

Adaptivní (získaná) imunitní reakce závislé na protilátkách

Jiří Litzman

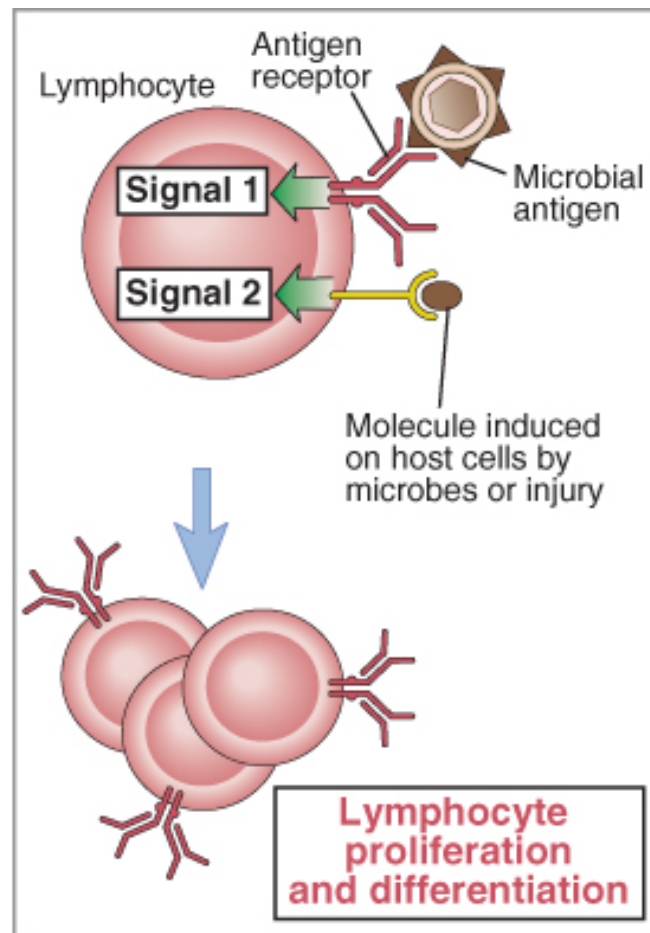
ADAPTIVNÍ SYSTÉM:

- Je založen na obrovském repertoáru klonů B- and T-lymfocytů, z nichž každý nese poněkud odlišné receptory (BCR resp. TCR)
- “Rozpustné receptory” adaptivního systému jsou protilátky (= rozpustné BCR)
- Systém je “anticipační”, klonální, “marnotratný”
- Klonální receptory vznikají hlavně přeskupováním genových fragmentů a somatickými mutacemi.

