

Miroslav Toman a kolektiv

Veterinární imunologie

2., doplněné a aktualizované vydání



Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

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

Používání elektronické verze knihy je umožněno jen osobě, která ji legálně nabyla a jen pro její osobní a vnitřní potřeby v rozsahu stanoveném autorským zákonem. Elektronická kniha je datový soubor, který lze užívat pouze v takové formě, v jaké jej lze stáhnout s portálu. Jakékoliv neoprávněné užití elektronické knihy nebo její části, spočívající např. v kopírování, úpravách, prodeji, pronajímání, půjčování, sdělování veřejnosti nebo jakémkoliv druhu obchodování nebo neobchodního šíření je zakázáno! Zejména je zakázána jakákoliv konverze datového souboru nebo extrakce části nebo celého textu, umísťování textu na servery, ze kterých je možno tento soubor dále stahovat, přitom není rozhodující, kdo takovéto sdílení umožnil. Je zakázáno sdělování údajů o uživatelském účtu jiným osobám, zasahování do technických prostředků, které chrání elektronickou knihu, případně omezují rozsah jejího užití. Uživatel také není oprávněn jakkoliv testovat, zkoušet či obcházet technické zabezpečení elektronické knihy.



Copyright © Grada Publishing, a.s.



Copyright © Grada Publishing, a.s.

Prof. MVDr. Miroslav Toman, CSc. a kolektiv

VETERINÁRNÍ IMUNOLOGIE

2., doplněné a aktualizované vydání

Vedoucí autorského kolektivu:

Prof. MVDr. Miroslav Toman, CSc.

Autorský kolektiv:

Prof. MVDr. Ota Bárta, CSc.

Ing. Jaromír Dostál, DrSc.

MVDr. Martin Faldyna, PhD.

Doc. RNDr. Vladimír Holán, DrSc.

Prof. RNDr. MVDr. Petr Hořín, CSc.

Prof. Ing. Vojtěch Hruban, DrSc.

MVDr. Edita Jeklová, PhD.

Prof. MVDr. Zdeněk Knotek, CSc.

Doc. RNDr. Jan Kopecký, CSc.

Prof. MVDr. Břetislav Koudela, CSc.

MVDr. Josef Krejčí

MVDr. Kateřina Nechvátalová, PhD.

MVDr. Petra Ondráčková, PhD.

Ing. Jiří Plachý, CSc.

MVDr. Richard Pospíšil, CSc.

Prof. MVDr. Zdeněk Pospíšil, DrSc.

RNDr. Alois Rybníkář

MVDr. Dušan Ryšánek, CSc.

Prof. MVDr. Jiří Smola, CSc.

RNDr. Petr Šíma, CSc.

Prof. MUDr. Helena Tlaskalová, DrSc.

Prof. MVDr. Miroslav Toman, CSc.

RNDr. Ilja Trebichavský, CSc.

Ing. Leopold Veselský, DrSc.

Recenze:

Prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

Prof. MUDr. Jindřich Lokaj, CSc.

© Grada Publishing, a.s., 2009

Kresba na obálce MVDr. Vladimír Jurek

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 3620. publikaci

Odpovědní redaktoři Mgr. Michal Schwarzer, Mgr. Helena Vorlová

Sazba a zlom Václav Juda

Počítačové zpracování obrázků: ing. Vladimír Grof, Andrea Tománková, Petr Maňásek

Výzkumný ústav veterinárního lékařství v.v.i. Brno, oddělení informatiky

Počet stran 392

2. vydání, Praha 2009

Vytiskly Tiskárny Havlíčkův Brod, a.s.

Husova ulice 1881, Havlíčkův Brod

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

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

Všechna práva vyhrazena. Tato kniha ani její část nesmějí být žádným způsobem reprodukovány, ukládány či rozšiřovány bez písemného souhlasu nakladatelství.

ISBN 978-80-247-2464-5 (tištěná verze)

ISBN 978-80-247-6762-8 (elektronická verze ve formátu PDF)

© Grada Publishing, a.s. 2011

Obsah

Seznam zkratk	11
Přehled symbolů použitých ve schématech	14
Předmluva ke druhému vydání	15
1 Imunitní systém a jeho funkce (I. Trebichavský)	17
1.1 Základní charakteristika imunitního systému (M. Toman, I. Trebichavský, J. Krejčí)	17
1.2 Vznik a diferenciace buněk imunitního systému, primární lymfatické orgány (I. Trebichavský, P. Ondráčková, M. Faldyna) ..	20
1.2.1 Fetální krvetvorba, kmenové buňky	21
1.2.2 Krevní destičky, endotel a fibroblasty	23
1.2.3 Makrofágy a dendritické buňky	24
1.2.4 Granulocyty a žírné buňky	26
1.2.5 Lymfocyty	30
1.2.6 Tymus a diferenciace T-lymfocytů	32
1.2.7 Kostní dřeň a diferenciace B-lymfocytů	37
1.3 Sekundární lymfatické orgány a imunitní bariéry (I. Trebichavský)	41
1.3.1 Slezina, lymfatický folikul	41
1.3.2 Lymfatické uzliny a tonzily	43
1.3.3 Epitelové bariéry a jejich lymfatické tkáně	44
1.3.3.1 Kůže (I. Trebichavský, J. Krejčí)	44
1.3.3.2 Lymfatické tkáně sliznic	45
1.3.3.3 Gastrointestinální systém (H. Tlaskalová)	45
1.3.3.4 Respirační systém (J. Krejčí)	49
1.3.3.5 Reprodukční systém	50
1.3.3.6 Mléčná žláza (D. Ryšánek)	51
1.4 Mechanismy imunity (I. Trebichavský, J. Krejčí, M. Toman, M. Faldyna)	53
1.4.1 Antigen a jeho osud v organismu	53
1.4.2 Receptory a molekuly přirozené imunity	54
1.4.2.1 Receptory přirozené imunity	56
1.4.2.2 Molekuly přirozené imunity	57
1.4.3 Fagocytóza	59
1.4.4 Programovaná buněčná smrt	63
1.4.5 Cytotoxické reakce	65
1.4.6 Adheziny a buněčné migrace	67
1.4.7 Cytokiny	68
1.4.8 Komplement	72

1.4.9	Záněť	77
1.4.10	Imunologická funkce hlavního histokompatibilního komplexu a prezentace antigenu (P. Hořín)	84
1.4.11	Aktivace lymfocytů a regulační funkce T-buněk	89
1.4.12	Struktura a funkce imunoglobulinů	95
1.4.12.1	Stavba imunoglobulinů	95
1.4.12.2	Biologická funkce imunoglobulinů	98
1.4.12.3	Vlastnosti jednotlivých tříd imunoglobulinů	98
1.4.13	Protilátková odpověď	99
1.4.13.1	Přirozené protilátky	99
1.4.13.2	Antigenem indukované protilátky	100
1.4.13.3	Izotypový přesmyk	101
1.4.14	Efaktorové funkce imunitního systému	102
1.5	Imunita na sliznicích a v kůži (J. Krejčí)	105
1.5.1	Bariérové funkce kůže a slizničních povrchů	105
1.5.2	Funkční charakteristika společného imunitního systému sliznic	106
1.5.3	Imunita gastrointestinálního traktu (H. Tlaskalová, J. Krejčí) ...	110
1.5.4	Imunita respiračního traktu (J. Krejčí, K. Nechvátalová)	112
1.5.5	Imunita reprodukčního traktu	114
1.5.6	Imunita mléčné žlázy (D. Ryšánek)	117
1.5.7	Imunita kůže	122
	Doporučená literatura	125
2	Imunitní systém obratlovců (M. Toman)	127
2.1	Fylogenetický vývoj imunity obratlovců (P. Šíma, I. Trebichavský)	127
2.2	Imunitní systém veterinárně významných obratlovců	128
2.2.1	Imunitní systém ryb (P. Šíma)	128
2.2.2	Imunitní systém plazů (Z. Knotek)	131
2.2.3	Imunitní systém ptáků (J. Plachý)	133
2.2.4	Imunitní systém králíka (R. Pospíšil, E. Jeklová)	137
2.2.5	Imunitní systém psa (M. Toman, M. Faldyna)	139
2.2.6	Imunitní systém kočky (M. Faldyna, Z. Knotek, M. Toman)	143
2.2.7	Imunitní systém skotu (M. Toman, P. Hořín, M. Faldyna)	144
2.2.8	Imunitní systém prasete (I. Trebichavský, M. Faldyna)	149
2.2.9	Imunitní systém koně (P. Hořín)	152
	Citovaná literatura	155
	Doporučená literatura	156
3	Imunologie reprodukce, imunita plodu a novorozence (P. Hořín)	157
3.1	Imunologické aspekty oplození (L. Veselský, J. Dostál)	157
3.1.1	Imunologické pochody v samičím pohlavním ústrojí	157
3.1.2	Imunologické pochody v samčím pohlavním ústrojí	158
3.2	Imunologie vztahu matka – plod (P. Hořín, I. Trebichavský)	160
3.2.1	Plod jako aloštěp	160
3.2.2	Imunologie placenty	161
3.2.3	Úloha MHC v reprodukci	163
3.2.4	Maternofetální vztahy u koní a skotu	163
3.3	Imunologie plodu a novorozence (M. Toman, I. Trebichavský)	165
3.3.1	Ontogeneze imunokompetence	165
3.3.2	Ontogeneze imunity u vybraných druhů	167

3.3.3	Transplacentární přestup protilátek, význam kolostra a mléka (M. Toman, J. Krejčí)	170
	Citovaná literatura	172
	Doporučená literatura	172
4	Imunita proti infekci (M. Toman, J. Krejčí).	173
4.1	Interakce hostitele a patogenního organismu (P. Hořín, M. Toman)	173
4.1.1	Vztah hostitele a patogenu	173
4.1.2	Účast imunitního systému v infekčním procesu	176
4.1.3	Genetická rezistence k infekčním onemocněním	177
4.2	Imunita proti skupinám patogenních organismů (M. Toman).	179
4.2.1	Imunita proti virům (M. Toman, Z. Pospíšil)	179
4.2.2	Imunita proti intracelulárním bakteriím (M. Toman, J. Smola, I. Trebichavský)	186
4.2.3	Imunita proti extracelulárním bakteriím (M. Toman, J. Smola, K. Nechvátalová)	190
4.2.4	Imunita proti prvokům (J. Kopecký, B. Koudela)	195
4.2.4.1	Intracelulární prvoci	196
4.2.4.2	Extracelulární prvoci	198
4.2.5	Imunita proti helmintům (J. Kopecký, B. Koudela)	199
4.2.5.1	Gastrointestinální helminté	199
4.2.5.2	Tkáňoví helminté	200
4.2.6	Imunita proti ektoparazitům (J. Kopecký, B. Koudela)	202
4.2.6.1	Klíšťata	203
4.2.7	Imunita proti mykózám (A. Rybníkář)	205
4.3	Imunoprofylaxe (M. Toman, J. Krejčí).	207
4.3.1	Aktivní imunizace	208
4.3.2	Typy vakcín	210
4.3.3	Vakcinace	214
4.3.4	Pasivní imunoprofylaxe	218
4.3.5	Nežádoucí postvakcinační reakce	220
	Citovaná literatura	224
	Doporučená literatura	224
5	Transplantační a protinádorová imunita (P. Hořín)	225
5.1	Transplantační imunita (V. Holáň)	225
5.1.1	Aferentní fáze transplantační reakce	226
5.1.2	Centrální fáze transplantační reakce	227
5.1.3	Efektorová složka transplantační reakce	228
5.1.4	Prevence transplantačních imunitních reakcí	229
5.1.5	Alotransplantace u zvířat (P. Hořín).	229
5.1.6	Xenotransplantace (P. Hořín).	230
5.2	Systémy krevních skupin zvířat a transfuze krve u zvířat (V. Hruban). . . .	232
5.2.1	Systém krevních skupin zvířat	232
5.2.1.1	Vlastnosti systémů krevních skupin	233
5.2.1.2	Praktické aplikace krevně-skupinového polymorfizmu	234
5.2.2	Krevní skupiny u jednotlivých druhů	235
5.2.3	Transfuze krve u zvířat	236
5.3	Protinádorová imunita (P. Hořín)	237

5.3.1	Genetická podstata nádorových onemocnění	237
5.3.2	Nádorové antigeny	238
5.3.3	Protinádorová imunitní odpověď	239
5.3.4	Mechanismy úniku nádorů imunitní odpovědi	240
5.3.5	Imunoterapeutické přístupy k nádorovým onemocněním ...	241
5.3.6	Modelová nádorová onemocnění zvířat	242
	Doporučená literatura	244

6	Choroby imunitního systému (O. Bárta, M. Toman)	245
6.1	Primární imunodeficeience (M. Toman, O. Bárta)	247
6.1.1	Kombinované imunodeficeience a deficeience T-lymfocytů ...	248
6.1.2	Imunodeficeience B-buněk a imunoglobulinů	251
6.1.3	Poruchy fagocytózy	254
6.1.4	Abnormality komplementu	256
6.1.5	Léčba primárních imunodeficiencií	256
6.2	Sekundární imunodeficeience (M. Toman, O. Bárta)	258
6.2.1	Imunodeficeience způsobené infekčními chorobami	259
6.2.2	Imunodeficeience způsobené lymfoproliferativními chorobami	263
6.2.3	Terapie sekundárních imunodeficiencií	266
6.3	Mechanismy vzniku hypersenzitivních reakcí a autoimunity (O. Bárta, M. Toman)	267
6.3.1	Hypersenzitivita I. typu (časná)	272
6.3.2	Hypersenzitivita II. typu (cytotoxická)	275
6.3.3	Hypersenzitivita III. typu (imunitních komplexů)	276
6.3.4	Hypersenzitivita IV. typu (pozdní, zprostředkovaná buněkami)	278
6.4	Systémové a orgánové choroby způsobené imunitními reakcemi (O. Bárta, M. Toman)	279
6.4.1	Autoimunitní choroby pojivových tkání (revmatické choroby)	279
6.4.2	Imunitní choroby nervů	284
6.4.3	Imunitní choroby krevních buněk a destiček	286
6.4.3.1	Imunitní hemolytické anemie	287
6.4.3.2	Imunitní choroby krevních destiček (trombocytů) ..	289
6.4.3.3	Imunitní neutropenie	290
6.4.4	Imunitní choroby srdce a cév	291
6.4.4.1	Imunitní choroby srdce	291
6.4.4.2	Imunitní choroby cév (vaskulitidy)	291
6.4.5	Imunitní respirační choroby	292
6.4.6	Imunitní choroby gastrointestinálního traktu, hepatobiliární a ledvinové	294
6.4.6.1	Imunitní choroby zažívacího traktu	294
6.4.6.2	Imunitní choroby jaterní a žlučové	297
6.4.6.3	Imunitní choroby ledvin	297
6.4.7	Imunitní choroby kůže	299
6.4.7.1	Alergické kožní choroby I. typu (nebo smíšené reakce)	299
6.4.7.2	Autoimunitní kožní choroby	303
6.4.7.3	Kožní choroby způsobené imunitními komplexy ...	303

