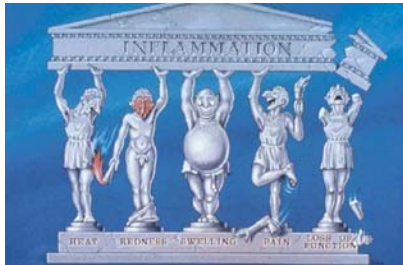


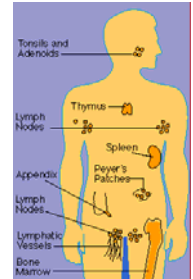
# Záněť

- reakce akutní fáze, cytokiny, chemokiny, tachykiny

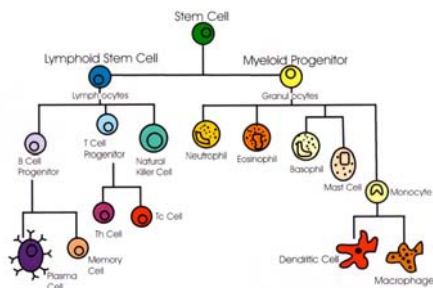


# Imunitní systém

- schopen rozpoznat "vlastní" od "cizího"
  - pojmy antigen x alergen x superantigen
- základní funkce
  - obranyschopnost
    - spolu se stresovou reakcí je typem odpovědi organismu na ohrožení
  - homeostáza
    - průběžné odstraňování starých a poškozených buněk s cílem udržet strukturální a funkční integritu
  - imunitní dohled nad replikací a reprodukcí
    - likvidace mutovaných buněk
- orgány a tkáně imunitního systému
  - kostní dřeň a periferní krev
  - tymus
  - slezina
  - lymf. uzliny
  - lymf. tkáň mimouzlinová (mucous-associated lymphatic tissue, MALT)
    - tonzily, Peyerské plaky, appendix...



# Buňky imunitního systému



# Složky imunitního systému

- podle způsobu rozpoznání antigenu:
  - nespecifické (vrozená)
  - specifické (získaná)
- podle angažovaného systému:
  - humorální
  - buněčné
- další kooperující systémy:
  - koagulační
  - fibrinolytický
  - cévní endotel
  - proteiny akutní fáze

	NESPECIFICKÉ	SPECIFICKÉ
fylogeneticky	starší	mladší
rychlost reakce	minuty	hodiny - dny
imunologická paměť	není	ano
angažované buňky	fagocyty, NK buňky	lymfocyty T a B
humorální faktory	komplement	protilátky
další pomocné systémy	koagulační kaskáda, fibrinolýza, endotel, destičky, proteiny akutní fáze (játra)	

	HUMORÁLNÍ	BUNĚČNÁ
výkonné mechanismy	komplement, protilátky	fagocyty, NK buňky, lymfocyty a jejich produkty (cytokiny, lymfokiny...)
obrana proti	extrac. bakteriím, toxinům, některým virům	virům, plísňím, nádorům, intracel. bakteriím

# Reakce imunitního systému

- fyziologické = záněť jako obranný fenomén
  - akutní záněť
    - soubor reakcí vaskularizovaných tkání na patogenní podnět různého charakteru (fyzikální nebo chemické tkáňové poškození, infekce, ...) jehož cílem je odstranění příčiny a znovuuštění integrity
- patologické = záněť jako autoagresivní fenomén
  - chronický záněť
    - nepřiměřeně velký nebo opakující se patologický podnět nebo neschopnost normální reakce při **imunodeficitu**
  - záněť jako důsledek imunopatologické reakce
    - alergie (atopie)**
    - autoimunita**
  - rejekce transplantované tkáně

# Fyziologická imunitní reakce

- cílem je eliminace cizorodého materiálu z organismu
- 3 fáze:
  - rozpoznání antigenu
  - amplifikace signálu
  - efektorová fáze (spolu se zpětnou regulací)
    - u některých stimulů se zánětlivá reakce omezuje převážně na reakce nespecifické imunity
    - pokud stimul antigenní, následuje specifická imunitní reakce
      - záleží na typu antigenu zda převáží humorální nebo buněčná odpověď
- rozsah poškození/množství antigenu, cesta vstupu, délka působení a celkový stav organismu rozhodují o tom, zda má reakce povahu
  - inaparentní
  - lokální
    - calor, rubor, dolor, tumor, functio laesa
  - celkovou
    - horečka, tachykardie, hyperventilace, únava, ztráta chuti k jídlu, metabolické a endokrinní změny

