

Obsah

Seznam zkratk použitých v textu	6
Předmluva	9
Předmluva k českému vydání (Akademik Josef Houšťek)	10
Kapitola 1 Tkáňe a buňky imunitního systému Ivan Mota	13
Kapitola 2 Činnost buněk imunitního systému Ivan Mota	42
Kapitola 3 Antigeny Ivan Mota	65
Kapitola 4 Protilátky Otto G. Bier a Dietrich Götze	74
Kapitola 5 Komplement Wilmar Dias da Silva	113
Kapitola 6 Hlavní histokompatibilitní komplex Dietrich Götze	132
Kapitola 7 Vzájemná reakce antigenu a protilátky Otto G. Bier	169
Kapitola 8 Krevní skupiny Otto G. Bier	214
Kapitola 9 Transplantace Dietrich Götze a Ivan Mota	228
Kapitola 10 Přecitlivělost Ivan Mota	248
Kapitola 11 Imunita Dietrich Götze a Wilmar Dias da Silva	284
Kapitola 12 Stav imunologické nedostatečnosti (imunodeficiencie) Wilmar Dias da Silva a Dietrich Götze	325
Kapitola 13 Autoimunita Wilmar Dias da Silva a Dietrich Götze	349
Kapitola 14 Imunosuprese Wilmar Dias da Silva	379
Stručná historie důležitých imunologických objevů a mezníků ve vývoji	391
Slovníček imunologických termínů	395
Rejstřík	410

Kapitola 1. Tkáň a buňky imunitního systému

Ivan Mota

OBSAH

Histologie a histogeneze lymfoidní tkáň	13
Lymfa a lymfatické cévy	13
Primární a sekundární lymfoidní orgány	14
Původ lymfoidních buněk primárních lymfoidních orgánů	14
Imunologická dichotomie lymfoidního systému	15
Buňky imunitního systému	16
Polymorfonukleární buňky	16
Žírné buňky (mastocyty)	19
Monocyty	21
Lymfocyty	21
Trombocyty	23
Imunologická aktivita primárních lymfoidních orgánů	25
Thymus	25
Fabriciova burza	31
Imunologická aktivita sekundárních lymfoidních orgánů	31
Systém lymfatických uzlin	31
Slezina	35
Další lymfoidní struktury	38
Lokalizace antigenu v lymfoidních orgánech	38
Fylogenetický a ontogenetický vývoj imunologické kapacity	39
Literatura	40

Histologie a histogeneze lymfoidní tkáň

Lymfoidní tkáň je tvořena vláknitým retikulem, jehož síťovina je vyplněna volnými buňkami. Toto fibrilární retikulum se skládá z retikulových vláken, retikulových buněk a fixních makrofágů, které jsou nedílnou součástí retikuloendotelového systému. Většina volných buněk připadá na lymfocyty v různých stadiích diferenciacie, včetně volných makrofágů a plazmatických buněk. Rozlišují se dva typy lymfoidní tkáň: řídká lymfoidní tkáň, kde převládají retikulové buňky, a hutná, kompaktní lymfoidní tkáň s převahou lymfocytů. Kompaktní lymfoidní tkáň se může organizovat v uzlovité útvar, které vytvářejí nodulární lymfatickou tkáň.

Lymfa a lymfatické cévy

Lymfatické cévy mají počátek ve tkáni jako velmi jemné lymfatické kapiláry, které navzájem komunikují a vytvářejí anastomózy, čímž vzniká hustá síť kanálků. Kapiláry mají různý průsvit a postupně se spojují ve větší a větší lymfatické cévy. Jejich stěna se skládá z vrstvy endotelových buněk obklopených zevnějšku řídkou retikulovou vláknitou mřížkou. Na rozdíl od krevních kapilár nemají lymfatické kapiláry bazální membránu. Tento fakt je pravděpodobně odpovědný za schopnost lymfatických kapilár resorbovat makromolekuly z intersticiálního moku a ze zánětlivých exsudátů. Lymfa se tvoří z tkáňového moku, který prochází stěnami lymfatických kapilár a je těmito kapilárami odváděn do mizních uzlin. Průchod vmezenými prostorami v síťovině lymfoidních orgánů umožňuje těsný kontakt mezi substancemi nebo částicemi obsaženými v lymfě

Kapitola 10. Přecitlivělost

Ivan Mota

OBSAH

Přecitlivělost (hypersenzitivita)	248
Klasifikace	249
Anafylaxe (typ I)	249
Anafylaxe u morčat	250
Mechanismus anafylaxe	256
Anafylaktické jevy u člověka	263
Testy na detekci a měření IgE	264
Cytotoxická reakce (typ II)	269
Protilátkové reakce závislé na komplementu	269
Protilátkové reakce nezávislé na komplementu	270
Reakce vyvolané komplexy antigenu s protilátkou (typ III)	270
Metody detekce imunokomplexů	271
Arthusova reakce	272
Sérová nemoc	274
Reakce zprostředkovaná buňkami (pozdní přecitlivělost, typ IV)	275
Reakce na tuberkulin	275
Systémová reakce na tuberkulin	276
Pozdní reakce na proteiny	276
Kontaktní senzitivita	276
Přenos pozdní přecitlivělosti	277
Efektorová buňka v reakcích pozdní přecitlivělosti	277
Mechanismus destrukce cílové buňky	280
Rozpoznávání antigenu zabíjejícími buňkami T	282
Reakce Jonesova—Moteova	282
Literatura	282

