

5. Vrodené imunitné mechanizmy

I. Prehľad

Ak mikroorganizmy preniknú prvou líniou obrany – mechanickými, chemickými a biologickými bariérami – vrodené imunitné mechanizmy poskytnú druhú líniu obrany (je ale prvou imunologickou bariérou) pred infekciou. Pretože ich súčasti sú vždy aktivované **alebo takmer aktivované, reakcie vrodených imunitných mechanizmov nastupujú rýchlejšie** ako reakcie získaných imunitných mechanizmov, ktoré tvoria 3. líniu obrany (2. imunologickú líniu obrany). Keď je do obrany zapojený systém získaných imunitných mechanizmov, obidva systémy (vrodené aj získané mechanizmy) spolupracujú a navzájom koordinujú svoje aktivity. Kvôli rýchlej odpovedi sú súčasťou vrodeného imunitného systému geneticky naprogramované na rozpoznanie molekúl súvisiacich so širokým spektrom patogénov. Vrodené imunitné mechanizmy zahŕňajú rýchlu deštrukciu infekčných agensov, aktiváciu fagocytujúcich buniek a lokalizovanú protektívnu odpoveď známu ako **zápal**. Pri zápale sú vrodené nešpecifické (a niekedy aj po styku s antigénom diferencované a vytvorené) bunky a molekuly stimulované k tomu, aby izolovali a zničili infekčné agensy a spustili reparačné mechanizmy tkaniva.

II. Rozpoznanie

Vrodené imunitné systémy využívajú určitý počet tzv. **pattern recognition receptors – PRR – vzory rozpoznávajúce receptory (receptory pre antigény patogéna)** na rozpoznanie **s patogénom súvisiacich molekulárnych vzorov – PAMP – pathogen recognition molecular patterns**, čo sú štrukturálne charakteristiky mikroorganizmov, ale nie hostiteľa (Obr. 2.5). Na rozdiel od epitopovo špecifických (somaticky vytvorených) receptorov získaného imunitného systému na B a T lymfocytoch, gény kódujúce PRR sú lokalizované v genóme a nevyžadujú ďalšiu modifikáciu. Pretože hostiteľ neprodukuje PAMP, sú vrodené imunitné mechanizmy schopné jednoducho rozlíšiť vlastné štruktúry od cudzích.

A. **PAMP – pathogen associated molecular patterns – s patogénom súvisiace molekulárne vzory – (antigény patogéna)**

Vrodené imunitné mechanizmy odlišujú infekčné mikroorganizmy od neinfekčných vlastných buniek rozpoznaním určitého počtu molekulárnych štruktúr prítomných len na mikrobiálnych agensoch. PAMP môžu byť cukry, proteíny, lipidy, nukleové kyseliny alebo kombinácia týchto molekúl. PRR receptory na fagocytujúcich bunkách rozpoznávajú PAMP - antigény patogéna - buď priamo alebo nepriamo prostredníctvom PRR na povrchu buniek alebo rozpustných - voľných molekúl, ktoré stimulujú mikroorganizmus pred ich kontaktom s bunkovým receptorom (napr., komplement a receptory pre komplement, ďalej v tejto kapitole). PAMP-PRR väzba imobilizuje infekčný organizmus a môže to viesť k jeho ingescii fagocytmi. Naviac zaangažovanie PRR často vedie k aktivácii hostiteľskej bunky, čo vedie k zmene jej funkcií a zvyšuje jej sekréciu antimikrobiálnych substancií (Obr. 5.1).

Dva časté bakteriálne produkty, ktoré obsahujú PAMP sú lipopolysacharid a peptidoglykán. Bakteriálny **lipopolysacharid (LPS)** je hlavnou súčasťou vonkajšej časti bunkovej steny Gram-negatívnych baktérií. Molekuly povrchu bunky na monocytoch, makrofágoch, dendritických bunkách, mastocytoch a bunkách črevného epitelu obsahujú TLR4 – toll-like receptors 4 (tabuľka 2.2) a ďalšie povrchové molekuly, ktoré viažu LPS.

Peptidoglykány sú hlavnou súčasťou bunkovej steny Gram-pozitívnych baktérií a sú rozpoznávané TLR2 receptormi na hostiteľových fagocytytujúcich bunkách (Obr. 5.2). **Peptidoglykán** je tiež prítomný v menšej miere a trochu odlišnej forme v Gram negatívnych baktériách. Ako následok zaangažovania receptora, sú mikroorganizmy pohltené a degradované, makrofágy sú aktivované a produkujú sa cytokíny, čoho následkom je zápal (Časť IV A).

B. PRR – pattern recognition receptor – receptor rozpoznávajúci vzor

PRR sú rozdelené do kategórií popísaných ďalej a sú prítomné ako extracelulárne proteíny alebo ako proteíny viazané na membrány fagocytytujúcich buniek prítomných v krvi. Počas procesu rozpoznávania PAMP môžu byť súčasne zapojené viaceré receptory sprostredkujúce pohltenie, aktivujúce zabitie mikroorganizmu a navodzujúce produkciu zápalových cytokínov a chemokínov.

1. Toll-like receptory (TLR)

sprostredkujú rozpoznanie rôznych patogénov. Po väzbe PAMP na ne, prenos signálu z TLR do jadra vedie k zväšenej aktivácii génov kódujúcich produkciu cytokínov a iných molekúl zahrnutých do antimikrobiálnej aktivity bunky. Následkom je syntéza a sekrécia cytokínov, ktoré stimulujú zápal a nahromadenie leukocytov v mieste infekcie.

2. Odstaňovacie (odpadkové) receptory

viažu modifikované lipoproteíny nízkej hustoty, niektoré polysacharidy a niektoré nukleové kyseliny. Zúčastňujú sa pohltenia baktérií a fagocytózy hostiteľských buniek podstupujúcich apoptózu. Mechanizmy, ktoré s tým súvisia sú predmetom súčasných výskumov.

3. Oponíny

Sú molekuly, ktoré sa naviažu na povrch mikroorganizmu a tým ho urobia prítiažlivejším pre fagocytytujúce bunky, a tak uľahčujú deštrukciu mikroorganizmu. Oponíny sa viažu na povrch mikroorganizmu. Receptory pre oponíny sú prítomné na fagocytytujúcich bunkách a následná zosilnená deštrukcia mikroorganizmu fagocytytmi sa nazýva opsonizácia

C. Markery (známky) abnormality vlastných štruktúr

Mechanizmus úniku, ktorý niekedy využívajú mikroorganizmy na zabránenie svojho rozpoznania imunitným systémom je na oklamanie hostiteľských buniek. Niektoré vírusy spôsobia to, že infikovaná hostiteľská bunka zníži expresiu molekúl MHC I, čo je dôležité kvôli správnej funkcii získaných imunitných mechanizmov (Kapitola 7 a 10). Podobné zmeny sa niekedy vyskytujú v bunkách prechádzajúcich karcinomatóznou transformáciou. Hostiteľské bunky, ktoré sa stávajú abnormálne ako následok takýchto udalostí môžu upozorniť imunitný systém na zmenenú situáciu vyjadrením molekúl na ich povrchu, ktoré pôsobia ako stresové signály. U ľudí sú to molekuly tepelného šoku a dve molekuly známe ako MICA a MICB (Obr. 5.3). Tieto stresové signály sú detekované rôznymi receptormi vrátane niektorých receptorov TLR (napr. TLR2 a TLR4., Tabuľka 2.2) a zabíjače aktivujúce receptory (KAR) prirodzene zabíjajúcich (NK) buniek (Sekcia IV:B)

III. Humorálne (rozpustné) obranné mechanizmy

Okrem aktivít celých buniek, zamestnávajú vrodene imunitné mechanizmy aj rozpustné molekuly ako výzbroj na ochranu pred vírusovou infekciou, na lytickú deštrukciu

mikroorganizmov alebo na zosilnenie citlivosti mikroorganizmov pohltenie fagocytujúcich buniek.

A. Interferony typu I

Interferóny typu I sú produkované podskupinou dendritických buniek (**IFN-alfa**), ani leukocyty, ale napr. fibroblastami (**IFN-beta**) a inými bunkami ako následok vírusovej infekcie (Obr. 5.4) IFN alfa a beta sú rýchlo produkované, v priebehu 5 minút, bunkami, keď vírusové PAMP spolupracujú s niektorými PRR. Len veľmi málo sa vie o ceste prenosu signálu zodpovedného za expresiu a sekréciu INF alfa a beta. Secernované interferóny typu I navodia taký stav vírusom infikovaných aj neinfikovaných buniek, ktorý aktivuje mnohé antivírusové obranné reakcie vrátane RNA dependentnej protein kinázy a apoptotickej (programovanej smrti) cesty. Navyše IFN alfa a beta ovplyvňujú aktivity makrofágov a dendritických buniek.

B. Mikrobicídne molekuly

Množstvo buniek vrátane epiteliálnych buniek, neutrofilov a makrofágov v koži a sliznicih secerujú na cysteín bohaté peptidy nazývané **defenzíny**. Tieto peptidy tvoria kanály v bunkovej membráne baktérií, ktoré spôsobujú influx (vstup) niektorých iónov a eventuálne bakteriálnu smrť. Iné molekuly s mikrobicídnymi funkciami zahŕňajú katelicidín, lysozým, Dnázy, Rnázy a iné, o ktorých sa hovorí v kapitole 3.

C. Komplement

Komplement je kolektívny termín systému enzýmov a proteínov, ktoré účinkujú v procese vrodenej aj získanej vetvy imunitných mechanizmov ako rozpustné spôsoby ochrany proti patogénom, ktoré unikajú bunkovému kontaktu. Série cirkulujúcich a regulačných proteínov povrchových vlastných buniek kontrolujú komplementový systém. V systéme vrodenej imunity môže byť komplement aktivovaný 2 spôsobmi: **alternatívnou cestou**, pri ktorej je antigén rozpoznávaný na základe jedinečných charakteristík na svojom povrchu alebo prostredníctvom **mannan binding lectín pathway – cestou mannan viažúceho lektínu**. Komplement môže byť aktivovaný aj v systéme získanej imunity prostredníctvom klasickej cesty, ktorý začína komplexom antigénu a protilátky (ktorý je popísaný v nasledujúcich kapitolách) (Obr. 5.5) Bez ohľadu na cestu aktivácie, funkciou komplementu je lýza baktérií, buniek a vírusov., podpora fagocytózy (opsonizácia), spustenie zápalu a sekrécia imunoregulačných molekúl., a očistenie cirkulácie od imunokomplexov.

Názvoslovie komplementu

- Súčasti C1 až C9, B, D a P sú prirodzené súčasti (proteíny) komplementu.
- Fragmenty natívnych súčastí komplementu sú označené malým písmenom (C4a, C5b, Bb). Menšie fragmenty sa označujú písmenom „a“, väčšie fragmenty písmenom „b“.
- Horizontálna čiara nad súčasťou alebo komplexom komplementu naznačuje enzymatickú aktivitu anpe. C4bC2b.

1. Alternatívna cesta

Je spustená súčasťami bunkových povrchov, ktoré sú rozpoznané ako cudzie pre hostiteľskú bunku, takými sú napr. LPS (Obr. 5.6). Množstvo enzýmov (napr. kalikreín, plazmín, elastáza) rozkladá C3 súčasť sérového komplementu, ktorý sa nachádza v najvýznamnejšom množstve (1300 mg/l), do viacerých malých fragmentov. Jedným z nich prirodzene prítomný, krátko prežívajúci a nestabilný C3b fragment je najvýznamnejším **opsoninom** komplementového systému a viaže sa na receptory na bunkových povrchoch (Obr. 5.7).

1. C3b viaže **Faktor B**
2. Faktor B v komplese je rozdelený Faktorom D a vytvorí sa C3bBb, nestabilná **C3 konvertáza**
3. Dva proteíny, C3b inaktívator (I) a beta 1H globulín (H), fungujú ako dôležité negatívny regulátory, vytvárajúce neaktívnu formu C3b, čím sa predíde nadmernému zosilneniu aktivácie alternatívnej cesty.
4. Tiež, C3bBb viaže **properdín (Faktor P)**, čím sa vytvorí stabilizovaná C3 konvertáza, C3bBbP.
5. Ďalšie C3b fragmenty sa pripoja ku komplexu a vytvorí C3bBbP3b, čo je C5 konvertáza. **C5 konvertáza** rozkladá C5 na C5a a C5b
6. C5b sa napojí na bunkovú membránu a čo vedie k vytvoreniu **MAC membrane attack complex - membránu napádajúcemu komplexu** a lýze bunky.

2. Terminálna alebo lytická cesta

Je možné do nej vstúpiť z alternatívnej, MBL aj klasickej cesty aktivácie komplementu. Naviazanie C5b na bakteriálne membrány spustí tvorbu MAC a lýzu bunky (Obr.5.8). Vňzba C5b vedie k pripojeniu súčastí C6, C7 a C8. C8 poskytuje silné zakotvenie do membrány a chráni následné pripojenie viacerých C9 molekúl, po čom sa vytvorí póry v membráne. Strata integrity membrány má za následok neregulovaný tok elektrolytov a spôsobuje lytickú smrť bunky (Obr. 5.9).

3. MBL cesta – manan viažúci lectin.

Lektíny sú proteíny, ktoré sa viažu na špecifické uhľovodíky (karbohydráty). Táto cesta je aktivovaná väzbou **MBL** na mannózu obsahujúce zbytky glukoproteínov niektorých mikroorganizmov (napr. *Listéria*, *Salmonella*, *Candida albicans*). MBL je proteín akútnej fázy, jedným zo série sérových proteínov, ktorých hladiny môžu stúpnuť rýchlo ako odpoveď na infekciu, zápal alebo inú formu záťaže. MBL, raz naviazaný na vhodný manózu obsahujúci zvyšok môže spolupracovať s **MBL aktivovanou serínovou proteázou**. Aktivácia MASP vedie k následnej aktivácii súčastí C2, C4 a C3 (Obr. 5.10)

4. Anafylatoxíny.

Malé fragmenty (C3a, C4a, C5a) vytvorené rozdelením C3 a C5 pri alternatívnej a C3, C4 a C5 pri MBL ceste zohrávajú úlohu anafylatoxínov. **Anafylatoxíny** priťahujú a aktivujú rôzne typy leukocytov (Tabuľka 5.1). Priťahujú ďalšie bunky do miesta infekcie čím pomáhajú eliminovať mikroorganizmy. C5a má najsilnejší efekt, za ním nasledujú C3a a C4a.

D. Cytokíny a chemokíny

Cytokíny sú vyrábané a secernované leukocytmi a inými bunkami a sú zahrnuté v systéme vrodenej imunity, získanej imunity a zápalu (Tabuľka 5.2). Cytokíny účinkujú antigén

nešpecifickým spôsobom a sú zahrnuté vo veľkom spektre biologických aktivít od chemotaxie na aktiváciu špecifických buniek po indukciu širokého spektra fyziologických zmien. Chemokíny sú podskupinou cytokínov s nízkou molekulovou hmotnosťou a jedinečnými štrukturálnymi vzormi, ktoré sú zahrnuté do chemotaxie (chemicky indukované migrácie) leukocytov. Úlohou špecifických cytokínov a chemokínov sú popísané v kontexte imunitných odpovedí pri ktorých sa zúčastňujú (Obr. IV.A v tejto kapitole).

IV. Celulárne (bunkové) obranné mechanizmy

Okrem rozpustným (humorálnym) imunitným mechanizmom, zamestnáva vrodenný imunitný systém bunkové mechanizmy na boj proti infekcii. Receptory, ktoré rozpoznávajú ligandy patogénov spôsobujú zápal a deštrukciu mikroorganizmov fagocytmi. Okrem toho NK bunky zaznamenávajú a zničia hostiteľské bunky, ktoré boli infikované, poškodené alebo transformované. Ďalej budeme hovoriť o každej z týchto bunkových nástrojov.

A. Fagocytóza

Fagocytóza je pohltie a degradácia mikroorganizmov a ostatných korpuskulárnych častí bunkami akými sú makrofágy, dendritické bunky, neutrofile a dokonca B lymfocyty (Pred ich aktiváciou). Tieto bunky sú časťou čistiaceho mechanizmu tela. Nielen že chránia organizmus ingesciou mikroorganizmov, ale tiež odstraňujú zvyšky buniek a častíc, ktoré vznikajú pri fyziologických procesoch.

Fagocytóza zahŕňa receptory bunkového povrchu súvisiace so špecializovanými oblasťami plazmatickej membrány nazývanými **klatrinom obalené vchĺpeniny (vnorené časti)**. Dendritické bunky používajú aj ďalší mechanizmus na označenie veľkého množstva rozpustných molekúl, proces známy ako **makropinocytóza**. Tento proces nezahŕňa klatrin. Namiesto toho plazmatická membrána vytvára spätné záhyby membrány, ktoré pohltia extracelulárnu tekutinu do veľkých intracelulárnych vezikúl.

1. Rozpoznanie a prichytenie mikroorganizmov fagocytózou : Fagocytóza je započatá vtedy, keď sa fagocytujúca bunka naviaže na bunku alebo molekulu, ktorá prenikla telesnými bariérami. Väzba sa uskutočňuje na rôzne receptory na povrchu fagocytov (Obr. 5.11). Tieto zahŕňajú PRR (vrátane TLR), ktoré rozpoznávajú molekuly súvisiace s mikroorganizmami, **receptory komplementu (CR)**, ktoré rozpoznávajú určité fragmenty komplementu (predovšetkým C3b, ktoré adherujú na mikrobiálne povrchy, Fc receptory, ktoré rozpoznávajú imunoglobulíny, ktoré sa naviazali na mikrobiálne povrchy alebo iné častice (diskutované v Kapitole 11), receptory pre zvyšky a iné.

2. Ingescia mikroorganizmov a iných materiálov: Po naviazaní sa na bunkovú membránu je mikroorganizmus alebo cudzie teleso pohltené časťami cytoplazmy a bunkovej steny, ktoré sa nazývajú **pseudopódiá (panôžky)** a sú vsunuté do bunky **endocytózou** alebo internalizáciou (Obr. 5.12). Okrem fagocytózy môžu dendritické bunky vysunúť časti plazmatickej membrány a obkolesia veľké množstvo extracelulárnej tekutiny a vytvoria cytoplazmatické vezikuly nezávisle od väzby na bunkový povrch. Keď je baktéria už raz vo vnútri, je zachytená vo **fagocytujúcich vakuolách (fagozómoch)** alebo cytoplazmatických vezikulách v cytoplazme. Väzba a ingescia mikroorganizmu spustí zmeny vo fagocyte. Zväčšuje veľkosť, stáva sa agresívnejším pri vyhľadávaní ďalších molekúl, ktoré by sa naviazali a boli by pohltené a zvyšuje sa produkcia niektorých molekúl. Niektoré tieto molekuly prispievajú k deštrukcii pohltých mikroorganizmov, iné účinkujú ako chemotaktické agensy a aktivátory ďalších leukocytov.

3. Deštrukcia pohltých mikroorganizmov a iných materiálov: Fagozómy, organely viazané na membránu obsahujúce pohltý mikroorganizmus alebo materiál, sa spoja s lyzozómom a vytvoria **fagolyzozóm**. Lyzozómy zamestnávajú viaceré mechanizmy na zabitie a degradáciu pohltého materiálu. Tieto mechanizmy sú:

- lyzozomálne kyslé hydrolázy, vrátane proteáz a nukleáz
- viaceré kyslíkové radikály vrátane superoxidové radikály (O_2^-), hypochloridový ión ($HOCl^-$), peroxid vodíka (H_2O_2), hydroxylové radikály, ktoré sú vysoko toxické pre mikroorganizmy. Kombinované aktivity týchto molekúl zahŕňajú obdobie zvýšeného príjmu kyslíka známe ako **oxidatívne vzplanutie** (Obr. 5.13).

- oxid dusnatý (NO)
- znížené pH
- ostatné mikrobicídne molekuly.

4. Sekrécia cytokínov a chemokínov: Po aktivácii secernujú fagocyty cytokíny a chemokíny, ktoré priťahujú a aktivujú ostatné bunky zahrnuté v systéme vrodenej imunity (Tabuľka 5-2). Cytokíny alebo chemické poslíčky akými sú **interleukín-1 (IL-1)** a **interleukín-6 (IL-6)** indukujú produkciu proteínov, ktoré vedú k vzostupu telesnej teploty. Ostatné cytokíny akými sú **tumor necrosis faktor alfa (TNF alfa)**, zvyšujú permeabilitu miestneho vaskulárneho epitelu, čím zvýšia jeho permeabilitu a umožnia pohyb buniek a rozpustných (humorálnych) molekúl, z vaskulatúry do tkanív. A ďalej, také ako interleukín-8 (IL-8) a interleukín 12 (IL-12), priťahujú a aktivujú leukocyty napr. neutrofily a NK bunky.

B. Prirodzené zabíjače a ich funkcia

NK bunky zaznamenávajú zmenené bunky tela a nasmerujú ich na deštrukciu (Obr. 5.14). NK bunky obsahujú KAR – killer activation receptors – zabíjače aktivujúce receptory, ktoré rozpoznávajú stresové molekuly, vrátane MICA a MICB u ľudí, ktoré sa objavujú na povrchu infikovaných a transformovaných hostiteľských bunkách. Naviazanie KAR na MICA a MICB vytvárajú signál zabíjania. Predtým ako dôjde k zabitiu cieľovej bunky, NK bunky použijú KIR – killer inhibition receptors – zabíjače inhibujúce receptory- na zaznamenanie molekúl MHC I na povrchu cieľovej bunky. Vyjadrenie týchto molekúl je často znížené niektorými vírusmi alebo zhubnými procesmi. Ak sa vyskytne nedostatočná úroveň väzby KIR - MHC I, NK bunky zabijú cieľovú hostiteľskú bunku. Dostatočná väzba receptorov KIR premôže KAR vrahedný signál a hostiteľskej bunke bude umožnené prežiť.

V. Zápal

Súčasti vrodenných aj získaných mechanizmov môžu odpovedať na niektoré antigény na spustenie procesu známeho ako zápal. Hlavnými známkami zápalu sú **bolesť** (dolor), **teplo** (calor), **začervenanie** (rubor), **opuch** (tumor) a **strata funkcie** (functio laesa). Rozšírené kapiláry, ktoré sú následkom vazodilatácie spôsobujú začervenanie (**erytém**) a zvýšenú teplotu tkanív. Zvýšená permeabilita kapilár dovoľuje únik tekutiny a buniek a prispieva k opuchu (oedém). Fagocytujúce bunky pritiahnuté do miesta uvoľňujú lytické enzýmy, poškodzujúce zdravé bunky. Akumulácia mŕtvych buniek a tekutina vytvárajú hnis, zatiaľ čo mediátory uvoľnené fagocytujúcimi bunkami stimulujú nervy a spôsobujú bolesť. Mechanizmy vrodenej imunity prispievajú k zápalu aktiváciou komplementu alternatívnou alebo lecitín viažucou cestou, priťahovaním a aktiváciou fagocytujúcich buniek, ktoré secernujú cytokíny a chemokíny, aktiváciou NK buniek, zmenou vaskulárnej permeability a zvýšením telesnej teploty (Obr. 5.15 a Tabuľka 5.2). Získané imunitné mechanizmy tiež zohrávajú úlohu pri vzniku zápalu a budú vysvetlené v kapitole 11

Súhrn

- Vrodené imunitné mechanizmy poskytujú rýchly počiatkový spôsob obrany pred infekciou za použitia geneticky naprogramovaných receptorov, ktoré rozpoznávajú štrukturálne charakteristiky mikroorganizmov, ktoré sa nenájdu u hostiteľa.
- **PRR – vzor rozpoznávajúce receptory** na alebo vo **fagocytytujúcich bunkách** sa viažu na **PAMP – molekulárne vzory súvisiace s patogénom**. PAMP pre mikroorganizmy špecifické, stále, proteíny, lipidy a/alebo nukleové kyseliny
- Bežné bakteriálne štruktúry, ktoré obsahujú **PAMP**, sú napr. **lipopolysacharidy a peptidoglykány**
- **PRR** viažúce sa na **PAMP** majú za následok fagocytózu a enzymatickú degradáciu infekčného mikroorganizmu. PRR zapojenie môže viesť k aktivácii hostiteľskej bunky a jej sekrécii antimikrobiálnych substancií.
- **Toll-like receptory (TLR)** –sú PRR, ktoré viažu špecifické PAMP. Táto väzba signalizuje syntézu a sekréciu cytokínov, čo podporí zápal a vyplavenie leukocytov do miesta infekcie.
- **Receptory odpadov** sú PRR, ktoré sú zapojené do internalizácii baktérií a do fagocytózy hostiteľských buniek podstupujúcich apoptózu
- **Opsoníny** sa viažu na mikroorganizmy a uľahčujú ich fagocytózu
- Infikujúce alebo transformované hostiteľské bunky vytvoria na svojom povrchu **stresové molekuly** a niekedy **znižia expresiu MHC I**
- Stresové molekuly sú rozpoznané **KIR – zabíjače aktivujúce receptory** - na NK bunkách. **KIR – zabíjače inhibujúce receptory** - na NK bunkách hodnotia MHC I molekuly na cieľových bunkách.
- Rozpusťné obranné molekuly – (humorálna vrodenná imunita) – **zahŕňajú interferóny typu I, defenzíny, komplement a cytokíny**.
- **Komplement** je systém enzýmov a proteínov, ktoré fungujú u vrodenej pri vrodenných aj získaných imunitných mechanizmoch. Pri vrodenných imunitných mechanizmoch sa aktivuje komplementový systém **alternatívnou cestou** alebo **MBL (manan viažúci lektín) cestou**.
- **Fagocytóza**, priamy mechanizmus boja proti infekcii, je pohltie a degradácia mikroorganizmov fagocytytujúcimi bunkami, ktoré secernujú cytokíny a chemokíny pri priťahovaní a aktivácii iných buniek vrodenných imunitných mechanizmov. Oxidatívne vzplanutie produkujúce viaceré vysoko reaktívne kyslíkové metabolity, a séria degradačných enzýmov sú dôležitým prostriedkom, na zničenie pohltých mikroorganizmov.
- Vrodené imunitné mechanizmy prispievajú k zápalu aktiváciou komplementovej kaskády, priťahnutím a aktiváciou fagocytytujúcich buniek, ktoré secernujú cytokíny a chemokíny, aktiváciou NK buniek, zmenou vaskulárnej permeability a vzostupom telesnej teploty.
- Kardinalnými znakmi zápalu sú **bolesť, teplo, začervenanie, opuch a strata funkcie** (*dolor, calor, rubor, tumor, functio laesa*)

5.1 PAMP – PRR zapojenie aktivuje fagocytov. Naviazanie PAMP na povrchy mikroorganizmov prostredníctvom PRR na povrch fagocytov aktivizuje fagocyty k pohlteniu a degradácii mikroorganizmu

5.2 Štruktúra lipopolysacharidu a peptidoglykán. Hlavné bakteriálne PAMP sa nachádzajú v lipopolysacharidoch (uhl'ovodíky + lipidy) Gram-negatívnych baktérií a peptidoglykáne (uhl'ovodíky + proteíny) u Gram-negatívnych a Gram-pozitívnych baktérií.

5.3 Infekcia buniek môže viesť k povrchovej expresii stresových molekúl. Ako odpoveď na vírusovú infekciu, hostiteľské bunky môžu exprimovať stresové molekuly akými sú MICA a MICB na povrchu infikovanej bunky a môžu tiež redukovať povrchovú expresiu MHC I molekuly. Tieto povrchové zmeny môžu byť zaznamenané NK bunkami, ktoré vyhľadávajú a eliminujú vírusom infikované bunky.

5.4 Odpoveď interferonu typu 1 na vniknutie intracelulárnych mikroorganizmov. Niektoré bunky odpovedajú na infekciu produkciou a sekréciou interferónov typu 1, ktoré signalizujú okolitým bunkám, aby aktivovali svoje antimikrobiálne obranné procesy.

5.5 Tri cesty aktivácie komplementu vedú k tvorbe MAC – membrane attack complex – komplex napádajúci membránu.

5.6 Alternatívna cesta aktivácie komplementu. Začína väzbou C3b na mikrobiálny povrch., táto cesta má za následok zosilnenú produkciu C3b a tvorbu C5 konvertázy

5.7 Viacnásobná funkcia fragmentu C3b

5.8 Terminálny alebo MAC komplementovej kaskády. Vytvára póry na povrchu mikroorganizmov, na ktorý je naviazaný, čo spôsobí lytickú smrť týchto mikroorganizmov.

5.9 Inzercia komponentov MAC do bunkovej membrány. Vytvorenie MAC vyžaduje sekvenčné pripojenie viacerých súčastí komplementovej kaskády, začínajúc s C5a a končiac viacerými súčastami C9, aby sa vytvorili póry v membráne mikroorganizmu.

5.10 Manan-viažúci lektín (MBL) – cesta aktivácie komplementovej kaskády. Cesta je spustená väzbou určitých glykoproteínov bežne nachádzajúcich sa na mikrobiálnych povrchoch a má za následok tvorbu C3 konvertázy (ktorá vytvára C3b) a C5 konvertázy (ktorá môže viesť k tvorbe MAC).

5.11 Receptory fagocytov. Fagocytóza je spustená, keď ktorýkoľvek z viacerých typov receptorov na povrchu fagocytu rozpozná vhodnú molekulu, ktorá má znaky cudzej bunky alebo molekuly.

5.12 Fagocytóza, fagozóm a tvorba fagolizozómu. A Pri fagocytóze sú molekuly a častice zachytené a pohltené receptormi súvisiacimi s membránovými oblasťami nazývanými klatrinom potiahnuté jamky. B Pri makropinocytóze vychlípenie plazmatickej membrány zachytí extracelulárnu tekutinu, ktorej obsah je následne strávený. V oboch prípadoch je strávený materiál degradovaný vo fagolizozóme.

5.13 Oxidatívne vzplanutie. Fagolizozómy obsahujú enzýmy schopné vytvoriť voľné radikály, ktoré môžu účinne zabíjať mikroorganizmy.

5.14 NK rozpoznávanie prostredníctvom KIR a KAR. NK bunky majú KAR – killer activation receptors – receptory aktivujúce zabíjanie, ktoré rozpoznávajú so stresom súvisiace molekuly (napr. MICA a MICB u ľudí) na povrchu abnormálnych hostiteľských buniek. Väzba KAR na MICA a MICB poskytuje signál k zabíjaniu. NK bunky tiež majú KIR – killer inhibition receptors – receptory inhibujúce zabíjanie – ktoré skúmajú MHC I molekuly na povrchu cieľových buniek. Ak sa vyskytne nedostatočná väzba KIR-MHC I, NK bunka bude pokračovať v procese zabíjania cieľovej hostiteľskej bunky. Ale dostatočná väzba KIR receptorov prevažujúca KAR signál, zachráni hostiteľskú bunku pred zničením.

5.15 Zápal. Zápal vzniká z komplexnej aktivity viacerých imunitných odpovedí na infekciu a poranenie a má za následok bolesť, teplo, začervenanie a opuch.

Otázky

5.1 PAMP – pathogen-associated molecular patterns – s patogénom súvisiace molekulárne vzory

- A. Dovoľujú B a T lymfocytom rozpoznať baktérie a zničiť ich na cysteín bohaté peptidy, ktoré vytvárajú kanály na bakteriálnych membránach
- B. sú rozpoznané prostredníctvom PRR vrodeneho imunitného systému
- C. sa podobajú na proteíny a cukry na povrchu hostiteľskej bunke
- D. indukujú sekréciu interferónov vírusom infikovaných hostiteľských buniek.

5.2 76 ročný muž mal diagnostikovanú septikémiu spôsobenú E.coli. Počiatočná imunitná odpoveď na E: coli (Gram – negatívnu baktériu) bude zahŕňať

- A. Väzbu prostredníctvom LPS viažúcich proteínov a ich dodanie k receptorom na makrofágoch
- B. Tvorbu špecifických somaticky generovaných receptorov na väzbu E: coli
- C. Vytvorenie a sekréciu špecifických protilátok , ktoré rozpoznávajú E.coli
- D. Vytvorenie špecifických E. coli cytokínov lymfocytmi
- E. Stimuláciu KAR na NK bunkách

5.3 Dvoj vláknová RNA.dependentná proteín kináza sprostredkuje aktivitu

- A. chemokínov
- B. komplementu
- C. defenzínov
- D. NK buniek
- E. Interferónov typu 1

5.4 Ktoré z nasledujúcich príkladov sú príkladmi molekúl, ktoré sú vyjadrené na bunkových povrchoch ľudských buniek, ktoré nie sú zdravé, alebo sú abnormálne

- A. Alfa alebo beta defenzíny
- B. C3 konvertáza a properdín
- C. Cytokíny a chemokíny
- D. Interferon alebo interferon beta
- E. MICA a MICB

5.5 Alternatívna cesta aktivácie komplementu je spustená

- A. súčasťami bunkového povrchu, ktoré sú rozpoznané ako cudzie pre hostiteľa
- B. manózu obsahujúcimi zbytkami glykoproteínov na niektorých mikroorganizmoch
- C. stimuláciou KAR na NK bunkách
- D. tvorbou komplexov antigénu s protilátkou
- E. TLR receptormi viažúcim sa na PAMP

Odpovede a komentár

5.1 C PRR vrodeneých imunitných mechanizmov sa viažu na štrukturálne vzory zložené z proteínov, cukrov a lipidov, ktoré sa nachádzajú na mikroorganizmoch, ale nie sú na ľudských bunkách. Tento mechanizmus dovoľuje rýchle a presné rozpoznanie potenciálnych patogénov. Naproti tomu B a T lymfocyty sú súčasťou adaptačného imunitného systému, špecifického, v rámci ktorého SGR rozpoznávajú presné molekulárne detaily antigénov v protiklade so širokými spektrálnymi charakteristikami, ktoré sa nachádzajú na PAMP

5.2 A LPS Gram negatívnych baktérií je rozpoznávaný prostredníctvom LPS viažúcim proteínom v krvi a tkanivových tekutinách. Väzba komplexu LPS-LPS viažúci proteín je potom odoslaná na bunkovú membránu makrofágu, kde existuje LPS receptor zložený z komplexu proteínov (TLR-CD14-MD2), ktoré viažu bakteriálny LPS. Ako následok zapojenia receptora sú mikroorganizmy pohltené a degradované, makrofág je aktivovaný a cytokíny sú vyprodukované a vytvorí sa zápal. Aktivita SGR na B a T bunkách a protilátky sú súčasťou získanej imunity na rozdiel od vrodenej imunity. Cytokíny nemajú antigén špecifické účinky a KAR na NK bunkách rozpoznávajú stresové molekuly na povrchu abnormálnych hostiteľských buniek.

5.3 E Dvojvláknová RNA dependentná proteín kináza, serín/treoni kináza sú súčasťou hostiteľskej odpovede na infekciu a rôzne situácie bunkového stresu. PKR je kľúčovým mediátorom aktivity interferónu, prvej línie obrany proti vírusovej infekcii. Chemokíny sú podskupinou cytokínov s malou molekulárnou váhou, ktoré ovplyvňujú chemotaxiu leukocytov. Komplement poskytuje rozpustný spôsob ochrany proti patogénom, ktoré unikli kontaktu s bunkami imunitného systému. Defenzíny sú peptidy, ktoré tvoria kanály na membránach bakteriálnej bunky umožňujúce vzostup permeability pre niektoré ióny a spôsobujúce smrť rôznych baktérií. NK bunky detekujú zmenené hostiteľské bunky a určujú ich na likvidáciu.

5.4 E Defenzíny zvyšujú permeabilitu bakteriálnej bunky pre niektoré ióny, čo má za následok smrť baktérie. C3 konvertáza a properdín sú súčasťou komplementovej cesty, rozpustné nástroje ochrany pred patogénmi, ktoré unikli kontaktu s bunkami imunitného systému. Cytokíny a chemokíny sú secerňované rôznymi leukocytmi a endotelovými bunkami a sú súčasťou vrodenej imunity, získanej imunity a zápalu. Cytokíny pôsobia antigén nešpecifickým spôsobom a sú zapojené do širokého spektra biologických aktivít, zatiaľ čo chemokíny sú podskupinou cytokínov účinkujúce pri chemotaxii. Interferóny I typu (interferón alfa a beta) sú secerňované niektorými vírusom infikovanými bunkami v rámci odpovede na infekciu.

5.5 A Manózu obsahujúce reziduá glykoproteínov na niektorých mikroorganizmoch aktivujú komplementovú kaskádu cestou manan-viažúceho lektínu. KAR na NK bunkách rozpoznávajú so stresom súvisiace molekuly na povrchoch abnormálnych hostiteľských buniek. Komplexy antigén-protiľátky nie sú potrebné na aktiváciu komplexu alternatívnej cesty. TLR viažúce sa na PAMP stimulujú syntézu a sekréciu cytokínov, čo podporí zápal a nahromadenie leukocytov v mieste infekcie.

6. Molekuly adaptívnej imunity (získanej imunity)

I. Prehľad

Mechanizmy získanej imunity (adaptačné mechanizmy) využívajú široké spektrum molekúl. Niektoré z týchto molekúl sú tiež využívané mechanizmami vrodenej imunity (kapitola 5). Iné, vrátane antigén špecifické receptory na B a T lymfocytoch (BCR, TCR) sú nástrojmi len špecifických adaptačných mechanizmov získanej imunity. Imunoglobulíny sú syntetizované a spočívajú v cytoplazme a sú prítomné na povrchoch B lymfocytov. Každá B bunka syntetizuje imunoglobulín jedinej špecificity, ktorá sa viaže na špecifickú molekulárnu štruktúru (epitop). Imunoglobulíny na povrchu B bunky slúžia ako BCR receptory. Stimulované B bunky sa môžu ďalej diferencovať na plazmatické bunky, ktoré secerňujú rozpustné formy týchto imunoglobulínov. Imunoglobulíny rozpoznávajú a viažu rovnaké epitopy, ktoré aktivujú komplement klasickou cestou. T bunky majú široké spektrum na membrány viazané TCR receptory. Každá T bunka produkuje TCR receptor jedinej špecificity, ktorý rozpoznáva špecifický peptidový epitop obsiahnutý v molekule hlavného histokompatibilného komplexu (MHC). Zapojenie epitopu do BCR alebo TCR vedie k spusteniu prenosu signálu a vytovreniu rozpustných (cytokínov a chemokínov) a povrchových (receptory a adhezíny) molekúl.

II. Imunoglobulíny

Imunoglobulíny sú syntetizované **B lymfocytmi (B bunky)** a sú syntetizované a secerňované **plazmatickými bunkami**. Plazmatické bunky sú B bunky, ktoré ukončili diferenciáciu. Termín **protilátka** sa používa pre imunoglobulínovú molekulu so špecificitou epitopu molekúl, ktoré vytvárajú antigény (kapitola 2). Protilátky sa nekovalentne viažu na antigény, ktoré ich imobilizujú, a robia ich neškodnými alebo určia antigén na deštrukciu a odstránení inými súčasťami imunitného systému. Prítom protilátky uľahčujú schopnosť iných buniek a molekúl imunitného systému identifikovať a spolupracovať s antigénmi. Pretože protilátky sú často v rozpustnej forme, sú dôležitou súčasťou humorálnych (rozpustných) imunitných odpovedí (kapitola 11).

A. Základná štruktúra

Ľudský **imunoglobulín** obsahuje 4 polypeptidy: dva identické ľahké reťazce a dva identické ťažké reťazce spojené **disulfidickými väzbami** (obr. 6.1), čím sa vytvorí monomérna jednotka. Ťažké a ľahké reťazce sú umiestnené tak, že NH koniec jedného ťažkého a jedného ľahkého reťazca vytvárajú stranu, na ktorú sa viaže epitop. Každý ľahký a ťažký reťazec môžu byť ďalej rozdelené na homológne oblasti, nazývané **domény**. **Ľahké reťazce** nazývané kappa alebo lambda sú kódované chromozómami 2 resp. 22. Existuje 5 typov **ťažkých reťazcov**, všetky kódované na chromozóme 24, nazývané mí, delta, gama, epsilon a alfa. Geneticky odlišné formy ľahkých a ťažkých reťazcov sú známe ako **izotypy**. Imunoglobulínové triedy alebo podtriedy sú určené izotypom ťažkého reťazca.

1. Ľahké reťazce:

Monomér imunoglobulínu obsahuje dva identické kappa alebo dva identické lambda reťazce, ale nikdy nie obidva. Ľahké alebo L reťazce obsahujú variabilnú (V_L) doménu a konštantnú (C_L) doménu (Obr. 6.2). Každá doména obsahuje asi 110 aminokyselín a medzireťazcovú disulfidickú väzbu. Variabilné oblasti (v oboch, v ťažkých aj ľahkých reťazcoch) sa tak nazývajú pre odlišnosť sekvencií aminokyselín v aminokyselinách syntetizovaných rôznymi B bunkami.

2. Ťažké reťazce

Ťažké reťazce obsahujú jednu variabilnú (V_H) a tri alebo štyri konštantné (C_H) domény (Obr. 6.2). Variabilné domény (V_H) ťažkých reťazcov (H) sú veľmi odlišné a konštantné domény (C_H) majú relatívne limitovanú variabilitu v rámci izotypu. Delta, gama a alfa ťažké reťazce obsahujú 3 konštantné domény (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3}) a mi a epsilon ťažké reťazce obsahujú štvrtú konštantnú doménu C_{H4} , čo ich robí dlhšími a ťažšími ako delta, gama alebo alfa ťažké reťazce.

3. Antigén viažúce miesto

Variabilná doména ľahkého reťazca a variabilná doména ťažkého reťazca spolu vytvárajú nádobu, ktorá je antigén (epitop) - viažúcou oblasťou imunoglobulínovej molekuly. Pretože imunoglobulínový monomér obsahuje dva identické ťažké reťazce, na každom monomére imunoglobulínu nachádzajúce sa dve väzbové miesta sú identické (Obr. 6.3). Odlišnosť v sekvencii aminokyselín vo V_L a V_H doménach, spolu s náhodným spárovaním ľahkého a ťažkého reťazca, ktoré sa vyskytuje v jednotlivých individuálnych B bunkách, vytvára súbor väzobných miest schopných rozpoznať veľmi veľké množstvo odlišných epitopov.

4. Oblasti imunoglobulínu

Imunoglobulínové molekuly môžu byť enzymaticky rozdelené na fragmenty buď pepsínom alebo papainom (Obr. 6.4). Disulfidické väzby spájajú ťažké reťazce v alebo blízko **kĺbovej oblasti** bohatej na prolín, ktorá poskytuje flexibilitu na molekule imunoglobulínu.

Fragmenty imunoglobulínov sú:

- **Fab alebo antigén** (epitop)-viažúci fragment, vytvorený rozkladom imunoglobulínovej molekuly prostredníctvom **papainu**, obsahuje V_H , C_{H1} , V_L , C_L . Dva Fab fragmenty sú vytvorené rozložením imunoglobulínového monoméru papainom., každý fragment má epitop-viažúce miesto.
- **Fc** alebo konštantný (kryštalizovateľný) fragment je produktom rozkladu molekuly imunoglobulínu **papainom**. **Fc** časť obsahuje C_{H2} , C_{H3} a niekedy C_{H4} oblasť molekuly imunoglobulínu. Je zodpovedný za mnohé biologické aktivity, ktoré sú spustené po napojení epitopu na väzobné miesto Fab fragmentu.
- **Fd** je ťažký reťazec (V_H , C_{H1}) Fab časti
- **Fd'** je ťažký reťazec (V_H , C_{H1}) Fab časti.. Značka (') znamená aminokyseliny navyše po rozdelení **pepsínom**.
- **F(ab')₂** je dimér vytvorený rozkložením pepsínom. Imunoglobulínový monomér bude obsahovať F(ab')₂ fragment obsahujúci dva (V_H , C_{H1}) segmenty spojené disulfidickými väzbami. F(ab')₂ časť obsahuje dve väzobné miesta pre epitopy.

B. Izotypy

Izotypy ťažkých reťazcov (mí, delta, gama, alfa a epsilon) tiež určujú izotyp imunoglobulínu alebo triedu (IgM, IgD, IgG, IgA a IgE) (tab. 6.1). Normálne, človek produkuje všetkých 5 imunoglobulínových izotypov. Fyziologicky, bude konkrétna B bunka z dvoch možných izotypov ľahkých reťazcov produkovať len kapa, alebo len lambda reťazce, nikdy nie obidvoje. B bunky majú na svojom povrchu viazané monoméry imunoglobulínu ako epitop špecifické receptory., B bunky produkujú a majú na svojom povrchu len jeden izotyp, s výnimkou, keď nestimulované B lymfocyty majú na svojom povrchu IgM a IgD. Po sekrécii

do telesných tekutín, rozpustné (humorálne) IgG a IgE zostávajú monomérmi, rozpustné IgM tvoria pentamér a rozpustné IgA môžu byť vo forme monoméru alebo diméru.

- **IgM** – sa nachádza buď ako na povrchu bunky exprimovaný monomér (2mi + 2 kapa alebo 2 lambda) alebo ako secernovaný pentamér s 10H a L reťazcami spojenými disulfidickými väzbami a J (spojovacia) reťazcom [päť monomérov +J, napr. 5 x (2mi + 2 kapa alebo 2 lambda) + J]. Väčšina B buniek má na svojom povrchu IgM. Obvykle je IgM prvým imunoglobulínom, ktorý sa začne tvoriť po antigénnej stimulácii. Je účinný pri imobilizácii antigénu (aglutinácia., kapitola 20, obr. 20,2) a pri aktivácii klasickej cesty komplementu.
- **IgD** má monomérnu štruktúru (2delta + 2 kapa alebo 2 lambda) a je takmer výlučne prítomný na B bunkách. Jeho funkcia je len málo známa.
- **IgG** existuje ako povrchová a humorálna monomérna molekula (2gama + 2 kapa alebo 2 lambda). 4 podtriedy (gama₁, gama₂, gama₃, gama₄,) gama ťažkých reťazcov vytvárajú 4 podtriedy ľudského IgG, **IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4**. Spolu vytvárajú IgG podtriedy najväčšiu triedu imunoglobulínov v sere. Mnohé IgG protilátky sú účinné pri aktivácii komplementu (pozri dolu), opsonizácii a netralizácii mikroorganizmov a vírusov a spúšťaní ADCC – na protilátkach závislej bunkami sprostredkovanej cytotoxicity – antibody dependent cell-mediated cytotoxicity. Zohrávajú tiež úlohu v širokom spektre hypersenzitívnych reakcií.
- **IgA** je prítomný v monomérnej aj dimérnej forme. Ako monomer IgA (2 alfa + 2 kappa alebo 2 lambda) sa nachádza v sere. Pripojenie J alebo spájajúceho reťazca (joining) medzi dva IgA monoméry vytvorí dimmer. Epiteliálne bunky používajú špecifický receptor na transport IgA diméru na slizničné povrchy. Tento špecializovaný receptor sa stáva prídavnou molekulou, ktorá sa viaže na IgA dimmer a nazýva sa **sekrečná súčasť** (komponent)(SC) [2x(2 alfa + 2 kappaalebo 2 lambda) + J + SC]. Sekrečný IgA diméry sa nachádzajú v jliene, slinách, slzách, materskom mlieku a sekrétoch GIT. Sekrečná súčasť poskytuje zvýšenú odolnosť proti enzymatickej degradácii. Dve izoformy IgA (alfa₁ a alfa) majú trochu odlišné funkcie. IgA1 má prevahu v sére a sekrétoch nad bránicou. Sekrečné IgA2 tvoria väčšinu IgA nachádzajúcich sa v lumen dolnej časti GIT. Veľké množstvá IgA sú syntetizované a secernované denne na mukózne povrchy GIT, respiračného traktu a ostatných sekrečných epitelov. Denne sa vyprodukuje viac IgA ako všetkých ostatných izotypov spolu.
- **IgE** sa nachádza v relatívne nízkych koncentráciách v sere., väčšina je absorbovaná na povrchoch mastocytov, monocytov a eozinofilov. Základná štruktúra je (2epsilon + 2kapa alebo 2 lambda). Mastocyty a bazofily majú izotypovo špecifické receptory (FcεR) pre Fc časť voľných IgE molekúl. Skrížené spojenie IgE na povrchoch mastocytov prostredníctvom antigénov spustí uvoľnenie histamínu a ostatných zápalových mediátorov, čo vedie k okamžitej hypersenzitívnej (alergickej) odpovedi.

III. Klasická cesta aktivácie komplementu

Interakcia protilátok s antigénom spúšťa **klasickú cestu** aktivácie komplementu. (Obr.6.5). Táto biochemická kaskáda enzýmov a proteínových fragmentov uľahčuje deštrukciu mikroorganizmov prostredníctvom MAC – membrane attack complex – membránu atakujúceho komplexu, zosilnením opsonizácie prostredníctvom väzby C3b na mikrobiálne

povrchy a produkciou anafylatoxínov C3a, C5a a C4a. Kaskáda začína aktiváciou súčasti komplementu C1.

- A. Aktivácia C1** Väzba IgM alebo IgG protilátky na antigén spôsobí zmenu konformácie (priestorového usporiadania) v Fc oblasti molekuly imunoglobulínu. Táto konformačná zmena umožňuje väzbu prvej súčasti klasickej cesty C1q. Každá časť C1q sa môže naviazať na C_{H2} doménu (v Fc časti) molekuly protilátky. Po naviazaní na protilátku, C1q podstúpi konformačnú zmenu, ktorá vedie následnej väzbe a aktivácii serínového proteázy C1r a C1s. Komplex C1qrs má enzymatickú aktivitu pre C4 a C2, čo sa naznačuje horizontálnou čiarou ako C1qrs alebo C1s.
- B. Produkcia C3 konvertázy** Aktivácia C1qrs vedie k rýchlemu rozloženiu a aktivácii súčastí C4, C2 a C3. V skutočnosti obidve klasická a MBL cesta aktivácie komplementu sú identické pokiaľ ide o rozloženie a aktiváciu C3, C2 a C3 (Obr. 6.5).
- C. Produkcia C5 konvertázy** Väzba C4b2b na C3b vedie k tvorbe komplexu C4b2b3b. Tento komplex, C5 konvertáza spúšťa vytvorenie MAC na povrchu mikroorganizmu (Obr. 5.8, 5:9 a 6.5). Rovnako ako pri alternatívnej (Obr. 5.7) a MBL ceste (Obr. 5.10), aj produkcia C5 konvertázy klasickou cestou vedie k vytvoreniu a inzercii štruktúry, ktorá je schopná zničiť povrch bunky.

IV. MHC – major histocompatibility molecules - molekuly hlavného histokompatibilného systému

MHC – hlavný komplex histokompatibility – major histocompatibility komplex, nazývaný tiež HLA komplex – human leukocyte antigen complex – komplex antigénu ľudského leukocyta, je to segment 6. chromozómu obsahujúci viaceré gény, ktoré sú nevyhnutné pre imunitné funkcie (Obr. 6.7). Zahŕňajú gény kódujúce množstvo enzýmov a štrukturálnych molekúl potrebných na aktiváciu a funkciu B a T buniek. Kódované molekuly sú súčasťou 3 skupín alebo tried známych ako MHC molekuly (alebo HLA) triedy I, II a III. Molekuly MHC triedy III obsahujú súčasti komplementu C4, Bf a C2. Molekuly MHC triedy I a II slúžia úplne iným funkciám.

A. Molekuly MHC triedy I

Kodominantne vyjadrené 45 kDa molekuly MHC triedy I v spojení s β 2 mikroglobulínom (β 2m., 12 kDa), sú na povrchu všetkých buniek s jadrami. Tri genetické miesta (lokusy) HLA-A, -B, -C sú vysoko polymorfné s viac ako 100 alelami v každom lokuse (Obr.6.7). Spolu až 6 rôznych molekúl triedy I (u heterozygotov vo všetkých troch lokusoch) môžu existovať na každej bunke.