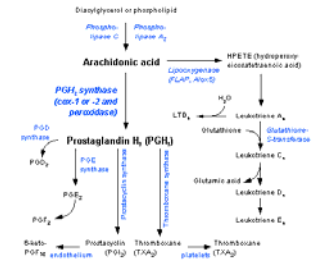
## Nespecifická imunitní reakce – akutní záněť

- zúčastněné buňky
  - endotel
  - destičky
  - koagulační kaskáda + fibrinolýza
  - PMN (neutrofilní granulocyty)
  - komplement
  - žírné buňky/basofily, eosinofily
  - monocyty/makrofágy
- zpětnovazebná regulace rozsahu odpovědi
  - inhibitory složek komplementu
  - antiproteázy ( $\alpha$ 1-antitrypsin,  $\alpha$ 2-makroglobulin)
  - antioxidační enzymy (SOD, kataláza, ..)
  - protizánětlivé cytokiny
  - fibrinolýza

7

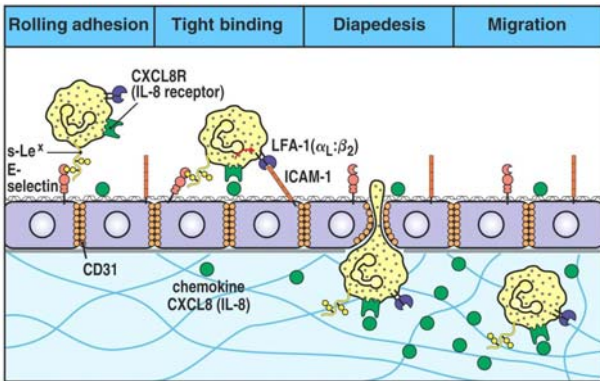
## Endotel a trombocyty

- endotel
  - ↑ tvorba NO inducibilní NOS
    - v reakci se superoxidem vzniká agresivní peroxynitrit
  - tvorba PGI<sub>2</sub> účinkem PLC a PLA<sub>2</sub> z arachidonové kys. z fosfolipidů membrán
  - endotelie zvyšují expresi adhezních molekul (E-selektin, integriny, ICAM, VCAM, PECAM)
    - zpočátku jen "kutálení" (rolling) PMN po stěně cévy
    - později pevná adheze a přestup do tkáně (extravazace)
  - tvorba antiagregačních a fibrinolytických faktorů
    - tPA, trombomodulinu
  - tvorba proagregačních faktorů
    - endothelin, PAF, vWF
- trombocyty
  - tvorba a uvolnění TXA<sub>2</sub>, serotonin, PAF, PAI, PDGF



8

## Aktivace endotelu



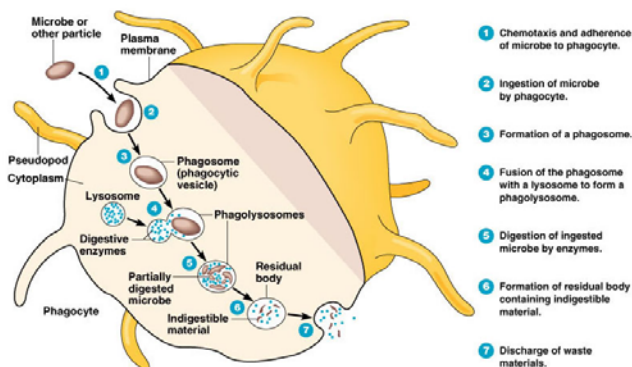
9

## PMN

- stoupá jejich počet (leukocytóza)
- diapedezou do tkání
- rozpoznávají antigen bez vazby na HLA
  - fagocytují → indukce metabolického vzplanutí (produkce ROS, RNS aj.)
    - superoxid tvořen NAD(P)H oxidázou → pomocí SOD na peroxid → kys. chlorná myeloperoxidázou
    - superoxid NAD(P)H oxidázou → pomocí SOD peroxid → hydroxylový radikál za přítomnosti Fe
  - sekrece proteolytických lysozomálních enzymů
  - aktivace PLC a PLA<sub>2</sub> → PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub>, LT
  - PMN produkují cytokiny
    - IL (1, 6, 8), TNF $\alpha$ , G-CSF, GM-CSF, interferon, PAF, aktivátor plazminogenu, LTA, ...