6.4.7.4	Kožní choroby způsobené buněčnými reakcemi IV. typu	304
6.4.8	Imunitní endokrinní choroby	305
6.4.8.1	Imunitní choroby štítné žlázy (tyreoidní žlázy)	306
6.4.8.2	Imunitní choroby slinivky břišní (pankreatu)	307
6.4.8.3	Imunitní choroby kůry nadledvin	308
6.4.9	Imunitní choroby oka	308
6.4.9.1	Imunitní choroby víček a spojivky	308
6.4.9.2	Imunitní choroby rohovky a bělimy	309
6.4.9.3	Imunitní choroby duhovky (uveitidy)	309
	Citovaná literatura	310
	Doporučená literatura	311
7	Imunomodulace, imunoterapie (J. Krejčí, O. Bárta)	313
7.1	Imunostimulační látky	313
7.1.1	Přehled imunostimulačních látek	314
7.1.1.1	Nutriční faktory	314
7.1.1.2	Produkty mikrobiálního původu	314
7.1.1.3	Chemické látky	316
7.1.1.4	Buněčné regulátory	317
7.1.2	Obecné zásady imunostimulační léčby	319
7.1.2.1	Probiotika, prebiotika a synbiotika (I. Trebichavský)	319
7.2	Imunosupresivní a protizánětlivé látky	320
7.2.1	Imunosupresivní látky	320
7.2.1.1	Alkylující látky	320
7.2.1.2	Antimetabolity	321
7.2.1.3	Antibiotika	322
7.2.1.4	Kortikoidy	322
7.2.2	Protizánětlivé látky	324
7.2.2.1	Kortikosteroidy	324
7.2.2.2	Nesteroidní antiflogistika	324
7.2.2.3	Antihistaminika	325
7.2.2.4	Látky snižující koncentraci volných kyslíkových radikálů	325
7.3	Léčebné postupy u alergií	326
	Doporučená literatura	327
8	Imunitní systém a prostředí (J. Krejčí, I. Trebichavský)	329
8.1	Vliv vnitřních faktorů na imunitní funkci	329
8.1.1	Vztah mezi neuroendokrinním a imunitním systémem	329
8.1.2	Vliv metabolických pochodů na funkci imunitního systému	330
8.2	Vliv výživy na imunitní funkci	330
8.3	Vliv vnějšího prostředí na imunitní funkci	335
8.3.1	Vliv cizorodých látek na imunitní systém	335
8.3.1.1	Cizorodé látky kontaminující krmivo nebo vyskytující se v prostředí	336
8.3.1.2	Záměrně podávané látky	338
8.4	Imunita a stres	339
8.5	Vliv ionizujícího záření na imunitní buňky a jejich funkce	340

9	Imunologické metody (O. Bárta, M. Toman)	343
9.1	Zásady správné laboratorní diagnostiky (O. Bárta)	343
9.1.1	Principy práce v imunologické laboratoři	343
9.1.2	Odběr a zaslání vzorků pro imunologická laboratorní vyšetření	344
9.2	Průtoková cytometrie (M. Faldyna, M. Toman)	345
9.3	Metody imunohistochemie (I. Trebichavský)	347
9.4	Funkční testy aktivity buněk (O. Bárta, M. Toman)	349
9.4.1	Funkční testy fagocytů	349
9.4.2	Funkční testy lymfocytů	352
9.5	Detekce a kvantifikace cytokinů (I. Trebichavský)	354
9.6	Detekce a kvantifikace imunoglobulinů a komplementu v séru a tělních tekutinách (O. Bárta)	355
9.6.1	Stanovení hladiny imunoglobulinů	355
9.6.2	Stanovení hladiny a aktivity komplementu	358
9.7	Průkaz specifických protilátek a antigenů (sérologické testy) (O. Bárta, J. Krejčí)	359
9.7.1	Precipitace	360
9.7.2	Aglutinace	361
9.7.3	Vazba komplementu	362
9.7.4	Virová hemaglutinace a její inhibice	363
9.7.5	Neutralizace virů a toxinů	363
9.7.6	ELISA	364
9.7.7	Radioimunologické testy a další detekční systémy v sérologických reakcích	365
9.8	Testy pro zjišťování stavů přecitlivělosti a autoimunity (O. Bárta)	366
9.8.1	Intradermové testy pro průkaz senzibilizace a zjištění alergenů	366
9.8.2	Průkaz autoprotilátek (O. Bárta, M. Toman)	367
9.9	Principy produkce monoklonálních protilátek (I. Trebichavský)	370
9.10	Principy metod molekulární biologie (P. Hořín)	371
9.10.1	Průkaz existence genu a jeho specifická amplifikace – polymerázová řetězová reakce (PCR)	371
9.10.2	Studium genetického polymorfizmu	372
9.10.3	Exprese genů v buňkách a tkáních	372
9.10.4	Transgenoze a knock-out technologie	373
9.11	Experimentální imunologické modely (P. Hořín, I. Trebichavský)	374
9.11.1	Typy kmenů laboratorních zvířat	374
9.11.2	Význam využití inbredních kmenů	375
	Doporučená literatura	376
10	Apendix	377
	Citovaná literatura	383

Seznam zkratek

ACTH	adrenokortikotropní hormon
ADCC	cytotoxicita závislá na protilátce (<i>antibody dependent cell cytotoxicity</i>)
Ag	antigen
AIDS	syndrom získané imunitní nedostatečnosti (<i>acquired immune deficiency syndrome</i>)
AIHA	autoimunitní hemolytická anemie (<i>autoimmune hemolytic anemia</i>)
ANA	protilátky proti jaderným antigenům (<i>antinuclear antibody</i>)
APC	buňka prezentující antigen (<i>antigen presenting cell</i>)
BALT	lymfatická tkáň bronchů (<i>bronchus-associate lymphoid tissue</i>)
BCG	avirulentní kmen <i>Mycobacterium bovis</i> (<i>bacille Calmette-Guérin</i>)
BCR	specifický receptor B-lymfocytů pro antigen (<i>B cell receptor</i>)
BFU-E	vývojové stadium erytrocytů (<i>burst forming unit – erythroid</i>)
BIV	virus imunodeficiency skotu (<i>bovine immunodeficiency virus</i>)
BLAD	porucha adherence leukocytů skoru (<i>bovine leukocyte adherence deficiency</i>)
BLV	virus leukemie skotu (<i>bovine leukemia virus</i>)
BoLA	hlavní kompatibilní komplex skotu (<i>bovine leukocyte antigen</i>)
BVD	bovinní virová diarea
CCC, CXC	skupiny chemokinů
CD	povrchový diferenační znak buněk (<i>cluster of differentiation</i>)
CFT	reakce vazby komplementu – RVK (<i>complement fixation test</i>)
CFU-GEMM	prekurzor myeloidní linie buněk (<i>colony forming unit</i>)
CFU-G	prekurzor granulocytů
CFU-GM	společný prekurzor granulocytů a makrofágů
CFU-M	prekurzor makrofágů
CNS	centrální nervový systém
ConA	Concanavalin A – nespecifický mitogen
COPD	chronická obstruktivní pulmonární choroba
COX	cyklooxygenáza
CPM	počet záblesků za minutu (<i>count per minute</i>)
CRP	C-reaktivní protein
C1–C9	složky komplementu
DC	dendritická buňka (<i>dendritic cell</i>)
DNA	dezoxyribonukleová kyselina
DTH	oddálený typ přecitlivělosti (<i>delayed type of hypersensitivity</i>)
EBV	virus Epsteina-Barrové (<i>herpesvirus</i>)
EGF	epidermální růstový faktor (<i>epidermal growth factor</i>)
ELISA	imunoenzymatická metoda (<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
Fab fragment	část imunoglobulinu, která váže antigen (<i>antigen-binding fragment</i>)
Fc fragment	konstantní část imunoglobulinu (<i>z angl. crystallisable fragment</i>)
FCA	Freundovo kompletní adjuvans
FGF	růstový faktor fibroblastů (<i>fibroblast growth factor</i>)
FIA	Freundovo inkompletní adjuvans
FITC	fluorescein-izotiokyanát
GALT	lymfatická tkáň střeva (<i>gut-associated lymphoid tissue</i>)
GIT	gastrointestinální trakt
GM-CSF	růstový faktor granulocytů a monocytů (<i>granulocyte/monocyte – colony stimulating factor</i>)
GVHR	reakce štěpu proti příjemci (<i>graft versus host reaction</i>)

HAR	hyperakutní reakce
HEV	postkapilární venuly s vysokým endotelem (<i>high endothelial venules</i>)
HLA	hlavní histokompatibilní komplex člověka (<i>human leukocyte antigen</i>)
HSP	proteiny tepelného šoku (<i>heat shock proteins</i>)
IBR	infekční bovinní rinotracheitida
ICAM 1–3	typ adhezivních molekul (<i>intercellular adhesion molecule</i>)
IEL	intraepiteliální lymfocyty
IFN	interferon
Ig	imunoglobulin
IgA, IgM, IgG	izotypy protilátek
IGF I a II	inzulinu podobné růstové faktory (<i>insulin-like growth factors</i>)
IL-1 – IL-18	interleukiny
ISCOM	imunostimulační komplex (<i>immunostimulating complex</i>)
LAD	porucha adherence leukocytů (<i>leukocyte adherence deficiency</i>)
LAK	zabíječi aktivovaní lymfokiny (<i>lymphokine activated killers</i>)
LE buňky	buňky při systémovém lupusu (<i>lupus erythematosus</i>)
LFA 1–3	typ adhezivních molekul (<i>lymphocyte function-associated antigen</i>)
LPS	lipopolysacharid
mAb	monoklonální protilátka (<i>monoclonal antibody</i>)
MAC	terminální cytotoxický komplex (<i>membrane attack complex</i>)
MALT	lymfatická tkáň sliznic (<i>mucosa-associated lymphoid tissue</i>)
MASP	serinová proteáza (<i>MBP – associated serine protease</i>)
MBP	protein vázající manózu (<i>mannan binding protein</i>)
MDP	muramyl dipeptid (<i>součást bakteriální stěny</i>)
MHC	hlavní histokompatibilní komplex (<i>major histocompatibility complex</i>)
MIF	faktor inhibující migraci monocytů/makrofágů (<i>macrophage/monocyte migration inhibitory factor</i>)
MLR	směsná lymfocytární reakce (<i>mixed lymphocyte reaction</i>)
NALT	lymfatická tkáň nosní sliznice (<i>nose-associated lymphatic tissue</i>)
NK- buňka	buňka – přirozený zabíječ (<i>natural killer</i>)
NO	oxid dusnatý
Nramp 1	protein spojený s přirozenou rezistencí (<i>natural resistance-associated macrophage protein</i>)
PAF	faktor aktivující destičky (<i>platelet activating factor</i>)
PALS	periarteriální oblast lymfatických orgánů (<i>periarteriolar lymphoid sheat</i>)
PCR	molekulárně biologická metoda – polymerázová řetězová reakce (<i>polymerase chain reaction</i>)
PDGF	růstový faktor pro pojivové tkáň uvolňovaný z destiček (<i>platelet-derived growing factor</i>)
PECAM	adhezivní molekula destiček a endotelií (<i>platelet-endothelial cellular adhesion molecule</i>)
PHA	fytohemaglutinin – nespecifický mitogen
PMN	polymorfonukleární buňka (<i>granulocyte</i>)
PWM	Pokeweed mitogen – nespecifický mitogen
RAST	test pro detekci protilátek proti specifickému antigenu (<i>radioallergosorbent test</i>)
RF	revmatoidní faktor
RFLP	metoda detekce polymorfizmu délky restričních fragmentů (<i>restriction fragment length polymorphism</i>)
RIA	radioimunologický test (<i>radioimmunoassay</i>)
RID	test radiální imunodifuze

RIST	radiologický test pro zjištění antigenu (<i>radioimmunosorbent test</i>)
RNA	ribonukleová kyselina
RT-PCR	molekulárně-biologická metoda využívající enzym reverzní transkriptázu s následnou PCR (<i>reverse transcription – PCR</i>)
SC	sekreční komponenta
SCF	faktor diferenciacie kmenových buněk (<i>stem cell factor</i>)
SCID	těžká kombinovaná imunodeficience (<i>severe combined immunodeficiency</i>)
SLE	systémový lupus erythematosus
TBC	tuberkulóza
Tc	cytotoxický T-lymfocyt (<i>T cytotoxic lymphocyte</i>)
TCR	specifický receptor T-lymfocytů (<i>T cell receptor</i>)
TdT	enzym terminální deoxynukleotidyl transferáza
TGF	růstový faktor (<i>transforming growth factor</i>)
Th	pomocný T-lymfocyt (<i>T helper lymphocyte</i>)
TNF	faktor nekrotizující tumory (<i>tumor necrosis factor</i>)
VCAM	adhezin endoteliálních buněk (<i>vascular cell adhesion molecule</i>)
VEGF	vaskulární endoteliální růstový faktor (<i>vascular endothelial growth factor</i>)
VLA 1–6	integrin, velmi pozdní aktivační molekula (<i>very late activation antigen</i>)

PŘEHLED SYMBOLŮ POUŽITÝCH VE SCHÉMATECH



T-lymfocyt



plazmatická buňka



B-lymfocyt



kmenová buňka



monocyt



lymfoblast



makrofág



NK-buňka



neutrofil



imunoglobulinová molekula



eozinofil



apoptotická tělíška



bazofil



krevní destičky



žírná buňka



dendritická buňka

Předmluva ke druhému vydání

V roce 2000 kolektiv dvaceti autorů zpracoval první česky psanou monografii zaměřenou na imunitní systém veterinárně významných druhů. Cílem této monografie bylo stručnou, koncentrovanou formou zpracovat současnou představu o úloze imunitního systému a uplatnit ji při popisu struktury a funkcí imunitního systému hospodářských a domácích zvířat. Na rozdíl od celé řady jiných imunologií, které v současné době at už jako původní díla, nebo překlady česky vycházejí, byla tato monografie zaměřena na srovnávací imunologii. U druhů savců, případně nižších obratlovců, u nichž byly známy, jsme se snažili upozornit na rozdíly ve struktuře nebo funkci imunitního systému. Většina dosavadních poznatků je totiž prostudována u myši a u člověka a tradována jako obecně platná, ačkoliv má u různých živočichů řadu podob.