Molekuly MHC triedy I sa ohnú aby vytvorili kliešte (záhyb) medzi α 1 a α 2 doménami, ktoré viažu kovalentne 8 až 9 aminokyselinové peptidy (Obr. 6.8). Pre malé štrukturálne zmeny vo väzobných kliešťoch (alebo väzobnom nástroji), ktoré existujú u jednotlivých alelických foriem, rôzne peptidy môžu lepšie sadnúť do nástroja niektorej molekuly MHC triedy I ako iné. Ďalšie („nie klasické“ alebo trieda Ib) molekuly triedy I (napr. tie, ktoré sú kódované HLA-E, -F, -G, -H lokusy) majú limitovanú variabilitu a tkanivové rozšírenie a môžu zohrávať úlohu pri prezentácii uhlíkovodíkových a peptidových fragmentov (Obr. 13.14).

B. Molekuly MHC triedy II

Molekuly MHC triedy II sú normálne prítomné len na povrchoch dendritických buniek, makrofágoch a B bunkách., na niektorých aktivovaných T bunkách., a na špecializovaných epiteliálnych bunkách v týmuse a čreve. Kodominantne exprimované ako nekovalentné

heterodiméry 32 až 38 kDa α reťazec a 29 až 32 kDa β reťazec vytvárajú väzobné kliešte ($\alpha 1$ a $\beta 1$), ktoré prijímajú peptidy s dĺžkou 18 až 20 aminokyselín (obr. 6.8). Kódované v HLA-DP, -DQ a -DR oblastiach (obr. 6.7) sú obidve α a β lokusy (DP α , DP β , DQ α , DQ β atď.). Po syntéze, MHC triedy II α a β reťazce sa kombinujú len s inými kódovanými v tej istej oblasti (napr. DP α sa spája len s DP β ale nikdy s DQ β alebo DR β). Ale v každej z týchto oblastí sa α reťazce môžu kombinovať s β reťazcami kódovanými na tom istom chromozóme (cis) alebo na inom ramienku chromozómového páru (trans). Toto sa označuje termínom **cis-trans komplementarita** a umožňuje heterozygotným jedincom v jednom alebo viacerých lokusoch II triedy produkovať väčšie množstvo dimérov II triedy, ako by bolo možné keby boli homozygotní. Rozsah rôznych molekúl MHC triedy I a II, ktoré sú expitované, môžu ovplyvniť celkovú imunitnú kapacitu jedinca.

V. Receptory T buniek

Antigén špecifický receptor T buniek (T cell receptor –TCR) je $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$ heterodimér peptidový pár. (Napriek podobnosti v terminológii, $\alpha\beta$ TCR lokusy/molekuly a MHC triedy II $\alpha\beta$ lokusy/molekuly sú geneticky a molekulárne odlišné). Každý polypeptid TCR obsahuje variabilné a konštantné oblasti, ktoré sú geneticky a molekulárne odlišné od imunoglobulínov. Výber či bude vybraný $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$ heterodimér sa uskutoční na začiatku vývoja T bunky a klonálne bunky majú rovnaký typ TCR.

A. Základná štruktúra

TCR je viazaný na membránu T bunky. Krátky cytoplazmatický útvar $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$ polypeptidových reťazcov nemá signalizačnú sekvenciu alebo imunoreceptorové tyrozín aktivujúce vzory (ITAMs), ktoré spúšťajú aktivačné signály do jadra (kapitola 8). Tieto signály sú poskytnuté komplexom molekúl CD3 [(CD3 δ , CD3 γ , CD3 ϵ a CD247 (čreťazec)], ktoré sa nekovalentne napoja s TCR. Na rozdiel od protilátok, TCR receptory nemúžu viazať rozpustné epitopy. Viazu len fragmenty väčších molekúl, ktoré sa hodia do väzobných útvarov molekúl MHC I triedy a II triedy ako peptid-MHC (pMHC) komplexy. Spolupráca TCR s pMHC je spevnená pridruženou interakciou CD4 alebo CD8 s konštantnou doménou molekúl MHC II triedy alebo MHC I triedy (obr. 6.9).

B. Variabilné a konštantné oblasti

Každý polypeptidový reťazec TCR páru obsahuje variabilnú (V α alebo V β , V γ alebo V δ) a konštantnú (C α alebo C β , C γ alebo C δ) oblasť domény. Spolu variabilné oblasti α alebo β (alebo γ alebo δ) reťazce tvoria hypervariabilné alebo **CDR – komplementaritu určujúce oblasti – complementarity determining regions**, ktoré spolupracujú s pMHC. Podobne ako imunoglobulíny, každá T bunka má (exprimuje) jedinečnú TCR. Na rozdiel od imunoglobulínov, T bunky musia („uvidieť“) rozpoznať pMHC a nerozpoznávajú rozpustné peptidy.

VI. Molekuly a bunkové interakcie

Mnohé reakcie vrodéných aj získaných imunitných mechanizmov vyžadujú spoluprácu leukocytov s leukocyty. Tieto interakcie sa uskutočňujú buď priamym kontaktom buniek alebo odoslaním a príjmom signálov prostredníctvom rozpustných molekúl. Leukocyty odpovedajú na tieto signály pozitívnou alebo negatívnou reguláciou svojich funkcií, migráciou do špecifických anatomických miest alebo uskutočnením životného rozhodnutia o osude bunky v tele.

A. Cytokíny

Cytokíny sú rozpustné proteíny s nízkou molekulovou váhou, ktoré sú poslíčkami zapojenými do všetkých aspektov vrodených a získaných imunitných mechanizmov vrátane bunkového rastu a diferenciácie, zápalu a opravy. Pôvodne boli nazývané lymfokíny a monokíny, čo odzrkadľovalo ich lymfocytárny alebo monocytárny pôvod., dnes vieme, že tieto látky sú produkované veľkým množstvom leukocytov aj non-leukocytov. Veľký počet cytokínov už bolo identifikovaných, hoci úloha mnohých nie je celkom pochopená (Tabuľka 6.2). Mnohé cytokíny sú nevyhnutné pri regulácii vývoja lymfocytov a pri určovaní typu imunitnej odpovede vyvolanej špecifickou reakciou.

B. Chemokíny

Cytokíny s nízkou molekulovou váhou známe ako **chemokíny** (chemoatraktanty) stimulujú pohyb leukocytov. Leukocyty sú nasmerované koncentračným gradientom chemokínov do miesta infekcie alebo zápalu (proces nazývaný *homing*). Sú rozdelené do 4 typov na základe prítomnosti niektorých štrukturálnych motívov vrátane počtu a intervalov medzi zbytkami cysteínu: C, CC, CXC, CX₃C (Tabuľka 6.3).

C. Adhézne molekuly

Často musia leukocyty spolupracovať priamym kontaktom s inými bunkami za trochu netypických podmienok, ako napríklad pri rýchlom toku tekutiny v cirkulácii alebo pri slabšej väzbe medzi receptorom a ligandom. **Adhézne molekuly** poskytujú stabilný kontakt medzi bunkami, ktorý je potrebný pri imunitných reakciách vrodených a získaných imunitných mechanizmov ako aj mnohých iných intercelulárnych aktivít. Na prvý pohľad jednoduchá aktivita, schopnosť buniek preskúmať povrch ostatných buniek a vytvoriť s nimi stabilný kontakt je životne dôležitá. Bunky musia byť schopné vytvoriť a udržať relatívne dlho kontakt „povrch na povrch“, ktorý je podstatou komunikácie a spolupráce povrchových bunkových receptorov a ligandov.

Typy adhézných molekúl zahŕňajú integríny, selektíny a adresíny.

1. Integríny

sa nachádzajú na povrchoch mnohých typov leukocytov. Integríny sú heterodiméry pozostávajúce z rôznych kombinácií α a β reťazce (napr. $\alpha_5\beta_1$ na monocytoch a makrofágoch). Spolupracujú s inými molekulami, ktoré sú založené na motíve Ig – imunoglobulínovej superrodiny (ktorý sa nachádza na rôznych bunkách a má všeobecnú doménu medzireťazcovej disulfidickej väzby, napr. 6.2) a s inou extracelulárnou matrix. Ich hlavnou funkciou je zosilniť kontakt medzi leukocytmi a mnohými typmi buniek (napr. vaskulárny endotel) takže silnejšie interakcie sa môžu neskôr uskutočniť. Individuálne integríny a ich aktivity sú diskutované v ďalších kapitolách v detailnom opise rôznych imunitných mechanizmov.

2. Selektíny a adresíny

sú limitované ich tkanivovou distribúciou a sú určené na identifikáciu konkrétnych tkanív a na uľahčenie interakcií konkrétnych bunkových kombinácií. Napr. novodiferencované lymfocyty musia migrovať do lymfatických uzlín, kde podstupujú ďalší stupeň ich vývoja. Táto migrácia je ukončená interakciami medzi selektínovými molekulami, ktoré sa nachádzajú, ktoré sa nachádzajú na lymfocytoch (napr. CD62L tiež známa ako L selektín) a adresínové molekuly (napr. GlyCAM-1) lokalizovanými na vysokom vaskulárnom endotele krvných ciev prechádzajúcich lymfatickými uzlinami. Iné selektíny a adresíny pomáhajú pri pohybe lymfocytov a iných buniek do čreva, epitelu a miest s tkanivovým zápalom. Individuálne

selektíny a adhezíny a ich aktivity sú ďalej diskutované v ďalších kapitolách v detailnom popise rôznych imunitných mechanizmov.

D. CD molekuly (cluster of differentiation)

Molekuly cluster of differentiation (CD) pokrývajú povrchy mnohých typov buniek a často slúžia ako indikátory funkčnej kapacity leukocytov a iných buniek. Je mimo účel tejto knihy venovať sa detailnejšie všetkým z 250 CD molekúl, ktoré boli identifikované doteraz. Našťastie na základné pochopenie mechanizmov získanej imunity stačí poznať len niekoľko z nich. K tým, s ktorými sa budete stretávať častejšie patria:

- CD3 komplex obsahujúci viaceré molekuly súvisiace s TCR. Je zložený z 6 polypeptidov (2 CD3 ϵ + 1 CD3 γ + 1CD3 δ +1CD247 ζ - ζ homodimér). Jeho funkciami je podporovať TCR a preniesť transmembránové signalizovanie, keď je TCR zapojený.
- CD4 je jednoreťazcový člen imunoglobulínovej superrodiny a je vyjadrený na povrchoch približne 2/3 zrelých T buniek. CD4 molekuly rozpoznávajú časť molekúl MHC triedy II pre nepeptidovú väzbu. Ako následok CD4⁺T bunky, známe ako pomocné T (T helper, Th) bunky a sú určené na rozpoznanie komplexu pMHC triedy II
- CD8 je dvojreťazcová molekula bunkového povrchu vyjadrená ako homodimér ($\alpha\alpha$) alebo heterodimér ($\alpha\beta$) asi 1/3 zrelých T buniek. CD8 molekuly rozpoznávajú časť molekúl MHC triedy I pre nepeptidovú väzbu. CD8⁺T bunky určené na rozpoznanie pMHC I komplexov sú známe ako cytotoxické (Tc) a supresorové T (Ts) bunky.

E. Molekuly prenášajúce signál

Leukocyty využívajú svoje povrchové receptory na pozorovanie ich extracelulárneho prostredia. Väzba na niektoré ligandy spôsobuje konformačnú zmenu receptora alebo ich ďalších molekúl. Táto zmena je ďalej posunutá do bunky cez cytoplazmatickú časť receptora (časť receptora, ktorá je vo vnútri bunky), čím spustia prenosovú kaskádu signálu vo vnútri bunky. Takéto kaskády obvykle zahŕňajú väzbu jedného alebo viacerých špecifických intracelulárnych proteínov slúžiacich na prenos signálu. Zapojenie receptora často iniciuje sériu chemických signálov, ktoré regulujú transkripciu génu v jadre a zmenu bunkovej aktivity.

Schématicky popisujeme dve kaskády tyrozín kinázovej cesty:

1. JAK-STAT cesta: Mnohé extracelulárne stimuly aktivizujú JAK

STAT cestu prenosu signálu. JAK – „Janus kináza, just another“ kináza., STAT – signal transducer and activators of transcription – prenášač signálu a aktivátor transkripcie. Naviazanie ligandu (napr. cytokínu, rastového faktoru) indukuje to, aby sa polypeptidy receptora zmenili na dimér a naviazali sa na cytozolickú JAK (Obr. 6.10). Aktivované JAK sú tyrozín kinázy, ktoré fosforylujú tyrozínové zbytky vrámci intracelulárnej časti reťazcov receptora. Fosforylované tyrozínové reziduá poskytujú miesta pre SRC homologné 2 (SH2) domény neaktívnych cytozolových STAT molekúl. Receptor naviazaný na STAT molekuly sú fosforylované na receptor napojený JAK, čo dovoľuje STAT odpojiť sa od cytoplazmatickej časti a zmeniť sa na dimér s iným fosforylovaným STAT molekulou. STAT dimér sa preniesie do jadra, kde sa viaže na špecifický DNA element, aby reguloval génovú transkripciu.

2. Ras-MAP kinázová cesta: táto cesta sa nazýva tak pre guanosín

trifosfát viažuci proteín a MAP alebo mitogén aktivujúci proteín. Zmena receptora na dimér podporuje fosforyláciu intracelulárnych domén tyrozín kinázy na cytoplazmatickej časti katalytického receptora s kinázovou aktivitou alebo dovoľuje aktiváciu tyrozín kinázy asociovanej na receptor ako napr s JAK (obr. 6.11). Fosfotyrozín receptora poskytuje miesto pre špecifický intracelulárny SH2 napr. (SHC a GrB2) obsahujúci proteín adaptoru. Po napojení SHC aktivuje svoju SH3 doménu a viaže SOS proteín. SOS je faktor výmeny guaninového nukleotidu za Ras, monomérny plazmatický membránový proteín. SHC-SOS-Ras komplex mení GDP za GTP na Ras. Ras-GTP pomáha väzbe Raf serín proteín kinázy. (známej ako MAPKKK = mitogénom aktivovaná proteín kináza kináza kináza). Raf spúšťa sekvenčnú fosforylačnú kaskádu zahŕňajúcu

MAPKK (tiež nazývanú ako MEK, ktorá sa prenáša do jadra) a MAPK (tiež známa ako ERK alebo extracelulárnym signálom regulovaná kináza). Kaskáda sa končí prepisom transkripčného faktora (akým je ELK), čo vedie k prepisu génu.

Súhrn

- **Monomér imunoglobulínu** obsahuje 2 identické ľahké a 2 identické ťažké polypeptidové reťazce spojené disulfidickými väzbami. **Ľahké reťazce** obsahujú jednu **variabilnú** a jednu **konštantnú** doménu (oblasť). **Ťažké reťazce** obsahujú jednu variabilnú a 3 alebo 4 konštantné domény (oblasti). Kombinácia jednej ľahkej a jednej ťažkej variabilnej domény (oblasti) vytvárajú **epitop-vaižúce miesto**.
- Normálne má človek 5 imunoglobulínových **tried** alebo **izotypov**: **IgM** najväčší je prítomný buď ako monomér viazaný na povrchu molekúl alebo ako sekrečný pentamér. **IgD**, monomér, je takmer výlučne na povrchu B buniek. Ľudský **IgG** je monomér prítomný v 4 triedach: **IgG1, IgG2, IgG3, IgG4**. Monomér **IgA** je prítomný v sére a ako dimér na slizničných povrchoch a v sekrétoch. **IgE** je prítomný v relatívne nízkych sérových koncentráciách., väčšinou je adsorbovaný na povrchu mastocytov, bazofilov a eozinofilov.
- Väzba IgM alebo IgG protilátky na antigén spôsobí konformačné zmeny na Fc fragmente imunoglobulínovej molekuly, ktoré spôsobia spustenie **klasickkej cesty** aktivácie komplementu
- Hlavný histokompatibilný komplex (MHC), tiež nazývaný HLA komplex (komplex antigénu ľudského leukocyty) má segment na chromozóme 6, ktorý obsahuje viacero génov potrebných pre imunitné funkcie. Kodominantne vyjadrená molekula MHC triedy I spolu s β_2 mikroglobulínom sa nachádzajú na povrchoch všetkých buniek s jadrom. Molekuly MHC triedy II sú vyjadrené len na povrchoch dendritických buniek, makrofágoch a B buniek, na niektorých aktivovaných T bunkách a na niektorých špecializovaných epiteliálnych bunkách v týmuse a čreve.
- Pre epitop špecifický receptor na T bunkách TCR obsahuje $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$ heterodimér polypeptidových párov. Každý polypeptid obsahuje variabilnú a jednu konštantnú oblasť. TCR receptory rozpoznávajú a viažu peptidy, ktoré sú umiestnené v väzbových kliešťoch molekuly MHC triedy I alebo II ako komplexy **pMHC**
- **Cytokíny** sú rozpustné proteínové posličky s nízkou molekulovou hmotnosťou, ktoré sú súčasťou všetkých aspektov vrodenej a získanej imunitných mechanizmov vrátane bunkového rastu a diferenciácie, zápalu a nápravy poškodenia.
- Cytokíny s nízkou molekulovou hmotnosťou nazývané chemokíny (chemoatraktanty) stimulujú pohyb leukocytov.
- Adhézne molekuly poskytujú stabilné kontakty bunky s bunkou. **Integríny** sa nachádzajú na povrchoch mnohých leukocytov. **Selektíny a adresíny** sú len v oblasti tkanivového tropizmu a sú určené na identifikáciu konkrétneho tkaniva a na uľahčenie interakcie konkrétnych bunkových kombinácií.
- **Cluster of differentiation, CD** molekuly sú na povrchoch rôznych typov buniek a slúžia ako ukazovateľ funkčných kapacít leukocytov a iných buniek
- Leukocyty používajú receptory na sledovanie ich extracelulárneho prostredia. Väzba ligandu a receptora vedie k prenosu signálu z ligandu naviazaného na receptor do jadra, čo zahŕňa fosforyláciu zvyškov serínu/tyrozínu. Dve štylizované prototypické kaskády prenosu signálu sú JAK-STAT a Ras-MAP cesty

Obrázky

6.1 Imunoglobulínový monomér. Monomér imunoglobulínu obsahuje 2 identické ľahké (L) reťazce a 2 identické ťažké (H) reťazce spojené disulfidickými väzbami. Každá reťaz obsahuje variabilnú oblasť a jednu alebo viac konštantných oblastí.

6.2 Domény imunoglobulínu. Ľahké reťazce sú dvojaké (κ a λ) a päť typov ťažkých reťazcov (α , δ , ϵ , γ , μ). Imunoglobulínové ľahké a ťažké reťazce sú rozdelené do domén, ktoré pozostávajú z približne 110 aminokyselín a obsahujú intrareťazcové disulfidické väzby (V_L -variabilná doména ľahkého reťazca, V_H – variabilná doména ťažkého reťazca, C_L -konštantná doména ľahkého reťazca, C_H -konštantná doména ťažkého reťazca).

6.3 Epitop-viažúce oblasti imunoglobulínu. Dve identické oblasti viažúce epitop sú vytvorené spárovaním jednej V_L domény s jednou V_H doménou.

6.4 Enzymatické rozloženie molekuly imunoglobulínu určuje segmenty. Rozloženie papainom oddelí ťažké reťazce a vytvorí dva identické Fab fragmenty (každý obsahuje jedno väzbové miesto) a jeden Fc fragment. Rozloženie pepsínom oddelí ťažké reťazce v mieste, čím sa vytvorí $F(ab')_2$ fragment obsahujúci dve spojené väzobné miesta a zostávajúca časť ťažkého reťazca, ktorá je degradovaná a eliminovaná.

6.5 Klasická cesta aktivácie komplementu. Klasická cesta je spustená väzbou protilátky (IgG alebo IgM) na antigén a potom na C1 súčasť komplementu. Cesta vytvorí C3 konvertázu (zodpovednú za produkciu C3b) a C5 konvertázu (čo môže viesť k tvorbe MAC).

6.6 Aktivácia komplementovej časti C1: Aktivácia C1 zahŕňa sériové naviazanie a aktiváciu jej troch podjednotiek (C1q, C1r, C1s).

6.7 Genetická a proteínová báza MHC I, MHC II a MHC III. Lokalizované na chromozóme 6 HLA (human leukocyte antigen – antigény ľudského leukocyty) gény sú usporiadané tak ako to je na obrázku. Sú zoskupené do triedy I, II a III na základe štrukturálnych a funkčných charakteristík.

6.8 Molekuly MHC I (HLA – A, -B, -C) spolu s molekulou β_2 mikroglobulínu tvoria každý uzatvorené kliešte, ktoré môžu viazať peptid zložený z 8 – 9 aminokyselín. MHC II molekuly sú heterodiméry (DP + DP, DG + DQ, DR + DR) ktoré tvoria kliešte viažúce peptid s 18 – 20 aminokyselinami.

6.9 CD4 a CD8 T bunky spolupracujú s peptidmi naviazanými na MHC molekuly II resp. I triedy.

6.10 Schématické znázornenie cesty prenosu signálu. Ligand (napr. cytokín) je zapojený na receptor a navodí tvorbu diméru a naviazanie a aktiváciu cytozolových JAK (Janus kináz). Fosforylácia STAT indukuje ich dimerizáciu, translokáciu do jadra a viazanie na prvky zodpovedajúce za špecifickú DNA odpoveď.

6.11 Schématické znázornenie cesty prenosu signálu. Ligand (napr. cytokín) je zapojený na receptor a navodí tvorbu diméru a aktiváciu intrinsik tyrozín kinázy cytoplazmatickou časťou receptoru a jej fosforyláciou. Následná fosforylačná kaskáda zahŕňajúca viaceré medzi produkty má za následok fosforyláciu MAPK a jej poshyb do jadra, čo vyústí do väzby transkripčných prvkov na prvky DNA špecifickej odpovedi

Otázky a komentáre

6.1 Epitop-špecifické receptory na T lymfocytoch sa nachádzajú

- A. ako cytozolové alebo na membrány viazané proteíny
- B. v plazme, lymfe a iných secerňovaných tekutinách
- C. na povrchu plazmatických buniek
- D. ako transmembránové polypeptidy
- E. v jadrovej lipidovej dvojvrstve

6.2 Protilátky (imunoglobulíny)

- A. sú syntetizované a secerňované B aj T bunkami
- B. viažu viaceré odlišné epitopy naraz
- C. obsahujú 4 rôzne polypeptidy ľahkých reťazcov
- D. rozpoznávajú špecifické epitopy spolu s vlastnými molekulami
- E. určujú antigény na deštrukciu a odstránenie

6.3 Konštantné oblasti piatich hlavných typov ťažkých reťazcov molekúl imunoglobulínov určujú ich

- A. epitop
- B. Fab fragment
- C. Izotyp
- D. Vzor aktivácie tyrozínu
- E. Variabilnú oblasť

6.4 Keď je molekula imunoglobulínu vystavená pepsínu, produkt alebo produkty

- A. sú jednotlivé ťažké a ľahké reťazce
- B. sa nemôže (nemôžu) viazať na antigén
- C. je zložená (sú zložené) z 2 samostatných antigen viažúcich fragmentov
- D. kryštalizujú pri uchovaní v chlade
- E. je dimér antigen viažúcich molekúl

6.5 U osôb so skorou hypersenzitivitou (alergia) na prach vzájomné prepojenie prachu so špecifickými molekulami spustí uvoľnenie zápalových mediátorov

- A. IgA
- B. IgE
- C. IgG
- D. Histamin
- E. Mastocyty

6.6 Klasická cesta komplementu začína

- A. aktiváciou C1
- B. rozdelením a aktiváciou C4, C2 a C3
- C. IgA väzbou na špecifický epitop
- D. Spustným tvorby Membrane Attack Complex
- E. Vytvorením C3 konverzazy

6.7. Klasická cesta komplementu má za úlohu

- A. rozdelenie imunoglobulínov na Fc fragmenty
- B. uľahčuje zničenie mikroorganizmov
- C. rozpoznanie špecifických epitopov na mikroorganizmoch
- D. regulovať vývoj lymfocytov
- E. spustí uvoľnenie histamínu

6.8 U ľudí sú MHC II molekuly vyjadrené

- A. na všetkých jadrových bunkách
- B. na B bunkách, dendritických bunkách a makrofágoch
- C. na erytrocytoch
- D. na mastocytoch
- E. na T bunkách

6.9 Základná štruktúra TCR je tvorená

- A. heterodimérom $\alpha\beta$ ($\Gamma\Delta$) viazaným na membránu
- B. komplexom disulfidicky viazanými ťažkými a ľahkými reťazcami
- C. kovalentne viazanými molekulami CD3 a CD247
- D. komplexami peptidu s MHC
- E. rozpustnými homodimérmi viažucími antigén

6.10 Migrácia B lymfocytu na špecifické miesta (napr. do lymfatickej uzliny) závisí z časti na využití

- A. protilátok
- B. CD8
- C. CD3
- D. Komplementu
- E. Selektínov

6.11 Ktorá z uvedených molekúl je vyjadrená na zreloch T bunkách, ktoré fugujú ako pomocné

- A. CD4
- B. CD8
- C. GlyCAM-1
- D. IgA
- E. IgG

6.12 Po naviazaní cytokínu na špecifický povrchový receptor bunky je lymfocyt stimulovaný a postupuje signalizáciu cez JAK-STAT cestu. Pri tejto ceste ktorá z molekúl bude indukovaná aby spôsobila translokáciu signálu do bunkového jadra a reguláciu transkripcie

- A. JAK
- B. Ras
- C. SH2 obsahujúce proteíny
- D. STAT diméry
- E. Tyrozín kináza

6.1 D Epitop-špecifické receptory na T bunkách (TCR) sú na membrány viazané molekuly na ich bunkových povrchoch. TCR neexistujú ako rozpustné molekuly. Epitop-špecifické molekuly produkované plazmatickými bunkami sú geneticky odlišné od molekúl receptorov T buniek.

6.2 E Protilátky sa viažu na epitopy antigénov, aby ich identifikovali alebo ich určili k deštrukcii inými prvkami imunitného systému. Sú syntetizované len B bunkami a plazmatickými bunkami. Molekula protilátky obsahuje 2, 4 alebo 10 identických epitop-viažucích miest. Protilátkový monomér obsahuje 2 identické ľahké reťazce a dva identické ťažké reťazce. Samorozpoznanie nie je potrebné u protilátkových molekúl.

6.3 C Ťažké reťazce konštatných oblastí určujú izotypy imunoglobulínu : Mí, delta, gama, epsilon, alfa. Fab fragmeny sú následkom enzymatického rozloženia imunoglobulínových monomérov. Tyrozín aktivujúce vzory imunoreceptoru nie sú prítomné na molekulách imunoglobulínu. Variabilné oblasti sú charakterizované nadmenou variabilitou aminokyselinových sekvencií dokonca aj vrámci toho istého izotypu

6.4 E Enzymatické rozdeľní monoméru imunoglobulínu pepsínom sa uskutočňuje distálne od variabilnej oblasti a distálne od disulfidickej väzby medzi ťažkými reťazcami, ktoré zostávajú nedotknuté, čo má za následok vytvorenie molekuly s dvoma epitom-viažucimi miestami. Medzireťzové disulfidické väzby nie sú postihnuté rozkladom pepsínom. Epitop viažúce miesta zostávajú nedotknuté účinkom pepsínu na ťažký reťazec. Papain účinkujúci na imunoglobulínový monomér účinkuje distálne od variabilnej oblasti ale proximálne od disulfidických väzieb ťažkých reťazcov, čo má za následok vznik dvoch samostatných epitop viažúcich Fab fragmentov. Pepsín enzymaticky degraduje C_H2 časti molekuly imunoglobulínu čo má za následok vznik fragmentov, ktoré zriedkavo, ak vôbec tvoria kryštály

6.5 B Prepojenie IgE na povrch bazofilov a mastocytov spôsobí degranuláciu buniek a uvoľnenie vazoaktívnych amínov zodpovedných za zápalovú reakciu. U ľudí ani IgA ani IgG nesúvia s alergickou odpoveďou. Histamín je uvoľnený z mastocytov čo je následkom prepojenia IgE na povrch buniek

6.6 A Klasická cesta komplementu začína rozpoznávaním komplexov antigénu s protilátkou prostredníctvom prvej súčasti komplementu, C1q. Následné kroky v klasickej ceste zafixujú aktiváciu súčastí C4, C2 C3 a produkcia C3 konvertázy vedie k produkcii C5 konvertázy a jej začleneniu do MAC. Antigén viazaný na IgA neaktivuje klasickú cestu.

6.7 B Funkciami komplementu je uľahčiť lýzu mikroorganizmov rozpoznávaním mikroorganizmov a ich označením protilátkami opsonizáciou mikróbov väzbou C3 fragmentov a uvoľnením anafylatoxínov C3a, C5a a C4a. Imunoglobulínové molekuly nie sú rozkladané komplementom. Klasická cesta je aktivovaná len komplexami Ag-Ab a sama nerozpoznáva epitopy mikroorganizmov. Komplement nesúvisí s vývojom lymfocytov a nespúšťa uvoľnenie histamínu.

6.8 B Dendritické bunky, monocyty a makrofágy vytvárajú molekuly MHC II triedy. Len niektoré bunky obsahujúce jadro majú MHC II molekuly a medzi ne nepatria mastocyty ani T bunky. Erytrocyty nevytvárajú MHC II molekuly.

6.9 A TCR – receptor T buniek – je heterodimér zložený z polypeptidov $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$ reťazcov. Ani $\alpha\beta$ a $\gamma\delta$ reťazce, ani s nimi súvisiace molekuly (CD3 a CD 247) nie sú pospájané disulfidickými väzbami. TCR rozoznávajú pMHC komplexy na antigén prezentujúcich bunkách. TCR sa nachádzajú len na povrchoch T buniek a nie sú voľné a prítomné v roztoku.

6.10 E Selektíny sú adhézne molekuly, ktoré sa zúčastňujú na rozpoznávaní, ktoré prebieha medzi rôznymi typmi buniek a tkanív. Protilátky neslúžia ako sprievodcovia takéhoto cieleného umiestnenia. CD8 a CD3 sú súčasťami T buniek, nie B buniek a sú zodpovedné za cielené spojenie lymfocytov. Súčasti komplementu môžu byť chemoatraktanty pre leukocyty, ale priťahujú leukocyty v podstate do miesta imunitnej odpovede a nie do špecifického orgánu.

6.11 A CD4 T bunky sa nazývajú pomocné T bunky. CD8 T bunky sa nazývajú T cytotoxické alebo supresorické – podľa ich funkcie. GLyCAM – 1 je adhézna molekula nachádzajúca sa na niektorých epiteliálnych bunkách ciev v lymfatických uzlinách. IgA a IgG sa nenachádzajú na T bunkách.

6.12 D. STAT dimér sa presunie do jadra. JAK sú cytosolové tyrozín kinázy, ktoré sa viažu na intracelulárnu oblasť receptora, ktorý podstúpil tyrozín fosforyláciu a nikdy nevstupuje do jadra. Ras je na membránu viazaný GTP viažúci proteín, ktorý je viazaný na cytosolové proteíny s SH2 časťou, ktorá tiež viaže fosfotyrozínové zvyšky s intracelulárnou časťou receptora . Katalytické receptory signalizujú stimuláciou tyrozín kinázy buď o receptore samotnom (vnútorná aktivita) alebo spojením s nonreceptorovými tyrozín kinázami (napr. JAK)., ale žiaden z nich nevstupuje do jadra.

7. Bunky a orgány

I. Prehľad

Na rozdiel od morfológicky odlišných buniek systému vrodenej imunity, lymfocyty špecifickej imunity vyzerajú rovnako, jediné čo ich môže odlišovať je veľkosť., môžu byť malé (4 – 7 μm), stredné (7 – 11 μm) alebo veľké (11 – 15 μm). Lymfocyty môžu byť zhruba rozdelené podľa antigén-špecifických receptorov, ktoré vytvárajú prostredníctvom preskupenia génov a podľa orgánu, v ktorom sa vyvíjajú. Tieto bunky môžu byť považované za vojakov špecifickej imunity. Rovnako ako vojaci majú často kombináciu povrchových molekúl, ktoré slúžia ako „výložky“ naznačujúce postavenie a funkciu. Bunky špecifickej imunity podstupujú tiež „základný výcvik“ v špecializovaných výcvikových centrách (kostná dreň alebo týmus), potom „bivakujú v špecializovaných lokalitách (slezina, lymfatické uzliny, lymfatické tkanivo), môžu podstúpiť „špecializačné štúdium“ (diferenciácia) a sú transportované z jednej oblasti do druhej krvným alebo lymfatickým riečiskom.

II. Lymfocyty

Imunitný systém musí byť schopný odlišiť **vlastné** molekuly, bunky a orgány od **cudzích**. Vrodený imunitný systém to robí vytvorením PRR – receptorov rozpoznávajúcich patogény na povrchu svojich buniek., čo sú receptory, ktoré rozpoznávajú štruktúry potenciálnych invázných organizmov (kapitola 5). Mechanizmy získanej imunity naproti tomu využívajú somaticky generované epitop-špecifické receptory na T a B bunkách (TCR a BCR). Tieto receptory sú nanovo a náhodne vytvorené na každom individuálnom lymfocyte rekombináciou génov ešte pred stretnutím s antigénom (viac v kapitole 8). Žiadne 2 osoby ani dvojčaná, nemajú rovnaké špecifické imunitné systémy. Lymfocyty sú obvykle definované tým , kde podstupujú „základný výcvik“: v týmuse (**T bunky** a **NK bunky** alebo **NKT bunky**) alebo v kostnej dreni (**B bunky**). Sú tiež definované typom receptorov, ktoré majú na svojom povrchu: TCR (T bunky a NKT bunky), BCR alebo imunoglobulíny (B bunky) alebo žiaden (NK bunky).

A. Na týmuse závislé bunky

T bunky sú hlavnými hráčmi väčšiny špecifických imunitných mechanizmov. Zúčastňujú sa priamo na imunitných reakciách a tiež riadia a regulujú aktivity iných buniek. T bunky vznikajú z hematopoetických kmeňových buniek v kostnej dreni. Nezrelé T bunky nazývané prothymocyty migrujú do tymusu, kde už ako tymocyty vytvoria TCR a podstúpia skrining schopnosti odlišiť vlastného od cudzieho. Hoci väčšina thymocytov neuspje pri tomto skriningu a sú zničené, tie, ktoré prešli výberom a prežili sú schopné ďalšej diferenciácie a dozrievajú na T bunky a vstupujú do cirkulácie. Cesta vývoja T buniek je diskutovaná ďalej v kapitole 9. Hoci T bunky. Hoci T bunky zabezpečujú rozsiahlu špecificitu mechanizmov získanej imunity (kapitoly 8 -19), všetky majú molekuly CD3 (cluster of differentiation-3), ktoré súvisia s TCR na povrchu T bunky. Dve ďalšie molekuly CD sú potrebné na identifikáciu podskupín CD3 T buniek., sú to CD4 a CD8 a toto jednoznačne odlišuje ich imunitné funkcie.

1. **CD4 T bunky:** Tieto bunky tvoria asi 2/3 všetkých zreých CD3 buniek. CD4 molekuly na povrchu týchto T buniek rozpoznávajú časť MHC II molekuly, ktorá neviaže peptid (obr. 7.1). Ako následok CD4 T bunky, nazývané T helper (Th) bunky sú obmedzené na rozpoznanie pMHC II komplexu (MHC II s naviazaným peptidom).

2. **CD8 T bunky:** Tieto bunky tvoria 1/3 zrelých CD3 T buniek. CD8 molekuly na povrchu týchto T buniek rozpoznávajú časť MHC I molekuly, ktorá neviaže peptid. Ako následok toho CD8 T bunky sú určené na rozpoznanie pMHC I komplexu (obr. 7.2). Funkčne sú CD8 T lymfocyty **cytotoxické T (Tc)** a **supresorové T (Ts)** bunky. Tc bunky identifikujú bunky tela, ktoré sú infikované intracelulárnymi organizmami ako napríklad vírusmi alebo intracelulárnymi baktériami a eliminujú bunky infikované týmito mikroorganizmami. Ts bunky fungujú ako bunky, ktoré znižujú a usmerňujú mechanizmy získanej imunity.

B. Bunky odvodené z kostnej drene

Nie všetky lymfocyty odvodené z kostnej drene podstúpia preškolenie v týmuse. Niektoré bunky lymfoidnej línie zostávajú a vyvíjajú sa ďalej v kostnej dreni a sú prekursorami buniek produkujúcich imunoglobulíny. Tieto lymfocyty odvodené z kostnej drene – B lymfocyty – alebo B bunky syntetizujú imunoglobulín, ktorý sa umiestni na ich povrchu, kde funguje ako BCR. Plazmatické bunky sú odvodené z diferencovaných zrelých B buniek a tie syntetizujú a secerňujú imunoglobulín.

1. **B bunky** – vznikajú z hematopoetickej kmeňovej bunky v kostnej dreni. Nevcestujú do týmusu, ale sa ďalej vyvíjajú v kostnej dreni. B bunky vznikajú z dvoch rôznych línií B-1 a B-2 bunky. Tak sa nazývajú podľa toho, ktoré sa vyvíjajú skôr v embryonálnom vývoji. B-1 bunky sú samo obnovujúca populácia, ktorá prevláda v pleurálnej a peritoneálnej dutine. Naproti tomu konvenčné alebo B-2 bunky vznikajú počas a po neonatálneho obdobia a sú hlavne prítomné v lymfoidných orgánoch a tkanivách. Každá B bunka je špecifická, a to v tom, že produkuje imunoglobulín jedinej protilátkovej špecificity, ktorý rozpoznáva len jeden epitop. Podobne ako T bunky existuje obrovská diverzita B buniek, pričom každá produkuje jedinú formu imunoglobulínu, ktorá vytvorí celkový rozsah imunoglobulínovej (protilátkovej) odpovede (obr. 7.3).
2. **Plazmatické bunky** – sú odvodené z terminálne diferencovaných B buniek a sú bunkami produkujúcimi a secerňujúcimi imunoglobulíny. Prestávajú používať imunoglobulín ako membránový receptor a namiesto toho ho secerňujú do tekutiny okolo buniek. Plazmatické bunky s väčšou veľkosťou a metabolickou aktivitou sú fabrikami, ktoré produkujú veľké množstvá imunoglobulínov počas ich krátkeho života trvajúceho menej ako 30 dní. S/ charakterizované byzhoofilnou cytoplazmou, jadrom, ktoré má hviezdovitý tvar a nefarbiaci sa Golgiho aparát (Obr. 7.4).

C. Prirodzené zabíjače

Približne 5% - 10% periférnych lymfocytov nemá markery ani T buniek (CD3) ani B buniek (povrchové imunoglobulíny). Tieto bunky sú prirodzené zabíjače (NK bunky), čo odráža ich schopnosť zabíjať niektoré vírusom infikované bunky alebo nádorové bunky bez predchádzajúcej senzibilizácie (kapitola 4 a 5). Ich granulárny vzhľad je spôsobený prítomnosťou cytoplazmatických granúl, ktoré môžu byť uvoľnené, aby poškodili membrány buniek, ktoré napádajú. NK bunky sa vyvíjajú v kostnej dreni a nemajú TCR produkované preskupením TCR génov (kapitola 8). Majú iné iné receptory, ktoré sa nazývajú KAR (receptory aktivujúce zabíjače - killer activating receptors) a KIR (receptory inaktivujúce zabíjače - killer inactivating receptors), ktoré dovošujú rozpoznať hostiteľské bunky, ktoré možno musia byť zabité. (obr. 7.5 v ľavo). Navyac, jedinečná

podskupina T buniek označované ako NKT pretože majú niektoré funkčné charakteristiky podobné ako NK bunky, vyvinuté v týmuse a majú tiež TCR vzniknuté preskupením s veľmi obmedzeným repertoárom (Obr. 7.5 v priamo). Na rozdiel od bežných T lymfocytov, NKT bunky odpovedajú na lipidy, glykolipidy alebo hydropóbné peptidy prezentované špecializovanými neklasickými molekulami MHC I triedy, CD1d a secerajú veľké množstvá cytokínov predovšetkým interleukín –4 (IL-4).

III. Lymfoidné tkanivá a orgány.

Leukocyty sa môžu nachádzať v tele ako samostatné bunky v tkanivách a cirkulácii., vo forme nahromadenia v lymfoidnom tkanive (napr. Peyerove pláty), alebo v lymfoidných orgánoch (napr. týmus, lymfatické uzliny, slezina) (obr. 7.6). Lymfoidné orgány sú klasifikované ako **primárne** alebo **sekundárne**. Lymfocyty sa vyvíjajú v primárnych orgánoch (týmus a kostná dreň). Sekundárne lymfoidné orgány (slezina, lymfatické uzliny, nahromadenie lymfocytov v tkanive) vychrávajú a koncentrujú imunogény a poskytujú miesto, kde sa obrovské množstvá cirkulujúcich imunokompetentných buniek môžu kontaktovať navzájom. Špecifické imunitné reakcie sa súšťajú interakciami, ktoré sa vyskytujú v sekundárnych lymfoidných tkanivách.

A. Primárne orgány

Primárne lymfoidné orgány, týmus a kostná dreň, slúžia ako výučbové centrum pre lymfocyty. Zatiaľčo majú všetky lymfocyty svoj pôvod v kostnej dreni, tie, ktoré sa majú stať T bunkami sú odoslané vo včasnom období vývoja do týmusu na „vyššie vzdelanie“, aby rozpoznávali cudzie a vlastné. Ostatné línie lymfocytov, ktoré dostanú výchovu „doma“ a zostávajú v kostnej dreni, sa stanú B bunkami. Stromálne bunky v týmuse aj kostnej dreni úzko spolupracujú a regulujú vývoj T a B lymfocytov. Vývojové detaily B a T buniek sú opísané v ďalších kapitolách.

1. **Týmus:** Dvojľaločnatý **týmus** je prvým lymfoidným orgánom, ktorý sa vyvíja. Zväčšuje sa v priebehu fetálneho a novorodenenckého obdobia a progresívne zaniká od puberty. Kmeňové bunky z kostnej drene sa nazývajú protymocyty, ktoré sú určené pre T bunkovú líniu migrujú cirkuláciou do kôry týmusu. V novom prostredí, nazývajú sa tu **kortikálne tymocyty** (obr. 8.4), získavajú TCR ako aj CD4 a CD8 povrchové molekuly. Jedným z prvých testov, ktoré tieto tzv. dvojito pozitívne tymocyty (DP, pretože majú CD4 aj CD8) podstupia nazývaný pozitívna selekcia, je rozpoznanie MHC I (prostredníctvom CD8) alebo MHC II (prostredníctvom CD4) (obr. 7.7). Pokiaľ sa to nestane poriadne na tomto stupni, znamená to, že dôjde k uvoľneniu DP tymocytov. Tymocyty, ktoré prešli pozitívnou selekciou, nevyjadrujú obidve molekuly (CD4 aj CD8) a stávajú sa **jedinečne pozitívne** (SP) CD4 alebo CD8 bunky. SP tymocyty postupujú do drene, kde sa stretnú s antigén – prezentujúcimi bunkami (APC). Na tomto stupni, nazývajú sa **negatívna selekcia**, tie ktoré úzko spolupracujú s MHC alebo pMHC sú nasmerované podstúpiť programovanú bunkovú smrť (**apoptózu**). Obrovské množstvo tymocytov sa dostáva do týmusu, ale menej ako 5% tymocytov následne ukončí tento proces. Procesy pozitívnej a negatívnej selekcie budú detailne popísané v kapitole 9.
2. **Kostná dreň:** Lymfocytová línia, ktorej bunky sa neskôr stanú imunoglobulín produkujúcimi lymfocytmi podstupia svoju včasnú diferenciáciu v **kostnej dreni**. Vytvoria BCR preskupením génov DNA, vyjadria ďalšie pomocné molekuly akými sú Igα a Igβ a vyjadria na povrchu IgM molekulu a to predtým ako opustia kostnú dreň. Ako pri T bunkách v týmuse, spolupráca so

stromálnymi bunkami v kostnej dreni slúži na reguláciu vývoja B buniek. Stále v kostnej dreni, náhodne vytvorené BCReceptory niektorých B buniek môžu rozpoznáť a viazať molekuly vlastného prostredia. Podľa definície sú tieto bunky auto-reaktívne, reagujúce na vlastné molekuly organizmu. Na tejto úrovni vývoja naviazanie na BCReceptory spustí u buniek, ktoré ich majú proces apoptotickej smrti. Tento mechanizmu odstráni auto-reaktívne bunky. Vývojová dráha B buniek je detailnejšie popísaná v kapitole 9

B. Sekundárne lymfoidné tkanivá a orgány

Bunkové interakcie sú nevyhnutné pri vývoji špecifickej získanej imunitnej odpovede. Sekundárne lymfatické tkanivo zabezpečuje funkciu filtra, ktorý odstraňuje cudzie materiály, odumrené bunky a proteínové zhluky z cirkulácie. Krvné cievy a lymfatické cievy, ktoré uľahčujú pohyb lymfocytov, monocytov a dendritických buniek do a z týchto orgánov bohato zásobujú sekundárne lymfatické tkanivá. Špecializované oblasti cievneho systému, nazývané high endotelial vessels, dovoľujú pohyb buniek bezi krvou a tkanivami alebo orgánmi cez, cez ktoré prechádzajú. Leukocyty bohato prítomné v sekundárnych lymfatických orgánoch uľahčujú bunkové interakcie, poskytujú leukocytom prostredie, v ktorom sa môžu „porovnávať“, vymieňať regulačné signály, podstúpiť ďalší vývoj a proliferovať predtým ako vstúpia do cirkulácie. Hlavnými sekundárnymi lymfatickými orgánmi sú slezina a lymfatické uzliny. Tonzily a Peyerové pláty posobia ako sekundárne nahromadenie lymfoidného tkaniva.

1. **Slezina:** Najväčší lymfatický orgán, **slezina** odstraňuje korpuskulárne častice z krvi a koncentrujú antigény a mikroorganizmy z krvi. Okrem B a T lymfocytov a ostatných leukocytov, slezina obsahuje veľký počet plazmatických buniek secerujúcich imunoglobulíny do cirkulácie. Je histologicky rozdelená na **bielu pulpu** bohatú na lymfocyty a na erytrocyty bohatú **červenú pulpu**. Biela pulpa obkolesuje malé arterioly.
2. **Lymfatické uzliny:** Malé okrúhle alebo oválne periférne a sekundárne lymfoidné orgány, lymfatické uzliny sú nahromadením leukocytov vyskytujúce sa periodicky v cirkulácii lymfatického systému (obr. 7.6). Fungujú ako filtre na očistenie **lymfy**, tekutiny a bunečných súčastí lymfatickej cirkulácie a poskytujú miesro na kontakty lymfocytov, monocytov a dendritických buniek a následné spustenie imunitných odpovedí. Anatomicky sú lymfatické uzliny rozdelené na **kôru** a **dreň** (obr. 7.8). **Reticulum** alebo sieť orgánu je zložená z fagocytujúcich a špecializovaných retikulárných alebo dendritických buniek. Lymfocyty sú distribuované hlavne do dvoch oblastí v kôre (obr. 7.9). **Povrchová časť kôry** je naplnená zhlukmi lymfocytov vytvárajúcich **moduly** alebo **folikuly**. Niekedy sa nazýva tymus-nezávislá oblasť a obsahuje predovšetkým B bunky. Keď dochádza k imunitnej odpovedi, vyvíja sa vo folikuloch centrálna oblasť s veľkými proliferujúcimi bunkami, nazývaná **germinálne centrum**. **Hlboká časť kôry** je na T bunky bohatá oblasť. Cirkulujúce bunky vstupujú do vonkajšej kortikálnej oblasti cez krvné alebo lymfatické cievy a potom prechádzajú cez vnútornú-hlbokú časť kôry a do drene, predtým ako opustia lymfatickú uzlinu.
3. **MALT – mucosa associated lymphoid tissues – slizničné lymfoidné tkanivá:** Okrem sleziny a lymfatických uzlín aj ďalšie miesta

umožňujú interakcie medzi cirkulujúcimi leukocytmí vrátane tonzíl v nazofaryngu a Peyerových plátoch v submukóze povrchov tenkého čreva (obr. 7.10). Tieto sekundárne lymfoidné tkanivá ochraňujú slizničné povrchy a sú loklizované v miestach najčastejšieho vstupu mikroorganizmov do tela. Peyerove pláty fungujú podobne ako lymfatické uzliny a slezina, bunky vstupujú do kortikálnej oblasti, podporujú kontakty s antigén prezentujúcimi bunkami (APC), B bunkami a T bunkami a bunky odchádzajú cez dreňovú časť.

C. Lymfatický cirkulačný systém

Leukocyty a ich produkty používajú dva cirkulačné systémy. Jeden, kardiovaskulárny, je zodpovedný za cirkuláciu krvi (jej rozpustných, voľných aj bunkových súčastí) v tele. Druhý systém, lymfatický cirkulačný systém (obr. 7.6) je rozsiahla kapilárna sieť, ktorá zbiera **lymfu**, priezračnú tekutinu obsahujúcu leukocyty a bunkové zbytky, z rôznych orgánov a tkanív. Lymfatické cievy v klkoch tenkého čreva obsahujú mliečnu tekutinu, **chylus**, produkovanú pri trávení. Lymfatické kapiláry drénujú do väčších lymfatických ciev, ktoré ďalej ústia do lymfatických uzlín, kde dochádza k filtrácii. Následne sa kmene lymfatických ciev spájajú a vytvárajú **ductus thoracicus**, ktorý odvádza lymfu do a.s. subclavia.

Súhrn

- **CD4+T** bunky tvoria asi 2/3 zrelých T buniek obsahujúcich CD3+. CD4 molekuly objavujúce sa na povrchoch týchto T buniek rozpoznávajú tú časť MHC molekuly II triedy, ktorá neviaže peptidy.
- **CD8+T** bunky tvoria asi 1/3 zrelých T buniek obsahujúcich CD3+. CD8 molekuly objavujúce sa na povrchoch týchto T buniek rozpoznávajú tú časť MHC molekuly I triedy, ktorá neviaže peptidy.
- **B bunky** tvoria dve samostatné línie: B-1 a B-2 bunky. B-1 bunky sa vyvíjajú skôr ako B-2 bunky. Každá B bunka je špecifická, to znamená, že produkuje imunoglobulín len jednej protilátkovej špecificity, ktorý rozpozná len jeden epitop.
- **Plazmatické bunky** sú odvodené z terminálne diferencovaných B buniek a sú imunoglobulín produkujúce a secerňujúce bunky.
- Asi 5% - 10% periférnych krvných lymfocytov nemá povrchové markery CD3 (pre T lymfocyty) a povrchové imunoglobulíny (pre B lymfocyty). Tieto bunky sa nazývajú **natural killer, NK bunky, prirodzené zabijáče**, čo odzrkadľuje ich schopnosť zabíjať niektoré nádorové bunky bez predchádzajúcej senzibilizácie.
- Lymfoidné orgány sú klasifikované ako primárne alebo sekundárne. Lymfocyty sa vyvíjajú v primárnych lymfoidných orgánoch: **týmus a kostná dreň**. Sekundárne lymfoidné orgány (**slezina, lymfatické uzliny**, nahromadenie lymfoidného tkaniva) vychytávajú a koncentrujú imunogény a poskytujú miesto, kde veľké množstvá cirkulujúcich imunokompetentných buniek vstupuje do vzájomného kontaktu. Najväčší lymfoidný orgán, slezina, odstraňuje nepotrebné častice z krvi a koncentruje antigény a mikróby z krvi.
- Okrem sleziny a lymfatických uzlín existujú aj iné miesta, ktoré uľahčujú interakcie medzi cirkulujúcimi leukocytmí., sú to tonzily v nazofaryngu a Peyerove pláty v submukóze tenkého čreva.
- Lymfatické uzliny sú lokalizované v priebehu lymfatických ciev, v ktorých sa nachádza a cirkuluje **lymfa**., vodnatá zmes obsahujúca bunkové zbytky a leukocyty. Lymfatické uzliny pôsobia ako filtre na odstránenie bunkových zbytkov a mikroorganizmov z lymfy predtým ako sa vyleje do krvnej cirkulácie.

