbu imunokomplexov, ktoré sa ukladajú do rôznych tkanív, kde spôsobujú poškodenie. Rozvíjajú sa až za niekoľko dní od kontaktu s antigénom. Označované sú tiež ako choroba z imunokomplexov alebo imunokomplexový typ.

Čo je oneskorená hypersenzitivita? Je to hypersenzitivita IV. typu (označovaná aj DTH). Je vyvolaná zápalom závislým na Th1 bunkách a monocytoch/ makrofágoch, nezávisí na tvorbe protilátok. Môže prebiehať ako fyziologická odpoveď na prítomnosť intracelulárnych patogénov alebo patologicky napr. pri tvorbe granulómov, kontaktnej dermatitíde, hypersenzitívnej dermatitíde.

## DEVÄTNÁSTA KAPITOLA

# Imunodeficitné stavy

### Hlavné témy

---

- ❖ Základná charakteristika imunodeficitných stavov
  - ❖ Primárne imunodeficity
    - ✓ Protilátkové imunodeficity
    - ✓ Bunkové a kombinované imunodeficity
    - ✓ Deficit vo fagocytóze
    - ✓ Deficit v systéme komplementu
  - ❖ Sekundárne imunodeficity
    - Fyziologické následky
    - Následky terapeutických postupov
    - Následky infekcií
    - Rakovina
    - Ďalšie príčiny sekundárnych imunodeficitov
  - ❖ Liečba imunodeficitov
- 

### 19.1 Základná charakteristika imunodeficitných stavov

Imunodeficity sú spôsobené poruchami rôznych súčastí imunitného systému, vedú k zníženiu schopnosti odolávať infekciám a vyskytujú sa v dvoch formách.

**Primárne imunodeficity** sú spôsobené vrodenými poruchami, mutáciami génov pre jednotlivé zložky imunitného systému. Známých je viac ako 150 primárnych imunodeficitov a u mnohých z nich bol identifikovaný špecifický defektný gén. Primárne imunodeficity sú zriedkavejšie, ale závažnejšie. Väčšina z nich sa odhalí v období okolo 6. mesiaca, keď vymiznú materské protilátky a dieťa sa stáva odkázané na vlastnú imunitu.

Prejavujú sa širokou škálou klinických príznakov od ľahších až po veľmi závažné prejavy ťažkých infekcií vedúcich k smrti postihnutého (častokrát už v útlom veku).

**Sekundárne imunodeficity** sú spôsobené vonkajšími príčinami ako napr. infekcia, základné ochorenie pacienta, malnutrícia, stres, liečba a iné. Môžu vzniknúť kedykoľvek počas života, vyskytujú sa častejšie ako primárne imunodeficity. Postihnutý pacient je náchylnejší na vznik infekčných a rôznych iných ochorení.

Charakteristické prejavy prítomné u mnohých imunodeficitov sú rekurentné alebo chronické infekcie, neschopnosť zlikvidovať infekciu štandardnou liečbou antibiotikami, výskyt neobvyklých pôvodcov infekcií. V niektorých prípadoch imunodeficitov sa pozoruje neschopnosť dieťaťa normálne priberať na váhe, zväčšenie pečene a sleziny, kožný raš, hnačky, abscesy. Pri určitých konkrétnych imunodeficitoch sú zistené aj neimunologické charakteristiky ako napr. nedostatok krvných doštičiek pri Wiskott-Aldrich syndróme, strata rovnováhy pre postihnutie mozočka spojené s rozšírením kapilár pri ataxia teleangiectázia, alebo albinizmus pri Chediak-Higashi syndróme.

## 19.2 Primárne imunodeficity

Primárne imunodeficity sa môžu vyskytovať v rôznych líniiach imunity: **T alebo B bunkovej línii izolovane alebo kombinovane, na úrovni tvorby protilátok, fagocytózy, komplementu**. Deficit v jednej línii však môže ovplyvniť vývoj iných línii, ktoré porušené nie sú. Napríklad deficit T bunkovej línie môže ovplyvniť aktiváciu B-lymfocytov, ktoré sú inak normálne. Vzájomná spolupráca medzi bunkami odlišných línii môže mať za následok, že jeden defekt inhibuje viacero typov imunitných reakcií. Môžu postihovať obidve pohlavia rovnako, ak ide o defekt autozómového génu. Ak však ide o defekt génu viazaného na X chromozóm, potom sú postihnutí častejšie chlapci ako dievčatá.

**Varovnými príznakmi** u rizikových pacientov s primárnymi imunodeficitmi sú v priebehu roka opakované otitídy u detí, opakované ušné komplikácie u dospelých, opakované potvrdené infekcie prínosových dutín, pneumónie, infekčné bronchitídy, hlboké tkanivové infekcie alebo kožné abscesy, sepsa alebo meningitída, pretrvávajúce hnačky, malabsorpcia, nepriberanie na hmotnosti u detí, zaostávanie rastu u detí, opakované atypické infekcie, výskyt chronických infekcií, potreba dlhodobejšej alebo intravenózne liečby antibiotikami, výskyt primárneho imunodeficitu v rodine. Podľa Primary immunodeficiency resource center boli presne stanovené varovné príznaky pre primárne imunodeficity. Dôležité je vyselektovať pacientov, u ktorých zápaly prebiehajú závažnejšie, majú protrahovaný priebeh, na liečbu reagujú pomalšie, alebo sa ďalší zápal objaví bez toho, aby bol ten predchádzajúci vyliečený. Časté sú recidivujúce infekcie vyvolané *Staphylococcus aureus* (aj MRSA kmeňmi), *Pseudomonas aeruginosa* (napr. pri cystickej fibróze), alebo sú ako pôvodcovia identifikované nízko virulentné mikroorganizmy. V prípade vrodených porúch imunity sa tieto veľmi často manifestujú práve v oblasti horného aerodigestívneho traktu, ktorý je miestom najčastejšieho vstupu mikroorganizmov do tela a je prvým miestom vzájomnej interakcie mikroorganizmu a imunitného systému človeka.

### 19.2.1 Protilátkové imunodeficity

Protilátkové imunodeficity sa vyskytujú najčastejšie, tvoria približne 70 % v rámci primárnych imunodeficitov. **Príznaky sa začínajú** zvyčajne v rozmedzí **od 6. mesiaca** (po postupnom vymiznutí pasívne získaných materských protilátok) **až do dospelosti**. Funkcie T-lymfocytov zostávajú zachované. Pacienti trpia najmä **infekciami dýchacích ciest, otitídami a artritídami**. Najčastejšími pôvodcami sú **opuzdrené mikroorganizmy a echovírusy**. Pacienti trpia aj zvýšenou náchylnosťou na alergické, autoimunitné a nádorové choroby. Dožívajú sa dospelosti najmä vďaka substitučnej liečbe gamaglobulínmi a liečbe antibiotikami. Patria sem X-viazaná agamaglobulinémia (Brutonova), selektívna IgA deficiencia a iné selektívne imunoglobulínové deficiencie, bežná variabilná imunodeficiencia (CVID), prechodná hypogamaglobulinémia v detstve a ďalšie. Brutonova agamaglobulinémia je najznámejší imunodeficit B buniek, popísaná bola ako prvý známy imunodeficit. Je to agamaglobulinémia viazaná na pohlavie, vzniká defektom génu, ktorý kóduje Brutonovu tyrozínkinázu (btk-tyrozínkinázu) potrebnú v skorých štádiách vývoja B-lymfocytov. B-lymfocyty preto nemôžu dozrieť. To vedie k nízkemu počtu B-lymfocytov, plazmatických buniek a všetkých izotypov imunoglobulínov. Selektívna IgA deficiencia je sprevádzaná veľmi nízkou hladinou IgA. Je to najčastejší imunodeficit. Jeho úlohu čiastočne zastupujú IgM a IgG, preto sa nemusí prejaviť klinicky. Ak sa však klinicky prejaví, tak hlavne zvýšenou náchylnosťou na respiračné infekcie, ale aj sklonom k autoimunitným a nádorovým procesom. Bežná variabilná imunodeficiencia je druhý najčastejšie sa vyskytujúci imunodeficit. Nízke hladiny IgG, IgA a IgM sa začínajú objavovať až v dospelosti, po období normálnej činnosti imunitného systému. Z dôvodu hypogamaglobulinémie trpia pacienti najmä opakovanými respiračnými infekciami, sklonom k vzniku autoimunitných chorôb a malignít. Niektorí pacienti majú príznaky malabsorbčného syndrómu, časté sú infekcie parazitom *Giardia lamblia*. Prechodná hypogamaglobulinémia v detstve vzniká v dôsledku prirodzeného poklesu pasívne prenesených materských protilátok IgG. Tento stav môže byť spojený s výskytom rekurentných respiračných infekcií, avšak zvyčajne sa spontánne upraví aj bez potreby substitučnej liečby gamaglobulínmi.

### 19.2.2 Bunkové a kombinované imunodeficity

Poruchy bunkovej imunity zahŕňajú **defekty** s chýbaním a/alebo porušenou funkciou **T-lymfocytov alebo kombinované defekty v lymfocytovej línii**. Predstavujú asi 20 % primárnych imunodeficitov. **Príznaky sa začínajú** prejavovať **hneď po narodení až do cca 2 rokov**. Charakteristické je neprospievanie, časté **infekcie dýchacích ciest, hnačky, dermatitídy**. Infekcie vyvolávajú najmä **vírusy, pneumocysty, plesne, mykobaktérie**. Bez liečby tieto deti umierajú zvyčajne do jedného roka po narodení. Nebezpečné je pre ne očkovanie živými vakcínami. Môžu sa u nich rozvinúť autoimunitné a nádorové choroby.

Najzávažnejšiu formu primárnych imunodeficitov predstavuje ťažký kombinovaný imunodeficit (SCID). Ďalej sem patria deficit adenosíndeaminázy (ADA), DiGeorgeov syndróm, Wiskott-Aldrich syndróm, Chediak-Higashi syndróm, ataxia teleangiektázia, syndróm nahých lymfocytov a ďalšie. Pri SCID sa vyskytujú kombinované defekty

v lymfocytovej línii. Je to skupina postihnutí vyvolaná viacerými defektami v jednotlivých génoch, ktoré majú podobné funkčné následky. Defekty sa môžu vyskytnúť v génoch, kódujúcich enzýmy zodpovedné za preskupenia DNA, ktoré produkujú variabilné oblasti imunoglobulínov a TCR receptorov. Iným príkladom môžu byť defekty v cytokínových receptoroch a v molekulách zapojených do medzibunkových interakcií pri aktivácii lymfocytov. Príkladom defektu, ktorý postihuje aj T aj B-lymfocyty, ale s rôznou intenzitou, je defekt produkcie purínovej nukleozid fosforylázy. Nahromadené toxické metabolity vznikajúce z tohto poškodenia zhoršujú oveľa intenzívnejšie funkcie T-lymfocytov v porovnaní s B-lymfocytmí. Pacienti s imunodeficitom SCID trpia už od narodenia ťažkými infekciami vyvolanými vírusmi, intracelulárnymi aj podmienené patogénnymi mikroorganizmami. Znížené množstvo T-lymfocytov sa vyskytuje pri DiGeorgeovom syndróme. Ide o vrodené chýbanie alebo nedostatočné vyvinutie týmusu s následnou poruchou vo vývoji a dozrievaní T-lymfocytov. Počet T-lymfocytov je nízky. Syndróm je spojený s chýbaním príštítňých teliesok, vrodenými chybami srdca a ďalšími abnormalitami a malformáciami. Prognóza je nepriaznivá. Pri Wiskott-Aldrich syndróme sa vyskytuje ťažká trombocytopenia, pacient je ohrozený fatálnym krvácaním. Časté sú ekzémy a rekurentné infekcie opuzdrenými aj neopuzdrenými baktériami a vírusmi. Rastom dieťaťa sa stav zhoršuje, často sa pridávajú malignity. Pri Chediak-Higashi syndróme je najmä defekt cytotoxických T-lymfocytov a tiež NK buniek v kombinácii s poruchami vo fagocytóze. Ataxia teleangiektázia je spojená s postihnutím mozočka a vznikom ataxie už v útlom veku, neskôr pristupuje rozšírenie malých ciev na spojovkách, slizniciach a koži. Časté sú opakované infekcie horných dýchacích ciest a sklon k vzniku malignít. Syndróm nahých lymfocytov je sprevádzaný poruchou exprese MHC I. a II. triedy a vedie k deficitu CD4+ a CD8+ T-lymfocytov.