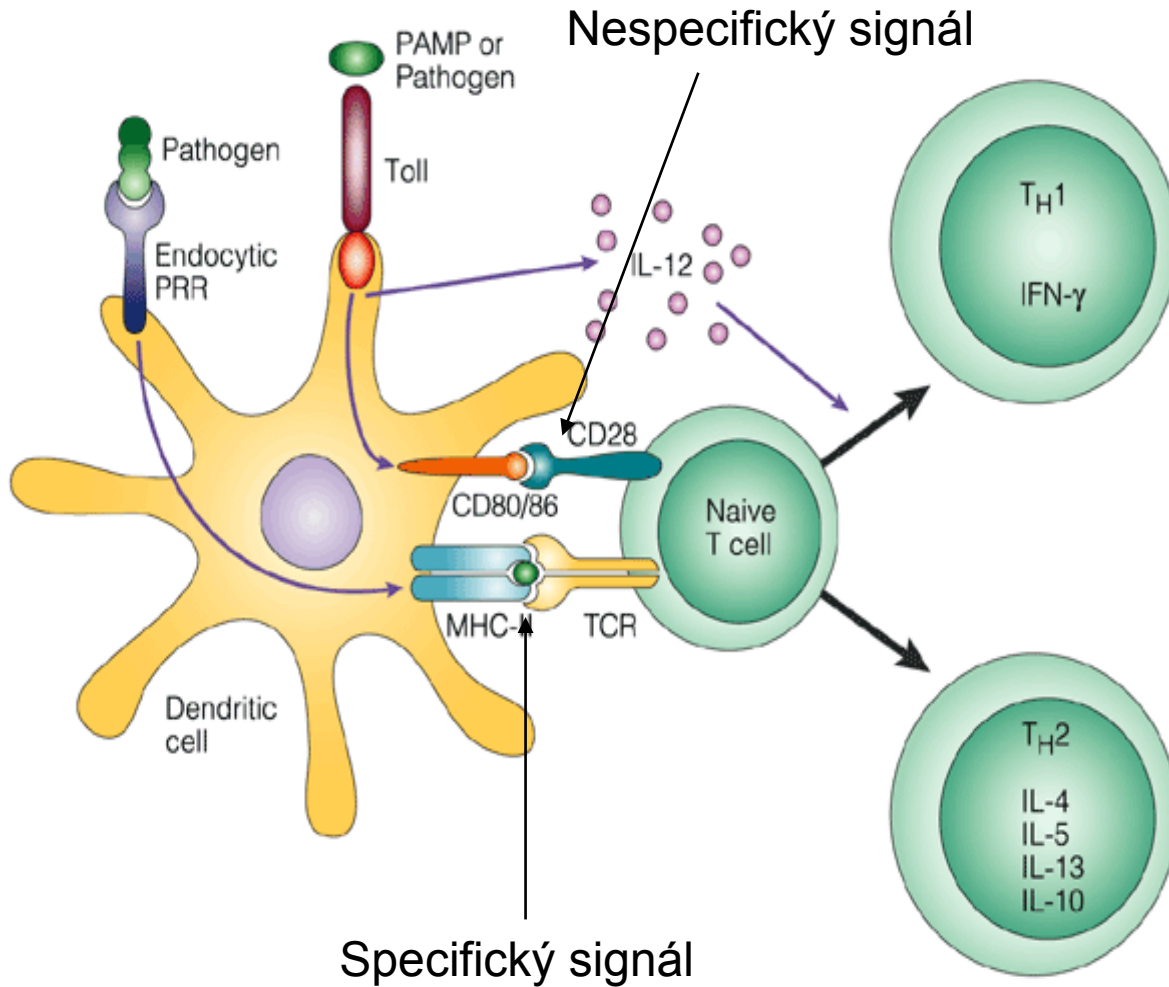
IMUNITA VROZENÁ A ZÍSKANÁ

Vlastnost	Imunita vrozená	Imunita získaná
Specifičnost	struktury společné pro různá agens (molekulární znaky patogenů – „PAMP“ – dsRNA, CpG, LPS, manany, glykany, fosforylcholin...)	strukturální detaily antigenů (antigenní determinanty, epitopy)
Receptory	zakódované v genomu buněk zárodečné linie, není nutné přeskupování genů	vytvářejí se během vývoje somatickými rekombinacemi, přeskupování genů nutné
Distribuce receptorů	neklonální: všechny buňky dané skupiny jsou identické	klonální: klony buněk odlišné specifičnosti mají odlišné receptory
Odlišení vlastního od cizorodého	perfektní vyselektováno v evoluci	ano, ale není perfektní (autoimunizace)
Nástup reakce	bezprostřední (0-4-96 hod)	s latencí (> 96 hod)
Paměť	nevzniká	vzniká

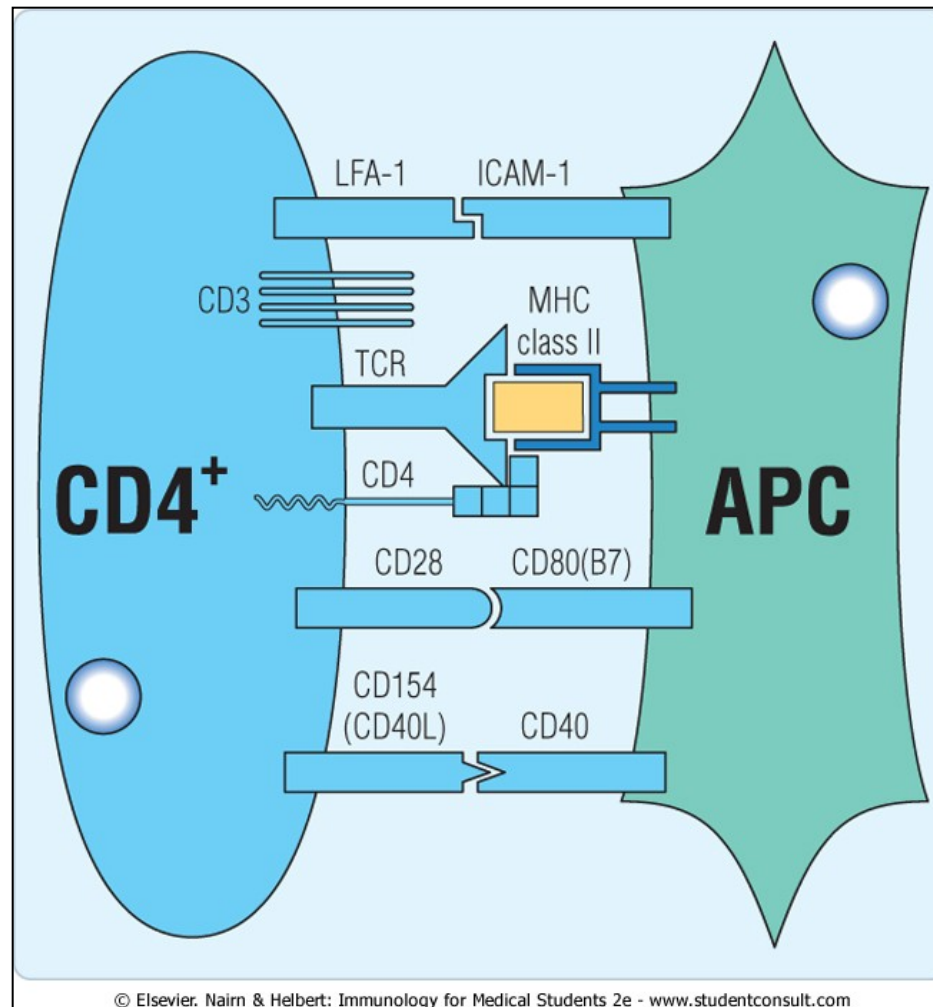
Pro stimulaci lymfocytů jsou vždy nutné nejméně 2 signály



