

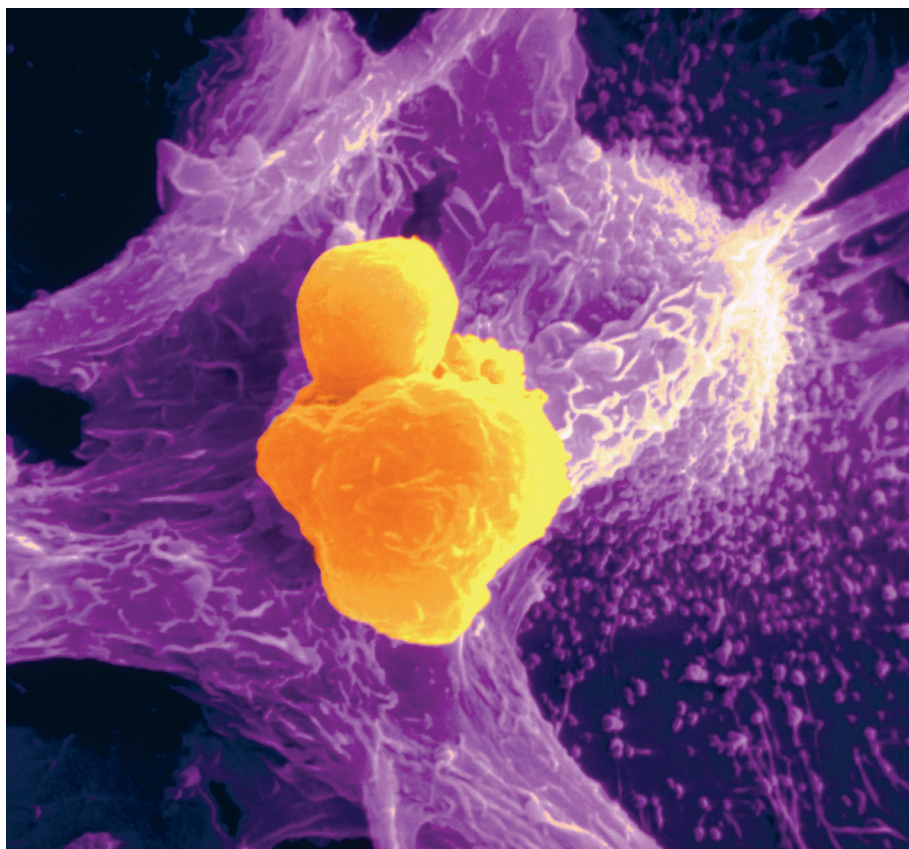
Jiřina Bartůňková, Milan Paulík a kolektiv

---

# Vyšetřovací metody v imunologii

2., přepracované a doplněné vydání

---





Jiřina Bartůňková, Milan Paulík a kolektiv

---

# **Vyšetřovací metody v imunologii**

**2., přepracované a doplněné 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**.

## **VYŠETŘOVACÍ METODY V IMUNOLOGII**

### **2., přepracované a doplněné vydání**

**Editoři:**

Prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

RNDr. Milan Paulík, CSc.

**Autorský kolektiv:**

Prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc., Ústav imunologie UK 2. LF UK a FN Motol, Praha

Doc. MUDr. Ondřej Hrušák, Ph.D., Ústav imunologie UK 2. LF UK a FN Motol, Praha

RNDr. Milan Paulík, CSc., FN Thomayerova, Praha

Prof. MUDr. Karel Smetana, DrSc., Anatomický ústav UK 1. LF UK, Praha

Prof. MUDr. Anna Šedivá, DSc., Ústav imunologie UK 2. LF UK a FN Motol, Praha

Doc. MUDr. Radek Špišek, Ph.D., Ústav imunologie UK 2. LF UK a FN Motol, Praha

Ing. Luděk Šprongl, Nemocnice Šumperk

MUDr. Eva Vernerová, Ústav imunologie UK 2. LF UK a FN Motol, Praha

**Technická spolupráce:**

Mgr. Štěpán Peterka

**Recenze:**

Prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

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

**Autoři i nakladatelství děkují společnosti BARIA s.r.o. za finanční podporu, která umožnila vydání publikace.**

*Text vznikl za podpory VZ MŠM 002162 0812.*

© Grada Publishing, a.s., 2011

Obrázky dodali autoři.

Obrázek 12 podle předlohy autorů překreslila Jana Řeháková, DiS.

Cover Photo © fotobanka allphoto, 2011

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 4510. publikaci

Odpovědná redaktorka Šarlota Pokorná

Sazba a zlom Šarlota Pokorná

Počet stran 168 + 4 strany barevné přílohy

2. vydání, Praha 2011

Vytiskly Tiskárny Havlíčkův Brod, a. s.

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

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

**ISBN 978-80-247-3533-7 (tištěná verze)**

**ISBN 978-80-247-7089-5 (elektronická verze ve formátu PDF)**

**ISBN 978-80-247-7090-1 (elektronická verze ve formátu EPUB)**



# Obsah

|                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Seznam zkratek .....                                                             | 12        |
| Úvod.....                                                                        | 15        |
| Předmluva.....                                                                   | 16        |
| <b>1 Stručná fyziologie a patologie imunitního systému (J. Bartůňková) .....</b> | <b>17</b> |
| 1.1 Složky a funkce imunitního systému .....                                     | 17        |
| 1.2 Buněčné složky imunity.....                                                  | 18        |
| 1.2.1 Buněčná imunita nespecifická .....                                         | 19        |
| 1.2.1.1 Fagocytyující buňky .....                                                | 19        |
| 1.2.1.2 Buňky NK .....                                                           | 20        |
| 1.2.1.3 Bazofily, žírné buňky a další buňky .....                                | 20        |
| 1.2.2 Buněčná imunita specifická .....                                           | 20        |
| 1.2.2.1 Lymfocyty T – pomahači .....                                             | 20        |
| 1.2.2.2 Lymfocyty T – supresorově cytotoxické buňky.....                         | 21        |
| 1.2.2.3 Paměťové buňky .....                                                     | 21        |
| 1.3 Humorální složky imunity .....                                               | 22        |
| 1.3.1 Nespecifické složky humorální .....                                        | 22        |
| 1.3.1.1 Komplementový systém .....                                               | 22        |
| 1.3.1.2 Proteiny akutní fáze .....                                               | 23        |
| 1.3.2 Specifické složky humorální .....                                          | 23        |
| 1.3.2.1 Protilátky .....                                                         | 23        |
| 1.3.2.2 Autoprotilátky .....                                                     | 25        |
| 1.3.2.3 Monoklonální protilátky .....                                            | 25        |
| 1.4 Komunikace mezi složkami imunity .....                                       | 25        |
| 1.4.1 Cytokiny .....                                                             | 25        |
| 1.4.2 Adhezivní molekuly .....                                                   | 26        |
| 1.5 HLA systém .....                                                             | 26        |
| 1.6 Fyziologická imunitní reakce .....                                           | 27        |
| 1.7 Patologické imunitní reakce .....                                            | 28        |
| 1.7.1 Atopická reakce – časná přecitlivělost, I. typ .....                       | 28        |
| 1.7.2 Cytotoxická reakce, II. typ .....                                          | 29        |
| 1.7.3 Imunokomplexová reakce, III. typ .....                                     | 29        |
| 1.7.4 Reakce oddálené přecitlivělosti, IV. typ .....                             | 30        |
| 1.8 Nemoci z poruch imunity .....                                                | 30        |
| 1.8.1 Immunodeficience .....                                                     | 30        |
| 1.8.1.1 Primární imunodeficience.....                                            | 31        |
| 1.8.1.2 Sekundární imunodeficience .....                                         | 32        |
| 1.8.2 Autoimunitní onemocnění .....                                              | 33        |
| 1.8.2.1 Systémové autoimunitní choroby .....                                     | 33        |
| 1.8.2.2 Orgánově specifické autoimunitní choroby .....                           | 35        |
| 1.8.3 Alergie.....                                                               | 36        |
| <b>2 Metody používané v laboratorní diagnostice</b>                              |           |
| <b>    imunopatologických stavů (M. Paulík) .....</b>                            | <b>39</b> |
| 2.1 Metody užívané k vyšetřování složek humorální imunity .....                  | 39        |

