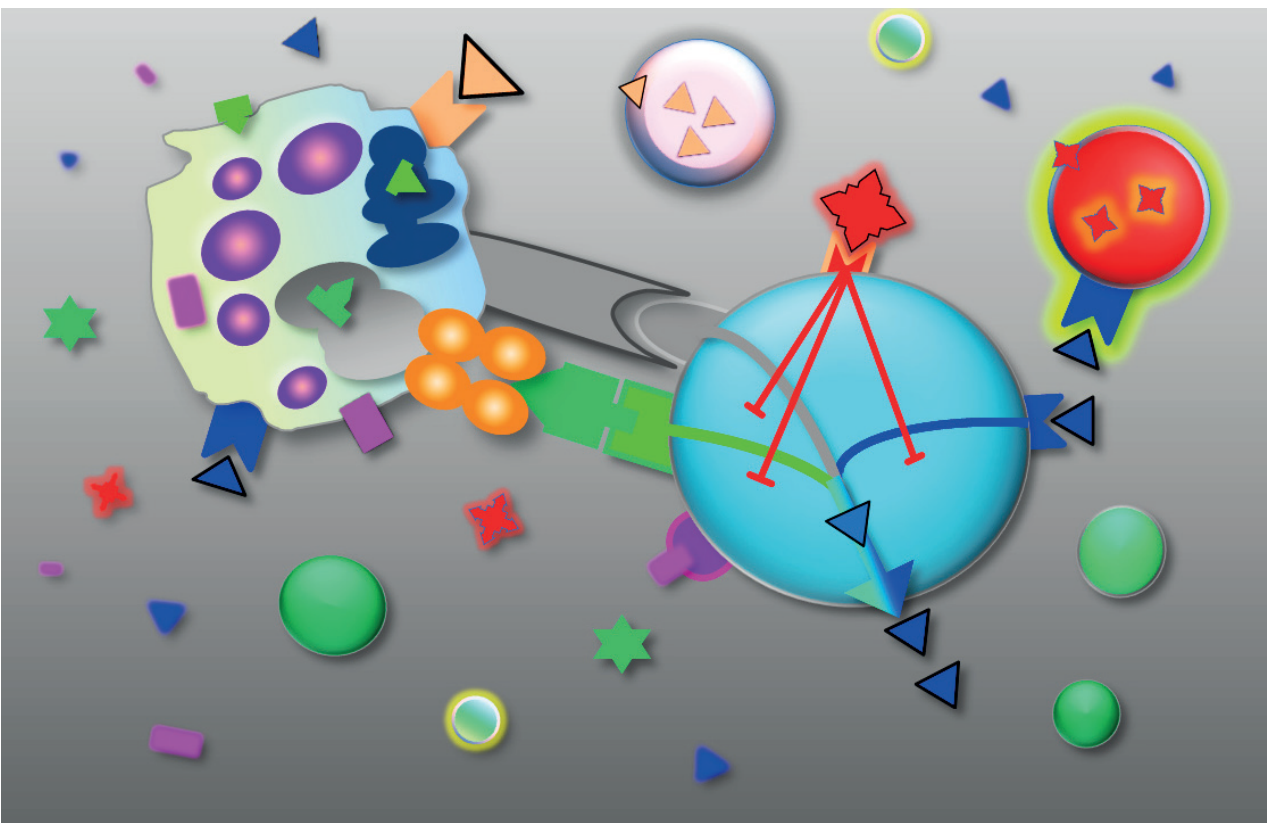


Petr Jílek

Imunologie

stručně, jasně, přehledně



Petr Jílek

Imunologie

stručně, jasně, přehledně

Tato publikace autora PharmDr. Petra Jílka, CSc., je 4., přepracovaným a doplněným vydáním knihy s původním názvem *ZÁKLADY IMUNOLOGIE*.

Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

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

PharmDr. Petr Jílek, CSc.

IMUNOLOGIE

stručně, jasně, přehledně

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

Recenze:

Prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Doc. Ing. Bc. Igor Šplíchal, CSc.

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

TIRÁŽ TIŠTĚNÉ PUBLIKACE

© Grada Publishing, a.s., 2014

Cover Design © Grada Publishing, a.s., 2014

Obrázek na obálce: PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Ilustrace v knize: PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 5457. publikaci

Odpovědná redaktorka Mgr. Olga Kopalová

Sazba a zlom Josef Pavlík

Počet stran 96

Čtvrté vydání, v Grada Publishing první, Praha 2014

Výtiskly Tiskárny Havlíčkův Brod, a. s.