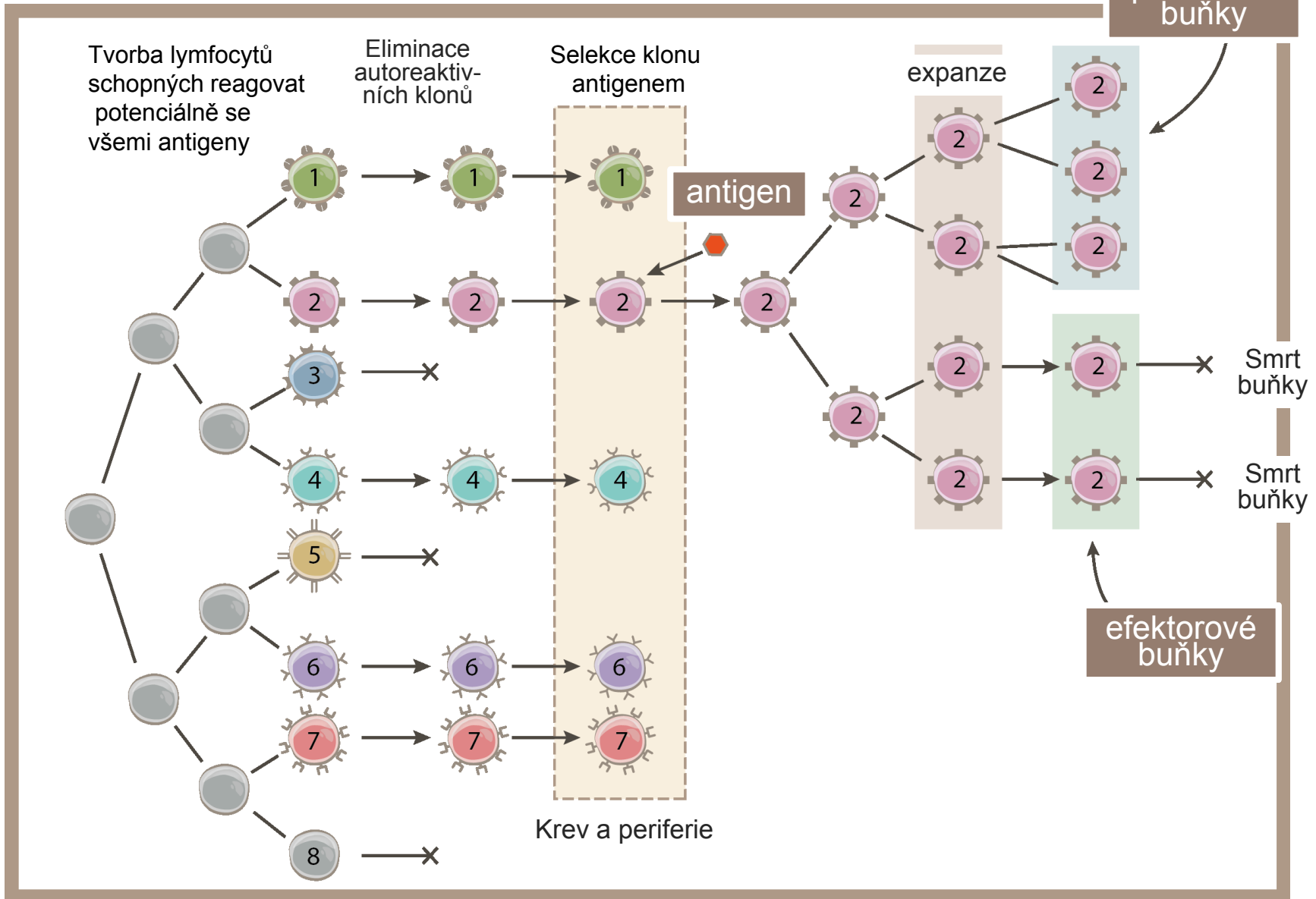
PAMP jsou důležité v aktivaci dendritických buněk