Obrázky

7.1 Predstavujúce asi 2/3 všetkých T lymfocytov, CD4+T bunky sú „ťažnými koňmi“ získaných imunitných mechanizmov. Majú na povrchu TCRreceptory súvisiace s CD3 signalizačným komplexom a CD4 molekulou na ich povrchu

7.2 Približne 1/3 T buniek nachádzajúcich sa v periférnej krvi sú CD8+ T bunky, ktoré majú TCRreceptory súvisiace s CD3 signalizujúcou molekulou a CD8 dimérom na svojom bunkovom povrchu.

7.3 Lymfocyty odvodené z kostnej drene alebo B bunky, syntetizujú imunoglobulínové molekuly, ktoré sa nachádzajú v B bunkách aj na ich bunkovom povrchu. Na povrchu fungujú ako epitop-špecifický receptor B buniek (BCR). S BCR súvisiace Igα a Igβ molekuly prenášajú signál do bunky, keď sa špecifický epitop naviaže na BCR.

7.4 Plazmatické bunky sú terminálne diferencované B bunky, ktoré syntetizujú aj secerujú imunoglobulínové molekuly. Morfologicky sú odlišiteľné od lymfocytov, ich cytoplazma obsahuje zvýšené množstvo ribozómov a ER. Imunoglobulínové molekuly sú pospájané v Golgiho aparáte (nefarbitel'nom), skôr ako sú exportované do extracelulárnej tekutiny

7.5 Prirodzené zabíjače (NK) a prirodzené T zabíjače (NKT) spájajú obidva imunitné systémy - vrodenný aj získaný. NK bunky sú charakteristicky veľké granulárne lymfocyty, ktoré nemajú ani TCRreceptory ani BCRreceptory a majú receptory pre stresové molekuly (KAR - killer activation receptors – receptory pre aktiváciu zabíjačov) a pre MHC molekuly I triedy (KIR - killer inhibition receptors receptory pre inhibíciu zabíjačov).. Na rozdiel od NK buniek, NKT bunky majú len nízku úroveň TCRreceptorov s veľmi obmedzeným repertoárom špecifícit.

7.6 Lymfatické cievy, lymfoidné orgány a tkanivá. Lymfatické cievy slúžia ako drénujúpci systém na odstránenie bunkových zvyškov a mikróbov z tkanív tela do lymfatických uzlín. Kmene lymfatických ciev sa spájajú a vytvárajú ductus thoracicus prostredníctvom, ktorého sa lymfa dostáva do kardiovaskulárnej cirkulácie.

7.7 Vzdelávanie v týmuse. Mnohí sú „prijatí“, ale len niektorí „promujú“. Čerstvé, skoré tymocyty sa nazývajú dvojito pozitívne – (DP) pretože majú CD4 aj CD8 molekuly okrem TCRreceptorov. *Pozitívna selekcia:* Tymocyty, ktoré rozpoznávajú MHC I molekuly prostredníctvom CD8 laebo MHC II molekuly prostredníctvom CD4 prechádzajú prvou skúškou a sú promovane., ostatné zahynú. *Negatívna selekcia:* Tymocyty, ktoré silne spolupracujú s (vlastné) MHC alebo pMHC (s MHC na ktorom je naviazaný špecifický peptid) neuspjú alebo podstúpia apoptotickú smrť. Tie, ktoré prejdú negatívnou selekciou postupujú ďalej a opúšťajú týmus ako T bunky

7.8 Cirkuláci lymfy cez lymfatické uzliny. Aferentné lymfatické cievy vstupujú do kortikálnej časti lymfatickej uzliny. Na leukocyty a zvyšky bohatá lymfa prúdi v lymfatickej uzline, kde obmýva fagocytujúce bunky (makrofágy a dendritické abunky), ktoré odstraňujú odumreté a zomierajúce bunky, bunkové zvyšky a mikroorganizmy z lymfy. Lymfa opúšťa uzliny cez efferentnú lymfatickú cievu. Cievy kardiovaskulárneho systému transportujú leukocyty do a z lymfatickej cievy.

7.9 Rez lymfatickej cievy z obr. 7.8 – trojuholníkový výrez. Špecializované cievy v s vysokým endotelom poskytujú miesto vstupu pre leukocyt do lymfatickej uzliny z kardiovaskulárnej krvnej cirkulácie. Oblasti bohaté na B bunky (povrchová kôra

a germinálne centrá) sú anatomickými miestami produkcie imunoglobulínov. Hlboká kôra a dreňové oblasti sú miestami usídlenia T lymfocytov a ich aktivácie.

- 7.10 MALT sú anatomicky umiestnené v strategických oblastiach, ktorými vstupujú mikroorganizmy do tela. A. Tonzily sú lokalizované ako obranný okruh okolo nosohltanu v mieste vstupu do respiračného aj gastrointestinálneho systému. B. Peyerove pláty sú nahromadením lymfoidného tkaniva, ktoré leži pod klkami tenkého čreva (v oblasti ohraničenej bodkovanou čiarou). C. Črevné klky obsahujú intraepiteliálne lymfocyty, intersticiálne leukocyty a drénujúce najmenšie lymfatické cievy, ktoré slúžia na zber vzoriek z prostredia čreva a na ochranu čreva pred mikroorganizmami.

Otázky

7.1 TCRreceptory – receptory na T bunkách – ak komunikujú s CD8 molekulami, tak sú určené na rozpoznanie a naviazanie fragmentov peptidov spojených s

- A. CD3 molekulami
- B. CD4 molekulami
- C. MHC molekulami I triedy
- D. MHC molekulami II triedy
- E. MHC molekulami III triedy

7.2 B lymfocyty syntetizujú a vyjadrujú imunoglobulín

- A. obsahujúci špecifické receptory pre viaceré epitopy
- B. fagozóme v cytoplazme
- C. v membránovom komplexe, ktorý obsahuje aj CD3
- D. na povrchovej membráne bunky
- E. len po opustení kostnej drene

7.3 Primárne lymfoidné orgány sú tie, v ktorých

- A. je spustená imunitná odpoveď získanej imunity
- B. filtračný systém odstraňuje cudzí materiál
- C. veľké množstvá cirkulujúcich leukocytov vstupujú do vzájomného kontaktu
- D. lymfocyty podstupujú svoju základnú diferenciáciu
- E. PRR viažu antigény

7.4 Týmus je miestom prvej diferenciácie

- A. B buniek
- B. Erytrocytov
- C. Hematopoetických kmeňových buniek
- D. NK buniek
- E. T buniek

7.5 Lymfatické uzliny majú dve základné oblasti:

- A. kôru a dreň
- B. Lymfu a kôru
- C. Retikulum a kôru
- D. Lymfu a dreň
- E. Retikulum a dreň

7.6 Ktorá z uvedených molekúl je vyjadrená na povrchu zrejlej CD4 bunky

- A. BCR

- B. CD1d
- C. CD3
- D. CD8
- E. CD19

7.7 Pozitívna selekcia sa týka:

- A. Schopnosti buniek s jedinou pozitivitou viazať MHC I aj MHC II
- B. Kortikálnych rymocytov, ktoré pri nej získajú TCR
- C. Migrácie kmeňových buniek do týmusu, kde sa stanú T bunkami
- D. Programovanej smrti T buniek s jedinou pozitivitou
- E. Rozpoznania MHC tymocytni obsahujúcimi CD4 aj CD8 (DP., CD4+CD8+)

7.8 Ktoré z uvedených sú primárne lymfoidné orgány

- A. kostná dreň
- B. lymfatická uzlina
- C. Peyerove pláty
- D. Slezina
- E. Tonzily

7.9 Biela pulpa sleziny je bohatá na

- A. erytrocyty obsahujúce hemoglobín
- B. CD4+CD8+T bunky viazané na MHC
- C. NK bunky rozpoznávajúce cieľovú štruktúru
- D. Plazmatické bunky secerujúce imunoglobulín
- E. Prekursorov buniek vyvíjajúce sa do zrelých B buniek.

Komentár

7.1 C CD8 T ylmfocyty sú určené na rozpoznanie pMHC I komplexov. CD3 molekuly súvisia s TCR na povrchu T buniek. A nachádzajú sa na CD4 aj CD8 T bunkách. CD4+Tbunky sú určené na rozpoznanie pMHC II komplexov. MHC molekuly III triedy obsahujú súčasti komplementu C4, Bf a C2 a nesúvisia s rozpoznávaním T bunkami.

7.2 D B bunky syntetizujú a vyjadrujú imunoglobulín na ich povrchu . Imunoglobulíny v konkrétnej B bunke majú špecifitu len pre jediný epitop a nie pre viaceré epitopy. Cytoplazmatické fagozómy sú zahrnuté do degradácie nežiadúcich materiálov. Memebárnové komplexy obsahujúce aj CD3 sú receptory T buniek (TCReceptory) na povrchoch T buniek. B bunky majú na povrchu IgM predtým ako opustia kostnú dreň.

7.3 D Primárne lymfoidné orgány sú miestami, kde lymfocyty podstupujú ich prvotnú diferenciáciu. Odpovede získanej imunity sú spustené zrelými lymfocytmi, ktoré migrovali z primárnych lymfoidných orgánov. Dekundárne lymfoidné orgány obsahujú filtračné mechanizmy na odstránenie cudzích materiálov. Cirkulujúce leukocyty sa nachádzajú v krvi a lymfe a v sekundárnych lymfoidných orgánoch, ale nie v primárnych lymfoidných orgánoch. PRR – nešpecifické receptory sú vyjadrené na bunkách vrodého imunitného systému. (Kapitola 5)

7.4 E Týmus je miesto pôvodnej diferenciácie T buniek. Erytrocyty sa vyvíjajú z erytroidných prekursorov v kostnej dreni. Hematopoetické kmeňové bunky sa diferencujú jednou z viacerých línií v kostnej dreni. NK bunky sa vyvíjajú v kostnej dreni a nemajú TCReceptory so špecifitou vzniknuté preskupením

7.5 A Lymfatické uzliny sú rozdelené na kôru a dreň. Lymfa je vodnatá tekutina cirkulujúca v lymfatickej sieti, ktorá obsahuje leukocyty a celulárne zbytky z viacerých orgánov a tkanív. Retikulum je oporná kostra lymfatickej uzliny, ktorá je zložená z fagocytov a špecializovaných druhov retikulárnych a dendritických buniek.

7.6 C Zrelé T bunky (CD4+ a CD8+) majú CD3, molekulový komplex súvisiaci s TCR. CD4+ bunky sú T bunky s T pomocnou funkciou a nemajú receptory B buniek. CD1d je špecializovaná neklasická molekula MHC triedy I na NKT bunkách. CD8 je molekula vyjadrená na T cytotoxických a supresorických bunkách. CD19 je vyjadrená na B bunkách.

7.7 E Pozitívna selekcia sa týka rozpoznania MHC triedy I (bunkami CD8) alebo MHC triedy II (bunkami CD4) dvojito pozitívnymi DP týmocyty (CD4+CD8+). Jedinečne pozitívne tymocyty (a T bunky) sú buď CD8+ alebo CD4+ a rozpoznávajú buď molekulu MHC I triedy (CD8+) alebo molekulu MHC II triedy (CD4+), ale nikdy nie obidve. Kortikálne tymocyty získajú originálny TCR a CD4 a CD8 povrchové molekuly, čo vedie k vytvoreniu DP – dvojito pozitívnych tymocytov (CD4+CD8+). Prekurzorové T bunky migrujú alebo sú prenesené z kostnej drene do týmusu predtým ako získajú CD4+ a CD8+, čo nadobudnú ako kortikálne tymocyty. Programová bunková smrť, apoptóza, je osudom buniek, ktoré podstúpili proces negatívnej selekcie potom, čo zlyhali v procese pozitívnej selekcie.

7.8 A Kostná dreň je primárnym lymfoidným orgánom. Lymfatické uzliny, Peyerove pláty, slezina a tonzily sú sekundárne lymfoidné orgány.

7.9 D Biela pulpa sleziny je obohatená o plazmatické bunky secernujúce imunoglobulín, a obsahuje aj T a B lymfocyty. Erytrocyty sa nachádzajú v červenej pulpe sleziny. CD4+CD8+ T bunky sa nachádzajú v týmuse. Prirodzené zabíjače (NK) fungujú v periférnej krvi. Prekurzory B buniek sa nachádzajú v kostnej dreni.

8. Vygenerovanie imunologických odlišností: Receptory pre antigény na lymfocytoch

I. Súhrn

Špecifita imunoglobulínových receptorov pre konkrétne epitopy, ktoré sú vyprodukované na B a T bunkách ako BCR receptory resp. TCR receptory je určená predtým ako sa stretnú s antigénom. Naviac počet možných epitop viažúcich špecifických presahuje mnohonásobne počet génov v ľudskom genóme. Je to zaujímavý paradox: Ako môže imunitný systém vygenerovať takmer neobmedzené množstvo antigén špecifických molekúl z obmedzeného množstva génov? To ako to genetika imunitného systému robí je fascinujúce a elegantné zároveň.

II. Vlastnosti receptorov na lymfocytoch určených pre antigény

Domény lokalizované na amínokonci (NH) ťažkých a ľahkých reťazcov imunoglobulínov (variabilná alebo V_H a V_L oblasť) vytvorené rôznymi B bunkami sa výrazne odlišujú sekvenciou aminokyselín. Na rozdiel od toho, ostatné oblasti, označené ako koniec C alebo konštantné oblasti, majú obmedzenú variabilitu imunoglobulínov toho istého izotypu vyprodukovaných rôznymi B bunkami. Ľahké reťazce majú jedinou konštantnú doménu (C_L , alebo aj C_κ pre kapu reťazce alebo C_λ pre lambda reťazce), a ťažké reťazce majú viaceré konštantné oblasti C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} a u niektorých aj C_{H4} domény. DNA segmenty obsahujúce gény pre ťažký alebo ľahký reťazec a pre obidve – pre variabilné aj konštantné oblasti sú preskupené, prepísané do RNA a preložené do jediného ťažkého alebo ľahkého reťazcového polypeptidu. Jednotlivci kodominantne dedia materský a otcovský set alel (od každého 1) pre lokusy ľahkého reťazca a lokusy ťažkého reťazca. Jediná B bunka alebo plazmatická bunka môže exprimovať len kapu ($V_\kappa C_\kappa$) alebo lambda ($V_\lambda C_\lambda$) alely ľahkého reťazca, buď od matky alebo otca, čo vylúči všetky ostatné (Obr. 8.1). Podobne, jediná B bunka môže vyjadriť len materské alebo otcové $V_H C_H$ alely pre ťažké reťazce, ale nikdy nie od oboch. Reštrikcia, obmedzenie vyjadrenia $V_L C_L$ a $V_H C_H$ len jedného člena z možných chromozomálnych párov sa nazýva **vylúčenie alel**. Avšak kombinovaná účasť všetkých B buniek znamená, že ako materské tak aj otcovské **alotypy** (alelické formy) sú vyjadrené u každého konkrétneho jedinca). *Alotyp – typ imunoglobulínu charakteristický pre daného jedinca.*

Tie isté princípy sú prítomné pre kódovanie génov $\alpha\beta$ a $\gamma\delta$ T bunkových receptorov, ktoré tak isto obsahujú ľahké reťazce (α alebo γ) aj ťažké reťazce (β alebo δ). Každý reťazec pozostáva z variabilnej oblasti na amino konci a konštantnej oblasti na karboxy konci. Variabilné oblasti reťazcov sú určené preskupením génov v DNA, ktoré ich kódujú a vytvorením mRNA prepisu, vrátane oboch ako variabilných tak aj konštantných oblastí. Rozdelenie mRNA prepisu, ktorý je potom preložený do polypeptidových reťazcov, pokračuje spojením variabilnej a konštantnej oblasti.

III. DNA preskupenie

Imunológovia odhadujú, že každý človek má schopnosť vyprodukovať sadu antigén špecifických receptorov schopných viazať at' 10^{15} rôznych epitopov. Preskupenie DNA na chromozóme je zodpovedné za významnú časť odlišností špecifických receptorov T a B buniek pre epitopy. Preskupenie sa deje na DNA aj RNA **deléciou** nukleotidov, po ktorej nasleduje napojenie segmentov génov, ktoré boli pôvodne odpojené (Obr. 8.2). **Inverzia** niektorých DNA sekvencií, predovšetkým v oblasti V_κ vedie k sekvencii nukleotidov rovnakej dĺžky aká existovala pôvodne (obr. 8.2). Ďalšia variabilita vyplýva z **junkčnej diverzity** (obr. 8.3), pretože „exponované“ konce génových segmentov (V , D a J gény), ktoré podstupujú preskupenie sú modifikované ďalším pridaním alebo odobratím nukleotidov prostredníctvom deoxynukleotidyl transferázy (TdT) predtým ako sú gény pospájané. Takže, dokonca ak sa majú spojiť dva rovnaké gény, sekvencia nukleotidov pri ich spojení môže byť odlišná a sekvencie kódovaných aminokyselín budú odlišné.

IV. TCR – špecifický receptor na T bunke

Ako bolo spomenuté vyššie, T bunky vytvárajú charakteristické povrchové receptory pre špecifické epitopy (TCR), ktoré sú heterodimérmi zloženými z $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$ párov ľahkého a ťažkého reťazca. Každý polypeptid obsahuje jedinú doménu variabilnej oblasti a jedinú doménu konštantnej oblasti. T bunky vytvárajú a majú komplexy TCR zložené z

- $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$ (nikdy nie obidva) TCR heterodimérovým párom spojeným s
- CD3 ($\gamma\delta$ a ϵ a CD247 homodimér ζ -reťazca) a
- CD4 alebo CD8

Súvisiace transmembránové molekuly (CD4 alebo CD8) stabilizujú interakciu TCR so špecifickou kombináciou MHC s peptidom (pMHC). Ostatné, akými sú CD3 komplexy, sa zúčastňujú procesu prenosu signálu potom ako sa TCR spojil s ligandom (obr. 8.4). Krátka cytoplazmatická časť TCR neobsahuje signalizačnú sekvenciu alebo imunoreceptor ITAM (imunoreceptor pre tyrozín aktivujúce motívy). CD3 a CD247 molekuly plnia takúto funkciu. Na rozdiel od protilátok TCR nedokážu viazať voľné epitopy. Môžu viazať len enzymaticky spracované fragmenty väčších polypeptidov, ktoré sú prezentované prostredníctvom komplexov MHC s peptidom (pMHC).

A. Skupiny (lokusy) génov kódujúce TCReceptory

Skupiny génov kódujúce α a δ reťazce TCReceptoru na chromozóme 14 sú umiestnené tak, že skupina pre gény δ reťazca (D_δ , J_δ a C_δ lokusy) ležia v skupine α génov medzi D_α a J_α lokusmi (obr. 8.5). Gény kódujúce β a γ reťazce sú lokalizované v oddelených zhlukoch na chromozóme 7. Prvá úroveň TCR diverzity pochádza z DNA rekombinácie pri vytváraní variabilných oblastí. Výber V, D a J génov na preskupenie sa zdá byť náhodný pre každú bunku: 2475 sekvencií pre α reťazec ($45V_\alpha \times 55J_\alpha$) $\times$ 1200 sekvencií pre β reťazec ($50V_\beta \times 2D_\beta \times 12J_\beta$). Náhodné spojenie α a β reťazcov vytvorí takmer 3 milióny rôznych špecifít pre väzbu epitopov na $\alpha\beta$ reťazcoch. Pre $\gamma\delta$ TCReceptory, 25 sekvencií pre γ reťazec ($5V_\gamma \times 5J_\gamma$) $\times$ 24 sekvencií pre δ reťazec ($2V_\delta \times 3D_\delta \times 4J_\delta$) vytvorí 600 $\gamma\delta$ TCR rôznych špecifít pre väzbu epitopu. Junkčná diverzita, proces sprostredkovaný TdT (obr. 8.3) prispieva k diverzite inzerciou alebo deléciou až 20 nukleotidov v čase rekombinácie. Tým sa celkový počet možných TCR špecifít zvyšuje o niekoľké rádov.

B. Variabilné oblasti: Preskupenie V, D, a J génov

TCReceptory sú vygenerované rekombinačnými enzýmami alebo **rekombinázami** (napr. Rag-1 a Rag-2), ktoré sprostredkujú genetické preskupenie a rekombináciu, čo sú procesy podobné tým, ktoré uvidíme pri imunoglobulínoch (časť V.B a V.C ďalej v tejto kapitole). Každá T bunka produkuje $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$ TCR heterodiméry, nikdy nie obidvoje. Preskupenie génov začína excísiou a deléciou DNA medzi V_α a J_α (pre gény ľahkých, obr. 8.5) alebo V_δ a D_δ (pre gény ťažkých reťazcov). Pretože súbor genetického materiálu pre δ reťazec leží v súbore pre α ľahký reťazec (medzi V_α a J_α), začatie rekombinácie génov pre α reťazec spôsobí deléciu DNA pre δ reťazce. Podobne spustenie rekombinácie pre δ reťazec (medzi V_δ a D_δ) vylučujú DNA rekombináciu α ľahkého reťazca (detaily v obr. 8.6).

C. Spojenie variabilnej a konštantnej oblasti

Gény pre konštantnú časť TCR (už preskupené do VJ a VDJ) sú spojené so zodpovedajúcim ľahkým reťazcom VJ (C_α alebo C_γ) transkripciou do mRNA, následným odelením a deléciou časti mRNA. Spojené VJC (C_α alebo C_γ) alebo VDJC (C_β alebo C_δ) prepisy sú následne preložené do proteínov, ktoré sú spoločným produktom preskupených génov.

D. Náhodné kombinácie ľahkých a ťažkých reťazcov

Genetické preskupenie a junkčné odlišnosti náhodne vytvárajú TCR reťazce, ktoré sú odlišné medzi jednotlivými T bunkami ale nie v jednej T bunke. Každá vyvíjajúca sa T bunka náhodne produkuje jedinečnú kombináciu ľahkého a ťažkého reťazca ($\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$) s jedinečnou špecifitou. Teoretický počet možných kombinácií vytvorený v tele je možné odhadnúť ako produkt počtu možných ľahkých reťazcov a počet možných ťažkých reťazcov (obr. 8.7). Imunológovia odhadujú 1 milión až 5 miliónov kombinácií epitop-viažúcich špecifít TCR receptorov. Ale na rozdiel od génov pre imunoglobulín, TCR receptory nepodstupujú následné zmeny ekvivalentné preladeniu tried a somatických hypermutácií, ktoré existujú pri imunoglobulínoch a ďalej zvyšujú možnosť ich diverzity (detaily v časti V.E a V.G ďalej v tejto kapitole).

V. BCR – špecifický receptor na B bunke

Preskupenie génov pre imunoglobulíny sa vyskytuje v skorých štádiách diferenciácie prekursoru B bunky a predtým ako je exponovaný antigénu. Toto preskupenie génov, spolu s vylúčením alel, umožňuje vytvorenie variabilných oblastí, ktoré rozpoznávajú veľkú časť antigénneho sveta. Jediná B bunka produkuje imunoglobulín jednej epitopovej špecifity (a jedného izotypu) (izotyp – trieda, spôsobený odlišnosťou v konštantných častiach ťažkých reťazcov) vytvorený spojením ľahkého a ťažkého reťazca a situovaný v plazmatickej membráne (obr. 8.8). Preskupená DNA kódujúca imunoglobulíny v B bunkách je prepísaná do primárnej RNA, sekvencie sú vytvorené v mRNA a polypeptidy sa spoja v Golgiho aparáte odkiaľ sú nasmerované buď na membránu B buniek alebo na sekréciu plazmatickými bunkami.

A. Súborný génov kódujúce receptory B buniek

Súborný génov kódujúce κ ľahké reťazce sa nachádzajú na chromozóme 2, zatiaľ čo tie, ktoré kódujú λ ľahké reťazce na chromozóme 22. Ťažké reťazce majú kódujúce gény lokalizované na chromozóme 14. Možných antigén viažúcich kombinácií je viac ako 26 miliónov. Detaily sú na obr. 8.9

B. Ľahké reťazce

Ako už bolo ukázané, ľahké reťazce imunoglobulínov obsahujú 2 oblasti alebo domény: variabilná oblasť (V_L) a konštantná oblasť (C_L). Každý jednotlivý B lymfocyt vygeneruje proteíny identického ľahkého reťazca a to buď typu κ alebo λ ($V_\kappa C_\kappa$ alebo $V_\lambda C_\lambda$) nikdy nie obidva typy alebo kombinácia obidvoch.

- 1. Variabilné oblasti: Preskupenie V a J génov:** Na vytvorenie variabilnej oblasti ľahkého reťazca typu κ alebo λ sa jeden zo 100 možných segmentov génov (V_κ alebo V_λ) môže kombinovať s jedným zo štyroch alebo piatich J_λ segmentov na úrovni DNA, tak aby sa vytvoril VJ pár. DNA je potom odstránená a degradovaná. Spôsob akým sa jeden V gén spojí s iným J génom je náhodný pre každú bunku. Takže vrámci veľkého počtu B buniek môže byť vygenerovaných viacero stoviek rôznych VJ jednotiek.
- 2. Spojenie variabilnej a konštantnej časti:** sa uskutoční na úrovni mRNA. Časť mRNA obsahujúca variabilnú oblasť (VJ jednotka) a konštantnú oblasť je prepísaná, následne oddelená tak, aby sa spojili 2 oblasti, čím sa vytvorí mRNA prepis, ktorý môže byť preložený priamo do jedného polypeptidu. Detaily tohto procesu sú na obr. 8.10.

C. Ťažké reťazce

Jediný súbor génov kóduje imunoglobulínový ťažký reťazec. Ťažké reťazce obsahujú jediná variabilnú oblasť (V_H) a tri alebo štyri (C_H1 , C_H2 , C_H3 a niekedy C_H4) domény konštantnej oblasti.

1. **Variabilné oblasti: Preskupenie V, D a J génov:** Na vytvorenie variabilnej časti ťažkého reťazca sa jeden z asi 200 génov pre ťažké variabilné reťazce (V_H) sa kombinuje s jedným z viacerých D_H génov a jedným z viacerých J_H génov. DNA je potom odstránená a degradovaná (detaily obr. 8.11). DNA delécia spojí náhodne vybrané D a J, aby sa vytvorila DJ a ďalšia delécia spojí náhodne vybraný V gén s DJ čím sa vytvorí VDJ. Výber jednotlivých v, D a J génov, ktoré budú napojené je náhodný v každej bunke. Tak sa v rámci veľkého počtu B buniek môže vytvoriť niekoľko tisícov rôznych VDJ jednotiek.
2. **Spojenie variabilnej a konštantnej oblasti:** sa uskutočňuje rovnako ako pri ľahkých reťazcoch, na úrovni mRNA. Prepis mRNA obsahujúci oddelené variabilné (VDJ) a konštantné oblasti sa vytvorí a následne oddelí tak aby sa potom vytvoril prepis, ktorý je priamo prepísaný do jediného polypeptidu (obr. 8.11).

D. Kombinácia ťažkých a ľahkých reťazcov

Rovnako ako pri TCR receptoroch špecificita väzby antigénu na imunoglobulín je určená kombináciou (náhodnou pre každú bunku) variabilných oblastí ľahkých a ťažkých reťazcov. Každá jednotlivá B bunka syntetizuje imunoglobulín jedinej špecificity (jedinečná kombinácia V_L oblasti a V_H oblasti a milióny takých kombinácií je teoreticky možných (obr 8.12).

E. Preladenie tried – izotypu: mechanizmus

Jedinečná kombinácia V_L a V_H oblastí a účinok vylúčenia alel spôsobia to, že každá individuálna B bunka syntetizuje imunoglobulín jedinej špecificity. Nestimulované B bunky syntetizujú a vyložia monomér IgM (a IgD) na svoj bunkový povrch. Po stimulácii B bunky môžu zmeniť izotyp, ale nie špecificitu imunoglobulínu, ktorý produkujú. Tento proces nazývaný **preladenie tried** ovplyvní charakter humorálnej imunitnej odpovede.

Intracelulárny mechanizmus stimulovaných B buniek produkuje imunoglobulíny jediného izotypu v danom čase. Imunoglobulíny môžu byť považované za „balistické strely“ získanej imunity, ich V oblasti tvoria špecifické „hlavice“ a ich konštantné oblasti „nosné rakety“. Hoci jediná B bunka môže vyrobiť jediný typ „hlavice“, môže ju umiestniť na rôzne typy „nosných hlavíc“ konštantných častí. Izotyp určuje či budú protilátky aktivoval komplement alebo budú secernované do lumen, či na slizničné povrchy, alebo budú ukotnené v niektorých tkanivách tela. Preladenie tried dovoľuje získanej imunite produkovať protilátky rozvakej špecificity, ktoré sú schopné spustiť rôzne imunitné odpovede. Ako bude diskutované ďalej, T bunky sú obvykle potrebné na aktiváciu a stimuláciu B buniek, ktoré potom proliferujú, dôjde k preladeniu tried a k ich diferenciacii na imunoglobulín secernujúce plazmatické bunky.

F. Preladenie tried – následky

Prvotná alebo primárna odpoveď na jeden epitop je predovšetkým charakterizovaná protilátkami izotypu IgM. Nie všetky B bunky, ktoré sú na začiatku stimulované antigénom (primárna odpoveď) sa menia na plazmatické bunky, syntetizujú a secernujú imunoglobulín pre zvyšok ich života. Niektoré stimulované B bunky, **pamäťové bunky**, sú uchovávané

v rezerve pre prípad budúcej expozície tomu istému antigénu. Ako odpoveď na opakovanú stimuláciu epitopom cytokíny T bunky (IL4, IFN.- γ , IL-5), a ostatné signály, pamäťové B bunky syntetizujúce IgM môžu podstúpiť ďalšie preskupenie a dôjde k zmene triedy alebo izotypu . Tieto pamäťové B bunky podstúpia ďalšie DNA preskupenie a priložia VDJ oblasti génov k C oblastiam génov rôznych ťažkých reťazcov (obr. 8.13 A) a tak zmeniť ich mRNA prepis a následne izotyp imunoglobulínu (IgG, IgA alebo IgE), ktorý je produkovaný.

Preskupenie na vytvorenie jednotlivých izotypov sa môže uskutočniť prostredníctvom excízie veľkého DNA segmentu alebo delécie menších DNA segmentov (obr. 8.13B). Ako výsledok, ak budeme sledovať odpoveď B bunky na určitý epitop v priebehu času a na opakovanú stimuláciu, zaznamenáme, že pôvodne v odpovedi dominujú IgM produkujúce bunky, potom IgG produkujúce bunky, s prípadným výskytom IgA a IgE produkujúcich buniek. (Obr. 8.14). Preladenie izotypu sa obmedzuje na B bunky., neexistuje nič podobné v procese vývoja T buniek.

G. Somatická hypermutácia

Po následnej expozícii epitopu, pamäťové B bunky môžu zmeniť izotyp a môže sa naakumulovať určitý počet mutácií v DNA, kódujúcich V_L alebo H_L (V_L a V_H) oblasti počas rýchlej proliferácie, ktorá nasleduje po restimulácii (Obr. 8.15). Tento proces **somatická hypermutácia** poskytuje ďalšie variácie, ktoré vylepšujú protilátkovú odpoveď na antigény, ktoré sa často alebo chronicky vyskytujú. Niektoré mutácie môžu zvyšovať afinitu väzby protilátok pre daný epitop a toto zvýšenie afinity spôsobí, že tieto bunky proliferujú rýchlejšie po väzbe antigénu. Ako výsledok interakcia protilátky a epitopu sa stáva pevnejšia a efektívnejšia v priebehu času. Takýto proces sa nazýva **dozrievanie afinity**. Rovnako ako preladenie izotypu, aj somatická hypermutácia sa vy skytuje len u B buniek a nie u T buniek.

Súhrn

- Ťažké aj ľahké reťazce imunoglobulínov a TCR obsahujú variabilné oblasti, ktoré sú extrémne odlišné a obsahujú aj konštantné oblasti, ktoré sú relatívne podobné
- Reštrikcia exprese – prejavenia sa $V_H C_H$ a $V_L C_L$ na jediný člen chromozómového páru na ktorejkoľvek B alebo T bunky sa nazýva **vylúčenie alel**. Prítomnosť materských aj otcovských alelických foriem (**allotypov**) je možné nájsť u každého jedinca.
- Variabilné oblasti imunoglobulínov a TCR sú vytvorené preskupením (na úrovni DNA) mnohopočetných génov, ktoré sú prepísané do prepisu jedinej mRNA, ktorý obsahuje informácie pre variabilnú aj konštantnú oblasť. Variabilná a konštantná oblasť sú potom navzájom spojené spletením mRNA, čím sa vytvorí prepis, ktorý môže byť priamo preložený do jediného polypeptidu.
- Preskupenie chromozomálnej DNA je zodpovedné za významnú časť odlišností epitopových špecifít TCReceptorov a BCReceptorov. Preskupenie sa uskutočňuje na úrovni DNA aj RNA odstránením nukleotidov (**delécia**) po ktorom nasleduje spojenie alebo **inverzia** niektorých DNA sekvencií. Ďalšia variabilita môže vzniknúť prostredníctvom **junkčnej diverzity**.
- Rekombinačné enzýmy alebo rekombinázy sprostredkujú genetické preskupenie a rekombináciu, ktoré generujú variabilné oblasti TCReceptorov a imunoglobulínových reťazcov.
- Preskupenie génov kódujúcich TCReceptory a imunoglobulínové molekuly sa uskutočňuje vo včasných štádiách diferenciácie prekursorov T a B buniek, pred expozíciou buniek antigénom.
- Súborny fénov kódujúcich α a δ reťazce TCReceptora sú uložené tak, že všetky gény pre δ reťazce (D_δ , J_δ a C_δ) ležia medzi génmi pre D_α a $J_\alpha + C_\alpha$.
- Súborny génov kódujúce imunoglobulínové ľahké reťazce κ a λ a ťažké reťazce sa nachádzajú na odlišných chromozómoch.
- Počiatočná a primárna protilátková odpoveď na epitopy je charakterizovaná predovšetkým tvorbou IgM izotypu.
- Pamäťové B bunky ako odpoveď na následnú restimuláciu antigénom a na spoluprávu s T bunkami podstúpi ďalšie DNA preskupenie, ktoré priloží preskupené VDJ gény bližšie ku génom kódujúcim C oblasť ťažkých reťazcov, čím sa zmení izotyp produkovaného imunoglobulínu (IgG, IgA alebo IgE). Teto proces sa nazýva **preladenie tried**.
- **Somatická hypermutácia** je proces, pri ktorom sú pamäťové B bunky stimulované následnou expozíciou tomu istému epitopu. Malé bodové mutácie sa vyskytujú v DNA génoch kódujúcich V_L a V_H oblastí počas rýchlej proliferácii, ku ktorej prichádza po restimulácii antigénom
- **Dozrievanie afinity** je proces, pri ktorom sa väzba antigénov na daný epitop stáva lepšou v priebehu viacerých reexpozícií. Je to spôsobené nahromadením malých mutácií, ktoré môžu ovplyvniť väzbové miesta pre antigén a pozitívna selekcia buniek nesúcich tieto mutácie potom vyústí do silnejšej väzby.

Obrázky

8.1 Vylúčenie alel. Súbor génov pre ľahké a ťažké reťazce imunoglobulínov sú lokalizované na odlišných chromozómových pároch, každý pár má chromozóm od matky aj od otca. Každá B bunka a jej predchodca používa len jeden otcovský chromozóm na kódovanie svojich ľahkých (2 alebo 22)) a ťažkých (14) reťazcov. Každá B bunka používa len tieto jediné zhľady génov pre variabilnú oblasť počas celého svojho života na produkciu imunoglobulínov, čím vylučuje všetky ostatné.

8.2 Preskupenie chromozómu. Segmenty DNA kódujúce sériu génov sú preskupené deléciou časti DNA. Priblížením zostávajúcich segmentov (proces nazývaný annealing) dôjde k spojeniu génov, ktoré boli pôvodne vzdialené na chromozóme. Navyše, DNA preskupenie sa niekedy uskutoční inverziou segmentov DNA, čím sa zmení lineárna sekvencia génov bez odstránenia časti DNA.

8.3 Junkčná diverzita. Terminálna deoxynukleotidyl transferáza (TdT) môže pridať alebo odstrániť exponované konce DNA pred spojením, čo vytvorí ďalšie variácie sekvencie nukleotidov.

8.4 TCRreceptory. T bunky obsahujú heterodimér receptora, ktorý je $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$. CD3 komplex sa napája na TCR, čo spôsobí prenos signálu do vnútra bunky, keď sa TCR spojí s peptidom naviazaným na MHC (pMHC) a vytvorí komplex.

8.5 Súbor génov kódujúcich reťazce TCR. Súbor génov kódujúcich TCR ľahké reťazce sú lokalizované na chromozóme 14 (α reťazec) a 7 (γ reťazec) a ťažké reťazce na chromozóme 7 (β reťazec) a 14 (δ reťazec).

8.6 Preskupenie a vytvorenie $\alpha\beta$ TCR. Na vytvorenie α reťazca dôjde k delícii DNA, čím sa spoja náhodne vybrané V a J gény. Vytvorí sa mRNA prepis, ktorý obsahuje spojenie VJ génov a génu pre konštantnú časť. Tento prepis je potom spletený, tak že sa vytvorí jednotka obsahujúca VJC gény, čím sa vytvorila mRNA, ktorá môže byť priamo prepísaná do polypeptidu, obsahujúceho spojené VJC segmenty. Podobný proces sa vyskytuje pri β reťazci pripojením D génov, čím sa vytvorí VDJ variabilná oblasť. $\gamma\delta$ TCRreceptory sú syntetizované podobným spôsobom.

8.7 Vytvorenie oblasti TCR na väzbu peptidu naviazaného na MHC (pMHC)

8.8 BCRreceptory (receptor na B bunke, imunoglobulín). BCRreceptory sú zložené z dvoch identických imunoglobulínových ľahkých (κ alebo λ) a dvoch identických ťažkých reťazcov. Reťazce Ig α a Ig β spojené s povrchom bunky prenášajú signály do vnútra bunky, keď sa ligandy naviažu na BCR.

8.9 Súbor génov kódujúce reťazce BCRreceptorov. Súbor génov kódujúce ľahké reťazce (κ alebo λ) BCRreceptora sú lokalizované na chromozóme 2 resp 22. Každý súbor obsahuje sériu V génov, sériu J génov a jednu alebo viac génov konštantných (C). Súbor pre ťažký reťazec jedného BCR je lokalizovaný na chromozóme 14. Obsahuje sériu V génov, sériu D génov a sériu J génov a sériu konštantných (C) génov.

8.10 Preskupenie na vytvorenie ľahkých reťazcov BCRreceptora. Preskupenie na vytvorenie κ a λ reťazcov. DNA je odstránená, tak aby sa spojili náhodne vybraný V gén a J gén. Potom sa vytvorí mRNA prepis, ktorý obsahuje spojenie VJ génov a konštantného génu. Tento

prepis je následne napojený, aby sa vytvorila jednotka VJC génov, ktoré potom vytvoria mRNA, ktorá bude priamo preložená do polypeptidu obsahujúceho VJC segmenty.

8.11 Preskupenie na vytvorenie ťažkého reťazca BCR. DNA je odstránená medzi náhodne vybranými D a J génmi, čím sa vytvorí DJ sekvencia, po ktorej nasleduje ďalšia delícia a vytvorí sa VDJ jednotka. Vytvorí sa prepis mRNA a dôjde k spojeniu, čím sa vytvorí jednotka VDJ génov spojená s μ alebo δ génmi (zostávajúce gény pre konštantnú oblasť sa použijú v neskorších štádiách vývoja B bunky), ktorá môže byť priamo preložená do IgM alebo IgD ťažkých reťazcov. Pôvodné B bunky súčasne vyjadria IgM a IgD s identickou špecifitou pre epitop na ich bunkových povrchoch.

8.12 Vytvorenie väzbového epitop špecifického miesta na TCR receptore kombináciou variabilných oblastí ťažkého a ľahkého reťazca. Každá B bunka produkuje jedinu variabilnú oblasť na ľahkom reťazci a jedinu na ťažkom reťazci. Avšak v populácii B buniek mnoho možných kombinácií ľahkých a ťažkých reťazcov vytvára množstvo väzbových miest rôznych špecifít.

8.13 Preladenie tried. **A.** Po prvej aktivácii, ktorá nastane po kontakte so špecifickým epitopom (spolu s ďalšími interakciami), B bunky prestanú produkovať IgD a väčšina z nich sa diferencuje na plazmatické bunky, ktoré začnú secerňovať IgM. Niektoré B bunky sa stanú pamäťovými bunkami a zostávajú v kludovom stave až do budúceho použitia. V tomto bode vývoja majú na povrchu IgM. Avšak ak dôjde k reaktivácii po novom kontakte so špecifickým epitopom a k vhodnej interakcii s T bunkami, môže dôjsť k ďalšiemu preskupeniu v oblasti génov pre ťažké reťazce na úrovni DNA a k priloženiu ich VDJ jednotiek k ostatným génom pre konštantné oblasti. VDJ jednotky nie sú dotknuté týmito preskupeniami. Ktorýkoľvek konštantný gén je prinesený do blízkosti VDJ, ten určí, ktorý gén ťažkého reťazca bude exprimovaný a ktorý ťažký reťazec bude následne produkovaný. Opäť sa väčšina týchto buniek bude diferencovať na plazmatické bunky secerňujúce imunoglobulíny de novo generovaného izotypu, ale niektoré zostanú opäť ako pamäťové bunky pre následné použitie.

8.13 **B.** Preladenie tried sa môže uskutočniť viacerými spôsobmi. Niektoré preladenia môžu zahŕňať delíciu väčšej oblasti DNA a spoja VDJ segmenty so vzdialenejšími génmi pre konštantné oblasti. Inokedy opakovaná reaktivácia pamäťových B buniek môže mať za následok sériu kratších delícií a IgM pamäťové B bunky sa môžu zmeniť na IgG pamäťové bunky a potom sa môžu reaktivovať opäť a preladiť ešte na ďalší izotyp.

8.14 Následky preladenia izotypu. Opakovaná a konštantná stimulácia tým istým epitopom zmení B bunky exprimujúce IgM na iný izotyp. Špecifita epitopu nie je zmenená preladením tried.

8.15 Somatická hypermutácia. B bunky podstupujú mnohopočetné kolá rýchlej proliferácie po antigénnej stimulácii. Bunky nesúce mutácie, ktoré majú za následok silnejšiu väzbu sú stimulované k proliferácii a stávajú sa dominujúcimi v imunitnej odpovedi. Tak sa produkujú protilátky so stále sa zvyšujúcou afinitou pre epitop, tento proces sa nazýva dozrievanie afinity.

Otázky

8.1 U pacienta, u ktorého sa neskôr vyvinie alergia na určitý antigén, pôvodná odpoveď na antigén bola tvorená imunoglobulínom IgM triedy. Avšak v priebehu času sa stanú dominantnými antigén špecifické IgE. Táto zmena z IgM na IgE je spôsobená:

- A. dozrievanie imunity
- B. vylúčenie alel
- C. preladenie isotypu
- D. junkčná diverzita
- E. somatická hypermutácia

8.2 Dvojročné dieťa exponované antigénu po prvý krát má B bunku s imunoglobulínom špecifickým pre tento antigén. Toto môže byť najlepšie vysvetlené:

- A. antigén-nezávislým preskupením génov imunoglobulínu
- B. stimuláciou produkcie T bunkových cytokínov antigénom
- C. materskými protilátkami proti danému antigénu
- D. pamäťovými B bunkami, ktoré rozpoznávajú antigén
- E. somatickou hypermutáciou imunoglobulínov

8.3 Sérové imunoglobulíny obsahujúce od matky aj od otca odvodené V_K ľahké reťazce sa nachádzajú u jedného jedinca. Určitá B bunka však má len matkiné alebo otcové V_K reťazce, ale nikdy nie obidvoje. Toto je spôsobené procesom nazývaným

- A. vylúčenie alel
- B. diverzita protilátok
- C. preladenie izotypov
- D. junkčná diverzita
- E. náhodné spojenie VD a VDJ

8.4 Úlohou terminálnej deoxynukleotidyl transferázy (TdT) vo vývoji protilátkovej diverzity je

- A. pridať/odstrániť nukleotidy V, D a J génov
- B. spojiť VD a J segmenty navzájom v ťažkých reťazcoch
- C. zvyšuje väzobnú afinitu protilátok pre antigén
- D. spojí C_L s C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} alebo C_{H4} doménami
- E. prenesie V_L alely z materského na otcovský chromozóm

8.5 Keď je pamäťová B bunka restimulovaná pre ňu špecifickým antigénom, malé bodové mutácie, ktoré sa akumulujú v DNA kódujúcej variabilné oblasti ľahkých aj ťažkých reťazcov môžu mať za následok

- A. to, že antigénom-stimulované VDJ sa spoja a vytvorí sa nová antigénna špecificita
- B. zmenu produkcie IgM an IgG
- C. preskupenie v DNA chromozómome a zmenu antigénnej špecificity
- D. Inaktiváciu materskej alebo otcovskej V_L a V_H alely
- E. Vytvorenie protilátok so zvýšenou afinitou pre väzbu daného epitopu.

Komentár

8.1 C Preladenie izotypu je proces, pri ktorom sa preskupené VDJ gény v pamäťovej B bunke priložia vďaka DNA excízii z hornej 5' oblasti génov s rôznymi vzdialenými oblasťami génov (3'). Dozretie afinity protilátok pre epitop je nezávislé na izotype. Pre B bunky, ktoré majú „určité“ gény od otca alebo matky pre variabilnú oblasť imunoglobulínu,

neexistuje možnosť premeny. Junkčná diverzita a somatická hypermutácia sa týka väzbových miest pre antigén a neovplyvňuje preladenie tried.

8.2 A Určenie špecificity protilátok sa uskutoční pred a nezávisle na tom, kedy sa jednotliviec po prvý krát stretol s antigénom. Tento proces začína vývojovo počas prenatálneho a neonatálneho života. Tento proces je nezávislý od rozpustných faktorov (cytokínov) produkovaných T bunkami a vyskytuje sa nezávisle na imunitných funkciách matky. Podľa definície pamäťové B bunky sa už predtým stretli s antigénom. Somatická hypermutácia sa vyskytuje len po predchádzajúcej expozícii antigénu.

8.3 A Určitá B bunka alebo plazmatická bunka vyjadruje jedinú materskú alebo otcovskú alelu chromozómového páru. Tento proces známy ako vylúčenie alel, sa týka génov ťažkých aj ľahkých reťazcov. Ďalšie vylúčenie dovoľí prejavenie sa len k (chromozómu 2) alebo l (chromozómu 22) génov, nikdy nie oboje v tej istej bunke. Vylúčenie alel má malý vplyv na genetickú diverzitu, preladenie tried, junkčnú diverzitu a náhodné spojenie V(D)J spojenie, ktoré sa vyskytuje potom ako sú alely vybraté alebo vylúčené.

8.4 A TdT pridáva alebo odstraňuje nukleotidy, keď sú konce V, (D) a /alebo J segmentov génov exponované. Tento proces nazývaný ako junkčná diverzita sa vyskytuje pri DNA preskupení. Vyskytuje sa navyše okrem fúzie VDJ segmentov ťažkého reťazca a vyskytuje sa pred expozíciou B bunky antigénu. Konštantná oblasť ľahkého reťazca (C_L) sa nikdy nespája s konštantnou oblasťou ťažkého reťazca (C_H), aby sa vytvoril polypeptid. Cross-over medzi materskými a otcovskými V_L alelami je veľmi vzácnou udalosťou a TdT sa toho netýka.

8.5 E Nahromadenie bodových mutácií, ktoré ovplyvnia variabilné oblasti ľahkých a ťažkých reťazcov môže zvýšiť afinitu väzby pre antigén vylepšením antigén špecifického miesta imunoglobulínovej molekuly. Tieto bodové mutácie sa vyskytujú po vylúčení alel a VDJ napojení a nezdá sa, že by ovplyvnili preladenie tried.

9. Vývoj lymfocytov

I. Súhrn

Epitop-špecifické receptory na T a B bunkách (TCR resp. BCR) sú náhodne vygenerované v lymfocytoch jedinca produkovaných a diferencovaných v týmuse resp. kostnej dreni preskupením génov. Nie je prekvapujúce, že niektoré lymfocyty vytvoria receptory, ktoré reagujú aj na vlastné epitopy. Ale selekčné mechanizmy sú spôsobom, ktorý odstraňuje tieto bunky predtým ako sa stanú úplne funkčné a napadnú vlastné telo alebo jeho tkanivá. Získané mechanizmy imunitného systému regulujú vývoj a diferenciáciu lymfocytov, aby sa predišlo dozretiu T a B buniek reagujúcich na vlastné štruktúry.

Vyvíjajúca sa z **hematopoetickej kmeňovej bunky** v kostnej dreni, spoločný lymfoidný prekursor (CLP – common lymphocyte precursor) bunkovej lymfocytovej línie sa diferencuje v týmuse (T bunky) alebo zostáva v kostnej dreni (B bunky). Navyiac, B a T bunková línia sa ďalej delí (Ta. 9.1., obr. 4.2). Bunky v T vývojovej línii sa diferencujú v týmuse jednou z troch vývojových ciest: tie, ktoré majú $\alpha\beta$ TCR receptory., tie ktoré majú $\gamma\delta$ TCR., a tie ktoré majú funkčné vlastnosti prirodzených zabíjačov - NK bunky. Dozrievanie v týmuse v každej z týchto skupín sa navzájom odlišuje v jednom alebo viacerých bodoch: v rozsahu týmusovej špecializácii, vo vstupe a výstupe z týmusu, diverzitou ich TCR receptorov, distribúciou v tele, charakterom odpovedí na rôzne kategórie epitopov. B bunkové línie, označované ako B-1 a B-2, sa odlišujú rôznymi znakmi, ktoré odlišujú aj podskupiny T buniek.

II. T bunková línia

Prekursor T bunky, známe ako **prothymocyty**, migrujú z kostnej dreni do týmusu vďaka účinku molekúl týmusu (napr. lymfotaktin). Protymocyty vstupujú v kôrovej oblasti, teraz sa nazývajú **thymocyty**, neobsahujú TCR receptory, ani CD3, CD4 a CD8 povrchové molekuly. Novo pricestované tymocyty rýchlo získajú všetky tieto molekuly. Musia potom podstúpiť selekčné testy pri prechode z kôry do drene. Selekčné procesy majú také kritériá, že asi len 1 – 5% všetkých tymocytov ich prejde a bunky sa stávajú T bunkami. Ostaných 95% - 99% buniek opúšťa týmus pred touto selekciou ($\gamma\delta$ T bunky) alebo podstúpia apoptózu, po tom, čo nesplnili kritériá selekcie.

A. Štruktúra týmusu

V období konca 3. gestačného mesiaca, dvojlaločný týmus je zaplnený populáciou lymfocytov, ktoré sú umiestnené do hustejšej vonkajšej oblasti – **kôry** a redšej (slabšej) vnútornej oblasti – **dreni** (obr. 9.1). Poživové tkanivo púzdra vysiela smerom do vnútra **trabekuly** a ohraničuje týmus. Ďalšie bunkové typy v týmuse sú **epiteliálne retikulárne** bunky, čo je nešpecifický termín pre viaceré bunkové typy ako napr. dendritické bunky, makrofágy a epiteliálne bunky, ktoré slúžia ako pomocné bunky pre vývoj a diferenciáciu tymocytov. Epiteliálne retikulárne bunky ako aj bunky organizované do koncentrických prstencov nazývaných **Hassalove telieska**, majú molekuly MHC a secernujú hormóny súvisiace s diferenciáciou tymocytov. Dreňové **postkapilárne venuly** sú dôležité na nasmerovanie zrelých T buniek z týmusu von.