10

## Fagocytóza PMN



11

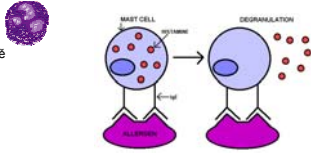
## Monocyty/makrofágy, NK-bb.

- fagocytují bez předchozího kontaktu s antigenem
- produkce cytokinů
- makrofágy fungují zároveň jako antigenprezentující bb. (APC)
  - přechod mezi nespec. a spec. imunitou

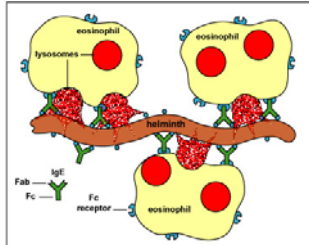
12

# Mastocyty, bazofily, eozinofily

- mastocyty (basofily)**
  - lokalizovány zejm. perivaskulárně v kůži a sliznicích
  - po stimulaci protilátkami (IgE), složkami komplementu, uvolňují obsah granúl:
    - histamin
    - serotonin
    - heparin
    - proteolytické enzymy
    - deriváty kys. arachidonové
    - cytokiny



- eozinofily**
  - uplatňují se zejm. u parazitických infekcí a alergií
  - omezená schopnost fagocytózy
  - uvolnění granúl – kationické proteiny (eosinophil peroxidase (EPO), major basic protein (MPO), eosinophil-derived neurotoxin (EDN)) - vazba na neg. povrchy poškozuje membrány, zvyšuje permeabilitu (např. u ARDS)



13

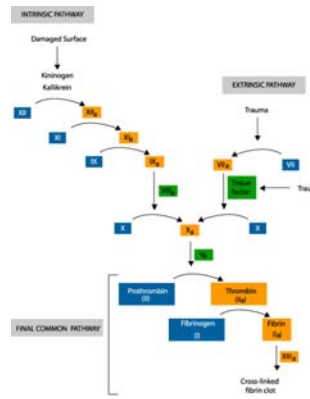
# Chemotaxe a její mediátory

- Chemotaxe**
  - řízený pohyb buněk ve směru koncentračního gradientu solubilních látek (chemotaktických faktorů, chemotaxinu, chemoatraktantů)
    - pozitivní nebo i negativní (proti gradientu)
  - i jiné látky než spec. chemotaxiny ovlivňují chemotaxi – složky extracelulární matric, adhezní molekuly, cytoskelet a některé LMW látky
- Původ chemotaxinu**
  - degranulaci z buněk
  - de novo produkce aktivovanými imunitními a endotelovými buňkami
- Typy chemotaktických faktorů**
  - oligopeptidy bakteriálního původu
  - cytokiny (chemokiny, interleukiny, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ): PMN a makrofágy
  - produkty komplementu (C5a)
  - kalikrein a bradykinin
  - AA deriváty - prostaglandiny, leukotrieny (zejm. z makrofágy)
  - tachykininy (substance P, neurokinin A, substance K, neuropeptid K, neuropeptid  $\gamma$ , neurokinin B)
  - VPF (vascular permeability factor)
- Funkce:**
  - chemotaxe – při zánětu, jiných imunitních reakcích, hojení ran
  - aktivace imunitních efektorových buněk
  - zvýšení cévní permeability
  - některé vazodilatace, bronchokonstrikce nebo zvýšení produkce hlenu



14

# Koagulační systém

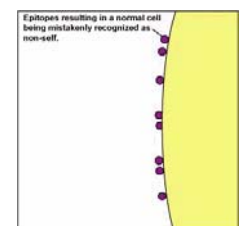


- při zánětu se uplatňují obě cesty aktivace
- $\uparrow$  kalikrein  $\rightarrow$  bradykinin  $\rightarrow$  vazodilatace

15

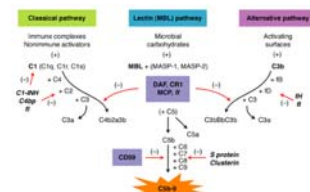
# Komplementový systém (KS)