Nejvíce informací tohoto typu je shromážděno ve druhé kapitole, která je zaměřena na popis imunitního systému jednotlivých veterinárně významných druhů, ale i popis imunity proti infekci, poruch imunitního systému. Následující text je věnován informacím, které byly získány studiem hospodářských a domácích zvířat.

Monografie, která vyšla poprvé v roce 2000, je původním dílem českých autorů. Samozřejmě čerpala z řady literárních údajů, v určité míře i z výsledků vlastního výzkumu a diskuzí s dalšími odborníky. Přestože takto koncipovaná kniha byla přednostně určena veterinárním lékařům a studentům veterinární medicíny, našla ohlas i u přírodovědců, lékařů, ale i u dalších biologicky orientovaných odborníků i laiků.

První vydání knihy zaznamenalo v příslušných kruzích dobrý ohlas, a proto se nakladatelství Grada rozhodlo nevydávat již knihu formou dotisku a začátkem roku 2007 požádalo autory o přípravu druhého, upraveného vydání. Ve druhém vydání byly doplněny nejvýznamnější nové údaje nebo upraven popis mechanismů, u nichž došlo v posledních letech k posunu v poznání. Týká se to především základních mechanismů kapitoly 1, ale i dílčích poznatků v kapitolách 2, 3, 4, 5, 6 a modernizací kapitoly imunologických metod. V knize se také objevuje 15 nových schémat. Původní autorský kolektiv se rozšířil o dvě nové autorky.

Přesto, že monografie není výlučně určena studentům, slouží i jako studijní vysokoškolský text. Z toho důvodu byla volena taková forma, aby text byl co nejpřehlednější, s úvodními souhrny a řadou schémat a tabulek. Rozsah knihy dává dostatek prostoru pro vysvětlení všech významných kapitol veterinární imunologie a pro studenty tedy i dostatečnou šíři údajů jak pro základní, tak klinickou imunologii. Praktické veterinární lékaře pravděpodobně zaujmou kapitoly ze druhé části knihy popisující mechanismy antiinfekční, transplantační a nádorové imunity a choroby imunitního systému zvířat. Na druhou stranu nutnost stručného úsporného vyjadřování znamená, že pro odborníky, kteří se imunologii věnují nebo chtějí věnovat hlouběji, je monografie jen přehledným úvodem do problematiky veterinární imunologie, v některých aspektech nutně zjednodušujícím.

S nadějí, která byla již v předchozích letech potvrzena, že o knihu bude i nadále zájem, pustili jsme se do rozsáhlejšího přepracování díla, které však není možné očekávat dříve než za další tři roky.

Miroslav Toman
vedoucí autorského kolektivu

Brno, prosinec 2008

1 Imunitní systém a jeho funkce

*Evoluce je pro biologii základnou
pro velkou sjednocovací teorii.*

*(Lovelock, Margulisová
– Gaia, živá planeta)*

1.1 Základní charakteristika imunitního systému

Imunitní systém je adaptační a regulační soustava, která se spolu s nervovým a endokrinním systémem podílí na zajištění integrity mnohobuněčného živočišného organismu a udržení jeho funkcí ve vitálních mezích – homeostázi. Proto není překvapivé, že jsou tyto tři systémy propojeny. Buňky imunitního systému reagují na neurohumorální působky – **hormony a neurotransmitery**, a dokonce je v některých případech i samy vylučují. Pro imunitní systém jsou typické signální molekuly zvané **cytokiny**, které vazbou na **receptory** jiných buněk aktivují, nebo naopak tlumí jejich reakce, a vytvářejí tak velmi citlivě reagující regulační síť uvnitř imunitního systému (**cytokinová síť**). Cytokiny ovlivňují i neurohumorální systém a diferenciaci organismu.

Imunitní systém zajišťuje odstraňování nefunkčních složek organismu, což v širším smyslu jsou buňky staré, mrtvé (poškozené buňky hynoucí **nekrózou** nebo nadbytečné buňky odstraněné fyziologickým procesem – **apoptózou**), nádorové, nemocné nebo tělu cizí. Významnou část imunitních procesů tvoří reakce na molekuly parazitujících mikroorganismů. V počátcích imunologie se dokonce předpokládalo, že obrana proti patogenním mikrobům (**antiinfekční imunita**) je jedinou funkcí imunitního systému.

Živočišné druhy na jednotlivých stupních fylogenetického vývoje mají různé imunitní strategie, které se pod selekčním tlakem dále vyvíjejí. Zatímco mikroorganismy využívají především vysoké proměnlivosti, vyšší živočichové se opírají o velikost svého genomu a budují komplexní obranné soustavy, vzájemně mezi sebou propojené. Celý obranný systém obratlovců funguje na několika úrovních, které se vyvinuly během fylogenetického vývoje organismů.

Imunitní systém je vystavěn z molekul a buněk, které jsou jednak rozptýleny po celém organismu, jednak tvoří specializované **lymfatické orgány**. Na povrchu imunitních buněk se nacházejí stovky různých molekul. Většina z nich jsou **receptory** schopné vázat se a reagovat s ligandy jiných buněk nebo volných molekul. V současné době je zřejmé, že větší význam než dříve zdůrazňovaná reakce antigen – protilátka mají v imunitní odpovědi právě tyto interakce buněk a jejich aktivace cytokiny a dalšími působky. Vyjádření – **exprese** – těchto povrchových molekul tvoří **fenotyp** buněk. Ten se mění v průběhu buněčného života i imunitní reakce a je odrazem diferenciaci nebo aktivace buněk.

Molekuly, na které je organismus schopen reagovat specifickou imunitní reakcí, se nazývají **antigeny**. Imunitní systém rozezná **antigeny cizí a tělu vlastní**. Již v průběhu intrauterinního vývoje dochází k navození neodpovídacosti – **imunotoleranci** – na vlastní antigeny. Za určitých okolností, a to i fyziologicky, imunitní systém reaguje

i na vlastní makromolekuly (**autoantigeny**). Pokud však dochází při těchto reakcích k poškození vlastních tkání, vznikají **autoimunitní choroby**. Imunitní systém monitoruje i antigeny potravy, střevních bakterií, proteinů přítomných v prachových částicích a antigeny v kůži a sliznicích. Pokud však nehrozí porušení integrity organismu, imunitní mechanismy nejsou amplifikovány a rychle vyznívají.

První ochrannou **bariérou** organismu proti vstupu cizorodých molekul a mikroorganismů jsou kůže a sliznice kryjící vnější a vnitřní povrchy, jež komunikují s vnějším prostředím (epitely trávicí, vylučovací a pohlavní soustavy a vývodů žláz). Po překonání těchto bariér začnou pracovat rychlé mechanismy přirozené – **nespecifické imunity** (přítomné již u bezobratlých) s geneticky zakódovanými receptory rozpoznávajícími antigeny. Cizorodé substance jsou pohlcovány čili **fagocytovány**. Uvnitř buněk jsou antigeny buď degradovány, nebo popřípadě (u obratlovců) zpracovány na peptidy určité velikosti pro prezentaci T-lymfocytům. K buňkám nespecifické imunity řadíme i lymfocyty zvané **NK-buňky** (přirozené zabíječe) a $\gamma\delta$ T-lymfocyty (jejich název vychází z typu receptoru pro antigen TCR tvořeného řetězci gama a delta), které představují mezistupeň ke specifické imunitě.

Obratlovci mají nový typ imunity – **specifickou (adaptivní) imunitu**. V ní je antigen rozpoznán receptory, jež jsou jedinými bílkovinami organismu, které nejsou zakódovány v genomu, ale vytvářejí se teprve při diferenciaci klonů lymfocytů. Každý klon má receptory s jiným **vazebným místem** pro antigenní strukturu – **epitop** neboli **antigenní determinantu**. Mikroorganismy obsahují přes svou nepatrnou velikost celou řadu antigenů s více epitopy, z nichž každý je rozpoznáván jiným specifickým receptorem, a tedy i jiným klonem lymfocytů. Proti každému epitopu jsou tvořeny protilátky s jinou specificitou. Bylo by tedy zcela nesprávné představovat si, že imunitní systém produkuje jediný typ protilátky proti tak složité struktuře, jakou je bakterie nebo virus.

Lymfocyty specifické imunity tvoří dvě velké skupiny lišící se právě svými specifickými receptory pro antigen. Vyžívají v **primárních lymfatických orgánech**, kterým je pro T-lymfocyty tymus, pro B-lymfocyty savců většinou kostní dřeň, pro B-lymfocyty ptáků Fabriciova burza. **T-lymfocyty** odpovědné za buňkami zprostředkovanou specifickou imunitu rozpoznávají antigeny pomocí receptoru TCR, zatímco **B-lymfocyty** produkující protilátky rozpoznávají antigeny pomocí receptoru BCR. Lymfocyt, který se setká se „svým“ antigenem (s epitopem vázaným vazebným místem svého specifického receptoru) a obdrží ještě potřebné potvrzující signály, aktivuje, proliferoje **klonální expanzí** a popř. diferencuje (B-lymfocyty až na plazmatické buňky). Z toho je zřejmé, že k zahájení imunitní odpovědi je zapotřebí kooperace více buněčných populací. **Pomocné T-lymfocyty (Th)** zajišťují regulační funkce, **cytotoxické T-lymfocyty (Tc)** zprostředkují cytotoxické aktivity.

Zralé imunokompetentní buňky jsou přítomny v celém organismu (výjimkou je např. rohovka) a kolují po těle krví, odkud vycestovávají do tkání a z nich opět do krve lymfatickými cestami. Tato stálá migrace umožňuje lymfocytům vykonávat **imunitní dozor** a zvyšuje pravděpodobnost setkání příslušného klonu s daným antigenem. Imunitní buňky vytvářejí v některých orgánech specifické struktury (např. Peyerovy plaky ve střevě). **Místem realizace specifické imunitní odpovědi jsou sekundární lymfatické orgány** (slezina, mizní uzliny, tonzily), kde ve specializovaných strukturách dojde k **prezentaci antigenu**. Ten není při fagocytóze vždy zcela zničen, ale nejdříve je naštěpen na imunogenní peptidy. V případě, že je takový pep-

tid rozpoznán vazebným místem molekuly **hlavního histokompatibilitního systému (MHC)** nebo molekuly CD1, ocitne se s ní v komplexu na buněčné membráně. Buňka s tímto komplexem MHC – antigenní peptid – se nazývá **buňka prezentující antigen**. T-lymfocyty jsou schopny rozpoznat antigen pouze v takovémto komplexu, neboť TCR na rozdíl od protilátek nedokáže rozpoznat volný antigen.

Ústřední regulační složkou specifické imunitní odpovědi je pomocný Th-lymfocyt. Po prezentaci antigenu a dalších nutných signálů je tato buňka aktivována k produkci **cytokinů dvojího typu**. **První typ** řídí její diferenciaci směrem k imunitě zprostředkované buňkami, **druhý typ** pomáhá B-lymfocytům při tvorbě protilátek (většinou se bez této pomoci neobejdou). V sekundárních lymfatických orgánech je síť dendritických buněk, které transportují antigenní peptidy z periferie a prezentují je T-lymfocytům, jež ve folikulech pomohou B-lymfocytům v aktivaci a diferenciaci pro tvorbu specifických protilátek. V těchto důmyslných strukturách se vytvářejí buňky, které zajistí **primární imunitní odpověď**, ale současně se vytvářejí i **buňky paměťové**. Tyto lymfocyty jsou schopny při dalším setkání s antigenem reagovat rychlejší **sekundární imunitní odpovědí**. Některé klony zajistí i celoživotní imunitu (např. proti epitopům některých virů). Imunologická paměť je dalším z kardinálních rysů imunitního systému.

Imunitní reakce neprobíhají v organismu vždy žádoucím způsobem. Pod vlivem celé řady vnějších i vnitřních vlivů dochází k odchylkám od fyziologického průběhu. Pokud dojde i ke klinickým projevům, objeví se **imunopatologické stavy**. Nežádoucí hyperaktivita na určitý antigen (**alergen**) se označuje jako **hypersenzitivita** – alergie, specifická imunitní reaktivita na vlastní antigeny jako **autoimunita**. Imunologická nedostatečnost jednoho nebo více parametrů je **imunodeficience**.

Znalosti obecných principů (tab. 1.1) i konkrétních mechanismů imunitních reakcí otevírají možnosti prevence a účinné léčby chorob imunitního systému, ale i **specifické imunoprofylaxe infekčních chorob**.