|         |                                                                   |    |
|---------|-------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.1   | Obecné principy reakce antigen–protilátka . . . . .               | 39 |
| 2.1.1.1 | Nativní a rekombinantní antigeny . . . . .                        | 40 |
| 2.1.1.2 | Polyklonální a monoklonální protilátky . . . . .                  | 40 |
| 2.1.1.3 | Afinita . . . . .                                                 | 41 |
| 2.1.1.4 | Avidita . . . . .                                                 | 41 |
| 2.1.2   | Elektroforéza a imuno elektroforéza . . . . .                     | 41 |
| 2.1.2.1 | Princip metod a jejich úskalí . . . . .                           | 41 |
| 2.1.2.2 | Uplatnění . . . . .                                               | 42 |
| 2.1.2.3 | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha . . . . .               | 43 |
| 2.1.2.4 | Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření . . . . .           | 43 |
| 2.1.3   | Radiální imunodifuze . . . . .                                    | 43 |
| 2.1.3.1 | Princip metody a její úskalí . . . . .                            | 44 |
| 2.1.3.2 | Uplatnění . . . . .                                               | 44 |
| 2.1.4   | Nefelometrie a turbidimetrie . . . . .                            | 45 |
| 2.1.4.1 | Princip metod a jejich úskalí . . . . .                           | 45 |
| 2.1.4.2 | Přístrojové vybavení, uplatnění a ekonomická rozvaha . . . . .    | 46 |
| 2.1.5   | Aglutinace a hemaglutinace . . . . .                              | 47 |
| 2.1.6   | Komplement fixační testy . . . . .                                | 47 |
| 2.1.7   | Imunoreakce se značenými protilátkami – RIA, ELISA, EIA . . . . . | 47 |
| 2.1.7.1 | Principy metod a jejich úskalí . . . . .                          | 48 |
| 2.1.7.2 | Uplatnění . . . . .                                               | 50 |
| 2.1.7.3 | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha . . . . .               | 50 |
| 2.1.8   | Imunoblotting . . . . .                                           | 52 |
| 2.1.8.1 | Princip metod a jejich uplatnění . . . . .                        | 52 |
| 2.1.9   | Imunofluorescence . . . . .                                       | 52 |
| 2.1.9.1 | Princip metody a její úskalí . . . . .                            | 53 |
| 2.1.9.2 | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha . . . . .               | 55 |
| 2.1.9.3 | Uplatnění . . . . .                                               | 55 |
| 2.1.10  | Stanovení protilátek a antigenů průtokovou cytometrií . . . . .   | 55 |
| 2.2     | Metody užívané k vyšetřování složek buněčné imunity . . . . .     | 56 |
| 2.2.1   | Techniky izolace buněk ( <i>R. Špíšek</i> ) . . . . .             | 56 |
| 2.2.1.1 | Gradientová centrifugace . . . . .                                | 57 |
| 2.2.1.2 | Izolace lymfocytů T pomocí rozet . . . . .                        | 58 |
| 2.2.1.3 | Imunomagnetická selekce buněk . . . . .                           | 58 |
| 2.2.1.4 | Selekce pomocí průtokové cytometrie . . . . .                     | 60 |
| 2.2.2   | Průtoková cytometrie ( <i>O. Hrušák</i> ) . . . . .               | 60 |
| 2.2.2.1 | Princip metody . . . . .                                          | 60 |
| 2.2.2.2 | Analýza a grafické znázornění . . . . .                           | 61 |
| 2.2.2.3 | Odesílání výsledků . . . . .                                      | 63 |
| 2.2.2.4 | Úskalí metody . . . . .                                           | 63 |
| 2.2.2.5 | Uplatnění . . . . .                                               | 64 |
| 2.2.2.6 | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha . . . . .               | 66 |
| 2.2.2.7 | Podmínky odběru, rychlost vyšetření . . . . .                     | 66 |
| 2.2.2.8 | Slide-based cytometrie . . . . .                                  | 66 |
| 2.2.3   | Proliferační testy lymfocytů (blastická transformace) . . . . .   | 67 |
| 2.2.3.1 | Princip metody a úskalí . . . . .                                 | 67 |
| 2.2.3.2 | Uplatnění . . . . .                                               | 68 |
| 2.2.3.3 | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha . . . . .               | 68 |