### 19.2.3 Deficit vo fagocytóze

Poruchy vo systéme fagocytózy sú významné, lebo zohrávajú úlohu vo vrodenej aj získanej imunitnej odpovedi. Deficit sa dotýka predovšetkým dvoch hlavných funkcií, a to schopnosti zabíjať mikroorganizmy a schopnosti spolupracovať s ostatnými bunkami imunitného systému. Porušená môže byť funkcia fagocytujúcich buniek alebo ich počet. Predstavujú okolo 9 % primárnych imunodeficitov. **Príznaky sa začínajú objavovať buď krátko po narodení, v detstve alebo aj v dospelosti.** Charakteristické sú **hnisavé, väčšinou lokalizované infekcie**, napr. pyodermie, omfalitídy, adenitídy, otitídy, abscesy vnútorných orgánov. Pôvodcami bývajú veľmi často **stafylokoky, plesne, enterobaktérie**. Typickými príkladmi vrodených imunodeficitov v tejto oblasti je chronická granulomatózna choroba (CGD), deficit leukocytárnych integrínov (LAD), tiež sem patria Chediak-Higashi syndróm, Kostmanov syndróm, cyklická neutropénia a ďalšie. Pri CGD je porucha NADPH-oxidázy, čo vedie k zníženej tvorbe kyslíkových radikálov, a tým k zníženej baktericídnej schopnosti fagocytov. Tiež sú defektné enzýmy v lyzozómoch, ktoré nedokážu efektívne rozložiť pohltý materiál, ten sa hromadí a tvoria sa granulómy v rôznych častiach tela. Pri Chediak-Higashi syndróme sú normálne hladiny lyzozomálnych enzýmov a mikrobicídnych molekúl, ale nastáva porucha splynutia lyzozómu (s degradačnými enzýmami a mikrobicídnyimi molekulami) a fagozómu (s pohltými mikroorganizmami), a preto postihnutí trpia rekurentnými bakteriálnymi



infekciami. Pri LAD nie sú schopné neutrofilý adherovať na endotel cievnej steny, opustiť krvný obeh a migrovať do miesta zápalu. Takže ich množstvo je v mieste zápalu malé, hoci v krvi ich cirkuluje veľa. Pri Kostmanovom syndróme sa vyskytuje ťažká vrodená neutropénia, čo vedie k vážnym bakteriálnym infekciám už od detstva.

### 19.2.4 Deficit v systéme komplementu

Poruchy komplementu sú veľmi vzácne, vyskytujú sa asi v 1 % zo všetkých primárnych imunodeficitov. Môžu sa začať prejavovať **v rôznom veku, v detstve aj v dospelosti**. Sprevádzané sú najmä výskytom **pyogénnych infekcií a edémov**. Najčastejšími vyvolávateľmi infekcií sú **opuzdrené baktérie, hlavne neissérie**. Poruchy sa môžu týkať jednotlivých zložiek komplementu, ich inhibítorov alebo receptorov. Napríklad poruchy zložiek C1 – C4 vedú k neúčinnému odstraňovaniu imunokomplexov, a preto sa zvyčajne manifestujú ako imunokomplexové choroby kombinované s pyogénnymi infekciami. Poruchy v C6 – C9 sa prejavujú vyššou náchylnosťou na neisseriové infekcie. Môžu sa vyskytnúť aj defekty inhibítorov zložiek komplementu ako regulačných súčastí komplementu, typickým príkladom je hereditárny angioedém (HAE) s redukovanou hladinou C1 inhibítora, kedy dochádza k nekontrolovanej aktivácii komplementu klasickou cestou a k vzniku edémov v rôznych častiach tela. Veľmi vážny sa stáva HAE, ak je postihnutý vaskulárny systém, dýchací trakt a GIT.

## 19.3 Sekundárne imunodeficity

Imunodeficity, ktoré **nevznikajú na základe genetických procesov, ale na základe vyvolávajúcich príčin z okolia**, sa označujú ako sekundárne imunodeficity. Môžu vzniknúť kedykoľvek počas života, v závislosti od vyvolávajúceho faktora. Môže ich vyvolať základné ochorenie pacienta, liečebné postupy, malnutícia, infekcie, malignity, stres atď. Príčinou sekundárneho imunodeficitu môžu byť mnohé faktory.

### Fyziologické následky

Chronický stres nielen zhoršuje celkový zdravotný stav, ale aj stav imunity. Nedostatočná výživa znižuje schopnosť imunity zabrániť infekcii. Chýbanie špecifických súčastí výživy môže v niektorých prípadoch spôsobiť imunodeficit. Napríklad nedostatok niektorých minerálov a vitamínov redukuje imunitné funkcie. Nízke hladiny železa, zinku, selénu, vitamínov D, A, B6, C a E tiež súvisia so zhoršenou funkciou imunitného systému.

### Následky terapeutických postupov

Iným príkladom pre vznik sekundárneho imunodeficitu sú aplikované liečebné postupy. Napríklad u jedincov, ktorí podstúpili transplantáciu, sa aplikujú prípravky na inhibíciu ich imunitného systému na určitý čas, aby sa zvýšilo prežívanie štepu. Počas takejto liečby (a niekedy aj po nej) majú pacienti zvýšenú náchylnosť na oportúnne infekcie. Tiež pacienti s autoimunitnými ochoreniami môžu byť liečení prípravkami, ktoré znižujú ich imunitné odpovede (zodpovedné za ich problémy), ale táto liečba má za následok aj zvýšený sklon k oportúnnym infekciám. Nádorové procesy a tiež terapeutické postupy používané pri liečbe rakoviny ovplyvňujú imunitný systém. Na vzniku

sekundárnych imunodeficitov sa môžu podieľať ionizujúce žiarenie, cytotoxické látky, kortikosteroidy, aj imunosupresívne lieky.

#### *Rakovina*

Nádorové bunky uvoľňujú do okolitého prostredia rôzne imunosupresívne molekuly, ktoré blokujú imunitné reakcie. Lymfocyty a monocyty, ktoré sa stali malígnymi začnú mať na svojom povrchu aberantné molekuly a tiež dokážu produkovať rôzne molekuly, ktoré menia normálnu produkciu cytokínov v okolitom mikrostredí. Následkom toho vznikajú imunodeficity s abnormálnymi interakciami s ostatnými časťami imunitného systému.

#### *Ďalšie príčiny sekundárnych imunodeficitov*

Ďalšími faktormi pri vzniku sekundárnych imunodeficitov môžu byť poruchy metabolizmu (urémia, diabetes, hypotyreóza, dlhodobé redukčné diéty...), chronické infekcie, pečenné zlyhávanie, cirhóza pečene, alkoholizmus, splenektómia, ťažké úrazy, rozsiahle popáleniny, operácie, celková anestéza, súvislosť s vekom (nedonosené deti, staré osoby), chronická expozícia škodlivým chemikáliám a ďalšie. Príčiny sa môžu vzájomne kombinovať. V celosvetovom meradle dominuje ako príčina sekundárnych imunodeficitov infekcia HIV a malnutrícia. Podobne ako pri primárnych imunodeficitoch podľa prevažujúcej poškodenej zložky sa delia sekundárne imunodeficity na protilátkové, bunkové, fagocytárne, komplementové a ich kombinácie.

#### *Následky infekcií*

Dočasné imunodeficity boli pozorované po prekonaní infekcie niektorými herpetickými vírusmi, po prekonaní osýpok, rubeoly a iných lymfocytotropných virózach. Najväčším je však sekundárny imunodeficit vzniknutý pri infekcii vírusom HIV, ktorý ničí CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty a vedie k syndrómu získanej imunodeficiencie (AIDS). HIV môže infikovať a zabiť aj monocyty a CD8<sup>+</sup> T-lymfocyty pri pokračovaní infekcie. CD4<sup>+</sup> T-lymfocyty sú dôležité pre vývoj viacerých imunitných reakcií, ich strata znamená postupný pokles aj celú aj humorálnu odpoveď a zvyšuje sa riziko oportúnnych infekcií a rôznych foriem rakoviny, ktoré môže byť fatálne.

Mnohé infekčné mikroorganizmy unikajú alebo obchádzajú imunitné reakcie namierené proti nim. Pritom však môžu zanechávať svojho hostiteľa vnímavejšieho na rôzne iné infekčné agensy. Niektoré baktérie dokážu produkovať enzýmy, ktoré lokálne likvidujú imunoglobulíny alebo zložky komplementu. Niektoré baktérie sa chránia tak, že po pohltnutí fagocytmi blokujú fúziu fagozómu s lyzozómom, blokujú syntézu mikrobicídnych molekúl, alebo bránia prezentácii peptidov MHC molekulami. Iné mikroorganizmy (*Plasmodium*) sa skryjú do erytrocytov, ktoré nemajú MHC molekuly, a preto T-lymfocyty nevedia určiť, či sú tieto bunky infikované alebo nie. Niektoré infekčné zdroje sekundárnych imunodeficitov a mechanizmy vzniku sú uvedené v tabuľke 7.

**Tab. 7 Faktory pri vzniku sekundárnych imunodeficitov**

Príčiny	Príklad	Mechanizmus
Fyziologické následky	Malnutrícia	Nedostatok nutričných faktorov má významný dopad na funkcie s vysokými energetickými nárokmi
	Nedostatok stopových prvkov	Deficit kofaktorov
	Nedostatok vitamínov	Deficit kofaktorov
Terapeutické postupy	Ionizujúce žiarenie	Zvyšuje oxidatívny stres, poškodzuje replikujúce sa bunky
	Cytotoxické lieky	Poškodzujú alebo ničia replikujúce sa bunky
	Protizápalová liečba kortikosteroidmi	Interferuje s produkciou niektorých cytokínov
	Imunosupresívna liečba	Interferuje s produkciou niektorých cytokínov
Infekčné následky	HIV	Zabíja CD4 <sup>+</sup> T-lymfocyty, monocyty a CD8 <sup>+</sup> T-lymfocyty.
	Epstein-Barr vírus	Produkuje analogický proteín k interleukínu IL-10, ktorý inhibuje syntézu cytokínov Th1 línie a spôsobí tak zníženie IL-2 a IFN- $\gamma$ , ktoré sú veľmi dôležité v antivírusovej imunite.
	<i>Schistosoma</i>	Produkuje enzýmy schopné štiepiť a znefunkčniť imunoglobulíny
	Herpesvírus	Inhibuje dozrievanie MHC I. v endoplazmatickom retikule
	Cytomegalovírus	Produkuje proteín, ktorý spôsobí nedostatočnú expresiu MHC na povrchu bunky, a tým zníži antigén-prezentačnú schopnosť buniek.
	<i>Chlamydia</i>	Bráni fúzii fagozómov a lyzozómov.
	Stafylokoky, yersínie, streptokoky	Produkujú toxíny, ktoré zabíjajú fagocyty
	mykobaktérie	Produkujú toxíny, ktoré zabíjajú fagocyty, inhibujú acidifikáciu vo fagozómoch, zabraňujú fúzii s lyzozómami, inhibujú oxidatívnu degradáciu s fagozómami.
Rakovina	Waldenströмова makroglobulinémia	Nadmerná produkcia IgM, ktorá zvyšuje viskozitu krvi.
	Burkittov lymfóm	Etiologický agens Epstein-Barr vírus tvorí proteín analogický k IL-10 a vedie k utlmeniu Th1 imunitnej odpovede, ktorá je dôležitá v boji proti nádorom.
	Chronická lymfocytová leukémia	Redukovaná produkcia imunoglobulínov

## 19.4 Liečba imunodeficitov

Na zlepšenie stavu pri imunodeficitoch sú využívané viaceré metódy, ktoré prinášajú buď dočasné zlepšenie a musia sa pravidelne opakovať, alebo postupy, ktoré dávajú nádej dlhodobejšieho zlepšenia až vyliečenia. Liečba pri vrodených imunodeficitoch je rôzna a závisí od druhu a závažnosti imunodeficitu. Pri protilátkových imunodeficitoch sa aplikuje substitučná liečba gamaglobulínmi a profylaktická liečba antibiotikami. Pri podávaní chýbajúcich imunoglobulínov intravenózne sa dosiahne účinok zvyčajne len dočasný. Pri bunkových a kombinovaných imunodeficitoch, aj pri závažných poruchách fagocytózy sa vykoná transplantácia kmeňových krvotvorných buniek. Úspech však závisí od mnohých faktorov, hlavne vhodnosti darcu a včasnosti stanovenia diagnózy. Včasné rozpoznanie je veľmi dôležité z hľadiska prognózy pacienta. Kostná dreň od vhodného darcu poskytuje často najúčinnjší spôsob náhrady poškodených súčastí imunitného systému. Výnimkou sú imunodeficity, kde vzniká porucha mimo hematopoetického systému (napr. DiGeorgeov syndróm). V liečbe imunodeficitov sa využíva aj symptomatická liečba, v niektorých prípadoch je prospešná aplikácia cytokínov (napr. rastových faktorov pre neutrofile) a vhodné je podávanie vitamínov. Liečba sekundárnych imunodeficitov sa opiera predovšetkým o identifikáciu a terapiu základnej príčiny, ktorá viedla k vzniku imunodeficitu (alebo v jej zmiernení), potrebné je odstránenie vyvolávajúceho faktora z prostredia, v rámci podpornej liečby je vhodná aplikácia imunomodulačných prípravkov. Liečbou budúcnosti zdá sa bude génová terapia, ktorou by sa nahradil nefunkčný gén pacienta, a to vpravením funkčného génu pomocou vektora do lymfocytov alebo kmeňových buniek pacienta. Zatiaľ však bola v klinickej praxi použitá len v niekoľko málo prípadoch u pacientov s ADA (deficitom adenosín-deaminázy) s priaznivým výsledkom u časti pacientov. Úplná funkčná náhrada dostatočného počtu kmeňových buniek sa však nepodarila, takže pacienti musia naďalej dostávať pasívnu imunoterapiu. Je nádej, že pokračujúci výskum zlepši účinnosť a využitie týchto postupov.