Přecitlivělost (hypersenzitivita)

V předcházejících kapitolách bylo vyloženo, jak úvodní setkání organismu s některými původci infekce nebo s jinými škodlivými činiteli může vyvolat tvorbu protilátek, jež pak organismus ochraňuje tím, že cizorodou substancí rozloží, zneutralizují nebo vyloučí, a tak ji zneškodní. Téměř současně s průkazem ochranné funkce imunitních reakcí se však začaly hromadit důkazy o tom, že imunologické reakce nemusí nutně být vždy organismu na prospěch: někdy mohou způsobit i jeho poškození. Tato forma škodlivé reakce se označuje termínem alergie neboli přecitlivělost, hypersenzitivita. Reagují-li organismy, tkáně či buňky takovou neúměrnou reakcí, říká se pak o nich, že jsou senzibilizovány. Protože

alergické reakce jsou reakce imunologické povahy, jsou mimořádně specifické, takže senzibilizovaný organismus reaguje výlučně s antigenními determinantami, které způsobily imunizaci, nebo se strukturami velmi podobnými. Reakce přecitlivělosti se člení do dvou odlišných kategorií podle doby, která uplyne mezi kontaktem senzibilizovaného organismu s antigenem a viditelnými projevy alergické reakce. Podle tohoto kritéria se rozeznávají tzv. reakce časné (bezprostřední) přecitlivělosti, to jsou ty, které se projeví během několika minut nebo nejvýše několika málo hodin, a reakce pozdní přecitlivělosti, jejichž rozvoj vyžaduje mnoho hodin. I když toto časové hledisko týkající se reakční doby má stále platnost jako důležité hledisko pro klasifikaci typů reakcí hypersenzitivit, je dnes

Kapitola 11. Imunita

Dietrich Götze a Wilmar Dias da Silva

OBSAH

Mechanismy imunity	284
Přirozená imunita	284
Polymorfonukleární buňky	286
Migrace	286
Fagocytóza	289
Baktericidní aktivita	290
Makrofágy	293
Vzájemná reakce mikroorganismů s fagocyty	295
Adaptivní imunita	296
Imunitní odpověď na infekci	297
Zvláštní aspekty bakteriálních infekcí	300
Zvláštní aspekty virových infekcí	302
Únik z dosahu imunitních obranných mechanismů	304
Zvláštní aspekty protozoárních a metazoárních nákaz	306
Únik z dosahu imunitních obranných mechanismů	314
Získaná imunita	317
Pasivně získaná imunita	318
Přenos mezi matkou a plodem	318
Imunoterapie	319
Aktivně získaná imunita	322
Vakcíny	324
Literatura	324

Mechanismy imunity

Odolnost vůči infekcím se opírá o několik obranných linií lišících se stupněm své specifčnosti; rozlišuje se přirozená neboli nespecifická imunita a adaptivní, získaná neboli specifická imunita.

S určitým zjednodušením lze definovat přirozenou odolnost jako schopnost jedince vzdorovat infekcím prostřednictvím normálních fyziologických funkcí. Přirozená odolnost nezahrnuje tedy takovou rezistenci, která je výsledkem předchozího setkání s patogenním organismem nebo jeho toxickými produkty; to je princip adaptivní odolnosti. Přirozená odolnost je odkázána na neadaptivní čili normální funkce, jimiž organismus disponuje vždy i bez předchozího podnětu. Avšak přirozená odolnost i adaptivní imunita jsou v úzkém vztahu mezi sebou a působí v součinnosti;

nedostatečnost v jednom či druhém mechanismu vede ke zřetelnému zvýšení četnosti i závažnosti infekcí (viz kap. 12).

Přirozená imunita

První obrannou linií představuje kůže a sliznice. Není to jen pouhá fyzická přehrada: deskvamací a dalšími cestami obměny epitelových buněk na tělesných površích se odstraňuje velký počet ulpívajících mikrobů. Kromě toho je známo, že mléčná kyselina obsažená v potu a nenasycené mastné kyseliny z mazových žlázek působí baktericidně; kůže a sliznice produkují chemické látky s dezinfekčním účinkem. Glykolipidy ve slinách zabraňují uchycení potenciálně kariogenních bakterií na buněčném povrchu epitelu v ústní dutině.