|          |                                                                                                     |    |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.4    | Enzyme-linked ImmunoSpot Assay (ELISPOT) ( <i>R. Špíšek</i> ) . . . . .                             | 68 |
| 2.2.4.1  | Princip metody . . . . .                                                                            | 68 |
| 2.2.4.2  | Uplatnění . . . . .                                                                                 | 70 |
| 2.2.4.3  | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha . . . . .                                                 | 70 |
| 2.2.5    | Cytotoxické testy ( <i>R. Špíšek</i> ). . . . .                                                     | 70 |
| 2.2.5.1  | Cytotoxický test založený na uvolňování<br><sup>51</sup> Cr – princip metody . . . . .              | 70 |
| 2.2.5.2  | Úskalí metody . . . . .                                                                             | 71 |
| 2.2.5.3  | Uplatnění . . . . .                                                                                 | 71 |
| 2.2.5.4  | Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření . . . . .                                             | 72 |
| 2.2.5.5  | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha . . . . .                                                 | 72 |
| 2.2.6    | Fagocytóza ( <i>J. Bartůňková</i> ). . . . .                                                        | 72 |
| 2.2.6.1  | Princip metody . . . . .                                                                            | 72 |
| 2.2.6.2  | Úskalí metody . . . . .                                                                             | 72 |
| 2.2.6.3  | Uplatnění . . . . .                                                                                 | 73 |
| 2.2.6.4  | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha . . . . .                                                 | 73 |
| 2.2.7    | Baktericidní test . . . . .                                                                         | 73 |
| 2.2.7.1  | Princip metody . . . . .                                                                            | 73 |
| 2.2.7.2  | Úskalí metody . . . . .                                                                             | 74 |
| 2.2.7.3  | Uplatnění . . . . .                                                                                 | 74 |
| 2.2.7.4  | Přístrojové vybavení, ekonomická rozvaha . . . . .                                                  | 74 |
| 2.2.7.5  | Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření . . . . .                                             | 74 |
| 2.2.8    | Testy oxidačního metabolismu – NBT, INT . . . . .                                                   | 74 |
| 2.2.8.1  | Princip metody . . . . .                                                                            | 74 |
| 2.2.8.2  | Úskalí metody a uplatnění . . . . .                                                                 | 75 |
| 2.2.8.3  | Přístrojové vybavení, ekonomická rozvaha . . . . .                                                  | 75 |
| 2.2.9    | Chemiluminiscence . . . . .                                                                         | 75 |
| 2.2.9.1  | Princip metody . . . . .                                                                            | 75 |
| 2.2.9.2  | Úskalí metody . . . . .                                                                             | 76 |
| 2.2.9.3  | Uplatnění . . . . .                                                                                 | 76 |
| 2.2.9.4  | Přístrojové vybavení, ekonomická rozvaha . . . . .                                                  | 76 |
| 2.2.9.5  | Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření . . . . .                                             | 76 |
| 2.2.10   | Imunohistochemické metody ( <i>K. Smetana</i> ). . . . .                                            | 76 |
| 2.2.10.1 | Princip metody . . . . .                                                                            | 77 |
| 2.2.10.2 | Příprava buněk a tkání . . . . .                                                                    | 77 |
| 2.2.10.3 | Vlastní imunohistochemická reakce . . . . .                                                         | 77 |
| 2.2.10.4 | Metoda vícenásobného značení . . . . .                                                              | 78 |
| 2.2.10.5 | Úskalí metody . . . . .                                                                             | 79 |
| 2.2.10.6 | Uplatnění . . . . .                                                                                 | 80 |
| 2.2.10.7 | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha . . . . .                                                 | 80 |
| 2.2.10.8 | Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření . . . . .                                             | 81 |
| 2.2.11   | Lektinově histochemické metody v imunologii . . . . .                                               | 81 |
| 2.2.11.1 | Princip metody . . . . .                                                                            | 81 |
| 2.2.11.2 | Průkaz exprese endogenního lektinu . . . . .                                                        | 82 |
| 2.2.11.3 | Průkaz exprese specifického cukerného motivu metodou<br>lektinové histochemie . . . . .             | 82 |
| 2.2.11.4 | Průkaz vazebné reaktivity exprimovaného lektinu<br>metodou reverzní lektinové histochemie . . . . . | 82 |

|           |                                                                      |           |
|-----------|----------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.11.5  | Vícenásobné značení na úrovni jedné buňky<br>v lektinové histochemii | 83        |
| 2.2.11.6  | Úskalí metody                                                        | 83        |
| 2.2.11.7  | Uplatnění                                                            | 83        |
| 2.2.11.8  | Přístrojové vybavení                                                 | 83        |
| 2.2.11.9  | Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření                        | 83        |
| 2.2.11.10 | Ekonomická rozvaha                                                   | 83        |
| 2.3       | Metody molekulární biologie ( <i>R. Špíšek</i> )                     | 84        |
| 2.3.1     | PCR                                                                  | 84        |
| 2.3.1.1   | Princip metody                                                       | 84        |
| 2.3.2     | Reverzně transkriptázová PCR                                         | 85        |
| 2.3.2.1   | Princip metody                                                       | 85        |
| 2.3.2.2   | Uplatnění                                                            | 86        |
| 2.3.3     | Kvantitativní PCR v reálném čase                                     | 86        |
| 2.3.3.1   | Princip metody                                                       | 86        |
| 2.3.3.2   | Analýza produktů PCR, RT-PCR a kvantitativní PCR<br>v reálném čase   | 86        |
| 2.3.3.3   | Princip a uplatnění                                                  | 87        |
| 2.3.4     | Genomika ( <i>R. Špíšek</i> )                                        | 88        |
| 2.3.5     | DNA mikročipy ( <i>M. Paulík, R. Špíšek</i> )                        | 88        |
| 2.3.5.1   | Princip                                                              | 88        |
| 2.3.5.2   | Uplatnění                                                            | 89        |
| 2.3.5.3   | Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha                            | 89        |
| 2.3.6     | Proteomika                                                           | 90        |
| 2.3.6.1   | Princip                                                              | 90        |
| 2.3.6.2   | Uplatnění                                                            | 90        |
| 3         | <b>Možnosti vyšetřování složek imunity (<i>A. Šedivá</i>)</b>        | <b>93</b> |
| 3.1       | Vyšetření parametrů humorální imunity                                | 93        |
| 3.1.1     | Protilátky                                                           | 93        |
| 3.1.1.1   | Metody vyšetření protilátek                                          | 93        |
| 3.1.1.2   | Indikace k vyšetření                                                 | 94        |
| 3.1.1.3   | Interpretace patologických výsledků                                  | 95        |
| 3.1.2     | Vyšetření monoklonální komponenty                                    | 96        |
| 3.1.2.1   | Indikace k vyšetření                                                 | 96        |
| 3.1.2.2   | Interpretace patologických výsledků                                  | 96        |
| 3.1.3     | Kryoglobuliny                                                        | 96        |
| 3.1.3.1   | Metody stanovení                                                     | 97        |
| 3.1.3.2   | Indikace k vyšetření                                                 | 97        |
| 3.1.3.3   | Interpretace výsledků                                                | 97        |
| 3.1.4     | Vyšetření imunokomplexů                                              | 97        |
| 3.1.4.1   | Metody stanovení                                                     | 97        |
| 3.1.4.2   | Indikace k vyšetření                                                 | 97        |
| 3.1.4.3   | Interpretace výsledků                                                | 98        |
| 3.1.5     | Proteiny akutní fáze a sedimentace erytrocytů                        | 98        |
| 3.1.5.1   | Metody stanovení                                                     | 98        |
| 3.1.5.2   | Indikace k vyšetření                                                 | 99        |
| 3.1.5.3   | Interpretace vyšetření                                               | 99        |