B. Vývoj $\alpha\beta$ T buniek

Protymocyty vstupujú do subkapsulárnej oblasti týmusu z cirkulácie, kde proliferujú. Tieto novo pricestované kortikálne tymocyty sa nazývajú **dvojito negatívne (DN)** bunky, pretože nemajú ani CD4 ani CD8 (ani TCR alebo CD3 komplex). Čoskoro si vytvárajú $\alpha\beta$ TCR, ktorý sa napája na CD3 komplex a obidvoje CD4 aj CD8 molekuly, ako aj receptory a adhezívne molekuly dôležité pre interakciu s ostatnými bunkami a ich pohyb v týmuse. Pretože majú obidva typy molekúl CD4 aj CD8, tieto nezrelé tymocyty nazývame **dvojito pozitívne (DP)** bunky. V procese známom ako **pozitívna selekcia**, DP tymocyty odumierajú

v priebehu 3 alebo 4 dní pokiaľ nerozpoznali a nenaviazali sa na **MHC** alebo **pMHC** molekulu vyjadrenú niektorými epiteliálnymi retikulárnymi bunkami (kortikálne epiteliálne bunky) v kôre. Tento proces eliminuje tymocyty, ktoré sú neschopné rozpoznať vlastné MHC. Bunky, ktoré prešli testom pozitívnej selekcie a lokalizujú sa v kortikomedulárnom spojení, môžu vstúpi do drene., tie, ktoré neprejdú testom, odumierajú. DP bunky, ktorých CD8 molekuly sa spojili s (p)MHCI následne prestanú exprimovať CD4 molekuly a stávajú sa **jedinečne pozitívne** CD8+ bunkami (**SP**). Podobne tie, ktoré sa naviažu na (p)MHC II prestávajú vyjadrovať CD8 a stávajú sa SP CD4+ bunkami (Obr. 9.2).

Bunky, ktoré prežili pozitívnu selekciu potom prekonávajú ďalší stupeň testovania nazývaný **negatívna selekcia** a to vtedy, keď prídu do oblasti kortikomedulárneho spojenia. Tam stretávajú a spolupracujú s druhou skupinou retikulárných buniek (APC ako napríklad dendritické bunky a makrofágy). Tie, ktoré účinne viažu vlastné peptidy pMHC I alebo pMHC II na týchto APC sú potenciálne autoreaktívne a podstúpi apoptotickú smrť. Tymocyty, ktoré prešli pozitívnu a negatívnu selekciou, sú uvoľnené z týmusu, vstupujú do cirkulácie cez dreňové postkapilárne venuly ako **T bunky**. Každé vývojové štádium je kontrolované substanciami secerňovanými epiteliálnymi retikulárnymi bunkami, ktoré regulujú expresiu génu v tymocytoch. Napr. sekrecia interleukínu 7 (IL-7) epiteliálnymi retikulárnymi bunkami aktivizuje gény, ktoré kontroľujú skoré štádiá vývoju tymocytu. Zlyhanie včasných tymocytov vytvorí receptory pre IL-7 ukončuje ich vývoj.

C. Vývoj $\gamma\delta$ T buniek

Týmus je tiež miestom diferenciácie tymocytov, ktoré vytvárajú $\gamma\delta$ TCR receptory a CD3 komplex. Mnohé z týchto buniek nedokáže vyjadriť CD4 a/alebo CD8. Následne nepodstúpia ten istý negatívny a pozitívny selekčný proces ako tymocyty, ktoré majú $\alpha\beta$ TCR receptory a odchádzajú z týmusu krátko potom ako vytvorili TCR komplexy. (Tabuľka 9.1 a 9.2., obr.9.1). $\gamma\delta$ bunky sa považujú za prechodný typ buniek, ktorý asi predstavuje most medzi vrodeným a získaným imunitným systémom. $\gamma\delta$ T bunky sa vyvíjajú vo včasnej fáze embryogenézy skôr ako väčšina $\alpha\beta$ T buniek a migrujú prednostne do dýchacích orgánov, kože a peritoneálnej dutiny. Majú k dispozícii len veľmi obmedzený súbor VD a J génov pri vytváraní variabilných oblastí γ a δ reťazcov a tak sú omnoho obmedzenejšie pokiaľ ide o repertoár rozpoznávania ako $\alpha\beta$ T bunky. Odpovedajú rýchlejšie ako $\alpha\beta$ T bunky, ale urobia tak bez vytvorenia pamäte.

D. Pôvod NKT buniek

Prirodzene zabíjajúce T bunky (NKT bunky) sú odlišnou podskupinou T buniek, ktoré majú niektoré charakteristiky rovnaké ako NK bunky. Majú viaceré povrchové markery a receptory, ktoré sa nachádzajú aj na NK bunkách, ale na rozdiel od NK buniek podstupujú určitý vývoj v týmuse a vyjadrujú TCR receptory vytvorené DNA preskupením a junkčnou diverzitou. NKT bunky vyjadrujú TCR receptory, ktoré sú výnimočne obmedzené pokiaľ ide o šírku repertoáru a sú predovšetkým špecifické pre lipidy, glykolipidy a niektoré špecializované typy peptidov. Ich TCR receptory majú nezvyklo obmedzené motívy. Hoci môžu byť CD4+ alebo CD4+CD8+, špecificky rozpoznávajú epitopy prezentované neklasickými molekulami MHC triedy I nazývané CD1D. Tieto neklasické molekuly I triedy kódované génmi lokalizovanými v chromozomálnom segmente v blízkosti HLA komplexu, prezentujú epitopy (často nonpeptidového pôvodu) T bunkám iným ako je najčastejší $\alpha\beta$ typu.

III. B bunková línia

U ľudí, predchodcovia imunoglobulín produkujúce bunky sa nachádzajú v žltkovom vaku od 3. týždňa, vo fetálnej pečeni od 8. týždňa a v kostnej dreni približne od 12. týždňa gestačného veku. Tieto bunky sa nazývajú B bunky alebo lymfocyty odvodené z kostnej drene, pretože tu sa väčšina týchto buniek diferencujú. B bunky sú definované ako bunky, ktoré syntetizujú imunoglobulín a majú ho na svojom bunkovom povrchu ako BCR receptory.

A. Kostná dreň

Kostná dreň obsahuje spojivé tkanivo, krvné cievy, tuk a bunky. Medzi týmito štruktúrami sú hematopoetické kmeňové bunky schopné dať vzniknúť kmeňovým bunkám myeloidnej, granuloidnej, erytroidnej a lymfoidnej línie (kapitola 4). Vaskulatura poskytuje účinnú cestu pre bunky vznikajúce v kostnej dreni, aby sa dostali do periférie a umožnili vstup aktivovaných, zrelých imunokompetentných buniek (napr. plazmatické bunky) z periférie. Na rozdiel od lymfoidných buniek, ktoré sú určené na diferencovanie na T bunky, tie, ktoré sú určené sa vyvíjať v B bunkovej línii zostávajú v kostnej dreni, kde sa vyvíjajú.

B. Vývoj B buniek

Vývoj B buniek odzrkadľuje štádiá preskupenia ľahkých ťažkých reťazcov imunoglobulínov (kapitola 8) a povrchových zmien (obr. 9.3).

- Vznikajúce z bežných lymfoidných predchodcov (CLP), najskôr identifikovateľná bunka určená pre B líniu je **pre-pro B bunka** (časť A), v ktorej bunka začína vyjadrovať Ig α a Ig β BCR pomocné (prídavné) molekuly.
- Pripojenie DJ génov pre imunoglobulíny a objavenie sa **dočasných ľahkých reťazcov (SLC)** sa vyskytuje v **pro – B bunke** (časť B), v štádiu, po ktorom nasleduje pripojenie VDJ génov a prejavenie sa SLC v cytoplazme: štádium neskorých pro – B buniek (časť C)
- **Včasná pre B bunky** (Frakcia C –prime alebo C') – toto štádium je charakterizované tým, že sa na povrchu bunky objavia pseudo IgM (preskupené μ ťažké reťazce plus SLC) a je sprevádzané výbuchom bunkovej proliferácie
- Vo fáze **neskorých pre-B buniek** (frakcia D) gény pre imunoglobulínové ľahké κ a λ reťazce sa preskupujú a ich produ kty (κ a λ ľahké reťazce) nahradia dočasné SLC reťazce.
- **Nezrelé B bunky** (frakcia E) majú μ ťažké reťazce a κ alebo λ ľahké reťazce na svojom povrchu.
- **Zrelé B bunky** (frakcia F) majú súčasne IgM a IgD na svojom povrchu. Ako prechádzajú cez vývojové štádiá, progenitor B bunky, rovnako ako tymocyty vytvoria molekuly a receptory potrebné pre migráciu a spoluprácu s ostatnými bunkami.

Niektoré vlastnosti (napr. prejavenie sa DNA rekombinázy) sa strácajú v období, keď bunky dosiahnu štádium nezrelých B buniek (Frakcia E). Ak sa má IgM na vyvíjajúcich sa bunkách viazať na epitop, s ktorým sa stretol v kostnej dreni, takéto bunky podstupia apoptotickú smrť, aby sa predišlo produkcii autoreaktívnych B buniek.

C. B-1 a B-2 B bunky

Dve vývojovo odlišné cesty vývoja B bunky je možné rozpoznať (obr. 9.4). Konvenčné B bunky (**B-2 B bunky**) sú široko distribuované v celom tele, vyžadujú interakciu s T bunkami pre svoju aktiváciu a proliferáciu a sú postupne nahrádzané z kostnej drene v priebehu dospelosti. Rozsah epitopov, ktoré môžu rozpoznať B-2 bunky je obrovský. Po opakovanej expozícii antigénu B-2 bunky odpovedajú rýchlo, zvýšeným množstvom a kvalitou protilátok,

často „vypilovaním“ afinity protilátok, ktoré sú produkované (dozrievanie afinity., kapitola 8). B-2 bunková odpoveď je obvykle sprevádzaná zmenami izotypu imunoglobulínu. Všetky tieto charakteristiky sú typické pre **imunologickú pamäť**. Typicky viac IgD ako IgM je vytvorených na povrchoch zrelých B-2 (Frakcia F) B buniek.

Objavujúce sa zavčas v embryogeneze, B-1 B bunky vznikajú vo fetálnej pečeni v 8. gestačnom týždni. Môžu predstavovať prechodný typ lymfocytov, ktorý premostňuje vrodenú a získanú imunitu. Poprvýkrát popísané pred 20 rokmi, B-1 B bunky majú význam v procesoch vrodenej imunity a autoimunitných poruchách, ktoré sa stále viac odhaľujú. B-1 B bunky majú obmedzený repertoár v porovnaní s repertoárom B-2 B buniek. B-1 BCR receptory a B-1 B protilátky sú často nasmerované proti **conserved** mikrobiálnym antigénom (napr. uhľovodíky). Predpokladá sa, že väčšina, ak nie všetky **prirodzené protilátky** (napr. IgM protilátky proti A a B krvným skupinám, ktoré existujú pri neprítomnosti známej imunizácie) sú B-1 B pôvodu. B-1 B bunky sa nachádzajú predovšetkým v tkanivách, ktoré sú možnými bránami vstupu mikroorganizmov (napr. peritoneálna dutina a respiračný trakt) a sú samo-sa-obnovujúcou populáciou v týchto tkanivách. Hoci majú len malú ak vôbec nejakú imunologickú pamäť, len obmedzenú schopnosť preladenia tried a obmedzený repertoár, prispievajú výrazne k vytváraniu protektívnej imunity. Predpokladá sa, že viac ako polovica IgA secerňovaných do sleiznice je B-1 pôvodu.

Súhrn

- Vznikajú z **hematopoetickej kmeňovej bunky** v kostnej dreni, bunky lymfocytovej línie sa diferencujú buď v týmusu (T bunky) alebo zostávajú v kostnej dreni (B bunky).
- Prekursori T bunky, známe ako **protymocyty**, migrujú z kostnej dreni do týmusu pričom sú priťahované molekulami prítomnými v týmusu (napr. lymfotaktín). Dvojľaločnatý týmus je stále viac osídľovaný lymfocytmi organizovanými v hustejšej vonkajšej oblasti (**v kôre**) a v redšej vnútornej časti (**v dreni**).
- V kôre týmusu T bunky začínajú vytvárať a exprimovať TCReceptory, CD3 molekuly a ďalšie receptory a adhezívne molekuly. V tom čase začnú simultánne exprimovať CD4 aj CD8 molekuly a stávajú sa známe ako dvojito pozitívne (DP). Tie tymocyty, ktoré vytvárajú a exprimujú $\gamma\delta$ TCReceptory tiež vytvárajú CD3, ale mnohé z nich nemajú CD4 a/alebo CD8. DP $\alpha\beta$ tymocyty podstupujú súbor selekčných procesov, ktoré sa spoločne nazývajú “vzdelávanie”m v ktorom imunitný systém ich začína kontrolovať na základe ich schopnosti rozpoznať vlastné štruktúry.
- Populácia tymocytov, ktoré prechádzajú z kôry do drene pozostáva z CD4+ a CD8+ buniek. Menej ako 5% tymocytov, ktoré pôvodne vstúpili do týmusu prežijú **pozitívnu** aj **negatívnu selekciu** a opustia týmus a odchádzajú do cirkulácie a tela, kde sa stávajú aktivovanými a zúčastňujú sa množstva imunitných odpovedí.
- NKT bunky sú podtriedou T buniek, ktoré majú niektoré vlastnosti rovnaké ako NK bunky
- B bunky podstupujú celý vývojový proces v kostnej dreni. Vznikajúce z CLP – spoločného lymfoidného progenitora, prvé identifikovateľné bunky vrámci B bunkovej línie sú **pre-pro-B bunky**. DJ geny pre imunoglobulín sa napoja a v cytoplazme sa prejaví **SLC – dočasné ľahké reťazce**- v štádiu **pro-B bunky** (frakcia B). Skoré štádium **pre B bunky** (frakcia C-prime alebo C') je charakterizované na povrchu vyjadreným pseudo IgM.. **Nezrelé B bunky** (Frakcia E) vyjadruje μ ťažké reťazce a κ alebo λ ľahké reťazce na ich povrchu. **Zrelé B bunky** (frakcia F) vyjadrujú IgM a IgD na svojom povrchu.
- Dve odlišné cesty vývoja B bunky sú v súčasnosti známe. Konvenčné B bunky (**B-2 B bunky**) sú rozmiestnené po celom tele. **B-1 B bunky** reprezentujú prechodný typ lymfocytov, ktorý premostňuje vrodené a získané imunitné mechanizmy. Význam B-1 B buniek vo vrodenej imunite a pri autoimunitných poruchách je stále viac známy.

Obrázky

9.1 Vývoj tymocyty: pozitívna a negatívna selekcia. **A:** Tymus je organizovaný do vonkajšej alebo kortikálnej a vnútornej alebo dreňovej časti. Protymocyty vstupujú do tymusu do obidvoch častí a stávajú sa početnejšími a v rôznych vývojových štádiách. Tymocyty, ktoré prejdú selekciou, odchádzajú z týmusu cestou poskapilárnych venúl v dreni. V týmuse diferencované bunky sú známe ako T bunky. Tie tymocyty, ktoré neprešli selekciou, odumierajú.

9.1. B Protymocyty migrujú z kostnej drene vstupujú do kortikálnej oblasti tymusu. Keď migrujú z kortikálnej do medulárnej oblasti, začínajú prejavovať TCReceptory a ostatné potrebné prídavné molekuly. $\gamma\delta$ tymocyty odchádzajú rýchlo z týmusu, zatiaľčo $\alpha\beta$ tymocyty zostávajú. V kôre $\alpha\beta$ tymocyty podstupujú pozitívnu selekciu. Tie bunky, ktoré prežili pozitívnu selekciu potom podstúpia negatívnu selekciu, aby boli odstránené bunky, ktoré by mohli byť autoreaktívne.

9.2 Vývoj CD4⁺ a CD8⁺ T $\alpha\beta$ bunky. Typ MHC molekuly alebo peptid + MHC (pMHC) molekuly, ku ktorým dvojito pozitívne (DP) bunky CD4⁺CD8⁺ väzby určujú ich dospelý fenotyp. Tymocyty, ktoré nedokážu viazať (p)MHC I alebo (p)MHC II zaniknú.

9.3 Vývoj B bunky

9.4 Charakteristiky B-1 a B-2 b buniek.

Otázky

9.1 DiGeorgeov syndrom je imunodeficit spôsobený poruchou vo vývoji týmusu. Ktoré z uvedených problémov sú typické pre osoby postihnuté DiGeorgeovým syndrómom

- A. vývoj samotných B lymfocytov
- B. porucha komplementového systému
- C. porucha funkcie NK buniek
- D. porucha vývoja T lymfocytov
- E. porucha vývoja T lymfocytov a odpovede sprostredkované B bunkami

9.2 Negatívna selekcia T buniek sa uskutočňuje v

- A. krvných cievach
- B. kostnej dreni
- C. lymfatickej uzline
- D. slezine
- E. týmuse

9.3 Prekurzory T buniek, prothymocyty, migrujú z kostnej drene do týmusu ako odpoveď na pôsobenie

- A. eotaktínu
- B. IL-4
- C. IL-5
- D. IL-10
- E. Lymfotaktínu

9.4 Aký je osud včasných thymocytov, ktoré nedokážu vytvoriť receptor pre IL-7

- A. apoptotická smrť bunky
- B. vývoj $\gamma\delta$ T bunky
- C. vývoj NK bunky
- D. zlyhanie vcestovania do týmusu
- E. vývoj vrámci B línie

9.5 $\gamma\delta$ T bunky

- A. majú možnosť rozpoznať veľké množstvo antigénov
- B. majú na svojom povrchu markery, ktoré sú charakteristické aj pre NK bunky
- C. vytvárajú pamäť, keď sa stretnú s antigénom opakovane
- D. migrujú predovšetkým do dýchacích orgánov, kože a peritoneálnej dutiny
- E. odpovedajú na antigén pomalšie ako $\alpha\beta$ T bunky

9.6 NKT bunky

- A. sú obvykle CD8 pozitívne bunky
- B. viažu epitopy prezentované molekulami MHC II triedy
- C. majú TCR receptory vytvorené DNA preskupením a junkčnou diverzitou
- D. rozpoznávajú uhľovodíky a komplexné proteíny
- E. syntetizujú imunoglobulín a prezentujú ho na svojom povrchu

9.7 Pre-pro B bunky

- A. Obsahujú buď κ alebo λ ľahké reťazce
- B. Majú na svojom povrchu pseudo IgM
- C. Majú Ig α a Ig β prídavné molekuly pri BCR

- D. Majú VDJ spájajúce gény
- E. Majú v cytoplazme vyjadrené ľahké reťazce

9.8 Na rozdiel od B-2 B buniek, B-1 B bunky

- A. sa objavujú neskôr vo vývoji
- B. sú potrebné pre vrodené imunitné mechanizmy
- C. majú viac IgD ako IgM molekúl na svojom povrchu
- D. majú rozsiahlu schopnosť rozpoznávať množstvo antigénov
- E. vyžaduje spoluprácu T buniek na aktiváciu

Komentár

9.1 E Nefunkčné prostredie týmusu inhibuje vývoj a funkciu T buniek. Pretože množstvo B bunkovej aktivity závisí na spolupráci s T bunkami, B bunková odpoveď bude takisto negatívne ovplyvnená. Komplement nie je ovplyvnený aktivitou T a B buniek. NK bunky a ich funkcia nie je ovplyvnená aktivitou týmusu.

9.2 E Negatívna selekcia T buniek prebieha vtedy, keď T bunky prechádzajú z kôry týmusu do drene. Neuskutočňuje sa mimo týmusu.

9.3 Lymfotaktín je jedným z produktov týmusu, ktorý pomáha nasmerovať protymocyty z kostnej drene do týmusu. IL-4, IL-5 a IL-10 sú cytokíny produkované zrelými a aktivovanými T bunkami ako aj ostatnými typmi buniek. Eotactin ovplyvňuje pohyb eozinofilov.

9.4 A Zlyhanie väzby IL-7 ovplyvní vývoj tymocytov. Nebudú schopné vytvoriť $\alpha\beta$ alebo $\gamma\delta$ tymocyty. Táto spolupráca sa vyskytuje po migrácii tymocytov do týmusu. Tymocyty nemôžu prejsť na vývojovú cestu B buniek.

9.5 D $\gamma\delta$ T bunky sa nachádzajú predovšetkým v respiračných orgánoch, koži a peritoneálnej dutine. Ich repertoár rozpoznávania je omnoho menší ako u $\alpha\beta$ T buniek. Nemajú dostatočnú imunologickú pamäť, ale reagujú na antigénny stimul rýchlejšie ako $\alpha\beta$ T bunky.

9.6 C NKT bunky vytvárajú TCR receptory (podobne ako ostatné T bunky) DNA preskupením a veľkou diverzitou. Sú buď CD4+ alebo CD4+CD8+. Napriek tomu ich TCR receptory rozpoznávajú lipidové molekulárne fragmenty prezentované neklasickými molekulami I triedy CD1D. Nesyntetizujú ani neprejavujú imunoglobulíny

9.7 C Pre-pro B bunky pôvodne majú molekuly Ig α a Ig β . Syntéza ťažkých a ľahkých reťazcov (vrátane dočasných ľahkých reťazcov) sa vyskytuje v neskorších štádiách ich vývoja

9.8 B B-1 B bunky sú pravdepodobne prechodným typom lymfocytov, ktorých funkcie sa týkajú vrodeného imunitného systému. B-1 B bunky majú viac IgM ako IgD molekúl a B-2 B bunky majú viac IgD ako IgM molekúl na svojom povrchu. Repertoár B-1 B buniek je obmedzený a ich potreba spolupracovať s T bunkami je obmedzenejšia ako u B-2 B buniek. B-1 B bunky sa objavujú vývojovo skôr ako B-2 B bunky.

10. Aktivácia lymfocytov

I. Súhrn

V porovnaní s vrodenými nešpecifickými mechanizmami, získaná špecifická imunitná odpoveď proti novorozpoznaným antigénom sa najskôr začína a vyvíja pomaly. Hoci mnohé samoreaktívne bunky sú eliminované počas vývoja, lymfocyty podstupujú ďalší súvor časovo náročných testov na zistenie a vybalancovanie reakcií tak, aby sa minimalizovala možnosť nežiadúcich reakcií. Rôzne typy buniek sa podieľajú na rozpoznaní, regulácii a vykonávaní funkcií súvisiacich s týmito úlohami. T bunky zohrávajú centrálnu úlohu ako arbiter mechanizmu získanej imunity a vzhľadom na túto úlohu, spôsob akým T bunky rozpoznávajú epitopy a sú nimi aktivované je komplikovane regulovaný. Je užitočné pozerieť na vrodený imunitný systém ako na vrátnika pri bráne špecifických získaných imunitných mechanizmov (Obr. 10.1) Získané imunitné mechanizmy často aktivujú a zameriavajú sa na bunky a/alebo molekuly vrodeného imunitného systému zacielených vybranými lymfocytmi.

II. Prezentácia antigénu

Fagocyty odoberajú vzorky z okolia fagocytózou a makropinocytózou. Pohlté proteíny sú enzymaticky degradované a niektoré zo vzniknutých peptidových fragmentov sú zachytené do MHC II (čím sa vytvorí pMHC II) molekúl v procese nazývanom prezentácia antigénu. Niektoré patogény sa dokážu vyhnúť mechanizmom fagocytózy a makropinocytózy spolu alebo infikujú bunky, ktoré nemajú MHC II molekuly. Takéto antigény sú rozložené a ich peptidové fragmenty sú zachytené do MHC I molekuly (čím sa vytvorí pMHC)(obr. 10.2).

A. Prezentácia prostredníctvom MHC II molekuly

Dendritické bunky lokalizované v mieste možného vstupu mikroorganizmov do tela (napr. koža a slizničné membrány) a v iných orgánoch a tkanivách slúžia ako vyhľadávače. (obr. 4.5) **Nezrelé dendritické bunky** sú nezriadené žráče, ktoré spotrebujú veľké množstvá rozpustných a korpuskulárnych častíc fagocytózou a makropinocytózou. **Fagocytóza** zahŕňa zapojenie receptorov na povrchu buniek (napr. Fc receptory, proteíny teplotného šoku a receptory viažuce lipoprotein nízkej hustoty) súvisiace so špecializovanými oblasťami plazmatickej membrány, ktoré sa nazývajú **klatrinom-pokryté** poháriky (Obr. 10.3). Zapojenie receptora spustí aktín-dependentnú fagocytózu a internalizáciu receptora čím sa vytvorí **fagolizozómy** alebo endocytické vezikuly. Nezrelé dendritické bunky ťiaž vychytávajú veľké množstvo rozpustných molekúl ako aj korpuskulárnych častíc prítomných v extracelulárnych tekutinách **makropinocytózou** – proces pri ktorom cytoplazmatické výbežky – **cytoplazmatické panôžky** – obkolesia a uzatvoria extracelulárnu tekutinu, tak, že sa vytvoria endocytické vezikuly (Obr. 10.4). Makropinocytóza nevyžaduje prítomnosť a zapojenie klatrinom - pokryté receptorov. Enzým obsahujúce cytoplazmatické vezikuly (**lyzozómy**) sa spoja s endocytickými vezikulami odvodenými z fagocytózy alebo makropinocytózy (obr. 10.2). V rámci tohto novovytvoreného **fagolizozómu** pohltý materiál je enzymaticky degradovaný na peptidy.

Keď nezrelá dendritická bunka zaregistruje hrozbu, rýchlo dozrievajú. Hrozby sú detekované rovnakými receptormi povrchov buniek aké používa vrodený imunitný systém. Priame zaznamenanie sa vyskytuje prostredníctvom PRR, ktoré rozpoznávajú PAMP na vírusoch, baktériách, hubách a orvokoch. Zaangažovanie iných receptorov (teda tých, ktoré detekujú

protilátky alebo molekuly komplementu, ktoré naviazali mikroorganizmy) je zodpovedné za **nepriame pocítenie (zaznamenanie)** spozorovanej hrozby.

Hoci mechanizmy zodpovedné za dozrievanie dendritickej bunky bude podrobne ešte objasniť, vieme, že takéto rozpoznanie hrozby spôsobí, že dendritické bunky migrujú do okolia lymfatických uzlín, znížia svoju fagocytickú a makropinocytickú aktivitu a zvýšia syntézu MHC II. MHC II α a β peptidy spolu s konštantným reťazcom sú spojené do komplexu v endoplazmatickom retikule (Obr. 10.5). Vezikuly pučia z endoplazmatického retikula a spoja sa s peptid obsahujúcim kyslým fagolizozómom. Konštantná reťaz sa rozruší v kyslom prostredí novo vytvorenej vezikuly, čo dovoľí peptidom odvodeným z fagolizozómov, umiestniť sa v kliešťoch viažúcich peptidy MHC II molekuly. pMHC II komplex je transportovaný na povrch bunky, kde je vyložený a môže byť rozpoznaný prostredníctvom CD4⁺ T buniek. MHC II molekuly nerozlišujú, medzi peptidmi vlastnými a cudzími. Vlastné antigény vystavené na povrchu fagocytu obvykle sú nerozpoznané pretože väčšina samoreagujúcich CD4⁺ T buniek bolo eliminovaných počas vývoja.

B. Prezentácia prostredníctvom MHC I.

Nie všetky antigény vstupujú do bunky fagocytózou alebo makropinocytózou. Niektoré patogény sa úplne vyhnú fagocytom a endocytickým vakuolám. Intracelulárne mikroorganizmy a vírusy sa viažu na bunkové membrány a priamo vstupujú do cytoplazmy hostiteľskej bunky (obr. 10.6). Tieto patogény sú spracované ináč.

Bunky s jadrom degradujú a spracujú cytoplazmatické proteíny. Vlastné aj cudzie cytoplazmatické proteíny, ktoré sú určené na deštrukciu sú kovalentne označené **ubiquitinom**, 76 – aminokyselinovým proteínom. Vybrané mechanizmy pre napojenie proteínu nie sú známe. Viaženie jednej alebo viacerých molekúl ubiquitínu na proteín ich určí na deštrukciu prostredníctvom **proteázomami**, čo sú veľké komplexy proteolytického enzýmu v cytoplazme. Proteázomami vytvorené peptidy obsahujúce 6 až 24 aminokyselín sú transportované do endoplazmatického retikula prostredníctvom **TAP 1** a **TAP 2** – **s transportérom spojené spracovanie antigénu**. TAP heterodimér umožňuje peptidom vložiť sa do MHC I (pMHC I). Špeciálne transportné exocytické vezikuly obsahujúce pMHC I pučia z Golgiho aparátu a sú rýchlo transportované na bunkový povrch, aby bol vystavený a rozpoznaný vhodnými CD8⁺ T bunkami. MHC I molekuly nerozlišujú medzi peptidmi vlastného a nie vlastného pôvodu. Avšak vlastné peptidy vystavené na povrchu fagocytu obvykle prechádzajú nerozpoznané pretože CD8⁺ T bunky, ktoré sú potenciálne reaktívne na vlastné peptidy sú odstránené počas selekcie v týmuse.

III. Aktivácia T buniek

T bunky riadia odpoveď získanej imunity. Na rozdiel od vrodenej imunity, receptory BCR a TCR nemôžu rozpoznať rozpustné molekuly. T bunky rozpoznávajú len peptidy prezentované MHC molekulami I alebo II triedy, ktoré sú prezentované na APC – antigén prezentujúcich bunkách. Spôsob získanej imunitnej odpovede je ovplyvnený tým ako sú epitopy prezentované APC bunkami. Vzťah medzi APC a predtým neaktívnymi (naívnymi) T bunkami sa nazýva **imunologická synapsa**.

A. Imunologická synapsa

Imunologická synapsa je spustená, keď TCR rozpozná pMHC (obr. 10.7). Slabá interakcia TCR s pMHC je stabilizovaná interakciou CD4⁺ alebo CD8⁺ molekulami, ktoré viažu „konštantné“ časti – tie, ktoré neviažu peptidy - molekuly MHC I alebo MHC II. Tvorba pMHC:TCR:CD(4 alebo 8) komplexu poskytuje **prvý signál** prostredníctvom napojenia cez

TCR - CD3 komplex do T bunky. Prvý signál je potrebný ale nie dostatočný na stimulovanie naivnej T bunky, aby proliferovala a diferencovala sa. **Druhý signál** (alebo skupina signálov) poskytnutý jednou alebo viacerými **kostimulačnými molekulami** je nevyhnutný na aktiváciu T bunky. Prvý a druhý signál spustia intracelulárnu kaskádu signálov aktivujúcich jeden alebo viac faktorov transkripcie, čo vedie k transkripcii špecifického génu. Bez kostimulácie sa T bunky buď stanú selektívne neodpovedajúce, stav známy ako **anergia**, alebo podstupia apoptózu.

B. Prenos signálu v T bunke

Imunologická synapsa stabilizuje spoluprácu T bunky s APC a uľahčuje migráciu molekuly v membráne T bunky. Cytoplazmatická nožička niektorých týchto molekúl obsahuje **imunoreceptorové aktivačné motívy založené na tyrozíne (ITAMs)**, ktoré spúšťajú signalizačnú kaskádu, keď sú priblížené (Obr. 10.8). Cytoplazmatické nožičky komplexu CD3 molekuly (CD3 ϵ , γ , δ , a CD247 ζ) majú ITAM. Na rozdiel od toho, cytoplazmatické nožičky TCR nemajú tieto ITAM. Signály prenesené po cez TCR a CD3 komplexu poskytujú signál na aktiváciu T bunky (obr. 10.9). Kostimulačné molekuly poskytujú druhotný signál pre aktiváciu T bunky (Obr. 10.10).

C. Dozrievanie CD4+T bunky

Prvotné spojenie T buniek s antigénom sa nazýva **priming** a spôsob tejto interakcie je dôležitým pre vývoj následnej adaptívnej (získanej) imunitnej odpovede. Primované CD4+T bunky sa nazývajú **T helper, Th, Tpomocné** bunky pretože sú nástrojom „pomoci“ pri reakcii iných leukocytov (Obr. 10.11). Pri aktivácii sú **prekurzory** naivných **CD4+ Th (Thp)** bunky stimulované, aby secernovali rôzne cytokíny a vyjadrili receptory na povrchu bunky pre cytokíny, čím sa stanú **Th0** bunkami (obr. 10.11). CD4+Th0 bunky môžu dozrieť jednou z dvoch funkčných ciest. Vývojová cesta, po ktorej sa Th0 bude vyvíjať závisí na charaktere signálov, ktoré získali v čase spolupráce s APC. V prítomnosti lipopolysacharidu odvodeného od mikroorganizmov, APC bunky secernujú IL-12 a cytokínov, ktoré zvyšujú nahromadenie leukocytov a aktiváciu. CD4+ T bunky odpovedajú na tieto signály zhromaždením a aktiváciou fagocytujúcich buniek alebo aktiváciou cytotoxických T lymfocytov (CTL). Tieto T bunky sú známe ako Th1 bunky. T bunky, ktoré sa vyvíjajú druhou z ciest sú známe ako **Th2 bunky** a obvykle odpovedajú na extracelulárne patogény stimuláciou B buniek, aby sa diferencovali na protilátky secernujúce plazmatické bunky. V iných prípadoch, prítomnosť IL-4 môže viesť k tomu, že sa Th0 sa bude vyvíjať Th2 diferenciačnou cestou. Medzi funkčnými úlohami Th2 bunkami je produkcia cytokínov zodpovedných proliferáciu a aktiváciu B buniek a ich diferenciáciu na plazmatické bunky alebo pamäťové B bunky.

D. Dozrievanie CD8+T bunky

Rozpoznanie pMHC I triedy (prvý signál) na povrchu infikovanej APC alebo inej bunky naivnou CD8+ T bunkou alebo bunkami spôsobí, že vytvoria IL-2 receptory (IL-2R, Obr. 10.12). Fagocytóza bunkových zvyškov vírusom infikovanej bunky a vyjadrenie pMHC II APC bunkami stimuluje CD4+T bunku vyprodukovať IL-2, čo poskytne druhý signál T bunke CD8+ prostredníctvom IL-2R. Interakcia APC s CD4+ T bunkou zvyšuje CD80/86 expresiu na APC. Interakcia APC CD80/86 s CD28 na CD8+ T bunke podporuje diferenciáciu CD8+ bunky. Správne stimulovaná CD8+T bunka proliferuje a diferencuje sa na cytolytickú efektorovú bunku nazývanú **cytotoxický T lymfocyt (CTL)**. Úplne diferencované CTL bunky obsahujú dva typy cytolytických granúl, **perforíny** (póry vytvárajúce) a **granzymy** (serínové proteázy), ktoré pôsobia tak, že uštedria fatálnu ranu bunke exprimujúcej daný-určitý pMHC I komplex (kapitola 11).

E. Pamäťové T bunky

Zapojenie TCR na zodpovedajúcu molekulu pMHC II (prvý signál) a CD28 spojenie s CD 80/86 (druhý signál) stimulujú CD4+T bunky k produkcii IL-2, k vyjadreniu IL-2 receptorov (IL-2R) a k proliferácii. U väčšiny stimulovaných CD4+ T buniek, CD152 s cytotoxickými T – lymfocytami súvisiaci antigén 4 - (CTLA-4) – normálne sekvestrované v Golgiho aparáte, migruje na bunkovú membránu. Tam sa viaže na CD80/86 s aviditou, ktorá je 100 krát vyššia ako väzba s CD28 (Obr. 10.13). CD 152 zapojenie inhibuje expresiu mRNA T bunky pre IL – 2 a zastavuje proliferáciu bunky, čím sa zaistí, že CD4+ T bunkami sprostredkované odpovede sú samolimitujúce. Avšak, ak by všetky CD4+ T bunky boli neschopné odpovedať po sekundárnej expozícii, telo by bolo bo veľkom riziku pri následných expozíciách tomu istému nfekčnému organizmu. Našťastie, niektoré CD4+T bunky vystupujú do stavu **pamäte**. Pamäťové T bunky typicky vyjadrujú CD28, zvyšujú expresiu ich adhézneho molekuly, a znižujú expresiu povrchového CD62L (L-selektín). Zvyšovaním exprese CD28, pamäťové T bunky skôr odpovedajú na CD80/86 na APC. Znížením exprese L-selektínu (CD62L), pamäťové T bunky neodchádzajú do lymfatických uzlín, ale odchádzajú do miest zápalu kvôli zvýšenej expresii iných adhézných molekúl. U niektorých CD4+T buniek fenotyp pamäťových buniek je charakteristický zmenou exprimovaných CD45 z prvotnej CD45RA formy na pamäťovú CD45RO izoformu.

IV. Aktivácia B bunky

Na rozdiel od TCRreceptorov, BCRreceptory rozpoznávajú a viažu epitopy viazané na bunke alebo aj na solubilných molekulách. BCR komplex zrelých B buniek obsahuje na membránu viazané monoméry imunoglobulínu súvisiace s Igα a Igβ molekulami (Obr. 10.14). Podobne ako pri komplexe CD3 cytoplazmatické časti molekúl Igα a Igβ obsahujú ITAM motívy. Skrížené BCR prepojenie iniciuje intracelulárny signál. Pretože všetky imunoglobulíny na danej B bunke majú rozvinutú špecifitu, antigén musí obsahovať viaceré identické epitopy, aby sa uskutočnilo skrížené prepojenie (Obr. 10.15). Skrížené prepojenie BCRreceptorov indukuje tyrozín kinázy (lyn, lck, fyn a blk), aby uskutočnili fosforyláciu Igα a Igβ ITAM. ITAM fosforylácia dovoľuje spustenie kaskády trasdukcie signálu, čo má za následok aktiváciu transkripčných faktorov a aktiváciu génu. BCR naviazanie iniciuje endocytózu, enzymatickú degradáciu a následné vyjadrenie peptidových fragmentov ako komplexy pMHC triedy II molekuly, čo spôsobí, že sa prejaví kostimulačné molekuly. Toto umožní B bunke fungovať ako APC pre rozpoznanie TCR molekulami CD4+T bunky.

A. T nezávislá aktivácia

Niektoré antigény klasifikujeme ako **T nezávislé (TI)** čím sa charakterizuje, že aktivujú B bunky bez pomoci T buniek. T nezávislé antigény spadajú do dvoch samostatných skupín (TI-1 a TI-2) na základe toho, ako aktivujú B bunky. TI-1 antigény sú polyklonálne aktivátory, ktoré sa viažu na povrchové štruktúry iné ako BCRreceptory. Preto aktivujú B bunky bez ohľadu na špecifitu BCR epitopu. Sú to typicky mikrobiálne antigény akými je lipopolysacharid. Vo vysokých koncentráciách TI-1 antigény stimulujú B bunky aby sa aktivovali, proliferovali a zvýšili produkciu a sekréciu imunoglobulínu., preto sa nazývajú **mitogény B bunky**. V nízkych koncentráciách, TI-1 antigény stimulujú antigén-špecifické T bunky. TI-2 antigény obsahujú opakované epitopy a sú to často multivalentné polysacharidy. Na rozdiel od TI-1 antigénov, ktoré stimulujú zrelé aj nezrelé B bunky, TI-2 antigény špecificky aktivujú len zrelé B bunky. Opakované epitopy na polysacharidoch sa viažu na BCRreceptory a navzájom sa pospájajú (Obr. 10.15). Blízkosť Igα a Igβ cytoplazmatických častí majú za následok fosforyláciu a spustenie kaskády transdukcie signálu. Nie je jasné, či imunitná odpoveď na TI-2 antigény je úplne T nezávislá. Pridanie aj keď len malého množstva T buniek zvyšuje tvorbu protilátok na TI-2 antigény.

Niekedy je druhý T nezávislý signál poskytnutý komplexu koreceptorou B bunky v konjunkcii so súčasťami komplementu (Obr. 10.16). C3d alebo C3b sa viažu na antigén (mikroorganizmus), ktorý je tiež naviazaný na BCR prostredníctvom rozpoznania epitopu. CD21 (CR2 alebo receptor pre komplement typu 2) sa viaže na C3d naviazaný na antigén alebo CD35 (CDR1 – receptor pre komplement typu 1) sa viaže na C3b naviazaný na antigén. Na bunkovú membránu naviazaný CD19 a CD18 (alebo TATA-1) sa rýchlo spoja a vytvoria komplex koreceptoru B bunky (CD21:CD19:CD81). Keď sa tento komplex vytvorí viaceré tyrozín kinázy fosforylujú cytoplazmatickú časť CD19. V tom istom čase fosforylujú ITAM na Igα a Igβ, čím sa spustí kaskáda prenosu signálu.

B. T dependentná aktivácia

Častejšie je druhý signál aktivácie B bunky poskytnutý CD4+ bunkami. Je to obzvlášť pravdivé pre epitopy nachádzajúce sa na proteínových antigénoch. Zapojenie TCR na CD4+ T bunke a vytvorenie imunologickej synapsy (Obr. 10.17) vzniká následkom prezentácie pMHC triedy II B bunkou alebo APC (prvý signál). Kostimulácia prostredníctvom CD28:CD80/86 a/alebo CD40:CD134 poskytuje druhý signál T bunke, čo má za následok produkciu od T buniek odvodených cytokínov akými je IL-4. Prenos signálu v B bunke sa uskutočňuje zapojením BCR (prostredníctvom Igα a Igβ), kostimulačných molekúl (CD40, CD80 a CD86) a spojenie pMHC triedy II so zodpovedajúcim TCR. Tieto udalosti v B bunke spôsobia, že B bunka exprimuje IL-4R. Keď sa raz IL-4R spojí so zodpovedajúcim ligandom (IL-4), B bunka bude proliferovať a v prítomnosti ďalších od T buniek odvodených cytokínov, diferencuje na plazmatickú bunku produkujúcu protilátku.

C. Plazmatické bunky a pamäťové bunky

Plazmatické bunky sú terminálne diferencované B bunky (Kapitola 9), ktoré aktívne secerajú imunoglobulíny (Obr. 10.18). Špecifita epitopu imunoglobulínov secerovaných plazmatickými bunkami je rovnaká akú má povrchový imunoglobulín na B bunke, z ktorej sa plazmatické bunky diferencovali. Po stimulácii, niektoré bunky sa stanú pamäťové B bunky, ktoré sú určené proti identickému epitopu.

MHC reštrikcia

Na zapamätanie si CD4/CD8 súvislosť s MHC je možné použiť „pravidlo osmičky“:

CD4 x pMHC II = 8

CD8 x pMHC I = 8

T bunky línie γδ často nemajú ani CD4 ani CD8 a ich reštrikcia je nejasná

Intracelulárne patogény

Práve som sa dozvedel, že TCR receptory na CD4+ T bunkách rozpoznávajú komplexy pMHC triedy II exogénneho pôvodu. Ako sa môže peptid odvodený od intracelulárneho patogénu, ktorý obišiel vezikuly fagolýzoómu, dostať do molekuly MHC II?

Aby sa vyhlí detekcii imunitným systémom, niektoré patogény využívajú mechanizmus „stealth“ aby obišli fagolýzozómové vezikuly. Iné môžu vstúpiť do bunky vo fagozóme, ale sú schopné ho opustiť a vniknúť do cytoplazmy. Ale ich únik nie je bezchybný a niektoré infikované bunky odumierajú, dendritické bunky zachytia odumreté bunky a bunkové zvyšky fagocytózou alebo makropinocytózou.

Proteolytické peptidy sú potom zachytené v MHC II molekulách

Kazuistika 10

Wiskott-Aldrich syndróm

Kapsulárny polysacharid baktérie *Haemophilus influenzae* typu b je TI-2 antigén. Protilátková odpoveď na *H.influenzae* je nevyhnutná pri vytváraní protektívnej imunity. Pacienti s Wiskott-Aldrich syndrómom, čo je ochrenie imunitného systému – imunodeficit, veľmi zle odpovedajú na proteínové antigény a vôbec neodpovedajú na polysacharidové antigény. Následne osoby s Wiskott-Aldrichovým syndrómom sú v riziku infekcií baktériami s polysacharidovým

Súhrn

- Dendritické bunky odoberajú vzorky svojho okolia fagocytózou a pinocytózou, enzymaticky degradujú čo pohltili a zahrnú peptidové fragmenty do MHC II triedy, čím vytvoria molekulu pMHC II triedy v procese nazývanom **prezentácia antigénu**.
- Dendritická bunka detekuje hrozbu buď priamo alebo nepriamo prostredníctvom receptorov na povrchu bunky, ktoré sú súčasťou nešpecifického imunitného systému
- Patogény akými sú intracelulárne mikroorganizmy alebo vírusy sa vďaka na bunkové membrány a priamo vstupujú do cytoplazmy hostiteľskej bunky.
- Kontakt medzi APC a T bunkou sa nazýva **imunologická synapsa** . Prvý krok v bundovaní imunologickej synapsy je rozpoznanie pMHC prostredníctvom TCR. Imunologická synapsa stabilizuje spoluprácu T bunka-APC a podporuje migráciu molekuly v membráne T bunky
- Prvotná expozícia T buniek antigénu sa nazýva **priming** a spôsob tejto expozície je podstatný pre vývoj následnej špecifickej imunity.
- Pri aktivácii je antigén naivná CD4+Th (prekurzorová) bunka stimulovaná k sekrécii rôznych cytokínov, exprimuje receptory na povrchu bunky a stáva sa Th0 bunkou, ktorá ešte nie je určená ani pre Th1 ani pre Th2 cestu.
- Niektoré patogény akými sú vírusy sa vyhýbajú kontaktu s endocytickými vezikulami úplne tým, že priamo vstupujú a replikujú do cytoplazmy hostiteľskej bunky.
- Naivné CD8+T bunky rozpoznávajú pMHC I triedy (prvý signál) sa exprimujú na povrchu infikovanej bunky.
- BCR komplex na zreloch B bunkách obsahujú na membránu viazané IgM a IgD monoméry spojené s Igα a Igβ molekulami. Vzájomné prepojenie BCRreceptoru spustí prenos signálu.
- Väzba na BCR spustí endocytózu, enzymatickú degradáciu a následnú expresiu peptidových fragmentov ako pMHC II triedy komplexy a spôsobia, že B bunka exprimuje kostimulačné molekuly, čím dovoľia B bunke, aby fungovali ako APC pre TCR rozpoznanie CD4+ T bunkou a môžu dozrieť do plazmatickej bunky.

Obrázky

10.1 Interakcia vrodených a získaných imunitných mechanizmov

10.2 Cesty prezentácie antigénov. **Extracelulárne antigény** (napr. baktérie, bunky a mnohé rozpustné molekuly) vstupujú do bunky fagocytózou a makropinocytózou, pri ktorej sú zabalené do fagocytárnych vezikúl. **Výrez** Fagocytové vezikuly sa spoja s enzým (lyzozým) obsahujúcimi vezikulami (lyzozóm) čím sa vytvorí fagolyzozóm, ktorý enzymaticky degraduje pohltý materiál. Lyzozomálne enzýmy proteolyticky degradujú pohltý materiál na peptidy v pozdných fagozómoch. Neskoré fagozomy sa spoja s vezikulami obsahujúcimi MHC II triedy. Intracelulárne patogény (vírasy a niektoré baktérie) a niektoré antigény priamo vstupujú do cytoplazmy infikovanej bunky, čím sa obchádza fagocytujúci aprát. Intracelulárne antigény sú degradované proteazómami na peptidy, ktoré sú zabraté do molekuly MHC I triedy (pMHC I) aby boli peptidy vystavené na bunkový povrch

10.3 Fagocytóza. Bunky, čistočky a molekuly sú vychytané PRR súvisiacimi s klathrinom pokrytými pohárikmi. Membrána týchto pohárikov je invaginovaná a uvoľnená, čím sa vytvorí fagozóm. Klathrin sa vyplaví naspäť do bunkovej membrány a vytvorí sa opäť nim pokryté poháriky.

10.4 Makropinocytóza. 1. Cytoplazmatické protrúzie (vychlípeniny) zachytia a obkolesia mikroorganizmy, čistočky alebo molekuly a vytvoria cytoplazmatické vezikuly. 2. tie spojením s lyzozómom vytvoria fúziu 3 a vytvoria fagolyzozom. 4. Vezikuly obsahujúce enzymaticky degradovaný materiál sa spájajú s vezikulami obsahujúcimi MHC II triedy (obr. 10.6). 5. Prázdne fagolyzozomy sú recyklované do bunkovej membrány

10.5 Prezentácia extracelulárnych antigénov. Antigény extracelulárneho pôvodu (ľavá strana obrázku) alebo vlastného pôvodu (pravá strana) sú degradované vo fagolyzozómoch. MHC triedy II $\alpha\beta$ heterodiméry spolu s nemenným reťazcom sú pospájané v endoplazmatickom retikule. Vezikuly obsahujúce MHC II triedy + reťazec pučia z ER a dochádza k fúzii s vezikulami bohatými na peptidy, ktoré pučia z fagolyzozómu. Kyslé prostredie fúzovanej vezikuly spôsobí, že sa reťazec dezintegruje, čo umožní (vhodným) peptidom obsadiť peptid viažuce miesto molekuly MHC II triedy, ktorá neviaže peptid dezintegrovaný v kyslom prostredí vezikuly. Exocytické vakuoly obsahujúce pMHC II triedy sa spájajú (fúzuju) s plazmatickou membránou bunky a molekuly pMHC II triedy sú vystavené na bunkovom povrchu, aby boli rozpoznané prostredníctvom TCR na CD4⁺ T bunke.

10.6 Prezentácia intracelulárnych alebo cytoplazmatických antigénov. Cytoplazmatické proteiny vlastné aj cudzie môžu byť určené na deštrukciu kovalentnou väzbou ubiquitínu, ktorý ich nasmeruje na proteolytickú degradáciu enzýmovým komplexom proteazómov. Proteazómami vygenerované fragmenty, v cytoplazme sú prenesené do ER „vrátnikom“ TAP-1 a TAP-2 heterodimérmi. Calnexin sa viaže na novo syntetizovanú molekulu MHC I, čím sa umožní vytvorenie komplexu MHC I s β_2 mikroglobulínom. Calnexin je nahradený ďalšou podobnou molekulou, calretikulínom. Tretia molekula, tapasin, súvisiaca s TAP heterodimérom, asistuje pri možnom napojení peptidu na komplex MHC I + β_2 mikroglobulín. Tento komplex je rýchlo dezintegrovaný, ak sa vhodný peptid nenapojí. Exocytické vezikuly obsahujúce novovytvorené komplexy pMHC I triedy I pučia z endoplazmatického retikula a sú transportované na prezentáciu na povrch bunky prostredníctvom CD8⁺ T buniek s vhodnou TCR molekulou.

10.7 Imunologická synapsa. Extracelulárne antigény sú prezentované MHC II molekulami na APC. TCRreceptory na cirkulujúcich CD4⁺T bunkách, ktoré rozpoznávajú peptid a MHC II triedy (pMHC II) tvoria slabú väzbu, ktorá je stabilizovaná nekovalentnou interakciou CD4⁺ molekulou T bunky s tou časťou molekuly MHC II triedy, ktorá neviaže peptid. **Výrez** Adhézne molekuly prezentované T bunkami (LFA-1, leukocytový funkčný antigén, alebo CD11a/CD18) spolupracujú s ICAM-1 (adhézná molekula 1 imunitnej bunky alebo CD54) na APC. LFA-1+ICAM-1 komplexy odplávajú z komplexu pMHC:TCR:CD4. V tom istom čase CD2:LFA-3 (CD2:CD58) a kostimulačné molekuly (napr. CD28:CD80/86) sa pohybujú smerom ku komplexu pMHC:TCR:CD4.

10.8 Molekuly aktivujúce imunoreceptor (ITAM). Zapojenie ligandu vedie k dimerizácii polypeptidu, aktivácii tyrozín kinázy a fosforylácii tyrozínových zbytkov so špecializovanými intracelulárnymi časťami receptorov alebo prídavných polypeptidov. Tieto ITAM molekuly obsahujú 4 aminokyseliny (označené ako dva Xy ukončené tyrosínom a lyzínom. Viaceré ITAM molekuly sú lokalizované v 10-12 aminokyselinových intervaloch pozdĺž cytoplazmatickej časti.