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

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

ISBN 978-80-247-4822-1

ELEKTRONICKÉ PUBLIKACE:

ISBN 978-80-247-7792-4 ve formátu PDF

Obsah

Místo úvodu	10
Literatura rozšiřující tento text	10
Jak se v knížce orientovat	10
1 Struktura imunitního systému	11
1.1 Imunitní systém se podílí na udržení vnitřního prostředí	11
1.2 Buňky imunitního systému vznikají v kostní dřeni	11
Kmenové buňky zachraňují život	11
Růstové faktory v terapii	12
1.3 Dozrávání krvinek podporují růstové faktory	12
1.4 Buňky imunitního systému putují tělem se zastávkami v lymfoidních orgánech	13
1.5 Lymfatické orgány obsahují výkonné a podpůrné buňky	13
Fabriciova burza	13
Thymové hormony	13
Levamisol – lék dvou tváří	13
Povrchové znaky imunocytů umožňují jejich identifikaci	14
Dobrá znalost vývojových stadií buněk má význam v diagnóze některých chorob	14
1.6 Primární lymfatické orgány slouží k dozrávání buněk	14
1.7 Sekundární lymfatické orgány jsou místem spolupráce imunocytů	15
Imunocyty se nacházejí ve tkáních, v krevních a mízních cévách i v lymfoidních orgánech	15
2 Přirozená imunita zajišťovaná buňkami	17
2.1 Fagocytóza	17
Přehled buněk monocyto-makrofágové linie	17
Příklady chemotaxinů	17
Od octomilky k člověku	18
Testování aktivity fagocytujících buněk	19
Fagocyty světélkují	20
Jak funguje systém rychlého varování PAMP – DAMP – NALP	20
Proč se kočka ze všeho vylíže	21
Defenziny – naše vlastní antibiotika	22
2.1.1 Cytokiny neutrofilů a makrofágů	23
Milníky imunologie	23
2.1.2 Neutrofilové pasti – netóza	24
3 Komplementový systém	25
3.1 Cesty aktivace komplementu	25
3.1.1 Klasická cesta aktivace komplementu	25
Selhávání imunity kvůli různým variantám téhož genu	25
Poruchy komplementu	26
3.1.2 Lektinová cesta aktivace komplementu	26

3.1.3	Alternativní cesta aktivace komplementu	26
3.1.4	Poškození buněčné membrány komplementem	26
	Od vrby k nejnovějším lékům	28
3.1.5	Další biologické účinky komplementu	28
3.2	Zánět je soubor obranných dějů	28
	Na zánět kdekoli v těle reagují játra zvýšenou tvorbou některých bílkovin	29
	CRP pomáhá v diagnóze i terapii	29
4	Antigeny	31
	Cizorodost nebo škodlivost?	31
	I malé rozdíly mezi antigenními determinantami protilátky rozeznají	32
4.1	Antigenní determinanta	32
4.2	Hapteny	33
	Falešní dvojníci antigenů pomáhají mikrobům i nemocným	33
5	Molekuly hlavního histokompatibilního systému	35
5.1	Molekuly HLA se dělí do dvou tříd a mají mnoho strukturních variant	35
	Význam variability HLA molekul	35
	Identifikace genů pro molekuly HLA	36
5.2	Geny pro molekuly HLA jsou multialelické	36
5.3	Imunologická individualita jedince je vyjádřena skladbou HLA molekul	36
5.4	Molekuly HLA mají doménovou strukturu	37
	Dědičnost molekul HLA a výběr dárců kmenových buněk shodných genotypů	37
	Stavba molekul HLA	38
5.5	Biologické funkce molekul HLA	38
5.5.1	Molekuly HLA I. třídy jsou na všech jaderných buňkách a prezentují vzorky bílkovin v nich vytvořených	39
5.5.2	Molekuly HLA II. třídy jsou na buňkách předkládajících cizí antigeny	39
	Výběr partnera a molekuly HLA	39
5.5.3	Molekuly HLA k sobě poutají molekuly CD4 a CD8	40
6	Molekuly rozeznávající antigen	41
6.1	Protilátky jsou známy již přes sto let	41
6.2	Protilátky jsou globulární bílkoviny	41
	Typy interakcí, které se uplatňují při vzniku vazby mezi antigenní determinantou a vazebným místem protilátky	41
6.3	Imunoglobuliny se dělí do 5 tříd	43
	Vlastnosti tříd imunoglobulinů	43
	Monoklonální protilátky	44
6.4	Jeden lymfocyt tvoří protilátky s identickými vazebnými místy	44
6.5	Molekuly protilátek jsou nesmírně variabilní	45
	Protilátky šité na míru (I.)	45
	I protilátka může být antigenem	47