Tab. 1.1 *Hlavní rysy adaptivního imunitního systému obratlovců*

Charakteristický rys	Popis
specifita rozpoznávání	vazebné místo rozpoznávací molekuly lymfocytu (protilátky) detekuje i nepatrné rozdíly (záměnu jedné aminokyseliny) v antigenní determinantě
diverzita	generování nesmírného množství genů pro vazebná místa a následné vytvoření množství klonů lymfocytů umožňuje organismu rozpoznat většinu cizích molekul existujících v přírodě i mimo ni
imunologická paměť	dlouhodobé přežívání klonu lymfocytů umožňuje rychlou a intenzivní odpověď při dalším kontaktu

1.2 Vznik a diferenciacie buněk imunitního systému, primární lymfatické orgány

Život je souhrn funkcí, které zabraňují smrti.

(F. X. Bichat, Fyziologie života a smrti)

Vývoj imunitního systému je řízen geneticky zakódovanými algoritmy, které působí v přesném sledu a vymezují jednotlivé morfogenetické a diferenciací kroky.

Diferenciační pochody v organismu obecně jsou řízeny **homeoboxy (HOX)**. Tyto geny umožňují v rozvíjejícím se organismu řízení diferenciací procesů v času a prostoru. Geny HOX hrají proto podstatnou úlohu i v diferenciaci imunitního systému, ověřují totožnost tkání, řídí strukturu embryí a také vyžrávání imunitních buněk a orgánů.

Vývoj imunitních buněk je řízen **transkripčními faktory**. Jsou to proteiny, které vazbou na regulační sekvence DNA ovlivňují u eukaryontní buňky přepis genetické informace z DNA do RNA. Kromě transkripčních faktorů řídících provozní geny (pro základní buněčné funkce je třeba asi 10 000 genů), existují speciální transkripční faktory, které jsou indukovatelné při diferenciaci různých buněčných typů (tab. 1.2). V organismu je asi 200 typů buněk vznikajících diferenciací v genovém vyjádření a řada z nich je v imunitním systému. Lymfocyt je například typem buňky přepisující nejvyšší počet genů.

Tab. 1.2 *Příklady transkripčních faktorů uplatňujících se v diferenciaci imunitního systému*

Diferenciační aktivita	Transkripční faktor
erytropoéza	GATA-1, GATA-2, H1
lymfopoéza	GATA-3, PU.1, Ikaros
diferenciacie B-lymfocytů	Oct-2, NF-κB
diferenciacie plazmatických buněk	BSAP

V morfogenezi imunitního systému hrají významnou roli také diferenciací signály, které jsou zprostředkovány **cytokiny**.

1.2.1 Fetální krvetvorba, kmenové buňky

Krvetvorba u savců probíhá ve dvou vlnách – nejprve extraembryonálně ve žloutkovém vaku, pak v embryu. V něm se postupně přesouvá do různých míst, definitivním místem krvetvorby je kostní dřeň. Všechny krevní a imunitní buňky vznikají z kmenových buněk.

Kmenové buňky krvetvorby vznikají z epiblastů zadní části primitivního proužku. Vznik imunitního systému probíhá v souhře se vznikem oběhového systému. Epiblasty na obvodu *area opaca vasculosa* – **angioblasty** – diferencují pod vlivem vaskulárního endotelového růstového faktoru VEGF na endotel v procesu zvaném **vaskulogeneze**. Další faktory usměrňují vývoj pericytů (vznik kapilár), hladkých svalových buněk (vznik větších cév) a myokardiocytů (vznik srdce).

Centrální kmenové buňky v *area opaca vasculosa* zvané **hemoblasty** putují do mezivrstvy choria a žloutkového vaku, kde v krevních ostrůvcích vyžívají v **jaderné erytrocyty**. Tato diferenciace je nezávislá na embryu a erythropoetinu.

Kmenové buňky krvetvorby se v embryu objevují nejdříve v oblasti mezi aortou, mezonefros a genitální rýhou. Později se stěhují do jater. Jsou to pomalu se dělicí **pluripotentní buňky, z nichž se diferencují všechny krevní a imunitní buňky**.

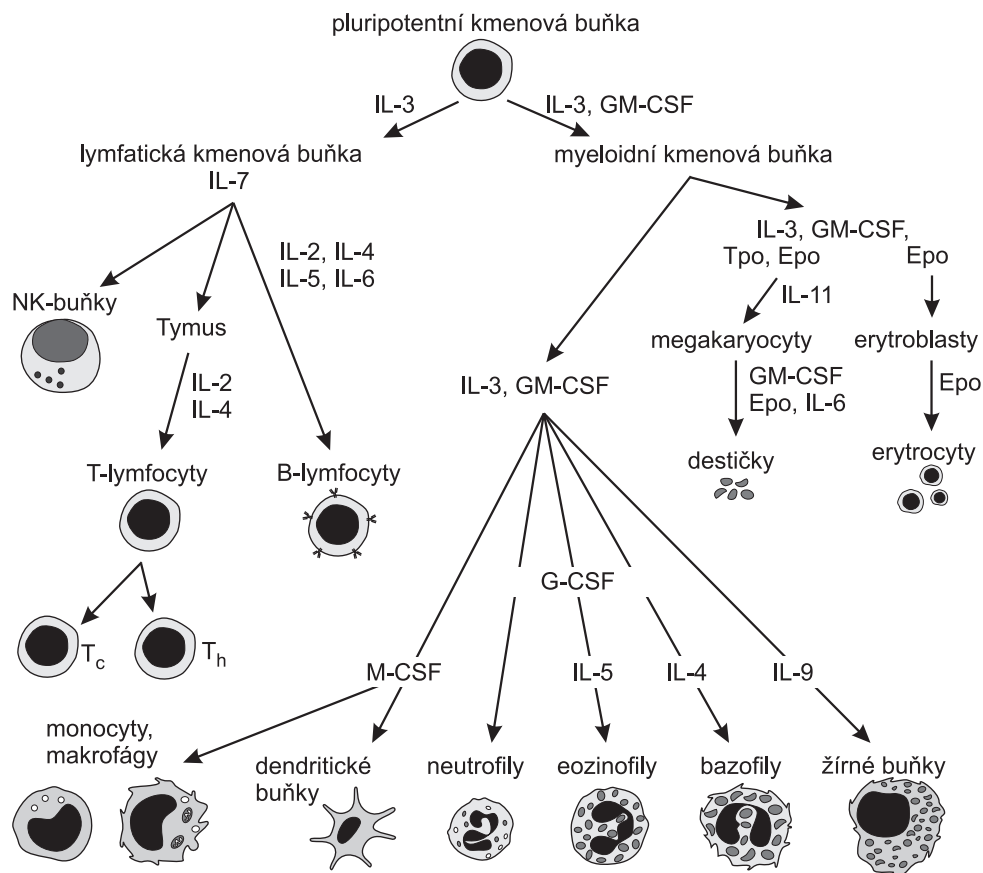
V **embryonálních játrech** vyžívají (na rozdíl od žloutkového vaku extravaskulárně) nejdříve erytroblasty, makrofágy, dendritické buňky, megakaryocyty a krevní destičky. Po nich se objevují prekursori lymfocytů, NK-buňky (přírození zabíječi) a granulocyty. Buňky specifické imunity se objevují nejpozději, pro-B-buňky v **játrech** a pro-T-buňky v **tymu**. Hlavním místem kooperací zralých T- a B-lymfocytů se stanou **slezina** a později v ontogenezi **mízní uzliny** a lymfatické struktury v systému slizniční imunity.

Definitivním místem krvetvorby je **kostní dřeň**, kde extravaskulární hemopoéza přetrvává i po narození. Adhezivní molekuly VLA-4 (viz kap. 1.4.5) umožňují kmenovým buňkám vazbu na molekuly VCAM stromatu kostní dřeně. Kmenové buňky tu vyžívají pod vlivem cytokinů **SCF** (*stem cell factor*), **interleukinů IL-6 a IL-11**, **LIF** (*leukemia inhibitory factor*) a mnoha transkripčních faktorů. Tvoří přitom pouhou desetitisícinu buněk kostní dřeně. Pod vlivem dalších cytokinů diferencují v jednotlivé linie krevních a imunitních buněk (obr. 1.1).

Všechny **nelymfatické buňky mají prekursor CFU-GEMM** (*colony-forming unit*, prekursor granulocytů, erytrocytů, monocytů a megakaryocytů), prekurzorem lymfocytů je **lymfatická kmenová buňka**, jejíž diferenciaci řídí specifické transkripční faktory (viz tab. 1.2).

Povrchové molekuly imunitních buněk

Buňky imunitního systému mají na svém povrchu množství molekul, z nichž většina má charakter receptorů umožňujících vazbu jiných molekul (antigenu, imunoglobulinu, složek komplementu, cytokinů, adhezínů a dalších). Tyto receptory jsou transmembránové proteiny spřažené s aktivačním systémem (např.



Obr. 1.1 Vývojové krevní řady krvetvorby

proteinkinázy), které prostřednictvím cytoplazmatických molekul – takzvaných sekundárních posílů – aktivují příslušné transkripční faktory a způsobí přepis genů.

Reakce povrchového receptoru s příslušným ligandem je součástí všech imunitních dějů. Pro jednotlivé typy imunitních buněk jsou určité povrchové receptory významnými fenotypickými znaky, jež se však mění během diferenciaci a v různém rozsahu vyjadřují (exprimují) v průběhu aktivace buňky. Pokud jsou vyjádřeny trvale, nazývají se konstitutivní znaky. Po aktivaci se objeví znaky indukované.

Membránové proteiny leukocytů byly charakterizovány pomocí monoklonálních protilátek zvaných CD (*cluster of differentiation*) antigeny či **CD znaky** a byly označeny číslem podle časové posloupnosti jejich definování. Jejich charakteristika u jednotlivých druhů hospodářských a domácích zvířat je uvedena v kapitole 2. Přehled nejvýznamnějších CD znaků je v apendixu (viz tab. 10.1).

1.2.2 Krevní destičky, endotel a fibroblasty

Z cytoplazmy megakaryocytů vznikají velmi časně v prenatálním období nejmenší krevní buňky – krevní destičky neboli trombocyty, které propojují procesy srážení krve a zánětu.

Trombocyty jsou malé (2 μm) bezjaderné disky se třemi druhy cytoplazmatických granul (denzní tělíska, granula alfa a lyzozomální granula). V cévním prostoru zůstávají po celý svůj život (tj. asi deset dní). Při poškození cévní výstelky pod vlivem trombinu nebo tromboxanu A_2 a ADP (adenosindifosfátu) se shlukují a **aktivují krevní koagulaci**.

Pro imunitní systém je významné, že destičky mají **receptory pro imunoglobuliny a komplement**. Vazba imunitních komplexů na jejich receptory pro Fc fragment IgG vyvolává tvorbu mediátorů zánětu (viz kap. 1.4.7). Každá destička má také desítky tisíc membránových molekul nízkovazebných receptorů II pro Fc fragment IgE. Jejich aktivace má za následek produkci látek cytotoxických pro parazity (peroxid vodíku) a faktoru aktivujícího destičky PAF (*platelet activating factor*), který je účinným mediátorem zánětu. Destičky mají také receptory pro proteiny extracelulární matrix fibrinogen, fibronectin a vitronectin. Do regulací vyššího řádu zasahují receptory pro vazopresin a katecholaminy. Při aktivaci produkují cytokin TGF- β .

Destičky jsou zakotveny v místě poruchy cévní výstelky následkem vazby von Willebrandova faktoru na kolagen a jejich membránový glykoprotein. Dále jsou aktivovány přímo kolagenními fibrilami, které se nalézají pod endotelem. Váží se na ně membránovým integrinem. Kolagen poté aktivuje specifický trombocytový kolagenový receptor a Fc gama receptor (a jeho imunoreceptorové tyrozinové aktivační motivy ITAM).

Podobně jako krevní destičky se imunitní odpovědi účastní také **endotelové buňky** vystýlající krevní řečiště. Jsou aktivovány lipopolysacharidem a zánětovými cytokiny k produkci interleukinů IL-1 a IL-6, metabolitů kyseliny arachidonové, adhezinů a chemotaktických substancí (PAF, leukotrien B_4 , chemokiny). Endotelové buňky mají ve speciálních Weibel-Paladeho granulech uloženy aktivní substance (von Willebrandův faktor pro koagulaci, endotelin pro vazokonstrikci, P-selektin pro zahájení buněčných adhezí a po aktivaci také chemoatraktant neutrofilů interleukin IL-8), které mohou být okamžitě uvolněny histaminovou reakcí. To umožňuje bezprostřední zánětovou reakci cévní výstelky v případě průniku patogenů do cirkulace. Vysoký kubický endotel postkapilárních venul v lymfatických uzlinách, Peyerových plácích a tonzilách (ne ve slezině) je místem vycestování lymfocytů z cév (řádově deset tisíc buněk každou sekundu v jedné uzlině!).

Fibroblasty jako hlavní producenti extracelulární matrix umožňují hojení ran a reparaci tkání. Zánětové cytokiny (zejména interleukin-1) je stimulují k produkci řady chemokinů a růstových faktorů, z nichž FGF-7 (*fibroblast growth factor*) podporuje buňky epidermis a střevního epitelu. Chronická stimulace fibroblastů zánětovými cytokiny IL-1 a TNF může vést až k patologické fibróze.

1.2.3 Makrofágy a dendritické buňky

Makrofágy jsou ústředními buňkami přirozené imunity s významnou regulační rolí. Hrají zásadní roli v ochraně před intracelulárními patogeny a v odstraňování poškozených vlastních buněk. Mají také úlohu v prezentaci antigenu T-lymfocytům. Dendritické buňky jsou heterogenní populací buněk, funkčně jsou nejučinnějšími buňkami v prezentaci antigenu a přeměně naivních T-lymfocytů na efektorové buňky.