Kapitola 12. Stavy imunologické nedostatečnosti (imunodeficiencie)

Wilmar Dias da Silva a Dietrich Götze

OBSAH

Hodnocení funkcí imunitního systému	326
Imunoglobuliny a protilátky	326
Lymfocyty B	326
Lymfocyty T	327
Fagocyty	328
Třídění imunodeficiencí	329
Deficiencie buněk B	331
Hypogamaglobulinémie a agamaglobulinémie	331
Selektivní, variabilní hypogamaglobulinémie	332
Hypergamaglobulinémie, poruchy buněk tvořících imunoglobuliny	334
Deficiencie buněk T	336
Di Georgeův syndrom	336
Mukokutánní kandidóza	336
Hodgkinova choroba	336
Kombinované deficiencie buněk T a B	336
Syndromy těžkých kombinovaných imunodeficiencí (SCID)	337
Wiskottův–Aldrichův syndrom	338
Teleangiektatická ataxie	338
Poruchy proliferace lymfocytů B a T	339
Lymfomy	339
Kožní lymfomy z buněk T	341
Leukémie	341
Onemocnění způsobená deficiencí fagocytů	343
Neutropenie	343
Poruchy chemotaxe	344
Poruchy ingesce	345
Poruchy baktericidní schopnosti	345
Deficiencie složek komplementu	347
Literatura	348

Moderní boj proti infekčním chorobám využívající pokroků imunoterapie a chemoterapie umožňuje přežití jedinců geneticky predisponovaných k různým nemocem, mezi nimi i imunodeficiencím, které v minulých dobách usmrcovaly tyto nemocné převážně ještě před dosažením reprodukčního věku. Nepříznivým důsledkem těchto léčebných úspěchů je v současné době častější výskyt genů, které byly dříve výjimkou. Lze tedy předpokládat, že v blízké budoucnosti nebudou ani imunodeficiencie nijak vzácným onemocněním.

Imunodeficiencie, koncepčně definované jako anomálie imunologických funkcí, představují do jisté míry experimenty prováděné přírodou; z tohoto hlediska tak poskytují imunologům příležitost studovat a osvětlit důležité aspekty imunitní odpovědi.

V předchozích kapitolách byly popsány subsystémy, které se integrovaně podílejí na imunitní odpovědi; jsou to: lymfocyty B a z nich odvozené buňky tvořící imunoglobuliny (plazmatické buňky) i produkty, které jsou těmito

Kapitola 13. Autoimunita

Wilmar Dias da Silva a Dietrich Götze

OBSAH

Rozpoznání „vlastního“	349
Autoimunita	352
Indukce autoimunity	353
Faktory ovlivňující autoimunitu	355
Autoimunitní onemocnění	358
Tkáňové poškození u autoimunitních chorob	358
Některé autoimunitní choroby	358
Autoimunitní choroby centrálního nervového systému	358
Autoimunitní choroby žláz s vnitřní sekrecí	361
Hematologické autoimunitní choroby	364
Autoimunitní choroby trávicího ústrojí a jater	368
Autoimunitní choroby ledvin	370
Autoimunitní choroby plic	372
Autoimunitní choroby srdce	372
Autoimunitní choroby oka	372
Autoimunitní choroby kůže	373
Systémové autoimunitní choroby	373
Literatura	377

Rozpoznání „vlastního“

Paul Ehrlich razil termín „horror autotoxicus“, aby se nějak vypořádal s otázkou, proč organismus za normálních podmínek nereaguje proti svým vlastním složkám (prevence autoreaktivity, autotolerance). Burnet později navrhl hypotetický mechanismus, jímž by mohla být navozena tolerance „vlastního“: jeho teorie je známá jako teorie klonální delece („vypuštění“ specifických klonů), nebo teorie abortivní ztráty specifických klonů. Podle ní jsou lymfocyty namířené proti vlastním determinantám eliminovány již během fetálního života (jako tzv. zakázané klony). Witebsky a Rose však přinesli v roce 1956 první doklady o tom, že tato teorie nemusí plně vysvětlovat toleranci vlastních složek (autotolerance). Tito autoři totiž ukázali, že králci jsou schopni proti svému vlastnímu tyroglobulinu vytvořit protilátky, pokud jsou imunizováni tímto tyroglobulinem s kompletním Freundovým adjuvans. Další práce ukázaly, že normální jedinci

mají lymfocyty B, které jsou schopné se specificky vázat s tyroglobulinem. Jestliže se tyto buňky B selektivně odstraní tím, že se podá tyroglobulin označený radioaktivním izotopem s velmi vysokou specifickou aktivitou a záření izotopu zničí buňky, které antigen navázaly (tzv. sebevražedný efekt), zabrání to tvorbě protilátek a vývoji autoimunitní tyroiditidy. Četné pozdější pokusy přinesly hojnost dokladů o tom, že v séru normálních, zdravých jedinců se běžně vyskytují autoprotilátky proti vlastním antigenům a že vhodnou imunizací nebo stimulací lze vyvolat tvorbu autoprotilátek proti prakticky kterékoli vlastní složce; polyklonální mitogeny pro buňky B, jako je např. lipopolysacharid, mohou *in vivo* nespecificky aktivovat potenciálně autoreaktivní buňky a způsobit, že se vytvoří měřitelná množství sérových autoprotilátek. Tento stav autoimunity vyvolaný LPS má tendenci se spontánně upravit a autoprotilátky vymizí za krátkou dobu, jakmile se přeruší podávání LPS.