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Charakterizujte primárne imunodeficity. Spôsobené sú vrodenými poruchami, mutáciami génov pre jednotlivé zložky imunitného systému a vedú k zníženej schopnosti odolávať infekciám. Môžu byť protilátkové, bunkové a kombinované, môže ísť o deficity v systéme fagocytózy a komplementu.

Ako sa prejavujú imunodeficity? Medzi typické prejavy patria rekurentné alebo chronické infekcie, neschopnosť zlikvidovať infekciu štandardnou liečbou antibiotikami, výskyt neobvyklých infekčných pôvodcov.

Vymenujte niektoré z typických varovných príznakov, ktoré môžu poukazovať na primárny imunodeficit. Sú to opakované otitídy u detí, opakované ušné komplikácie u dospelých, opakované potvrdené sínusitídy, pneumónie, infekčné bronchitídy, hlboké tkanivové infekcie, abscesy, sepsa alebo meningitída, pretrvávajúce hnačky, malabsorpcia, zaostávanie rastu u detí, nepriberanie na hmotnosti u detí, opakované

atypické infekcie, potreba dlhodobej alebo intravenózne liečby antibiotikami, výskyt primárneho imunodeficitu v rodine.

Ktorý primárny imunodeficit B buniek je najznámejší ? Brutonova agamaglobulinémia.

Ktorý primárny protilátkový imunodeficit je najčastejší? Selektívna IgA deficiencia sprevádzaná nízkou hladinou IgA, klinicky sa prejavuje najmä zvýšenou náchylnosťou na respiračné infekcie.

Ktorý imunodeficit predstavuje najzávažnejší primárny imunodeficit? Ťažký kombinovaný imunodeficit.

Aký deficit sa vyskytuje pri chronickej granulomatóznej chorobe? Deficit vo fagocytóze.

Ktorý systém je porušený pri hereditárnom angioedéme? Deficit v systéme komplementu.

Ako sa prejavujú deficity v komplemente? Výskytom pyogénnych infekcií a edémov. Vyvolávateľmi infekcií sú najmä opuzdrené baktérie, hlavne neisserie.

Čo je typické pre sekundárne imunodeficity? Nevznikajú na základe genetických procesov, ale na základe vyvolávajúcich príčin z okolia. Môžu vzniknúť kedykoľvek počas života, v závislosti od vyvolávajúceho faktora.

Ktoré infekcie môžu viesť k vzniku dočasných imunodeficitov? Infekcie herpetickými vírusmi, po prekonaní osýpok, rubeoly a po lymfocytotropných virózach. Najzávažnejší je sekundárny imunodeficit vzniknutý pri infekcii HIV, ktorý vedie k syndrómu získanej imunodeficiencie AIDS.

## DVADSIATA KAPITOLA

# Autoimunita

## Hlavné témy

---

- ❖ Autoimunitné reakcie
    - ✓ Autoreaktivita
    - ✓ Humorálny a bunkový typ autoimunitných ochorení
      - Autoimunitné ochorenia sprostredkované humorálnou odpoveďou
      - Bunkami sprostredkované autoimunitné ochorenia
  - ❖ Tolerancia voči vlastnému
    - ✓ Centrálna tolerancia
    - ✓ Periférna tolerancia
  - ❖ Strata tolerancie voči vlastnému
    - ✓ Křížové reakcie a molekulové mimikry
    - ✓ Rozšírenie epitopu
    - ✓ Strata supresie
    - ✓ Sekvestrované antigény
    - ✓ Neoantigény
  - ❖ Genetická predispozícia
- 

## 20.1 Autoimunitné reakcie

Autoimunitné ochorenia vznikajú následkom imunitných odpovedí voči jednému alebo viacerým vlastným antigénom. Zvyčajne proti proteínom, ktoré sú súčasťou tela. Vlastné antigény, na ktoré odpovedá imunitný systém vznikom autoimunitného ochorenia, sa nazývajú autoantigény a **imunitná odpoveď proti autoantigénom sa označuje ako autoimunitná reakcia.**



Autoimunita je komplexný problém, môže vznikať mnohými mechanizmami a riziko vzniku je ovplyvnené viacerými faktormi environmentálnymi a genetickými, pričom mnohé z nich nie sú doteraz identifikované. Spolu vedú k porušeniu mechanizmov zodpovedných za toleranciu voči vlastným antigénom a navodená je imunitná odpoveď proti zložkám vlastného tela.

### 20.1.1 Autoreaktivita

Pre normálnu funkciu ľudského tela je **autoreaktivita do istej miery potrebná a prebieha v organizme každého zdravého človeka**. Imunitný systém rozpoznáva vlastné antigény a reaguje s nimi fyziologicky, aby bola udržiavaná homeostáza organizmu. Staré, rôzne poškodené, apoptotické bunky vlastného tela rozpozná a odstráni. Protilátky, ktoré sú namierené proti vlastným antigénom organizmu sa označujú ako autoprotiľátky. Fyziologické (prirodzené) autoprotiľátky majú nízku afinitu a zvyčajne sú izotypu IgM, ich koncentrácia je nízka a bežne dostupnými laboratórnymi metódami sa ich prítomnosť často nezistí. So zvyšujúcim sa vekom sa zvyšuje aj ich výskyt, hlavne vo vyššom veku je ich nález bežný, ale ich úloha v autoimunitnej reakcii je nepodstatná. U detí je však potrebné venovať zvýšenú pozornosť nálezom autoprotiľátok.

**Problém nastáva, keď množstvo autoimunitných procesov presiahne regulačné schopnosti organizmu a autoimunitné reakcie začnú viesť k poškodeniu tkanív.** Predpokladá sa, že autoprotiľátky nie sú bezprostrednou príčinou autoimunitného ochorenia, ale sú skôr markerom. Autoprotiľátky pri autoimunitnom ochorení sú prítomné vo vysokých koncentráciách, prevažujú izotypy IgG a IgA s vysokou afinitou. Ich nález môže predchádzať klinickému prejavu autoimunitného procesu, môže byť jeho súčasťou a autoprotiľátky môžu pretrvávajúť aj po ochorení. No môžu sa vyskytovať v organizme aj bez ochorenia. Nález autoprotiľátok je preto potrebné hodnotiť s ohľadom na klinický stav jedinca a výsledky ostatných vyšetrovacích metód.

### 20.1.2 Humorálny a bunkový typ autoimunitných ochorení

Výkonné nástroje pri vzniku autoimunitného ochorenia môžu byť aj protilátky aj T-lymfocyty, tzn. môžu byť aj humorálneho aj bunkového typu.

- **V prípade humorálneho typu dochádza k tvorbe autoprotiľátok (najmä IgG s vysokou afinitou), ktoré poškodzujú tkanivo cytotoxickým alebo imunokomplexovým mechanizmom pôsobenia, čiže hypersenzitívnymi reakciami II. a III. typu.**
- **V prípade bunkového typu je poškodenie vyvolané prostredníctvom Th1 a cytotoxických Tc-lymfocytov a makrofágmi, čiže hypersenzitivitou IV. typu.**

Existuje množstvo rozličných autoimunitných ochorení, v podstate môžu postihovať ktorékoľvek tkanivo a orgán. Niektoré sú orgánovo špecifické: imunitná odpoveď je namierená proti antigénom, ktoré súvisia s určitým cieľovým orgánom a patologický proces postihuje tento orgán. Ak je imunitná odpoveď namierená proti orgánovo nešpecifickým antigénom, postihnuté bývajú viaceré orgány a tkanivá, vtedy ide o systémové (orgánovo nešpecifické) autoimunitné ochorenia. Hranica medzi nimi je však

v niektorých prípadoch nejednoznačná. Rovnako nejednoznačná je v niektorých prípadoch aj účasť humorálnej alebo bunkovej zložky imunity, niekedy je zjavná prevaha jednej z nich, inokedy sa na poškodení podieľajú obidve rovnakou mierou. Vplyv humorálnej alebo bunkovej imunity je niekedy odhadovaný len na základe experimentálnych modelov.

### *Autoimunitné ochorenia sprostredkované humorálnou odpoveďou*

Autoreaktívne protilátky spustia hypersenzitívnu odpoveď II. alebo III. typu. Obvykle sú to izotypy IgG, čiastočne môžu prispieť aj IgM. Aktivácia komplementu a opsonizácia poškodených buniek stimulujú zápalovú odpoveď, ktorá zvyšuje poškodenie cieľových buniek a tkanív. Hoci sú prítomné aj autoreaktívne T-lymfocyty, ich úloha nie je v priamom útočení na hostiteľskú bunku, ale v aktivácii autoreaktívnych B-lymfocytov. Príkladom autoimunitného ochorenia humorálneho typu sú autoimunitná hemolytická anémia, Hashimotova tyreoiditída, reumatická horúčka, reumatoidná artritída, SLE, Goodpastureov syndróm.

### *Bunkami sprostredkované autoimunitné ochorenia*

Bunkami sprostredkované poškodenie vedúce k vzniku autoimunitného ochorenia zahŕňa hypersenzitívnu odpoveď IV. typu. Hypersenzitivitu oneskoreného typu sprostredkovanú CD4<sup>+</sup> T-lymfocytmi (Th1 subpopuláciou) a makrofágmi, a tiež reakciu cytotoxických T-lymfocytov sprostredkovanú CD8<sup>+</sup> T-lymfocytmi. Pri niektorých ochoreniach môžu byť prítomné aj špecifické protilátky, ale neprispievajú k vytvoreniu patologických procesov daného ochorenia. Príkladom autoimunitného ochorenia bunkového typu sú sclerosis multiplex, IDDM typ 1 (juvenilný diabetes mellitus), psoriáza, autoimunitná uveitída. Príkladom autoimunitného ochorenia, pri ktorom sa vyskytuje poškodenie spôsobené aj humorálnym aj bunkami sprostredkovaným poškodením, je reumatoidná artritída.

Typická pre autoimunitné ochorenia je aj nerovnováha v syntéze cytokínov. Prevažujúci typ cytokínov určuje do akej subpopulácie sa budú diferencovať pomocné Th-lymfocyty. Zistilo sa, že pri určitých ochoreniach je v prevahe aktivita Th1 lymfocytov podporujúca bunkami sprostredkovanú odpoveď. Prevaha aktivity Th2 lymfocytov je zaznamenaná napr. pri SLE, Sjögrenovej chorobe. Následkom nerovnováhy medzi Th1 a Th2 odpoveďou a faktormi, ktoré na túto nerovnováhu vplyvajú, sa môže meniť výška rizika u konkrétneho človeka. Napríklad epitelové bunky čreva produkujú cytokíny (IL-4, IL-10), ktoré vytvárajú prostredie vhodné pre aktivitu Th2 subpopulácie, napomáhajú humorálnej odpovedi, zlepšuje sa produkcia protilátok IgA a potlačená je Th1 odpoveď. Zmeny, ktoré podporia vývoj Th1 subpopulácie (napr. patogénnymi baktériami), a teda rozvoj bunkami sprostredkovanej imunitnej odpovede, môžu byť základom pre vznik autoimunitných nešpecifických črevných zápalov ako napr. Crohnova choroba alebo ulcerózna kolitída.

## 20.2 Tolerancia voči vlastnému

Mechanizmy, ktoré udržujú imunitné reakcie voči antigénom vlastných tkanív vo fyziologickom rozmedzí, sú pri autoimunitných ochoreniach prekonané a tolerancia vlastného je prelomená. Tolerancia vzniká následkom inaktivácie alebo zničenia lymfocytov, ktoré majú receptory BCR alebo TCR rozpoznávajúce a viažuce vlastné antigény. Toto môže prebehnúť vo včasnom období vývoja v rámci tzv. centrálnej tolerancie, alebo v neskoršom období vývoja lymfocytov, keď sú už lymfocyty prítomné v cirkulácii (v rámci tzv. periférnej tolerancie).

### 20.2.1 Centrálna tolerancia

Centrálna tolerancia sa vytvára **v týmuse pre T-lymfocyty a v kostnej dreni pre B-lymfocyty**. V týmuse prebieha najskôr pozitívna selekcia, ktorou sú zachované T-lymfocyty s TCR schopným rozpoznať komplexy MHC molekúl s vlastnými peptidmi. Potom prebehne negatívna selekcia a eliminované sú tie z nich, ktoré rozpoznávajú komplexy pMHC s príliš vysokou afinitou. V kostnej dreni prebehne negatívna selekcia a odstránené sú B-lymfocyty s receptormi BCR, ktoré sú schopné rozpoznať vlastné antigény. Týmto spôsobom sú odstránené potenciálne autoreaktívne T a B-lymfocyty. Nedostatkom centrálnej tolerancie je to, že nie všetky antigény sa nachádzajú v týmuse alebo kostnej dreni. Najmä nie tie, ktoré vznikajú počas puberty. Existujú však ďalšie významné mechanizmy, ktoré dopĺňajú centrálnu toleranciu. Slúžia na prevenciu toho, aby autoreaktívne bunky začali poškodzovať vlastné telo. Tieto mechanizmy sa označujú termínom periférna tolerancia.