|         |                                                                          |     |
|---------|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.1.6   | Komplement a jeho složky .....                                           | 100 |
| 3.1.6.1 | Metody stanovení složek a funkce komplementu .....                       | 100 |
| 3.1.6.2 | Porovnání metodických přístupů .....                                     | 101 |
| 3.1.6.3 | Indikace k vyšetření a interpretace patologických hodnot ..              | 101 |
| 3.1.7   | Autoprotilátky ( <i>J. Bartůňková</i> ) .....                            | 102 |
| 3.1.7.1 | Metody stanovení a jejich porovnání .....                                | 102 |
| 3.1.7.2 | Indikace k vyšetření .....                                               | 104 |
| 3.1.7.3 | Výskyt jednotlivých typů autoprotilátek .....                            | 104 |
| 3.1.7.4 | Interpretace patologických výsledků .....                                | 106 |
| 3.2     | Vyšetření parametrů buněčné imunity ( <i>J. Bartůňková</i> ) .....       | 106 |
| 3.2.1   | Stanovení povrchových znaků lymfocytů a dalších buněk .....              | 106 |
| 3.2.1.1 | Metody stanovení .....                                                   | 106 |
| 3.2.1.2 | Indikace k vyšetření .....                                               | 107 |
| 3.2.1.3 | Rozmezí normálních hodnot .....                                          | 107 |
| 3.2.1.4 | Interpretace patologických výsledků .....                                | 108 |
| 3.2.2   | Funkční testy lymfocytů .....                                            | 109 |
| 3.2.2.1 | Metody stanovení .....                                                   | 109 |
| 3.2.2.2 | Porovnání jednotlivých metodických přístupů .....                        | 109 |
| 3.2.2.3 | Indikace k vyšetření .....                                               | 110 |
| 3.2.2.4 | Rozmezí normálních hodnot .....                                          | 110 |
| 3.2.2.5 | Interpretace patologických výsledků .....                                | 110 |
| 3.2.3   | Cytotoxicita buněk NK a lymfocytů T .....                                | 111 |
| 3.2.3.1 | Metody stanovení .....                                                   | 111 |
| 3.2.3.2 | Porovnání jednotlivých metodických přístupů .....                        | 111 |
| 3.2.3.3 | Indikace k vyšetření .....                                               | 111 |
| 3.2.4   | Stanovení cytokinů ( <i>R. Špísek</i> ) .....                            | 111 |
| 3.2.4.1 | Metody stanovení .....                                                   | 111 |
| 3.2.4.2 | Indikace k vyšetření .....                                               | 112 |
| 3.2.5   | Fagocytóza ( <i>J. Bartůňková</i> ) .....                                | 113 |
| 3.2.5.1 | Metody stanovení .....                                                   | 113 |
| 3.2.5.2 | Porovnání jednotlivých metodických přístupů .....                        | 113 |
| 3.2.5.3 | Indikace k vyšetření .....                                               | 113 |
| 3.2.5.4 | Rozmezí normálních hodnot .....                                          | 113 |
| 3.2.5.5 | Interpretace patologických výsledků .....                                | 113 |
| 3.2.6   | Chemotaxe .....                                                          | 114 |
| 3.2.6.1 | Metody stanovení .....                                                   | 114 |
| 3.2.6.2 | Indikace k vyšetření .....                                               | 114 |
| 3.2.7   | Oxidační metabolismus .....                                              | 115 |
| 3.2.7.1 | Metody stanovení .....                                                   | 115 |
| 3.2.7.2 | Porovnání jednotlivých metodických přístupů .....                        | 115 |
| 3.2.7.3 | Indikace k vyšetření .....                                               | 115 |
| 3.2.7.4 | Rozmezí normálních hodnot a interpretace<br>patologických výsledků ..... | 115 |
| 3.2.8   | Mikrobicidie fagocytů .....                                              | 115 |
| 3.2.8.1 | Metody stanovení .....                                                   | 115 |
| 3.2.8.2 | Indikace k vyšetření .....                                               | 116 |
| 3.2.9   | Test aktivace bazofilů ( <i>E. Vernerová</i> ) .....                     | 116 |
| 3.2.9.1 | Metody stanovení .....                                                   | 116 |

|          |                                                                       |            |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.2.9.2  | Porovnání jednotlivých metodických přístupů                           | 116        |
| 3.2.9.3  | Indikace k vyšetření                                                  | 117        |
| 3.2.9.4  | Rozmezí normálních hodnot                                             | 117        |
| 3.2.9.5  | Interpretace patologických výsledků                                   | 117        |
| 3.2.10   | Eozinofilní kationický protein (ECP)                                  | 117        |
| 3.2.10.1 | Metody stanovení                                                      | 118        |
| 3.2.10.2 | Indikace k vyšetření a rozmezí normálních hodnot                      | 118        |
| 3.2.10.3 | Interpretace patologických výsledků                                   | 118        |
| 3.2.11   | Vyšetření apoptózy ( <i>R. Špíšek</i> )                               | 118        |
| 3.2.11.1 | Metody stanovení                                                      | 119        |
| 3.2.11.2 | Indikace k vyšetření a interpretace patologických výsledků            | 119        |
| 3.2.12   | Typizace HLA ( <i>R. Špíšek</i> )                                     | 120        |
| 3.2.12.1 | Metody stanovení                                                      | 120        |
| 3.2.12.2 | Nomenklatura                                                          | 121        |
| 3.2.12.3 | Materiál                                                              | 121        |
| 3.2.12.4 | Indikace k vyšetření                                                  | 121        |
| <b>4</b> | <b>Vyšetřovací algoritmy při diagnostice imunopatologických stavů</b> | <b>123</b> |
| 4.1      | Diagnostika imunodeficiencí ( <i>A. Šedivá</i> )                      | 123        |
| 4.1.1    | Anamnéza                                                              | 123        |
| 4.1.1.1  | Anamnéza rodinná                                                      | 123        |
| 4.1.1.2  | Anamnéza osobní                                                       | 123        |
| 4.1.2    | Klinický obraz                                                        | 124        |
| 4.1.3    | Spektrum indikovaných imunologických vyšetření                        | 125        |
| 4.1.3.1  | Imunoglobuliny                                                        | 125        |
| 4.1.3.2  | Komplement                                                            | 126        |
| 4.1.3.3  | Počet, zastoupení a funkce lymfocytů                                  | 127        |
| 4.1.3.4  | Počet, zastoupení a funkce fagocytárních buněk                        | 128        |
| 4.1.3.5  | Genetická vyšetření                                                   | 128        |
| 4.1.3.6  | Další vyšetření                                                       | 128        |
| 4.2      | Diagnostika autoimunitních onemocnění ( <i>J. Bartůňková</i> )        | 128        |
| 4.2.1    | Anamnéza                                                              | 129        |
| 4.2.2    | Klinický obraz                                                        | 129        |
| 4.2.3    | Spektrum indikovaných imunologických vyšetření                        | 129        |
| 4.2.3.1  | Autoprotilátky                                                        | 129        |
| 4.2.3.2  | Imunoglobuliny                                                        | 134        |
| 4.2.3.3  | Komplement                                                            | 134        |
| 4.2.3.4  | CRP a jiné proteiny akutní fáze                                       | 134        |
| 4.2.3.5  | HLA                                                                   | 134        |
| 4.2.3.6  | Subpopulace lymfocytů                                                 | 134        |
| 4.2.3.7  | Cytokiny                                                              | 135        |
| 4.2.4    | Spektrum dalších pomocných vyšetření                                  | 135        |
| 4.2.4.1  | Sedimentace erytrocytů                                                | 135        |
| 4.2.4.2  | Sérologické vyšetření                                                 | 135        |
| 4.2.4.3  | Histologické vyšetření                                                | 135        |
| 4.2.4.4  | Hematologické vyšetření                                               | 136        |
| 4.2.4.5  | Biochemické vyšetření                                                 | 136        |