Kapitola 14. Imunosuprese

Wilmar Dias da Silva

OBSAH

Obecné mechanismy účinku imunosupresivních látek	381
Inhibice cytogeneze imunokompetentních buněk	382
Thymektomie a burzektomie	382
Zničení nebo inaktivace imunokompetentních buněk	383
Ozáření	383
Antilymfocytová séra	383
Kortikosteroidy	384
Inhibice biosyntézy nukleových kyselin (RNA a DNA) a proteinů	385
Alkylační činidla	386
Antimetabolity	387
Rostlinné alkaloidy	388
Antibiotika	388
Antagonisté aminokyselin	390
Specifická tolerance	390
Pravidla pro imunosupresi	390
Literatura	390

Různé formy tkáňového poškození způsobeného imunologickými mechanismy jsou – obecně řečeno – zpravidla chronicky progresivní, někdy invalidizující a často smrtelné. Ke zvládnutí klinických patologických projevů byly empiricky použity kortikosteroidy, i když léčba těmito hormony má své omezení vyplývající z obecné nespecifičnosti účinku kortikosteroidů a různé individuální odpovídatosti při některých imunologických onemocněních, např. u chronických glomerulonefritid. Kromě toho mají steroidní hormony při dlouhodobém užívání nežádoucí vedlejší účinky.

Obtíže při léčbě autoimunitních onemocnění nebo při prevenci nepříznivých transplantačních reakcí (vypuzení štěpu, reakce štěpu proti hostiteli) se staly stimulem pro hledání a výzkum nových imunosupresivních látek. Úspěšnost tohoto úsilí závisí na dokonalejším pochopení toho, co se odehrává na molekulární a celulární úrovni v posloupnosti kroků imunitní reakce. Konečným cílem imunosuprese je specifická blokáda některého kroku tohoto sledu reakcí.

Buněčné změny v periferních lymfoidních orgánech indukované antigenem i následně bioche-

mické pochody byly analyzovány v předchozích kapitolách této knížky. Schematicky je sled těchto indukovaných změn znázorněn na obrázku 14.1. Na schématu jsou vyznačena nejzranitelnější místa imunitní odpovědi, o nichž se předpokládá, že jsou potenciálně vhodnými místy zásahu různých imunosupresivních látek. Aby bylo možno přehledněji rozříditi různé imunosupresivní látky podle pravděpodobného mechanismu jejich účinku, je imunitní odpověď rozdělena do několika kroků:

Krok A: Tvorba prekurzorových buněk pro lymfocyty a jejich přesun do primárních lymfoidních orgánů (do thymu a Fabriciovy burzy u ptáků, popř. do odpovídající struktury u savců).

Krok B: Vznik imunokompetence buněk v primárních lymfoidních orgánech vyúsťující ve vytvoření imunokompetentních lymfocytů. Tyto buňky pak osidlují specifické oblasti periferních (sekundárních) lymfoidních orgánů (jednak struktury na thymu závislé, jednak na thymu nezávislé).

Krok C: Rozpoznávání imunogenních podnětů příslušnými buněčnými receptory a přenos imu-

Kapitola 2. Činnost buněk imunitního systému

Ivan Mota

OBSAH

Lymfocyty	42
Lymfocyty T	47
Lymfocyty B	53
Rozdíly mezi lymfocyty B a T	57
Kooperace lymfocytů B a T	58
Makrofágy	60
Dendritické retikulové buňky	64
Literatura	64

Lymfocyty

Lymfocyty vznikají z nediferencované buňky série mitotických dělení a diferenciačních kroků, jimiž se postupně transformují v následující řadě: lymfoblasty → prolymfocyty → velké lymfocyty → malé lymfocyty. Odhaduje se, že tento pochod vyžaduje 6–9 mitotických cyklů. U fětu jsou prekurzorové buňky pro lymfocyty přítomné v játrech a kostní dřeni, v dospělosti jenom v kostní dřeni. Jak v intrauterinním stadiu, tak v dospělém věku tyto buňky migrují z kostní dřene do thymu i ostatních lymfoidních orgánů, proliferyují tam a vytvářejí populace lymfoidních buněk daného orgánu.

Obvykle jsou tyto buňky v klidovém stavu. *In vitro* jsou však mimořádně pohyblivé a zejména mají tendenci klouzavým pohybem se přelévat po povrchu jiných buněk, včetně makrofágů. Malé lymfocyty byly po mnoho let charakterizovány jenom v negativních pojmech, nebo byly definovány jako buňky s malým množstvím cytoplazmy obsahující jen nečetné organely a byly považovány za terminální buněčnou formu. Avšak již někteří z prvních badatelů, mezi nimi např. Maximow, považovali lymfocyt za buňku s velkou diferenciační kapacitou – za buňku omnipotentní. Od té doby se nashromáždilo množství experimentálních údajů, které svědčí jednoznačně pro to, že malé lymfocyty nejsou terminální buňky; ačkoliv morfologicky tvoří homogenní populaci,

funkčně představují populaci neobyčejně heterogenní. Navíc se najdou i významné rozptyly ve velikosti (6–12 μm), v denzitě komponent (je možno je rozdělit nejméně na čtyři frakce lišící se denzitou), v délce života (několik dní až let) a – což je nejdůležitější – ve funkci. Některé lymfocyty jsou prekursoři plazmatických buněk, jiné jsou prekursoři senzibilizovaných buněk odpovědných za vypuzení transplantovaných štěpů a za reakce hypersenzitivity pozdního typu, zatímco další skupina plní funkci paměťových buněk nebo determinovaných lymfocytů. Kromě toho se malé lymfocyty thymu potenciálně liší od buněk stejného morfologického typu, které jsou přítomné v jiných orgánech.