### 20.2.2 Periférna tolerancia

Periférna tolerancia je dôležitá na kontrolu a elimináciu autoreaktívnych T a B-lymfocytov potom, ako opustili týmus alebo kostnú dreň. Mechanizmy periférnej tolerancie prebiehajú **priamo v tkanivách alebo regionálnych lymfatických uzlinách**. Lymfocyty nereagujú na antigény napriek tomu, že ich dokážu rozpoznať. Jedným z týchto mechanizmov je **anergia, čiže stav neodpovedavosti**. Pri nej lymfocyt rozpozna a naviaže antigén, ale chýba kostimulačný signál potrebný na úplnú aktiváciu bunky, takže bunka neodpovedá. Iným mechanizmom je **supresia**, kedy imunokompetentné **regulačné bunky** a ich produkty **inhibujú aktivitu autoreaktívnych lymfocytov**.

## 20.3 Strata tolerancie voči vlastnému

Napriek tomu, že existujú mechanizmy, ktoré predchádzajú potenciálnej autoreaktivite na vlastné antigény, môžu nastať situácie, keď autoreaktívne bunky prelomia toleranciu voči vlastnému a začnú útočiť na telu vlastné bunky a tkanivá. Je niekoľko situácií, ktoré toto umožňujú:

### 20.3.1 Krížové reakcie a molekulárne mimikry

Molekulové mimikry sa zaraďuje do skupiny krížových reakcií medzi antigénmi infekčných mikroorganizmov a vlastnými antigénmi hostiteľa. **Krížové reakcie** nastávajú,

keď dva antigény sú si veľmi podobné, ale nie identické. Potom je imunitná reakcia (odpoveď T a B-lymfocytov), ktorá bola pôvodne určená proti krížovo reagujúcim antigénom mikroorganizmov, namierená aj na vlastné molekuly hostiteľa a vedie to k ich poškodeniu. **Pri molekulovom mimikry ide o proces, pri ktorom infekcia určitým mikroorganizmom súvisí s následným vývojom autoimunitného ochorenia.** Keď sa teda epitop mikrobiálneho antigénu zhoduje s epitopom vlastnej bunky, potom protilátky vytvorené proti epitopu mikrobiálneho antigénu reagujú s epitopom antigénov vlastných buniek. Najznámejším príkladom týchto mechanizmov je reumatická horúčka s poškodením srdca po infekcii baktériou *Streptococcus pyogenes*, ktorý vyvoláva streptokokovú angínu. Táto baktéria obsahuje antigén označovaný ako M proteín, ktorý má určité vlastnosti veľmi podobné molekulám nachádzajúcim sa na chlopniach a membránach srdca. Ak sa vyvinie počas infekcie protilátková odpoveď, vytvoria sa protilátky IgM a IgG proti M proteínu tejto baktérie a následne sa vytvorené protilátky môžu naviazať na bunky srdca tohto jedinca. Dôjde k poškodeniu srdca a vzniká reumatická horúčka. Navyše môžu tieto protilátky aj krížovo reagovať s ďalšími molekulami nachádzajúcimi sa v kĺboch alebo obličkách. Ak je poškodenie veľmi veľké, môže byť pre jedinca fatálne. Preto je veľmi dôležité identifikovať tohto vyvolávateľa, aby bol pacient účinne vyliečený antibiotikami ešte skôr ako sa vyvinie protilátková odpoveď. Zdá sa, že krížové reakcie a molekulárne mimikry sú dôležitými faktormi viacerých autoimunitných ochorení. Napríklad skupina zápalových reaktívnych artritíd sa vyskytuje častejšie u pacientov, ktorí prekonali enteritídy.

### 20.3.2 Rozšírenie epitopu

Niekedy epitop, ktorý navodil autoimunitnú reakciu, nemusí byť podobný vlastnému. Rozšírenie epitopu je ďalší fenomén, ktorý môže prispievať k vplyvu infekčných mikroorganizmov na vznik autoimunity. Epitop, ktorý spustí odpoveď vedúcu k vzniku autoimunity nemusí byť epitopom, proti ktorému sa vyvíja imunitná odpoveď vznikajúca neskôr v priebehu ochorenia. **Počiatková odpoveď na epitop infekčného vyvolávateľa však môže viesť k poškodeniu a odkrytiu vlastných epitopov spôsobom schopným spustiť skutočnú autoimunitnú odpoveď.** Napríklad vírusová infekcia poškodí vlastnú štruktúru a odkryje vlastné epitopy, ktoré sa dostanú do pozornosti buniek imunity a spustí sa autoimunitná reakcia. Pri sclerosis multiplex odpoveď na niektoré vírusové epitopy navodí odpoveď na špecifické epitopy myelínovej pošvy, ktorá chráni axóny neurónu. Odkryté môžu byť viaceré vlastné epitopy. Preto sa pri autoimunitných ochoreniach často striedajú obdobia klľudu a relapsu, čo je spôsobené následkom odpovedí vytvorených proti rôznym vlastným epitopom. Rozšírenie epitopu hrá pravdepodobne úlohu pri viacerých autoimunitných ochoreniach, napr. SLE, IBD (nespecifické črevné zápal – Crohnova choroba, ulcerózna kolitída), sclerosis multiplex, a iné.

### 20.3.3 Strata supresie

**Supresia je potlačenie autoreaktívnych lymfocytov inými bunkami imunity alebo ich produktami.** Patrí medzi mechanizmy periférnej tolerancie. Najčastejšie sa na mechanizmoch supresie podieľajú regulačné T-lymfocyty, ale úlohu tu zohrávajú aj ďalšie bunky: monocyty, dendritové bunky, mastocyty a iné. Tieto supresorické bunky rôznych

typov slúžia na udržanie periférnej tolerancie. **S vekom ich počet klesá, a to zvyšuje riziko, že pôvodne potlačené autoreaktívne lymfocyty začnú byť aktívne a začnú reagovať proti vlastným antigénom.** To zvyšuje riziko vzniku autoimunitného ochorenia (napr. SLE) so stúpajúcim vekom.

### 20.3.4 Sekvestrované antigény

Niektoré vlastné molekuly sú sekvestrované, tzn. vylúčené z dosahu imunitného systému. **Normálne nie sú z rôznych dôvodov exponované imunitnému systému,** a preto sa imunitná odpoveď v niektorých tkanivách nevyvíja. Môže to byť napríklad mozog kvôli hematoencefalickej bariére, oko (rohovka a predná komora oka) kvôli vysokej koncentrácii protizápalových cytokínov, ale aj tubuly v testes alebo intrauterinné prostredie v priebehu tehotenstva. Miesta izolované od imunitného systému sa spoločne nazývajú **imunologicky privilegované miesta.**

Aj molekuly môžu niekedy obsahovať imunologicky privilegované miesto. Môže ísť o epitop, ktorý je vďaka priestorovému usporiadaniu ukrytý vo vnútri, teda je mimo kontaktu s imunitným systémom. **Ak je však molekula rozložená, stanú sa predtým „ukryté“ epitopy zrazu viditeľné pre imunitný systém.** Nazývajú sa **kryptoepitopy.** Príkladom je reumatoidný faktor, ktorý súvisí s viacerými autoimunitnými chorobami. Naviazaním IgG na antigén dôjde ku konformačnej zmene v Fc fragmente protilátky a odkryjú sa miesta (kryptoepitopy), ktoré stimulujú väzbu IgM protilátok. Tieto IgM protilátky proti kryptoepitopom IgG s naviazaným antigénom sa nazývajú reumatoidný faktor. Väzbou IgM na kryptoepitopy sa zvyšuje tvorba imunokomplexov a aktivuje sa komplement.

### 20.3.5 Neoantigény

**Neoantigény sú vlastné antigény, ktoré ale boli modifikované nejakým vonkajším faktorom** (napr. chemikáliou, liečivom) **a začnú byť rozpoznávané ako cudzie.** Nie sú to teda skutočné autoantigény a reakcie proti nim nie sú skutočné autoimunitné reakcie, ale môžu byť podobné alebo rovnaké ako na autoantigény. Odlišujú sa však v tom, že po ukončení pôsobenia faktora zodpovedného za vznik neoantigénu, sa aj odpoveď na neoantigén skončí (kým skutočný autoantigén perzistuje a stimuluje autoimunitnú odpoveď, až kým nie je eliminovaný).

## 20.4 Genetická predispozícia

Riziko vzniku autoimunitných ochorení súvisí aj s prítomnosťou určitých génov. O význame genetického podkladu pri vzniku autoimunitných ochorení svedčí fakt, že majú tendenciu vyskytovať sa v rodinách, kde už je niektorý člen rodiny postihnutý (familiárny výskyt autoimunitných ochorení). Tiež u jednovaječných dvojčiek, ak jedna z dvojčiek trpí autoimunitným ochorením, vyskytne sa toto ochorenie s vysokou pravdepodobnosťou aj u druhej dvojčky (teoreticky by to bolo 100 %), lebo sú geneticky identické. V skutočnosti je to však ovplyvnené viacerými možnými faktormi, ktoré toto percento znižujú (napr. rôzne poruchy regulačných funkcií imunity, rozdielne environmentálne

vplyvy, užívanie liekov, prekonané infekcie a iné). **Riziko vzniku autoimunitného ochorenia súvisí s génmi hlavného histokompatibilného komplexu človeka (HLA).** Niekedy jeden určitý HLA gén môže súvisieť s viacerými ochoreniami. Vytvorené sú prehľady, ktoré obsahujú súvislosti medzi HLA a ochoreniami. Frekvenciu určitého autoimunitného ochorenia u nosičov a u nenosičov určitého HLA génu porovnáva tzv. **relatívne riziko (RR).** Vypočítava sa osobitne pre určité skupiny ľudí (etnického alebo geografického pôvodu), pretože výsledok sa môže líšiť v sledovanej populácii.

### OTÁZKY a ODPOVEDE

Ako sa označuje imunitná odpoveď na autoantigén? Autoimunitná reakcia.

Akými mechanizmami môže byť poškodené tkanivo pri humorálnom type autoimunitných ochorení? Spôsobené to môže byť cytotoxickým (II. typ hypersenzitivity) alebo imunokomplexovým (III. typ hypersenzitivity) mechanizmom pôsobenia.

Akými mechanizmami dochádza k poškodeniu v prípade bunkového typu autoimunitných ochorení? Prostredníctvom Th1-lymfocytov, cytotoxických Tc-lymfocytov a makrofágov, čiže IV. typom hypersenzitivity.

Ako sa označuje proces, pri ktorom infekcia určitým spôsobom súvisí s následným vývojom autoimunitného ochorenia? Molekulové mimikry.

Vysvetlite pojem rozšírenie epitopu. Rozšírenie epitopu znamená, že počiatočná odpoveď na epitop infekčného mikroorganizmu môže viesť k takému poškodeniu, pri ktorom sa odhalia vlastné (self) epitopy. Tie sa potom dostanú do pozornosti imunitného systému a spustí sa autoimunitná reakcia.

Ktoré miesta sa označujú ako imunologicky privilegované miesta? Sú to miesta, ktoré sú izolované od imunitného systému, normálne nie sú z rôznych dôvodov exponované imunitnému systému a imunitná odpoveď sa v niektorých tkanivách nevyvíja. Napr. mozog, niektoré časti oka, tubuly v testes, intrauterinné prostredie v priebehu tehotenstva.

Čo sú neoantigény? Sú to vlastné antigény, ktoré boli modifikované pôsobením nejakých vonkajších faktorov (chemikálií, liekov...) a začnú byť rozpoznávané ako cudzie. Keď sa ukončí pôsobenie vyvolávajúceho faktora, ktorý viedol k vzniku neoantigénu, odpoveď na neoantigén sa skončí.



## DVADSIATA PRVÁ KAPITOLA

# Metódy používané v laboratórnej diagnostike

### Hlavné témy

---

- ❖ Diagnostika v imunológii
  - ❖ Metódy používané na vyšetrenie stavu bunkovej imunity
  - ❖ Metódy používané na vyšetrenie stavu humorálnej imunity
- 

### 21.1 Diagnostika v imunológii

Dôležitým bodom v imunologickej laboratórnej diagnostike je správny odber materiálu. Najčastejším **odoberaným materiálom** je krv, zriedkavejšie lymfatické uzliny, biotické vzorky tkanív, kostná dreň, bronchoalveolárna laváž, likvor, sliny. Pri vyšetrovaní stavu humorálnej imunity sa meria hlavne koncentrácia imunoglobulínov, proteínov akútnej fázy, zložiek komplementu, prítomnosť autoprotilátok. Pri vyšetrovaní stavu bunkovej imunity sa zisťuje počet a funkcia buniek imunity. Základným vyšetrením pri zisťovaní imunity pacienta je krvný obraz, a to počet jednotlivých buniek v krvi a diferenciálny krvný obraz. Potom sa pokračuje ďalšími vyšetreniami. **Pri sérologickom vyšetrení sa odoberá venózna krv** do sterilnej skúmavky bez protizrážanlivého prostriedku. Krv **sa nechá skoagulovať**. Potom je scentrifugovaná a sérum oddelené od krvného koláča sa prenesie do inej skúmavky. Najvhodnejšie je spracovať sérum ihneď. Môže sa skladovať pri teplote 4°C po dobu 2 – 3 dní, inak je potrebné sérum zmraziť pri –20°C alebo pre potrebu dlhodobiejšieho skladovania pri –80°C alebo v tekutom dusíku. Na vykonanie niektorých testov je potrebné inaktivovať sérum. Inaktivácia séra sa robí zahriatím séra na 56°C počas 30 minút, čím sa inaktivuje funkcia komplementového systému. **Pri vyšetrovaní stavu bunkovej imunity sa používa nezrazená krv**. Odoberá sa do sterilných skúmaviek s protizrážanlivým prostriedkom. Najčastejšie sa ako protizrážanlivé prostriedky používajú heparín a EDTA (kyselina etyléndiamíntetraoctová).