Makrofágy

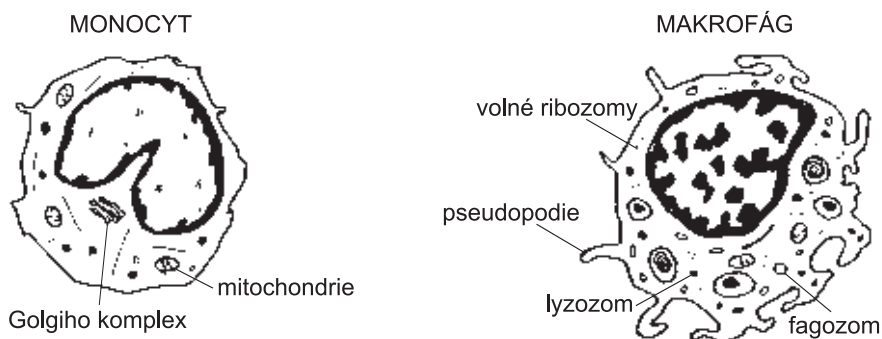
Mnohačetnou funkcí makrofágů je řízení hemopoézy, hemostázy a hojení ran, destrukce mikroorganismů a regulace zánětu (syntéza proteinů akutní fáze), odstranění mrtvých buněk a regenerace tkání, cytotoxické reakce, prezentace antigenu T-lymfocytům, regulace odpovědi T-lymfocytů a regulace tolerance, např. na mateřsko-fetálním rozhraní.

Makrofágy se vyvíjejí z kmenové hemopoetické buňky kostní dřeně **přes CFU-GEMM** (prekurzor nelymfatických buněk), CFU-GM (společný prekurzor granulocytů a makrofágů) a CFU-M pod vlivem cytokinů IL-3, GM-CSF a M-CSF. Dále proliferují a diferencují se v **monoblasty** a **promonocyty**.

Do krevního oběhu vstupují jako **monocyty**, velké neproliferující buňky s ledvinovitým jádrem (obr. 1.2). Krevní monocyty jsou tvořeny vícero populacemi buněk, které se liší intenzitou exprese některých povrchových molekul (např. CD16, CD43, CD163, Ly6C, receptory pro chemokiny). Monocyty jsou schopny vycestovat do tkáně, ve které probíhá zánět, a diferencovat se zde v „zánětlivé“ makrofágy. Během zrání monocytů v makrofágy se zvětšuje počet lyzozomů, receptorů pro Fc fragment IgG a receptorů pro C3 složku komplementu a zvyšuje se schopnost fagocytózy a opsonizace (tj. obalení antigenu protilátkami a komplementem) (viz kap. 1.4.1). Makrofágy migrují do ohnisek zánětu po 6–12 hodinách, vydrží tam déle než granulocyty a řídí jeho průběh. Jsou aktivovány zejména bakteriálním lipopolysacharidem (LPS) a interferonem- γ (IFN- γ).

V případě, že monocyty nevycestují do tkání, zůstávají v krvi. Zde postupem času maturují, zvyšují nebo snižují intenzitu exprese povrchových molekul a mění se na „rezidentní“ monocyty. Tyto monocyty postupně vycestovávají do různých tkání a zde se vlivem lokálního tkáňového mikroprostředí mění na tkáňové „rezidentní“ makrofágy (a možná také dendritické buňky). Funkcí těchto buněk je vykonávání imunitního dozoru v dané tkáni. Obnova tkáňových makrofágů se děje nejenom vycestováváním krevních monocytů, ale za určitých podmínek je možná též lokální proliferace tkáňových makrofágů.

Tkáňové makrofágy (obr. 1.2) vykazují značnou heterogenitu v závislosti na typu tkáně. Patří k nim Kupfferovy buňky jater, alveolární a perivaskulární plicní makrofágy, histiocyty pojiva, osteoklasty v kostech, synoviální A-buňky, mikroglie CNS, mezangiální buňky, makrofágy marginální zóny sleziny a germinálních center, peritoneální a pleurální makrofágy, buňky mléčných skvrn omenta, makrofágy žilných splavů, červené pulpy sleziny a thymu.



Obr. 1.2 Morfologie monocytů a makrofágů

Produkty aktivovaných makrofágů jsou trávicí enzymy a jejich inhibitory, složky klasické a alternativní dráhy komplementu a jejich regulační proteiny, reaktivní metabolity kyslíku a dusíku a jejich inhibitory (interleukin-10), metabolity kyseliny arachidonové, koagulační faktory, proteiny extracelulární matrix (fibronektin a trombospodin), cytokiny zánětu (interleukiny IL-1 a IL-6, TNF- α , interferony- α , - β , PDGF, FGF a TGF- β), chemokiny (MCP, MIP, IL-8), diferenciační faktory GM-CSF, Epo, G-CSF a M-CSF (viz kap. 1.4.6), transferin a další transportní proteiny, angiogenetické a další biologicky účinné látky.

Některými autory jsou popisovány dvě populace makrofágů: M1 (klasicky aktivované makrofágy) a M2 (alternativně aktivované makrofágy). Tyto populace se liší mírou jejich pro- a protizánětlivého účinku.

Dendritické buňky

Dendritické buňky (DC – *dendritic cells*) je možné na základě přítomnosti nebo nepřítomnosti některých molekul rozdělit na dvě funkčně odlišné populace – myeloidní (jsou CD11c pozitivní) a lymfoidní (jsou CD11c negativní). Vývoj myeloidních DC je popsán lépe: Vyvíjejí se v kostní dřeni z prekursoru společného s makrofágy; vývoj lymfoidních DC je zatím nejasný. V nelymfatických tkáních (v některých epitelech a intersticiu vnitřních orgánů) se nezralé dendritické buňky setkávají s antigeny a zpracovávají je k prezentaci. Pod vlivem antigenních a zánětových molekul dozrávají na zralé dendritické buňky, jež putují do sekundárních lymfatických orgánů. Tam prezentací antigenů ve vazbě na MHC molekuly a pomocí kostimulačních signálů (CD80/86) aktivují T-buňky, což je klíčovým bodem indukce specifické imunitní odpovědi. Na rozdíl od makrofágů účinně prezentují také antigenní peptidy buněk, které byly usmrceny apoptózou (zatímco v makrofázích jsou rozloženy).

Lipopolysacharid (LPS) a zánětlivé cytokiny TNF- α , IFN- γ , IL-1 jsou významnými induktory zrání dendritických buněk. Při zranění dojde k prodloužení poločasu molekuly MHC II na membráně dendritické buňky z 10 na 100 hodin (není již exprimována bez navázaného antigenního peptidu).

Zralé dendritické buňky mají cípátý tvar a produkují TNF- α a IL-1 a IL-12. Na rozdíl od monocytů/makrofágů nemají receptor pro lipopolysacharid CD14. Mají však na svém povrchu řadu molekul, které potřebují ke své funkci: receptory pro cytokiny a chemokiny, Fc-receptory pro rozpoznání částic označených protilátkou (kap. 1.4.3) nebo receptory rozpoznávající molekuly charakteristické pro patogeny – tzv. TLR (kap. 1.4.2). **Langerhansovy buňky** epitelu kůže, jícnu a pochvy jsou dendritické buňky

obsahující v cytoplazmě válcovitá Birbeckova granula. Tyto buňky mají všechny tři druhy molekul prezentující antigen – MHC-I MHC-II i CD1 (kap. 1.4.10).

Po setkání s antigeny putují dendritické buňky z epitelů a dermis aferentními lymfatickými cévami jako **závojové buňky** (*veiled cells*) do parakortexu regionálních mízních uzlin a dendritické buňky z intersticia orgánů krevním oběhem (tvoří asi 1 % cirkulujících leukocytů) do periarteriolární pochvy sleziny. V těchto takzvaných T oblastech se mění na **interdigitující dendritické buňky**, které prezentují antigeny T-lymfocytům během primární specifické imunitní odpovědi. V B oblastech sekundárních lymfatických orgánů (v germinálních centrech) se nachází **folikulární dendritické buňky**, které se (patrně jako depo imunokomplexů) účastní sekundární imunitní odpovědi. Síť dendritických buněk je nezbytná pro specifickou odpověď a její rozrušení (např. při syndromu získané imunodeficience) se projevuje poklesem specifčnosti imunitní odpovědi.

Významná populace DC se nachází na kortikomedulárním rozhraní tymu a podílí se na selekci vyvíjejících se T-lymfocytů (viz kap. 1.2.6). Mimo to se popisují i tzv. **plasmacytoidní DC**, které jsou po stimulaci infekčními (zejména virovými) agens zdrojem velkého množství interferonů typu I.

1.2.4 Granulocyty a žírné buňky

Do skupiny granulocytů patří buňky s různými obrannými funkcemi nespecifické imunity.

Neutrofilní granulocyty jsou krátkověké polymorfonukleární fagocyty odpovědné za obranu proti mikroorganizmům. Představují hlavní buněčnou populaci akutního bakteriálního zánětu.

Eozinofilní granulocyty hrají významnou roli při obraně proti metazoálním infekcím (zejména červy). Fagocytují bakterie, houby, mykoplazmata a imunitní komplexy.

Bazofilní granulocyty v cirkulaci a žírné buňky na rozhraní vnitřního a vnějšího prostředí organismu jsou induktory zánětu, regulují cévní propustnost, hladkou svalovinu a sekreci hlenu.

Granulocyty se vyvíjejí v kostní dřeni z kmenové buňky přes CFU-GEMM (prekurzor nelymfatických buněk), CFU-GM (společný precursor granulocytů a makrofágů), CFU-G, myeloblasty, promyelocyty s prvními granuly, myelocyty, metamyelocyty a tyčky (buňky s nesegmentovaným jádrem). Zralé granulocyty vstupují do krevního oběhu. Jsou to středně velké buňky s laločnatým (bazofily) až několikrát segmentovaným jádrem (neutrofily), pro které se nazývají polymorfonukleáry. Jejich **cytoplazma obsahuje četná granula**, podle jejichž barvitelnosti se rozdělují na neutrofilní, eozinofilní a bazofilní granulocyty (obr. 1.3). Toto dělení vymezuje tři funkčně odlišné populace.

Granulocyty a žírné buňky mají receptory pro komplement a receptory pro Fc fragment IgG, IgA a IgE. Granulocyty jsou krátkověké a jsou přítomny i v cirkulaci. Žírné buňky žijí déle (zhruba měsíc) a jsou přítomny jen ve tkáních.



Obr. 1.3 Morfologie granulocytů

Neutrofilní granulocyty

Neutrofile mají segmentované jádro a drobná různě se barvící granula v cytoplazmě. Ve stadiu promyelocytu se vyvíjejí velká **primární azurofilní granula** (podobná lyzozomům), která obsahují myeloperoxidázu, defenziny (narušující permeabilitu membrány cílových buněk), lyzozym, kationické proteiny, proteázy a hydrolázy. Ve stadiu myelocytu a metamyelocytu se objevují **sekundární specifická granula** obsahující mimo jiné lyzozym, laktoferin a kolagenázu. V konečných stádiích diferenciaci se objevují **terciární granula**, která obsahují gelatinázu a aktivátor plazminogenu. Původně kulaté jádro nezralých buněk se koncem diferenciaci protáhne (stadium tyčky) a u zralých buněk získá laločnatý tvar.

Zralé neutrofile tvoří přes 90 % granulocytů v krvi a jsou produkovány rychlostí kolem milionu buněk za sekundu. Při zánětlivých infekčních procesech se produkce může ještě o řád zvýšit. V krevním oběhu setrvávají zhruba šest hodin a vstupují do tkání, kde přežívají asi dva dny. Pronikají rychle do zánětlivých ložisek a pohlcují tam mikroorganismy, zejména jsou-li povlečené (opsonizované) protilátkou. Zabíjení pohlcených mikrobů se děje buď neoxidativní (degranulace a uvolnění enzymů), nebo oxidativní cestou při respiračním vzplanutí (tab. 1.3).

Tab. 1.3 Mikrobicidní buněčné mechanismy

1 Mechanismy respiračního vzplanutí (aktivace NADPH oxidázy)

1.1 Reaktivní kyslíkové intermediáty (ROI, reactive oxygen intermediates)

superoxidový anion O_2^-

hydroxyl $OH^\bullet$

superoxid $O_2^\bullet$

singletový kyslík

peroxyl $ROO^\bullet$, alkoxy $RO^\bullet$

peroxid vodíku (myeloperoxidáza $\rightarrow Cl^-$ – kyselina chlorná $HOCl$)

1.2 Reaktivní dusíkové intermediáty (RNI, reactive nitrogen intermediates)

oxid dusnatý $NO^\bullet$ (se superoxidem – peroxynitrový anion $ONOO^-$)

2 Substance granule nezávislé na kyslíku

lyzozym a neutrální proteázy

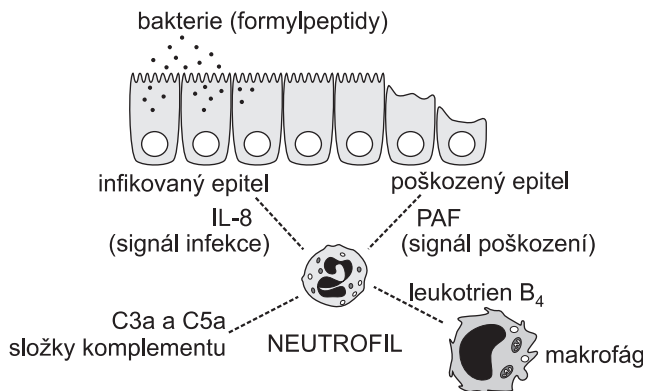
kyselé hydrolázy

laktoferin

defenziny

BPI (baktericidal/permeability increasing protein)

Neutrofilý odpovídají migraci na mnoho chemotaktických signálů (obr. 1.4). Záněty s vysokou aktivitou neutrofilů vedou často ke tkáňovému poškození (bronchitida, bronchiektázie, emfyzém, astma, glomerulonefritida, infarkt myokardu, ateroskleróza, artritida, vaskulitida, zánětlivé procesy ve střevě, dermatózy – tedy hlavně ve slizničním a oběhovém systému).



Obr. 1.4 Chemotaktické signály neutrofilních granulocytů

Eozinofily

Tvoří kolem 1 % krevních leukocytů u zdravých jedinců a malou populaci v lamina propria střevní sliznice a v pojivech. V kostní dřeni se vyvíjejí 2–6 dní, v krevním oběhu jsou přítomny 6–12 hodin, v tkáních 4–10 dní. Na každý cirkulující eozinofil připadá asi 200 eozinofilů v kostní dřeni a 500 v pojivech.