Kostimulační molekuly při aktivaci T-lymfocyту antigen prezentující buňkou



Klonálně selekční teorie

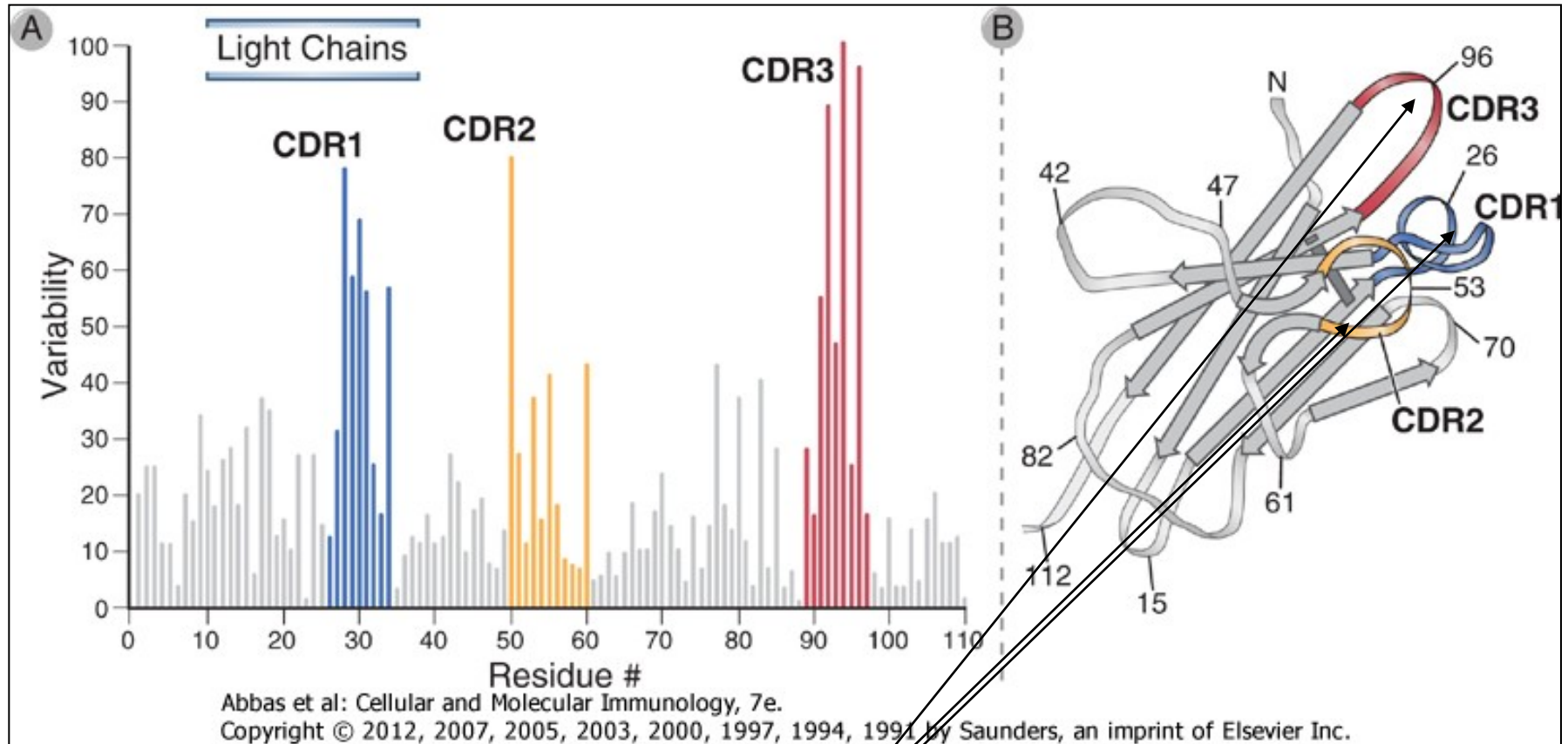


Klonálně selekční teorie

F.M. Burnet, 1957

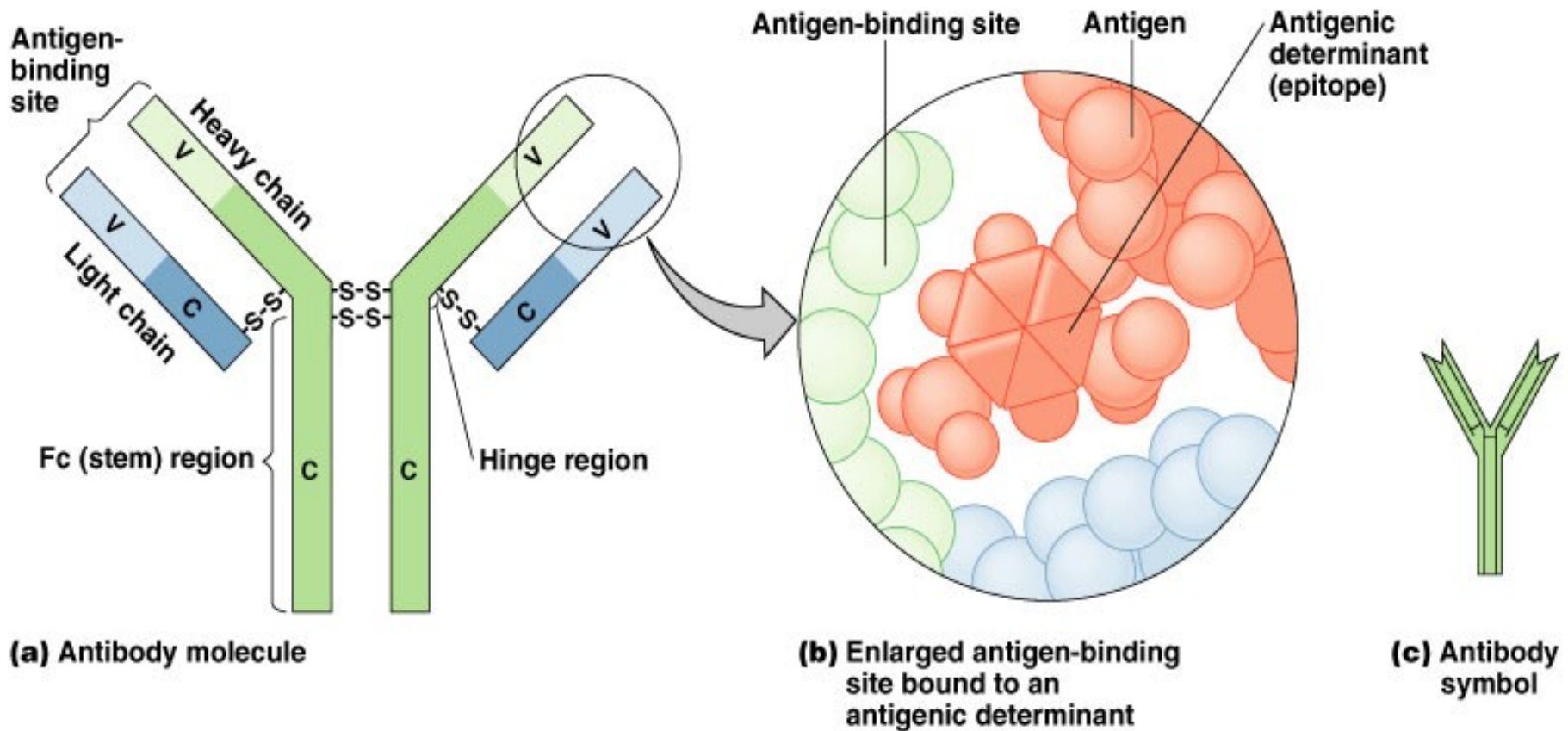
- V průběhu vývoje každého jedince dochází k vývoji buněk se specifickými vazebnými místy pro různé epitopy, přičemž každá buňka reaguje pouze s jedním epitopem.
- Během vývoje (zejména intrauterinního) dochází k eliminaci autoreaktivních lymfocytů (zakázané klony, „forbidden clones“), čímž vzniká pool buněk schopných reagovat na cizorodé antigeny.
- Dojde-li k reakci epitopu s příslušným receptorem, dochází k proliferaci daného buněčného klonu. (tj k **selekcí klonu**)
- Po opakovaném dělení dosáhnou buňky stadia terminálně diferencovaných buněk (např. plazmatická buňka), ty se již dále nedělí.
- U části stimulovaných a proliferujících buněk k terminální diferenciaci nedojde, přetrvávají v těle jako buňky paměťové.