	Místo antigenů poslouží i jejich obrazy	48
	Protilátky šité na míru (II.)	48
6.6	Vazebné místo protilátky váže antigenní determinantu nekovalentními vazbami	48
7	Imunologická tolerance	49
7.1	Lymfocyty T se učí toleranci v thymu, lymfocyty B v kostní dřeni	49
	Toleranci se učíme už před narozením	49
	Perorální tolerance	50
7.2	Tolerance vzniká i na periferii	50
7.3	Porucha imunologické tolerance je příčinou některých chorob	51
	Buňky, které brzdí	51
8	Protilátková odpověď	53
8.1	Tvorbu protilátek zajišťují lymfocyty B	53
8.2	V těle neustále vznikají buňky schopné rozeznat antigen	53
	Protilátky jsou nenahraditelným diagnostickým nástrojem v mnoha medicínských oborech	53
	ELISA není jenom ženské jméno	54
8.3	K aktivaci lymfocytu B jsou nutné dva signály	54
8.4	Izotypový přesmyk zajišťuje vznik protilátek různých tříd	55
8.5	Součástí protilátkové odpovědi je zmnožení efektorových buněk a vznik buněk paměťových	55
	Biologické role protilátek	56
8.6	Sekundární protilátková odpověď je silnější než odpověď primární	56
	Antigeny, které vyvolají protilátkovou odpověď bez lymfocytů T, špatně imunizují	57
9	Imunitní děje vykonávané lymfocyty T	59
9.1	Ústředními elementy specifické buněčné imunity jsou lymfocyty T	59
9.2	Lymfocyty T reagují s antigeny, které jsou jim předloženy ve žlábkách molekul HLA	59
	Příklady některých CD znaků	59
	Průtoková cytometrie umožňuje určování povrchových znaků buněk	60
9.3	Cytotoxické lymfocyty T chrání organismus před rozvojem virových infekcí a nádorů	61
9.4	Pomocné lymfocyty T podporují imunitní děje pomocí cytokinů	61
	Vztahy mezi T _H buňkami výrazně ovlivňují zdraví a nemoc	61
	Paměť imunity a mozku	62
9.5	Pomocné lymfocyty T se dělí do více skupin	62
9.6	Různé skupiny lymfocytů podporují odlišné imunitní děje	63
	Jak odlišit T _H 1 a T _H 2 buňky?	63
	Smrt pro život	64
10	Způsoby spolupráce buněk imunitního systému	65
10.1	Buňky imunitního systému komunikují prostřednictvím signálních molekul a jejich receptorů	65