10.9 Detaily prenosu prvého signálu T bunky

10.10 Druhý signál – kostimulácia. – je potrebný na aktiváciu T bunky. Po vytvorení imunologickej synapsy (obr.10.9) bežný antigén leukocyту CD45 defosforyluje a aktivuje Fyn kinázu. CD28 kostimulačná molekula a Fyn sa spoja s IP₃K – inositol trifosfát kinázou, čím sa aktivuje Tas a iniciuje sa fosforylačná aktivačná kaskáda (Obr. 6.10 a 6.11)

10.11 Diferenciácia CD4⁺T helper 1 (Th1) a Th2 lymfocytov.

10.12 Aktivácia CD8⁺T bunky

10.13 Vytvorenie pamäťových T buniek

10.14 BCRreceptor. Funkcia povrchového imunoglobulínu je byť epitop-špecifickým BCRreceptorom. Všetky BCRreceptory vyjadrené jedinou B bunkou má identickú špecifickosť epitopu. Naviazanie epitopu spôsobí konformačnú zmenu v BCR čo spôsobí transdukciiu signálu do cytoplazmy prostredníctvom Igα a Igβ pomocných molekúl.

10.15 Detaily signalizačnej kaskády B bunky. Skrížené prepojenie vedie k napojeniu BCR, a veľká blízkosť cytoplazmatických častí Igα a Igβ molekúl umožní fosforyláciu ich ITAM tyrozín kinázami. Fosforylácia a aktivácia fosfolipázy vedie ku kaskáde transdukcie signálu (obr. 6.10 a 6.11)

10.16 Komplex koreceptoru B bunky. Druhý signál môže byť poskytnutý B bunky prostredníctvom komplementového receptoru 1 (CR1, CD35) alebo CR2 (CD21). Mikrobiálny epitop viaže BCR. Fragment C3b alebo C3d viaže mikroorganizmus. CR35 (CR1) sa viaže C3b a CR21 (CR2) sa viaže C3d fragment. CD19 a CD81 sa rýchlo spoja s CR. CD19, CD21 a CD81 kolektívne tvoria komplex koreceptoru B bunky. Tyrozín kinázy sú aktivované a fosforylujú ITAM na Igα a Igβ, čím sa umožní aktivácia signalizačnej kaskády.

10.17 Väčšina aktivít B buniek vyžaduje spoluprácu s CD4⁺T bunkou. **1.** Zapojenie pMHC II na TCR:CD3:CD4 komplex je prvý signál CD4⁺T bunky. **2.** Spolupráca BCR s ich

obligátnym epitopom je prvý signál B bunky. CD28 a/alebo DC154 napojenie na CD80/86 a CD40 resp., čo poskytne kostimuláciu 3. CD4+ bunke a 4. B bunke. 5. Interakcia pMHC II triedy s $\alpha\beta$ TCR a CD4 molekúl môže poskytnúť ďalšiu stimuláciu B bunky. Signalizačný proces vedie k sekrécii IL-4 T bunkou a k vytvoreniu IL-4R YB bunkou.

10.18 Inerbunkova spolupráca vedúca k sekrécii protilátok

Otázky

10.1 T bunky rozpoznávajú epitopy, s ktorými sa predtým nikdy nestretli prostredníctvom

- A. náhodne vygenerovaným obrovským množstvom TCReceptorov, ktoré boli vytvorené pred stretnutím sa s antigénmi
- B. spracovaním vzoriek prostredia fagocytózou alebo pinocytózou
- C. syntetizovaním imunoglobulínov špecifických pre veľké množstvo epitopov
- D. výberom z veľkého množstva molekúl ako napríklad TCReceptora ligandami
- E. použitím v genóme zakódovaných PRR

10.2 Ktoré z nasledujúcich pôvodných buniek zaberajú peptidové fragmenty do molekuly MHC II triedy

- A. CD4+ T bunky
- B. CD8+ T bunky
- C. Dendritické bunky
- D. $\gamma\delta$ T bunky
- E. neutrofily

10.3 Fragmenty cytoplazmatického patogéna sú prezentované T bunkám

- A. priamym zapojením PRR na povrchu bunky
- B. makropimnocytozou do $\gamma\delta$ T bunkami
- C. molekulami MHC I triedy CD8+ T bunkám
- D. fagocytózou a prezentáciou CD4+ T bunkám
- E. umiestnením do endocytických vezikúl a ich spojením s molekulou MHC II triedy

10.4 Termín *imunologická synapsa* sa týka

- A. PAMP rozpoznaním PRR
- B. Reštrikciou CD4+ T buniek pred molekulami MHC I triedy
- C. Selektívnou anergiou T buniek
- D. Rozpoznaním voľných molekúl T bunkami
- E. Kontakt medzi APC a T bunkou

10.5 CD4+ T bunky, ktoré odpovedajú na intracelulárne patogény aktiváciou a nahromadením fagocytujúcich buniek sa nazývajú

- A. APC
- B. Cytotoxické T lymfocyty
- C. Th0 bunky
- D. Th1 bunky
- E. Th2 bunky

10.6 V prítomnosti lipopolysacharidu odvodeného z mikroorganizmu

- A. APC bunky môžu secerňovať IL-12
- B. Uvoľnenie cytokínov má za následok aktiváciu leukocytov
- C. Stimulácia sekrécie IFN- γ aktivizuje leukocyty

- D. Th0 bunky sa ďalej diferencujú na Th1 bunky
- E. Všetky možnosti sú správne

10.7 Napojením sa pMHC I na infikovanej bunke

- A. BCReceptory sa navzájom pospájajú a spustí sa signalizácia
- B. CD4⁺ bunky uvoľnia IL-4
- C. CD8⁺ cytotoxické T bunky zničia infikovanú bunku
- D. Naivné Th1 bunky secernujú cytokíny
- E. Th0 bunky sa diferencujú na Th2 bunky

10.8 Aktivácia individuálnych B buniek, ktorá zahŕňa ich naviazanie sa na epitopy prítomné na membránach vedie k

- A. prezentácii MHC I triedy dendritickými bunkami
- B. rozpoznaní iných epitopov povrchovými IgD a IgM
- C. prenosu signálu z BCReceptora a z CD4⁺ Th2 bunky do jadra
- D. preladeniu triedy
- E. zničeniu antigénu proteazómami.

Komentár

10.1 A TCReceptory sú náhodne vygenerované predtým ako dôjde k expozícii antigénom. Fagocytujúce bunky používajú fagocytózu a pinocytózu v procese internalizácie antigénov bez ohľadu na špecifickosť pohlteného materiálu. T bunky nesyntetizujú imunoglobulíny. Vďaka receptorom rozpoznávajúcej palety vyjadrených na mikrobiálnych molekulách je vlastnosťou TLReceptorov a nie TCReceptorov. TLR sú receptory PRR kódované geneticky.

10.2 C Z vymenovaných buniek len dendritické bunky môžu spracovať peptidové fragmenty a zachytiť ich do MHC II molekúl a prezentovať ich. Lymfocyty či už CD4⁺ alebo CD8⁺ alebo $\gamma\delta$ nie sú schopné uskutočňovať tento proces. Neutrofily môžu pohltnúť peptidy a degradovať ich, ale nesyntetizujú MHC II molekuly.

10.3 C Cytoplazmatické peptidy sú prezentované MHC I molekulami. PRR neprezentujú peptidy T bunkám alebo $\gamma\delta$ T bunkám. CD8⁺ T bunky rozpoznávajú peptidové fragmenty prezentované I triedou MHC molekúl. Nie sú spracované v endocytických vezikulách a prezentované MHC II molekulami CD4⁺ T bunkám.

10.4 E Imunoglobulinová synapsa je kontakt medzi T bunkami a APC, netýka sa to rozpoznania alebo väzby PRR. CD4⁺ T bunky sú určené na rozpoznanie peptidu viazaného a prezentovaného MHC II molekulami. Selektívna neodpovednosť T buniek sa nazýva tolerancia alebo anergia. TCReceptory nerozpoznávajú voľné, rozpustné molekuly.

10.5 D CD4⁺ Th1 bunky priťahujú a aktivujú makrofágy a deštruujú intracelulárne patogény. APC nie sú T bunky. Cytotoxické T lymfocyty sú CD8⁺. Th0 a Th2 bunky, aj keď sú tiež CD4⁺ nie sú zapojené do tejto aktivity.

10.6 E Všetky tieto aktivity môžu nasledovať po aktivácii fagocytujúcich buniek rozpoznávaním a väzbou LPS prostredníctvom TLReceptorov. Aktivované fagocyty môžu secernovať rôzne cytokíny, ktoré môžu byť zapojené do chemotaxie a aktivácie iných leukocytov. Medzi tieto cytokíny patrí IL-12, ktorý stimuluje NK bunky k sekrécii produkcie IFN- γ , ktorý podporuje diferenciáciu DC4⁺Th0 bunky na Th1 bunky.

10.7 C Keď už raz sú aktivované, cytotoxické T lymfocyty môžu viazať a ničiť infikované bunky s pMHC I komplexom rozpoznané TCRreceptormi. Ani B bunky ani CD4⁺T bunky nerozpoznávajú pMHC I. T helper bunky (pomocné) - či už to sú Th0, Th1 alebo Th2 – sú CD4⁺ a nerozpoznávajú pMHC I.

10.8 C Aktivácia naivnej B bunky vyžaduje zapojenie BCRreceptoru (imunoglobulín) a sekundárny signál z CD4⁺ Th2 buniek. B bunka nevyžaduje interakciu s APC akými sú dendritické bunky. IgD a IgM na ich povrchu majú rovnakú špecifitu epitopu. Zmena cytoplazmatických molekúl proteazómami je normálne prebiehajúcou aktivitou ale nie je zapojená do aktivácie naivných B buniek. Preladenie izotypu sa vyskytuje len počas reaktivácie pamäťových B buniek a nie počas prvej aktivácie naivných buniek.

11. Funkcia lymfocytov

I. Úvod

Vrodený imunitný systém používa humorálne aj bunkové mechanizmy na to, aby obkolesil, fagocitoval, enzymaticky degradoval alebo inými spôsobmi zabil mikrobiálneho útočníka. (Obr. 11.1). Získané imunitné mechanizmy tiež používajú humorálnu alebo bunkovú obranu. Na rozdiel od vrodených imunitných mechanizmov odpovede získanej imunity sú užšie nasmerované a zacielené a môžu byť nastavované tak, že odolávajú perzistentnej hrozbe.

Jedno z ramien získaného imunitného systému využíva rozpustné molekuly (tekutiny), vrátane protilátok alebo komplementovej kaskády, na zacielenie a zničenie napádajúcej hrozby. **Humorálna imunita** môže byť považovaná za šíp alebo guľku vo výzbroji imunitného systému. Produkovaná a secernovaná plazmatickou bunkou molekula protilátky je rozpustná a cestuje po tele, aby našla a naviazala cieľ. Naviazanie sa protilátky na mikrobiálny epitop môže zabrániť líreniu mikroorganizmu viacerými spôsobmi: imobilizáciou, prevenciou prichytenia mikroorganizmu na hostiteľskú bunku, podporou fagocyózy a určením mikroorganizmu na deštrukciu (z mikróba sa stane MUKL – mikrób určený k likvidácii) prostredníctvom iných solubilných voľných molekúl alebo leukocytov akými sú NK – prirodzené zabíjače a eozinovy.

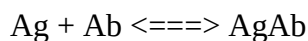
Druhé rameno získanej imunity je pôsobiskom bunkami sprostredkovanej imunity - CMI – cell mediated immunity. Je to miesto kontaktného boja, v ktorom leukocyty priamo napádajú votrelca alebo infikované bunky. Bunková získaná imunita je kontrolovaná a regulovaná T bunkami. Niektoré T bunky akými sú cytotoxické T lymfocyty, priamo kontaktujú infikované bunky a zlikvidujú tak hniezdo, v ktorom sa mikroorganizmus rozmnožuje, a to tak, že zničí bunkové membrány alebo navodí naprogramovanú smrť – apoptózu. Ostatné T bunky usmerňujú ďalšie leukocyty, aby zaútočili a zničili mikroorganizmy alebo infikované bunky, čo je odpoveď nazývaná oneskorená hypersenzitivita (DTH – delayed type of hypersensitivity), o ktorej sa hovorí v kapitole 14.

II. Humorálna imunita

Humorálna imunita je založená na aktivitách protilátok a komplementu. Hoci bunky produkujú protilátky, je to práve väzba týchto voľných rozpustných molekúl, čo je zodpovedné za humorálnu imunitnú odpoveď. Rozpustné molekuly sú výkonnými štruktúrami. Jednou z týchto reakcií je neutralizácia, priamo nasmerovaná na naviazanie mikroorganizmu na protilátky, zatiaľ čo opsonizácia, aktivácia komplementu (viac špecificky, klasická cesta aktivácia komplementu) a ADCC – antibody dependent cell cytotoxicity – na protilátkach závislá cytotoxicita – zahŕňa použitie protilátok na určenie bunky alebo molekuly na likvidáciu inými prvkami imunitného systému.

A. Reakcia antigénu s protilátkou

Reakcia antigenu (Ag) s protilátkou (Ab) je najšpecifickejšou z nekovalentných biochemických reakcií a môže byť znázornená rovnicou



Hoci je táto reakcia posunutá do prava, uprednostňujúca tvorbu Ag-Ab komplexov, všimnite si, že je to proces reverzibilný. Sila interakcie (Ag-Ab väzba je silnejšia ako disociácia Ag od

Ab) sa nazýva **afinita** . Rôzne imunoglobulíny u jednotlivca majú rôzne spektrum afinity. **Valencia** sa týka počtu epitopy viažucich mies na molekule imunoglobulínu a líši sa od 2 (na monomérnej forme všetkých izotypov) až po 4 (sekrečný IgA) a 10 (na pentamére IgM). Termín **avidita** je často používaný na označenie kolektívnej afinity viacerých väzobných miest (afinita + valencia) imunoglobulínu.

Precipitačná reakcia je termín používaný na označenie reakcie rozpustného antigénu s rozpustnou protilátkou, čo má za následok tvorbu Ag-Ab komplexov (**zosieťovanie**) , ktoré sú dosť veľké na to, aby vypadli z roztoku (**precipitovali**). Na pochopenie Ag-Ab reakcií je potrebné pochopiť **kvantitatívnu precipitačnú reakciu**.

Kvantitatívna precipitačná krivka môže byť demonštrovaná zmiešaním a inkubáciou rôznych množstiev antigénu (v konštantnom objeme) s rovnakými a konštantnými objemami antiséra (obsahujúceho protilátky) (Obr. 11.2). Tvorba precipitátu v sérii skúmviek môže byť zameraná a vytvoria sa 3 zóny kvantitatívnej distribučnej krivky. Množstvo precipitátu, ktorý sa vytvoril závisí na pomere antigénu s protilátkou a je rovnako obplyvnený aviditou protilátky. Podobnú krivku je možné vytvoriť aj tak, že množstvo antigénu zostane konštantné a mení sa bude množstvo pridávanej protilátky.

Tri oblasti kvantitatívnej precipitačnej krivky sú:

- **Zóna nadbytku antigénu** – V roztoku je nedostatok protilátok na vytvorenie rozsiahleho zosieťovania. Komplexy Ag-Ab sú príliš malé na to, aby precipitovali. Následkom je tvorba rozpustných komplexov.
- **Zóna ekvivalencie** – Optimálna precipitácia sa vytvorila v tejto časti krivky. Veľké zhluky, ktoré sa vytvorili sú viditeľné ako precipitujúce komplexy.
- **Zóna nadbytku protilátky** – nedostatočné množstvo antigénu zapríčiní, že sa nemôžu vytvoriť veľké zhluky, a tak sa tvoria rozpustné komplexy

Tento princíp kvantitatívnej precipitačnej krivky je využiteľný pre všetky Ag-Ab reakcie a tvorí základ mnohých klinických diagnostických testov (Kapitola 20).

B. Aglutinácia

Protilátky môžu tiež viazať a navzájom poprepájať bunky alebo čiastočky, čo spôsobí vytvorenie agregátov v **aglutinačnej** reakcii. Aglutinácia je účinná pri vychytávaní mikrobiálnych útočníkov do molekulárnej siete, čím znemožňujú ich pohyb (obr. 11.3) a čím sa stanú náchylnejšími na zničenie. Protilátky izotypu IgM a IgA sú obzvlášť využívané pri tejto reakcii, pretože majú 10 a 4 viažúce miesta. IgG protilátky v dostatočnej koncentrácii môžu aglutinovať bunky aj častic. Protilátky môžu aglutinovať nemikrobiálne bunky, ako je často ukazované pri použití IgM protilátok na typizáciu AB0 erytrocytov (Kapitola 17 a 20).

C. Neutralizácia

Neutralizácia je viazanie protilátok na mikrobiálne epitopy alebo rozpustné molekuly (toxíny napr.) spôsobom, ktorý inhibuje molekuly alebo mikroorganizmy viazať sa na povrch cieľovej bunky. Väzba na povrch hostiteľskej bunky je nevyhnutným krokom na to, aby mikroorganizmus alebo toxín vstúpil do bunky a poškodil ju. Protilátky vytvorené proti mikroorganizmom alebo toxínom často obsahujú protilátky, ktoré spolupracujú s povrchom hostiteľskej bunky, čím sa zabráni vstupu mikroorganizmu alebo toxínu vstúpiť do bunky. (Obr. 11.4). Neutralizujúce protilátky sú obvykle IgA alebo IgG izotypy. Práve prítomnosť neutralizujúcich protilátok vytvorených na začiatku infekcie poskytuje najväčšiu ochranu pred následnou reinfekciou rovnakým mikroorganizmom.

D. Oponizácia

Niekedy väzba protilátok (obvykle Ig1 alebo IgG3 izotypu) na povrch mikroorganizmu stačí na „vyvolanie hladu“ fagocytu, čím sa zvýši príťažlivosť mikroorganizmu. Tento proces sa nazýva **opsonizácia**. V podstate protilátky viažu sa na mikroorganizmus ho označia na likvidáciu fagocytujúcimi bunkami. Po naviazaní podstúpia molekuly protiálky konformačné zmeny, ktoré sa týkajú predovšetkým Fc fragmentu (Obr. 6.6). Makrofágy, dendritické bunky a neutrofily majú povrchové receptory (FcR) pre Fc časť imunoglobulínu. Tabuľka 11.1 predstavuje typy a distribúciu Fc receptorov. FcReceptory na fagocytujúcich bunkách rozpoznávajú molekuly protilátok s naviazaným antigénom, pritiahnu označený mikroorganizmus ku fagocytujúcim bunkám a stimulujú ich pohltenie a deštrukciu (Obr. 11.5). Naviazanie a pohltenie prostredníctvom FcγRI receptora je uľahčované simultánnym použitím receptorov pre komplementy (CR) (Obr. 11.6., tiež Obr. 5.3). Takže úloha naviazanej protilátky a naviazaných fragmentov komplementu akými sú C3b pracujú synergicky tak, že slúžia ako **opsoniny** stimuláciou fagocytózy.

E. ADCC – antibody dependent cell mediated cytotoxicity – na protilátkach závislá cytotoxicita

Označením invázneho organizmu sa môže spustiť prítiahnutie fagocytujúcich buniek a ostatných cytolytických buniek. FcReceptory na **NK** bunkách (FcγRIII) a **eozinofiloch** (FcγRI, FcεRI a FcαRI) sú IgG-, IgE- a IgA špecifické (Tabuľka 11.1). Naviazané bunky môžu byť baktérie, prvoky alebo dokonca parazitárne červy. Ako pri fagocytujúcich bunkách, tieto receptory dovoľujú cytolytickým bunkám viazať invázne organizmy označené IgG, IgE alebo IgA protilátkami, ale skôr ako pohltenie, využívajú cytolytické mechanizmy pri zabíjaní označených organizmov (Obr. 11.7A, 11.7B). Tento proces sa nazýva ADCC - **antibody dependent cell mediated cytotoxicity – na protilátkach závislá cytotoxicita**. Cytolytické mechanizmy používané NK bunkami a eozinofilmi pri ADCC sú podobné ako mechanizmy využívané cytotoxickými bunkami na zabitie útočníka.

F. Aktivácia komplementu

Klasická cesta komplementu je aktivovaná konformačnou zmenou, ku ktorej dôjde v Fc fragmente protilátok pri naviazaní epitopu. Protilátky (obvykle IgG a IgM) uľahčujú postupné naviazanie C1, C4, C2 a C3 súčastí komplementového systému (Obr. 11.8). Podobne ako alternatívna cesta a MBL cesta (Obr. 5.7 a 5.10) ukončenie klasickej cesty komplementu má za následok produkciu C3b, čo je fragment C3, ktorý sa viaže na povrchy (buniek, mikroorganizmov alebo častíc (Obr. 20.12) ako vysoko efektívny opsonin (Obr. 5.4), uvoľnenie malých proinflamačných fragmentov akými sú C5a, C4a a C3a a vytvorením MAC – membránu atakujúceho komplexu (Obr. 5.8 a 5.9).

G. Okamžitá hypersenzitivita

Mastocyty a bazofily majú povrchové receptory, ktoré viažu Fc časť IgE molekuly, na ktorú sa zatiaľ nenaviazali pre ne špecifické epitopy. Takže tieto bunky majú set na receptory naviazaných imunoglobulínov, ktoré fungujú ako epitopy-rozpoznávajúce povrchové receptory. Keď je povrchový IgE exponovaný vhodnému epitopu a dôjde k vzájomnému previazaniu, mastocyt/bazofil je stimulovaný k degranulácii. Dôjde k uvoľneniu cytoplazmatických granúl, ktoré spustia set udalostí typických pre *okamžitú hypersenzitivitu*. Okamžitá hypersenzitivita, zahŕňajúca astmu a alergie, sú bližšie diskutované v kapitole 14.

III. CMI – cell mediated immunity – bunkami sprostredkovaná imunita

Vrodená a získaná imunita môže byť chápaná ako forma zbrane na bunkovej a molekulárnej úrovni proti potenciálnym inváznym organizmom. Protilátky a komplement môžu byť účinnou zbraňou proti mikroorganizmom, ktoré identifikujú a zachytia. Ale mikroorganizmy nie sú len závislé na ich počte ale používajú aj únikovú taktiku vrátane ukrytie sa v hostiteľských bunkách, kde ich protilátky a komplement nemôžu zasiahnuť.

CMI odpovede sú nasmerované proti mikroorganizmom sú spustené tým, že sa určí či sú infekčné agensy vo vnútri hostiteľskej bunky, a teda mimo dosah humorálnej imunity. CMI sa podobá kavalérii a kontaktnému boju. Existuje v základných formách: **DTH – delayed type of hypersensitivity – hypersenzitivita opozdeného typu**, ktorá je sprostredkovaná CD4⁺ Th1 bunkami a **bunkami sprostredkovanou lýzou**, ktorá je sprostredkovaná CD8⁺ cytotoxickými T lymfocytmi (CTL). CMI je niečo ako boj na život a na smrť. Pri DTH, niektoré bunky pracujú ako vojaci alebo starší dôstojníci identifikujú miesta infekcie, privolávajú posily (predovšetkým makrofágy a leukocyty), a nasmerujú ich tak, aby zabili infekčné agensy alebo zničili hostiteľskú bunku. CTL sa naproti tomu pustia do priameho boja bunky s bunkou, aby aktívne zničili infekčné agens alebo hostiteľskú bunku, v ktorej je agens schovaný.

A. DTH – delayed type hypersensitivity: úloha CD4⁺T bunky

Po aktivácii CD4⁺Th1 bunky opustia lymfatické uzliny, v ktorých boli aktivované a prestupujú vaskulatúrou, telesnými tkanivami a lymfatickým systémom, vyhľadávajú hostiteľské bunky s rovnakou molekulou pMHC II, ktorá pôvodne spustila ich aktiváciu. Ak v priebehu recirkulácie cez telesné tkanivá, pôvodne aktivované TH1 bunka sa opôť spojí s pMHC II na fagocytárnej bunky (napr. v mieste infekcie), viaže sa a kooperuje. Príchod na miesto infekcie je uľahčovaný sekréciou cytokínov odvodených z fagocytov akými sú IL1, IL8 a TNF α ktorý aktivuje endotel lokálnych ciev a podporuje vaskulárnu permeabilitu. Fagocyt ako napr. APC môže **reaktívovať** Th1 bunky k proliferácii od nova a získať schopnosť aktivoval makrofágy (Obr. 11.9). Tak T bunky získaného imunitného systému riadi aktivity buniek vrodenej imunity.

Pri DTH odpovedi, aktivácia makrofágov prostredníctvom CD4⁺ Th1 buniek je sprostredkovaná priamym kontaktom (viazaním CD40 a CD154) a sekréciou IFN- γ T bunkami. Keď sú aktivované, makrofágy zvýšia svoju fagocytárnu aktivitu rovnako ako aj produkcia a uvoľňovanie deštruktívnych enzýmov a reaktívnych kyslíkových medziproduktov. Aktivované makrovágy sa stávajú slepými, zúrivými zabijákmi ničiacimi nielen infikované bunky a infekčné agensy, ale aj normálne neinfikované bunky v blízkosti (kapitola 5). Tieť secernujú cytokíny, ktoré priťahujú ostatné leukocyty, predovšetkým neutrofily do miesta infekcie. Spolu, aktivované makrofágy a neutrofily sliedia v mieste infekcie, poškodzujú bunky, pohlcujú a zabíjajú mikroorganizmy a odstraňujú bunkové zbytky.

DTH odpoveď môže byť dvojsečnou zbraňou. Pretože aktivované makrofágy nie sú antigén-spezifické, napádajú priateľov aj nepriateľov, teda zdravé tkanivo aj infikované bunky. DTH odpoveď má dve fázy: špecifická fáza je podmienená aktivitou TH1 T bunkou a nešpecifická fáza je založená na aktivite novo aktivovaných makrofágov (Obr. 11.10). Reaktivácia každej Th1 bunky je epitop-spezifická (napr. peptidom odvodeným z *Leishmanie*) a vyžaduje stimuláciu konkrétnym pMHC II špecifickým k svojmu TCR. Avšak makrovágy sú následne aktivované Th1 bunkou nie sú epitop-spezifické a sú schopné zničiť nielen *Leishmaniu* ale aj akékoľvek iné dostupné mikroorganizmy. Pokiaľ DTH odpoveď eliminuje hrozbu a preživa

tak, že tkanivo sa upravuje a hrozenie môže nasledovať, je to neobvykle vhodný obranný mechanizmus. Nadmerne aktívna alebo chronická DTH odpoveď často vyvolá permanentné postihnutie hostiteľského tkaniva, ktoré môže porušiť normálnu funkciu a v niektorých prípadoch môže byť fatálna. Napr. väčšina alebo mnoho z pľúcnych poškodení súvisiacich s *Mycobacterium tuberculosis* sa pripisuje aktivovaným makrofágom, ktoré obkolesujú baktérie a vytvoria granulomy (tuberkuly) a nie vlastným mikroorganizmom.

B. Cytotoxické T lymfocyty: úloha CD8+ T bunky

Len malá časť buniek tela má MHC II molekuly, hoci všetky jadrové bunky majú aj MHC I molekuly. CD8+ T bunky môžu kontrolovať jadrové bunky v celom tele a sledovať, ktoré a či cytoplazmatické peptidy sú prezentované prostredníctvom MHC I molekúl.

1. Rozpoznanie cieľových buniek: Podobne ako CD4+ T bunky, aktivované CD8+ CTL cirkulujú telom a vyhľadávajú pMHC I komplexy na bunkách tela, a určujú či rovnaké pMHC I, ktoré viedli k ich vlastnej aktivácii je možné nájsť. Ak CTL nájdú rovnaký rovnaký komplex na povrchu inej bunky rozpozná, že došlo ku kontaktu s infikovanou bunkou (Obr. 11.11) CTL sa viažu priamo na pMHC I na infikovaných bunkách a ničia ich.

2. Zničenie cieľovej bunky : Keď sa raz naviaže na bunku, ktorú bude treba zničiť, CTL môžu použiť množstvo mechanizmov na zničenie cieľových buniek (obr. 11.11). Uvoľnia **perforíny**, ktoré vytvoria diery v bunkových membránach infikovaných buniek a účinne ich lyzujú. CTL tiež uvoľňujú **granzymy**, ktoré vstupujú do cytoplazmy cez membránové lézie vytvorené perforínmi a indukujú degradáciu DNA infikovanej bunky a tým navodí apoptózu bunky. Aby sa predišlo vlastnej smrti, CTL upozornia vlastné membrány v mieste kontaktu tak, aby sa stali rezistentnými na produkované perforíny a granzymy. Napokon, CTL majú molekuly (napr. Fas ligandy, FasL, tiež nazývaný CD178), ktoré môžu napojiť Fas (CD95) na povrchoch infikovaných buniek. Fas je exprimovaný na mnohých bunkách tela a zapojenie Fas indukuje apoptózu. Apoptóza poskytuje dôležitý ochranný mechanizmus pretože dochádza k zničeniu vlastnej DNA, infikované bunky tiež ničia nukleové kyseliny infekčných organizmov, ktoré majú, čo pomáha pri prevencii šírenia infekcie.

IV. Imunologická pamäť

Dôležitým rozdielom medzi vrodenu a získanou imunitou je prítomnosť **imunologickej pamäte**. Keď raz infekčný organizmus stimuluje procesy získanej imunity, následne sa často vyprodukuje mierna alebo nerozoznaná reakcia, vďaka rýchlej a zosilnenej akcii protilátok alebo efektorových T buniek. Antigen špecifické bunky, u ktorých došlo ku klonálnej expanzii a podstúpili určitý stupeň aktivácie počas predchádzajúceho stretnutia s antigénom (**pamäťové bunky**) sa môžu rýchlo mobilizovať vo väčšom počte, čím sa skracuje čas odpovede na antigen. Či už je vytvorená proti infekčným agensom alebo iným typom antigenov, táto **sekundárna odpoveď** je typicky rýchlejšia a významne razantnejšia ako primárna odpoveď stimulovaná po prvej expozícii (Obr. 11.12).

Protilátky produkované B bunkami, ktoré boli dlhšie alebo opakovane exponované tomu istému epitopu môžu podstúpiť **preladenie triedy** navodené cytokínmi typu 2 (tabuľka 11.2., tiež obr. 8.13 a 8.14 v kapitole 8). Dostupnosť viacerých izotypov, ktoré majú tú istú špecifitu dovoľuje humorálnu odpoveď, ktorá spustí množstvo mechanizmov (napr. aktiváciu komplementu vďaka IgM a IgG protilátok., sekrécia do externých telesných tekutín

prostredníctvom IgA, degranulácia mastocytov prostredníctvom IgE) , ktoré sú nasmerované proti tomu istému epitopu. Sériová reaktivácia pamäťových B buniek dovoľuje preladenie izotypu, ktoré sa vyskytuje počas každej restimulácii (Obr. 11:3). IgM je prevažujúci izotyp pri primárnej odpovedi, sekundárna odpoveď zahŕňa najviac IgG, pričom IgA a IgE sú tiež prítomné. Pretože izotypy protilátok sa menia pri opakovanej stimulácii na daný antigén, účinnosť väzby protilátok sa tiež mení: čo sa stane vďaka malým mutáciám v DNA oblastiach kódujúcich variabilné oblasti ľahkých a ťažkých reťazcov (obr. 11:14 a tiež obr. 8.15). B bunky, ktoré obsahujú mutácie, ktoré majú za následok silnejšiu väzbu epitopov ich povrchovými imunoglobulínmi sú stimulované, aby proliferovali rýchlejšie, zatiaľ čo tie, ktoré viažu horšie, neproliferujú tak výrazne. Ako následok, protilátková odpoveď je kontinuálne riadená B bunkami, ktoré produkujú protilátky s najvyššou afinitou proti danému epitopu, čo je proces nazývaný **dozrievanie afinity** (Kapitola 8).

Vývoj imunologickej pamäte môže byť umelo sledovaný pri **vakcinácii – očkovaní**. Expozícia infekčnému agensu vo forme, ktorá nie je schopná vyvolať plne rozvinuté ochorenie môže poskytnúť ochranu pri nasledujúcej expozícii virulentnej forme daného organizmu. Podobne expozícia netoxickej forme toxínu (teplom denaturovanému toxínu = toxoidu) môže poskytnúť ochranu pri ďalšej expozícii prirodzenej forme toxínu. Počas **primárnej odpovede**, kedy je hrozba ochorenia minimalizovaná „neschopným“ mikroorganizmom, si telo buduje obranné zásoby v podobe pamäťových buniek (T aj B), ktoré proliferovali a podstúpili určitý stupeň aktivácie. Pri budúcej expozícii tomu istému organizmu, aj keď tentokrát vo virulentnej forme, je telo vybavené veľkým množstvom reagujúcich buniek, ktoré navodia rýchlu a razantnejšiu odpoveď proti infekčnému organizmu počas **sekundárnej odpovede**. Príležitosť vytvoriť IgG a IgA protilátky proti mikroorganizmom umožňuje organizmu neutralizovať opakovane sa objavený mikroorganizmu, minimalizovať stupeň aktuálnej infekcie na takú úroveň, aby mohla byť účinne eliminovaná. Odstránenie infekčného agensu sekundárnou (alebo ďalšou) odpoveďou môže byť tak účinné, že si jedinec vôbec ani neuvedomí reinfekciu.

Hoci myslíme na imunologickú pamäť predovšetkým v zmysle zosilnenia odpovede pri následnej expozícii infekčným organizmom alebo iným antigénom, nie je to vždy len o tom. V niektorých prípadoch sa odpovede po ďalšej expozícii môžu znižovať, čo je stav nazývaný **tolerancia**. Tento fenomén je dôležitý pri prevencii toho, aby imunitný systém produkoval nadmernú (a potenciálne škodlivú) odpoveď proti nebezpečným organizmom a molekulám v prostredí a aj proti vlastným telesným bunkám a molekulám. Tieto situácie sú prebrané v nasledujúcich kapitolách,

Súhrn

- Humorálna imunita je založená na aktivitách voľných protilátok a komplementu
- Precipitačné reakcie sú následkom spolupráce rozpustného antigénu s rozpustnou voľnou protilátkou, čo má za následok tvorbu Ag-Ab komplexov, ktoré sú dosť veľké na to aby vypadli z roztoku ako viditeľný precipitát.
- Protilátky sa môžu viazať a navzájom previazali bunky a častice vytvoria agregáty v reakcii, ktorá sa volá **aglutinácia**.
- **Neutralizácia** je naviazanie protilátok na mikrobiálne epitopy alebo rozpustné molekuly (napr. toxíny) takým spôsobom, ktorý inhibuje schopnosť týchto mikroorganizmov/molekúl viazať sa na povrchy hostiteľskej bunky.
- Makrofágy, dendritické bunky a neutrofily nesúce povrchové receptory (FcR) pre Fc fragment imunoglobulínu. S výnimkou FcR ϵ , ktoré viažu voľné IgE, FcReceptory rozpoznávajú a viažu len molekuly protilátok, na ktoré sú naviazané epitopy. Väzba FcReceptorov na protilátky naviazané na mikroorganizmus, čo stimuluje fagocyty a pohltenie a deštrukciu mikroorganizmu. Naviazaný imunoglobulín a naviazané komplementové fragmenty, akými je C3b, synergicky slúžia ako **opsoniny** a stimulujú fagocytózu.
- **Klasická cesta aktivácie komplementu** je aktivovaná konformačnými zmenami, ktoré sa vyskytnú na protilátkach ak sa epitop naviaže (obvykle IgM alebo IgG izotypov) čo uľahčuje sekvenčné naviazanie C1, C4, C2 a C3 súčasti komplementového systému.
- Bnkami sprostredkovaná imunitná odpoveď zahŕňa 2 základné formy: **DTH – delayed type hypersensitivity – hypersenzitivita oneskoreného typu**, sprostredkovaná CD4⁺ Th1 a **bunkami sprostredkovaná lýza** sprostredkovaná CD8⁺ cytotoxické T lymfocyty (CTL).
- Pri DTH odpovedi, aktivácia makrofágov prostredníctvom CD4⁺ Th1 buniek je sprostredkovaná priamym kontaktom (väzbou CD40 a CD154) a IFN γ secernovaným T bunkami. Ak už raz boli aktivované, makrofágy zvýšia svoju fagocytárnu aktivitu ako aj produkciu a uvoľnenie deštrukčných enzýmov a reaktívnych kyslíkových medziproduktov.
- Pri bunkami sprostredkovanej lýze, aktivované CD8⁺ CTL vyhľadávajú bunky, ktoré majú rovnaký pMHC komplex, aký stimuloval ich vlastnú aktiváciu. Keď je taká bunka nájdená, CTL môže využiť viaceré mechanizmy na zničenie týchto cieľových buniek. Tieto mechanizmy zahŕňajú lýzu vznikajúcu po vytvorení poškodenia membrány a indukciu apoptózy.
- Imunologická pamäť je odpoveďou získanej imunity. Keď infekčný organizmus stimuluje špecifickú získanú imunitu, imunitná odpoveď po každej nasledujúcej stimulácii je zmenená. Ďalšie stretnutia s týmto organizmom môžu vyvolať mierny a takmer nepovšimnutelný vplyv vďaka rýchlejšej a silnej aktivite protilátok a efektorových T buniek.

Otázky

11.1 Po autonehode 25 ročný muž vyžaduje krvnú transfúziu. Krvné testy na určenie krvnej skupiny pred transfúziou zahŕňajú stanovenie IgM protilátok proti A a B antigénu prítomným na erytrocytoch. Pozitívna reakcia sa prejaví tvorbou agregátov a nazývame ju:

- A. aglutinácia
- B. aktivácia komplementu
- C. neutralizácia
- D. opsonizácia
- E. precipitácia

11.2 Proces, ktorý je synergicky stimulovaný väzbou protilátok a napríklad aj súčasti komplementu (napríklad C3b) fagocytujúcimi bunkami sa nazýva

- A. aglutinácia
- B. aktivácia komplementu
- C. neutralizácia
- D. opsonizácia
- E. precipitácia

11.3 Termín používaný na označenie spolupráce rozpustných antigénov s voľnými rozpustnými molekulami protilátok a ktorý má za následok vytvorenie nerozpustných komplexov antigénu s protilátkou sa nazýva (napríklad pri imundifúzii)

- A. aglutinácia
- B. aktivácia komplementu
- C. neutralizácia
- D. opsonizácia
- E. precipitácia

11.4 Väzba protilátok mikrobiálnymi epitopmi alebo rozpustnými molekulami spôsobom, ktorý bráni schopnosti týchto mikroorganizmov/molekúl viazať sa na povrch hostiteľských buniek sa nazýva:

- A. aglutinácia
- B. aktivácia komplementu
- C. neutralizácia
- D. opsonizácia
- E. precipitácia

11.5 Ktoré z nasledujúcich izotypov protilátok uľahčuje postupnú väzbu C1, C4, C2 a C3 súčasti komplementovej kaskády

- A. IgA a IgD
- B. IgA a IgE
- C. IgA a IgM
- D. IgE a IgG
- E. IgG a IgM

Komentár

11.1 A Aglutinácia je zhluk buniek alebo častíc naviazaných navzájom na protilátky (obvykle IgG alebo dimér IgA). Aktivácia komplementu je spustená naviazaním C1 súčasti komplementu na protilátku (IgM alebo IgG) viažucu epitop. Neutralizácia je blokovanie povrchových štruktúr mikroorganizmov a toxínov, ktorými sa viažu na hostiteľskú bunku,

protilátkou.. Opsonizácia je zosilnenie fagocytózy bunkami alebo molekulami protilátkami (obvykle IgG1). Precipitínová reakcia je výsledkom spojenia veľkých komplexom antigénu s protilátkou, čo zapríčiní ich vypadnutie z roztoku.

11.2 D.

11.3 E

11.4 C

11.5 E Klasická cesta aktivácie komplementu sa začína interakciou C1 (a ďalej C4, C2 a C3) s IgG alebo IgM s naviazaným epitopom. IgA, IgD a IgE neviažu C1.

Obrázky

11.1 Efektorové funkcie lymfocytov – prehľad

11.2 Precipitačná krivka. Vytvorenie a precipitácia veľkých nerozpustných komplexov Ag+Ab sa vyskytuje pri optimálnom pomere antigénu a protilátky. Pomer závisí na komplexnosti antigénu a avidite protilátky

11.3 Aglutinácia. Protilátky sa môžu navzájom prviazať s infekčným agensom. (A), hostiteľskými bunkami (B) alebo antigénom viazaným na povrchu pevnej častice (C).

11.4 Neutralizácia. Vyskytuje sa, keď protilátky blokujú štruktúry na infekčných agensoch alebo molekulách toxínu, ktoré sú potrebné na naviazanie a vstup do hostujúcej bunky.

11.5 Zachytenie a opsonizácia prostredníctvom FcReceptorov (FcR) dovoľuje prichytenie protilátky s naviazaným epitopom na bunky a jej internalizáciu. Existujú viaceré typy Fc receptorov, ktoré sa špecializujú na rôzne izotypy protilátok (Tab 11.1).

11.6 Synergia Fc receptorov a komplementových receptorov pri opsonizácii. Súčasné použitie Fc receptorov (FcR) a receptorov pre komplement (CR) na ukotvenie antigénov naviazaných na protilátky a fragmenty komplementu synergicky zvyšujú opsonizáciu.

11.7 ADCC – antibody dependent cell cytotoxicity – na protilátkach závislá cytotoxicita. Fc receptory na NK bunkách (A) a na eozinofiloch (B) im umožňujú naviazať sa a zničiť priamym bunkovým kontaktom bunky, ktoré boli zachytené protilátkami. Na NK bunkách sú odlišné od KIR a KAR receptorov používaných na detekciu stresových molekúl a MHC I molekúl.

11.8 Klasická cesta aktivácie komplementu – je spustená väzbou protilátok a antigénu, čím sa vytvorí Ag+Ab komplex, ktorý dovoľuje následnú väzbu C1 súčasti komplementu

11.9 DTH. Aktivované CD4+Th1 bunky môžu po postupnej reaktivácii prostredníctvom interakcie s APC v tkanivách tela, secerňujú cytokíny, ktoré aktivujú lokálne makrofágy k tomu, aby spustili nešpecifickú deštrukciu miestnych buniek a tkanív.

11.10 Špecifická a nešpecifická fáza DTH. Hoci spustenie DTH odpovede je epitop-špecifické vďaka väzbe TCR a pMHC II, lokálna deštrukcia sprostredkovaná makrofágom, ktorý ju spustil nie je limitovaná len na spúšťačiaci epitop. Aktivované

makrofágy ničia nielen infekčné agensy, ktoré spustili DTH, ale aj mikroorganizmy v najbližšom okolí.

- 11.11 Rozpoznanie, väzba a cytolyza cytotoxickými T lymfocytmi. T lymfocyty (CTL) používajú svoje TCR na rozpoznanie a väzbu špecifického pMHC I, ktoré prezentujú príslušné cytoplazmatické peptidy (napr. z vírusov rozmnožujúcich sa v cytoplazme). Priame prichytenie na infikovanú bunku dovoľuje CTL bunkám zničiť infikovanú bunku prostredníctvom indukcie membránového poškodenia perforínmi alebo cez indukciu apoptózy buď granzymami alebo zapojením Fas a FasL povrchových molekúl
- 11.12 Primárna a sekundárna adaptívna imunitná odpoveď. Po prvotnej expozícii antigénu humorálna aj bunková získaná imunita majú len obmedzenú intenzitu a trvanie (primárna odpoveď). Následné expozície antigénu (sekundárna odpoveď) sú charakterizované zvýšenou intenzitou a trvaním odpovede. Každý epitop vyvolá samostatnú reakciu.
- 11.13 Preladenie tried v B bunkách. Preladenie triedy sa vyskytuje počas postupných reakcií a proliferácií pamäťových B buniek, ktoré sa vyskytujú, keď sú periodicky exponované antigénu a signálom z T bunky.
- 11.14 Dozrenie afinity pamäťových B buniek. Somatické hypermutácie sa vyskytujú počas proliferácie pamäťových buniek po reaktivácii. Nahromadené mutácie v DNA kódujúcej oblasti pre väzbu antigénu (Fab fragment) môžu spôsobiť zmeny v afinite syntetizovaných protilátok pre ich epitop. Mutácie, ktoré spôsobili zvýšenú afinitu stimulujú pamäťové bunky proliferovať rýchlejšie, takže predstavujú zvyšujúcu sa frakciu pamäťových B buniek špecifických pre epitop. Tak v priebehu času a opakovaných expozícií odpoveď na daný epitop je charakterizovaný produkciou protilátok so zvyšujúcou sa afinitou.

12. Regulácia odpovedí získanej imunity

I. Súhrn

Čo sa stane, keď sa imunitný systém nahnevá? Ak imunitný systém, či už jeho mechanizmy vrodené alebo získané pracujú správne, rozpoznávajú a útočia na cudzie molekuly a nechávajú napokoji vlastné štruktúry. Vrodené imunitné mechanizmy využívajú systém „hrubozrnných“ receptorov, ktoré rozoznávajú molekuly v širokej miere prítomné na potenciálnych patogénoch, ale nie na hostiteľových bunkách. Mechanizmy získanej imunity sú založené na receptoroch, ktoré sú somaticky a náhodne generované. Selektčné mechanizmy týmusu a kostnej drene eliminujú autoreaktívne T a B bunky počas ich vývoja. Avšak tieto mechanizmy nemôžu eliminovať všetky potenciálne autoreaktívne bunky, pretože systém získanej imunity je často konfrontovaný s vlastnými molekulami, ktoré neboli prítomné v čase selekcie v týmuse, alebo sa objavili neskôr v priebehu života (napríklad vytvorené v období puberty). **Autoimunita** je stav, pri ktorom imunitný systém rozpoznáva vlastné štruktúry ako cudzie. Mnohé vážne a potenciálne fatálne ochorenia, akými sú sclerosis multiplex, niektoré formy diabetu a systémový lupus erythematosus, sú spôsobené autoimunitnými reakciami.

Našťastie sa v rámci imunitného systému vytvorilo viacero mechanizmov, ktoré sa venujú potenciálne autoreaktívnym lymfocytom. Neusmernená a neregulovaná imunita je škodlivá. Bez regulácie imunitného systému by získaná imunita bola nepretržitou imunologickou reakciou bojujúcou proti epitopom, s ktorými sa neustále stretávame (napr. jedlo, pitie, kozmetika) a ktoré obvykle nie sú pre nás imunologickým problémom, alebo proti epitopom, ktorým sme exponovaní zriedkavo (interakcie plodu a matky).

II. Tolerancia

Normálne je imunitný systém útočnou mašinériou používanou proti externých hrozbám. Pozitívna a negatívna selekcia v týmuse zabezpečuje, že zrelé T bunky rozoznávajú vlastné MHC I alebo II molekuly (pozitívna selekcia), ale otvorenie neútočia na vlastné peptidy (negatívna selekcia). Tymocyty, ktoré nie sú schopné sa podriadiť takémuto rozlíšeniu antigénov, podliehajú apoptóze. Žiaden systém nie je perfektný, a nie všetky vlastné peptidy sú prezentované týmusu v čase lymfogenézy, a niektoré vlastné peptidy vznikajú po spustení funkcie týmusu. Navyše, niektoré peptidy zostávajú schované v anatomických oblastiach, ktoré nie sú dosiahnuteľné imunitným systémom. Následkom toho, niektoré potenciálne autoreaktívne T bunky uniknú pozitívnej a negatívnej selekcii. Ako následok toho, získaný imunitný systém musí mať dodatočné mechanizmy ako zabrániť autoreaktivite. Selektívna neodpovedavosť alebo **tolerancia** vyžadujú, aby v situácii, keď imunitný systém rozpozná vlastné molekuly, nastúpil stav nedeštruktívnej stratégie. Viaceré mechanizmy tolerance sa vyvinuli, aby minimalizovali poškodenie spôsobené možnými autoreaktívnymi bunkami, ktoré vznikli v období po vývojovej selekcii.

A. Anergia

Anergia je stav neodpovedavosti lymfocytov. Vyskytuje sa po naviazaní peptidu na MHC (vytvorenie pMHC) a spojení s TCR T bunky alebo voľným epitopom na B bunku. V neprítomnosti ďalších „inštrukcií“ z antigén prezentujúcich buniek (APC) v prípade T buniek alebo z CD4⁺ buniek v prípade B buniek, imunitný systém neodpovedá. Anergia je teda formou regulácie aktivácie naivných T a B buniek.

V kapitole 10, sme hovorili o naivných T bunkách vyžaduje spoluprácu obidvoch pMHC a setu kostimulačných druhých signálov z APC (obvykle dendritickej bunky), aby došlo

k aktivácii. Dôležitosť tejto dvojsignálovej aktivácie je možné pochopiť, ak si uvedomíme, čo by sa mohlo stať, keby nebolo takejto regulácie, s bunkami, ktoré unikli negatívnej selekcii v týmuse. Pretože všetky bunky s jadrom v tele majú MHC I molekuly prezentujúce vlastné memptydy, naivné CD8⁺ T bunky špecifické pre vlastné pMHC I triedy (proteíny viazané v molekule MHC I) by mohli byť aktivované jednoduchým rozpoznaním prostredníctvom TCR (prvý signál) vhodného pMHC I komplexu na ktorejkoľvek vlastnej bunke s jadrom. Keď by došlo k takejto aktivácii, boli by schopné viazať a zabiť ostatné normálne bunky tela. Potreba druhého signálu z APC minimalizuje toto riziko. TCR väzba autoreaktívnych naivných CD8⁺ T buniek s normálnymi nie APC bunkami tela (ktoré nie sú schopné poskytnúť vhodných druhý signál) spôsobí, že sa CD8⁺ T bunky stanú skôr antergickými než aktivovanými. Inými slovami, prvý signál bez súčasného druhého signálu vylúči T vunku z imunologického bojiska. Ako sa stanú CD4⁺ anergizované zostáva nejasné, primárne pretože spolupráca s B bunkami je takmer vždy prostredníctvom APC.

B bunky tiež vyžadujú druhý signál po napojení BCR na antigén. Ak nedostanú druhý signál, stávajú sa neodpovedavé na kombinovanú opakovanú stimuláciu obidvoma signálmi. Anergizované bunky nie sú zabité, ale zostávajú v cirkulácii a nemôžu byť, za normálnych okolností, reaktivované.

B. Úloha CD152 (CTLA-4) pri anergii

T bunky majú na svojom povrchu CD 28, ktorý sa spája s CD 80 (B7.1) alebo CD86 (B7.2) kostimulačnými molekulami na povrchu APC buniek (kapitola 10). TCR spojenie s vhodnou pMHC molekulou (prvý signál) + CD28:CD80/86 (druhý signál) stimuluje T bunku k produkcii IL-2, vyjadreniu IL-2 receptoru (IL-2R) a k spusteniu bunkového cyklu. Po aktivácii T bunky, CD152 (cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4, **CTLA-4**) ktorý je normálne sekvestrovaný v Golgiho aparáte naivnej T bunky sa pohybuje k bunkovej membráne, kde sa viaže na CD80/86 s aviditou, ktorá je 100 krát silnejšia ako avidita väzby s CD28. CD152 zapojenie inhibuje expresiu mRNA pre IL-2 v T bunke a jej postup do ďalších period bunkového cyklu. Tento mechanizmus zaisťuje, že aktivácia T buniek nebude pokračovať, ak to už nebude potrebné. T bunky poskytujú svoj vlastný mechanizmus na svoje vypnutie po určitom čase. Ak stimulácia pokračuje, anergické T bunky sú nahradené novo aktivovanými. Ak bol antigénny stimul odstáný, odpoveď sa ukončí. Reaktívne T bunky sa stratia, s výnimkou kľudových pamäťových buniek (Obr. 12.11)

C. Regulačné T bunky

Regulačné T bunky môžu tiež udržiavať toleranciu. Charakteristicky inhibujú aktivitu autoreaktívnych lymfocytov. Molekulárna báza ich regulačnej aktivity je stále nejasná, ale ako sa zdá padajú do jednej z dvoch kategórií: T regulačné (T_{reg}) a T supresorové (Ts) bunky. T_{reg} bunky vyjadrujú CD4 a CD25 molekuly sú považované za dôležité inhibitory imunologicky mediováných zápalových ochorení akými sú IBD – zápalové ochorenie čriev. Ts bunky sú CD8⁺ a inhibujú aktiváciu a proliferáciu CD4⁺ T buniek vrátane Th1 buniek. Oboje T_{reg} aj Ts bunky môžu inhibovať produkciu špecifických protilátok B bunkami. Th1 produkujú IFN- γ , ktorý inhibuje dozrievanie Th0 buniek na Th2 bunky a Th2 bunky bunkami produkovaný IL-4 inhibuje diferenciáciu buniek Th2 cestou.