Variabilní oblast imunoglobulinové molekuly

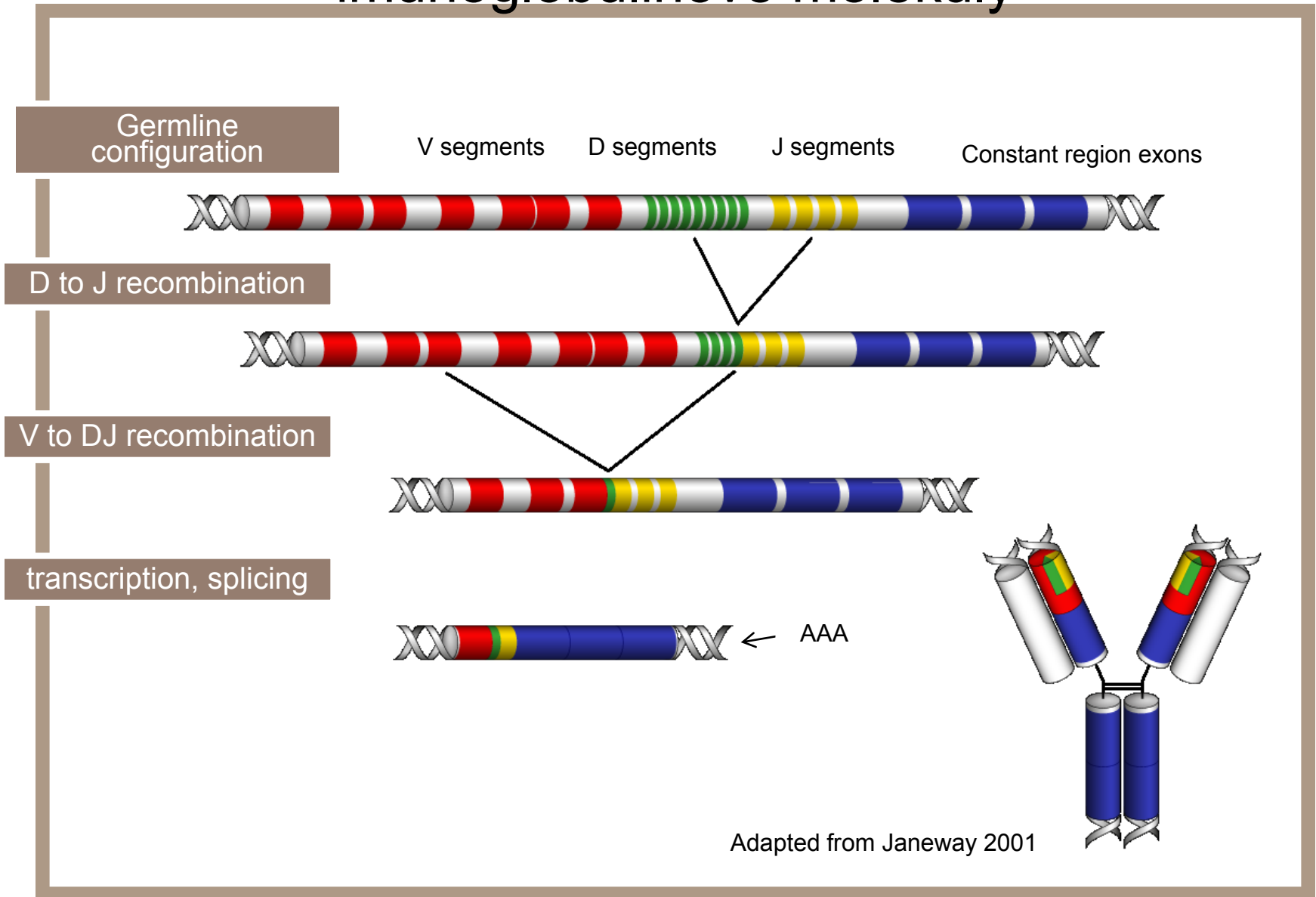


Hypervariabilní oblasti imunoglobulinové molekuly
– přímo na sebe váží epitop

Variabilní oblast Ig molekuly váže antigenní epitop



VDJ rekombinace při vzniku variabilního místa imunoglobulinové molekuly



Variabilní část imunoglobulinové molekuly

teoretický počet variant

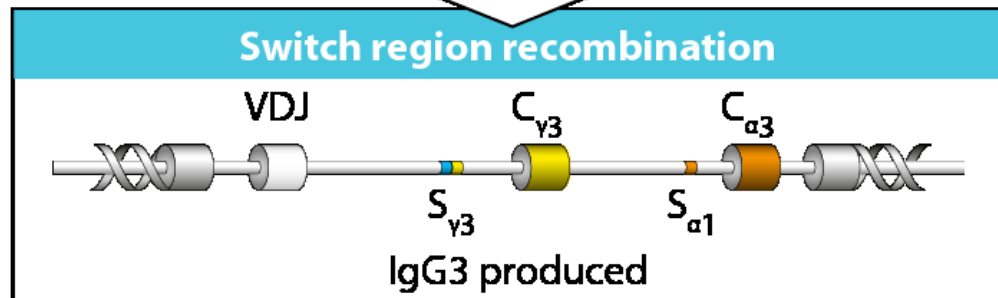
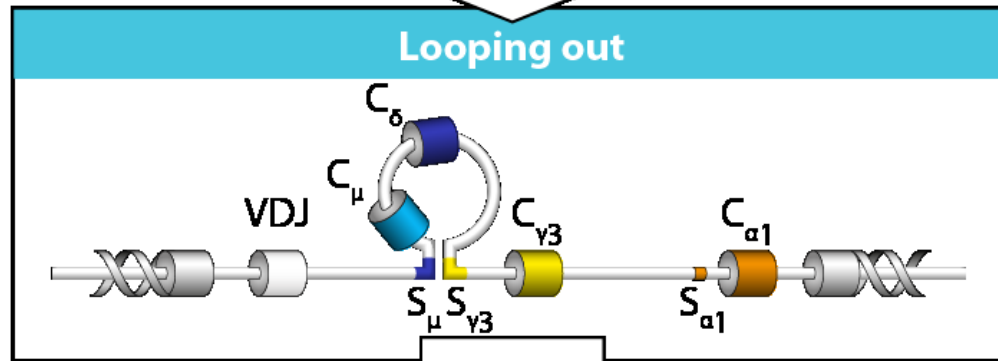
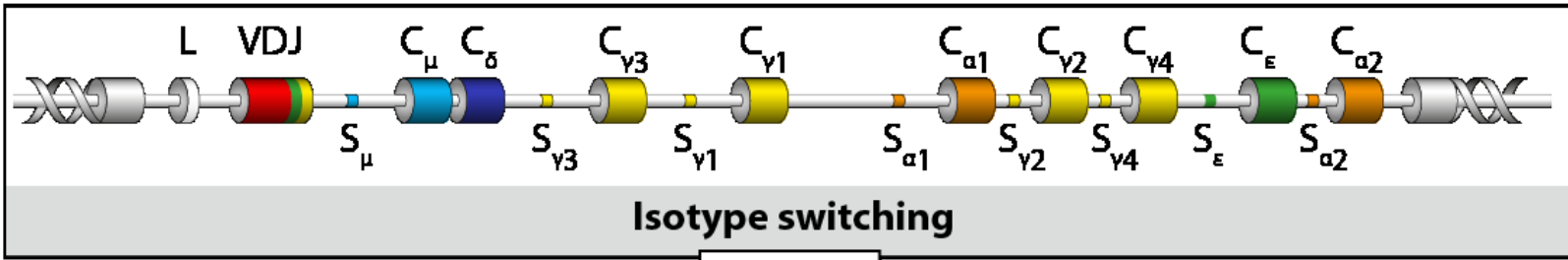
Segment (počet genů)	IgH	IgK	Igλ
V	~ 100	~ 70	~ 30
D	~ 50	—	—
J	9	5	9