Môžu sa vyšetrovať počty alebo funkcia rôznych skupín bielych krviniek. Vyšetrenie je potrebné vykonať čo najskôr po odbere (pre väčšinu testov najneskôr do 2 hodín).

Detailnejší popis laboratórnych vyšetrovacích metód používaných v imunológii sa nachádza v publikácii Neuschlová M, Nováková E, Kompaníková J. Návody na praktické cvičenia z imunológie. Martin: Jesseniova lekárska fakulta UK, 2016; s. 114 (dostupné na: <https://portal.jfmed.uniba.sk/clanky.php?aid=348>).

### 21.2 Metódy používané na vyšetrenie stavu bunkovej imunity

Na analýzu bunkovej imunity je potrebná nezrazená krv. Metódy používané na vyšetrenie stavu bunkovej imunity zahŕňajú **izoláciu polymorfonukleárnych leukocytov, lymfocytov** a zisťovanie ich funkčnosti. Na izoláciu PMNL sa používa dextran, ktorý sa zmieša s krvou a po sedimentácii erytrocytov sa odsaje vrstva plazmy, v ktorej sa nachádzajú PMNL. Získané leukocyty sa využívajú na funkčné testy: na určenie **fagocytárnej aktivity a fagocytárneho indexu**, na testy oxidatívneho vzplanutia metódou **NBT testu** (nitroblue tetrazolium), **INT testu** (iod nitrotetrazolium) alebo metódou **chemiluminiscencie**. **Chemotaktická aktivita leukocytov** sa vyšetruje v agarózovom geli, keď sa k leukocytom pridá v určitej vzdialenosti chemotaktická látka. Štandardnou metódou na analýzu populácie jednotlivých buniek (aj subpopulácií lymfocytov) je **prietoková cytometria**, pri ktorej sa bunková suspenzia značí najčastejšie pomocou monoklonálnych protilátok značených fluorochrómom.

Na izoláciu lymfocytov sa používajú separačné roztoky a centrifugácia. Po scentrifugovaní dôjde k rozdeleniu jednotlivých zložiek krvi do vrstiev a odsaje sa vrstva mononukleových buniek. Tie sa môžu ďalej spracovať napr. **rozetovými testami**, ktorými sa určujú počty T a B-lymfocytov, aktívne a celkové rozety. Na vyšetrenie funkčných vlastností lymfocytov sa najčastejšie používajú **testy blastickej transformácie**, kedy sú lymfocyty stimulované mitogénmi (konkavalínom A, fytohemaglutinínom), čo má klinický význam hlavne pri diagnostike závažných imunodeficitov. Na vyšetrenie T bunkovej odpovede *in vivo* sa využívajú aj **kožné testy** (najznámejší je tuberkulínový kožný test), pomocou **ELISPOTu** *in vitro* sa stanovuje sekrécia rôznych lymfokínov spontánne bez stimulácie a po stimulácii T-lymfocytov antigénom.

### 21.3 Metódy používané na vyšetrenie stavu humorálnej imunity

Na analýzu humorálnej imunity sa používajú mnohé metodiky. Vyšetruje sa **komplementový systém**, jeho zložky (najmä C3 a C4) metódou jednoduchej radiálnej imunodifúzie. Pri podozrení na poruchu niektorej zložky klasickej cesty aktivácie komplementového systému sa robí test CH50 (resp. AH50 pri podozrení na poruchu alternatívnej cesty). Pri podozrení na hereditárny angioedém sa vyšetruje koncentrácia C1-INH v sére (inhibítora C1 zložky komplementu). Vo väčšine telesných sekrétov je možné vyšetriť **lyzozým**. Pri metóde stanovenia lyzozýmu sa využíva schopnosť lyzozýmu lyzovať bunkovú stenu grampozitívnych mikroorganizmov (*Micrococcus*). Veľmi často sa využíva **stanovenie proteínov akútnej fázy**, ktorých koncentrácia sa zvyšuje v akútnej

fáze zápalu v organizme. Medzi najčastejšie stanovované proteíny akútnej fázy patria CRP (C reaktívny proteín), prokalcitonín a orosomukoid (tiež označovaný ako kyslý  $\alpha$ -1-antitrypsín). Môžu sa stanovovať metódou jednoduchej radiálnej imunodifúzie, ale častejšie pomocou nefelometrie alebo turbidimetrie.

Medzi základné metódy na vyšetrenie humorálnej imunity sa zaraďujú **sérologické reakcie**. Využívajú reakcie medzi antigénom a protilátkou, ktoré prebiehajú v určitom prostredí. Vlastnosťou antigénu a protilátky je, že sa viažu špecificky. To znamená, že na základe jednej zložky reakcie sa môže identifikovať druhá zložka reakcie. Využívajú sa v priamej aj nepriamej diagnostike. V priamej diagnostike slúžia na priamy dôkaz antigénu vo vyšetrovanom materiáli pomocou známych protilátok. Príkladom je sérotypizácia, pri ktorej sa určuje antigénna štruktúra baktérií s použitím polyvalentných a monovalentných diagnostických sér. Najčastejšie sa však sérologické reakcie využívajú v nepriamej diagnostike. Slúžia na dôkaz špecifických protilátok v biologickom materiáli od pacienta ako dôkaz protilátkovej odpovede organizmu, a to s použitím známeho antigénu. Aglutinačné reakcie využívajú reakcie korpuskulárnych antigénov so špecifickými protilátkami, využívajú sa najmä na dôkaz protilátok pri rôznych infekčných ochoreniach (napr. Widalova reakcia, Weil-Felixova reakcia). Ak je antigén rozpustný a je naviazaný na povrch vhodnej makromolekulovej častice (vhodné nosiče sú latexové častice alebo erytrocyty), vtedy ide o latexovú aglutináciu alebo hemaglutináciu. Precipitačné reakcie sú založené na reakcii rozpustných antigénov so špecifickými protilátkami. Môžu prebiehať v tekutom prostredí alebo v géli (vtedy sa označujú ako imunodifúzie). Najčastejšie sú využívané jednoduché radiálne imunodifúzie a dvojité imunodifúzie. Pri jednoduchej imunodifúzii do gélového prostredia difunduje iba jedna zložka, druhá zložka je rozptýlená v géli. Pri dvojitej imunodifúzii difundujú do gélu obidve zložky – antigén aj protilátka.

Na dôkaz protilátok pri rôznych infekčných ochoreniach sa používajú tiež **komplement fixačné reakcie**, ktorých podstatou je väzba komplementu na komplex antigén-protilátka. Nie je vhodná na zistenie jednotlivých tried imunoglobulínov, pretože sa pri nej zisťujú celkové imunoglobulíny.

Pri vyšetrení humorálnej imunity sa využíva tiež **elektroforéza**, ktorou sa rozdelia proteíny na základe ich rozdielnej pohyblivosti v gélovom prostredí umiestnenom v elektrickom poli. Pre imunológiu má význam hlavne gamafrakcia, pretože obsahuje imunoglobulíny. Dajú sa zachytiť orientačné zmeny v zmysle hypergamaglobulinémie, hypogamaglobulinémie alebo monoklonálne gamapatie. Technika, ktorou sa kombinuje elektroforéza a imunodifúzia, sa označuje ako **imunoelektroforéza**. Spája v sebe elektroforetickú separáciu proteínov a imunodifúziu, pri ktorej sa už uplatňuje reakcia medzi antigénom a protilátkou. Využíva sa klasická, raketová, protismerná imunoelektroforéza a imunofixácia. Imunofixácia sa využíva pri diagnostike monoklonálnych gamapatií, najmä na určenie izotypu monoklonálneho imunoglobulínu (paraproteínu).

Na dôkaz protilátok sa využívajú aj **imunofluorescenčné techniky**, pričom vzniknuté imunokomplexy sú vizualizované pomocou protilátok značených fluorescenčnými farbivami.

V modernej bioanalytike sa využívajú **imunoanalytické metódy**, ktoré umožňujú stanovovať aj nízke koncentrácie protilátok (alebo antigénov), ktoré sa zvyčajne nedajú stanoviť klasickými sérologickými metódami. Môžu sa nimi stanoviť aj malé množstvá rôznych hormónov, cytokínov, nádorových markerov a pod. Na vizualizáciu prebehnuté reakcie medzi antigénom a protilátkou sa musí použiť tzv. sekundárna protilátka, ktorá je značená napr. enzýmom (enzýmová imunoanalýza), rádioizotopom (rádioimunoanalýza), luminoforom (chemiluminiscenčná imunoanalýza) alebo fluorochrómom (fluorescenčná imunoanalýza). V praxi sa veľmi často používa ELISA.

V súčasnosti majú široké využitie **blotovacie techniky** pre svoju vysokú citlivosť a špecifickosť. Blotovacie techniky v sebe spájajú elektroforézu a imunoanalýzu. Uskutočňujú sa v rôznych modifikáciách, ale najznámejší je Western blot a imunodot. Umožňujú zisťovať zo vzorky naraz aj niekoľko špecifických protilátok proti jednotlivým antigénom. Pre stanovenie špecifických protilátok proti infekčným pôvodcom sa tieto testy využívajú ako konfirmačné (potvrdzujúce) testy, ako ďalšia možnosť špecifického dôkazu v prípadoch, kedy ostatné metódy neposkytnú jednoznačný výsledok.

Pri vyšetrení humorálnej imunity sa najčastejšie stanovujú hladiny imunoglobulínov a ich podtried, a to viacerými metódami: radiálnou imunodifúziou, turbidimetriou, nefelometriou, enzýmovou imunoanalýzou ELISA alebo rádioimunoanalýzou RIA. Na dôkaz autoprotílátok sa využíva imunofluorescencia, ELISA, imunoblotty, imunodoty, príp. RIA, ale aj prietoková cytometria. Novšie trendy umožňujú detekciu autoprotílátok pomocou biočipov. Zlatým štandardom pri vyšetrení autoprotílátok však zostáva nepriama imunofluorescencia. Umožňuje detegovať autoprotílátky reagujúce s antigénmi, ktoré sa nachádzajú v bunkách substrátu. Substrátom môže byť mikrotómový rez tkaniva, orgánu alebo bunková suspenzia, na ktorú sa pridá vzorka séra od vyšetrovaného pacienta. Každá autoprotílátka naviazaná na cieľový antigén vykazuje typickú fluorescenciu v závislosti na lokalizácii antigénu.

## OTÁZKY a ODPOVEDE

Ktorý materiál sa najčastejšie odoberá na laboratórnu diagnostiku pre potreby imunológie? Najčastejšie sa odoberá krv, zriedkavejšie lymfatické uzliny, biopsické vzorky tkanív, kostná dreň, bronchoalveolárna laváž, likvor, sliny.

Akým spôsobom sa inaktivuje sérum? Zahriatím séra na 56°C po dobu 30 minút. Inaktivuje sa pritom funkcia komplementového systému.

Aká krv sa používa pri vyšetrení stavu bunkovej imunity? Nezrazená krv.

Aká krv sa používa pri sérologickom vyšetrení? Obobratá krv sa nechá skoagulovať, po scentrifugovaní sa sérum oddelené od krvného koláča preniesie do inej skúmavky.

Ktoré metódy sú základné metódy na vyšetrenie stavu humorálnej imunity? Sérologické reakcie.

Čo je podstatou komplement fixačných reakcií? Väzba komplementu na komplex antigén-protilátka.

Čo znamená elektroforéza? Je to rozdelenie proteínov na základe ich rozdielnej pohyblivosti v gélovom prostredí v elektrickom poli. Pre imunológiu je najdôležitejšia gamafrakcia, pretože práve tu sa nachádzajú imunoglobulíny.

Čo sú sérologické reakcie? Sú to reakcie medzi antigénom a protilátkou, ktoré prebiehajú v určitom prostredí a slúžia buď na priamu diagnostiku na priamy dôkaz antigénu vo vyšetrovanom materiáli, alebo najčastejšie na dôkaz špecifických protilátok v rámci nepriamej diagnostiky.

## KAZUISTIKY

### Brutonova agamaglobulinémia

Je to prvý známy popísaný primárny imunodeficit, pomenovaný podľa doktora Brutona v roku 1952. Popísal kazuistiku osemročného chlapca, ktorý trpel opakovanými bakteriálnymi infekciami. Opakovane sa u neho vyskytli najmä pneumokokové infekcie, ktoré viedli k sepsám. Napriek očkovaníu proti pneumokokom, neboli vytvorené žiadne protilátky. Dieťa bolo liečené opakovane aplikáciou protilátok (podávaním gamaglobulínu). V priebehu nasledujúcich mesiacov, počas ktorých prebiehala substitučná liečba gamaglobulínmi, nemal príznaky sepsy. Brutonova agamaglobulinémia sa vyskytuje iba u mužského pohlavia, pretože ochorenie je recesívny na X chromozóm viazaný imunodeficit B buniek. Vzniká z defektu génu, ktorý kóduje Brutonovu tyrozínkinázu potrebnú v skorých štádiách vývoja B-lymfocytov. B-lymfocyty tak nemôžu dozrievať, čo vedie k nízkemu počtu B-lymfocytov, plazmatických buniek aj všetkých izotypov imunoglobulínov. To vedie k agamaglobulinémii (Bruton OC. Agammaglobulinemia. Pediatrics 1952; 9: 722).