1. CD4⁺ T_{reg} bunky: Tieto bunky vyjadrujú CD4 a CD25 (α reťazec receptoru pre IL-2, IL-2R) molekuly. β a γ reťazce vytvárajú IL-2R s nízkou afinitou a pripojenie α reťazca poskytuje vyššiu afinitu pre väzbu IL-2. Tieto CD4⁺CD25⁺T bunky, ako sa odhaduje tvoria 5%-10% periférnych CD4⁺T buniek, boli identifikované v rôznych

tkanivách a sú považované za významné v prevencii niektorých autoimunitných reakcií a niektorých odpovedí proti cudzorodým antigénom (Obr. 12.2). Sú prítomné pri nedostatku zámernej imunizácie a preto sú niekedy nazývané ako prirodzené T_{reg} s. Hoci ich aktivácia vyžaduje zapojenie TCR, inhibičný účinok T_{reg} s ako sa zdá je nešpecifický a je možné zaznamenať inhibíciu aktivácie CD4+CD25+T buniek špecificky pre množstvo epitopov. Podskupina CD4+CD25+T buniek tiež vyjadruje RO izoformu CD45 (CD45RO), glukokortikoidmi indukovaný receptor pre tumor necrosis factor (GITC) a CD152 (CTLA-4) molekuly na ich povrchu a transkripčný faktor (Foxp3) v ich jadre. Tieto bunky sú považované za aktuálnu supresívnu subpopuláciu.

T_{reg} bunky podstupujú pozitívnu a negatívnu selekciu v týmuse, čo pravdepodobne zahŕňa spoluprácu s epiteliálnymi bunkami týmusových Haaslových teliesok. T_{reg} s neproliferujú rýchlo., ani neprodukujú vysoké hladiny IL-2, IL-4, IL-10 alebo TGF- β po stimulácii. Ich prítomnosť ako bolo demonštrované in vivo aj in vitro súvisí so supresiou viacerých autoimunitných ochorení (napr. autoimunitné gastritída, chronická kolitída). Nedávny dôkaz poukázal, že T_{reg} bunky môžu inhibovať odpoveď proti niektorým infekčným agensom (napr. *Leishmania*). Spôsob akým T_{reg} bunky pôsobia svojimi účinkami na ostatné lymfocyty a pravdepodobne aj na APC nie je stále jasný, rovnako ako spôsoby, ktorými oni samy môžu byť regulované.

2. **CH8+ supresorové bunky:** Tieto bunky sú inhibujúcou subpopuláciou CD8+T buniek. Tieto **supresorové T bunky (Ts)** nemajú na povrchu CD28 molekuly (CD8+CD28-). Ich prítomnosť bola spojená so supresiou odmietnutia štepu a inhibíciou niektorých autoimunitných ochorení (napr. experimentálna autoimunitný encefalomyelitída). Ich spôsob pôsobenie sa stále sleduje, ale existuje dôkaz, že niektoré z ich pôsobení sa môže uplatniť prostredníctvom APC. Ich aktivácia vyžaduje spoluprácu s CD4+ T helper bunkami. Tiež vyjadrujú Foxp3 nukleárneho transkripčného faktoru, ktorá je jasnou charakteristikou T_{reg} buniek.

III. Th1/Th2 paradigma

Imunitné reakcie často predstavujú rovnovážny stav medzi rôznymi súbormi reakčných mechanizmov. Často je imunitná reakcia aktivovaná alebo potlačovaná podľa určitej testovanej aktivity. Produkcia Th2 cytokínov proti špecifickému antigénemu stimulu sa môže zvyšovať, zatiaľ čo produkcia Th1 cytokínov stimulovaná tým istým antigénom sa môže znižovať a naopak. V inom prípade obidva typy odpovedí môžu stúpať alebo klesať v tom istom čase. Vzájomná inhibícia CD4+ Th1 a Th2 bunkami poskytuje model pre analýzu regulačnej interakcie rôznych subpopulácií T buniek (obr. 12.3. IL-4, IL-10 a TCF- β secerované Th2 bunkami podporujú produkciu protilátkami sprostredkovanej odpovede nielen stimuláciou produkcie protilátok a preladenia tried, ale aj simultánnym potlačením aktivity buniek v rámci Th1 cesty. A opačne, Th1 bunky podporujú bunkami sprostredkovanú odpoveď sčasti sekréciou IFN- γ , ktorý stimuluje aktiváciu makrofágov, ale aj stimuláciou preladenie tried na IgG1 a IgG3 (primárne opsonizujúce protilátky, podporujúce fagocytózu). V tom istom čase IFN- γ inhibuje Th2 bunky, ktoré podporujú preladenie iných tried.

IV. Regulačné cytokíny

Väčšina regulácie aktivácie lymfocytov a ich následnej aktivity je sprostredkovaná cez cytokíny. Napr. cytokíny odvodené z T buniek sú nevyhnutné pre aktiváciu B buniek a preladenie tried, zatiaľčo B bunky (účinkujúce ako APC) môžu využiť cytokíny na

ovplyvnenie aktivácie T buniek. Dokonca aj vrámci T buniek, rôzne podskupiny lymfocytov secernujú cytokíny, ktoré účinkujú na iné ako v prípade Th1 a Th2 buniek. Tabuľka 12.1 poskytuje zoznam niektorých cytokínov, ktoré regulujú lymfocyty.

Súhrn

- Pri selektívnej neodpovedavosti alebo **tolerancii**, keď získaný imunitný systém nerozpoznáva vlastné štruktúry, prijíma nedeštrukčnú stratégiu.
- Neodpovedavosť naivných lymfocytov alebo **anergia** je následkom zapojenia receptorov T alebo B bunky (TCR alebo BCR) bez sekundárneho signálu, z APC alebo CD4+Tbunky.
- Povrchová molekula T bunky CD152 (CTLA-4) sa viaže s vyššou aviditou ako CD28 s CD80 a/alebo CD86, čím sa inhibuje produkcia interleukinu –2 (IL-2), expresia IL-2Receptora a vstup CD4+T do bunkového cyklu, čím sa zvýrazní stav anergie.
- T regulačné bunky (T_{reg}) vyjadrujú molekulu CD4 aj CD25 (α reťazec receptora IL-2). T_{reg}s boli dokázané pri prevencii autoimunitných odpovedí (napr. IBD) a pre prevencii niektorých ďalších odpovedí.
- T_{reg} bunky podstupujú pozitívnu a negatívnu selekciu v týmuse, pravdepodobne zahŕňajúcu spoluprácu s epiteliálnymi bunkami týmusu – Hassallovými telieskami.
- Niektoré subpopulácie CD8+Tbunky ako sa ukazuje sú schopné suprimovať imunitné odpovede. Tieto **supresorické T bunky (Ts)** sú negatívne na CD28 povrchovú molekulu (CD8+CD28-). Ich prítomnosť súvisela so supresiou odhojenia štetu a inhibíciou niektorých autoimunitných chorôb (napr. sclerosis multiplex, systémový lupus erythematoses).

Otázky

12.1 Stav neodpovedavosti T lymfocytov, ktorý sa vyskytuje po vytvorení komplexu pMHC sa nazýva

- A. alergia
- B. apoptóza
- C. anergia
- D. autoimunita
- E. hypersenzitivita

12.2 Ktoré z nasledujúcich buniek sú účinné v prevencii autoimunitných ochorení (napr. IBD) a v prevencii niektorých imunitných reakcií proti cudzím antigénom.

- A. APC
- B. Anergizované T bunky
- C. CD4+CD25+T_{reg} bunky
- D. Folikulárne dendritické bunky
- E. Primitívne T bunky

12.3 Ktoré z nasledujúcich buniek vyžadujú spoluprácu pMHC so súborom kostimulačných druhotných signálov z APC (obvykle dendritických buniek), na to, aby sa aktivovali.

- A. anergické T bunky
- B. B bunky

- C. Mastocyty
- D. Naivné T bunky
- E. Prirodzené zabíjačské bunky

12.4 Nukleárny transkripčný faktor je súčasťou

- A. B buniek
- B. CD4+/CD8+ (dvojito pozitívnych) tymocytov
- C. CD8+ cytotoxických buniek
- D. CD4+CD25+T regulačných buniek
- E. Th2 buniek

12.5 U aktivovaných T buniek pre molekulu CD152 (CTLA4) platí

- A. Je umiestnená v Golgiho aparáte
- B. Je viazaná na vhodný povrch pMHC
- C. Indukuje progresiu vrámci bunkového cyklu
- D. Stimuluje transkripciu IL-2 mRNA
- E. Sa začne pohybovať k membráne a viaže sa s CD80/86

Komentár

12.1 C Anergia je stav neodpovedavosti, ktorý sa vyskytuje, ak lymfocyty dostali stimul prostredníctvom TCR a BCR a chýbali ďalšie správne signály, poskytované APC alebo T bunkami. Alergia zahŕňa degranuláciu mastocytov po naviazaní antigénu na IgE molekuly už pripojené na povrch mastocytu. Apoptóza je naprogramovaná smrť bunky prostredníctvom degradácie nukleových kyselín. Autoimunita je aktívna odpoveď imunitného systému proti vlastným epitopom. Hypersenzitivita je odpoveď sprostredkovaná aktivovanými lymfocytmi alebo ich produktami. Alergia je jednou formou hypoersenzitivity.

12.2 C. CD4+CD25+T_{reg} bunky inhibujú množstvo odpovedí proti vlastným epitopom ako aj niektorým reakciám proti epitopom súvisiacim s infekčnými agensami a nádormi. APC bunky nemajú takúto kapacitu. Anergizované bunky sú inaktívne. Folikulárne dendritické bunky sú zahrnuté do prezentácie antigénu B bunkám a T bunkám vo folikuloch lymfatickej uzliny. Naivné T bunky vyžadujú aktiváciu pred tým ako spustia ktorúkoľvek z ich efektorových funkcií.

12.3 D Dendritické bunky sú obvyklými účastníkmi aktivácie naivných buniek. Anergizované T bunky zostávajú odmietavé pri následnom zapojení pMHC a zostávajú kľudové. B bunky nevyžadujú väzbu pMHC na aktiváciu. Mastocyty sa aktivujú a degranulujú prostredníctvom väzby antigénu na IgE molekuly, ktoré už boli fixované na povrchy mastocytov. Prirodzené zabíjače nemajú receptory na väzbu pMHC.

12.4 D Vyjadrenie Foxp3 nukleárneho transkripčného faktoru je jednoznačnou vlastnosťou CD4+CD25+T_{reg} buniek. Foxp3 nie je vyjadrená žiadnou z menovaných buniek

12.5 E Po aktivácii T bunky, CD152 sa pohybuje z Golgiho aparátu do povrchovej štruktúry, kde súťaží s CD28 na viazanie CD80/86 na APC bunkách. Nezostáva sekvestovaná v Golgiho aparáte ani sa neviaže na pMHC. Jej naviazanie inhibuje IL-23 mRNA a postup T bunky bunkovým cyklom.

Obrázky

12.1 CD152 (CTLA-4) pri regulácii T bunky. Expresia CD152 T bunkami začína len ak boli aktivované. CD152 súťaží s CD28 pri väzbe s CD80/CD86 a robí to s vyššou affinitou ako CD28. Väzba CD152 na CD80/CD86 poskytuje signál pre anergiu, ktorá inaktivuje T bunku, poskytujúc možnosť záverečného obdobia aktivity každej aktivovanej T bunky

12.2 CD4+25+T_{reg} bunka. Od tymusu odvodené CD4+CD25+T_{reg}. Schopnosť Th1 alebo Th2 buniek navzájom inhibovať svoje aktivity prostredníctvom signálov poskytuje modelový systém na štúdium regulačného usporiadania subpopulácií lymfocytov.

12.3 Th1/Th2 paradigma. Schopnosť Th1 alebo Th2 buniek navzájom inhibovať svoje aktivity cez signály cytokínov poskytuje modelový systém na štúdium regulačného usporiadania subpopulácií lymfocytov.

13.1 Pôvodne zdravé 8 mesačné dievčatko s horúčkou a auskultačným pískaním na pľúcach mala diagnostikovanú infekciu RSV – respiračným syncytiálnym vírusom. Za predpokladu, že toto bola prvá expozícia dieťaťa tomuto vírusu, ktoré z nasledujúcich mechanizmov budú najpravdepodobnejšie účinné pri eliminácii infekcie

- A. CD4+ T bunkami sprostredkovaná nekróza infikovaných buniek
- B. Komplementom sprostredkovaná lýza infikovaných buniek
- C. Cytotoxickým T bunkami indukovaná apoptóza infikovaných buniek
- D. Molekulami MHC I triedy prezentované vírusové peptidy na CD8+T bunkách
- E. Vírusové špecifické protilátky, ktoré neutralizujú voľné vírusy

13.2 U pacienta s infekciou spôsobenou baktériou Salmonella, ktorý z mechanizmov bude prvou reakciou získanej imunity pri eliminácii infekcie, v čase, keď je baktéria prítomná v intracelulárnych endozómoch

- A. Protilátkami sprostredkovaná neutralizácia voľných baktérií
- B. Komplementom sprostredkovaná lýza infikovaných hostiteľských buniek
- C. Rozpoznanie bakteriálnych peptidov prezentovaných molekulami MHC II triedy bunkami CTL
- D. DTH (hypersenzitivita oneskoreného typu) odpoveď vygenerovaná CD4+ T bunkami
- E. Hypersenzitivita typu I sprostredkovaná IgE protilátkami

13.3 25 ročný muž je exponovaný parazitickým červom (Ascaris), ale nevyvinuli sa u neho klinické príznaky infekcie. Ktoré z nasledujúcich mechaizmov sú zodpovedné za rezistenciu pacienta na infekciu

- A. protilátkami sprostredkovaná deštrukcia červom napadnutých hostiteľských buniek
- B. bunkami CTL navodená apoptóza červami infikovaných hostiteľských buniek
- C. komplementom sprostredkovaná lýza červa naviazaného na hostiteľské tkanivo
- D. IgE protilátkami sprostredkovaná hypersenzitivita I typu rozrušujúca prichtenie červa
- E. Fagocytóza červa po ktorej nasleduje nekróza fagocytov.

13.4 Napriek tomu, že sa pacient úplne zotavil z chrípky, ktorú prekonal minulú zimu, 56 ročný muž ochorel na chrípku po expozícii chorému kolegovi s infekciou chrípkovým vírusom. Ktorý z uvedených mechanizmov je zodpovedný za jeho infekciu napriek predchádzajúcej infekcii chrípkovým vírusom

- A. neutralizujúce protilátky proti chrípke rýchlo vymiznú
- B. nedostatočný čas na to, aby CD4+ T bunky vytvorili pamäť
- C. intracelulárne vírusové častice unikajú imunitného dozoru
- D. Hypersenzitivita typu 1 sa vyskytuje pri druhej expozícii chrípkovému vírusu
- E. Variabilita vírusu je dôvodom neúčinnosti špecifických imunitných mechanizmov po infekcii v predchádzajúcom roku

13.5 35 ročná žena opustila USA po prvý krát a cestovala do Brazílie, kde dostala maláriu, protozoárnu infekciu erytrocytov. Ktoré z uvedených mechanizmov popisuje stav imunity po tejto infekcii

- A. Protilátkami sprostredkovaná neutralizácia mikroorganizmu likviduje infekciu
- B. CTL bunkami indukovaná apoptóza infikovaných erytrocytov likviduje infekciu
- C. Komplementom sprostredkovaná lýza infikovaných erytrocytov odstráni infekciu
- D. DTH je sprostredkovaná CD4+ T bunkami odstráni infekciu
- E. Prvky unikajú hostiteľkej imunite a reprodukuje sa v erytrocytoch

13.6 Ako odpoveď na prítomnosť lipopolysacharidu z Gram negatívnych baktérií, lokálne fagocyty hostiteľa uvoľnia prozápalové cytokíny vrátane IL-6, ktorý má tendenciu stimulovať v pečeni syntézu a uvoľnenie molekuly akútnej fázy zápalu

- A. CRP
- B. Chemokíny
- C. Komplement
- D. Imunoglobulíny
- E. Interleukíny

13.7 Ktorý z nasledujúcich izotypov imunoglobulínu je súčasťou slizničnej imunitnej odpovede a secerňovaný MALT

- A. IgA
- B. IgD
- C. IgE
- D. IgG
- E. IgM

13.8 Ktorá z nasledujúcich charakteristík je typická pre slizničný imunitný systém

- A. Rýchla odpoveď nasmerovaná proti všetkým cudzím molekulám
- B. Chronický zápal vytvára nehostinné prostredie pre mikroorganizmy
- C. IL-2 a IFN- prispievajú k vytvoreniu prostredia vhodného pre TH1
- D. Sekrécia IgG je významnejšia ako sekrécia IgA
- E. Tolerancia cudzích antigénov je skôr pravidlom ako výnimkou

13.9 14 mesačný chlapec, ktorý nebol očkovaný žiadnou odporúčanou vakcínou zostáva zdravý napriek jeho každodennému stretávaniu detí počas celého minulého roka v kolektíve. Ktoré z nasledujúcich mechanizmov vysvetľuje prečo neochorel na diftériu, osýpky, divý kašeľ, detskú obrnu:

- A. kolektívna imunita
- B. genetická predispozícia
- C. antigénny shift
- D. imunitný únik
- E. tolerancia

13.10 Ktorý z nasledujúcich typov očkovacích látok vyvolá najsilnejšiu a najdlhšie trvajúcu protektívnu imunitnú odpoveď proti osýpkám

- A. oslabený živý vírus vo vakcíne
- B. DNA vakcína
- C. Usmrtený vírus vo vakcíne
- D. Rekombinantná vakcína
- E. Subjednotková vakcína

14. Hypersenzitívne reakcie

I. Súhrn

Nadmerná alebo nedostatočná imunitná odpoveď niekedy vedie k vytvoreniu tkanivového poškodenia, čo je následkom dlhodobej alebo opakovanej expozície. Tieto reakcie, nazývané hypersenzitívne reakcie, spôsobujú tkanivové poškodenie uvoľnením chemických substancií, ktoré priťahujú a aktivizujú bunky a molekuly, následkom čoho vznikne **zápal**. Tieto reakcie sú klasifikované do **4 typov hypersenzitívnych reakcií** na základe mechanizmov, ktoré spôsobia tkanivové poškodenie. (Tabuľka 14.1)., prvé 3 typy sú založené na reakcii antigénu s protilátkou., štvrtý typ je na protilátkach nezávislý, zahŕňa imunitné reakcie bunkovej imunity CMI:

- **Typ I (včasná hypersenzitivita)** – reakcie sú rýchle, vyskytujúce sa v priebehu minút po expozícii antigénu, vždy zahŕňajú degranuláciu bazofilov alebo mastocytov sprostredkovanú IgE protilátkami
- **Typ II** – reakcia je spustená nadviazaním sa protilátky na bunkovú membránu alebo na extracelulárnu hmotu
- **Typ III** – hypersenzitívna reakcia zahŕňa interakciu protilátok s rozpustnými molekulami, čím sa vytvoria komplexy antigénu s protilátkou, ktoré sa ukladajú do tkanív
- **Typ IV** – hypersenzitívna reakcia, pri ktorej imunokompetentné bunky priamo útočia na hostiteľské bunky bez účasti protilátok. Tieto reakcie sú prítomné pri kontaktnej dermatitíde (CD alebo CS typ)., hypersenzitívite oneskoreného typu (DTH – delayed type of hypersensitivity) a príležitostne pri odpovedi sprostredkovanej cytotoxickými T lymfocytmi (CTL typ)

II. Hypersenzitivita I typu

Bežne nazývaná **alergickou** reakciou alebo **včasnou hypersenzitívnou reakciou** typu I, vyskytuje sa v priebehu minút až hodín po expozícii antigénu.. U niektorých ľudí sa vyvíjajú IgE protilátky ako odpoveď na niektoré neškodné antigény, alebo **alergény**. IgE molekuly sa viažu na Fc receptor (FcR ϵ alebo CD23) na povrchu mastocytov a bazofilov (Obr. 14.1). Na rozdiel od ostatných FcReceptorov, FcR ϵ viaže imunoglobulín (IgE) bez antigénu, a IgE-CD23 komplexy fungujú ako antigén špecifické bunkové povrchové receptory. Prepojenie na povrch viazaných IgE molekúl vygeneruje intracelulárne signály cez CD23, čo vedie ku degranulácii mastocytov alebo basofilov a uvoľneniu vazoaktívnych amínov (napr. **histamínu**) alebo iných zápalových mediátorov. Histamín a iné zápalové mediátory spôsobujú stratu bunkových spojení endotelu (**vazodilatácia**) a zvyšuje vaskulárnu permeabilitu, čo má za následok akumuláciu tekutiny v tkanive (edém). Histamín indukuje kontrakciu hladkej svaloviny v stene artérií a arteriál (**vazokonstrikcia**), čím sa zrýchľuje distribúcia z centrálnych častí tela do periférnych tkanív.

A. Lokalizované reakcie

Pretože sa mastocyty akumulujú v respiračných cestách, črevnej stene, a koži, reakcie typ I sú často prítomné práve v týchto tkanivách. Postihnuté miesta sú typicky tie, kde dochádza k stretnutiu s antigénom najčastejšie. Antigény, ktoré vstupujú do tela inhaláciou sa lokalizujú primárne v nazofaryngeálnom a bronchiálnom tkanive, kde kontrakcia hladkej svaloviny a vazodilatácia zvyšuje produkciu hlienu a uzatvorenie respiračných ciest (Obr. 14.2). V kombinácii môžu tieto odpovede vytvoriť ťažkú a fatálnu poruchu – **astmu**. Alergény, ktoré vstupujú do kontaktu s inými tkanivami, môžu vytvoriť IgE protilátkami

spprostredkovanú zápalovú reakciu, ktorá spôsobí začervenanie a edém – klasický obraz „wheal and flare“. Jedlo alebo zjedené alergény primárne postihujú GIT.

Kazuistika 14.1

Astma

Pred 18. mesiacmi 31 ročná žena získala perzku mačku. Senzibilizovala sa hlavným mačacím alergénom zo slín a sťažovala sa na perzistentné príznaky – upchatý nos, nádcha, kýchanie a svrbenie v nose. Per orálne antihistaminika a odstránenie kontaktu s mačkou boli počiatočnou terapiou. Tieto opatrenia utlmili príznaky na určitý čas. Po viacerých mesiacoch bola dovezená na pohotovosť s dýchacími problémami, sípavým dýchaním, dušnosťou. Fyzikálne vyšetrenie ukázalo difúznú expiračné aj inspiračné pískanie na hrudníku. Spirometria ukázala redukovanú expiračnú rýchlosť. Povedala, že stále má mačku, ktorá s ňou spáva v izbe. Akútna astma súvisiaca s expozíciou mačaciemu alergénu bola diagnostikovaná. Je príkladom IgE protilátkami sprostredkovanou hypersenzitivitou typu I. Ak bude mačka odstránená z bytu alebo obmedzí expozíciu mačke aspoň tým, že nebude spať s ňou v izbe a bude užívať lieky, jej prognóza môže byť dobrá.

B. Systémové reakcie

V niektorých prípadoch môžu byť antigény diseminované krvou (pri i.v. podaní antigénu,) a spôsobiť systémové príznaky. V roku 1902 na požiadavku a sponzorované monackým Albertom I., Charles Richet a Paul Portier vyšetrovali toxín, ktorý môže indukovať život ohrozujúcu reakciu. Ich experimenty boli vedené na jachte monackého princa (zlatý vek vedy!). Zistili, že prvá injekcia psom s malým množstvom toxínu mal len malý účinok. Avšak pri druhej injekcii podanej po niekoľkých týždňoch, spôsobilo rovnaké množstvo toxínu okamžitý šok a život ohrozujúcu reakciu. **Anafylaxia** – (v preklade „proti ochrane“), Je klinický šokový syndróm je charakterizovaná zúžením hladkej svaloviny ciev – **vasokonstrikcia** v kombinácii s tvorbou trhlín v priľahlých kapilárnych endotelových bunkách (**vazodilatácia**), čo má za následok ťažkú stratu tekutiny a čo vedie k **šoku** (obr. 14.3).

III. Hypersenzitivita II. typu

Hypersenzitivita II. Typu je spustená interakciou protilátok IgM alebo IgG s bunkovou membránou alebo extracelulárnou hmotou.. Komplement tiež môže byť zapojený. Antigény, ktoré sú rozpoznané môžu byť vnútornou súčasťou bunkovej membrány alebo extracelulárnej hmoty, alebo sú exogénnymi molekulami ako napr. metabolity adsorbované na bunkovú membránu a extracelulárnu matriu.

A. Spolupráca protilátok s bunkami

Naviazanie epitopu na bunkový povrch alebo extracelulárnu hmotu prostredníctvom IgM alebo IgG má za následok konformačné zmeny v Fc fragmente molekuly protilátky. Táto zmena Fc fragmentu molekuly protilátky je rozpoznaná bunkovými FcReceptormi a komplementom a viaceré deštruktívne imunitné mechanizmy vstupujú do hry a smerujú do miesta, kde je protilátka naviazaná.

1. ADCC – antibody dependent cell cytotoxicity – na protilátkach

závisla cytotoxicita – Je to na komplemente nezávislá reakcia, vyžadujúca spoluprácu leukocytov. (Obr. 14.5). FcReceptor nesúce bunky (napr. monocyty, neutrofil, eosinofily

a NK bunky) sa viažu na bunky, ktoré majú IgG alebo IgM protilátky viazané na povrchové epitopy na bunke.

2. Komplement Komplement aktivovaný IgM alebo IgG protilátky vygenerujú aktivitu súčastí komplementu klasickou cestou (predovšetkým C3b a C4b). Tieto súčasti sú potom ukladané na povrchy protilátkami pokrytých buniek alebo extracelulárnych matrix, ktoré fungujú ako **opsoníny**. Fagocyty rozpoznávajú naviazanú protilátku prostredníctvom FcReceptorov a viažu komplementové súčasti prostredníctvom svojich komplementových receptorov (receptorov pre komplement). Týmto spôsobom oboje komplement a protilátka funguje ako opsoníny, aby sa zvýšila fagocytóza a deštrukcia mikroorganizmov (Obr. 14.6).

3. Protilátky proti krvným skupinám Tieto protilátky sú reakciami hypersenzitivity typu II. Hemolytické anémie môžu byť následkom väzby IgM protilátok na uhľovodíkové štruktúry na erytrocytoch (menovite anti A alebo anti B protilátky), čo má za následok ich fagocytózu a v prítomnosti komplementu rýchlu lýzu (hemolýza obr. 14.7). Protilátky (IgG) proti určitým proteínovým molekulám na erytrocytoch (napr. Rh faktor-y) neaktivujú komplement., erytrocyty sú deštruované fagocytózou (obr. 14.7).

B. Interakcia protilátok s extracelulárnou hmotou

Protilátky, ktoré sa viažu na proteíny extracelulárnych proteínov (napr. bazálna membrána) môžu aktivizovať komplement klasickou cestou a vygenerovať anafylatoxíny (napr. C5a, C4a, C3a s klesajúcou silou v tomto poradí), čím sa zhromažďujú neutrofile a monocyty. FcR napojenie na protilátku majú za následok uvoľnenie reaktívnych kyslíkových medziproduktov spôsobujúcich zápal a tkanivové poškodenie (Obr. 14.8).

C. Protilátkami sprostredkované porušenie bunkových funkcií

Niekedy sa protilátky viažu na bunkové povrchové receptory bez aktivácie komplementu alebo väzby FcReceptorov. Táto väzba blokuje schopnosť receptora spolupracovať s prirodzene zapojeným ligandom (Obr. 14.9). Interakcia protilátky s receptorom môže byť stimulačná (napr. Gravesova choroba) alebo inhibujúca (napr. IDDM, myastenia gravis) signalizačnú cestu.

IV. Hypersenzitivita III. typu

Cirkulujúce komplexy Ag-Ab môžu viesť k zápalu v mieste, kde sa ukladajú, čo má za následok zápal krvných ciev (**vaskulitída**). Imunokomplexy môžu spôsobiť poškodenie, ktoré vzniká zo spolupráce exogénnych (napr. mikroorganizmy, vírusy, chemicky modifikované vlastné proteíny) alebo endogénne antigény (napr. sérové proteíny). Hypersenzitívne reakcie typu III sa môžu prejavovať lokálne alebo systematicky.

A. Lokálne reakcie

Lokálne sa prejavujúca hypersenzitivita III. typu sa nazýva **Arthusova reakcia** je následkom akútnej vaskulitídy z imunokomplexov spôsobujúca tkanivovú nekrózu. Tento typ reakcie sa vytvorí 4 až 6 hodín po intradermálnej aplikácii malého množstva antigénu. Protilátky difundujú z vaskulatúry a vytvoria veľké imunitné precipitáty, ktoré aktivujú komplement čím navodia bolestivú lokálnu edematóznou zápalovú léziu (Obr. 14.10). Lézie môžu byť nekrotizujúcou vaskulitídou s infiltráciou PMNL až po tvorbu sterilných abscesov.

B. Systémové reakcie

Systémová choroba z imunokomplexov, v niektorých prípadoch nazývaná **sérová choroba**, sa vyskytuje pri rozsiahlej diseminácii komplexov Ag-Ab po celom tele. Veľmi veľké imunokomplexy sú rýchlo odstránené z tela prostredníctvom fagocytujúcich buniek a sú relatívne neškodné. Menšie, cirkulujúce imunokomplexy majú možnosť byť fagocytované a cirkulujú dlhšie. Tieto komplexy majú väčšie patologické následky.

1. Exogénne antigény: Podané buď vo veľkých množstvách alebo veľmi dlho, môžu exogénne antigény navodiť protilátkovú odpoveď. Rozpusťné komplexy antigénov s protilátkami imobilizované v endotele aktivujú komplement, čo spôsobí poškodenie vaskulatury. Súčasti komplementu (napr. C5a, C4a a C3a) priťahujú PMNL do miesta a tieto bunky horšujú vaskulárne poškodenie (Obr. 14.11).

Sérová choroba bývala výhradne následkom liečby heterológnyimi zvieracími antisérmi. Pred príchodom antibiotík, séra imunizovaných zvierat boli často podávané pacientom na zlepšenie priebehu infekcie alebo účinkom bakteriálnych toxínov, akými sú napríklad difterický toxín. Kone boli často imunizované toxoidom (inaktivovaným toxínom). Intravenózne podávané konské antisérum je veľmi účinný spôsob neutralizácie účinkov bakteriálnych toxínov. Proteíny konského séra perzistujú v cirkulácii pacienta a sú veľmi dobrým imunogénom pre človeka. Po 7 až 10 dňoch sa u pacienta môžu vyvinúť príznaky ochorenia z imunokomplexov, čo korešponduje s vytvorením primárnej protilátkovej odpovede proti proteínom konského séra. Sérová choroba je samolimitujúce ochorenie pretože sa cudzorodý antigén (antisérum) postupne odstráni z tela.

Kazuistika 14.2

Liekami navodená choroba z imunokomplexov

18 ročná žena prišla na pohotovosť s anamnézou teploty 39 st.C, kašľom a sťaženým dýchaním. Diagnóza lobárnej pneumónie bola stanovená. Bola prijatá do nemocnice a mala predpísanú 10 dňovú liečbu PNC. V priebehu 48 hodín teplota klesla a o 96 hodín sa jej stav podstatne zlepšil. Kultivácia odhalila na penicilín citlivý kmeň *Streptococcus pneumoniae*. Na 8. deň mala opuchnuté miháľnice, vyrážku na bruchu. PNC sa okamžite vysadil a boli podané antihistaminika. Aj tak došlo k opuchu tváre, rozsiahlej žihľavke a sťaženému dýchaniu. Laboratórne testy ukázali zvýšený počet leukocytov s prevahou lymfocytov. V nátere boli plazmatické bunky a hladiny komplementu boli znížené. U pacientky sa prejavila hypersenzitívna reakcia III. typu na PNC. Bolo jej odporučené, aby sa vyhla PNC a PNC derivátom.

2. Endogénne antigény: Tieto antigény môžu spôsobiť chorobu z imunokomplexov. Na rozdiel od exogénnych antigénov kontinuálne produkované endogénne antigény sú zodpovedné za chronickú expozíciu antigénu, chronickú imunizáciu a prolongovanú chorobu z imunokomplexov. Autoimunitné ochorenia sú časot sprevádzané chorobou z imunokomplexov. Každoročne sa identifikuje takmer 50 nových prípadov choroby **systémový lupus erytematodes SLE** na milión obyvateľov. Táto choroba sa vyskytuje 8 krát častejšie u žien ako u mužov. SLE je komplexné autoimunitné ochorenie. Osoby so SLE produkujú autoprotilátky proti množstvu vlastných antigénov. Ako následok sú imunokomplexy ukladané v cievach, čo aktivuje komplement a spôsobuje vaskulitídu.

Kauistika 14.3

Akútna reumatická horúčka

Streptokoková angína je akútna infekcia krčných mandlí, spôsobená baktériou *Streptococcus pyogenes*. U väčšiny osôb je angína samolimitujúca infekcia. Avšak malý počet neliečených pacientov má neskôr komplikácie po vytvorení protilátok proti antigénu (M proteínu) na povrchu vyvolávajúcej baktérie a vyvinie sa u nich polyartritída. Niektorým sa vytvoria protilátky, ktoré skrížene reagujú s antigénmi na srdcových chlopniach, myokarde alebo hladkej svalovine sarkolemy a myosínu. Ochorenie, ktoré sa u nich môže vyvinúť sa nazýva **akútna reumatická horúčka**. Pri rekurentných útokoch sa môže zvyšovať závažnosť reumatickej horúčky, preto je nevyhnutné prijať profylaktické opatrenia. Podanie ATB na elimináciu infekcie *Streptococcus pyogenes* minimalizuje riziko vzniku systémovej protilátkou odpovede

V. Hypersenzitivita IV. typu

Hypersenzitivita IV. typu je následkom interakcie T bunkami sprostredkovaného zápalu a nezahŕňa tvorbu protilátok. Zápalová odpoveď je následkom spôsobu akým T bunky reagujú na antigén. CD4+T bunky môžu byť senzibilizované a odpovedajú na lokálne aplikovaný antigén (**kontaktná dermatitída CD**, alebo kontaktná senzitivita CS) alebo antigén injikovaný (DTH). Prípadne CD8+ T cells môžu kontaktovať antigén na bunkovom povrchu a môžu priamo spôsobiť lýzu danej bunky (CTL).

A. Kontaktná dermatitída

Chemicky reaktívne substancie môžu byť absorbované kožou, kde sa viažu na proteíny. Potenciálne **kontaktné senzibilizátory** zahŕňajú syntetické chemikálie, rastlinné produkty a niektoré kovy (napr. nikel). Vo všeobecnosti kontaktné senzibilizátory sú sami od seba veľmi malé (< 10 000 daltonov) na to, aby boli rozpoznané imunitným systémom. Kontaktné senzibilizátory spolupracujú s vlastnými proteínmi a vytvoria imunogénne neoepitopy alebo neoantigény na týchto proteínoch. Imunológovia hovoria o substanciiach, ktoré sú imunogénne, len ak sa viažu na iné molekuly ako o **hapténach**. Prvá expozícia kontaktnému senzibilizátoru sa často koná nepoznane, ale slúži na senzibilizáciu imunitného systému. Neskôr (7 a viac dní) reexpozícia alebo chronická expozícia vedie k lokálnemu zápalu kože. Klinické príznaky podobne ako pri DTH sa objavia 24-72 hodín po reexpozícii (Obr. 14.12).

Kazuistika 14.4

Otrava z brečtanu

Toxicodendron radicans je rastlina produkujúca toxický olej. Ostatné druhy tohto rodu (*T. diversiloba*, *T. vermiciflora*, *T. vermiciflora*) produkujú tento jed. Minimálne množstvá (1 nanogram) stačia na spôsobenie kontaktnej dermatitídy u senzibilizovaných jedincov. 85% osôb s kontaktou dermatitídou vytvoria reakciu na tento toxín.

Kazuistika 14.5

Kanárik a fabrika na muníciu

Keď muži bojovali vo vojne, ktorá mala ukončiť všetky vojny (I svetová vojna) Británia mala nedostatok nábojov a zbraní. Jediným spôsobom ako zabezpečiť produkciu bolo zamestnať mladé ženy v manufaktúrach a vkaľdať TNT do výbušných striel. TNT (trinitrotoluén) je bledožltá kryštalická tuhá látka, ktorá je absorbovaná kožou. Robotníčky, ktoré manipulovali s chemikáliou, si všimli, že ich koža sa mení na jasne žltú (a červené vlasy sa stávali zelenými) a preto ich nazývali kanárikmi. Časom sa u mnohých vyvinula dermatitída a viac ako stovka zomrela po expozícii TNT. TNT sám ani v derivátoch nestimulujú imunitnú odpoveď. Tieto zlúčeniny majú charakter hapténov a penetrujú cez epidermis a viažu sa proteíny tela, kde potom indukujú haptén-špecifickú imunitnú odpoveď IV. typu. Sťažnosti dievčat viedli k tomu, že sa obrátila pozornosť na riziká v priemysle a prostredí apomohlo odhaliť príčiny, ktoré viedli ich odstráneniu.

B. DTH – delayed type of hypersensitivity – hypersenzitivita oneskoreného typu.

DTH sa vyskytuje u senzibilizovaných jedincov po opakovanej expozícii (nie topickej) s antigénom. Vo všeobecnosti DTH –hypersenzitivita IV. typu - je stimulovaná intracelulárnymi mikroorganizmami (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*, *Leishmania monocytogenes*, *Candida albicans*, vírus mumpsu, paramyxovírus). DTH odpoveď sa objavuje po reexpozícii stimulačnému antigénu, ktorá sa musí uskutočniť aspoň 1 týždeň po prvej expozícii (senzibilizácii) (Obr. 14.3) Podobne ako pri kontaktnej dermatitíde DTH je oneskorená a vyskytuje sa nie je ohraničená len na dermis ale sa môže vyskytnúť takmer v hociktorom anatomickom mieste tela.

Kazuistika

Mantoux test

Tuberkulóza je ťažkým ochorením spôsobeným baktériou *Mycobacterium tuberculosis*. Šíri sa vzdušnou cestou. Viac ako 2 milióny ľudí sa ročne nakazí touto baktériou. Medzi ľuďmi staršími ako 5 rokov, TBC je dôležitou príčinou úmrtia na infekčné ochorenia na svete. Mantoux kožný test je užitočným skriningovým testom na odhalenie infekcie *M.tbc*. Testovanému sa aplikuje 5TU (tuberkulínových jednotiek) do kože. Tuberkulín je purifikovaný proteínový derivát PPD bunkovej steny baktérie *M.tbc*. Indurácia a zápal sa odčítajú po 72 hodinách. Induráciu vytvára infiltrácia bunkami. Pozitívna odpoveď je príkladom DTH – IV. typu hypersensitivity.

Kazuistika

Hypersenzitívna pneumonitída

Zdravý 46 ročný muž bez anamnézy imunologicky podmienenej choroby prišiel s perzistentným kašľom a skáteným dychom, nevoľnosťou a bolesťou hlavy. O 4 týždne, jej lekár predpísal ATB pre nález na pľúcach. ATB neodstránili príznaky. V tom čase RTG a spirometria boli normálne. Po 6 mesiacoch pracoval v nej pozícii. Ostali si začali sťažovať na podobné príčiny a uskutočnili sa testy ovzdušia. Objavili plesňové spóry presahujúce normálne hodnoty. RTG objavil difúzne infiltrácie na pľúcach, ktoré svedčili na alveolitídu – hypersenzitívna pneumonitída – príklad IV. typu hypersenzitívnej reakcie mediovanej CD4+T bunkami. Po podaní steroidov, si našiel alternatívnu prácu a symptomy odoznili.

C. CTL – T bunkami sprostredkovaná cytotoxicita.

V niektorých prípadoch hypersenzitivita IV typu je spôsobená CD8+ T lymfocytmi. Tieto CTLymfocyty odpovedajú na raktívne chemické agensy (haptény), ktoré prechádzajú bunkovú membránu a viažu sa na cytoplazmatické proteíny a vytvárajú neoantigény (Obr. 14.4). Peptidy odovodené z cytoplazmatických proteínov a pripojené na haptény sú prezentované MHC I molekulami senzibilizujú a vyvolajú CTL odpoveď.

Súhrn

- Všetky štyri typy hypersenzitívnych reakcií sa vyskytujú po druhej expozícii prípadne chronickej expozícii antigénu. Len hypersenzitivita IV typu je sprostredkovaná mechanizmami nezávislými od protilátok
- Hypersenzitívna reakcia spôsobuje tkanivové poškodenie uvoľnením chemických substancií, ktoré priťahujú a aktivujú bunky a molekuly s následkom **zápalu**.
- Hypersenzitivita I typu je rýchla, vyskytujúca sa v priebehu minút po expozícii antigénu a vždy je sprostredkovaná degranuláciou mastocytov a bazofilov navodenou protiátkami IgE.
- **Anafylaxia** („proti ochrane“) je charakterizovaná konstrikciou cievnych hladných svalov (**vazokonstrikcia**) v kombinácii s tvorbou otvoru medzi prilahlými kapilárnymi endoteliálnymi bunkami (**vazodilatácia**), čo má za následok ťažkú stratu tekutín čo vedie k **šoku**.
- **Hypersenzitivita II typu** je spúsená naviazaním protilátky na bunkovú membránu alebo extracelulárnu matrix. Reakcie hypersenzitivity II typu sú sprostredkované interakciou protilátok (IgM a IgG) s bunkovými membránami alebo extracelulárnou matrix. Antigény, ktoré sú rozpoznané môžu byť vnútorné alebo vonkajšie (endogénne alebo exogénne), akými sú napríklad metabolity liekov adsorbované na bunkovú membránu alebo extracelulárnu matrix.
- **Hypersenzitivita III typu** zahŕňa interakciu protilátok s rozpustnými molekulami a vytvára sa Ag-Ab komplexy, ktoré sa ukladajú v tkanivách. Cirkulujúce imunokomplexy môžu viesť k zápalu mieste ich ukladania, čo má často za následok zápal ciev (vaskulitídu). Imunokomplexy môžu spôsobovať poškodenie následkom interakcie s exogénnymi antigénmi (napr. mikroorganizmy, vírusy, chemicky modifikované vlastné proteíny) alebo endogénne antigény (napr. sérovo proteíny).
- **Hypersenzitivita IV typu** zahŕňa priamy útok hostiteľských buniek leukocytmi v neprítomnosti protilátok. Je prítomná pri kontaktnej dermatitíde, DTH – hypersenzitivite oopozdeného typu a niekedy cytotoxické T lymfocyty (CTL). Je sprostredkovaná T bunkami, ktoré spustia zápal. Odpoveď sa prejaví podľa toho, akým spôsobom sa T bunky stretávajú a ako reagujú na antigén. CD4+T bunky môžu byť senzibilizované lokálne aplikovaným antigénom (kontaktná dermatitída) alebo môžu byť senzibilizované injikovaným antigénom DTH alebo CD8+T bunky môžu byť aktivované antigénom na povrchu bunka a spôsobia bunkovú lýzu priamo (CTL).

Tabuľka 14.1 Typy hypersenzitívnych reakcií

Typ	Symptomy	Porucha	Sprostredkované	Mechanizmy
I	Atopia, anafylaktická hypersenzitivita, alergia	Alergické reakcie	IgE protilátky, bez účasti komplementu	Vzájomné propojenie FcRε receptorov viažúcich IgE protilátky na mastocytoch spôsobí degranuláciu a uvoľnenie vazoaktívnych amínov (napr. histamín), čo má za následok kontrakciu hladkej svaloviny, vazokonstrikciu a vazodilatáciu endotelu kapilár
II	Cytotoxicita	Erythroblastosis fetalis, Goodpastureov syndróm, autoimunitná hemolytická anémia	IgM alebo IgG +/- komplement	IgM alebo IgG protilátky sa viažu na epitopy na bunkách alebo tkanive, čím stimulujú fagocytózu, ADCC, protilátkami sprostredkovanú funkčnú poruchu (blokáda receptorov) alebo komplementom sprostredkovanú lýzu
III	Ochorenie z imunokomplexov	Sérová nemoc, Arthusova reakcia, systémový lupus erythematosus SLE	IgG +/- komplement	Ag+Ag komplexy v tkanivách alebo sére aktivizujú komplement a priťahujú neutrofile, ktoré uvoľňujú lytické mediátory
IV	CMI – bunkami sprostredkovaná imunita	Kontaktná dermatitída, tuberkulóza, chronické odhojenie štepu	Na protilátkach nezávislá, bunková imunita, DTH, CTL	Uvoľnenie mediátorov senzibilizovanými CD4 ⁺ T bunkami vyvolá tkanivové poškodenie spôsobené mononukleárnymi CD8 ⁺ T bunkami (cytotoxické T lymfocyty – CTL) môžu zabíjať chemicky modifikované hostiteľské bunky a bunky, ktoré majú nevhodné alebo málo MHC molekúl

Obrázky

14.1 Reakcie I. typu. Tieto reakcie sú následkom interakcie na povrchu bunky viazanej molekuly IgE s antiégnom. Prezentácia antigénu (ktorý sa označuje ako alergén) na antigén špecifické CD4⁺T bunky, dovoľuje poskytnúť signál špecifickým B bunkám, čo spôsobí ich dozrievanie na IgE secernujúce plazmatické bunky. IgE vstúpi do cirkulácie a rýchlo sa naviaže na CD23 (FcRε) na tkanivových mastocytoch a bazofiloch a slúžia ako antigén (alergén)-špecifický receptor na týchto bunkách. Následné stretnutie s viacvalentným elergénom spôsobí skrížené prepojenie CD23 na bastocytoch a bazofiloch a spustenie signalizačnej kaskády, čo vedie k degranulácii bunky. Uvoľnené substancie spôsobujú kontrakciu vaskulárneho (často aj iného) hladkého svalstva, dilatáciu vaskulárneho endotelu (vazodilatácia), chemotaxiu a aktiváciu leukocytov.

14.2 Astma je revezibilná obštrukcia dýchacích ciest spôsobená uvoľnením zápalových mediátorov z mastocytov po stretnutí s alergénom. Tieto zápalové mediátory spôsobujú stratu spojení v epiteli bronchiolov, zvýšenú permeabilitu kapilár a spsmatickú kontrakciu hladkej svaloviny v bronchoch. Toto dočasne zmenší lumen bronchov, čo má za následok problémy s dýchaním. Bronchospasmus spustený neimunologickými stimulmi akými sú chlad, alebo vírusová infekcia alebo cvičenie môže stimulovať rovnaký zápal dýchacích ciest.

14.3 Anafylaxia a šok. Expozícia alergénu môže spôsobiť rýchle uvoľnenie vazoaktívnych amínov z mastocytov a bazofilov ako aj prítok cytokínov, čo má za následok kontrakcie hladkého svalstva vo vaskulatúre a vazodilatácia kapilárneho epitelu. Krvný tlak klesá, čo vyústí do vaskulárneho šoku. Navyiac, uvoľnenie mediátorov zvyšuje kontrakciu hladkého svalstva v bránici a respiračnom trakte, čo sťažuje dýchanie.

14.4 Fc receptory. Teceptory pre Fc časť imunoglobulínu sú vyjadrené rôznymi bunkami. S výnimkou FcR ϵ (CD23). FcTs viažu len protilátky s naviazaným antigénom . FcR ϵ viažu IgE bez naviazaného antigénu.

14.5 ADCC.Špecifická väzba imunoglobulínu na epitopy bunkového povrchu spôsobí konformačnú zmenu v Fc fragmente molekuly protilátky. Fc γ RIII vyjadrený NK bunkami rozpoznáva a viaže zmenené protilátky, čím spôsobí , že NK bunka uvoľní perforínové granuly, ktoré spôsobia lýzu protilátkami pokrytých buniek.

14.6 Hypersezitivita III. typu. Tieto reakcie môžu zahŕňať lýzu sprostredkovanú komplementom. Protilátky, ktoré vyvolávajú klasickú alebo terminálnu, či lytickú cestu aktivácie komplementu tozpoznávajú epitopy na bunkových membránach a spôsobujú tvorbu MAC, tvoriaci transmembránové póry, stratu elektrolytov a spôsobujúci lýzu

14.7 „Prirodzené“ protilátky proti krvným skupinám AB. Tieto prirodzene sa vyskytujúce IgM protilátky sa viažu na membrány erytrocytov, čím sa stávajú náchylné na fygocytózu alebo lýzu sprostredkovanú komplementom.

14.8 Protilátky proti proteínom matrisu . Autoreaktívne IgG (pozri kapitola 16) protilátky môžu reagovať s epitopmi alebo extracelulárnou matrix, akou je napr. bazálna membrána a spúšťať klasickú cestu komplementu. Následná aktivácia komplementu C4, C3 a C5 má za následok uvoľnenie C5a, C3a a C4a (v poradí klesajúcej sily), čo aktivuje fagocyty (ako neutrofile a monocyty), ktoré poškodia bazálnu membránu.

14.9 Porušenie bunkovej funkcie protilátkami. Autoprotilátky môžu byť produkované proti receptoru pre acetylcholín (pri ochorení známom ako myastenia gravis), čím sa blokuje spolupráca acetylcholínového receptoru s jeho typickým ligandom (acetylcholínom) a vedie to k zvýšenej svalovej slabosti a smrti.

14.10 Arthusova reakcia alebo akútna vaskulitída z imunokomplexov. Táto lokalizovaná reakcia hypersenzitivity III. typu je následkom ukladania komplexov Ag-Ab do tkaniva. Cirkulujúce protilátky opúšťajú cievny systém a spolupracujú s antigénmi v tkanive.

14.11 Nahromadenie imunokomplexov vo cievnom systéme. Protilátky sú vyprodukované proti cirkulujúcim antigénom. Naviazanie antigénu konformačne zmení Fc fragment protilátky, ktorý sa potom môže naviazať na Fc receptory v endoteli. Viac protilátok a antigénov sa naviaže, čím sa vytvoria imunokomplexy, ktoré aktivujú komplement klasickou cestou.

14.12 Kontaktná dermatitída. Niektoré chmické zlúčeniny samy od seba nevyvolávajú imunitnú reakciu (haptény). Avšak môžu pepnetrovať do epidermis a kovalentne sa viazať na vlastné proteíny (haptén-proteínový konjugát). Po fagocytóze a prezentácií usadenými dendritovými bunkami v kontexte s MHC II triedy., CD4+T bunky vstupujúce do miesta

senzibilizácie môžu byť aktivované a uvoľňujú chemokíny, ktoré ich priťahujú a cytokíny (napr. IFN- γ), ktoré indukujú hypersenzitivitu IV.

14.13 DTH – delayed type of hypersensitivity – hypersenzitivita opozdeného typu. Proteíny alebo intracelulárne organizmy sú fagocytované a prezentované usadenými dendritickými bunkami v kontexte MHC II triedy. CD4+T bunky vstupujú do miesta senzibilizácie, rozpoznávajú konjugát peptidu s hapténom a uvoľnia chemokíny, ktoré pritiahnu fagocytujúce bunky a cytokíny (napr. IFN-g), ktoré fagocytujú bunky, ktoré spôsobia hypersenzitivitu IV typu.