|                             |                                                                                                     |     |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.2.4.6                     | Zobrazovací a další metody .....                                                                    | 136 |
| 4.2.4.7                     | Neurologické pomocné vyšetřovací metody .....                                                       | 136 |
| 4.3                         | Diagnostika alergických onemocnění ( <i>E. Vernerová</i> ) .....                                    | 136 |
| 4.3.1                       | Anamnéza .....                                                                                      | 137 |
| 4.3.2                       | Klinický obraz .....                                                                                | 138 |
| 4.3.2.1                     | Alergická rýma .....                                                                                | 139 |
| 4.3.2.2                     | Atopický ekzém .....                                                                                | 139 |
| 4.3.2.3                     | Asthma bronchiale .....                                                                             | 139 |
| 4.3.2.4                     | Alergie na hmyzí bodnutí .....                                                                      | 139 |
| 4.3.2.5                     | Potravinová alergie .....                                                                           | 140 |
| 4.3.2.6                     | Systémová anafylaxe .....                                                                           | 140 |
| 4.3.3                       | Spektrum indikovaných imunologických vyšetření .....                                                | 140 |
| 4.3.3.1                     | Kožní testy .....                                                                                   | 140 |
| 4.3.3.2                     | Stanovení koncentrace protilátek IgE .....                                                          | 141 |
| 4.3.3.3                     | Stanovení koncentrace specifických protilátek IgE .....                                             | 142 |
| 4.3.3.4                     | Srovnání kožních testů a stanovení specifického IgE .....                                           | 142 |
| 4.3.3.5                     | Expoziční testy .....                                                                               | 142 |
| 4.4                         | Monitorování imunitní odpovědi při aktivní protinádorové<br>imunoterapii ( <i>R. Špíšek</i> ) ..... | 143 |
| 4.4.1                       | In vivo hodnocení antigenně specifické imunity .....                                                | 143 |
| 4.4.1.1                     | Reakce pozdního typu přecitlivělosti (DTH) .....                                                    | 143 |
| 4.4.2                       | In vitro fenotypické hodnocení antigenně specifické<br>imunitní reakce .....                        | 143 |
| 4.4.2.1                     | Analýza používaných variabilních regionů TCR .....                                                  | 143 |
| 4.4.2.2                     | Tetramery molekul MHC s peptidy .....                                                               | 144 |
| 4.4.2.3                     | Complementarity determining region 3 .....                                                          | 144 |
| 4.4.3                       | In vitro funkční analýza antigenně specifické imunitní reakce .....                                 | 144 |
| 4.4.3.1                     | Proliferace lymfocytů .....                                                                         | 144 |
| 4.4.3.2                     | Detekce produkovaných cytokinů .....                                                                | 145 |
| 4.4.3.3                     | Detekce intracelulárních cytokinů .....                                                             | 145 |
| 4.4.3.4                     | Kvantifikace mRNA pro cytokiny pomocí RT-PCR .....                                                  | 146 |
| 4.4.3.5                     | Cytotoxické testy .....                                                                             | 146 |
| 4.4.4                       | Výběr metody pro imunologické sledování protinádorové<br>imunoterapie .....                         | 146 |
| 5                           | Systémy jakosti (kvality) v laboratoři ( <i>L. Šprongl, M. Paulík</i> ) .....                       | 149 |
| 5.1                         | Standardizace .....                                                                                 | 150 |
| 5.2                         | Certifikace .....                                                                                   | 152 |
| 5.3                         | Akreditace .....                                                                                    | 152 |
| 5.4                         | Kvalita laboratorní práce v imunologických laboratořích ( <i>M. Paulík</i> ) .....                  | 153 |
| Doporučená literatura ..... |                                                                                                     | 155 |
| Rejstřík .....              |                                                                                                     | 157 |
| Souhrn .....                |                                                                                                     | 163 |
| Summary .....               |                                                                                                     | 164 |

## Seznam zkratek

|        |                                                                                              |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| ACA    | anticentromerové autoprotilátky                                                              |
| ACLA   | antikardiolipinové autoprotilátky (anticardiolipin autoantibodies)                           |
| ADCC   | buněčná cytotoxicita závislá na protilátkách (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) |
| AIDS   | syndrom získané imunodeficiency (acquired immune deficiency syndrome)                        |
| ALPS   | autoimunitní lymfoproliferativní syndrom                                                     |
| ANA    | antinukleární autoprotilátky (antinuclear autoantibodies)                                    |
| ANCA   | antineutrofilní cytoplazmatické protilátky (antineutrophil cytoplasmic antibodies)           |
| APC    | buňka předkládající antigen (antigen-presenting cell)                                        |
| aPTT   | aktivovaný parciální tromboplastinový čas                                                    |
| ASMA   | protilátky proti hladkému svalu (anti-smooth muscle autoantibodies)                          |
| BAT    | test aktivace bazofilů (basophile activation test)                                           |
| BCG    | Calmetteův-Guérinův bacil                                                                    |
| BCR    | receptor lymfocytů B (B cell receptor)                                                       |
| BPI    | protein zvyšující baktericidii a permeabilitu (bactericidal permeability increasing protein) |
| C1 INH | inhibitor C1 složky komplementu                                                              |
| CAST   | test degranulace bazofilů                                                                    |
| CD     | diferenční antigen (cluster designation)                                                     |
| cDNA   | komplementární kyselina deoxyribonukleová (complementary DNA)                                |
| CDR    | oblast determinující komplementaritu (complementary determining region)                      |
| CFSE   | carboxyfluorescein succinimidyl ester                                                        |
| CGD    | chronická granulomatózní choroba (chronic granulomatous diseases)                            |
| CID    | kombinovaný imunodeficit (combined immunodeficiency)                                         |
| CL     | chemiluminiscence                                                                            |
| CMV    | cytomegalovirus                                                                              |
| CNS    | centrální nervový systém                                                                     |
| CRP    | C-reaktivní protein (C-reactive protein)                                                     |
| CTL    | cytotoxický lymfocyt T (cytotoxic T lymphocyte)                                              |
| CVID   | běžný variabilní imunodeficit (common variable immunodeficiency)                             |
| DBPCT  | dvojitě slepý placebem kontrolovaný pokus (double blind placebo controlled test)             |
| DC     | dendritická buňka (dendritic cell)                                                           |
| DNA    | deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)                                           |
| dsDNA  | dvoušroubovice DNA (double stranded DNA)                                                     |
| DTH    | reakce pozdní přecitlivělosti (delayed hypersensitivity test)                                |
| EA     | časný antigen (early antigen)                                                                |
| EBNA   | nukleární antigen viru Epsteina-Barrové (EB nuclear antigen)                                 |
| EBV    | virus Epsteina-Barrové (Epstein-Barr virus)                                                  |
| ECP    | eozinofilní kationický protein (eosinophil cationic protein)                                 |
| EDTA   | kyselina dietylen tetraoctová                                                                |
| EHK    | externí hodnocení kvality                                                                    |
| EIA    | enzymová imunoanalýza                                                                        |
| ELISA  | enzymová imunoanalýza na imunosorbentech (enzyme-linked immunosorbent assay)                 |