- biochemická kaskáda více než 35 proteinů (přímo aktivních i regulačních), která vede k:
  - cytolyze
  - chemotaxi (C5a)
  - opsonizaci (označení patogenů pro fagocytózu) – C3b
  - anafylatoxiny (C3a) – aktivace mastocytů
- 3 cesty aktivace KS:
  - klasická
  - alternativní
  - lektinová cesta
    - zpočátku se komplement aktivuje alternativní cestou; později v přítomnosti protilátek i klasicky
    - meziprodukty působí vazodilatačně a chemotakticky na PMN
- později, za tvorby protilátek, i klasicky



16

# Aktivace KS



- všechny tři cesty vedou k tvorbě C3 konvertázy, která zahajuje cestu membránového útoku (membrane attack pathway) vedoucí k tvorbě MAC (membrane attack complex) zahrnující C5b, C6, C7, C8 a polymerní C9
  - MAC je cytotoxický konečný produkt KS, který vytváří transmembránový kanál, způsobující osmotickou lýzu cílové buňky
- **klasická cesta** začíná aktivací komplexu C1, buď vazbou C1q na komplex antigen-protilátka, nebo vazbou C1q na povrch patogenů
  - komplex C1 štěpí C2 a C4 na C2b a C4b, které se spoluvažou a vytváří C3-konvertázu
- **alternativní cesta** začíná hydrolyzou C3 přímo na povrchu patogenů
  - C3 se štěpí na C3a a C3b
  - některé C3b se vážou na patogen, a to na faktor B, tento komplex je potom štěpen faktorem D na Ba a na C3-konvertázu alternativní cesty, Bb
- **lektinová cesta** je homologní klasické cestě, ale za účasti opsoninu mannan-binding lectin (MBL), který natrazuje C1q
  - tato cesta je aktivována vazbou MBL na manozová rezidua na povrchu patogenů, který aktivuje serin proteázy asociované s MBL, MASP-1 a MASP-2 (MBL-associated serine proteases)
  - ty potom štěpí C4 a C2 na C4b a C2b, které opět tvoří C3-konvertázu jako u klasické cesty

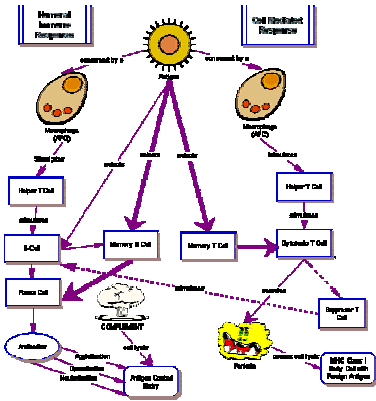
17

# Specifická imunitní reakce

- APC (makrofágy, dendritické buňky, ..)
- CD4+ regulační lymfocyty (Th)
- výkonné lymfocyty T (Tc, CD8+) a B ( $\rightarrow$  plazmocyty)
- protilátky
- cytokiny
  - interleukiny/TNF
  - interferony
  - chemokiny
  - růstové faktory
  - kolonie stimulující faktory