14.14 Hypersenzitivita IV typu mediovaná cytotoxickými CD8+ T lymfocytmi. Chemická substancia, ktorá penetruje cez epidermis sa môže kovalentne viazať na vlastné proteíny prítomné na bunkovom povrchu. CD8+T bunky vstupujú do miesta pôsobenia, kde rozpoznávajú a zabíjajú hapténom modifikované bunky a uvoľňujú substancie, ktoré vyvolajú zápalovú reakciu

Otázky

14.1 Pôvodne zdravý muž prišiel do ambulancie s nádchou, upchatým nosom a pretrvávajúcimi respiračnými príznakmi trvajúcimi niekoľko mesiacov po návrate domov v New Orleans po období hurikánu Katrina. Všimol si zaplesnenie steny v dome. Kožné testy na precitlivosť na spóry plesní boli pozitívne. Tieto nálezy sú príkladom:

- A. Kontaktnej dermatitídy
- B. DTH
- C. Okamžitej hypersenzitivity
- D. Sérovej nemoci
- E. Hypersenzitivity II. Typu

14.2 25 ročná žena s anamnézou alergie na PNC, ktorá nebola známa jej lekárovi, dostala jedinou injekciu PNC na liečenie syfilisu. V priebehu minút sa vyvinula u nej difúzna žihľavka, tachykardia, hypotenzia. Táto pacientka mala:

- A. Anafylaktickú reakciu
- B. Alergiu
- C. Protilátkami sprostredkovanú cytotoxickú reakciu
- D. Astmu
- E. Kontaktnú precitlivosť

14.3 Ktorá z nasledujúcich reakcií je spustená interakciou hostiteľových bunkových membrán s IgM alebo IgG protilátkami a nikdy nie IgE

- A. arthusova reakcia
- B. sérová choroba
- C. hypersenzitivita I typu
- D. hypersenzitivita II typu
- E. hypersenzitivita IV typu

14.4 8-ročné dievčatko so számou alergiou na oriešky náhodne zjedla oblátku so zbytkami orieškou. V priebehu jednej hodiny sa u nej vyvinie difúzny erytém a žihľavku súvisiacu s respiračnými symptomami a difúznym pískaním na pľúcach. Tieto nálezy sú typické pre:

- A. hypersenzitivitu I. typu
- B. arthusovu reakciu

- C. bunky obsahujúce FcReceptor viažuce sa na hostiteľské bunky pokryté IgG protilátkami
- D. IgG viažuce sa na extracelulárnu hmotu v dýchacích cestách
- E. IgM protilátkami sprostredkovaná spolupráca s bunkovou membránou lymfocytu

14.5 8 ročný pacient, ktorý sa zotavil s alergickej reakcie, išiel nasledujúci sa hrať s priateľkou, ktorá sa nedávno vrátila s výletu s Ázie. Priateľka mu dala Japonskú lakovanú krabičku ako darček. Dva dni neskôr sa u neho vyvinulo svrbenie na rukách a jeho mama si všimla, že má začervenané oči a vyrážku na ramene. Tieto nálezy sú typické pre:

- A. hypersenzitivitu I typu sprostredkovanú CD4+T bunkami
- B. hypersenzitivitu I typu sprostredkovanú CD8+T bunkami
- C. hypersenzitivitu II typu sprostredkovanú CD8+T bunkami
- D. hypersenzitivitu III typu sprostredkovanú CD4+T bunkami
- E. hypersenzitivitu IV typu sprostredkovanú CD4+T bunkami

14.6 45 ročná žena s anamnézou vírusovej hepatitídy C prišla na vyšetrenie pre zníženú funkciu obličiek, hypertenziu a anémiu. Laboratórne nálezy ukázali zníženú koncentráciu C3 zložky komplementu. Močový sediment obsahoval leukocyty, erytrocyty a erytrocytové valce (bielkovinové odliatky obličkových tubulov, ktoré obsahovali erytrocyty). Biopsia obličky odhalila glomerulonefritídu. Tieto nálezy sú typické pre:

- A. hypersenzitivitu I typu sprostredkovanú CD4+T bunkami
- B. hypersenzitivitu II typu sprostredkovanú IgM protilátkami
- C. hypersenzitivitu II typu sprostredkovanú IgG protilátkami
- D. hypersenzitivitu IV typu sprostredkovanú CD4+T bunkami
- E. hypersenzitivitu IV typu sprostredkovanú IgG a niekedy IgM protilátkami

14.7 35 ročný muž prišiel s bolesťou hlavy, únavou, svetloplachosťou, dyspnoe, tachykardiou. Laboratórne nálezy odhalili hemoglobín a pozitívny test na prítomnosť protilátok na erytrocytoch – Coombsov test). Pacient v tom období užíval ATB kvôli respiračnému infektu. Tieto nálezy sú typické pre:

- A. hypersenzitivitu I typu sprostredkovanú IgG protilátkami
- B. hypersenzitivitu II typu sprostredkovanú IgG protilátkami
- C. hypersenzitivitu III typu sprostredkovanú IgG protilátkami
- D. hypersenzitivitu III typu sprostredkovanú IgG a IgM protilátkami
- E. hypersenzitivitu IV typu sprostredkovanú CD4+T bunkami

Komentár

14.1 C Hypersenzitivita I typu je spôsobená previazaním FcRε (CD23) naviazanými IgE protilátkami na bunkových povrchoch, čo spustí uvoľnenie vazomotorických amínov z granúl mastocytov. Antigény (alefény) sú často vzduchom prenášané a vyvolávajú reakciu I typu, spôsobujúcu respiračné zlyhávanie. Ani kontaktná dermatitída ani DTH reakcia nie sú podmienené protilátkami. Sérová choroba a hypersenzitivita II typu sú sprostredkované imunokomplexami

14.2 A. Táto pacientka má známky klasickej anafylaktickej reakcie na PNC. Anergia je poškodenie efektorovej funkcie imunity. Protilátkami sprostredkovaná cytotoxicita je najčastejšie lokalizovaná do tkanív obsahujúcich epitopy, na ktoré sa sa viažu protilátky. Astma spôsobuje respiračné zlyhanie kontrakciou hladkej svaloviny v bronchiolách ako

odpoveď na uvoľnenie vazoaktívnych mediatorov z mastocytov. Kontaktná senzitivita vzniká z aplikácie reaktívneho antigénu/hapténu.

14.3 D Hypersenzitivita II typu sa vyskytuje v membráne hostiteľskej bunky alebo v extracelulárnom tkanive. Arthusova reakcia a sérová nemoc sú hypersenzitívou III typu, ktorá je následkom interakcie protilátky s rozpustnými antigénymi. IgE nie sú prítomné v tomto prípade a preto vylučujú hypersenzitivitu I typu

14.4 A Tento prípad je príkladom hypersenzitivity I typu. Kľúčom je, že táto reakcia sa vyskytla v priebehu 1 hodiny po ingescii antigénu. Príznaky sú typické pre IgE mediovajú anafylaktickú reakciu. Arthusova reakcia a reakcia sprostredkovaná IgM a IgG nespôsobujú degranuláciu mastocytov., ani nespôsobujú rýchly respiračný syndróm.

14.5 Jed z brečtana a vrbý je častou súčasťou Japonských lakov (politúr). Vyrážka na predlaktí je známkou kontaktnej dermatitídy, hypersenzitivity IV typu mediovanej CD4+T bunkami. Hypersenzitivita typu I a II sú sprostredkované protilátkami., typ IV nie je.

14.6 Glomerulonefritída často súvisí s ukladaním imunokomplexov, hypersenzitívnu reakciou III typu. Erytrocytárne valce sú typické pre GNFT a znižujú hladiny C3, čo ukazuje na vysokú hladinu odstraňovania aktivácie C3. Typ I hypersenzitivita je sprostredkovaná IgE nie CD4+T bunkami. Hypersenzitivita II typu je obvykle sprostredkovaná IgG. Typ IV nie je sprostredkovaná protilátkami.

14.7 Reakcia II typu zahŕňa protilátky nasmerovaná proti vlastným bunkám (akými sú erytrocyty) alebo membrány. Niektoré lieky reagujú s erytrocytmi čím sa vytvárajú neoantigény. Odpoveď pri hypersenzitive I typu sú proti cudzím antigénom (napr. alergénom), spôsobuje IgE odpoveď a nevyvoláva Coombsovu reakciu. Reakcia III typu sa týka rozpustných Ab-Ag komplexov a reakcia IV typu nezahŕňa protilátky.

15. Imunitné deficity

I. Úvod

Niekedy sa zdá, ako keby bol imunitný systém taký komplikovaný, že nie je možné, aby to fungovalo. Zlyhanie sa zdá byť nevyhnutné a skutočne, malé deficity v procese vývoja receptorov T a B lymfocytov sú bežné (Kapitola 8). Pretože je to prepojený systém, porucha v jednej časti imunitného systému môže byť niekedy prekrytá funkciou iného systému s podobnou alebo prekrývajúcou sa funkciou. V inom prípade, je zlyhanie imunitného systému viditeľné a môže mať ťažké klinické následky.

Viditeľné zlyhanie imunitného systému vedie k zníženej schopnosti postihnutého odolávať infekcii. **Imunodeficit** alebo **deficit imunitného systému**, ktoré sú spôsobené poruchou rôznych súčastí imunitného systému sú zriedkavé ale nie nevýznamné a vyskytujú sa v dvoch formách. **Primárne imunodeficity** sú spôsobené kongenitálnymi poruchami. Tieto deficity sú obvykle genetické, ale niekedy sa objavujú aj ako následok náhodne vygenerovanej vývojovej poruchy. Známych je viac ako 100 primárnych imunodeficitov prejavujúcich sa ochorením ľudí a u mnohých z nich bol identifikovaný špecifický defektný gén.

Ochorenia spôsobené primárnym imunodeficitom boli považované za vzácne, ale mnohé sú aktuálne častejšie ako sa pôvodne predpokladalo. Selektívny IgA deficit má frekvenciu 2/1000, čo je v porovnaní s mnohými ďalšími, ktoré sa vyskytujú s frekvenciou 1/100 000. Ale pretože existuje tak veľa primárnych imunodeficitov, stávajú sa významným zdravotným problémom, ak sa hodnotia spoločne. Väčšina primárnych imunodeficitov sa odhalí v období okolo 6. mesiaca, keď materské protilátky prenesené fetálnou cirkuláciou in utero postupne vymiznú a dieťa sa stáva závislým na vlastnej imunite.

Sekundárne imunodeficity sú spôsobené vonkajšími príčinami akými sú infekcia, liečba, rakovina, nedostatočná výživa. Tieto deficity môžu vzniknúť v ktorýkoľvek deň života, podľa toho, kedy došlo k expozícii príčinných faktorov. Ako pri primárnych deficitoch poškodený pacient je náchylnejší na infekciu alebo vznik iných ochorení.

Imunodeficity sú charakterizované viacerými symptómami. Niektoré sa vyskytujú u viacerých imunodeficitov a niektoré len u niektorých deficitov. Tieto špecifické príznaky sú často užitočné pre stanovenie diagnózy určitej choroby konkrétneho pacienta.

Charakteristiky, ktoré sa nájdu u mnohých imunodeficitov zahŕňajú:

- rekurentné alebo chronické infekcie
- neschopnosť zlikvidovať infekčné agensy po štandardnej ATB terapii
- nezvyklé infekčné agensy

Charakteristiky, ktoré sa nájdu u obmedzeného počtu imunodeficitných ochorení sú:

- neschopnosť dieťaťa normálne priberať na váhe - *neprospievanie*, /ťažký kombinovaný imunodeficit (SCID), deficit γ receptorov, syndrom holých lymfocytov/
- hepatosplenomegália /bežný variabilný imunodeficit (CVID), deficit receptoru pre interferon γ , Chediak-Higashi syndrom/
- kožný raš /SCID, Wiskott-Aldrich syndrom (WAS), na X-chromozóm viazaná agamaglobulínémia/

- hnačka (spojená s gastrointestinálnou infekciou) /CVID, WAS, X-agamaglobulinemia, sy holých lymfocytov, SCID, chronická granulomatózna choroba (CGD)/
- rekurenté abscesy /CGD, deficit adhézných molekúl leukocytov/

Neimunologické charakteristiky, ktoré sa vyskytujú pri špecifických imunodeficitoch zahŕňajú:

- nedostatok doštičiek (trombocytopénia) /Wiskott-Aldrich syndrom/
- strata rovnováhy (ataxia), rozšírené kapiláry (teleangiektázie) /imunodeficit s teleangiektásiami/
- čiastočný alebo úplný albinizmus /Chediak-Higashi syndrom/

II. Primárne kongenitálne imunodeficity

Deficity spôsobujúce primárne imunodeficity sa môžu vyskytovať v rôznych bunkových vývojových líniiach: kombinovaná lymfoidná bunková línia, T alebo B bunkové línie izolovane, línie produkujúce fagocytujúce bunky a NK bunky a dokonca aj bunky produkujúce súčasti komplementu. Deficit v jednej línii môžu ovplyvniť vývoj iných línii, ktoré sú vnútorne normálne. Napríklad abnormálne T bunky môžu zabrániť aktivácii B buniek, ktoré sú ináč normálne. A spolupráca medzi bunkami odlišných línii môže mať za následok to, že jeden defekt môže inhibovať viacero typov imunitných odpovedí.

Defekt autozomálneho génu (či už recesívneho alebo dominantného) postihuje obidve pohlavia rovnako. Ale defektné gény viazané na X chromozóm (obvykle recesívne) postihujú mužov o mnoho častejšie ako ženy. Na rozdiel od žien, muži nedokážu kompenzovať defektný na X chromozóm viazaný gén normálnym génom na párovom chromozóme.

A. Defekty kmeňových buniek

Pluripotentné kmeňové bunky, z ktorých sa vyvinie granulocytová, erytrocytová, monocytová, trombocytová a lymfocytová línia hematopoetického systému sa prvotne nachádzajú v aorto-gonádo-mezonefroze vyvíjajúceho sa embrya. Tieto bunky podstupujú dve migrácie. Počas embryonálneho a fetálneho vývoja, migrujú do fetálnej pečene. Neskôr, pred narodením migrujú opäť, tentokrát do kostnej drene, kde zostávajú počas celého života. Niektoré pluripotentné bunky sa diferencujú do slabo diferencovaných kmeňových buniek, z ktorých vznikne každá z piatich hematopoetických línii (Obr. 15.1). Lymfoidné kmeňové bunky môžu vygenerovať obidvoje B bunky (B-1 a B-2) a T bunky ($\alpha\beta$ a $\gamma\delta$). Ako bolo uvedené v Kapitole 7, B-2 bunková línia zostáva v kostnej dreni, kde dochádza k ďalšiemu vývoju, B-1 línia sa presunie do peritoneálneho/pleurálneho tkaniva, kde dochádza k autoreplikácii a T bunková línia migruje do týmusu.

Defekty v lymfoidných kmeňových bunkách, z ktorých sa vyvíjajú T a B bunkové línie spôsobia poškodenie funkcie obidvoch bunkových (Obr. 15.2) typov. Individuálne defekty môžu mať za následok abnormálny počet T a B buniek alebo ich funkcií alebo obidvoch. Bunkami sprostredkované odpovede (napr. bunkami sprostredkovaná lýza a DTH) sú obvykle redukované rovnako ako produkcia imunoglobulínov. Relatívny vplyv na individuálne poškodenie však nemusí byť rovnaký pre T a B bunky, ani nemusia mať vždy rovnako závažné následky pre každého postihnutého.

Ťažký kombinovaný imunodeficit (SCID – severe combined immunodeficiency) je klasickým príkladom defektov v kombinovanej lymfocytovej línii. SCID nie je jedinou chorobou, je to

skupina postihnutí spôsobená viacerými rôznymi defektami v individuálnych génoch, ktoré majú podobné funkčné následky.. (Tabuľka 15.1).SCID – súvisiace defekty sa môžu vyskytnúť v génoch, ktoré kódujú enzýmy (RAG-1, RAG-2) zodpovedné za preskupenia DNA, ktoré produkujú variabilné oblasti imunoglobulínov a TCRreceptorov. Iné príklady zahŕňajú defekty cytokínových receptorov a v molekulách zahrnutých do medzibunkovej interakcie pri aktivácii lymfocytov. Defektná produkcia purínovej nukleosid fosforylázy poskytuje príklad generického defektu, ktorý postihuje T aj B bunky, ale s rôznou intenzitou. Akumulované toxické metabolity vyplývajúce z tohto poškodenia zhoršujú funkciu T buniek omnoho viac ako B buniek.

Kazuistika

SCID viazaná na X chromozóm

Timmy je 4 mesačný chlapec, ktorý trpí na ťažké hnačky a neprospievanie. V priebehu posledných dvoch mesiacov, mal dve epizódy infekcie uší, ktoré si vyžiadali ATB liečbu. Vyšetrenia odhalili slabo živé dieťa s minimálnym množstvom tonzilárneho tkaniva a ústnou kandidózou. Krvné testy odhalili signifikantne znížené množstvo lymfocytov a neprítomnosť CD3+buniek (T lymfocytov) a NK buniek (CD16+, CD56+) a signifikantne znížený počet B buniek (CD19+). Ďalšie vyšetrenia potvrdili na X chromozóm viazaný SCID. Hematologický a imunologický transplantčný tím pripravuje transplantáciu kostnej drene.

Tabuľka 15.1

Primárne imunodeficitné ochorenia spôsobené deficitmi kmeňovej bunky

Choroba	Dedičnosť	Gén	Chromozóm	Následky
ADA – deficit adenosindeaminázy	Autozomálne recesívna	ADA	20	Veľké riziko infekcií., porucha purínového metabolizmu., znížený počet a poškodená funkcia T a B lymfocytov spôsobené toxickými metabolitami., znížené koncentrácie imunoglobulínov
Imunodeficit s ataxiou a teleangiectáziami	Autosomálne recesívna	ATM	11	Zvýšené riziko infekcie., časté sinopulmonálne infekcie., oprava DNA je poškodená a vznikajú rôzne príznaky vrátane ataxie a teleangiectázií., vyskytuje sa v rôznom veku a postihuje rôzne funkcie., hodnoty T buniek, ich funkcia a koncentrácia imunoglobulínov (predovšetkým IgG, IgA, IgE) môžu klesnúť., počet B buniek môže byť aj normálny., autoprotilátky a chromozomálne abnormality sú časté
Deficit fosforylázy purínových nukleosidov	Autozomálne recesívna	NP	14	Zvýšené riziko infekcie., poškodený purínový metabolizmu., klesajúci počet T buniek v čase (sú náchylnejšie ako B bunky na kumuláciu toxických metabolitov)., klesajúca hladina imunoglobulínov je spôsobená zníženou funkciou (pomocou) T helperov
SCID	Autozomálne recesívna	RAG1 a/alebo RAG2	11	Vysoké riziko infekcií., neschopnosť DNA preskupenia, aby sa vytvorili

		(rekombinácie aktivujúce gény)		variabilné oblasti imunoglobulínov a TCRreceptorov., počet T a B lymfocytov/ich funkcia sú redukované alebo neprítomné., hladiny imunoglobulínov sú tiež redukované alebo sú tiež neprítomné
	Recesívna X viazaná	IL2RG (bežný receptor pre cytokín na γ reťazci, súčasť receptorového komplexu pre IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15)	X	Mnohočené účinky pretože γ reťazec je súčasťou receptorov pre viaceré cytokíny., zvýšené riziko infekcie., počet T buniek a hladina imunoglobulínov klesajú., počet B buniek je normálny alebo zvýšený
	Autozomálne recesívne	JAK3 (janus kináza 3)	19	Zvýšené riziko infekcie., porucha intracelulárneho prenosu signálu., počet T buniek a hladiny imunoglobulínov klesá., počet B buniek je normálny alebo zvýšený
Wiskott-Aldrich syndrom	Recesívna X viazaná	WAS	X	Zvýšené riziko infekcie, predovšetkým baktériou <i>S.aureus</i> sa vyvinie vo včasnom detstve., počet T a B buniek a ich funkcia sú znížené, rovnako ako hladiny imunoglobulínov., znížené počty doštičiek a ich abnormality.

B. Defekty T buniek

Primárne imunodeficity viazané na T bunky majú za následok abnormálny počet T buniek a/alebo ich funkcií. Ale pretože „pomoc“ T buniek je dôležitá pre aktiváciu anivných alebo pamäťových B buniek, mnohé poruchy T buniek spôsobujú abnormality aj v počte a funkcii (producia imunoglobulínov) B buniek (Obr. 15.3). Viaceré charakteristické choroby, ktoré vznikli na základe defektov T buniek, sú sumarizované v tabuľke 15.2. Niektoré sú viazané na CD4+ a CD8+ T bunky., niektoré postihujú len jeden typ T buniek. Pretože DTH je odpoveď zodpovedná vo veľkej miere za boj proti hubám, časté alebo opakované hubové infekcie (mykózy) sú typické pre defekt funkcie T buniek.

Druhú skupinu defektov T buniek tvoria tie, v ktorých zodpovedná mutácia nie je obmedzená len na T bunky, ale sa môže vyskytnúť aj na bunkách, ktoré sú nevyhnutné pre vývoj alebo aktiváciu T buniek. Niektoré defekty T buniek vznikajú na základe mutácie iných buniek, ktoré ovplyvňujú vývoj alebo aktiváciu T buniek. Napr. **TAP-2 deficit** (známy ako **syndrom nahých lymfocytov I**) je spôsobený poruchou transportéru súvisiaceho s antigén prezentáciou (TAP., či už TAP1 alebo TAP2). Tieto defekty porušujú schopnosť zachytenia peptidových fragmentov do vznikajúcich MHC I molekúl vo všetkých jadrových bunkách a redukujú počet MHC I molekúl, ktoré sa úspešne dostanú na povrch bunky. Redukované množstvo MHC I molekúl znižuje počet funkčných CD8+T buniek a môže ovplyvňovať funkciu NK buniek monitorujúcich MHC I na bunkách tela (hoci NK bunky ako sa zdá neatakujú neinfikované hostiteľské bunky). Podobne defekty inhibujúce expresiu MHC II molekuly redukuje počet funkčných CD4+T buniek.Ďalším príkladom je **DiGeorgeov syndrom** (Tabuľka 15.2), pri ktorom vývoj týmusu vznikajúci abnormálnym embryonálnym vývojom v treťom a štvrtom faryngeálnom oblúku môže inhibovať alebo zabrániť vývoju a dozrievaniu T buniek v týmuse. Závažnosť DiGeorgeovho syndromu je rôzna. Okrem abnormálneho vývoja faryngeálnych oblúkov môže tento syndrom zahŕňať malformácie aorty, tváre a sánky

a príšttných teliesok. Väčšina ľudí s DiGeorgeovým syndrómom má malé delécie na 22.chromozóme, hoci relevantný gén alebo gény a ich funkcie nie sú identifikované. Tieto súvisiace znaky umožňujú identifikovať a liečiť DiGeorgeov syndrom pri narodení.

Choroba	Dedičnosť	Gén	Chromozóm	Následky
CD3 deficit	Autozomálne recesívna	CD3G alebo CD3E	11	Zvýšené riziko infekcií, defekty CD3 γ (CD3G) alebo CD3 ϵ (CD3E) proteíny, rôzny vplyv na funkciu T buniek
DiGeorgeov sy	Autosomálne dominantná alebo spontánna	Neznámy – defekty embryonálneho vývoja týmusu	22 (v prípade genetickej formy)	Zvýšené riziko infekcií, počet T buniek a ich funkcia je obvykle normálna a ale redukovaná alebo variabilná pre abnormálny vývoj týmusu z 3. a 4. brachiálneho oblúku., rôzne hladiny imunoglobulínov, časté sú delécie v chromozóme 22., častý výskyt iných defektov (napr. črty tváre, podnebia, aorty a príšttných teliesok a metabolizmu kalcia)
MHC II deficiency (syndróm nahých lymfocytov)	Autozomálne recesívna	CIITA alebo RFX5	16 alebo 1	Zvýšené riziko infekcie, defekty intracelulárneho prenosu signálu, počet CD4 ⁺ T buniek je znížený, hladiny imunoglobulínov sú znížené kvôli nedostatočnej pomoci od T buniek.
SCID	Autozomálne recesívna	RAG1 a/alebo RAG2 (rekombinácie aktivujúce gény)	11	Vysoké riziko infekcií, neschopnosť DNA preskupenia, aby sa vytvorili variabilné oblasti imunoglobulínov a TCR receptorov, počet T a B lymfocytov/ich funkcia sú redukované alebo neprítomné, hladiny imunoglobulínov sú tiež redukované alebo sú tiež neprítomné
	Recesívna X viazaná	IL2RG (bežný receptor pre cytokín na γ reťazci, súčasť receptorového komplexu pre IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15)	X	Mnohočetné účinky pretože γ reťazec je súčasťou receptorov pre viaceré cytokíny, zvýšené riziko infekcie, počet T buniek a hladina imunoglobulínov klesajú, počet B buniek je normálny alebo zvýšený
	Autozomálne recesívne	JAK3 (janus kináza 3)	19	Zvýšené riziko infekcie, porucha intracelulárneho prenosu signálu, počet T buniek a hladiny imunoglobulínov klesá, počet B buniek je normálny alebo zvýšený
Wiskott-Aldrich syndrom	Recesívna X viazaná	WAS	X	Zvýšené riziko infekcie, predovšetkým baktériou <i>S.aureus</i> sa vyvinie vo včasnom detstve, počet T a B buniek a ich funkcia sú znížené, rovnako ako hladiny imunoglobulínov, znížené počty doštičiek a ich abnormality.

c. Defekty B buniek

Viaceré zdedené genetické poruchy sú zapríčinené defektami B buniek (obr. 15.4). Tieto defekty B buniek sú zodpovedné za väčšinu (viac ako 80 %) imunodeficitných ochorení ľudí

(tabuľka 15.3). Hladiny imunoglobulínov sú typicky ovplyvnené, ale nie vždy je znížený počet B lymfocytov. Niektoré deficity B bunky sú charakterizované abnormálnou produkciou všetkých imunoglobulínových izotypov, iné sa týkajú len jedného alebo niekoľkých. Počty T buniek a ich funkcie sú vtedy obvykle normálne. Nasledujúce príklady zobrazujú rozsah možných nálezov.

16. Autoimunita

I. Súhrn

Vrodený imunitný systém spožíva na nešpecifických „hrubozerých“ geneticky kódovaných receptoroch, ktoré sa vyvinuli na to, aby rozlišovali vlastné od cudzieho. Získané imunitné mechanizmy sa stretávajú s väčším problémom pri odlišovaní vlastného od cudzieho. B a T receptory špecifickej imunity sú náhodne vygenerované u každého jednotlivca bez toho, aby ten vedel s akými epitopmi sa stretne. Ako následok tohto, niektoré BCR receptory a TCR receptory rozpoznávajú cudzie molekuly a niektoré receptory rozpoznávajú vlastné molekuly. Viaceré mechanizmy sú potrebné na identifikáciu, kontrolu a elimináciu buniek, ktoré sú schopné identifikovať vlastné molekuly. Porucha týchto eliminačných mechanizmov má za následok vznik **autoimunity**.

Reumatoidná artritída, niektoré formy cukrovky, roztrúsená skleróza, psoriáza, systémový lupus erythematosus sú len niektoré z autoimunitných ochorení. Autoimunita je komplexný problém. Môže vznikáť mnohými mechanizmami a riziko vzniku je ovplyvnené viacerými environmentálnymi a/alebo genetickými faktormi, pričom mnohé nie sú ešte identifikované. Spolu však tieto rôzne vplyvy prispievajú k prerušeniu bariéry tolerancie vlastného, čo je schopnosť imunitného systému účinne odlíšiť vlastné od cudzieho a vyhnúť sa útoku na vlastné molekuly.

III. Tolerancia

Tolerancia je zlyhanie imunitného systému odpovedať na epitop agresívnym spôsobom. Väčšina autotolerancie je následkom inaktívácie alebo deštrukcie lymfocytov, ktoré majú BCR receptory alebo TCR receptory, ktoré rozpoznávajú a viažu vlastné epitopy. Inaktívacia alebo deštrukcia sa môže vyskytnúť v skorom období vývoja (centrálna tolerancia) alebo v neskoršom období vývoja, v období prítomnosti lymfocytov v cirkulácii (periférna tolerancia). Pochopenie ako imunitný systém prirodzene vytvára autotoleranciu môže poskytnúť kľúčové informácie pre vývoj terapeutických stratégií pri autoimunitných ochoreniach spôsobených stratou autotolerancie.

A. Centrálna tolerancia

Centrálna tolerancia sa vyskytuje počas skorých štádií diferenciácie B buniek v kostnej dreni a T buniek v týmuse. Normálne, B aj T bunky, ktoré viažu vlastné epitopy vo včasnom období vývoja podstúpia apoptotickú smrť, čím sa eliminuje veľké množstvo potenciálne autoreaktívnych buniek predtým ako vstúpia do cirkulácie (Kapitola 9). B bunky vyjadrujú na

svojom povrchu IgM ako BCRreceptor. Tozpoznanie epitopu prostredníctvom BCRreceptora vyvíjajúcej sa B bunky v kostnej dreni vyprovokuje jej apoptotickú smrť, čo je proces nazývaný **negatívna selekcia**. Podobne naviazanie pMHC komplexu I alebo pMHC II prostredníctvom TCRreceptoru tymocytov s jedinou pozitivitou (CD4+CD8- alebo CD4-CD8+) spôsobí že podstúpia apoptotickú smrť. Tento proces odstráni mnohé potenciálne autoreaktívne B a T bunky prdtým ako vstúpia do periférie (obr. 9.1). Veľké nedostatok centrálnej tolerancie je v tom, že nie všetky autoepitopy sa nachádzajú v primárnych lymfoidných orgánoch, predovšetkým nie tie, ktoré vznikajú po ukončení lymfocényzy, akými sú napríklad tie, ktoré vznikajú počas puberty. Ďalšie procesy sú potrebné na prevenciu toho, aby autoreaktívne bunky začali poškodzovať vlastné telo.

B. Periférna tolerancia

Viacere ďalšie mechanizmy kolektívne nazývané **periférna tolerancia** kontrolujú alebo eliminujú autoreaktívne B a T bunky po tom ako opustili kostnú dreň alebo týmus. Jedným z takých mechanizmov je indukcia anergie, stavu neodpovedavosti na lymfocyty potom ako ich receptory naviazali antigén (B bunky) alebo pMHC (T bunky) (obr. 16.1). Ďalším mechanizmom je **supresia**, kedy regulačné bunky inhibujú aktivitu iných buniek.

2. **Anergia**: Naviazanie TCR na vhodnú pMHC I alebo pMHC II na povrchu APC bunky poskytuje prvý signál na aktiváciu T buniek, ale T bunky musia dostať aj druhý signál od APC (cytokíny atď) nato aby aktivácia pokračovala (Kapitola 5). Naivné CD8+T bunky môžu rozpoznať a viazať vlastné pMHC I na non APC bunkách ako aj na APC bunkách. Naviazanie sa na nonAPC, zapojenie ich TCRreceptorov ako aj na pMHC I poskytne prvý signál ale nie druhý signál. Získanie prvého signálu bez prítomnosti druhého spôsobí, že sa naivná T bunka dostane do stavu inaktivity, ktorý nazývame **anergia** (Obr. 16.2). Stav anergie CD8+T buniek spôsobený naivným T bunkám je taký silný, že obvykle nie je možné ich aktivovať následným vystavením prvému a druhému signálu. Existujú ale situácie, v ktorých môže byť anergia prerušená a autoreaktívna CD8+T bunka sa stane aktivovanou, čo má za následok vznik niektorých autoimunitných ochorení. Nie je jasné či CD4+T bunky môžu alebo nemôžu byť anergizované podobnými mechanizmami, pretože takmer všetky väzby na TCRreceptory CD4+T buniek sa uskutočňujú prostredníctvom pMHC II komplexu na APC.

Aj B bunky môžu podstúpiť anergiu. Niektoré anivné autoreaktívne B bunky opúšťajú kostnú dreň. Ich následná aktiácia v lymfatických uzlinách vyžaduje spoluprácu s T bunkami, čo poskytuje dostatok rozpustných vošných signálov a povrchových ligndov. Rovnako ako CD8+T bunky, aj naivné B bunky môžu byť anergizované ak sa ich povrchové imunoglobulíny naviažu na vlastné antigény bez prítomnosti dodatočných potrebných T bunkových signálov.

3. **Supresia**: Tolerancia na vlastné epitopy môže byť navodená regulačnými bunkami (Obr. 16.3). Molekulárna báza týchto regulačných aktivít nie je stále jasná, ale vo väčšine prípadov, regulačné bunky sú T bunky. Príklady sú nasledovné:

- CD4+CD25+ T bunky znižujú aktivitu T buniek stimulovaných množstvom epitopov. Ukázalo sa, že zohrávajú dôležitú úlohu pri prevencii vývoja zápalovej reakcie (napr. IBD)
- Niektoré CD8+T bunky sú schopné inhibovať aktivitu a proliferáciu CD4+T buniek, vrátane niektorých, ktoré sprostredkujú autoreaktívnu odpoveď hypersenzitivity IV typu (DTH)
- CD8+ a CD4+ bunkové populácie ako sa ukázalo vo viacerých modeloch, inhibujú produkciu protilátok

Autoimunitné odpovede sa odlišujú v patológiách, ktoré indukujú a toto niekedy závisí na vyváženosti **Th1/Th2** odpovede (kapitola 5) na určitý autoepitop. Napríklad Th2 odpoveď na nejaký epitop môže vyvolať len slabú alebo žiadnu imunopatologickú reakciu, ale odpoveď Th1 môže vyprodukovať CMI zápal ako napr. DTH s poškodením tkaniva. Následkom toho vzniká autoimunitné ochorenie, ktoré je podmienené relatívnou nerovnováhou Th1 a Th2 odpovede proti epitopu a faktory, ktoré vplyvajú na túto nerovnováhu môžu meniť výšku rizika u jednotlivca. Takáto situácia nastáva v systéme črevnej slizničnej imunity GALT-u (kapitola 13). Črevné epiteliálne bunky a niektoré intraepiteliálne lymfocyty produkujú protizápalové Th2 cytokíny (IL4, IL10) a TGF- β), ktoré vytvárajú mikroprostredie zlepšujúce produkciu IgA protilátok a inhibujúce zápalovú bunkovú odpoveď. Zmeny, ktoré uprednostňujú vývoj odpovede podobnej Th1 reakcii (CMI), napríklad vďaka patogénnym baktériám, môžu byť základom pre vznik autoimunitných IBD ako napr. **Crohnova choroba** alebo **ulcerózna kolitída**.

IV. Strata autotolerancie

Napriek rôznym mechanizmom, ktoré zabezpečujú imunitnú odpoveď na vlastné epitopy, autoimunitná reakcia sa môže príležitostne objaviť. Ako k tomu dôjde: Aké okolnosti poskytujú príležitosť na to, aby autoreaktívne imunokompetentné bunky unikli systému nástrah a stali sa slobodnými v útoku na bunky a tkanivá v organizme? Existujú viaceré situácie, ktoré toto umožňujú:

A. Molekulárne mimikry

Infekcie často súvisia s vývojom autoimunity. Experimentálne dôkazy in vitro ukázali, že za určitých okolností, prídanie vysokých hladín exogénnych cytokínov môžu spôsobiť aktiváciu naivných T buniek bez prítomnosti APC a v niektorých prípadoch, dokonca aj anergizované T bunky môžu byť aktivované. **Zápal** v mieste infekcie vychádzajúci z aktivovaných fagocytov odpovedajúci na prítomnosť infekčných agensov, môže vygenerovať zvýšené hladiny proinflamačných cytokínov, ktoré môžu spustiť účinky zaznamenané in vitro. Vtedy T bunky rozpoznávajúce vlastné epitopy môžu dostať dostatočný stupeň stimulácie aby sa stali aktivovanými, aj ak nekomunikujú priamo s APC (Obr. 16.4). Zatiaľčo tento mechanizmus musí byť ešte definitívne potvrdený in vivo, tendencia k vývoju autoimunitných ochorení po infekcii alebo zápale je sugestívna.

Molekulárne mimikry je proces pri ktorom infekcia určitým mikroorganizmom súvisí s následným vývojom špecifických autoimunitných ochorení. Antigénne molekuly na niektorých infekčných agensoch sú tak podobné s niektorými hostiteľskými antigénmi, že B a T bunky vytvoria odpoveď proti vlastným mikrobiálnym antigénom, čo má za následok poškodenie hostiteľskej bunky s podobnými molekulami (Obr. 16.5) Najznámejším príkladom tohto procesu je poškodenie srdca ako následok reumatickej horúčky po infekcii spôsobenej baktériou *Streptococcus pyogenes* (vyvolávateľ streptokokovej angíny) (obr. 16.6). β -hemolytické kmene zo skupiny A baktérie *S. pyogenes* majú vysoké hladiny antigénu známeho ako M protein, čo je molekuly, ktorá má určité štrukturálne vlastnosti podobné s molekulami nachádzajúcimi sa na chlopniach a membránach srdca. Ak sú protilátky IgM a IgG vytvorené proti M proteínu počas infekcie, môže dôjsť k následnému naviazaniu týchto protilátok na hostiteľské bunky, a vzniku poškodenia, ktoré zníži funkciu srdca. Navyše, protilátky proti M proteínu môžu skrížene reagovať aj s molekulami hostiteľa v kĺboch alebo obličkách. Nahromadenie poškodenia v srdci alebo iných tkanivách môže byť fatálne. Je preto dôležité, aby pacienti s angínou boli testovaní na prítomnosť vyvolávateľa a aby boli účinne vyliečení skôr ako vznikne protilátková odpoveď.

Molekulárne mimikry ako sa zdá sú príčinou viacerých autoimunitných ochorení vrátane ochorenia diabetes mellitus. Niektoré peptidové fragmenty Coxackie vírusu alebo cytomegalovírus skrížene reagujú s glutamát dekarboxykázou, cieľovou štruktúrou autoreaktívnych T buniek u pacientov s DM-1 typu. Aj peptidy iných vírusov (CMV, vírus osýpok, vírus hepatitídy C) skrížene reagujú s fosfázou IA-2, čo je enzým produkovaný pankreatickými β bunkami a čo môže byť základom niektorých prípadov diabetu.

Súvislosť s infekčnými agensami bola zaznamenaná u viacerých autorimunitných ochorení. Skupina zápalových artritíd – **reaktívna artritída** – sa vyskytuje častejšie u osôb, ktoré prekonali enteritídu. Dve z týchto ochorení, **ankylozujúca spondylitída** (obvykle v dolnej časti chrbtice) a **Reiterova choroba** (poškodzujúca kĺby dolnej končatiny a zažívacie a urogenitálny trakt) sa častejšie vyskytujú u nositeľov génu HLA-B27 a tých, ktorí boli infikovaní baktériou *Klebsiella*. V skutočnosti niektoré podobnosti existujú medzi molekulami HLA-B27 a niektorými proteínmi na baktérii *Klebsiella*, čo ukazuje na úlohu molekulárnej mimikry. Navyše, receptor pre acetylcholin, čo je vlastná molekula, ktorá je cieľom autoimunitných reakcií pri ochorení **myastenia gravis**, obsahuje niektoré štrukturálne zhody s určitými proteínmi poliovírusov. Tieto údaje poukazujú na to, že molekulárne mimikry môže byť dôležitým faktorom pre vznik niektorých autoimunitných ochorení.

B. Rozšírenie epitopu

Ďalším fenoménom, ktorý môže prispievať k vplyvu infekčných organizmov na vzniku autoimunity je **rozšírenie epitopu**. Epitop, ktorý spustí odpoveď vedúcu k autoimunitnej nemusi byť epitopom, ktorý je cieľom imunitných odpovedí vzniknutých neskôr v priebehu patogenézy ochorenia. Napríklad, počiatočná odpoveď na infekčný agens môže mať za následok poškodenie, ktoré odhalí vlastné epitopy spôsobom schopným spustiť skutočnú autorimunitnú odpoveď. Na niektorých zvieracích modeloch ľudského ochorenia sclerosis multiplex (roztrúsená skleróza) odpoveď na určité vírusové epitopy vzniká pravidelne pred vytvorením imunitnej reakcie proti špecifickým epitopom súvisiacim s myelínovou pošvou, ktorá chráni axóny neurónu. Navyše, dominantný vlastný cieľový epitop autoimunity nemusí bezpodmienečne zostávať stále ten istý v celom priebehu ochorenia. V niektorých experimentálnych modeloch autoimunitných ochorení, pre ktoré je typický priebeh so striedajúcimi sa obdobiami klľudu a exacerbácie, sa dokázal takýto typ priebehu, čo bolo následkom série nezávislých odpovedí vytvorených proti rôznym vlastným epitopom, skôr ako keby to bol priebeh spôsobený zvýšenou a zníženou aktivitou odpovedí na jediný epitop. (Obr. 16.7). Možnosť, pri ktorej epitopy, ktoré spustia autoimunitné ochorenie nie sú tie, ktoré sú súčasťou patogenézy ochorenia, komplikuje pokusy smerujúce k vývoju špecifickej terapie. Rozšírenie epitopu zohráva pravdepodobne úlohu pri viacerých autoimunitných chorobách, vrátane systémového lupus erythematoses, IBD (zápalových ochorení čreva – Crohnova choroba, ulcerózna kolitída), sclerosis multiplex, pemphigus vulgaris a niektorými formami diabetes melitus.

C. Strata supresie

Supresorické bunky rôznych typov slúžia na udržiavanie feriférnej tolerancie. Dôkaz potvrdzuje, že počet týchto buniek s vekom klesá, čo zvyšuje riziko, že pôvodne suprimované autoreaktívne lymfocyty sa stanú aktívnymi. Toto zvyšujúce sa riziko ochorenia so stúpajúcim vekom je možné pozorovať pri niektorých autoimunitných chorobách, akými je napríklad **SLE – systémový lupus erythematoses**. Je však ťažké odlíšiť, či zvýšené riziko súvisí so zmenami podmienenými vekom alebo jednoducho s faktom, že vyšší vek poskytuje viac príležitostí, aby sa choroba vyvinula.

D. Sekvestrované (vylúčené) antigény

Niektoré vlastné molekuly sú sekvestrované (vylúčené) a normálne nikdy nie sú exponované imunitnému systému, a to z rôznych dôvodov. Následkom toho, ak sa dostanú do kontaktu s imunitným systémom, napríklad po poranení, môžu ním byť rozpoznané ako cudzie a následne napadnuté. Najlepšie pochopenými príkladmi sekvestrovaných antigénov sú antigény súvisiace so spermatogóniou a vývojom spermie v lumen testikulárnych tubulov. Tubuly sú vytvorené včas v období embryonálneho vývoja, ešte predtým ako sa vyvinie imunitný systém, a to uzatvorením v pošve pevne spojených Sertoliho buniek, a preto nikdy nie sú exponované vlastným molekulám, ktoré sú špecifické pre lumen tubulov v testes. Ak sa tieto dostanú do styku s imunitným systémom po poranení (alebo pri vazektómii, či chirurgickom zákroku), imunitná odpoveď môže smerovať proti vlastným (ako keby cudzím) molekulám. Príklad sa, že niektoré prípady mužskej sterility môžu byť spôsobené týmto mechanizmom.

Miesta, ktoré súvisia s určitým stupňom izolácie od imunitného systému sa spoločne nazývajú **imunologicky privilegované miesta**. Navyše, okrem testikulárnych tubulov sem patrí rohovka a predná komora oka, mozog, intrauterinne prostredie v priebehu tehotenstva. Nižšia vaskulatúra rohovky a tekutinou naplnená predná komora oka, spolu s ostatnými imunosupresívnymi mechanizmami môžu chrániť tieto štruktúry oka od poškodenia alebo permanentného poranenia, ktoré by mohlo nastúpiť po silnom zápale. Napríklad, tekutina v prednej komore oka obsahuje mnohé protizápalové molekuly. Navyše bunky v prednej komore oka zvýšene exprimujú na povrchu **Fas-ligand** molekulu (CD178). Keď sa molekula CD178 naviaže na **Fas** (CD95) na aktivovaných T bunkách, tieto T bunky podstúpia apoptotickú smrť (Obr. 16.8). Tak bunky v prednej komore chránia samy seba zabíjaním autoreaktívnych T buniek, ktoré sa na ne naviazali. Iným mechanizmom je chránený mozog. Hematoencefalická bariéra pozostáva z hustého, pevne spojeného endotelu, ktoré obmedzuje tok buniek a veľkým molekul z krvnej siete do mozgu, čím sa znižuje schopnosť imunitného systému infiltrovať mozog. Opäť, hematoencefalická bariéra takto chráni mozog, pretože silná zápalová reakcia môže ľahko spôsobiť jeho nenapravidelné poškodenie.

Aj molekuly môžu niekedy obsahovať imunologicky privilegované miesto. Priestorová konfigurácia niektorých molekúl môže skrývať epitopy vo vnútri, teda mimo kontakt s imunitným systémom. Ak je molekula zmenená denaturáciou alebo rozložením, „schované“ - vnútorné epitopy môžu byť exponované a dostupné na rozpoznanie a naviazanie protilátok (Obr. 16.8). Tieto sa nazývajú **kryptoepitopy**. Prítomnosť reumatoidného faktoru, súvisiaceho so zápalovou reumatickou horúčkou, poskytuje príklad takéhoto antigénu (Obr. 16.10). Naviazanie molekúl IgG na antigén spustí konformačné zmeny v Fc fragmente, čím sa odhalia skryté miesta, pričom niektoré uľahčujú väzbu komplementu alebo Fc receptorov, iné exponujú kryptoepitopy, ktoré stimulujú väzbu IgM protilátok. IgM protilátky proti kryptoepitopom IgG sa naviazaným antigénom sa nazýva **reumatoidný faktor**. Väzba IgM na IgG zvyšuje tvorbu imunokomplexov a aktiváciu komplementu (kapitola 14)- Prítomnosť reumatoidného faktoru súvisí s viacerými zápalovými autoimunitnými chorobami.

E. Neoantigény

Odpovede na neoantigény môžu spustiť autoimunitnú odpoveď. **Neoantigény** sú vlastné antigény, ktoré boli modifikované nejakým vonkajším faktorom (napr. väzba reaktívnej chemikálie), takže sú rozpoznávané ako cudzie imunitným systémom. Takže nie sú to skutočné autoantigény a reakcie proti nim nie sú skutočné autoimunitné reakcie. Ale účinky takejto odpovede na neoantigény môžu byť podobné alebo identické ako na autoantigény. Niektoré odpovede, ktoré sú klasifikované ako autoimunitné, môžu byť v skutočnosti

spôsobené neoantigénmi spôsobenými neznámymi environmentálnymi agensami. Jednou z črt, ktorá odlišuje odpoveď na neoantigén od autoimunitnej je to, že odpoveď na neoantigén skončí, keď je agens zodpovedný za vytvorenie neoantigénu odstránený. Skutočný autoantigén na rozdiel od toho perzistuje počas celého života a stimuluje autoimunitnú odpoveď až kým nie je eliminovaný a zničený.

V. Autoimunitné choroby

Tabuľka 16.1 sumarizuje viaceré autoimunitné ochorenia človeka. Tieto choroby zahŕňajú viaceré rôzne moelkuly, bunky a tkanivá, ktoré sú vytvorené autoimunitnými odpoveďami. Niektoré autoimunitné choroby sú systémové iné difúzne, podľa distribúcie cieľových antigénov.. Napr. SLE a reumatoidná horúčka ovplyvňujú rôzne kĺby a iné telesné tkanivá. Iné choroby postihujú špecifické orgány a tkanivá. Príkladmi sú :

- Crohnova choroba (črevo)
- Goodpastureov sy (ľadviny a pľúca)
- Hashimotova tyroiditída (štítka žľaza)
- IDDM typ I (β bunky pankreasu)
- Sclerosis multiplex (biela hmota mozgu a miechy)
- Sjorgenov syndróm (slzné kanáliky)

Autoimunitné choroby môžu byť následkom poškodenia na bunkách a tkanivách spôsobeného humorálnou odpoveďou, bunkami sprostredkovanou imunitnou odpoveďou alebo obidvomi. Je potrebné si uvedomiť, že vplyv humorálnej alebo bunkovej imunity je niekedy odhadovaný len na základe experimentálnych modelov.

A. Humorálnou odpoveďou sprostredkované autoimunitné choroby

Niektoré autoimunitné ochorenia sú následkom väzby autoreaktívnych protilátok, ktoré spustia hypersenzitívnu odpoveď typu II a III. Protilátky zodpovedné zha spustenie ochorenia sú obvykle izotypu IgG, hoci IgM protilátky môžu prispieť tiež. Aktivácia komplementu a opsonizácia poškodených buniek stimulujú zápalovú odpoveď, ktorá zvyšuje poškodenie na cieľových bunkách a tkanivách. Autoreaktívne T bunky sú typicky prítomné tiež, ale ich úloha je primárne v aktivácii autoreaktívnych B buniek, skôr než v priamom útoku hostiteľskej bunky. Príkladmi takýchto autoimunitných chorôb sú:

- Autoimunitná hemolytická anémia (hypersenzitivita II. typu)
- Goodpastureov syndrom (hypersenzitivita II. typu)
- Hashimotova tyroiditída (hypersenzitivita II. typu)
- Reumatická horúčka (hypersenzitivita II. typu)
- Reumatoidná artritída (hypersenzitivita III. typu)
- Systémový lupus erythematoses (hypersenzitivita II. a III. typu)

B. Bunkami sprostredkované autoimunitné choroby

Hypersenzitívna odpoveď IV. typu zahŕňa bunkami sprostredkované poškodenie vedúce k autoimunitnému ochoreniu. Tá môže zahŕňať odpoveď cytotoxických T buniek alebo makrofágmi sprostredkovanú DTH odpoveď. Zápal, ktorý je vytvorený môže prípadne zahŕňať viacerosúčasne prebiehajúcich odpovedí. Pri niektorých chorobách, môžu byť prítomné aj špecifické protilátky, ale neprispievajú k vytvoreniu patologických procesov ochorenia. Uvádzame príklady autoimunitných ochorení, ktoré zahŕňajú IV. typ hypersenzitivity. Reumatoidná artritída poskytuje príklad autoimunitného ochorenia, ktoré zahŕňa poškodenie sprostredkované humorálnym a bunkami sprostredkovaným poškodením.

- IDDM typ 1

- Sclerosis multiplex
- Reaktívna artritída
- Reumatoidná artritída

VI. Súvislosť HLA s autoimunitnými chorobami

Riziko mnohých autoimunitných chorôb súvisí s prítomnosťou zvláštnych HLA génov (tabuľka 16.2) V niektorých prípadoch (napr. HLA-B27 a HLA DR3) jediný HLA gén súvisí so zvýšeným rizikom viacerých autoimunitných chorôb. Molekulárny mechanizmus týchto štatistických súvislostí nie je stále jasný ale zahŕňa pravdepodobne vplyvy na spracovanie a prezentáciu vlastných epitopov autoreaktívnymi T bunkami.

Sila štatistickej asociácie medzi určitým HLA génom a určitou autoimunitnou chorobou sa vyjadruje ako **relatívne riziko**. Relatívne riziko porovnáva frekvenciu určitého ochorenia u nosičov určitého HLA génu s frekvenciou u nenosičov (obr. 16.11). Napr. relatívne riziko 6 pre súvislosť medzi SLE a HLA-DR3 znamená, že SLE sa vyskytuje približne tri krát častejšie u DR3⁺ osôb ako u DR3⁻ osôb. Výpočet relatívneho rizika sa robí v definovanej populácii a výsledok sa môže odlišovať medzi skupinami rôzneho etnického alebo geografického pôvodu.