10.2	Schopnost vázat signální molekuly je dána afinitou receptoru	65
10.3	Signál z obsazeného receptoru se přenáší do jádra a tam se přepisují geny	65
	Přehled vybraných cytokinů	65
	Výskyt receptorů pro signální molekuly na buňce není konstantní, ale odráží stav její aktivity	66
10.4	Mezibuněčné interakce zajišťují kontaktní molekuly	67
	Cytokiny jsou využívány v terapii	67
	„Anticytokiny“ v terapii	68
	Příklady léčebného použití anticytokinů	68
10.5	Pomocí cytokinů se buňky ovlivňují na větší vzdálenost	68
11	Obrana těla před mikroby	71
11.1	Průniku mikrobů do těla brání bariéry	71
11.2	Přirozená mikrobiota chrání naše tělo	71
	Přirozená mikrobiota chrání a pomáhá	71
	Stres a imunita	72
11.3	Imunologické bariéry	72
	11.3.1 Lysozym poškozuje grampozitivní bakterie	72
	11.3.2 Imunoglobulin A je účinnou obranou tělesných povrchů	73
11.4	Imunologická obrana sliznice	73
	Očkování dnes a zítra	73
	DNA vakcíny	73
11.5	Lymfoidní tkáň všech sliznic tvoří kooperující systém	75
12	Obrana před vlastními buňkami, které jsou pro tělo nebezpečné	77
12.1	Nádorové a virem infikované buňky prezentují specifické antigeny a mohou být rozpoznány cytotoxickými lymfocyty T	77
	I slizniční imunitu lze povzbudit	77
12.2	NK buňky rozeznávají nádory podle složení jejich buněčných povrchů, podle absence HLA molekul nebo pomocí protilátek	78
12.3	Abnormální buňky jsou zabíjeny několika způsoby	79
	12.3.1 Perforiny proděraví membrány terčové buňky	79
	12.3.2 Granzymy podporují účinek perforinů	79
	Jak se měří buněčná cytotoxicita	79
	Apoptóza je buněčná sebevražda	80
	12.3.3 Cytotoxické buňky vyvolávají apoptózu buněk terčových	80
	12.3.4 Imunitní systém chrání tělo před nádory	80
	Mechanismy cytotoxických reakcí	81
	Pro lepší aktivaci se buňky stěhují na čas mimo tělo	82
13	Imunopatologické reakce	83
13.1	Imunopatologická reakce I. typu – atopická	83
13.2	Atopie je schopnost neadekvátní reakce na běžný podnět s vyšší tvorbou IgE	83
	Je výskyt alergií podmíněn dědičností?	83

Čistota je skutečně jen půl zdraví	84
13.2.1 Vyšší tvorbu IgE podporují lymfocyty T _{H2}	84
13.2.2 Klinické projevy alergie způsobují produkty žírných buněk	85
13.2.3 Histamin působí na cévy, bronchy a sliznice	86
13.2.4 Žírné buňky tvoří metabolity kyseliny arachidonové	86
13.3 Reakce II. typu – cytotoxická	86
13.4 Reakce III. typu – imunokomplexová	87
Transplantace – co znamená, když se řekne	88
13.5 Reakce IV. typu – pozdní přecitlivělost	88
13.5.1 Kontaktní dermatitida	88
13.6 Transplantační reakce	89
13.7 Imunopatologická reakce V. typu	90
Rejstřík	91
Souhrn/Summary	96

Literatura rozšiřující tento text

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

Krejsek, J., Kopecký, O.: Klinická imunologie. Hradec Králové : Nucleus 2004, 941 s.

- Základní učebnice pro zdravotníky je kniha:

Hořejší, V., Bartůňková, J.: Základy imunologie. 4. vydání. Praha : Triton 2009, 316 s.

Jak se v knížce orientovat

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

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

Na konci knihy najdete rejstřík nejčastěji používaných odborných pojmů s odkazem na místa v textu, kde lze daný výraz najít a z kontextu mu lépe porozumět.

Místo úvodu

Vážený kolegové, milí přátelé,

dostáváte do rukou čtvrté, přepracované vydání textu, jenž by měl být vašim průvodcem základy současné imunologie.

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

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

Vzhledem k tomu, že předchází tři vydání této stručné učebnice byla přijímána vděčně jak studenty pregraduálního studia, tak i řadou kolegů z praxe, rozhodli jsme se text i obrázky inovovat dle současných poznatků. Zachováváme osvědčený styl umožňující jak soustavné studium, tak i občasné nahlédnutí.