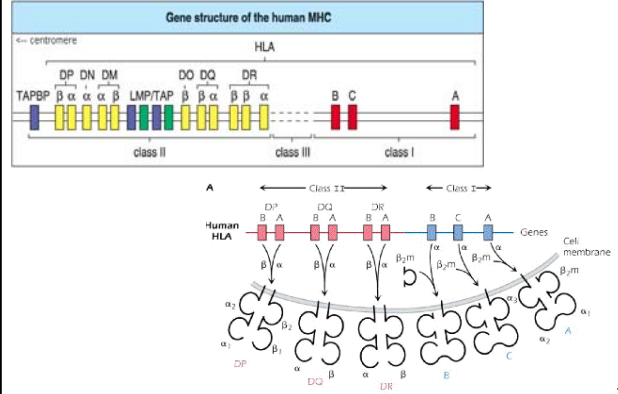
18

# Specifická imunitní reakce



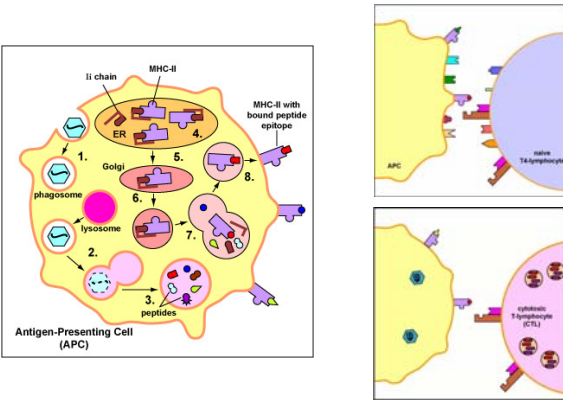
19

# MHC – 6. chromozom



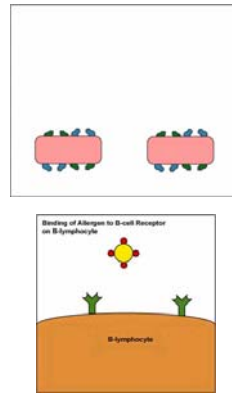
20

# APC – Th / APC - Tc kooperace



21

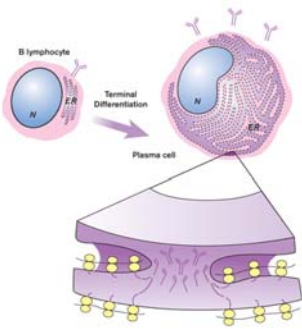
# Aktivace B-lymfocytů



- kontakt s antigenem + stimulace cytokiny z Th  
- IL-4!
- proliferace a diferenciace v plazmocyty
- produkce protilátek

22

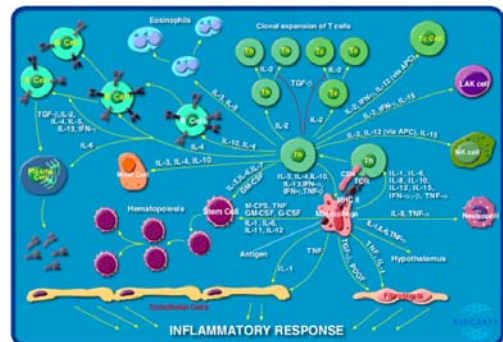
# Protilátky



- třídy  
- IgM, IgA, IgD, IgE, IgG
- neutralizace patogenů
- aktivace KS
- antibody dependant cell-mediated cytotoxicity (ADCC)  
- NK bb. se váží na Fc fragmenty Ig → perforiny & granzymy → kaspázy → apoptóza

23

# Spolupráce imunitních mechanismů při zánětu

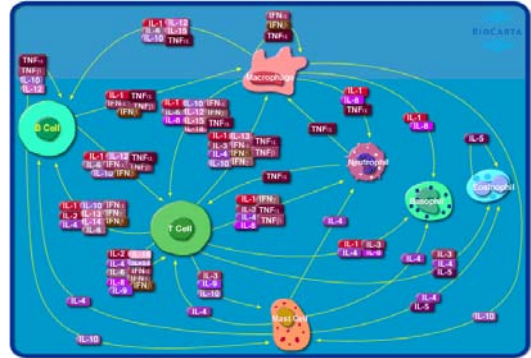


24

## Cytokiny

- variabilní skupina solubilních proteinů a peptidů ovlivňujících **imunitu, zánět a hematopoézu**
  - fungují v pM až nM koncentracích
- modulují funkční aktivity jednotlivých buněk a tkání za fyziologických a patofyziologických podmínek
  - buněčné dělení - působí jako růstové faktory (mitogenně nebo antimitogenně)
  - celulární „survival“ faktory (iniciují nebo naopak zabraňují apoptóze)
  - faktory transformační a diferenciační
- některé solubilní, jiné ve formě vázané na membrány
  - rovnováha mezi solubilními a membránovými formami zřejmě sama o sobě regulujícím faktorem
- téměř všechny jsou **pleiotropní**, tj. vykazují několikere biologické aktivity
  - cytokiny s mnohonásobnými účinky se často ve svých aktivitách přesahují a jednotlivé buňky vstupují do interakce s nimi zdánlivě identickým způsobem
- důležité modulatory během embryogeneze a organogeneze
- **nomenklatura** (názvy často podle buněčného původu nebo první objevené funkce):
  - interleukiny, lymfokiny (cytokiny produkované lymfocyty), monokiny (cytokiny produkované monocyty), chemokiny (cytokiny s chemotaktickými efekty), TNF rodina, interferony, růstové faktory, CSF aj.