Migrace lymfocytů. Úhrnné množství lymfocytů tvoří téměř 1% celkové tělesné hmotnosti. Jsou rozmístěny mezi tzv. lymfoidní orgány, představované u savců thymem, periferními (sekundárními) lymfoidními orgány (tj. slezinou, lymfatickými uzlinami a lymfoidními agregacemi) a fondem cirkulujících lymfocytů. V lymfoidních orgánech nejsou lymfocyty statickou populací: naopak aktivně recirkulují tak, že přestupují z orgánů do krve a lymfy a vracejí se po čase zpět do příslušných oddílů lymfoidních orgánů (obr. 2.1). Tímto způsobem vznikají migrační buněčné proudy (obr. 2.2); jejich existence byla prokázána pokusy, v nichž se normálními nebo ozářeným příjemcům vstříkly do oběhu značené lymfocyty. Ukázalo se, že buňky migrují z kostní dřene do

Kapitola 3. Antigeny

Ivan Mota

OBSAH

Antigeny	65
Chemická podstata antigennosti	65
Syntetické konjugáty antigenů	65
Specifické determinanty přirozených antigenů	68
Antigenní determinanty polysacharidů	68
Antigenní determinanty a křížové reakce	69
Konformace a antigenní specifita	69
Chemická podstata imunogennosti	71
Význam vnějších skupin antigenů pro imunogennost	71
Adjuvancita	71
Literatura	73

Antigeny

Antigeny (z řeckého anti = proti a gen, od gignomai = tvořit) jsou komplexní molekuly rozpoznávané imunologicky kompetentními buňkami jako cizí (nevlastní). Jsou-li antigeny vpraveny do organismu, aktivují dva různé oddíly lymfoidního systému: jednak stimulují tvorbu imunoglobulinových molekul, tj. protilátek, jednak vedou k senzibilizaci buněk. Jak protilátky, tak senzibilizované buňky mohou specificky reagovat s antigenem.

Aby nějaká substance měla vlastnost antigenu, musí splňovat dva základní předpoklady: 1. látka musí mít složení odlišné od chemického složení organismu, 2. musí to být komplexní makromolekula.

První požadavek znamená, že antigen musí mít ve své molekule určité struktury, jimiž se odlišuje od všech struktur nalézajících se na povrchích imunokompetentních buněk, takže tyto buňky mohou rozpoznat látku jako cizí.

Ačkoliv jsou protilátky zpravidla tvořeny jen proti antigenům odvozeným od odlišného biologického druhu, lze uvést také příklady izoimunizace a aloimunizace, tzn. imunizace proti antigenům organismů patřících k témuž biologickému druhu. Dochází k tomu například při inkompati-

bilitě mezi matkou a plodem v důsledku neshody v antigenech určitých krevních skupin, nebo při odvrhování aloštěpů (podmíněném neshodou v transplantačních antigenech). Za výjimečných okolností se mohou tvořit protilátky, které jsou schopné reagovat se složkami vlastního organismu (autoprotilátky).

Specifita protilátky je obecně namířena proti tomu živočišnému druhu, od něhož byl antigen odvozen (anti-koňská, anti-ovčí atd.), často se ovšem vyskytují také orgánově specifické protilátky. Je-li např. králik imunizován krystalinem hovězí oční čočky, vytvoří protilátky, které budou reagovat nejen s antigenem použitým k imunizaci, ale také s krystalinem jiných biologických druhů (třeba koně, ovce, morčete). Další příklady zřejmě orgánové specifity se týkají spermatozoí, mozku a tyroglobulinu.

Druhý požadavek souvisí s velikostí a komplexností antigenní molekuly. Malé molekuly (s molekulovou hmotností pod 5000) obecně nejsou imunogenní, avšak po konjugaci s větší bílkovinnou molekulou imunogennost získávají. Určité substance s nízkou molekulovou hmotností, jako jsou sloučeniny arsanylové kyseliny s tyrosinem nebo DNP-7-lysin, působí však jako silné imunogeny, jsou-li injikovány s Freundovým adjuvans. Tyto látky se v organismu nevážou s proteiny:

Kapitola 4. Protilátky

Otto G. Bier a Dietrich Götze

OBSAH

Tvorba protilátek na úrovni celého organismu	74
Příprava imunních sér	74
Dynamika tvorby protilátek	74
Tvorba protilátek na buněčné úrovni	77
Jerneho technika plaků	77
Technika rozet	77
Technika mikrokapky	77
Hybridomy	79
Tvorba protilátek na úrovni makromolekul	80
Purifikace protilátek	81
Povaha a heterogenost protilátek	84
Struktura imunoglobulinů	84
Enzymová fragmentace	86
Třídy a podtřídy lidských imunoglobulinů	92
Třídy a podtřídy živočišných imunoglobulinů	96
Genetické signální znaky imunoglobulinů: alotypy a idiotypy	97
Elektronmikroskopické studie protilátek	98
Tvorba protilátek na úrovni genu	99
Organizace genů pro imunoglobuliny a jejich exprese	100
Regulace tvorby protilátek	103
Faktory týkající se antigenu	103
Faktory týkající se organismu	105
Faktory dané povahou imunitního systému	106
Literatura	111

Tvorba protilátek na úrovni celého organismu

Příprava imunních sér

Studium antigenů (z řeckého *anti* = proti a *gen*, *gignomai* = tvořit, viz kap. 3) usnadňuje skutečnost, že je možno připravit antiséra (imunní séra), tzn. séra, která s antigeny specificky reagují. V laboratorních pokusech se k přípravě antisér používají malá zvířata, nejčastěji králíci. Je-li však potřeba vyrábět terapeutická nebo diagnostická antiséra ve velkém, používá se větších zvířat, především koní.