|       |                                                                                             |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| ENA   | extrahovatelné nukleární antigeny                                                           |
| FISH  | fluorescenční in situ hybridizace (fluorescent in situ hybridization)                       |
| FITC  | fluorescein izothyocyanát                                                                   |
| FSc   | parametr analýzy u průtokové cytometrie (forward scatter)                                   |
| GAD   | dekarboxyláza kyseliny glutamové (glutamic acid decarboxylase)                              |
| GAPDH | glyceraldehyd 3-fosfát dehydrogenáza                                                        |
| G-CSF | faktor stimulující kolonie granulocytů (granulocyte colony stimulating factor)              |
| HBV   | virus hepatitidy B                                                                          |
| HCV   | virus hepatitidy C                                                                          |
| HIV   | virus lidské imunodeficience (human immune deficiency virus)                                |
| HLA   | hlavní komplex lidských histokompatibilních antigenů (human leukocyte antigen complex)      |
| HLH   | hemofagocytyující lymfohistiocytóza                                                         |
| CH100 | celková hemolytická aktivita komplementu (100%)                                             |
| CH50  | celková hemolytická aktivita komplementu (50%)                                              |
| IFN   | interferon                                                                                  |
| IgA   | imunoglobulin A                                                                             |
| IgD   | imunoglobulin D                                                                             |
| IgE   | imunoglobulin E                                                                             |
| IgG   | imunoglobulin G                                                                             |
| IgM   | imunoglobulin M                                                                             |
| IL    | interleukin                                                                                 |
| INT   | jod-nitroblue tetrazolium                                                                   |
| JCA   | juvenilní chronická artritida                                                               |
| LAD   | syndrom defektní adhezivity leukocytů (leukocyte adhesion deficiency syndrome)              |
| LFA   | adhezivní molekula ze skupiny integrinů (leukocyte-function-associated antigen)             |
| LKM   | protilátky proti mikrozomům jater a ledvin (liver-kidney microsomes antibodies)             |
| MAC   | komplex složek komplementu atakující membránu a vyvolávající lýzu (membrane attack complex) |
| MALT  | slizniční imunitní systém (mucosa associated lymphoid tissue)                               |
| MBL   | lektin vázající manózu (mannose binding lectin)                                             |
| MCTD  | smíšená choroba pojiva (mixed connective tissue disease)                                    |
| MGUS  | monoklonální gamapatie nejasného významu (monoclonal gammopathy of unknown significance)    |
| MHC   | molekuly tkáňové slučitelnosti (major histocompatibility complex), viz HLA                  |
| MPO   | myeloperoxidáza                                                                             |
| MSHP  | mikrosférické hydrofilní partikule                                                          |
| NADPH | nikotinamid adenin dinukleotid fosfát (nicotinamid adenin dinucleotide phosphate)           |
| NBT   | nitrotetrazoliová modř (nitroblue tetrazolium chlorid)                                      |
| NK    | přírozený zabíječ (natural killer)                                                          |
| OPD   | ortofenylendiamin                                                                           |
| PAA   | polyakrylamid                                                                               |
| PAGE  | polyakrylamidová gelová elektroforéza                                                       |
| PBMC  | mononukleární buňky z periferní krve (peripheral blood mononuclear cells)                   |
| PCR   | řetězová polymerázová reakce (polymerase-chain reaction)                                    |

|        |                                                                                                         |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PE     | fykoerytrin                                                                                             |
| PEG    | polyetylglykol                                                                                          |
| PHA    | fytohemaglutinin (phytohemagglutinin)                                                                   |
| PI     | propidium jodid                                                                                         |
| PMA    | forbol myristát acetát (phorbol myristate acetate)                                                      |
| PMN    | polymorfonukleární leukocyty (polymorphonuclear cell)                                                   |
| PWM    | poke weed mitogen                                                                                       |
| RA     | revmatoidní artritida                                                                                   |
| RAST   | radioallergosorbent test                                                                                |
| RF     | revmatoidní faktory                                                                                     |
| RIA    | radioimmunosorbent-assay                                                                                |
| RISA   | ring-immunosorbent assay                                                                                |
| RNA    | kyselina ribonukleová (ribonucleic acid)                                                                |
| RPMI   | médium                                                                                                  |
| RT-PCR | reverzně transkriptázová polymerázová řetězová reakce (reverse transcriptase polymerase chain reaction) |
| SCID   | těžký kombinovaný imunodeficit (severe combined immunodeficiency)                                       |
| SI     | stimulační index                                                                                        |
| SLE    | systémový lupus erythematoses (systemic lupus erythematoses)                                            |
| SSc    | parametr analýzy u průtokové cytometrie (side scatter)                                                  |
| SSP    | sekvenčně specifické primery                                                                            |
| Tc     | cytotoxický lymfocyt T pro antigen (cytotoxic T cell)                                                   |
| TCR    | receptor lymfocytu T (T cell receptor)                                                                  |
| TdT    | terminální deoxyribonukleotid transferáza                                                               |
| TGF    | transformující růstový faktor (transforming growth factor)                                              |
| Th     | pomocný lymfocyt T (helper T cell)                                                                      |
| TMB    | tetrametylbenzidin                                                                                      |
| TNF    | faktor nekrotizující nádory (tumor necrosis factor)                                                     |
| Tr     | regulační lymfocyt T (regulatory T cell)                                                                |
| TSH    | hormon stimulující tyroideu (thyreoid stimulating hormon)                                               |
| VCA    | virový kapsidový antigen (viral capsid antigen)                                                         |
| VCAM   | vaskulární adhezivní molekula (vascular cell adhesion molecule)                                         |

## Úvod

Uplynulo již dvacet let od doby, kdy se čtenářům dostala do rukou skvělá kniha Vybrané diagnostické metody v imunologii autorů J. Procházkové a C. Johna. Dodnes je tato publikace součástí knihovničky imunologických laboratoří. Pokud se nějaký student, ať již v pregraduálním, nebo postgraduálním studiu, chtěl něco dozvědět o základních imunologických technikách, sáhl po této knize. Doba však již pokročila a řada metod se změnila, některé zanikly, jiné přibýly. Studenti medicíny i přírodních věd, postgraduální studenti v biomedicině, lékaři stážující v laboratoři před atestací z alergologie a klinické imunologie začali postrádat ucelenou stručnou publikaci, kde by se něco dozvěděli nejen o principech moderních metod, ale také o indikacích k vyšetření a interpretaci výsledků. Posledním impulzem k sepsání této příručky pak byla akreditace bakalářského studia v oboru Zdravotní laborant na 2. lékařské fakultě UK v Praze, a tedy potřeba moderních učebních textů pro tento specifický obor. Kolektiv interních a externích učitelů 2. lékařské fakulty UK se proto rozhodl zaplnit chybějící mezeru na trhu a přichází s touto publikací.