25

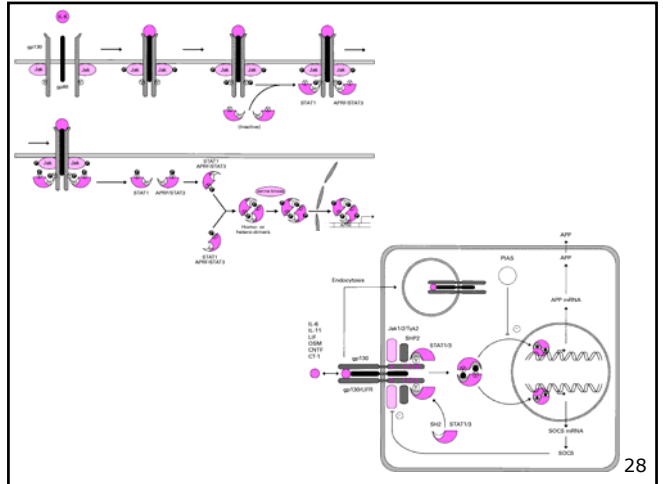


26

## Cytokiny – signální transdukcce

- vazba na transmembránové receptory
  - dimery, trimery, 7-tm-domain, ...
- nenavozují odpověď přímo - stimulují produkci transkripčních faktorů, které **kontrolují genovou expresi**
  - cytokin ve vazbě na receptor vyvolává expresi immediate early response genes (IEG, několik set)
  - genové produkty těchto genů se pak vážou na promotorové elementy tzv. delayed early response genes (DEG)
- cytokinové receptory
  - s tyrosinkinázovou aktivitou
    - IL-6, EGF, PDGF, CSF-1 etc.
  - se serinkinázovou aktivitou
    - TGF- $\beta$
  - bez vlastní kinázové aktivity
  - vázané s G-proteiny
    - chemokiny
- typické signální kaskády
  - JAK/STAT
  - ERK1/2
  - p38MAPK/NF $\kappa$ B

27



28

## Rozdíly mezi cytokiny a peptidovými hormony

- cytokiny působí na širší spektrum buněk než hormony
- cytokiny nejsou produkovány specializovanými buňkami organizovanými do specializovaných žláz
- cytokiny nejsou skladovány, ale produkovány až po stimulaci
- místa jejich sekrece primárně neurčují místo jejich cílového působení – působení para-, auto- i endokrinní

29

## Th1/Th2 cytokiny

- Th1 a Th2 cytokiny jsou produkovány různými subpopulacemi CD4+ Th-lymfoctů
  - Th1 podpora buněčnou imunitní odpověď
    - IL-2, IFN $\gamma$  (IL-18), TNF $\beta$
  - Th2 podporují vývoj B-buněk a sekreci protilátek
    - IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13
- nerovnováha mezi Th1 a Th2 odpovědí (částečně geneticky determinovaná) se podílí na etiopatogeneze alergických a autoimunitní nemocí

30

## Chemokiny

- rodina cytokinů s výraznými chemotaktickými účinky
  - induce chemotaxi
  - podpora zánětu - aktivace zánětlivých buněk
    - zejm. granulocytů a makrofágů s následným oxidativním vzplanutím, degranulací a uvolněním lyzozomálních enzymů
    - mocné uvolňovací faktory pro histamin z bazofilů
  - hemopoézy
  - angiogeneze
  - modulace nádorového růstu
  - účasť v patogeneze infekcí virem HIV
- malé molekuly (cca 8-10kDa)
- 20-50% sekvenční homologie, podobná genetická a terciární struktura
- množství cysteinových reziduí - tvorba intramolekulárních disulfidových vazeb (z tohoto vychází klasifikace chemokinů)
- 4 chemokinové rodiny - váží se na rozdílné receptory
  - $\alpha$ -chemokiny: **CXC** (IL-8, B-lymphocyte chemokine (BLC), ...)
  - $\beta$ -chemokiny: **CC** (monocyte chemoattractant protein (MCP), macrophage inflammatory protein (MIP), RANTES, .....
  - $\gamma$ -chemokiny: **C** (lymphotactin)
  - $\delta$ -chemokiny: **CX<sub>3</sub>C** (fractalkine)