Protilátky vytvořené po injekci antigenu získaného z jiného biologického druhu se nazývají

xenoantiséra (z řeckého *xenos* = cizí), např. králičí antisérum proti kuřecímu ovalbuminu, nebo koňské antisérum proti difterickému toxinu. Tvorba protilátek může však být vyvolána i menšími antigenními rozdíly uvnitř téhož biologického druhu, např. při neshodě v Rh antigenech na lidských červených krvinkách. V takovém případě je nutno volit za producenta protilátek organismus shodného biologického druhu, jemuž však příslušný antigen chybí. Kdyby se např. imunizoval králik lidskými erytrocyty Rh⁺ ve snaze získat antiséra proti Rh, vytvořily by se především protilátky proti jiným převažujícím druhově specifickým erytrocytovým antigenům, a tím by se překryla nebo zcela znemožnila tvorba protilátek anti-Rh. Je-li však krvinkami Rh pozitivního dárce imunizován jiný člověk, jehož antigeny v systému ABO jsou totožné s antigeny

Kapitola 5. Komplement

Wilmar Dias da Silva

OBSAH

Komplement	113
Titrace celkové hemolytické aktivity komplementu	113
Komplement jako multifaktoriální systém	115
Názvoslovi	116
Posloupnost reakcí jednotlivých složek v imunitní hemolýze	117
První krok	117
Druhý krok	118
Třetí krok	120
Čtvrtý krok	121
Pátý krok	121
Šestý krok	121
Sedmý krok	122
Kvantitativní stanovení komponent	122
Morfologické důsledky imunocytotoxických reakcí	123
Imunobiologické účinky komplementu	124
Hemolýza	124
Bakteriolýza	124
Anafylatoxiny	124
Chemotaktické faktory	126
Opsonizace	126
Uvolnění histaminu závislé na komplementu	127
Tvorbina kininů	127
Aktivace enzymů	127
Imunologické glomerulonefritidy	127
Properdinový systém neboli alternativní (zkratová) dráha	127
Aktivace properdinového systému	129
Aktivace pevnými částicemi	129
Aktivace faktorem kobího jedu	129
Účinek komplementu na rozpustnost imunokomplexů	129
Biosyntéza složek komplementu a některé dědičné defekty	130
Literatura	130

Komplement

V roce 1894 popsali Pfeiffer a Issaef zajímavé pozorování, že totiž mikroorganismy *Vibrio cholerae* vstříknuté do peritoneální dutiny předem imunizovaných morčat se rozpadají. Bordet ukázal, že také *in vitro* jsou mikroorganismy v přítomnosti séra imunizovaných zvířat během několika minut destruovány; bylo-li sérum zahřáto na 56 °C po dobu 30 min, nebo zůstalo-li prostě před použitím několik dnů stát, způsobilo to

ztrátu lytické aktivity při zachování aktivity protilátkové. Obnovení lytické účinnosti séra se dosáhlo přidáním čerstvého séra z neimunních zvířat. Tento pokus ukázal, že bakteriolytická účinnost séra imunizovaných zvířat závisí na dvou faktorech: jeden (tj. protilátky) je specifický a termostabilní; druhý, který je termolabilní a nespecifický, je přítomen v normálním i imunním séru. Tento druhý faktor, původně pojmenovaný alexin, se nyní označuje jako komplement (symbol C). Každá imunologická reakce (i ta, která je popsána

Kapitola 6. Hlavní histokompatibilitní komplex

Dietrich Götze

OBSAH

Histokompatibilitní geny	132
Hlavní histokompatibilitní komplex u myši (H-2)	134
Kongenní kmene	134
Sérologie	135
Hlavní histokompatibilitní komplex u člověka (HLA)	141
Sérologie	141
Determinanty aktivující lymfocyty (LAD)	143
Genetika	145
Analýza genové vazby komplexu HLA	147
Genová struktura MHC u dalších živočišných druhů	148
Tkáňová distribuce molekul MHC	149
Biochemie molekul MHC	151
Molekuly H-2K, D, L a HLA-A, B, C: molekuly třídy I	152
Molekuly Ia a HLA-DR: molekuly třídy II	153
Protein S: molekula třídy III	155
Funkce genů MHC	155
Regulace rozpoznávání antigenů buňkami T	155
Regulace buněčné imunitní odpovědi geny třídy I	156
Regulace imunitní odpovědi geny třídy II (geny Ir)	157
Funkce genů třídy III v imunitní odpovědi	162
Asociace mezi MHC a chorobami u člověka	165
Literatura	167

Histokompatibilitní geny

Počátkem tohoto století prokázali Tytzer a Loeb, že nádory odebrané z myši patřících k určitému kmene (*A/A*) normálně rostou, jsou-li transplantovány příjemcům téhož inbredního kmene (syn-gevního, viz tab. 6.1), jsou však odvrženy po implantaci myším odlišného inbredního kmene (alogenního, např. *B/B*).