Obsahují **velká granula** (0,5 μm) s **centrálním krystaloidem**, barví se eozinem červeně. Eozin se váže na toxické kationické proteiny MBP, ECP a EDN. Granula obsahují také histaminázu, peroxidázu a lyzozomální enzymy. Lyzofosfolipáza je hlavní složkou bipyramidálních Charcot-Leydenových krystalů pozorovaných při zmnožení eozinofilů během chronických zánětů a parazitárních nebo alergických onemocnění. Eozinofily mají receptory pro komplement, nízkovazebné Fc receptory II pro IgE a Fc receptory pro IgG.

Po aktivaci produkují leukotrieny (dříve nazývané pomalu reagující substance anafylaxe) a faktor aktivující destičky (PAF) vyvolávající kontrakce hladkého svalstva a zvýšenou produkci hlenu. Produkují řadu interleukinů, TNF- α a TGF- β a mohou vyjadřovat MHC II molekuly.

Funkcí aktivovaných eozinofilů je fagocytóza imunitních komplexů a zabití mnohobuněčných parazitů toxickými produkty a kyslíkovými metabolity. Jsou schopny omezené fagocytózy mikroorganismů (prvoků, hub a bakterií).

Při dysregulaci nenávratně poškozuji vlastní tkáň. U alergií migrují do tkání až po aktivaci žírných buněk a Th2 lymfocytů.

Bazofily a žírné buňky

Bazofily a žírné buňky jsou dvě odlišné buněčné populace, které se vyvíjejí ze stejného prekursoru v kostní dřeni, mají podobnou strukturu a úlohu, ale obsazují dvě

různé niky organismu. Zatímco malé krátkověké bazofily jsou terminálním stadiem v krvi, žírné buňky (dlouhověké a schopné proliferace) jsou vázány na pojiva. Obě populace charakterizují velká granula obsahující histamin, proteoglykany a proteázy. Tato granula s mediátory reakce přecitlivělosti se uvolní z buněk (u bazofilů tento proces může trvat i několik dní) po zřetěžení IgE protilátek (navázaných na molekuly receptoru FcεRI – je jich přes sto tisíc na jedné buňce) multivalentním antigenem – **alergenem**.

Žírné buňky byly objeveny Paulem Ehrlichem pomocí fialového zbarvení jejich granul bazickými barvivy. Zrají v tkáních pod vlivem SCF (*stem cell factor*), produkováným fibroblasty nebo aktivovanými enterocyty. Jsou velmi četné ve střevní sliznici (20 000 v 1 mm³ tkáně), kůži (10 000) a plicích (500–4000).

Biologickou úlohou žírných buněk je dozor v hraničních oblastech organismu. Žírné buňky mají receptory pro Fc fragment IgG a CR3 receptory pro iC3b složku komplementu, které jim umožňují pohlcovat opsonizované bakterie. Mohou však řadu bakterií (zejména enterobakterie) vázat přímo a přitom uvolňují mediátory zá-
nětu, zejména histamin a TNF.

K aktivaci žírných buněk stačí svázání pouhých sto IgE molekul. Přitom dojde k degranulaci a uvolnění řady biologicky aktivních látek (viz kap. 6.3):

- a) **spazmogeny** – histamin (serotonin), dráždiví senzorické nervy (svědění a kýchání) a spolu s bronchokonstriktory (leukotrieny C₄, D₄ a prostaglandin D₂) vyvolávající zvýšenou sekreci hlenu a zvýšenou propustnost cévních stěn;
- b) **chemotaktické faktory** – pro eozinofily (ECF, IL-5), bazofily (leukotrien B₄), destičky (PAF), neutrofile (IL-8), makrofágy (TNF-α, GM-CSF) a T-lymfocyty (MIP-1).

Žírné buňky dovedou na bariérách rychle indukovat zánět, v některých případech však jejich aktivita vede k nepřiměřené alergické reakci. Tvoří dva odlišné typy: **pojivové a slizniční buňky** (tab. 1.4).

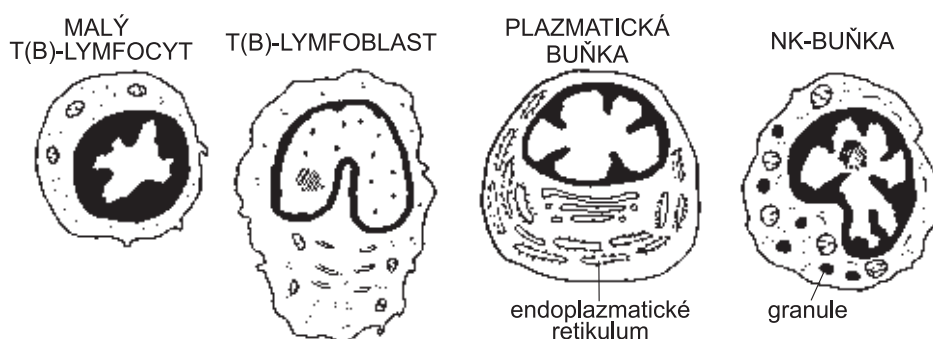
Tab. 1.4 Rozdíly mezi pojivovými a slizničními žírnými buňkami

	Pojivové žírné buňky	Slizniční žírné buňky
velikost (μm)	20	10
proliferace	ne	ano
barvení safraninem	ano	ne
proteoglykan	heparin	chondroitinsulfát
délka života	6 měsíců	1 měsíc
receptory pro IgE	20 000	2 miliony
metabolit kyseliny arachidonové	PGD ₂	LTC ₄
regulace T-buňkami	ne	ano + IL-4
suprese IFN-γ	ne	ano
distribuce	kůže 10 ¹⁰ /m ² , pojiva	plice 10 ⁹ /kg, nosní a střevní sliznice

1.2.5 Lymfocyty

Lymfocyty jsou funkčně heterogenní populací imunitních buněk, která se vyvinula u obratlovců. Hlavní populace lymfocytů tvoří T- a B-lymfocyty, které zajišťují specifickou imunitu. K lymfocytům se však řadí i přirození zabíječi – NK-buňky, které představují populaci cytotoxických buněk nespecifické imunity.

Lymfocyty jsou kulaté mononukleární buňky většinou s malým množstvím cytoplazmy (obr. 1.5). Jejich funkce byla dlouho nejasná a teprve ve druhé polovině 20. století byla postupně poodkryta. Je to **specifické rozpoznání antigenu** s následnou regulační nebo efektorovou funkcí.



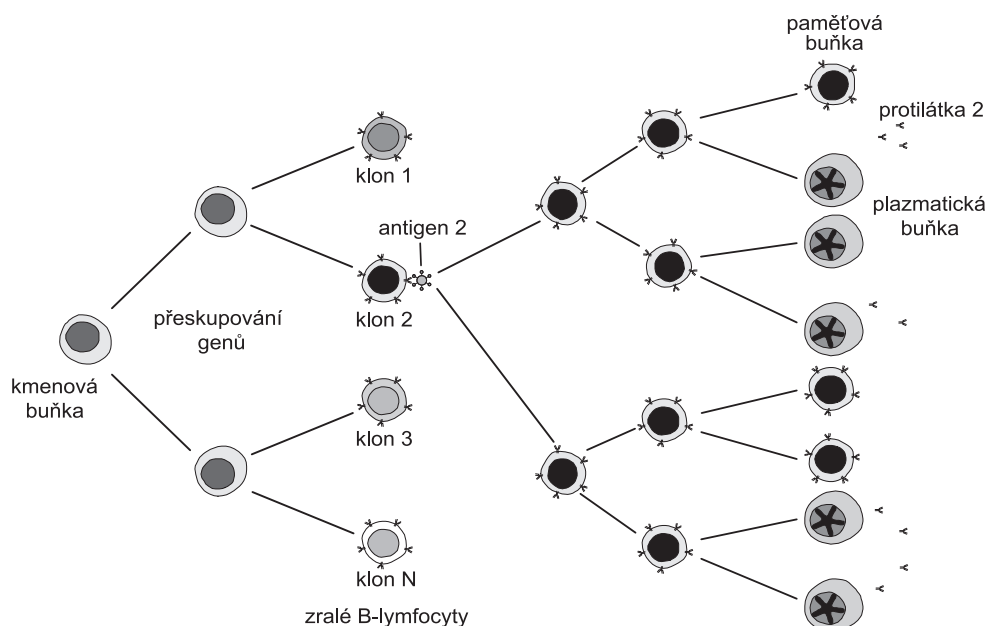
Obr. 1.5 Morfologie lymfocytů

K lymfocytům se řadí fylogeneticky staré NK-buňky patřící k buňkám nespecifické imunity rozpoznávající cílovou buňku pomocí receptorů kódovaných genomem a T- a B-lymfocyty s klonálními receptory vznikajícími složitým diferenciačním procesem v průběhu života (obr. 1.6).

Klonální teorie

Pro každý epitop antigenu existuje v organismu klon buněk s příslušným receptorem, který má originální strukturu, zvanou vazebné místo, právě jen pro tento antigen. Specifita rozpoznávání antigenů je velmi vysoká. Receptory T- a B-lymfocytů jsou schopny v molekule antigenního fragmentu rozlišit záměnu jediné aminokyseliny. Klonální receptory se vytvářejí během zrání lymfocytů přeskupováním genových úseků (viz variabilita vazebného místa). Potenciál této variability přesahuje 10^{18} kombinací a není vyčerpán ani za celý život organismu.

Po rozpoznání antigenu se jednotlivé typy lymfocytů zapojují do různých regulačních a efektorových mechanismů. Mohou prezentovat antigen T-buňkám (B-lymfocyty), usměrňují imunitní reakci ve směru buněčné nebo protilátkové imunity (pomocné Th-lymfocyty), působí cytotoxicky (NK-buňky a cytotoxické Tc-lymfocyty)



Obr. 1.6 Schéma klonální teorie

nebo se účastní tvorby protilátek (B-buňky s pomocí Th-lymfocytů). Významným rysem specifické odpovědi je **imunologická paměť** a **sekundární imunitní odpověď**.

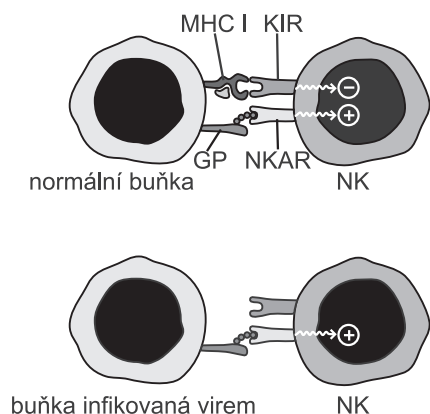
NK-buňky (*natural killers* – přirození zabíječi)

Byly objeveny počátkem sedmdesátých let 20. století. Diferencují se časně v embryogenezi (z prekurzoru společného s T-lymfocyty) jako neadherentní lymfocyty bez membránových T znaků CD3 a TCR. Jejich cytoplazma obsahuje trvale cytotoxická granula (obr. 1.5), a proto byly NK-buňky také označovány jako velké granulární lymfocyty. Mají membránové receptory **NKAR** (*NK activating receptors*) a **KIR** (*killer cells inhibitory receptors*) a Fc receptory pro IgG (CD16, CD32). Dále mají T znaky CD2 a CD7 a myeloidní znak CD11/CD18. Vyskytují se hlavně v periferní krvi, slezině, játrech, plicích a děloze. V lidské imunologii se pro identifikaci NK-buněk používá znak CD56. Jeho identifikace řady živočišných druhů není možná pro chybění specifických nástrojů nebo je exprese tohoto znaku odlišná.

Úlohou NK-buněk je především likvidace intracelulárních patogenů (hlavně virů) a nádorových buněk (metastáz). Byly však u nich prokázány i další funkce, například na udržení úspěšné březosti nebo regulace krvetvorby.

Mezi **aktivační receptory NK-buněk** (NKAR) patří aktivátory apoptózy (TNFR1 receptor pro TNF a molekula CD95/Fas), adheziny (ICAM-1,2,3 a integriny), aktivátor proliferace (receptor pro IL-2) a konečně receptory pro rozpoznání a lýzu (lektiny rozpoznávající alely MHC I a oligosacharidy na membránových glykoproteinech).

NK-lymfocyty rozpoznávají buňky, jimž chybějí MHC I molekuly (obr. 1.7). Při setkání se zdravou buňkou se jejich **inhibiční receptory** (KIR) navážou na molekuly MHC I a inhibují lýzu zdravé buňky. Avšak při absenci, sníženém množství nebo změně MHC I na cílové buňce dojde k cytotoxické reakci.



NK-buňky jsou aktivovány interleukiny IL-2 a IL-12 a interferony typu 1 (IFN- α , IFN- β). Samy produkují široké spektrum cytokinů (např. IFN- γ , TNF, GM-CSF, TGF- β), neuroadhezínů (CD56), hormonů (prolaktin), neuropeptidů a opioidů, jimiž komunikují s neurohumorálním systémem. Jedinci s nedostatečnou aktivitou NK mají fatální infekce (u lidí EBV, cytomegaloviry).