31

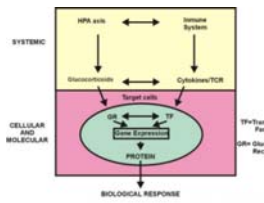
## Tachykiny

- generické jméno rodiny úzce příbuzných krátkých neuropeptidů, identifikovaných původně podle jejich funkce jako neurotransmitery
  - substance P, neurokinin A, substance K, neuropeptid K, neuropeptid  $\gamma$ , neurokinin B
- vznikají alternativním sestřihem tRNA z preprotachykininového genu (PTT) a různým posttranslačními úpravami
- receptor: G-coupled, 7-tm domén
- funkce:
  - neuromodulátory
  - regulace stresové odpovědi
  - modiátory bolesti
  - kontrola vasculárního tonusu
  - funkce podobné cytokinům
    - proliferace T-buněk
    - podpora uvolňování cytokinů
    - podpora sekrece Ig
    - modulace chemotaxe a fagocytózy

32

## Systémové projevy zánětu

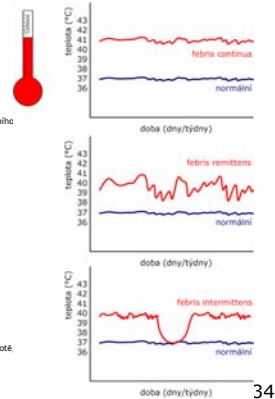
- vzestup tělesné teploty - horečka
- leukocytóza
- tachykardie
- hyperventilace
- únava
- nechutenství
- metabolické a endokrinní změny
  - $\uparrow$  glukoneogenza, proteinový katabolismus, ACTH, kortisol, glukagon, T4, aldosteron, vasopresin, Cu
  - $\downarrow$  albumin, Fe, Zn, transferin
- syntéza reaktantů (proteinů) akutní fáze



33

## Horečka (pyrexia)

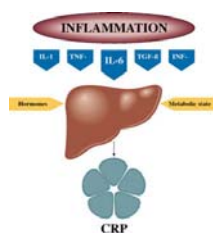
- teplota je regulována v hypotalamu
- pyrogeny
  - exogenní - lipopolysacharid (LPS) gramm-negativních bakterií
  - endogenní
    - cytokiny IL-1,  $\beta$ , TNF $\alpha$  produkované zejm. fagocyty
    - nekrózní debris
- patofyziologie
  - LPS se váže na cirkulující LPS-binding protein (LBP)
  - komplex LPS-LBP se váže na CD14 makrofágu a indukuje produkci a uvolnění endogenních pyrogenů
  - v mozku - paraventrálními járy hypotalamu - vazba na cytokinové receptory  $\rightarrow$  aktivace  $PLA_2$ ,  $COX-2$  a  $PGC$ , syntéza v AA pathway  $\rightarrow$  produkce  $PGE_2$  = hlavní mediátor horečky  $\rightarrow$  přenesení termoregulačního centra
  - CNS organizačně zajišťuje produkci tepla
    - řasová termogeneze ve svaloch
    - endokrinní odpověď (katecholaminy a hormony štítné žlázy)  $\rightarrow$  vyšší metabolický obrát
    - zábrana tepelným ztrátám perif. vazokonstrikce
    - netlesová termogeneze v tuk. tkáni????????
- stadia
  - stadium incrementi - do doby dosažení nového set-pointu
  - stadium acme - dosažena vyšší teplota - pokles tlesu a vazokonstrikce
  - stadium decrementi - po poklesu pyrogenů pokles teploty
    - rychlý (crisis) - s pocením
    - pomalý (lysis)
- stupně horečky
  - nízká (subfebrilie): 38 - 39 °C
  - střední: 39 - 40 °C
  - vyšoká: > 40 °C
  - hyperpyrexie: > 42 °C
- některé typické typy
  - febris continua (denní fluktuace < 1°C)
  - febris remittens (denní fluktuace > 1°C)
  - febris intermittens (periody normální teploty a horečky)
- fyzilogický smysl horečky
  - nejasný, růst některých mikroorganizmů může být poštěn při vyšší teplotě
  - intenzivní metabolizmus napomáhá efektivitě imunitního systému