Hradec Králové, zima 2014



1 Struktura imunitního systému

1.1 Imunitní systém se podílí na udržení vnitřního prostředí

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

1.2 Buňky imunitního systému vznikají v kostní dřeni

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

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

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

Kmenové buňky zachraňují život

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

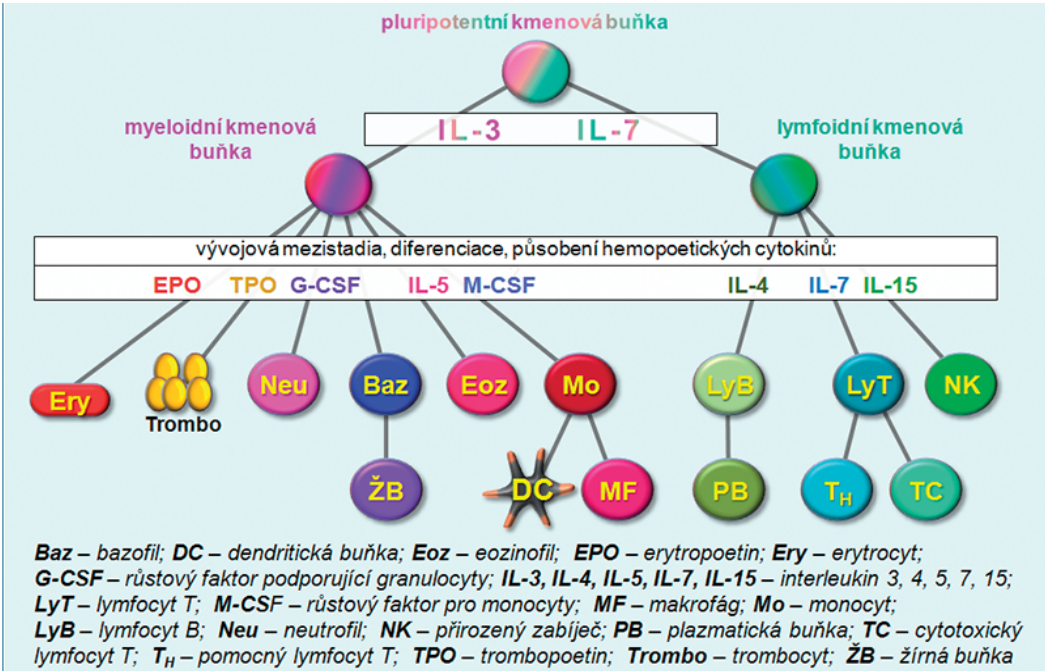
Kmenové buňky jsou základem transplantace kostní dřene. Ta se provádí u nemocných, jejichž kostní dřeň nezajišťuje dostatek imunocytů kvůli vrozené vadě anebo (častěji) kvůli poškození při onemocnění leukemií či v důsledku velmi intenzivní léčby nádorů.

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

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

Někdy (pokud lze) je dárce sám pacient v době před nasazením terapie ničící spolu s nádorem i krevtvorbu, jindy je nutno najít vhodného dárce, buď mezi příbuznými, nebo mezi dobrovolníky sdruženými v registrech dárců.

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



Obr. 1.1 Vývoj imunocytů a dalších krevních elementů

1.3 Dozrávání krvinek podporují růstové faktory

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

Růstové faktory v terapii

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

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

Tyto látky se používají v terapii.

Tab. 1.1 Základní hematologie imunocytů krve

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

1.4 Buňky imunitního systému putují tělem se zastávkami v lymfoidních orgánech

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

- rozptýlenost** – volné buňky prostupují v podstatě celý organismus;
- pohyb** – většina buněk během svého života putuje organismem, zdrží se v určité lokalitě, aby potom cestovala jinam. Vedle pohybu ve smyslu změny místa prodělává každá buňka pohyb ve smyslu vlastního vývoje. Jednotlivé imunocyty jsou schopny samostatné existence, ale jejich plné uplatnění spočívá v součinnosti s buňkami ostatními.

1.5 Lymfatické orgány obsahují výkonné a podpůrné buňky

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

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

Fabriciova burza

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

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

Thymové hormony

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

Levamisol – lék dvou tvář

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

Aby předešli ztrátám myši kvůli nákaze parazitickými červy, kteří se v té době ve viváriu objevili, podávali chovatelé myším běžný protiparazitární lék – levamisol.

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

Povrchové znaky imunocytů umožňují jejich identifikaci

Klasická hematologie určuje krevní elementy morfologicky. Identifikace buněk včetně stupně jejich diferenciace je velice dobře propracovaná, přesto však v dnešní době nestačí. Proto imunologové začali využívat k přesnějšímu určení buněk jejich povrchových (cytoplazmatických) znaků. Pod pojmem znak si můžeme představit určitou bílkovinu, která plní některou, pro buňku důležitou, funkci. Dnes je jen u leukocytů charakterizováno už více než 300 povrchových buněčných bílkovin, které jsou zahrnuty do tzv. CD (Cluster Designation) nomenklatury. CD znaky jsou postupně číslovány. K identifikaci CD molekul slouží převážně monoklonální protilátky, pomocí nichž lze znaky na jednotlivých buňkách identifikovat.