Obr. 1.7 Princip aktivace NK-buňky

1.2.6 Tymus a diferenciaci T-lymfocytů

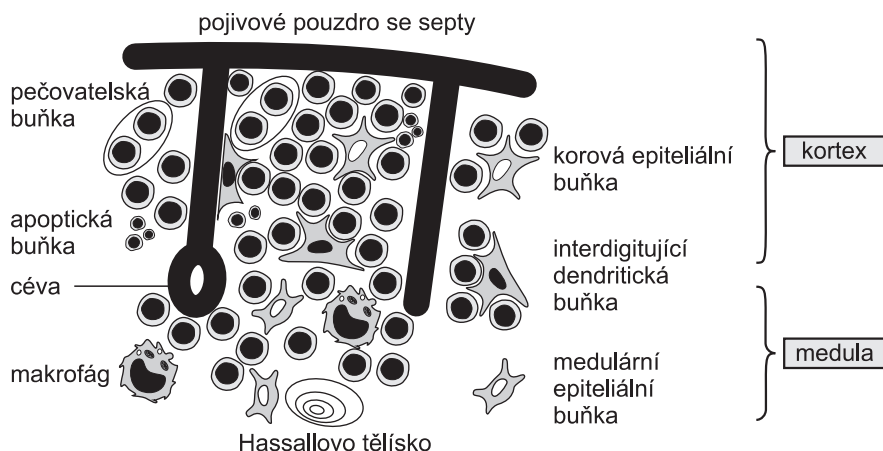
Brzlík – tymus je primární lymfatický orgán, který je místem diferenciaci T-lymfocytů. Progenitory T-lymfocytů pocházející z fetální kostní dřeně osídlují tymus a prodělávají zde složitou diferenciaci, během níž dochází mimo jiné i k selekci klonů, které jsou schopny rozeznávat cizí antigen, zatímco autoreaktivní klony jsou odstraňovány.

Zralé T-lymfocyty mají specifický receptor pro antigen TCR1, který je tvořen řetězcí $\gamma\delta$, nebo receptor TCR2 tvořený řetězcí $\alpha\beta$. Zastoupení lymfocytů s TCR1 a TCR2 se u některých živočišných druhů liší od situace u člověka, kde je zastoupení TCR2 v převaze. TCR je schopen rozpoznat pouze antigenní oligopeptidy navázané na molekulu MHC nebo peptidy, lipidy a glykolipidy navázané na nepolymorfni molekulu CD1.

Brzlík – tymus

Tymus je uložen za horní částí sternu. Embryonálně vzniká ze třetího a čtvrtého hltanového váčku a na jeho organizaci se podílí kromě entodermu také ektoderm žaberní štěrbinu a mezenchym pojiva. Po oddělení paratyreoidy tvoří epitelové stroma tymu denzní buněčnou masu. V tomto časném fetálním období obsahuje pouze lymfatické prekursor s membránovým proteinem CD7 a s cytoplazmatickými proteiny CD2 a CD3. Tymus většiny obratlovců dosahuje maximální relativní váhy krátce po narození. V dospívání se jeho růst zastaví a orgán počne propadat involuci.

Brzlík je rozdělen vazivovými septy do menších lalůčků – lobulů (obr. 1.8). V každém lalůčku je periferní kůra (**kortex**) a centrální dřevina (**medula**). Ve dřevině se už prenatalně objevují **Hassalova tělíska** (tvořená epitelovými buňkami, makrofágy a buněčným detritem), jejichž funkce je neznámá. Před antigenními vlivy z vnějšku je chráněn speciální stavbou korových cév, které jsou kryty epitelovou membránou. Tymus se neúčastní imunitních reakcí, ale představuje mikroprostředí, v němž zraje T-lymfocyty. K tomuto účelu slouží řada specializovaných buněčných populací, zejména epitelových buněk (např. pečovatelské buňky – *nurse cells*) a makrofágů.



Obr. 1.8 *Struktura thymu*

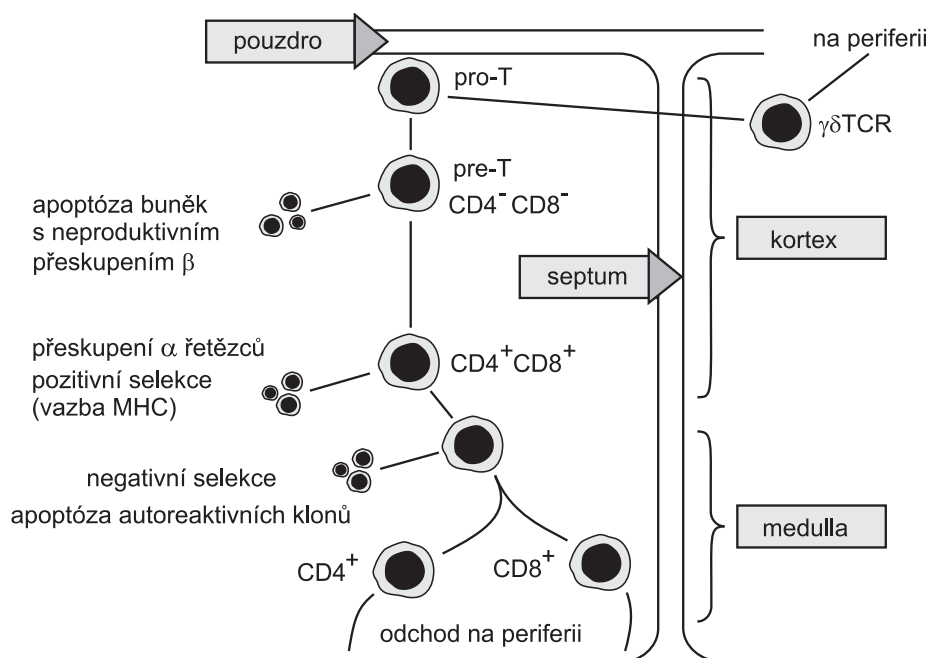
Diferenciace T-lymfocytů

Nediferencované progenitory T-lymfocytů pocházející z fetální kostní dřeně (u druhů s dlouhou gestací už z embryonálních lymfopoetických orgánů) se nejprve shromažďují v peritymické oblasti a pak migrují do fetálního brzlíku a kolonizují korový epitel. Ztratí zde původní znaky a počnou produkovat znaky T-buněk. Toto počáteční stadium se nazývá **pro-T-buňka** (progenitor), v jejíž diferenciaci hraje významnou roli cytokin IL-7.

Selekční mechanismy, které vedou k výběru a diferenciaci vhodných klonů lymfocytů, počínají v kůře pod pouzdem orgánu (obr. 1.9). Zde proliferují blastům podobné buňky obsahující enzym terminální deoxynukleotidyltransferázu (TdT) a produkty genů RAG1 a RAG2 (rekombinaci aktivující geny), tedy faktory nutné pro zahájení přeskupování genů kódujících diverzitu vazebného místa pro antigen. RAG jsou vyjádřeny výlučně ve vyvíjejících se T- a B-lymfocytech, rozeznávají speciální rekombinační signální sekvence DNA a aktivují enzym rekombinázu. Dochází k **přeskupování genů pro TCR** (nejdříve $\gamma\delta$ TCR, potom na jiných lymfocytech geny pro β řetězec). Tyto buňky nemají ani CD4 znak ani CD8 znak na membráně, a nazývají se proto „**dvojitě negativní**“ lymfocyty. Pak se vytvoří přechodný receptor **pre-TCR** s β řetězcem a dojde k selekci a apoptotické smrti buněk, které měly neproduktivní přeskupení genů. Buňky vybrané touto první selekcí pro další diferenciaci exprimují na svém povrchu CD4 i CD8 a nazývají se „**dvojitě pozitivní**“. U nich dojde k přeskupení genů pro α řetězec a vytvoření trvalého **TCR** (specifického receptoru pro antigen).

Další vývoj směřuje k odlišení a eliminaci klonů buněk rozeznávajících tělu vlastní antigeny. Ještě v kůře thymu dojde k **pozitivní selekci** tymocytů schopných pomoci svého TCR **rozeznat vlastní molekuly MHC** (na epitelových buňkách). Jestliže lymfocyty nemají $\alpha\beta$ TCR schopný vazby MHC, lymfocyty zahynou do 3–4 dní apoptózou. Při této selekci je odstraněno přes 90 % lymfocytů kůry.

Další diferenciační kroky proběhnou v medule thymu. Vybrané lymfocyty zde prodou **negativní selekcí**, při níž jsou **odstraněny autoreaktivní klon**y s vysokou afinitou k vlastním molekulám MHC medulárních makrofágů a dendritických buněk. Autoreaktivní klony jsou odstraněny také apoptózou.



Obr. 1.9 Diferenciace T-lymfocytů v tymu

Na základě afinity k MHC I nebo MHC II proběhne v medule poslední diferenční krok, během něhož se oddělí populace pomocných a cytotoxických T-lymfocytů. Pomocné **Th-lymfocyty** si ponechají znak **CD4** (afinita k MHC II) a cytotoxické **Tc-lymfocyty** si nechají znak **CD8** (afinita k MHC I).

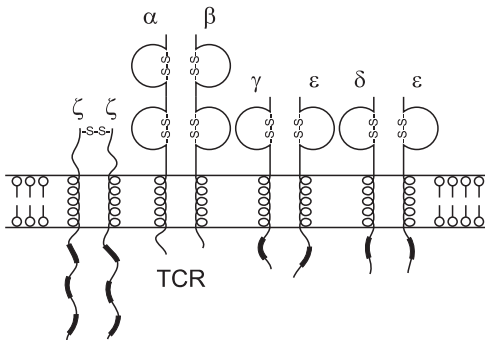
Zralé T-lymfocyty mají specifický receptor pro antigen TCR1, který je tvořen řetězcí $\gamma\delta$ nebo receptor TCR2 tvořený řetězcí $\alpha\beta$. Zralé lymfocyty vystoupí z tymu do krevního oběhu, patrolují v tkáních a znovu se vrací do oběhu. Tato jejich vlastnost se nazývá **recirkulace**. Gama-delta T-lymfocyty tvoří především populaci lymfocytů zajišťující ochranu sliznic.

TCR – receptor pro antigen T-buněk

Specifické **receptory lymfocytů pro antigen** patří do stejné imunoglobulinové rodiny proteinů (obr. 1.10). Jsou to polypeptidické řetězce složené z extracelulárních, transmembránových a krátkých cytoplazmatických úseků. Extracelulární úseky receptorů pro antigen mají variabilní (V) a konstantní (C) oblasti složené z domén o délce asi 110 aminokyselinových zbytků.

V genech pro V oblasti jsou lokalizovány tři hypervariabilní úseky CDR1-3 (complementarity-determining regions) odpovědné za vytvoření vazebného místa (nevariabilní část přispívá pouze 4 %) pro epitop antigenu.

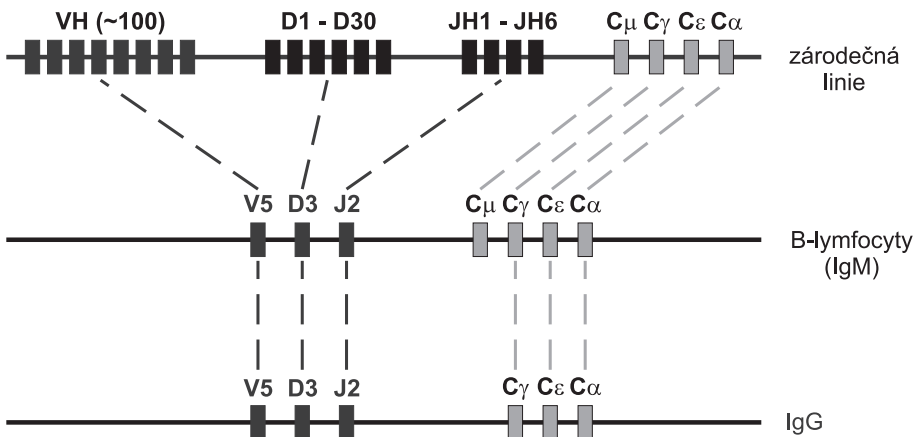
TCR může rozpoznat pouze antigeny navázané na polymorfní molekuly MHC I, MHC II nebo nepolymorfní molekuly CD1 na cytoplazmatické membráně buněk prezentujících antigen (viz kap. 1.4.9). Dva řetězce TCR jsou na membráně T-buněk v komplexu s pěti invariantními řetězci (γ , δ , ϵ CD3 a proteiny ζ , η).



Obr. 1.10 Schéma komplexu TCR-CD3

Variabilita vazebného místa receptoru pro antigen

Mechanismus vzniku diverzity vazebného místa pro antigen je obdobný u receptorů T- a B-lymfocytů i protilátek. Děje se přeskupováním genových segmentů (V, D a J), které jsou přítomny už v zárodečné linii (obr. 1.11). Na konci těchto segmentů jsou rozpoznávací místa RS, které využívají enzymy rekombinázy kódované geny RAG pro přeskupování. Tímto mechanismem vzniká variabilita vazebného místa receptorů pro antigen, aniž by genom byl zatížen přítomností milionů speciálních genů. Počet V-genových segmentů pro alfa, beta, gama a delta řetězce TCR je však výrazně nižší (7–100) než u protilátek (250–1000). Segmenty D jsou pouze u beta a delta řetězců. Na konečnou variabilitu vazebných míst TCR se podílí diverzita vznikající v oblasti propojení segmentů (možnost napojení až šesti dalších nukleotidů), větší počet J-segmentů, možnost přepisu i více D oblastí, a tím i vyšší počet kombinací při přeskupování genových segmentů.



Obr. 1.11 Princip přeskupování genů pro vznik variability vazebného místa

Před definitivním receptorem TCR se objevuje během vývoje T-lymfocytů receptor pre-TCR, který obsahuje beta řetězce s CD3 proteiny, ale místo alfa řetězce s variabilní a konstantní částí obsahuje zvláštní řetězec.

Gama-delta T-lymfocyty

Představují důležitou regulační populaci, spojující **mechanizmy přirozené a specifické imunitní odpovědi**. V lymfatických orgánech jich je málo, zato tvoří významnou buněčnou složku v místech styku organismu se zevním prostředím – v kůži, střevní sliznici a plicích.

Pro přežvýkavce a prasata je typické, že $\gamma\delta$ T-buňky tvoří významnou populaci T-lymfocytů v krvi (u člověka a myši jsou v krvi minoritní populací).