### Bežný variabilný imunodeficit – CVID

Je to primárny imunodeficit, ktorý bol popísaný u 35 ročnej ženy len o rok neskôr ako Brutonova agamaglobulinémia, teda v roku 1953. Charakterizovaný je zníženými sérovými koncentráciami IgG, IgA a/ alebo IgM, poklesom koncentrácií alebo chýbaním izohemaglutinínov a zlou odpoveďou na aplikáciu vakcín u pacientov starších ako dva roky, ak u nich boli vylúčené iné príčiny imunodeficitu. Ide o heterogénnu skupinu chorôb, ktoré sa vyznačujú výraznou hypogamaglobulinémiou neznámej príčiny, neschopnosťou vytvárať protilátkovú odpoveď po vakcinácii, náchylnosťou na opakované bakteriálne infekcie predovšetkým opuzdrenými mikroorganizmami. Zriedkavejšie je CVID diagnostikovaný v detstve, častejšie medzi druhou a treťou dekadou života. Presná diagnóza sa zvyčajne stanoví s oneskorením niekoľkých rokov (6-7 rokov) po nástupe ochorenia. Pacienti trpia opakovanými zápalmi priedušiek, prínosových dutín, stredného ucha a zápalmi pľúc. Hlavnou komplikáciou býva chronické poškodenie pľúc. Zároveň sa môžu objaviť príznaky autoimunitných ochorení, gastrointestinálnych porúch sprevádzaných často malabsorpciou, systémové alebo lokalizované granulomatózne choroby, poškodenie pečene, splenomegália a generalizovaná lymfadenopatia, zvýšené je aj riziko malignt. Veľké percento pacientov trpí bronchiektáziami.

41 ročná pacientka trpela od detstva opakovanými infekciami, prekonala osemkrát zápal pľúc, napriek očkovaníu proti osýpkam ich dostala. V detstve bola veľmi často chorá, často aj s potrebou hospitalizácie. Diagnóza bežná variabilná imunodeficiencia jej bola stanovená v 21 rokoch imunologickým vyšetrením. Cíti sa veľmi oslabená. Okrem vyšetrení na imunológii sa pridala aj hematológia a pľúcne, má tiež zväčšenú slezinu a ďalšie zdravotné problémy. V súčasnosti neexistuje žiadna účinná kauzálna terapia a liečba sa opiera o substitučnú imunoglobulínovú liečbu, cielenú antibiotickú liečbu



infekcií a u ľudí s bronchiectáziami je prínosom aj pľúcna fyzioterapia. Viac o vzácnych ochoreniach sa dočítate na [www.vzacna-onemocneni.cz](http://www.vzacna-onemocneni.cz), ktorú prevádzkuje Česká asociace pro vzácná onemocnění.

## Alergia na kravské mlieko

Alergia na kravské mlieko (AKM) predstavuje celosvetový problém vyskytujúci sa na všetkých obývaných svetadieloch. Dvojročný chlapec bol vyšetrený v alergologicko-imunologickej ambulancii s podozrením na AKM. Dojčený bol do 13 mesiacov. Matka sa počas dojčenia prvý mesiac vyhýbala konzumácii kravského mlieka z obavy, aby sa u dieťaťa nevyvinuli koliky a reflux. Keďže sa napriek tomu u dieťaťa vyskytli, začala mlieko znovu konzumovať. V tom istom čase sa u dieťaťa objavili ekzémy na celom tele, prejavovali sa zhrubnutou kožou a svrbením hlavne v noci. Vo veku 5 mesiacov boli pomocou krvných tesov zistené zvýšené sérové koncentrácie IgE proti kravskému mlieku, arašidom a mačke. Matka preto vylúčila všetky výrobky, ktoré by mohli obsahovať kravské mlieko, arašidy, orechy a semená. Tiež vystažovali mačku. Po týchto opatreniach sa ekzém zmiernil. S podávaním pevnej stravy sa začalo vo veku 6 mesiacov. Vo veku 12 mesiacov boli dieťaťu vykonané kožné prick testy na potravinové alergény, ktoré potvrdili pozitivitu na kravské mlieko, arašidy, stromové orechy a semená. Dieťaťu bolo doporučené konzumovať sójové mlieko, ktoré dobre tolerovalo a z bežnej stravy prísne vyradenie kravského mlieka a produktov z neho, arašidov, stromových orechov a semien. Kazuistika pochádza z publikácie Assa'ad A, Fiocchi A. Směrnice mění diagnostický proces u potravinové alergie na kravské mléko – učení vycházející z řešení problémů. *Curr Opin Allergy Clin Immunol/CS* 2013; 10: 8-13.

## Chladová a cholinergná urtikária

V patofyziológii urtikárie sa uplatňujú mastocyty, keď IgE na ich povrchu naviažu špecifické antigény, dôjde k aktivácii mastocytov a následne sa z nich uvoľňujú histamín a rôzne vazoaktívne, chemotaktické a zápalové mediátory. Urtikárie sa delia podľa viacerých kritérií. Chladová aj cholinergná urtikária sú zaradené medzi fyzikálne urtikárie. Môžu sa vyskytovať izolovane, ale zriedkavo aj spolu. Chladová urtikária sa prejavuje svrbivými erytémami, ktoré vznikajú v chladnom ročnom období na nechránených častiach tela ako sú tvár, ruky, krk alebo vznikajú aj pôsobením studeného vetra a studenej vody. Cholinergná urtikária vzniká pri zvýšenej námahe a prehriatí organizmu (napr. telesná námaha, psychická záťaž). Uplatňuje sa zvýšená reaktivita na acetylcholín a pilokarpín. Dominujú drobné belavé urtiky do 3 mm, ktoré sú obkolesené reflexným erytémom, sú lokalizované najmä v hornej polovici trupu a sprevádzané silným svrbením.

16-ročný chlapec bol v posledných dvoch rokoch vyšetrený na alergologickej klinike pre recidivujúce urtikárie. K rozvoju došlo v súvislosti s vystavením sa studenému vzduchu a plávaniu. Okrem toho sa však u neho vyvinula aj generalizovaná vyrážka vo forme svrbiacich papúl bezprostredne po cvičení, nezávisle od pôsobenia chladu. Ťažkosti má počas celého roka, zaznamenal ich aj po horúcich kúpeľoch. U pacienta sa nevyskytli žiadne iné systémové ochorenia, žiadne respiračné, gastrointestinálne alebo kardiovaskulárne ťažkosti. Neužíval žiadne lieky a počas epizód urtikárií nebol liečený.

Rodinná anamnéza bola bez pozoruhodností. Pri vyšetrení vykazoval pozitívny test na chlad (v mieste aplikácie kocky ľadu), pozitívny test na cvičenie (chôdza po schodoch počas 15 minút) a pozitívny test na aplikáciu tepla (aplikácia tečúcej vody teplej 42° C na ruku počas 10 minút). V tomto prípade bola vylúčená alergická urtikária vyvolaná jedlom, liekmi alebo uštipnutím pre negatívnu anamnézu. Možnosti liečby sa opierajú o vyhýbanie sa spúšťačom a inhibíciu mediátorov mastocytov (histamín). Vzhľadom k tomu, že tento pacient reagoval aj na chladné aj na teplé podnety, aj na fyzickú námahu pri cvičení. Doporučená bola liečba antihistaminikami, ktorých dávka sa pred fyzickou aktivitou mala zdvojnásobiť, najmä ak sa mala vykonávať v chladnom prostredí. U pacienta bolo zaznamenané podstatné zlepšenie tolerovania väčšiny fyzických aktivít, s výnimkou plávania v nekrytých plaveckých bazénoch, ktorému sa mal vyhýbať. Kazuistika bola čerpaná z publikácie Torabi B, Ben-Shoshan M. The association of cholinergic and cold-induced urticaria: diagnosis and management. *BMJ Case Rep* 2015; doi: 10.1136/bcr-2014-205258.

### Erythema nodosum

Je to reaktívne kožné ochorenie, ktoré môže byť spúšťané viacerými možnými antigénymi podnetmi a môže sa vyskytovať v každom veku, hoci je častejšie v dospelosti. Uvádza sa, že u dievčat je výskyt vyšší v adolescentnom veku. Zatiaľ nie je celkom objasnený patomechanizmus vzniku nodózneho erytému. Predpokladá sa, že by sa mohli na vzniku podieľať imunokomplexy ukladajúce sa v krvných cievach hlbších vrstiev kože a v septách tukového tkaniva a vyvolávať zápalovú odpoveď. Alebo by mohlo ísť o oneskorenú hypersenzitívnu reakciu IV. typu podľa Coombsa a Gella, alebo autoimunitné mechanizmy.

26-ročná žena bola prijatá na kliniku z dôvodu horúčky neznámej etiológie, sťažovala sa na bolesti hlavy, mala edém ľavého člena a vyrážky na dolných končatinách pripomínajúce erythema nodosum. Nemala žiadne respiračné ťažkosti, neuvádzala výskyt autoimunitných ochorení v rodine. Rtg hrudníka bolo negatívne. CT hrudníka, brucha a panvy negatívne. Laboratórne vyšetrenia nepoukázali na infekčný zdroj. Na piaty deň hospitalizácie sa u pacienty vyvinul mierne produktívny kašeľ. Sérologickými vyšetreniami sa zistila vysoká hladina *Mycoplasma pneumoniae* špecifických protilátok v triede IgM. U pacientky sa začalo s liečbou makrolidovými antibiotikami, už po 24 hodinách klesla horúčka a ustúpili bolesti hlavy. Opuch ľavého členka a erythema nodosum sa postupne zlepšovali v priebehu niekoľkých týždňov. Aj o niekoľko mesiacov neskôr bola pacientka afebrilná, bez epizód bolestivých kĺbov a bez erythema nodosum. Táto kazuistika bola získaná z publikácie Ali-Ahmed F, Halalau A. *Mycoplasma Pneumonia: An Unrecognized Cause of Fever of Unknown Origin in an Adult. Case Reports in Infectious Diseases* 2017; ID 6854913, 4 pp.

### Reumatická horúčka

15-ročný chlapec mal pred tromi týždňami horúčku, bolesti hrdla a mierne bolesti brucha. Infekcia horných dýchacích ciest bola preliečená antibiotikami ampicilín-sulbaktam v dĺžke 5 dní. Kvôli krvácaniu z nosa, ktoré pretrvávalo týždeň, bol

hospitalizovaný. Počas vyšetrení mal perzistentnú sínusovú tachykardiu, 124 úderov/min, zvýšenú telesnú teplotu 37,7° C, tlak krvi 110/40 mmHg. Auskultáciou srdca bol zistený pansystolický šelest vyžarujúci do ľavej axily a diastolický šelest počuteľný na pravej aj ľavej strane hrudnej kosti. Laboratórnymi vyšetreniami bola zistená nízka hladina hemoglobínu, leukocytóza, zvýšené ASLO 973 IU, zvýšené CRP 67 mg/l, zvýšená sedimentácia krvi 80 mm/hod. Na EKG bola zachytená sínusová tachykardia. Dopplerovou sonografiou sa zistila ťažká mitrálna insuficiencia, aortálna insuficiencia, výrazne zväčšená ľavá komora. Kultivačne krv, výter z hrdla a moč boli negatívne. Keďže pacient spĺňal Jonesove kritériá reumatickej horúčky, bola nasadená liečba kortikoidmi a dlhodobá penicilínová profylaktická liečba. Stav pacienta sa začal prudko zlepšovať, po 10 dňoch reaktanty akútnej fázy v norme, zlepšila sa systolická funkcia srdca. Po mesiaci bola hospitalizácia ukončená a pacient bol prepustený v dobrom zdravotnom stave, aj keď ešte pretrvával ľahký stupeň aortálnej a mitrálnej insuficiencie.

Medzi najobávanejšie komplikácie streptokokovej infekcie patrí reumatická horúčka a akútna poststreptokoková glomerulonefritída. Vyskytnúť sa môže aj reaktívna artritída a erythema nodosum. Novšie sa objavujú informácie aj o pediatrických autoimunitných neuropsychiatrických poruchách asociovaných so streptokokovou infekciou, ktoré súvisia s autoimunitným zápalom bazálnych ganglií. Pri poststreptokokových následkoch ide o imunopatologickú reakciu molekulové mimikry medzi epitopmi M-proteínu *Streptococcus pyogenes* a antigénmi štruktúr myokardu alebo bazálnej membrány glomerulov. Niektoré sérotypy sú navyše nefritogénne a reumatogénne. M-proteín navodí tvorbu protilátok, ktoré skrížene reagujú s vlastnými antigénmi, a teda pôsobia ako autoprotilátky. Navodí sa sterilný zápal v postihnutom tkanive. Akútna reumatická horúčka môže postihnúť akúkoľvek vrstvu srdca (perikard, myokard, endokard) v akútnej fáze a môže byť pre pacienta fatálna. V uvedenej kazuistike bola karditída hodnotená ako pankarditída so srdcovým zlyhávaním. Kazuistika pochádza z publikácie Arslan D, Guvenc O, Cimen D, Oran B. An Unusual presentation of acute rheumatic fever. Eur J Gen Med 2015; 12 (4): 358-360.