Kniha je koncipována jako praktická přehledná příručka pro klinické i laboratorní pracovníky zabývající se imunologií. V první kapitole je jako výchozí informace pro další texty stručně rekapitulována fyziologie a patologie imunitního systému. Druhá kapitola pojednává o metodikách, které se používají pro diagnostiku imunitních parametrů. Metodiky neobsahují podrobný pracovní protokol, spíše se orientují na principy metod, jejich úskalí, limity, uplatnění v diagnostice různých parametrů imunity. U jednotlivých metod je také zmíněno, jaké přístrojové vybavení metoda vyžaduje a jak je ekonomicky náročná.

Třetí kapitola se zabývá možnostmi stanovení jednotlivých parametrů imunity. Zatímco ve druhé kapitole jsou zmíněny metody (např. nefelometrie), třetí kapitola se zabývá tím, jakými metodami lze stanovit jednotlivé parametry imunity (např. imunoglobuliny– nefelometrií, radiální imunodifuzí ...), jaké jsou výhody a nevýhody jednotlivých metod stanovení. Zároveň obsahuje odstavce o fyziologických hodnotách jednotlivých parametrů, popřípadě o specifitě nebo senzitivitě jednotlivých vyšetření a interpretaci patologických výsledků.

Čtvrtá kapitola obsahuje základní algoritmy vyšetření, která jsou indikována u jednotlivých druhů imunopatologických stavů – imunodeficiencí, autoimunitních a alergických chorob. Stručně jsou zmíněny i anamnestické a klinické aspekty, více pozornosti je věnováno laboratornímu spektru. Je zařazena i kapitola o možnostech monitorování protinádorové imunity, neboť předpokládáme, že imunoterapie se v blízké budoucnosti přenese z vědeckého experimentu do klinické praxe a požadavky na imunologické laboratoře se v tomto směru zvýší.

Poslední kapitola je věnována problematice akreditace, certifikace a standardizace v klinických laboratořích.

Oproti starší publikaci Procházkové a Johna neobsahuje kniha podrobné laboratorní protokoly. Doba se změnila a celá řada testů je dodávána výrobcem v kompletech, setech nebo je zcela automatizována. Učebnice by byla v tomto aspektu nerovnoměrná: byly by podrobně popsány metody na vyšetření funkcí buněčných složek imunity, které jsou stále založeny na manuálním zpracování, zatímco u většiny testů humorální imunity by bylo napsáno – „zkumavku s krví dáme do analyzátoru a počkáme na výsledek“ nebo „postupujeme dle návodu výrobce“.

Doufáme, že publikaci shledají jako užitečnou lékaři a přírodovědci vzdělávající se v problematice klinické a laboratorní imunologie, postgraduální studenti v biomedicině přicházející do styku s laboratorními metodami, posluchači bakalářského studia a vyššího odborného studia oboru zdravotní laborant, ale i biochemici, mikrobiologové, farmakologové a také kliničtí lékaři jiných odborností.

## Předmluva k 2. vydání

Na začátku školního roku 2009/2010 jsme si uvědomili při úvodní přednášce pro bakalářský obor zdravotní laborant, že při doporučování studijní literatury slovy: „Používejte naši novou učebnici Laboratorní vyšetřovací metody v imunologii,“ mluvíme o knize s rokem vydání 2005. Což znamená, že doporučujeme učebnici starou pět let. Rozhodli jsme se, že pro další školní rok učebnici inovujeme.

Ponechali jsme obdobnou strukturu jako v předešlém vydání, neboť jsme měli na tuto koncepci velmi pozitivní ohlasy. V nové učebnici jsme se snažili zachytit obraz počátku 21. století v imunologických laboratořích. Rozvoj laboratorních technik jde jako rozvoj všech technologií v lidské činnosti nezadržitelně kupředu, ale i v době špičkových technologií zůstávají některé metody „zlatým a prověřeným standardem“ a leckdy se jen obtížně nahrazují moderními technikami. Výpovědní hodnota některých nových technologií pro klinickou diagnostiku není v zásadě o moc přínosnější, než je tomu u metod klasických, přičemž finanční náročnost je někdy enormní. Zmínili jsme metody, které přinejmenším v principu ještě dlouho nezastarají (reakce založené na vazbě antigen–protilátka se používají již více než 80 let). Doplnili jsme metody, které nyní nejsou zcela rutinní, ale již se „o nich ví“, a můžeme očekávat, že si zanedlouho najdou své místo v laboratorní diagnostice, a které již v současnosti tvoří arzenál výzkumných laboratoří. Přestože je naše učebnice zaměřena zejména na laboratorní techniky a jejich význam, snažili jsme se, byť jen ve stručnosti, zmínit, že laboratorní vyšetření není samospasitelné a že ani v éře biočipů, mikroarraí a průtokové cytometrie neztratí v diagnostice imunopatologického stavu svůj význam anamnéza, fyzikální vyšetření a další pomocné vyšetřovací metody.

Za kolektiv autorů editoři



# 1 Stručná fyziologie a patologie imunitního systému

Jiřina Bartůňková

## 1.1 Složky a funkce imunitního systému

Imunitní systém patří spolu s endokrinním a nervovým systémem k regulačním mechanismům organismu, které zajišťují jeho celistvost a udržování vnitřního prostředí (homeostázu). Základní vlastností imunitního systému je schopnost rozpoznat škodlivé od neškodného, cizí od vlastního. Škodliviny zevního i vnitřního původu jsou likvidovány, neškodné je tolerováno. Unikátní vlastností imunity, obdobnou nervové soustavě, je schopnost **učení a paměti**. Funkce imunitního systému zajišťuje vzájemná provázanost mechanismů imunity přirozené – **nespecifické** a adaptivní – **specifické**. Do nespecifické imunity patří polymorfonukleární leukocyty, monocyty, makrofágy a dendritické buňky a různé součásti plazmy, jako je komplement a proteiny akutní fáze. Do specifické imunity patří lymfocyty T a lymfocyty B, které se po diferenciaci do plazmatických buněk stávají producenty protilátek.