Gama-delta T-buňky se objevují v embryonálním období většinou dříve než $\alpha\beta$ T-buňky a jejich určitá část vyzrává mimo tymus. Funkcí $\gamma\delta$ T-buněk je snad rozpoznávání mikroorganismů a poškozených buněk (stresových proteinů). Při infekci mohou projevit cytotoxickou aktivitu. Regulují a ovlivňují vyzrávání střevního epitelu. Jsou ale také součástí systému přirozené imunity spolu s makrofágy a NK-buňkami. Znaky TCR a CD3 je spojují s $\alpha\beta$ T-buňkami. Jejich $\gamma\delta$ TCR je mnohem příbuznější imunoglobulinům než $\alpha\beta$ TCR.

Odpověď $\gamma\delta$ T-buněk je časnější než $\alpha\beta$ T-buněk a může být provázena produkcí T1 nebo T2 cytokinů (regulujících odlišné odpovědi T-buněk), takže T-buňky mohou takto kontrolovat následnou reaktivitu $\alpha\beta$ T-buněk i výsledný typ imunitní odpovědi.

Prasecí $\gamma\delta$ T-buňky mají tři různé subpopulace podle přítomnosti molekuly CD2 a CD8 na jejich povrchu.

Alfa-beta T-lymfocyty

Rozdělují se na **pomocné lymfocyty Th** (s membránovým znakem CD4) a **cytotoxické lymfocyty Tc** (se znakem CD8). Th-buňky rozeznávají antigenní peptidy prezentované s molekulou MHC II. Tc-buňky rozpoznávají antigenní peptidy prezentované s molekulou MHC I (viz kap. 1.4.9). Pod rozdílnými vlivy regulační cytokinové sítě se diferencují dva základní typy imunitní odpovědi T-lymfocytů: typ 1 je buněčnou odpovědí provázenou zánětem a cytotoxickými reakcemi, typ 2 je signálem pro pomoc B-lymfocytům při tvorbě protilátek. Tyto regulace byly objeveny u Th-lymfocytů a definovaly lymfocyty Th1 a Th2. Striktní dělení na oba typy asi neodpovídá složité skutečnosti a regulační sítě budou patrně mnohem komplexnější (podrobněji viz kap. 1.4.10).

Existuje i populace alfa-beta T-lymfocytů (u některých živočišných druhů početná, např. u prasete), která má na povrchu přítomny současně molekuly CD4 i molekuly CD8. Označují se proto jako tzv. **dvojitě pozitivní lymfocyty**. Nejedná se přitom o prekurzory T-lymfocytů, které „unikly“ z tymu. Na základě *in vitro* funkčních studií se jedná o paměťové Th-lymfocyty, které se účastní antivirové imunity.

V poslední době je popisována populace **regulačních lymfocytů Treg**, která má na svém povrchu přítomen antigen CD4 a ve vysoké intenzitě také molekulu CD25. Zatím jediným přesným identifikačním znakem těchto buněk je intracelulární transkripční faktor **Foxp3**. Tyto buňky se podílí na regulaci reaktivity vůči antigenům těla vlastním. Biologická role těchto buněk v patogenezi autoimunitních onemocnění, některých hypersenzitivit a ochraně proti nádorům je v současnosti předmětem intenzivního výzkumu.

1.2.7 Kostní dřeň a diferenciaci B-lymfocytů

Kostní dřeň je hlavním sídlem postnatální krvetvorby a nejvýznamnějším místem, ve kterém probíhá zrání B-buněk u myši a člověka. Naopak u některých hospodářsky významných druhů zvířat (králík, ovce, ale možná i jiné druhy) je místem vývoje protilátkového repertoáru lymfatická tkáň střeva. Kostní dřeň se následně stává i depem maturovaných lymfocytů: Je například hojně kolonizována plazmatickými buňkami, tj. B-lymfocyty produkujícími imunoglobuliny.

Při utváření kostní dřeně vniká perichondriální mezenchym s cévami do nevaskularizované fetální chrupavky, což má za následek kalcifikaci. Vaskularizovaný mezenchym vytváří retikulum, v němž se usazují kmenové buňky, jež tu proliferují. Pokud je tato rudimentární kost zbavena svého mezenchymu, zdegeneruje. Hematopoézu lze *in vitro* zahájit tyroxinem.

Kostní dřeň má komplexní strukturu organizovanou kolem krevních cév, lymfatické cévy jí však chybí. Z centrální arterie vycházejí větve, které komunikují s cévami procházejícími kostí v bohatém subendosteálním plexu, z něhož se odvádí krev radiálními sinusy do centrální vény. Krvetvorba probíhá v extravaskulární tkáni, jejíž speciální třívrstevná stěna ji odděluje od krevního oběhu (endotel, bazální membrána a výběžky adventiciálních buněk, které se při tukové přeměně stanou tukovými). Hematopoetické buňky jsou obklopeny v kostní dřeni sítí stromálních buněk a makrofágů.

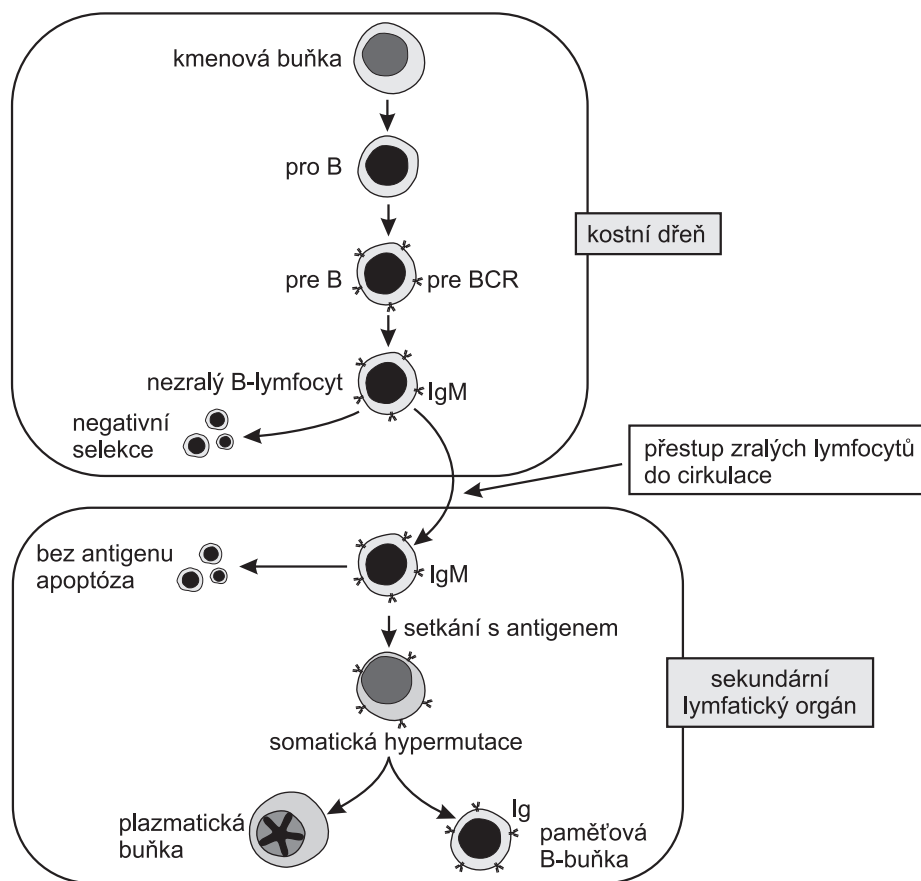
Diferenciace B-buněk začíná ve spolupráci s retikulem (produkujícím IL-7) na endoste, kde se diferencují pre-B-buňky. Z jednoho progenitoru vznikne klonální expanzí více lymfocytů, z nichž však většina neprojde selekčními procesy a je fagocytována makrofágy. Nezralé B-lymfocyty s membránovým IgM opouštějí tkáň centrálním sinusem do krevního oběhu (obr. 1.12).

Negativní selekci buněk reagujících s vlastními antigeny je v kostní dřeni vyraženo 90 % klonů. Některé klony se zachrání před selekcí využitím jiného lehkého řetězce (při tvorbě lehkých řetězců přeskupují jen V a J úseky). Výsledkem selekce je produkce několika milionů klonů denně, což při průměrné délce života B-buněk šest týdnů činí úhrnem asi sto milionů klonů. Vzhledem k tomu, že B-buňky mají variabilitu asi 10^{11} různých vazebných míst, využila by se potenciální kapacita této variability až za sto let života.

B-lymfocyty se vytvářejí z prekurzorů, jejichž diferenciaci řídí řada **transkripčních faktorů**. Koncentrace transkripčního faktoru BSAP, specifického aktivátorového proteinu B-buněk, rozhoduje mezi diferenciací B-lymfocytů v germinálním centru na plazmatickou buňku (spolu s vazbou dendritických buněk) nebo paměťovou B-buňku (s účastí Th-buněk).

Z kmenové lymfatické buňky vznikne **progenitorová pro-B-buňka** s TdT, RAG-1 a RAG-2 (podobně jako u T-lymfocytů), která uskuteční výstavbu těžkých řetězců přeskupováním V, D a J genových segmentů. Pokud VDJ produkt dává mRNA pro kompletní těžký řetězec μ , je další přeskupování na druhém chromozomu zastaveno. Každý B-lymfocyt tedy produkuje jediný těžký řetězec kódovaný pouze jedním ze dvou chromozomů (je to tzv. **alelická exkluze**).

Prekurzorová pre-B-buňka má nejdříve prozatímní L řetězec složený ze dvou proteinů kódovaných geny V pre-B a lambda 5. Komplex membránového těžkého



Obr. 1.12 Diferenciace B-lymfocytů

řetězce a prozatimního L řetězce spolu s dimerem signalizačních proteinů Igα a Igβ je receptor **pre-BCR**, který je signálem pro přeskupení V a J genových segmentů pro lehké řetězce kappa s alelickou exkluzí. Není-li tento proces úspěšný na žádném z obou chromozomů, zahájí se přeskupování genů lambda. Neproběhne-li ani ono úspěšně, pre-B-lymfocyt zanikne. K zániku dochází i při vzniku nestabilních dimerů těžkých a lehkých řetězců.

Pod vlivem cytokinů IL-7 a IL-3 dojde ke vzniku nezralého B-lymfocytu.

Nezralé B-lymfocyty mají membránový receptor pro antigen IgM. Dojde-li k zesílení IgM autoantigeny, nezralá buňka zanikne ještě v kostní dřeni.

Zralé B-lymfocyty vstupují do sekundárních lymfatických orgánů (sleziny a uzlin), kde v případě setkání se svým antigenem (a s přispěním dalších signálů) vytvoří klon protilátkotvorných buněk. K finální diferenciaci B-buněk dochází při spolupráci s dendritickými buňkami předkládajícími antigen a pomocnými T-lymfocyty v germinálních centrech folikulů.

B-lymfoblasty jsou aktivačním stavem B-lymfocytů. V germinálních centrech v nich probíhají somatické mutace variabilních oblastí imunoglobulinu, selekce vysokovazebných variant a zrání paměťových a plazmatických buněk.

Hypermutace v germinálních centrech mají milionkrát vyšší frekvenci než je průměrná frekvence mutací v DNA. Následkem toho má téměř každý germinoplast vybraný v centru na základě rozpoznání antigenního epitopu možnost vytvořit protilátku s odlišným vazebným místem, a proto se s postupem protilátkové odpovědi selektují stále vazebnější (více **avidní**) protilátky.

Plazmatické buňky jsou vyplněny endoplazmatickým retikulem s protilátkami. Repertoár protilátkových specifit se začne tvořit už prenatálně. V organismu se vytvoří určitá zásoba B-buněk s membránovým znakem CD5 a nízkovazebnými membránovými Ig receptory rozeznávajícími vlastní struktury. Tyto buňky jsou označovány B1. Definitivní buňky B2 jsou schopné odpovídat na zevní antigeny. Je možné, že B1 buňky dotvářejí autotoleranci k endogenní střevní mikroflóře.

Popsané zrání B-lymfocytů v kostní dřeni a vytváření protilátkového repertoáru v zárodečných centrech lymfatických orgánů je typické pro myš a člověka. U řady jiných druhů jsou naopak místem tvorby primárního protilátkového repertoáru různé lymfatické struktury v oblasti gastrointestinálního traktu. U kura je to specializovaný orgán – Fabriciova burza, u králíka appendix, u skotu, ovce a prasete kontinuální Peyerrův plak v oblasti ilea. Jednotlivé živočišné druhy se také liší počtem genů pro variabilní oblasti imunoglobulinů a mechanismy protilátkové diverzifikace (tab. 1.5). Zatímco u myši a člověka je několik set funkčních genů a variabilita VH oblasti vzniká kombinatorním spojováním, u kura, králíka a pravděpodobně i skotu a prasete je pouze jeden funkční gen pro těžký a jeden funkční gen pro lehký řetězec a variabilita se utváří pomocí genové konverze a somatické hypermutace. Tyto mechanismy jsou podrobněji popsány v kapitolách 2.2.3 a 2.2.4 věnovaných imunitnímu systému ptáků a králíka.

Tab. 1.5 Tvorba protilátkového repertoáru u různých druhů

Druh	Počet genů*			Mechanismy protilátkové diverzifikace
	VH	λ	κ	
člověk	7 (87)	7 (70)	7 (66)	KS = hlavní mechanismus + SH
myš	14 (>100)	3 (3)	4 (140)	KS = hlavní mechanismus + SH
kur	1 (24)	1 (25)	0	GK = hlavní mechanismus + SH
králík	1 (>100)	?	1 (25)	KS + GK + SH
skot	2 (<30)	1 (30)	?	KS + GK (hlavní mechanismus?)
prase	1 (20)	? (4)	2 (60)	+ SH KS = hlavní mechanismus + (GK) + SH

* počet V-rodin (celkový počet genů); ? – není známo, KS – kombinatorní spojování, GK – genová konverze, SH – somatická hypermutace

BCR – receptor pro antigen na B-buňkách

Specifický receptor pro antigen – BCR, je schopen na sebe vázat antigen podobně jako volná protilátková molekula. BCR je tvořen membránovým imunoglobulinem IgM (IgD) v komplexu s molekulami Ig α (CD79a) a Ig β (CD79b), které mají aktivační motivy ITAM a předávají signál do nitra buňky (obr. 1.13).