Dobrá znalost vývojových stadií buněk má význam v diagnostice některých chorob

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

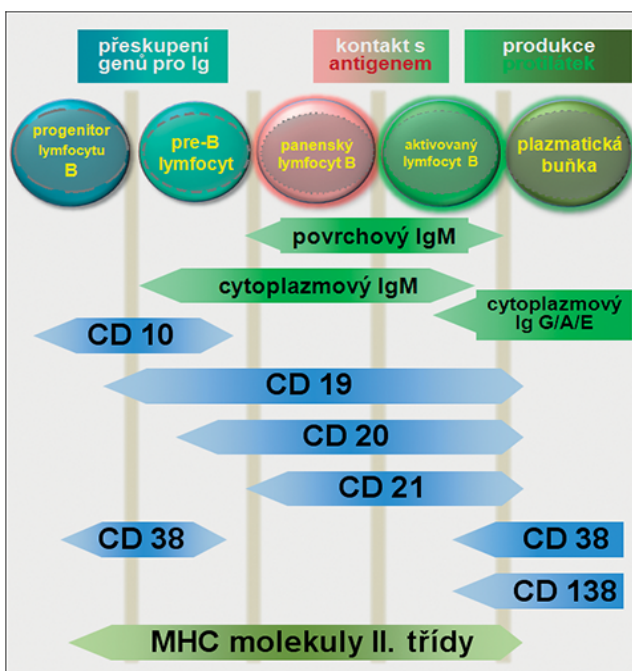
V posledních letech se uplatňuje i charakterizace buněk podle typických **povrchových** či cytoplazmatických bílkovin – **znaků**. Výskyt určitých znaků je charakteristický pro jistou dobu vývoje buňky.

Některé znaky má buňka během krátkého vývojového období, jiné znaky nese poměrně dlouho. Dnes není problém určovat znaky i na velkém počtu leukocytů nebo buněk kostní dřeně pomocí průtokové cytometrie. Více v kapitole 9.2.

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

1.6 Primární lymfatické orgány slouží k dozrávání buněk

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



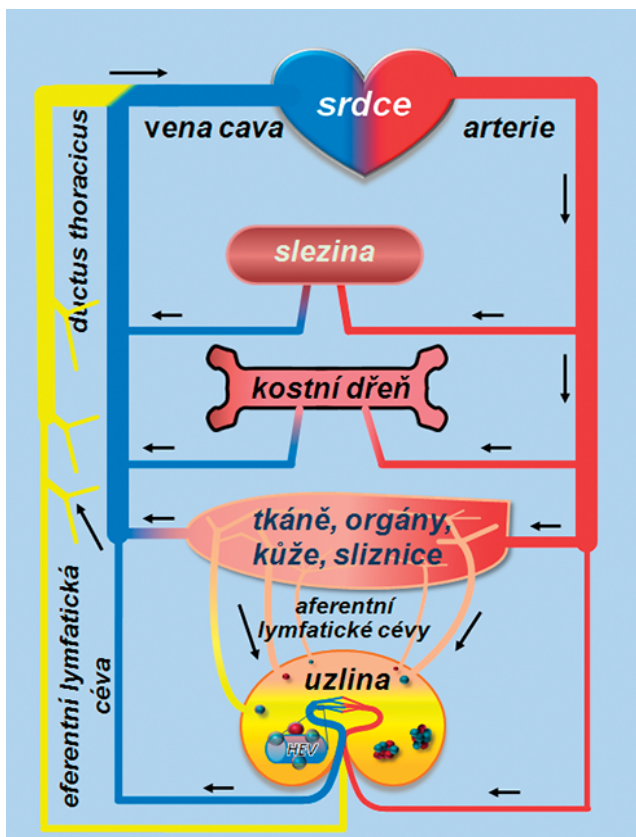
Obr. 1.2 Vývoj lymfocytů B a výskyt znaků během jednotlivých stadií

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

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

1.7 Sekundární lymfatické orgány jsou místem spolupráce imunocytů

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



Obr. 1.3 Pohyb imunocytů v těle

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

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

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

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

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

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

Mizovody se spojují v **hrudní mizovod**, který ústí do přítoků **dolní duté žíly**. Krví se buňka vydá na další pouť.