Pretože genetika je len jedným z viacerých možných faktorov vplývajúcich na riziko určitej autoimunitnej choroby, väčšinou má RR nízku hodnotu (od 2-5). Ale niektoré HLA gény vykazujú vyššiu súvislosť. Napr. HLA – B27 a ankylozujúca spondylitída majú relatívne riziko až skoro 100 a viac ako 90% osôb s ankylozujúcou spondylitídou je B27⁺. Vplyv RR by mal byť hodnotený v kontexte s aktuálnou frekvenciou. Choroba vyskytujúca sa v počte 3/milión v jednej skupine a 1/milión v druhej má RR 3 v oboch, ale praktický vplyv je zriedený vzácnosťou choroby.

Súhrn

- **Tolerancia** je zlyhaním schopnosti odpovedať agresívnym spôsobom na epitop rozpoznaný imunitným systémom
- **Autoimunita** je následkom straty **autotolerancie**, a to zlyhaním schopnosti inaktivovať alebo eliminovať autoreaktívne bunky.
- **Centrálna tolerancia** vzniká v primárnych lymfoidných orgánoch (v kostnej dreni a v týmuse) v skorých obdobiach vývoja T a B buniek.
- **Periférna tolerancia** je následkom mechanizmov, ktoré inaktivujú alebo eliminujú B a T bunky, ktoré sú v cirkulácii.
- **Anergia** (inaktivácia) B a T buniek sa vyskytuje, keď sa naivný lymfocyt viaže prostredníctvom BCR a TCR (prvý signál) ale nedostane druhý signál poskytovaný T bunkami (pre B bunky) a APC bunkami (pre T bunky), ktoré sú potrebné na aktiváciu.
- Supresorické T bunky inhibujú odpoveď iných imunitných buniek
- Strata tolerancie sa môže vyskytnúť prostredníctvom molekulárnej mimikry, rozšírenia epitopu, strate supresie alebo expozície sekvestrovaných antigénov.
- **Molekulárne mimikry** zahŕňa vytvorenie odpovede na mikrobiálne epitopy, ktoré môžu skrížene reagovať s hostiteľskými epitopmi, ktoré sú štrukturálne veľmi podobné mikrobiálnym epitopom
- **Rozšírenie epitopu** sa vyskytuje, keď odpoveď na epitop vedie k vytvoreniu odpovedí na jeden alebo viac iných epitopov.
- Supresorické T bunky sa môžu s vekom strácať, čo umožní autoreaktívnym bunkám uniknúť regulačným mechanizmom a iniciuje autoimunitné ochorenia.
- Sekvestrované antigény sú lokalizované na anatomických miestach, ktoré sú normálne schované a mimo dosah imunitného systému špecializovanými anatomickými štruktúrami alebo inými mechanizmami

- **Neoantigény** nie sú vlastné antigény, ale môžu viesť k stavom., ktoré vyzerajú ako autoimunita. Ak je stav vyvolávajúci tvorbu neoantigénu odstránený, proces by sa mal zastaviť. Odpovede na vlastné autoantigény na druhej strane sú stále.
- Mnohé autoimunitné choroby boli identifikované. Ich účinky sú určené lokalizáciou autoepitopu. Niektoré choroby ako napr. systémový lupus erytematoses a reumatoidná artritída sú systémové a postihujú viaceré miesta v tele súčasne. Ostatné ako napr. Hashimotova tyreoiditída a Sjorgenov syndrom, postihujú špecifické tkanivá a orgány.
- Patologické mechanizmy autoimunity môžu byť následkom protilátkami sprostredkovaného poškodenia (hypersenzitivita II. a III. typu), bunkami sprostredkovanej odpovede (hypersenzitivita IV. typu) alebo obomi.
- Niektoré autoimunitné ochorenia majú zvýšenú frekvenciu výskytu u osôb – nosičov HLA génov. Štatistická súvislosť medzi ochorením a HLA génom sa vyjadruje ako **relatívne riziko** – RR.

Obrázky:

16.1 Anergia. Vázba antigénu (pre B bunku) ale pMHC (pre T bunku) môžu iniciovať buď aktiváciu alebo anergiu lymfocytov.

16.2 Indukcia anergie T bunky väzbou na non- APC. Zapojenie TCR na naivnú CD8⁺T bunku prostredníctvom pMHCI na non APC poskytne prvý signál aktivácie. T bunky dostávajúce 1. signál bez prítomnosti 2. signálu sú anergizované

16.3 Inhibícia regulačnej bunky. Regulačné bunky (obvykle T bunky) môžu zabrániť niektorým odpovediam inými lymfocytmi. **A.** Autoreaktívne T bunky, ktoré sa stávajú aktivované môžu viazať a atakovať hostiteľské bunky. **B.** Regulačné bunky inhibujú aktiváciu autoreaktívnych buniek a niekedy dokonca aj aktivované.

16.4 Zápal a autoimunita. Za normálnych okolností, autoreaktívne bunky v tele nie sú aktivované kontaktom s automolekulami. Pokiaľ nedôjde k spolupráci s APC, nedostanú cytokínové signály potrebné na aktiváciu. Ale v prostredí so zápalom, hladiny lcytokínov môžu byť dostatočné na to, aby aktivovali autoreaktívne T bunky, keď sa naviažu na vlastné epitopy na non APC bunkách .

16.5 Molekulárne mimikry. Niektoré mikrobiálne antigény nesú epitopy, ktoré sú podobné alebo identické s niektorými epitopmi na hostiteľských moelkulách. Silné odpovede proti mikrobiálnym epitopom môžu mať za následok dostatočnú väzbu hostiteľských epitopov a vyprodukovať imunologicky sprostredkované poškodenie.

16.6 Spojenie kardiálneho poškodenia areumatickej horúčky. Reumatická horúčka je následkom infekcie (obvykle hrdla) hemolytickým streptokokom typu A. Vysoké hladiny protilátok môžu byť vytvorené proti bakteriálnemu M proteínu. IgG protilátky proti M proteínu môžu skrížene reagovať s moelkulami na tkanive srdca, ktoré skrížene reagujú s M

proteínom Ako následok, protilátkami indukované poškodenie, zvlášť na hlopiach a sarkoleme, môžu vyvolať vážne poškodenie srdca. Aj iné tkanivá môžu byť postihnuté.

16.7 Súvislosť autoimunitného ochorenia so sériovou odpoveďou proti rôznym epitopom.

A. Niektoré autoimunitné choroby majú periódny exacerbácie a remisie klinických príznakov.

B V niektorých modeloch ľudských autoimunitných chorôb, fázy exacerbácie súvisia so sériou novo vygenerovaných odpovedí na rôzne epitopy.

16.8 Úloha väzby Fas-ligand v ochrane buniek v imunologicky privilegovaných miestach. Fas-ligand je vyjadrený na bunkách v prednej komore oka. Keď sa autoimunitné T bunky pokúsia viazať na bunky v prednej komore, Fas.ligand sa viaže na Fas molekuly vyjadrené T bunkami. Táto väzba indukuje apoptotickú smrť na bunke nesúcej Fas a imunitou sprostredkované poškodenie buniek prednej komory sa nevyvinie.

16.9 Kryptoantigény. Niektoré epitopy nemusia byť úplne dostupné imunitnému systému, pretože sú chránené v trojrozmernej štruktúre molekuly. Štrukturálne zmeny v molekule, napr. denaturáciou alebo rozložením, môžu spôsobiť to, že tieto skryté epitopy budú dosiahnuteľné pre protilátky.

16.10 Reumatoidný faktor. Reumatoidný faktor (IgM proti IgG) je následkom rozpoznania kryptoepitopov. Väzba protilátok, vrátane IgG na epitopy vedie ku konformačným zmenám v Fc oblasti, čím sa odhalia miesta a stanú sa dostupnými pre väzbu komplementu a rozpoznanie bunkových Fc receptorov. Odhalené miesta obsahujú dovtedy skryté štruktúry, ktoré keď sú odhalené môžu byť rozpoznané a dôjde k väzbe IgM na ne.

16.11 Relatívne riziko. Štatistická súvislosť medzi autoimunitným ochorením a špecifickým HLA génom je vyjadrený ako relatívne riziko. RR je pomer medzi incidenciou ochorenia u nosičov génu a incidenciou ochorenia u nenosičov.

Otázky:

16.1 Zlyhanie schopnosti inaktivovať alebo eliminovať autoreaktívne bunky má za následok

- A. autoimunitu
- B. pozitívnu selekciu
- C. negatívnu selekciu
- D. supresiu
- E. toleranciu

16.2 Zlyhanie imunitného systému odpovedať na epitop agresívnym spôsobom sa nazýva:

- A. autoimunita
- B. pozitívna selekcia
- C. negatívna selekcia
- D. supresia
- E. tolerancia

16.3 Inaktivácia alebo deštrukcia lymfocytov nesúcich BCR alebo TCR schopné rozpoznať a naviazať špecifické autoepitopy majú za následok

- A. hypersenzitivitu
- B. autoimunitu
- C. molekulárne mimikry
- D. pozitívnu selekciu
- E. autotoleranciu

16.4 Lymfocyty vyjadrujúce CD4 a CD25 na povrchu fungujú ako

- A. antigén prezentujúce bunky

- B. autoprotilátky secernujúce B bunky
- C. cytotoxické T bunky
- D. NK-like T bunky
- E. T regulačné bunky

16.5 Počas infekcie baktériou *Streptococcus pyogenes* osoba vytvorila dostatočne vysoké hodnoty IgM a IgG protilátky proti antigénu S.pyogenes, ktorý je štrukturálne podobný s molekulami srdca, čo vytvorí poškodenie srdca. V tomto prípade mikroorganizmus prispieva k autoimunitným procesom

- A. autoimunita
- B. centrálna tolerancia
- C. rozšírenie epitopu
- D. strata supresie
- E. molekulárne mimikry

16.6 Pôvodne zdravé 12 ročné dievča schudlo 4 kg v priebehu posledných niekoľkých týždňov bez diety. Jej rodičia si myslia, že má poruchu stravovania. Anamnéza odhalila polydipsiu, polyuriu a nocturiu. Glukóza na lačno bola zvýšená. U pacienta diagnostikovali autoimunitné ochorenie. Na základe týchto nálezov má pacient pravdepodobne

- A. anorexiu
- B. hyperthyroidizmus
- C. ľadvinové kamene
- D. DM 1
- E. Infekciu močových ciest

16.7 V otázke 16.6 je defekt alebo deficit, v ktorom z uvedených buniek, tkanív alebo orgánov

- A. tukové tkanivo
- B. obličkové tubuly
- C. pankreatické β bunky
- D. štítna žľaza
- E. kostrové svalstvo

16.8 Zdravá 65 ročná žena si sťažuje na hnačku, stratu váhy, nervozitu. Fyzikálne vyšetrenie odhalilo mierny exoftalmus a atriálnu fibriláciu (vystupujúce očné bulvy a zrýchlenú frekvenciu srdca). Laboratórne nálezy podporovali Gravesovu chorobu. Ktoré z orgánov, tkanív budú najviac postihnuté

- A. Pojivové tkanivo
- B. Kĺby dolnej končatiny
- C. Srdcová chlopeň
- D. Obličky
- E. Štítna žľaza

16.9 Gravesova choroba je príkladom:

- A. autoimunitného ochorenia súvisiaceho s HLA B27 génom
- B. autoimunitné ochorenie súvisiace s HLA DR3 génom
- C. imunodeficit súvisiaci s HLA DR3 génom
- D. imunodeficit súvisiaci s HLA DR4 génom
- E. hypersenzitivity III. typu súvisiaca s HLA Cw6

16.10 35 ročný muž prišiel so znakmi únavy, parestézií a zahmleného zraku, čo trvá asi 2 mesiace. Testy ukázali na demyelinizáciu v CNS. Ktorá diagnóza je najpravdepodobnejšia:

- A. ankylozujúca spondylitída
- B. Hashimotova thyroiditída
- C. Sclerosis multiplex
- D. Reaktívna artritída
- E. Systémový lupus erythematosus

16.11 Ktorý imunologický proces je základom ankylozujúcej stomatitídy

- A. autoimunitné ochorenie súvisiace s HLA B27 génom
- B. vývoj autoprotílát proti nukleovým kyselinám
- C. imunologicky sprostredkovaná deštrukcia neuronov
- D. imunitný deficit súvisiaci s HLA DR4
- E. molekulové mimikry acetylcholinového receptora

16.12 30 Ročná žena si sťažuje na únavu, stratu váhy, artritídu rúk a raš v tvare molýľa na tvári. Krvné testy ukázali znížené koncentrácie hemoglobínu a prítomnosť antinukleárných protílátok. Tieto nálezy podporujú, ktorý z uvedených párov ochorenia a imunologického procesu:

- A. Gravesova choroba /autoprotílátky proti TSH receptoru
- B. Myastenia gravis / autoimunita súvisiaca s HLA DR3 génom
- C. Reiterov syndrom / imunologicky podmienená deštrukcia súvisiaca s HLA B27 génom
- D. Reumatoidná artritída / imunitný deficit súvisiaci s HLA DR4 génom
- E. Systémový lupus erythematosus / autoprotílátky proti chromozomálnym proteínom

16.13 55 ročná žena prišla s príznakmi bolesti a stuhnutia rúk a zápästí, ktoré sa vyskytuje hlavne ráno. Vyšetrenie odhalilo stuhnutie a opuch oboch zápästí, reumatoidný faktor. Pacient mal diagnostikovanú reumatoidnú artritídu. Poškodenie pri tomto ochorení je následkom

- A. bunkami sprostredkovanej aj humorálnej imunity
- B. hypersenzitivita II. a III. typu
- C. IgE sprostredkovaná odpoveď
- D. Autotolerancia
- E. Hypersenzitivita II. typu

16.14 47 ročný muž s anamnézou konečného štádia renálneho zlyhávania musel podstúpiť transplantáciu obličiek. 4 týždne po transplantácii sa vyvinula oligúria (znížená produkcia moču), horúčka, vysoký tlak, bolesť alebo citlivosť v oblasti štepu. Na základe týchto nálezov je pravdepodobnou imunologickou príčinou

- A. autoimunita
- B. akútne odhojenie
- C. chronické odhojenie
- D. hyperakútne odhojenie
- E. periférna tolerancia

16.15 20 ročná žena si sťažovala na bolesť v pravej časti brucha súvisiacu s hnačkou a stratou váhy. Krvné testy ukázali na zníženú koncentráciu hemoglobínu a leukocytózu. Diagnostikovali jej Crohnovu chorobu. Tkanivo, ktoré mala najviac postihnuté je

- A. spojivé tkanivo

- B. erytrocyty
- C. pankreatické β bunky
- D. tenké črevo
- E. štítna žľaza

Komentár:

16.1 A Autoimunita je následkom zlyhania inaktívácie alebo eliminácie autoreaktívnych buniek. Pozitívna selekcia je výber lymfocytov, ktoré môžu fungovať v tele. Supresia, negatívna selekcia, a tolerancia sú rôzne mechanizmy, ktorým imunitný systém vytvára toleranciu

16.2 E Tolerancia je zlyhanie vyvolania deštruktívnej odpovede proti epitopu, ktorý rozpozná imunitný systém

16.3 E Inaktívacia alebo deštrukcia lymfocytov, ktoré obsahujú špecifické receptory pre antigén, sú mechanizmy vyvolávajúce toleranciu. Hypersenzitívne odpovede sú silné a deštruktívne. Autoimunita je následkom absencie tolerancie. Mimikry je spôsob zničenia tolerancie. Pozitívna selekcia je podpora lymfocytov, ktoré nesú receptory pre automolekuly.

16.4 E $CD4^+CD25^+$ T bunky sú regulačnou podtriedou T buniek. Nefungujú ako APC ani nesecernujú autoprotílátky. Cytotoxické T bunky sú $CD8^+$. Nepatria k NK-like T bunkám.

16.5 E Molekulárne mimikry prispievajú k autoimunitnej vyvolávaním odpovední prostredníctvom mikrobiálnych molekúl, ktoré skrížene reagujú s hostiteľskými molekulami. Anergia a centrálna tolerancia sú mechanizmami na prevenciu autoimunity. Rozšírenie epitopu poskytuje vytvorenie odpovede na sériu rôznych antigénov, nie skrížene reagujúcich antigénov. Strata supresie je iným mechanizmom, ktorý môže zničiť toleranciu.

16.6 D Diabetes mellitus 1 je autoimunitné ochorenie, pri ktorom dochádza k poruche regulácie glykémie. Niektoré formy hyperthyreoidizmu môže byť následkom autoimunity, ktorá útočí na receptory štítnej žľazy. Anorexia, nefrolitiáza a infekcie močového traktu nie sú autoimunitnými chorobami.

16.7 C Deštrukcia pankreatických β buniek redukuje produkciu inzulínu. Ostatné zmienené tkanivá nie sú cieľom autoimunitného útoku, hoci mu môžu byť vystavené, vrámci sekundárneho poškodenia, ak primárne ochorenie nie je dostatočne liečené a kontrolované.

16.8 E Gravesova choroba je následkom autoimunitného ochorenia smerujúceho proti štítnej žľaze a nie proti iným tkanivám alebo orgánom

16.9 B Gravesova choroba je autoimunitné ochorenie, ktoré súvisí s prítomnosťou HLA-DR3 génu. Nesúvisí s HLA-B27, -DR2, -DR4 alebo Cw6. Nie je následkom imunodeficitu.

16.10 C Sclerosis multiplex je autoimunitné ochorenie, ktoré má za následok demyelinizáciu vrámci CNS. Ankylosujúca spondylitída a reaktívna artritída postihuje kĺby, Hashimotova thyreoiditída zahŕňa štítnu žľazu a SLE je systémová choroba, ktorá primárne postihuje kĺby, svaly, kožu a obličky.

16.11 A Ankylozujúca spondylitída je autoimunitné ochorenie, pri ktorom je viac ako 90% pacientov nosičom HLA-B27 génu. Autoimunitná odpoveď nie je nasmerovaná na nukleové kyseliny alebo receptory acetylcholínu. Nie je to ani imunodeficit.

16.12 E Systémový lupus erythematoses je následkom vytvorenia autoprotílátok proti chromozomálnym proteínom (a nukleovým kyselinám). Súvisí s prítomnosťou HLA-DR3, ale nie -B27 alebo -DR4. Myastenia gravis je následkom autoprotílátok proti acetylcholinovým receptorom na svalových bunkách. Reiterov syndrom a reumatoidná artritída sú nasmerované proti kĺbom. Štítna žľaza nie je cieľom antinukleárných protílátok.

16.13 A Reumatoidná artrída zahŕňa poškodenie spôsobené protilátkami súvisiacimi s hypersenzitivitou III.typu a bunkovou hypersenzitivitou IV.typu. Nezahŕňa hypersenzitivitu II.typu alebo IgE (hypersenzitivitu I.typu) odpoveď. Je následkom straty autotolerancie.

16.14 B Časový interval je ako pri akútnej reakcii odhojenia transplantovaného orgánu a nie pre chronické alebo hyperakútne odhojenie. Neexistujú informácie, ktoré by ukazovali na autoimunitu. Periférna tolerancia je mechanizmom prevencie odpovede na autoantigény.

16.15 D Crohnova choroba postihuje predovšetkým tenké črevo., nie pojivové tkanivo, erytrocyty, pankreatické bunky alebo štítnu žľazu.

17. Transplantačná imunológia

18. Terapeutické ovplyvnenie imunity

19. Immunita nádorov

I. Prehľad

Rast buniek a bunková smrť sú obvykle vyvážené. Príležitostne sa vyskytnú bunky, ktoré nereagujú na impulzy a reguláciu týkajúce sa delenia a smrti. Takými sú nádorové bunky. Vývoj od normálnej bunky po nádorovú vyžaduje viacero transformačných krokov.

Transformované nádorové bunky majú charakteristické povrchové antigény a tieto často

iniciujú imunitnú odpoveď. Terapeutické prístupy, ktoré sa snažia zaznamenať tieto fyziologické odpovede na nádory, sú stále predmetom skúmania.

II. Rakovina

Nádor alebo **neoplazia** je súbor buniek jedného klonu, ktorých rast prestal byť kontrolovaný. Keď nádor pokračuje v raste a vracia sa do zdravého tkaniva, je považovaný za **rakovinu**.

A. Terminológia a definície

Malígne nádory sa odlišujú od benígnych ich progresívnym rastom a inváziou.

Metastazovanie je charakteristické pre mnohé malígne nádory (karcinómy). Metastatické bunky sa premiestňujú z miesta hlavného nádora, prenikajú do krvných alebo lymfatických ciev a cestujú do iných tkanív, kde pokračuje ich rast a invázia. Týmto spôsobom nádory na jednom mieste (primárny nádor) môžu vytvoriť nádory na inom mieste (sekundárny nádor) (Obr. 19.1).

Klasifikácia nádorov je založená na embryonálnom pôvode tkaniva z ktorého sú malígne bunky odvodené. Karcinómy sú odvodené z endodermálneho alebo ektodermálneho tkaniva (napr. kože, žliaz) a vytvárajú väčšinu malígnych nádorov, vrátane rakoviny prsníka, čreva a pľúc. Sarkómy sa vyvíjajú z kostného tkaniva alebo chrupavky a vyskytujú sa menej často ako karcinómy. Lekukémia je výskyt malígnych buniek hematopoetickej línie, ktoré proliferujú ako samostatné bunky, zatiaľ čo lymfómy vznikajú tiež z malígnej hematopoetickej bunky, ale rastú ako solídne nádory..

B. Malígna transformácia

Experimenty s kultúrami buniek umožnili vedcom vystopovať vývoj nádorov. Bunky, ktoré sú infikované niektorými vírusmi, ožarované alebo ovplyvnené DNA – meniacimi chemickými látkami majú zmenené rastové vlastnosti a často indukujú nádory, ak sú injikované do zvierat (obr. 19.2). Takto transformované bunky môžu rásť v kultúrach takmer neohraničene. V niektorých prípadoch, keď retrovírusy (RNA vírusy) indukujú takého rastové zmeny, proces súvisí s prítomnosťou **onkogénov** vo víruse.. Zmeny z normálnej bunky na nádorovú bunku sa zahŕňajú pod termín **nádorová transformácia**. Proces malígnej transformácie zahŕňa minimálne 2 samostatné fázy. Prvá fáza je iniciácia, ktorá zmení genóm bunky., druhá je stimulácia, ktorá má za následok podporu bunkového delenia.

C. Nádory imunitného systému

Leukémie a lymfómy sú nádory imunitných buniek. Lymfómy sú solídne nádory v lymfoidnom tkanive akým je tkanivo kostnej drene alebo lymfatických uzlín. Hodgkinov a non-Hodgkinov lymfóm sú ich príkladom. Leukémie sú zložené z roztrúsených samostatných buniek, ktoré vyrastajú z kostnej drene a môžu sa týkať buď lymfoidných alebo myeloidných línií. Akútne leukémie vznikajú z menej zrelých buniek a nachádzame ich u detí aj dospelých. Chronické leukémie sú nádory zo zrelších buniek, vyvíjajú sa pomaly a vidíme ich len u dospelých.

D. Onkogény a bunkový rast

V niektorých prípadoch malígna transformácia indukovaná retrovírusmi (alebo RNA vírusmi) súvisela s prítomnosťou rakovinu spôsobujúcich génov **onkogénov** alebo rakovinu spôsobujúcich génov v retrovíruse. Vírusový onkogén, Src (v-Src) z vírusu Rousovho sarkómu je príkladom takéhoto typu génu. Vsunutím tohto vírusu do kultúry normálnych buniek má za následok malígnu transformáciu. Bunky majú gény, ktoré sa nazývajú protoonkogény alebo bunkové onkogény, ktoré sú súčasťou retrovírusových onkogénov. Zmena bunkového protoonkogénu (napr. c-Src) na onkogén (napr. v-Src) môže vzniknúť pri mutácii. Takáto zmena je obvykle sprevádzaná zmenou v bunkovom rastie pretože bunkové onkogény normálne kódujú proteíny rastovej kontroly.

1. Stimulátory bunkového delenia

Onkogény, ktoré fungujú ako stimulátory bunkového delenia zahŕňajú tie, ktoré kódujú rastové faktory a receptory rastových faktorov. Onkogény môžu kódovať proteíny týkajúce sa signalizačných dráh, predovšetkým tyrozínovej fosforylácie a tých, ktoré fungujú ako transkripčné faktory. Zvýšená aktivita proteínov kódovaných onkogénmi v tejto kategórii, môže mať za následok nekontrolovanú bunkovú proliferáciu. Príkladmi sú *sis*, ktorý kóduje reťazec rastový faktor odvodený z platničiek, *erb-b* ktorý kóduje receptor epidermálneho rastového faktora (tab. 19.1) *Src* a *Abl*, v ich protoonkogénnej (celulárnej) forme kódujú tyrozín kinázy, ktoré regulujú bunkové delenie.

Vo svojej onkogénnej podobe, sa regulačná funkcia týchto proteínov stratila a ovplyvnené bunky sa budú neregulovateľne rozmnožovať. Ras kódujú GTP viažúci proteín, kontinuálna stimulácia delenia sa vyskytuje, keď onkogénna forma Ras zostáva aktívna. Transkripčné faktory sú kódované *fos*, *jun*, a *abl* onkogénmi.

2. Tumor supresorické gény: **Gény potláčajúce nádory**: Onkogény, ktoré sú inhibítormi bunkového delenia a niekedy sa o nich hovorí ako o *anti-onkogénoch* ako gény potláčajúce nádory.. Keď je nádorový supresor inaktivovaný prostredníctvom mutácie, schopnosť suprimovať bunkový rast sa stratí a nekontrolovateľná proliferácia sa môže spustiť. Mutované formy supresora nádorov *p53* sa našli v mnohých ľudských nádorových bunkách. Mutácia nádorového supresora *Rb* môže viesť k vývoju maligných retinálnych tumorov u detí s hereditárnym retinoblastomom.

3. Regulátory apoptózy: Tretou kategóriou génov súvisiacich s rakovinou sú tie, ktoré regulujú apoptózu. Niektoré z génov tejto skupiny pôsobia v prevencii programovej bunkovej smrti, zatiaľ čo iné ju indukujú. *Bcl-2* je anti-apoptotický onkogén objavený v B bunkovom folikulárnom lymfóme (*B* cell follicular lymphoma). Normálne reguluje prežívanie buniek niektorých lymfocytov počas ich vývoja. Ak sú *Bcl-2* vyjadrené zle, bunka, ktorá normálne má zomrieť apoptotickou smrťou prežije, čo má za následok neregulovanú proliferáciu bunky. Jeden z viacerých proteínov súvisiacich s *Bcl-2* podporujúcim prežívanie je *Bax*, ktorý je pro-apoptotický. Pomer *Bcl-2* a *Bax* proteínov v bunke určujú, či táto bunka prežije alebo podstúpi programovú smrť.

D. Nádorové bunky majú na povrchu antigény, ktoré sú často cieľom imunitnej reakcie. Mnohé nádorové antigény sú bunkové peptidy prezentované MHC molekulami, ktoré stimulujú proliferáciu antigén-špecifickej T bunky (Tabuľka 19.2). Niektoré antigénne molekuly na nádorových bunkách sú variantou normálnych proteínov, ktoré vznikli z mutácie génu kódujúceho proteín. Iné sú normálne prítomné len na bunkách v určitom vývojovom štádiu alebo v určitej vývojovej línii a sú antigénne, ak sa prejavujú mimo obvyklého kontextu. A ďalšie nádorové antigény sú jednoduché molekuly nachádzajúce sa vo vyššej ako normálnej koncentrácii na nádorových bunkách a ďalšie ešte sú proteíny kódované génmi jedinečnými pre nádory.

1. **Tumor špecifické transplantačné antigény (TSTA)**: TSTA sa nenachádzajú na normálnych somatických bunkách, ale sú následkom

mutácií na génoch a z toho vyplývajúcich zmenených proteínov, ktoré sú vyjadrené nádorovými bunkami. Identifikácia TSTA na prirodzene sa vyskytujúcich nádoroch je ťažká, najskôr preto, že imunitný odpoveď obvykle eliminuje bunky s TSTA v hladinách dosť vysokých na to, aby boli antigénne. Ale TSTA boli identifikované na nádoroch indukovaných v kultúre vírusovou transformáciou alebo alebo liečbou kancerogénnymi chemickými látkami. Ak sa podá do syngeneickej myši, TSTA (vygeneruje) bunkami sprostredkované imunitné reakcie, ktoré naúádzajú nádorové bunky (19.3).

2. **Tumor asociované transplantačné antigény (TATA):** TATA nie sú jedinečné pre nádorové bunky, skôr je na nádorových bunkách pozmenená ich expresia. Napríklad nádorový antigén sa môže nachádzať v nadmernom množstve alebo na type bunky, kde by sa normálne nemal nájsť. Bunky ľudského karcinomu prsu často majú vysoký stupeň receptorov pre rastový faktor *Neu*, ktorý sa nachádza v malých koncentráciách aj na normálnych bunkách (Tab. 19.2). NAGE-1, BAGE a GAGE-2 sú príkladmi onkofetálnych antigénov, pretože sa nachádzajú na nádorových bunkách a na normálnych fetálnych bunkách. Po fetálnom vývojovom období, normálne diferencované bunky neexprimujú tieto onkofetálne antigény, s výnimkou zárodočných buniek testis. Avšak onkofetálne antigény sa ukazujú na ľudských melanomoch, gliomoch a karcinomoch prsu. Ďalší onkofetálny antigén alfa-fetoproteín, sa nachádza v bunkách fetálnej pečene a v bunkách karcinómu pečene (a v sére pacientov s Ca pečene). Iné nádorové bunky môžu exprimovať vyššie ako normálne hladiny špecifických tkanivových molekúl (napr. MART-1 a gp75 sú mimoriadne exprimované bunkami melanómu), zatiaľ čo ostatné nádorové bunky exprimujú aberantné formy takýchto molekúl. Príkladom je MUC-1, glykosylovaný (karbohydráty obsahujúci) mucín, ktorý sa nachádza so zníženou glykosyláciou na pankreatických nádoroch. Znížené hladiny karbohydrátov môžu odhaliť skryté MUC-1 epitopy.

IV. Imunologický dohľad

Teória imunologického dohľadu predpokladá, že nádorové bunky vznikajú v tele, ale normálne sú eliminované skôr ako sa dostatočne rozmnožia a stanú sa klinicky detekovateľné. Rovnako, prácou účinného imunitného systému, ktorý hliadkuje v tele a zvyšuje odpovede namierené proti abnormálnym bunkám, najviac zmenené bunky sa nikdy nestanú skutočnými karcinómami (Obr. 19.4) Dôkazy podporujúce teóriu imunitného dohľadu sú založené na správach od imunosuprimovaných a imunodeficitných osôb, ktorí majú vyššiu incidencia nádorov.

a. Vrodená

Prvá línia imunitnej obrany proti nádorom sa týka menej špecifickej časti imunitných odpovedí, vrodenej imunity. Tieto mechanizmy prdchádzajú šíreniu malignity a nie sú špecifické pre určité nádorové antigény, ale rozpoznávajú široké charakteristiky nádorových buniek.

4. NK bunky: NK bunky majú obmedzenú schopnosť odlišiť nádorové

bunky a normálne bunky. NK rozpoznanie cieľových buniek sa uskutočňuje cestou KAR a KIR (Kapitola 5). KIR eceptory rozoznávajú ľudské molekuly MHC I: HLA-B a HLA-C. Iný inhibičný NK receptor CD94, rozpoznáva inú molekulu MHC I (HLA-E). Keď sú zapojené HLA naviazaním na svoje uhl'ovodíkové ligandy na cieľových bunkách, signál „zabiť“ na NK bunke je aktivovaný (obr. 19.5). Ale, ak sú KIR receptory zapojené naviazaním ligandov na cieľovej bunky, signál „nezabíjať“ sa dostane do NK bunky a cieľová bunka prežije. Zlyhaním zapojenia KIR má za následok NK bunkou navodená lýza cieľovej bunky. Keď je vyjadrenie MHC I molekúl na povrchoch buniek abnormálne nízke ako pri niektorých malígnych bunkách, KIR nemusia rozpoznať ligandy na cieľových (malígnych) bunkách a môžu ich zničiť. V niektorých prípadoch Fc receptory na NK bunkách sa môžu viazať na protilátky prítomné na nádorových bunkách (produkovaných ako časť špecifickej odpovede proti nádorovým bunkám) , čo vedie k ADCC.

NK bunky, ktoré sú indukované, aby funkčne napádali maligné bunky, sú niekedy nazývané LAK – **lymfokín aktivované zabíjčské bunky**. Tieto bunky sú vytvorené v prítomnosti vysokých koncentrácií interleukínu 2 a sú schopné zabíjať čerstvé nádorové bunky. TIL – **tumor infiltrujúce lymfocyty** sú T lymfocyty, často CD8+ CTL. Môžu zahŕňať aj niektoré CD4⁺T bunky a NKT bunky. Terapeutická stratégia proti malignému melanomu zahŕňa získanie tumor špecifických TILymfocytov z biopsie nádoru a expandujúce bunky stimuláciou interleukínom 2. Tieto bunky sú potom inhikované späť do pacienta. V niektorých prípadoch bola pozorovaná čiastočná regresia nádorov.

5. **Cytokíny:** Cytokíny s protinádorovou aktivitou sú secernované makrofágmi, ktoré sú často nájdené v blízkosti nádorov (Obr. 19.6). **Tumor necrosis factor** (TNF) je takým protinádorovým cytokínom. Ak sa podá zvieratám s nádorom, THF- α a TNF- β môžu stimulovať nekrózu nádorových buniek. TNF – α inhibuje aj angiogénu, rast nových krvných ciev znižovaním toku krvi do nádora. **Interferóny** sú ďalšou skupinou cytokínov s protinádorovou aktivitou. IFN- α , β , a γ , ako sa ukázalo zvyšujú expresiu MHC I na nádorových bunkách (čo často ovplyvní zníženie expresie MHC I, čím sa umožní ich únik pred imunitnou reakciou). Zvyšovanie expresie MHC I molekúl môže zvýšiť citlivosť nádorových buniek na CTL. IFN γ môže priamo inhibovať proliferáciu nádorových buniek.

b. Získaná imunita

Špecifické antigén dependentné imunitné odpovede môžu smerovať proti antigénom, ktoré sú prítomné na nádorových bunkách. Hoci nie sú vždy účinné pri zastavení progresie nádora, existujú dôkazy, že humorálna aj CMI odpoveď môžu byť indukované ako odpoveď na prítomnosť malígnych buniek (obr. 19.7).

- **Protilátky** sú vytvorené proti niektorým nádorovým špecifickým antigénom prítomným na povrchu maligných buniek
- **CTL** môžu niekedy zabíjať nádorové bunky priamym kontaktom
- **DTH** môže zahŕňať Th1 bunky, ktoré aktivujú makrofágy a tie napádajú a zabíjajú nádorové bunky.

V. Únik imunitným mechanizmom

Hoci vrodené aj získané imunitné mechanizmy sú vyprovokované prítomnosťou maligných buniek, nádorové bunky často unikajú imunitnému systému a vytvoria nádor a ochorenia, ktoré sú často fatálne. Niektoré mechanizmy, ktoré uľahčujú únik nádorových buniek pred imunitnou odpoveďou, boli identifikované:

A. Protilátkami podporovaný rast nádorov.

Pretože pokusy imunizovať pacientov injekciou špecifických protilátok, ktoré boli vytvorené v kultúrach proti ich nádorovým bunkám často vyústili do stimulácie nádorového rastu, boli iniciované štúdie, ktoré skúmali mechanizmy protilátkami navodený nádorový rast. Protilátky proti nádoru sa môžu viazať na antigény na nádorových bunkách, čím sa maskujú antigény a blokujú schopnosť CTL buniek viazať a zabíjať nádorovú bunku. Protilátky viazané na nádorový antigén môžu inhibovať preventívnu väzbu Fc receptorov na makrofágoch a dendritových bunkách (fagocytóza) a NK bunkách.

B. Protilátkami modulované nádorové antigény

V prítomnosti protilátok navodených proti nádorovým antigénom je možné zaznamenať potlačenie expresie niektorých nádorových špecifických antigénov. Pri procese známom ako antigénna modulácia, antigény zmiznú na určitý čas a potom sa znovu objavajú, keď sú protilátky eliminované. Bunky, ktoré nevyjadrujú antigén nebudú viac cieľom iných reakcií získanej molekuly (Obr. 19.8).

C. Modulácia MHC I expresie

Nádorové bunky často exprimujú len redukované hladiny MHC I molekuly. Maligná transformácia môže vyústiť do redukcie alebo totálnej straty MHC I molekuly transformovanými bunkami. Ak nádorové bunky exprimujú znížené množstvá MHC I, NK bunky odpoveď na ne môže byť zvýšená, zatiaľ čo CTL – odpoveď proti týmto nádorovým bunkám je znížená (Obr. 19.9)

VI. Imunoterapia maligných nádorov

Imunoterapia rakoviny je založená na podpore prirodzených imunitných reakcií, ktoré telo vytvára proti maligným bunkám

A. Terapia cytokínmi

Interleukíny a interferóny boli používané na zlepšenie imunitnej odpovede na nádory. Pretože systémové podanie týchto cytokínov môže byť nebezpečné, vyžaduje sa lokálna aplikácia, čo komplikuje liečebný protokol. Hoci sa terapeutický prospech niekedy dosiahne pri cytokínovej terapii, ďalší výskum a vylepšenie protokolov bude potrebné predtým ako sa použijú v širokom rozsahu a ďalší prospech snáď príde z takéhoto prístupu (obr. 19.10A)

B. Monoklonálne protilátky

Anti idiotypové monoklonálne protilátky sa používajú na liečbu B lymfómov (Obr. 19.10B). Avšak prístup je komplikovaný a vyžaduje protilátky proti individuálnym nádorom každého pacienta, čo je nákladné. Preto to nie je praktické ani účinné pre všeobecné použitie. Všeobecnejším prístupom je vyprodukovať monoklonálne protilátky proti determinantám, ktoré sú spoločné všetkým B lymfómom. Použitie monoklonálnych protilátok na doručenie toxínu alebo radioizotopu priamo do nádorových buniek pričom sa obídu zdravé bunky, je sľubným prístupom. Monoklonálne protilátky sa vyvíjajú aj proti niektorým receptorom rastových faktorov bežne exprimovaným niektorými nádormi.

C. Vakcíny proti nádorom

Vývoj vakcín na ochranu proti budúcemu vývoju nádorov je významný a mimoriadne prospešný. Identifikácia vírusov zodpovedných za malígnu transplantáciu (ako napríklad HPV – ľudský papilomavírus pri cervikálnom karcinome) uľahčuje vývoj imunizačného

protokolu v prevencii infekcie vírusu, čím dôjde k prevencii vývoja cervikálneho karcinomu. Vyvíjajú sa vakcíny na prevenciu rakoviny u pacientov s melanómom, čo je život ohrozujúci veľmi nebezpečný Ca, alebo obličkový karcinóm. Pri melanome boli TSTA identifikované ako veľmi podobné u všetkých pacientov, a vakcína ktorá je vo vývoji je založená na spoločnom TSTA.

Bežné vakcíny sa vyvíjajú aj za použitia pacientových vlastných nádorových buniek a sú podávané pacientovi po chirurgickom odstránení nádora. Takéto vakcíny sú určené na stimulovanie imunitnej odpovede proti malígnym bunkám, ktoré mohli zostať v tele. Sľubné výsledky boli získané z viacerých klinických štúdií.

Súhrn

- Nádorové bunky majú nekontrolovateľnú rýchlosť bunkového rastu a napádajú zdravé tkanivo.
 - **Metastáza** je charakteristická pre mnohé malígne bunky, čo je ich premiestnenie z miesta hlavného nádoru na vzdialené miesto v tele
 - **Lymfómy a leukémie** sú nádory imunitných buniek, ktoré sú odvodené od hematopoetických buniek. Lymfómy sú solídne nádory, zatiaľ čo leukémie rastú ako roztrúsené samostatné malígne bunky
 - **Malígna transformácia** je proces pri ktorom normálna bunka sa zmení na nádorovú, rakovinovú
 - **Onkogény** sú niekedy spojené s malígnou transformáciou. Mutácie bunkových onkogénov často ústia do zmeny bunkového rastu.
 - **Nádorové antigény** sú TSTA, ktoré vznikli zo zmenených proteínov vyjadrených ako následok génových mutácií v nádorových bunkách a a TATA, ktoré nie sú jedinečné pre nádorové bunky, ale majú nezvyčajný výskyt na nádorovej bunke
 - **Teória imunitného dohľadu** predpokladá, že nádorové bunky vznikajú často v tele, ale sú za normálnych okolností eliminované imunitným systémom skôr ako sa vyvinie nádor.
 - Vrodená imunitná odpoveď proti nádorom zahŕňa zabitie nádorových buniek NK bunkami a makrofágmi produkciou protinádorovými cytokínmi. Vrátane TNF a interferónov
 - Získané imunitné reakcie proti nádorom zahŕňajú vytvorenie protinádorových protilátok, CTL ničenie nádorových buniek a DTH reakciu.
-
- Uniknutie imunitným reakciám uľahčuje nádorovým bunkám prežitie malígnych buniek. Protinádorové protilátky môžu zlepšovať rast niektorých nádorov amôže to ústiť do poklesu detekcie niektorých nádorových antigénov. Navyše nádorové bunky často majú nižšiu ako normálnu hladinu MHC I molekúl, čo pomáha nádorom uniknúť pred zaznamenaním imunitou
 - Imunoterapia nádorov je nasmerovaná na zvýšenie imunitnej odpovede proti rakovinovým bunkám. Cytokíny a monoklonálne protilátky dokázali, že majú určitý obmedzený účinok pri liečbe niektorých karcinomov. Očkovanie, ktoré môže znamenať prevenciu vývoj určitého typu rakoviny alebo inhibovať návrat nádora

Obrázky

19.1 Metastázy. Nádorové bunky sa môžu uvoľniť z primárneho nádora a cestovať riečiskom na iné miesto a vytvoriť metastatický nádor.

19.2 Malígna transformácia. Transfekcia alebo ožarovanie kultúr normálnych buniek ich zmení takým spôsobom, že budú indukovať tvorbu nádorov, po injekcii ich suspenzie do experimentálneho zvieratá

19.3 Identifikácia TSTA. Transformované bunky injikované syngeneickej myši niekedy indukujú tvorbu nádora, ale niekedy nie. Ak sa vytvorí netumorigénna línia (nádor je odvrhnutý) a CD8⁺ CTL sa zozbierajú od zvieratá, takéto CTL bunky môžu rozpoznať TSTA nesúce nádorové bunky.

19.4 Imunologický dohľad. Imunitný systém je dozorcom, ktorý vyhľadáva abnormálne bunky, často zastaví rast malígnych buniek skôr ako sa vytvorí nádor. Len tie malígne bunky, ktoré unikli detekcii imunitným systémom sa stanú klinickými nádormi.

19.5 NK rozpoznanie cieľov na nádorovej bunke. Transformované bunky môžu mať menej MHC I molekúl na bunke a vyjadrujú stresové molekuly, ktoré sú rozpoznané KAReceptormi na NK bunkách, čo dovoľuje NK bunke zabiť takúto cieľovú bunku. Znížený počet MHC I expresií znižuje počet NK-KIR väzieb, čo dovoľuje zabíjanie cieľovej bunky

19.6 Cytokíny s protinádorovou aktivitou. Aktivované makrofágy uvoľňujú TNF- α a TNF- β , čo indukuje nekrozu nádorových buniek a aj uvoľnenie IFN- α , - β , - γ , čo zas zvyšuje sekréciu MHC I nádorových molekúl na nádorovej bunke, čím sa stávajú cieľom pre CTL zabíjanie)

19.7 Získané imunitné odpovede proti nádorovým bunkám. Humorálna ako aj bunková imunita sa vytvára proti nádorovým bunkám

19.8 Antigénna modulácia. Protilátky proti nádorovým antigénom môžu spôsobiť nádor a znížiť expresiu antigénov.

19.9 Znížená expresia nádorových MHC I môže zhoršiť rozpoznanie prostredníctvom CTL, ale zvýšiť rozpoznanie a zraniteľnosť NK bunkami.

19.10 Imunoterapia nádorov. A. Aplikácia exogénneho cytokínu môže zvýšiť imunitnú odpoveď na nádorové bunky. B. Monoklonálne protilátky vytvorené proti TSTA pacientových nádorových buniek, môžu byť „označené“ toxínom alebo radioaktívnym materiálom, čím sa umožní dodanie terapeutickú „záťažnú strely“ do nádora.

Otázky

19.1 Čo môžeme očakávať v bunke po expresii Src?

- A. Zvýšenú rýchlosť apoptózy
- B. Smrť pri nekróze
- C. Zvýšenú expresiu MHC I molekúl

- D. Stratu schopnosti sa deliť
- E. Neregulované bunkové delenie

19.2 Biopsia kostnej drene od pacienta s akútnou lymfocytovou leukémiou ukázala prítomnosť mutovanej formy p53 s leukemickými bunkami. Táto mutácia je pravdepodobne zodpovedná za ktorú z nasledujúcich situácií:

- A. zvýšený pomer Bax : Bcl 2
- B. zníženú aktivitu KIR funkcie NK buniek
- C. Nadmernú aktivitu GTP viažúcich proteínov
- D. Rast malígnych buniek vo forme solídneho nádoru
- E. Stratu supresie bunkového rastu

19.3 Ktoré z nasledujúcich konštatovaní je správne pokiaľ ide o TSTA:

- A. prítomné vo vysokých koncentráciách aj na normálnych somatických bunkách
- B. často sa nachádzajú na normálnych getálnych bunkách a na nádorových bunkách
- C. identifikované prirodzene na nádoroch
- D. sú následkom mutácie proteínov prítomných na nádorových bunkách
- E. stimulujú apoptózu na bunkách, ktoré ich majú na povrchu

19.4 Podľa teórie imunitného dohľadu

- A. protilátky vznikajúce počas fetálneho vývoja môžu zničiť nádory
- B. nádorové bunky zriedkavo vznikajú v normálnom organizme
- C. vrodená imunitná odpoveď eliminuje špecifické natigény nádorovej bunky
- D. Nádory vznikajú len ak malígne bunky uniknú imunitnému dozoru
- E. Nádor infiltrujúce lymfocyty zabraňujú vzniku malígnych transformácií

19.5 Ktoré z uvedených je cytokín známy pre protinádorové účinky

- A. epidermálny rastový faktor
- B. interferon γ
- C. interleukín 2
- D. interleukín 12
- E. od trombocytov odvodený rastový faktor

19.6 Lymfokínmi aktivované zabíjače (LAK bunky) nie je možné odlíšiť of

- A. B lymfocytov
- B. Makrofágov
- C. Malígnych somatických buniek
- D. NK buniek
- E. T lymfocytov

19.7 Ktoré z nasledujúcich poskytuje dôkaz o úniku nádorových buniek imunitnému dozoru

- A. znížená regulácia MHC I molekúl nádorovými bunkami
- B. zvýšená produkcia TNF (tumor necrosis factor)
- C. IFN- γ mediovaná inhibícia proliferácie nádorovej bunky
- D. Vytvorenie protilátok proti špecifickým nádorovým antigénom
- E. Stimulácia apoptózy nádorových buniek zvýšenou expresiou Bax

19.8 Nové metódy na redukovanie incidencie cervikálneho karcinomu zahŕňajú

- A. podávanie TNF do cervixu
- B. injekciu protilátok proti cervikálnym nádorom iných pacientov

- C. stimuláciu protilátkami sprostredkovanej lýzy buniek cervikálneho nádora
- D. použitie patientskych nádorových buniek na vytvorenie individualizovanej vakcíny
- E. očkovanie proti ľudskému papilomavírusu

Komentár

19.1.E Mutácia onkogénneho Src má za následok stratu regulačných funkcií tyrozín kinázy, ktorá normálne reguluje bunkové delenie. Src nereguluje bunkovú smrť apoptózou ani nekrozou, ani mutant SRC neindukuje zastavenie delenia. Zvýšená expresia MHC I by nesúvisí s mutáciou Src nádorovej bunky, nádorové bunky majú často znížené hladiny MHC I

19.2 E P53 je nádorový supresorický gén. Ak je mutovaný, supresorová aktivita sa stráca, čo má za následok neregulovaný bunkový rast. Vzostup pomeru Bax:Bcl podporí apoptózu a nie rast nádora, ktorý je možné vidieť pri mutantneom p53. P53 nemediuje KIR funkciu NK buniek. P53 je nádorový supresorový gén a nie GTP viažuci protein ako napr. Ras. Leukémia rastie nie ako solídny nádor ale ako dispersné jednotlivé malígne bunky.

19.3 D TSTA vzniká z mutovaných proteínov vyjadrených na nádorových bunkách. Mutácie génov v nádorových bunkách vedú k zmene proteínov na povrchoch nádorových buniek. TSTA sa nenachádzajú na normálnych somatických bunkách ani na normálnych fetálnych bunkách, ale sú jedinečné pre nádory. Hoci boli dokázané na experimentálne navodených nádoroch, identifikácia TSTA na prirodzene sa vyskytujúcich nádoroch sa ukázala veľmi náročnou. Stimulácia apoptózy nádorových buniek vyústi do eliminácie nádorových buniek a bude priatnivá pre pacientov s nádorom. Expresia TSTA ako sa zdá nestimuluje apoptózu

19.4 D Podľa teórie imunitného dozoru, nádory vznikajú len ak malígne bunky uniknú detekcii imunitným systémom. Táto teória predpokladá, že rakovinové bunky často vznikajú v tele ale sú normálne eliminované predtým ako sa stanú klinicky detekovateľné. Táto teória nepredpokladá, že vy protilátky kódované vrámci vývojovej línie boli vytvorené na zničenie nádorov. Vrodené imunitné odpovede proti nádorom sú založené na rôznorodých charakteristikách nádorov a nie na antigénoch špecifických nádorových buniek. Lymfocyty infiltrujúce nádor môžu indukovať regresiu nádora a neindukujú transformáciu normálnej bunky na rakovinovú.

19.5 B Interferóny α , β a γ , ako sa ukázalo, zvyšujú expresiu MHC I na nádorových bunkách a IFN γ inhibuje proliferáciu nádorovej bunky. Rastové faktory a ostatné cytokíny, ktoré sú vymenované majú stimulačný účinok na rast.

19.6 D LAK bunky sú NK bunky, ktoré sú vytvorené v mieste vysokej koncentrácie interleukínu 2 a sú schopné zabíjať včasné nádorové bunky. LAK bunky nie sú B ani T lymfocyty, ani nie sú makrofágmi. LAK bunky môžu zabíjať nádorové bunky a nie sú malígnymi somatickými bunkami.

19.7 A Znížená regulácia MHC I molekúl je obranným mechanizmom používaným mnohými nádorovými bunkami pri úniku pred rozpoznaním imunitným systémom. Iné uvedené mechanizmy popisujú imunitnú odpoveď iniciovanú proti nádorovým bunkám ktoré majú potenciál zastaviť nádorový rast. TNF a IFN γ sú produkované makrofágmi a inhibujú proliferáciu nádorových buniek. Protilátky nasmerované proti tumor-špecifickým antigénom sú časťou humorálnej imunitnej odpovede nasmerovanej na zastavenie nádorovej progresie.

Stimulácia apoptózy zvýšenou Bax expresiou slúži na elimináciu nádorových buniek a nie je preto mechanizmom na únik pre imunitnou odpoveďou.

19.8 E Vakcinácia proti HPV, kauzálnemu agensu pri rakovine cervixu, môže znížiť incidencia cervikálnej rakoviny. Ani podanie TNF ani injekcia protilátok proti cervikálnym nádorom iných pacientov sa nerobí na prevenciu výskytu Ca cervixu. U niektorých iných nádorov individualizované vakcíny sa používajú v klinických štúdiách. Ale takéto vakcíny vyžadujú, aby pacient mal nádor a preto nebudú znižovať incidencia určitého typu nádora.

20. Diagnostika imunitných funkcií