Pokusy s křížením ukázaly, že vnímavost k nádorovému růstu je řízena geneticky: všechna zvířata první filiální generace F_1 pocházející z křížení $A/A \times B/B$ (tj. zvířata *A/B*) přijímala nádory z obou rodičovských kmenů. Na základě relativního podílu přijatých rodičovských nádorů v generaci F_2 vypočetili Little a Tytzer, že u myši je nejméně 15 genů odpovědných za rezistenci k rodičovskému nádoru: nádory totiž rostly pouze u 1,6% zvířat generace F_2 . Uvedený závěr

lze odvodit z této obecné úvahy: pokud by vnímavost byla řízena jediným genem, pak by v generaci F_2 (50% *A/B*, 25% *A/A* a 25% *B/B*) mělo přijímat nádorovou tkáň každého z rodičovských kmenů 75% zvířat. Kdyby o vnímavosti rozhodovaly dva geny, snížil by se počet kompatibilních zvířat na 56% (tj. 9/16). Obecně tedy platí, že relativní četnost zvířat generace F_2 , na nichž rodičovský nádor roste, je $(3/4)^n$, kde n představuje počet různých genů u obou rodičovských kmenů rozhodujících o vnímavosti k přenesenému nádoru. Uvedený experimentální nález tedy dokazuje, že schopnost přijmout transplantát je řízena větším počtem dominantních genů.

V roce 1933 vyslovil Haldane předpoklad, že odolnost (nebo vnímavost) k transplantovanému nádoru je závislá na strukturách, které jsou umístěny na povrchu buněčných membrán a jsou u kaž-

Kapitola 7. Vzájemná reakce antigenu a protilátky

Otto G. Bier

OBSAH

Sérologické reakce pro detekci protilátek	169
Sérologické reakce in vitro	170
Precipitace	170
Aglutinace	175
Imunofluorescence	182
Vazba komplementu	184
Imunocytolýza	189
Imunocytotoxicita	190
Imunoadherence	191
Konglutinace a imunokonglutinace	192
Sérologické reakce in vivo	193
Fagocytóza a opsonizace	193
Neutralizace toxinů	197
Ochranný účinek antibakteriálních sér	201
Kvantitativní studium reakce antigenu s protilátkou	202
Kvantitativní precipitace	202
Využití precipitačních reakcí	204
Kvalitativní precipitace	204
Kvantitativní precipitace	205
Kvantitativní inhibice specifické precipitace	206
Enzymoimunoanalýza (ELISA)	209
Kvantitativní studium reakce haptenu s protilátkou	209
Intermolekulární síly v reakci antigenu s protilátkou	211
Relativní citlivost sérologických technik	212
Literatura	213

Sérologické reakce pro detekci protilátek

Spojení protilátky s antigenem uvádí v chod sérii reakcí, jejichž kvalitativní i semikvantitativní aspekty jsou studijní doménou sérologie.

Typ vyvolané reakce závisí na fyzikálním stavu antigenu (zda je rozpustný nebo korpuskulární) a na experimentálních podmínkách, za nichž se daný test provádí. Je-li antigenem rozpustný protein, je výsledkem reakce mezi makromolekulami antigenu a protilátky ve vhodném kvantitativním poměru vznik nerozpustného komplexu (precipitátu). Vyskytuje-li se antigen na povrchu částic (např. bakterií nebo erytrocytů), tvoří molekuly bivalentní protilátky můstky mezi částicemi

a způsobují jejich aglutinaci (obr. 7.1). Pokud je při reakci s erytrocyty přítomen vedle protilátek i komplement, tvoří se v membráně erytrocytu strukturální léze, jimiž pak uniká hemoglobin. To je fenomén specifické hemolýzy.

Intenzita sérologické reakce se obecně vyjadřuje mírou „titru“, což je takový stupeň zředění séra (nebo antigenu), při němž je za daných experimentálních podmínek možno ještě prokázat specifický efekt. Je-li tedy např. pro pokus připraveno sérum v sériovém ředění s koeficientem 2 (třeba 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40 a tak dále) a ředění 1 : 640 vyvolá ještě aglutinaci, kdežto následující ředění 1 : 1 280 už ne, znamená to, že dané sérum má titer 1 : 640, neboli obsahuje 640 aglutinačních jednotek na jednu objemovou jednotku. U testů tohoto druhu je ovšem přesnost odčítání velice

Kapitola 8. Krevní skupiny

Otto G. Bier

OBSAH

Erytrocytové systémy	214
Systém AB0: určování skupin a podskupin	214
Systémy Lewis, Lutheran a sekreční: určování a genetické vztahy	216
Chemie a biosyntéza substancí krevních skupin	217
Systémy MNSs a P	218
Systém Rh	219
Další erytrocytové systémy	223
Praktické využití imunohematologie	223
Krevní skupiny a transfúze	223
Krevní skupiny a neslučivost mezi matkou a plodem	224
Krevní skupiny a autoimunitní hemolytické anémie	225
Krevní skupiny v soudním lékařství	225
Antropologické aplikace imunohematologie	226
Literatura	227