## REFERENCIE

Abraham T, McGarry DP, Frith J, Casselman J, Tcheurekdjian H, Hostoffer R. Pure Cold-Induced Cholinergic Urticaria in a Pediatric Patient. *Case Reports Immunol* 2016; ID 7425601, 2 pp.

Ali-Ahmed F, Halalau A. Mycoplasma Pneumonia: An Unrecognized Cause of Fever of Unknown Origin in an Adult. *Case Reports in Infectious Diseases* 2017; ID 6854913, 4 pp.

Andersen MH, Schrama D, Thor Straten P, Becker JC. Cytotoxic T Cells. *J Invest Dermatol* 2006; 126 (1): 32-41.

Arslan D, Guvenc O, Cimen D, Oran B. An Unusual presentation of acute rheumatic fever. *Eur J Gen Med* 2015; 12 (4): 358-360.

Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. Ganong's Review of Medical Physiology. 24th ed. New York: The McGraw Hill Companies; 2012. ISBN 978-0071780032.

Bartůňková J, Paulik M a kol. Vyšetřovací metody v imunologii. Praha: Grada publishing 2011; s. 164. ISBN 978-80-247-3533-7.

Basiglio CL, Arriaga SM, Pelusa F, Almará AM, Kapitulnik J, Mottino AD. Complement activation and disease: protective effects of hyperbilirubinaemia. *Clinical Science* 2009; 118 (2) 99-113.

Bell SC, Flume PA. Treatment decisions for MRSA in patients with cystic fibrosis (CF): when is enough, enough? *Thorax* 2017; 72 (4): 297-299.

Bellanti, JA (Ed). Immunology IV: Clinical Applications in Health and Disease. I Care Press, Bethesda, MD, 2012; 1063 pp. ISBN: 978-0-692-01160-7.

Bilková A, Kiňová Sepová H, Bilka F, Balážová A. Bakteriocíny produkované baktériami mliečneho kvasenia. *Čes Slov Farm* 2011; 60, 65-72.

Blum JS, Wearsch PA, Cresswell P. Pathways of Antigen Processing. *Annu Rev Immunol* 2013; 31: 443–473.

Borsutzky S, Cazac BB, Roes J, Guzmán CA. TGF-beta receptor signaling is critical for mucosal IgA responses. *J Immunol* 2004; 173 (5): 3305-9.

Boyce JA. Mast cells and eicosanoid mediators: a system of reciprocal paracrine and autocrine regulation. *Immunol Rev* 2007; 217:168.

- Buc M. Základná a klinická imunológia. Bratislava: VEDA vydavateľstvo SAV 2012; s. 831. ISBN 978-80-224-1235-3.
- Byrne AJ, Mathie SA, Gregory LG, Lloyd CM. Pulmonary macrophages: key players in the innate defence of the airways. *Thorax* 2015; 70: 1189-96.
- Cataldi M, Vigliotti C, Mosca T, Cammarota MR, Capone D. Emerging Role of the Spleen in the Pharmacokinetics of Monoclonal Antibodies, Nanoparticles and Exosomes. *Int J Mol Sci* 2017; 18(6): 1249.
- Costabile M. Measuring the 50% haemolytic complement (CH50) activity of serum. *J Vis Exp* 2010; 29: 37.
- Čižnár P. Primárne poruchy imunitného systému – ich diagnostika a liečba. *Via pract* 2006; 3 (3): 120-4.
- Dallos T, Jankó V, Mozolová D, Jakubíková J, Kovács L. Sérologická diagnostika postreptokokových následkov v pediatrickej praxi. *Pediatr prax* 2011; 12 (3): 94-98.
- Doan T, Melvold R, Viselli S, Waltenbaugh C. Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology. Second ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, Wolters Kluwer 2013; pp. 376. ISBN: 978-1-4511-0937-5.
- Fathman CG, Soares L, Chan SM, Utz PJ. An array of possibilities for the study of autoimmunity. *Nature* 2005; 435: 605-611.
- Fried AJ, Bonilla FA. Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Primary Antibody Deficiencies and Infections. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22 (3): 396-414.
- Garber K. Natural killer cells blaze into immuno-oncology. *Nat Biotechnol.* 2016; 34 (3): 219-220. Vivier E, Ugolini S. Regulatory natural killer cells: new players in the IL-10 anti-inflammatory response. *Cell Host Microbe* 2009; 6 (6): 493-495.
- Grays H. The Anatomical Basis of Clinical Practice, 40<sup>th</sup> ed. Spain: Elsevier; 2005. p. 75-6.
- Harding CV, Ramachandra L. Presenting exogenous antigen to T cells. *Curr Protoc Immunol* 2010; Chapter 16:Unit 16.2.
- Hoenderdos K, Lodge KM, Hirst RA, Chen C, Palazzo SGC, Emerenciana A, Summers C, Angyal A, Porter L, Juss JK, O'Callaghan C, Chilvers ER, Condliffe AM. Hypoxia upregulates neutrophil degranulation and potential for tissue injury. *Thorax* 2016; 71 (11): 1030-1038.
- Hořejší V, Bartuňková J, Brdička T, Špišek R. Základy imunologie (5. vyd.). Praha Triton 2013; s. 330. ISBN 978-80-7387-713-2.

- Hradiská A. Erythema nodosum u detí. *Pediatr prax* 2010; 11 (2): 65-66.
- Hwang JS, Choi HS, Ham SA, Yoo T, Lee WJ, Paek KS, Seo HG. Deacetylation-mediated interaction of SIRT1-HMGB1 improves survival in a mouse model of endotoxemia. *Sci Rep* 2015; 5: 15971.
- Janeway ChA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. *Immunobiology – the immune system in health and disease*, 6th edition. New York and London: Garland Science Taylor & Francis Group 2005; pp. 823. ISBN 0-8153-4101-6.
- Jeseňák M, Rennerová Z, Bánovčin P a kol. Recidivujúce infekcie dýchacích ciest a imunomodulácia u detí. Praha: Mladá fronta 2012; s. 631. ISBN 978-80-204-2618-5.
- Jurado-Palomo J, Caballero T. Pathophysiology of Bradykinin-Mediated Angioedema: The Role of the Complement System. In: Kartal SP, Kutlubay Z. *A Comprehensive Review of Urticaria and Angioedema*. InTech 2017; 248 pp. ISBN: 978-953-51-3168-7.
- Kapoor C, Vaidya S, Wadhwan V, Malik S. Lymph node metastasis: A bearing on prognosis in squamous cell carcinoma. *Indian J Cancer* 2015; 52 (3): 417-24.
- Klement C a spol. *Vybraná terminológia I*. Banská Bystrica: SZU Bratislava 2014; 220s. ISBN 978-80-89057-48-1.
- Kohler S, Thiel A. Life after the thymus: CD31<sup>+</sup> and CD31<sup>-</sup> human naive CD4<sup>+</sup> T-cell subsets. *Blood* 2009 113:769-774.
- Kompaníková J, Nováková E, Neuschlová M. *Mikrobiológia nielen pre medikov*. Žilina EDIS 2013; s. 209. ISBN 978-80-554-0827-9.
- Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology*. 8th ed. Elsevier Saunders 2013; pp.603. ISBN 978-1-4377-1781-5.
- Lee JW. Macrophage-derived microvesicles' pathogenic role in acute lung injury. *Thorax* 2016, 71 (11): 975-976.
- Litzman J a kol. *Základy vyšetření v klinické imunologii*. Brno: Masarykova Univerzita Lékařská fakulta 2011; s. 53. ISBN 978-80-210-4227-8.
- Modell V, Gee B, Lewis DB, Orange JS, Roifman CM, Routes JM, Sorensen RU, Notarangelo LD, Modell F. Global study of primary immunodeficiency diseases (PI)--diagnosis, treatment, and economic impact: an updated report from the Jeffrey Modell Foundation. *Immunol Res* 2011; 51: 61-70.



Morvan MG, Lanier LL. NK cells and cancer: you can teach innate cells new tricks. *Nat Rev Cancer* 2016; 16 (1): 7-19.

Muhlebach MS, Beckett V, Popowitch E, Miller MB, Baines A, Mayer-Hamblett N, Zemanick ET, Hoover WC, VanDalfsen JM, Campbell P, Goss CH, STAR-too study team. Microbiological efficacy of early MRSA treatment in cystic fibrosis in a randomised controlled trial. *Thorax* 2017; 72: 318-326.

Murárová Z, Šimaljaková M, Buchvald J. Urtikária. *Via pract* 2007; 4 (6): 279-283.

National Primary Immunodeficiency Resource Center (online). 2017. (cit. 2017-07-11) Dostupné na [www: <http://www.info4pi.org/library/educational-materials/10-warning-signs>](http://www.info4pi.org/library/educational-materials/10-warning-signs)

Neuschlová M, Péčová R, Nováková E. Imunopatologické mechanizmy pri bronchiálnej astme a úloha cytokínov. *Revue medicíny v praxi* 2011; 9 (1): 5-8.

Neuschlová M, Péčová R, Hajtman A, Hanzel P, Piecková Zacharová A, Nováková E. Faktory vzniku autoimunitných ochorení štítnej žľazy. *Klin Imunol Alergol* 2011; 2: 21-26.

Neuschlová M, Nováková E, Kompaníková J. Návody na praktické cvičenia z imunológie. Martin: Jesseniova lekárska fakulta UK, 2016; s. 114. ISBN: 978-80-8187-017-0. (dostupné na: <https://portal.jfmed.uniba.sk/clanky.php?aid=348>).

Neuschlová M, Nováková E, Kompaníková J. Abeceda imunológie – terminologický slovník. Martin: Jesseniova lekárska fakulta UK, 2016; s. 59. ISBN: 978-80-8187-016-3. (dostupné na: <https://portal.jfmed.uniba.sk/clanky.php?aid=344>).

O'Neill DW, Adams S, Bhardwaj N. Manipulating dendritic cell biology for the active immunotherapy of cancer. *Blood* 2004 104:2235-2246.

Pesenacker AM1, Broady R, Levings MK. Control of tissue-localized immune responses by human regulatory T cells. *Eur J Immunol* 2015; 45 (2): 333-343.

Pillai S, Cariappa A. The follicular versus marginal zone B lymphocyte cell fate decision. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 767–777.

Reda SM, El-Ghoneimy DH, Afifi HM. Clinical predictors of primary immunodeficiency diseases in children. *Allergy Asthma Immunol Res* 2013; 5 (2): 88-95.

Resnick ES, Cunningham-Rundles C. Různé podoby klinického obrazu běžného variabilního imunodeficitu. *Curr Opin Allergy Clin Immunol/CS* 2013; 10: 1-7.

Scandella E, Bolinger B, Lattmann E, Miller S, Favre S, Littman DR, Finke D, Luther SA, Junt T, Ludewig B. Restoration of lymphoid organ integrity through the interaction of

lymphoid tissue-inducer cells with stroma of the T cell zone. *Nat Immunol* 2008; 9 (6): 667-675.

Shimasaki N, Coustan-Smith E, Kamiya T, Campana D. Expanded and armed natural killer cells for cancer treatment. *Cytotherapy*. 2016; 18 (11): 1422-1434.

Smith KA. The structure of IL2 bound to the three chains of the IL2 receptor and how signaling occurs. *Med Immunol* 2006; 5: 3.

Staples KJ. Lung macrophages: old hands required rather than new blood? *Thorax* 2016; 71 (11): 973-974.

Souza-Fonseca-Guimaraes F. NK Cell-based Immunotherapies: Awakening the Innate Anti-cancer Response. *Discov Med* 21 (115), 197-203.

Suresh R, Mosser DM. Pattern recognition receptors in innate immunity, host defense, and immunopathology. *Adv Physiol Educ* 2013; 37 (4): 284-291.

Tang FSM, Hansbro PM, Burgess JK, Ammit AJ, Baines KJ, Oliver BG. A novel immunomodulatory function of neutrophils on rhinovirus-activated monocytes in vitro. *Thorax* 2016; 71 (11): 1039-1049.

Thompson MR, Kaminski JJ, Kurt-Jones EA, Fitzgerald KA. Pattern Recognition Receptors and the Innate Immune Response to Viral Infection. *Viruses* 2011; 3 (6): 920–940.

Torabi B, Ben-Shoshan M. The association of cholinergic and cold-induced urticaria: diagnosis and management. *BMJ Case Rep* 2015; doi: 10.1136/bcr-2014-205258.

Vivier E, Raulet DH, Moretta A, Caligiuri MA, Zitvogel L, Lanier LL. Innate or Adaptive Immunity? The Example of Natural Killer Cells. *Science* 2011; 331 (6013): 44-49.

Williams AE, Chambers RC. Neutrophils and tissue damage: is hypoxia the key to excessive degranulation? *Thorax* 2016; 71 (11): 977-978.