Variabilita pro těžký řetězec: $100 \times 50 \times 9 = 45\,000$ variant,

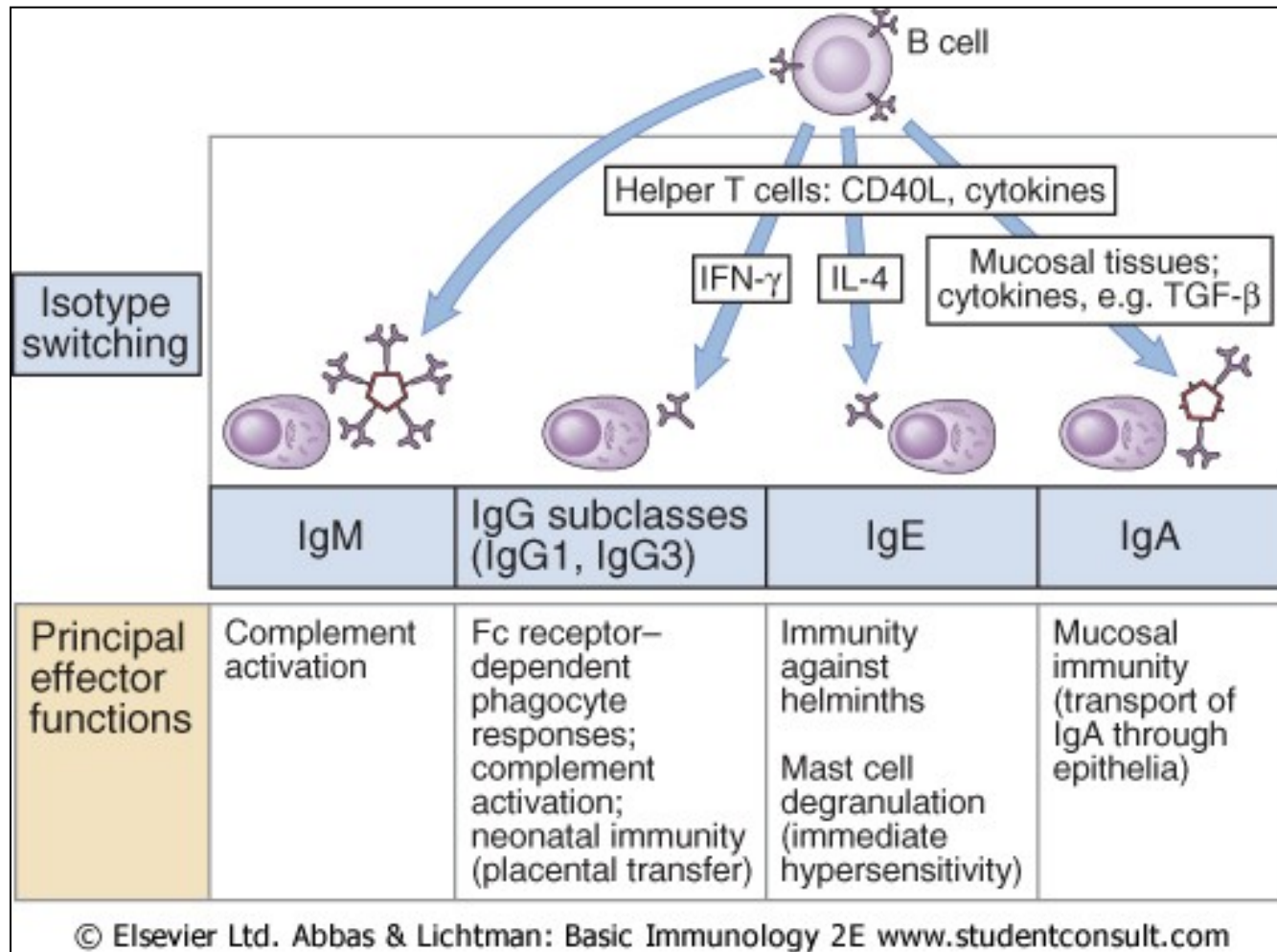
Lehký řetězec (IgK a Igλ): $70 \times 5 + 30 \times 9 = 620$ variant;

Protože tyto lze mezi sebou libovolně kombinovat, výsledný teoretický možných kvartérních struktur variabilní části molekuly imunoglobulinu je $45\,000 \times 620 = 27\,900\,000$.