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

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

2 Přirozená imunita zajišťovaná buňkami

2.1 Fagocytóza

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

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

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

a) Směřovaný pohyb k místu zásahu

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

Přehled buněk monocyto-makrofágové linie

buňka (b.)	lokalizace
monocyt	krev
Kupfferova b.	játra
mesangiální b.	ledviny
alveolární MF	plice
serózní MF	mesotelové povrchy
mikroglie	mozek
osteoklast	kost
sinové MF	slézina, lymf. uzlina
dendritická b.	lymf. tkáň
Langerhansova b.	kůže

MF – makrofág

Příklady chemotaxinů

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

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

Od octomilky k člověku

Mušky octomilky (*Drosophila melanogaster*) umožnily v minulém století díky svým dobře pozorovatelným chromozomům obrovský pokrok genetiky. Nedávno se jméno těchto mušek začalo objevovat i v imunologické literatuře.

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

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

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

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

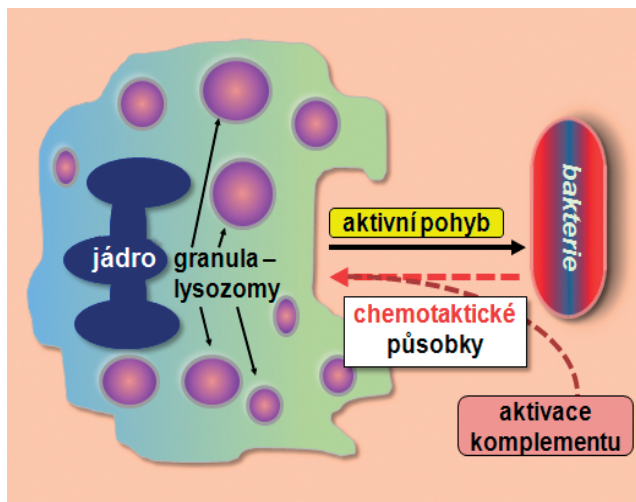
Složky mikrobiálních těl rozeznávané TLR patří mezi tzv. struktury (vzory) asociované s patogenitou – **PAMP** (někdy taky **MAMP**). Díky těmto strukturám buňky přirozené imunity (fagocyty) dokážou identifikovat nebezpečné mikroorganismy a rychle s nimi začít bojovat.

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

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

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

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



Obr. 2.1 Fáze fagocytózy: 1. usměrněný pohyb [chemotaxe] k cizorodému materiálu

b) Aktivace buňky a přilnutí k antigenu (adheze)

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

V poslední době byly nalezeny další významné mechanismy, které umožní rozeznat nebezpečné mikroby a aktivovat fagocytózu. Jde o skupinu receptorů (např. typu **Toll**, viz poznámka vedle) na fagocytech (i na dalších buňkách imunitního systému), které rozeznají typické součásti mikrobiálních buněk, jako je např. lipopolysacharid gramnegativních bakterií, kyselina teichoová grampozitivů, peptidoglykan nebo dokonce určité polysloupnosti bází DNA (CpG) typické pro bakterie.

Tab. 2.1 Některé receptory (PRR) rozeznávající typické mikrobiální struktury (PAMP-MAMP) nebo signály z poškozených vlastních tkání (DAMP)

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

Dalším aktivačním impulzem fagocytózy (a posléze zánětu) jsou látky z vlastních tkání, např. šokové bílkoviny (HSP) nebo ATP, které upozorňují na napadení/poškození vlastních buněk. Hovoříme o signálech nebezpečí nebo poškození, **danger/damage signals** (DAMP). Látky uvolněné z poškozených vlastních buněk se rovněž nazývají alarminy a jsou silnými induktory zánětu. Přítomnost DAMP/alarminů je patrně silnějším impulsem pro rozvoj zánětu než výskyt PAMP bez známek poškození těla.

V tabulce je přehled některých „patogeny rozeznávajících receptorů“ (PRR), které rozeznávají typické vzory nebezpečných mikrobů nebo molekuly uvolňované z jimi poškozených buněk. Uvedena jsou i léčiva, která působí prostřednictvím uvedených receptorů imunostimulačně.

Testování aktivity fagocytujících buněk

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

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

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

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

Baktericidní potenciál fagocytů lze hodnotit i podle schopnosti **respiračního vzplanutí**, což je popsáno v následující poznámce.