Wood P. Understanding immunology. 2nd edition. Harlow: Pearson Education Limited. 2006; pp. 315. ISBN: 978-0-13-196845-5.

Zeleník K, Komínek P. Prejavy vrodených porúch imunity v ORL oblasti. *Pediatr praxi* 2013; 14 (1): 18-20.

**Zoznam internetových odkazov**

<https://healtheappointments.com/chapter-2-antigens-and-receptors-essays/>

<http://mastcellaware.com/mast-cells/mast-cells-illustrated.html>

[http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Cell And Molecular Immunology2-Innate Humoral And Cell Mediated Immunity.htm](http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Cell%20And%20Molecular%20Immunology2-Innate%20Humoral%20And%20Cell%20Mediated%20Immunity.htm)

<https://sites.google.com/site/glasgowunimedical/home/immunology/immune-signals?tmpl=%2Fsystem%2Fapp%2Ftemplates%2Fprint%2F&showPrintDialog=1>

[http://sphweb.bumc.bu.edu/otlt/MPH-Modules/PH/Ph709\\_Defenses/PH709\\_Defenses3.html](http://sphweb.bumc.bu.edu/otlt/MPH-Modules/PH/Ph709_Defenses/PH709_Defenses3.html)

<http://study.com/academy/lesson/what-is-igd-definition-function.html>

<http://vzacni.cz/bezna-variabilni-imunodeficiencie/>

<http://www.bloodjournal.org/content/113/4/769?sso-checked=true>

<https://www.britannica.com/science/lymphoid-tissue>

<https://www.cancer.gov/images/cdr/live/CDR755927-750.jpg>

<http://www.ciaa.sk/clanky/imunitny-system>

<http://www.hcdm.org>

<http://www.info4pi.org/library/educational-materials/10-warning-signs>

<http://www.mdpi.com/1422-0067/18/6/1249>

[https://www.researchgate.net/figure/278695533\\_fig4\\_Figure-7-7-Antibody-mediated-immunity-and-cell-mediated-immunity-In-antibody-mediated](https://www.researchgate.net/figure/278695533_fig4_Figure-7-7-Antibody-mediated-immunity-and-cell-mediated-immunity-In-antibody-mediated)

<https://www.medgadget.com/2017/04/global-cytokines-market-type-manufacturers-regions-revenue-industry-analysis-and-forecast-to-2022.html>

<http://www.sinobiological.com/Cytokines-information-cytokine.html>

<https://www.youtube.com/watch?v=MI-BLaj5nFk>

## REGISTER

### A

ADCC, 132  
afinita, 51  
agranulocyty, 35  
aktivácia B-lymfocytov, 126  
aktivácia komplementu  
    alternatívnou cestou, 72  
    klasickou cestou, 69  
    lektínovou cestou, 71  
aktivácia T-lymfocytov, 116  
alarmíny, 64  
alergická reakcia, 148  
alogénne, 52  
alotyp, 97  
anergia, 119  
antigén, 51  
antigén prezentujúce bunky, 38, 41  
antigénnosť, 53  
antigénny determinant, 51  
antigénový receptor B-lymfocytov, 112  
antigény  
    endogénne, 101  
    exogénne, 101  
    koloidné, 52  
    korpuskulárne, 51  
    sekvestrované, 167  
    T-nezávislé (independentné), 127  
    T-závislé (dependentné), 128  
apoptóza, 65  
Arthusova reakcia, 150  
autoimunitná reakcia, 162  
autokrinne, 74  
autológne, 52  
autoprotílátky, 163  
    blokujúce, 149  
    stimulačné, 149  
autoreaktivita, 163  
autotolerancia, 17  
avidita, 51

### B

B-1 línia, 111  
B-2 línia, 111  
bazofilné granulocyty, 39  
bazofily, 39  
BCR, 57  
blotovacie techniky, 172  
B-lymfocyty, 35, 45, 48, 110  
bradykinín, 90

### C

C3-konvertáza, 70  
C5-konvertáza, 70  
CD znak, 48, 49  
CR, 56  
CRP (C reaktívny proteín), 75  
cytokín IL-12, 120  
cytokín IL-17, 121  
cytokín IL-2, 120  
cytokín IL-4, 120  
cytokíny, 74  
cytotoxické, 48

### D

DAMP, 64  
DC, 42  
    intersticiálne, 42  
    týmusové, 42  
    vmedzerené, 42  
    závojnaté, 42  
defenzíny, 73  
dendritové bunky, 40  
    folikulárne, 43  
    myeloidné, 43  
    plazmacytoidné, 43  
DNáza, 22, 73  
domény  
    konštantné, 94  
    variabilné, 94

dozrievanie afinity, 113  
ductus lymphaticus dexter, 33  
ductus thoracicus, 33  
dysmikróbia, 23

## E

EDTA, 169  
efektorové bunky, 45  
ELISPOT, 170  
endokrinne, 74  
eozinofilné granulocyty, 38  
eozinofily, 38  
epitop, 51  
eumikróbia, 23

## F

fagocytárna aktivita, 170  
fagocytárny index, 170  
fagocytóza, 78  
fagolyzozóm, 83  
fagozóm, 83  
FcR, 56  
fragmenty imunoglobulínov, 94  
fyziologická mikroflóra, 23

## G

germinálne centrá, 130  
glykoproteín C3, 68  
glykoproteíny, 93  
granulárne leukocyty, 37  
granulocyty, 37  
granulómy, 151  
granuly, 38, 39  
    acidofilné, 80  
    primárne (azurofilné), 79  
    sekundárne (špecifické), 79  
granzýmy, 123

## H

haptény, 53  
hematopoéza, 35  
hemokoagulačný systém, 90  
hemolytická choroba novorodencov, 149

heparín, 169  
histiocyty, 41  
HLA, 100  
horúčka, 87  
hostiteľ, 16  
hypersenzitivita  
    I. typu (včasná hypersenzitivita), 148  
    II. typu (cytotoxická), 149  
    III. typu (imunokomplexová), 150  
    IV. typu (oneskorená), 151  
hypersenzitívne reakcie, 146  
hypersenzitívnej pneumonitíde, 151  
hypertermia, 88

## Ch

chemické bariéry, 22  
chemiluminiscencie, 170  
chemokíny, 75  
chemotaxia, 82  
chemotaxíny, 82  
chylus, 32

## I

idiotop, 97  
idiotyp, 97  
idiotypová sieť, 98  
imunita  
    celulárna, 44  
    humorálna, 45  
imunita, 15  
imunitná odpoveď, 15  
imunitný dohľad, 17  
imunitný systém, 15  
imunoanalytické metódy, 172  
imunodeficity  
    primárne, 154  
        bunkové a kombinované, 155  
        deficit fagocytózy, 156  
        deficit komplementu, 157  
        protilátkové, 155  
    sekundárne, 157  
imunofluorescenčné techniky, 171  
imunogenicita, 53

imunogénnosť, 53  
imunogény, 53  
imunoglobulín IgA, 96  
imunoglobulín IgD, 97  
imunoglobulín IgE, 97  
imunoglobulín IgG, 95  
imunoglobulín IgM, 95  
imunoglobulíny, 93  
imunokomplexy, 95  
imunológia, 15  
imunologická pamäť, 58, 132  
imunologická synapsa, 119  
imunologicky privilegované miesta, 167  
ingescia, 83  
INT test, 170  
interferóny, 74  
interleukíny, 75  
izotypový prešmyk, 114  
izotypy imunoglobulínov, 95

## K

K bunky, 48  
KAR, 55  
katelicidín, 22  
KIR, 55  
klonálna anergia, 136  
klonálna delícia, 137  
klonálna ignorancia, 137  
komplement, 68  
komplement fixačné reakcie, 171  
komplex CD3, 119  
kontaktná dermatitída, 151  
koreceptor, 119  
kostimulačný signál, 119  
kožná tuberkulínová reakcia, 151  
kožné testy, 170  
krížová prezentácia, 103  
krížové reakcie, 165  
kryptoepitopy, 167  
Kupfferove bunky, 41

## L

Langerhansove bunky, 42

ligand, 51  
lymfa, 32  
lymfatické uzliny, 31  
lymfatický cirkulačný systém, 32  
lymfocyty, 43  
lymfoidná línia, 37  
lymfoidná prekursorová bunka, 111  
lymfoidné orgány  
    primárne, 28  
    sekundárne, 30  
lymfoidné tkanivo  
    slizničné, 32  
lyzozým, 73

## M

MAC, 68  
makrofágy, 41  
MALT, 32  
manózu viažuci proteín, 71  
mastné kyseliny, 22  
mastocyty, 39, 40  
MBP (MBL), 71  
mechanické bariéry, 20  
membránový útočný komplex, 68  
MHC, 99  
MHC I. triedy, 100  
MHC II. triedy, 101  
MHC III. triedy, 101  
mikrobicídne pôsobiace látky, 22  
mikrofágy, 38  
mikroglie, 41  
molekulárne vzory patogénov, 55  
molekulové mimikry, 166  
monocyty, 35, 40, 48  
mononukleárne bunky, 37  
myeloidná línia, 36

## N

NBT test, 170  
neoantigény, 167  
neutralizácia, 132  
neutrofilné granulocyty, 38  
neutrofily, 38, 48



NK bunky, 35, 46, 48  
NKT bunky, 47  
NO syntáza, 84  
nosič, 53  
nTreg-lymfocyty, 45

## O

opsoníny, 65  
opsonizácia, 83  
orosomukoid, 76  
osteoklasty, 41  
oxid dusnatý (NO), 84

## P

pamäť, 93  
pamäťové bunky, 45  
PAMP, 55  
parakrinne, 74  
patogén, 16  
perforíny, 123  
plazmatické bunky, 46, 48  
plazmocyty, 45  
pMHC I. triedy, 118  
pMHC II. triedy, 117  
polymorfonukleárne leukocyty, 37  
pravidlo ôsmich, 119  
pre-B bunka, 111  
prekursor T helperov, 120  
preladenie tried, 130  
prezentácia antigénu  
    pomocou MHC I. triedy, 118  
    pomocou MHC II. triedy, 116  
prietoková cytometria, 170  
priming, 120  
pro-B bunka, 111  
profesionálne fagocyty, 38, 41  
prokalcitonín, 76  
proteíny akútnej fázy, 75  
prothymocyt, 107  
protilátková odpoveď  
    primárna, 129  
    sekundárna, 130  
protilátky, 93

PRR, 55  
pseudopódie, 83  
pyrogény  
    endogénne, 88  
    exogénne, 87  
pyrogény, 87

## R

receptor, 51  
receptory, 40  
    manózový r., 65  
    preformované (hotové) r., 54  
    r. FcR, 56  
    r. na B bunkách, 57  
    r. na T bunkách, 57  
    r. pre komplement, 56  
    scavenger r., 65  
    somaticky generované r., 57  
    vzor rozpoznávajúce r., 55  
redudancia, 64  
relatívne riziko (RR), 168  
reťazce imunoglobulínov  
    ľahké, 94  
    ťažké, 94  
RNáza, 22  
rolling, 78  
rozetové testy, 170  
rozšírenie epitopu, 166

## S

sérologické reakcie, 171  
sérová choroba, 150  
slezina, 30  
strata supresie, 166  
supresia, 137  
syngénne, 52  
systémový lupus erythematosus, 150

## Š

špecificita, 93

## T

Tc-lymfocyty, 45

- TCR, 57
- TCR typu  $\alpha\beta$ , 108
- TCR typu  $\gamma\delta$ , 109
- testy blastickej transformácie, 170
- Th0 bunky, 120
- Th1 bunky, 120
- Th1 vs. Th2, 121
- Th1/Th2 paradigma, 137
- Th17 bunky, 121
- Th2 bunky, 120
- Th-lymfocyty, 45
- thymocyt
  - kortikálny, 107
  - medulárny, 107
- tkanivové makrofágy, 40
- TLR, 55
- T-lymfocyty, 35, 44, 48, 107
  - CD4+, 117
  - CD8+, 118
  - cytotoxické Tc, 44
  - pomocné Th, 44
  - prirodzene regulačné nTreg, 44
- tolerancia
  - centrálna, 136
  - periférna, 136
- tolerogény, 53
- V
- včasná hypersenzitivita, 148
- vrodená imunita, 24
- X
- xenogénne, 52
- Z
- zápal, 88
- získaná imunita, 25
- Ž
- žírne bunky, 39

### Vylúčenie zodpovednosti

Autori čerpali pri príprave učebnice zo zdrojov dostupných do roku 2017. Vedomosti obsiahnuté v predložennom diele zodpovedajú aktuálnemu stavu poznatkov v dobe prípravy učebnice. Keďže výskum napreduje, pri obrovskom náraste nových informácií, pribudnú aj nové poznatky v imunológii. Z týchto dôvodov sa vylučujú akékoľvek nároky na úhradu či už priamych alebo nepriamych škôd.

Autorky: MUDr. Martina Neuschlová, PhD., doc. MUDr. Elena Nováková, PhD.,  
MUDr. Jana Kompaníková, PhD.

Názov: **Imunológia – ako pracuje imunitný systém**

Vydavateľ: Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Vydanie: prvé

Počet strán: 189

**ISBN 978-80-8187-031-6**

EAN 9788081870316

© M. Neuschlová, E. Nováková, J. Kompaníková, 2017