Od nepaměti byla krev obestřena představami něčeho tajemného a fascinujícího, byla pokládána za tekutinu, která má oživovací a omlazovací schopnosti. Už v době, z níž se dochovaly nejranější záznamy o biologických pozorováních, byly konány pokusy o převod zvířecí krve člověku, obvykle krve ovce nebo psa; ale takové transfúze vyvolaly pravidelně horečku a hemoglobinurii a končily často smrtí pacienta. Blundell (1818), jehož můžeme právem považovat za otce moderní transfúze krve, si všiml, že snášenlivost byla vyšší, když příjemce i dárce patřili k témuž biologickému druhu, tj. při transfúzi mezi dvěma psy nebo dvěma lidmi, ačkoliv i v těchto případech bylo dost neúspěchů se smrtelným koncem. Problém zůstal nedořešen až do roku 1900, kdy Landsteiner krátce po svém objevu krevních skupin systému AB0 také správně vysvětlil posttransfúzní reakce jako důsledek vzájemného působení mezi červenými krvinkami dárce a izoprotitilátky (podle dnes ustálené terminologie správněji aloprotitilátky) vyskytujícími se v příjemcově séru. Zhruba o 40 let později objevil Levine krevně skupinový systém Rh; to umožnilo objasnit, proč i krev kompatibilní v systému AB0 může někdy vyvolat nepříznivou transfúzní reakci: v takovém případě je reakce způsobena aloprotitilátky při-

tomnými v séru příjemce, jejichž tvorba byla navozena předcházejícími transfúzemi Rh⁺ erytrocytů nebo stimulací antigeny červenýchrvinek plodu během těhotenství. Praktický význam rizika aloimunizace při každé krevní transfúzi je zjevný; vedle toho se ukázalo, že aloimunizace je patogenetickým mechanismem hemolytické choroby novorozenců (erythroblastosis foetalis).

Teprve mnohem později se zájem soustředil na leukocytové skupiny; jejich objasnění je důležité zejména pro testy, jimiž se předpovídá stupeň tkáňové slučivosti při transplantaci orgánů a určuje vnímavost k některým specificky sdruženým chorobám (viz podrobně v kapitolách 6 a 9).

Erytrocytové systémy

Systém AB0: určování skupin a podskupin

Ze vzájemných reakcí červenýchrvinek a séra šesti jedinců odvodil Landsteiner zprvu tři krevní typy, označované dnes 0, A a B. O něco později, když nahromadil větší množství údajů, identifi-

Kapitola 9. Transplantace

Dietrich Götze a Ivan Mota

OBSAH

Terminologie	228
Transplantační reakce	230
Reakce hostitele proti štěpu	230
Reakce štěpu proti hostiteli	230
Genetika vypuzení štěpu	231
Reakce hostitele proti štěpu	231
Reakce štěpu proti hostiteli	232
Mechanismus vypuzení štěpu	232
Rozpoznávací fáze	232
Proliferace a diferenciace	233
Destrukční fáze	233
Směsná kultivace lymfocytů	233
Složky účastníci se reakce	233
Specifičnost směsné lymfocytové reakce	234
Počet reagujících alogenních buněk	235
Genetika reaktivity ve směsných lymfocytových kulturách	235
Cytotoxicita zprostředkovaná buňkami	236
Specifické chybění reakce proti alogenní tkáni	238
„Enhancement“ — zvýšená ochrana štěpu	238
Imunologická tolerance	239
Transplantace orgánů	242
Sérologická typizace	242
Buněčná typizace	242
Klinická transplantace orgánů	242
Ledviny	242
Thymus	244
Transplantace kostní dřeně	245
Krevní transfúze	246
Literatura	246

Terminologie

Transplantace se definuje jako přenos živých buněk, tkání či orgánů buď z jednoho místa na druhé u téhož individua (*autotransplantace*), nebo mezi dvěma různými jedinci buď geneticky totožnými, tj. mezi identickými dvojčaty nebo příslušníky inbredního kmene zvířat (*syngenní*, popř. *izogenní transplantace*), anebo mezi jedinci antigenně se od sebe lišícími. Patří-li oba antigenně se odlišující jedinci ke stejnému biologickému druhu, jde o *alogenní transplantaci*, patří-li každý k jinému druhu, je to *xenogenní transplan-*

tace. Základní terminologie, již se používá k charakterizování genetického vztahu mezi příjemcem a dárcem byla vysvětlena v tabulce 6.1 (viz str. 133). Je-li transplantát mezi jedinci přenesen na totéž místo, tj. na místo jeho normální anatomické lokalizace, mluví se o *ortotopickém štěpu*, jestliže je implantován na jiné, atypické místo, nazývá se *heterotopický štěp*. O osudu štěpu rozhoduje genetický vztah mezi dárcem a příjemcem. Transplantáty přenesené mezi geneticky identickými jedinci jsou „přijaty“, tj. *přihojí se*. Štěpy přenesené mezi geneticky odlišnými jedinci jsou „odvrženy“, *vypuzeny*, tzn. jsou de-