34

## Reaktanty akutní fáze (RAF)

- syntetizovány v játrech jako odpověď na zánětlivou reakci
  - celková odpověď na stimulaci cytokiny (zejm. IL-1, IL-6, IL-11 a TNF- $\alpha$ )
- C-reaktivní protein (CRP)
  - pentamer, štěpen PMN enzymy na fragmenty s opsonizační a chemotaktickou aktivitou
- serum amyloid A protein (SAA)
- orosomucoid
- inhibitory proteáz
  - $\alpha$ 1-antitrypsin,  $\alpha$ 1-antichymotrypsin,  $\alpha$ 2-makroglobulin
- některé koagulační faktory
  - fibrinogen, protrombin, FVIII, plasminogen
- transportní proteiny
  - haptoglobin, hemopexin, feritin
- složky komplementového systému
  - C3



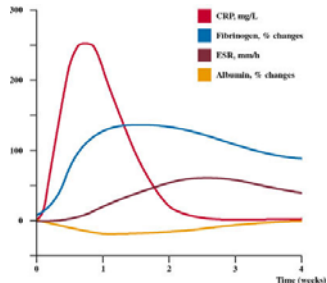
35

## Dynamika reakcí akutní fáze

Funkce	Protein akutní fáze	Nárůst v průběhu
Inhibitory proteáz	$\alpha$ <sub>1</sub> -antitrypsin $\alpha$ <sub>1</sub> -antichymotrypsin	4 x 6 x
Koagulační proteiny (serin proteinázy)	fibrinogen prothrombin factor VIII plasminogen	8 x
Složky komplementu	C1s C2b C3, C4, C5 C9 C5b	2 x
Transportní proteiny	haptoglobin hemopexin feritin	8 x 2 x 4 x
Scavengerové proteiny	ceruloplasmin	4 x
Různé	$\alpha$ <sub>1</sub> -kyselý glykoprotein (orosomukoid) serum amyloid A protein C-reactive protein	4 x 1000 x 1000 x

36

## Typické změny hladin CRP, fibrinogenu, ESR (erythrocyte sedimentation rate) a albuminu během reakce akutní fáze



37

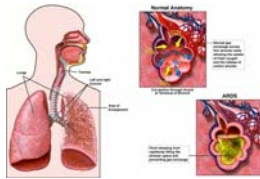
## Inhibitory proteáz

- $\alpha$ 1-antitrypsin
  - inhibitor serin-proteáz (serpin) → chrání tkáně před enzymy uvolňovanými zánětlivými buňkami, zvláště elastázami
  - inaktivuje enzymy kovalentní vazbou, což vyžaduje vysoké koncentrace
    - v podmínkách akutní fáze je nutné další zvýšení, které omezí případné poškození tkáně způsobené aktivovanými leukocyty, konkrétně jejich enzymem elastázou, která štěpí elastin pojivové tkáně
  - účast na rozvoji nemocí
    - deficit  $\alpha$ 1AT – hereditární nemoc vedoucí k nekontrolovanému rozkladu pojivové tkáně během zánětu (plicní emfyzém, jaterní cirhóza)
- $\alpha$ 2-makroglobulin
  - hladiny zvýšeny u nefrotického syndromu
    - jako velká molekula je  $\alpha$ 2-makroglobulin zadržén
      - zvýšené hladiny  $\alpha$ 2-makroglobulinu vést ke zvýšené tvorbě amyloidu
    - jeho koncentrace dále roste při zvýšené produkci bílkovin
  - Polymorfni varianta  $\alpha$ 2-makroglobulinu byla asociována se zvýšeným rizikem Alzheimerovy nemoci

38

## Kritické situace spojené se systémovou zánětlivou reakcí

- Sepsis
  - generalizovaná aktivace imunitního a koagulačního systému při septicemii
  - může progredovat do septického šoku a multiorgánové dysfunkce
- Disseminovaná intravaskulární koagulace (DIC)
  - generalizovaná aktivace srážecí kaskády po různých patol. stimulech vč. infekce, která vede k tvorbě mnohočetných trombů (časná fáze) a později k hypokoagulačnímu stavu (pozdní fáze)
- Adult respiratory distress syndrome (ARDS)
  - život ohrožující situace plicního edému a transudace do alveolů v důsledku vzestupu permeability plicní mikrocirkulace
    - poškozena při uvolnění proteolytických enzymů a jiných zánětl. mediátorů
  - tekutina blokuje výměnu plynů v plicích!



39