Látka, která je schopna vyvolat imunitní reakci, se nazývá **antigen**. Z chemického hlediska jsou antigeny většinou bílkoviny (proteiny) nebo bílkoviny spolu s cukernými složkami – glykoproteiny. Mohou však být i povahy tukové (lipidy, fosfolipidy, glykolipidy) a cukerné (polysacharidy). Pokud je antigen zevního původu, označuje se jako **exoantigen**. Jedná se nejčastěji o složky mikroorganismů. Jako **alergen** se označuje exoantigen, který je schopen u vnímavého jedince navodit nepřiměřenou imunologickou reakci – alergickou reakci. Alergeny mohou být pyly, zvířecí srst, potraviny, léky a další látky. Struktury vlastních tkání, proti nimž se vyvíjí imunitní reakce, se nazývají **autoantigeny**. Malé molekuly, které jsou schopny vyvolat imunitní reakci pouze po vazbě na makromolekulární nosič (např. albumin), jsou nazývány **hapteny** (např. léky). Malá oblast molekuly antigenu, která je rozeznávána antigenně specifickými receptory, se nazývá **epitop**.

Laboratorní imunologické metody jsou v převážné většině založeny na reakci antigen–protilátka (kapitola 2). Antigenem v těchto reakcích může být jakákoliv složka, která je vyšetřována, tj. i protilátka (např. lidský imunoglobulin). Protilátkou je pak v systému zvířecí imunoglobulin, který byl vyroben imunizací zvířete zkoumanou lidskou protilátkou, neboť ta coby cizorodá bílkovina představuje pro zvířecí imunitní systém antigen.

Buňky imunitního systému spolu s pojivovými buňkami a dalšími strukturami tvoří anatomické a funkční celky – **lymfatické orgány a tkáně**. Buňky zajišťující imunitní reakce se nazývají **imunokompetentními** buňkami. **Centrálními** lymfatickými orgány jsou **kostní dřeň** a **brzlík** (thymus). Jsou to místa, kde dochází ke vzniku, diferenciaci a zrání imunokompetentních buněk. V kostní dřeni vznikají všechny imunitní buňky ze společné **kmenové** buňky. Ta se dále diferencuje na **myeloidní** a **lymfoidní** buněčné linie. Z myeloidní linie vznikají červené krvinky a krevní destičky a dva druhy bílých krvinek, granulocyty a monocyty. Z lymfoidní linie vzniká další druh bílých krvinek – lymfocyty. Ty, které se dále vyvíjejí v thymu, se označují jako **lymfocyty T**. V kostní dřeni se vyvíjí celá linie myeloidní a **lymfocyty** typu **B**, z nichž se posléze stávají buňky plazmatické, které produkují protilátky. Mezi imunokompetentní buňky se řadí také buňky dendritické, jejichž hlavní funkcí je pohltnout a zpracovat antigen, vystavit jej na svém povrchu a přilákat příslušné lymfocyty T a B, které pak rozvinou imunitní reakci.

**Periferní** (sekundární) lymfatické orgány a tkáně jsou místem, kde probíhá imunitní reakce a kde se diferencují lymfocyty T a B do výkonných populací. Patří sem **slezi-**

**na**, lymfatické **uzliny** a lymfatická tkáň asociovaná se sliznicemi (**MALT** – mucous associated lymphoid tissue). Anatomická struktura periferních lymfatických orgánů umožňuje optimální spolupráci lymfocytů T a B s buňkami prezentujícími antigen. Dochází k jejich aktivaci, růstu, diferenciaci a konečnému vzniku výkonných lymfocytů. Lymfatické orgány a tkáň jsou propojeny sítí lymfatických a krevních cév. Nově vzniklé lymfocyty se dostávají z centrálních do periferních lymfatických orgánů krevním řečištěm, odkud přestupují cévní stěnou. Sekundární lymfatický orgán opouštějí lymfatickými cévami, jimiž se dostávají cirkulaci do tkání.

Pro imunitní reakce jsou důležité interakce imunokompetentních buněk s dalšími buňkami, které nepocházejí z hematopoetických (krvetvorných) kmenových buněk. Patří sem například folikulární dendritické buňky, endotelie (výstelka cév), buňky nervového systému, epitelální buňky sliznic a fibroblasty.

Funkce imunitního systému vykonávají jednak některé součásti krevního séra, nazývané **humorální faktory**, a jednak krevní **buňky**. Buňky kolují v krevním a mízním oběhu a v případě potřeby vycestují do místa, kde je jich potřeba. Některé buňky imunitního systému jsou usazeny v tkáních a necestují. Podle toho, zda se v imunitní reakci více uplatní humorální faktory nebo buňky, se složky imunity rozdělují na **humorální a buněčné**. Podle toho, jakým způsobem imunitní složky rozpoznávají antigen, dělíme imunitní systém na složky **specifické (adaptivní)** a **nespecifické (přírozené)**. Všechny složky imunity spolu úzce spolupracují a navzájem se ovlivňují a regulují buď přímým kontaktem zprostředkovaným adhezními molekulami na buněčném povrchu, nebo rozpustnými mediátory, zejména cytokiny. Základní charakteristiky buněčné a humorální imunity uvádí tabulka 1.

**Tab. 1** Srovnání humorální a buněčné imunity

|                              | <b>humorální</b>                                                 | <b>buněčná</b>                                                                                                                     |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>nespecifické složky</b>   | proteiny akutní fáze, komplement                                 | buňky NK, neutrofilní leukocyty, monocyty, makrofágy                                                                               |
| <b>specifické složky</b>     | protilátky                                                       | lymfocyty T                                                                                                                        |
| <b>hlavní funkce</b>         | obrana proti extracelulárně žijícím mikroorganismům (opsonizace) | obrana proti intracelulárně žijícím mikroorganismům, u neutrofilů i obrana proti extracelulárním mikroorganismům, zánětlivá reakce |
| <b>materiál na vyšetření</b> | sérum, plazma, ev. jiné tekutiny (sliny, mozkomíšní mok)         | nesrážlivá krev, bioptické vzorky tkání, ev. jiné zdroje (mozkomíšní mok, bronchoalveolární laváž)                                 |

## 1.2 Buněčné složky imunity

Do **buněčné** imunity nespecifické patří fagocytující buňky (polymorfonukleáry a monocyty/makrofágy) a buňky NK (tzv. přirození zabíječi – z anglického natural killer cells). Specifickou složku tvoří lymfocyty T. Po aktivaci produkují tyto buňky rozpustné mediátory, zvané **cytokiny**. Ty aktivují další složky imunity nebo samy sebe a stávají se z nich buňky regulační nebo zabíječské (cytotoxické).

Buněčná imunita se uplatňuje v obraně organismu proti virovým, plísňovým a některým bakteriálním infekcím (způsobeným nitrobuněčnými parazity, např. mykobakteriemi) a v obraně proti nádorům (zejména vyvolanými onkogenními viry). V transplantační medicíně se buněčné složky podílejí na odvržení transplantované tkáně. Složky buněčné imunity se vyšetřují z nesrážlivé krve.