Izotypový přesmyk



Izotypový přesmyk závisí na cytokinovém prostředí a stimulaci Th lymfocyty



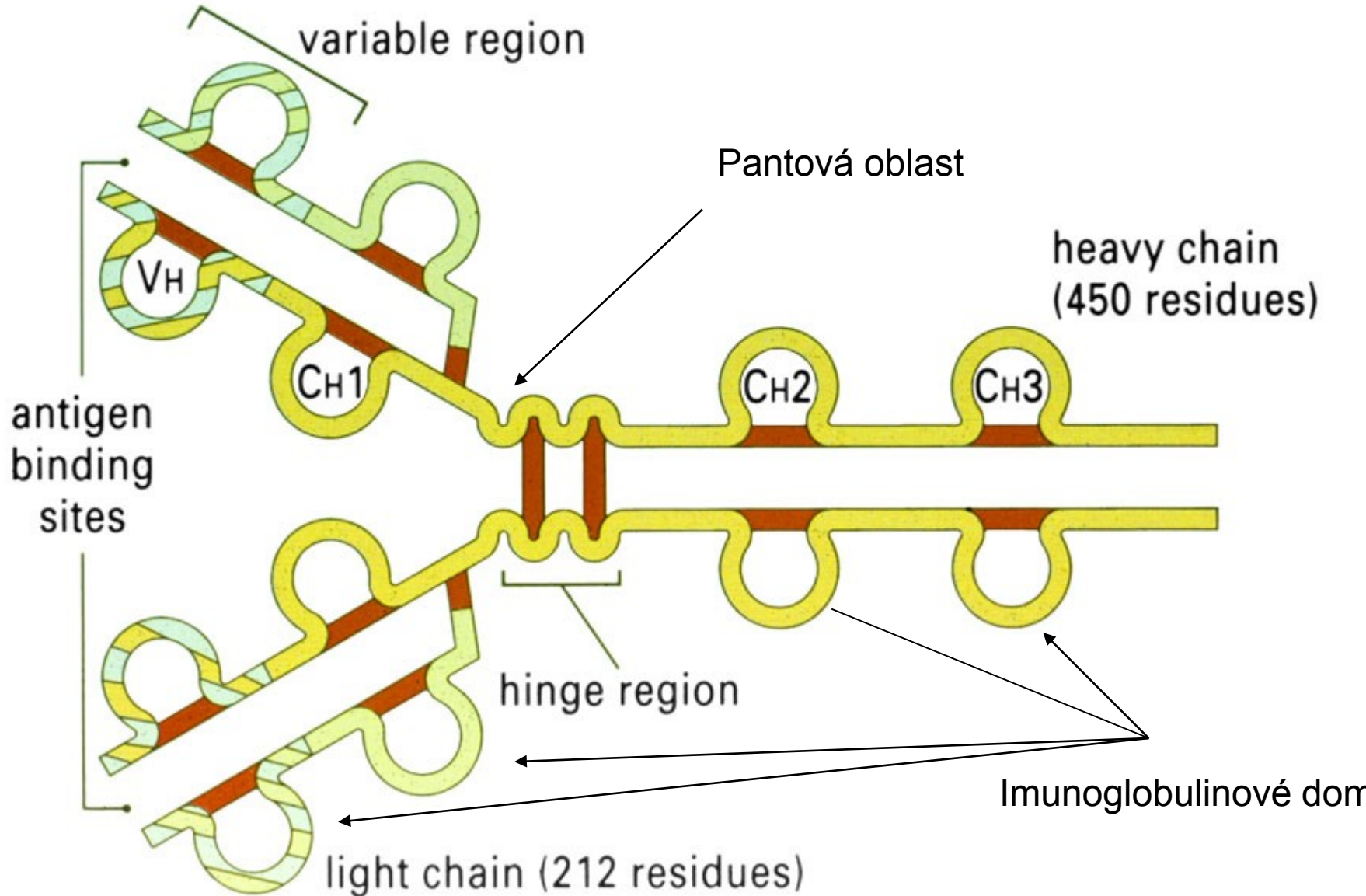
IMUNOGLOBULIN = PROTI LÁTKA

- strukturálně příbuzné glykoproteiny produkované B lymfocyty
- vázané na membránu B lymfocytu – receptory zprostředkující aktivaci B lymfocytu
- sekretované (rozpuštěné) – mediátory specifické humorální imunity

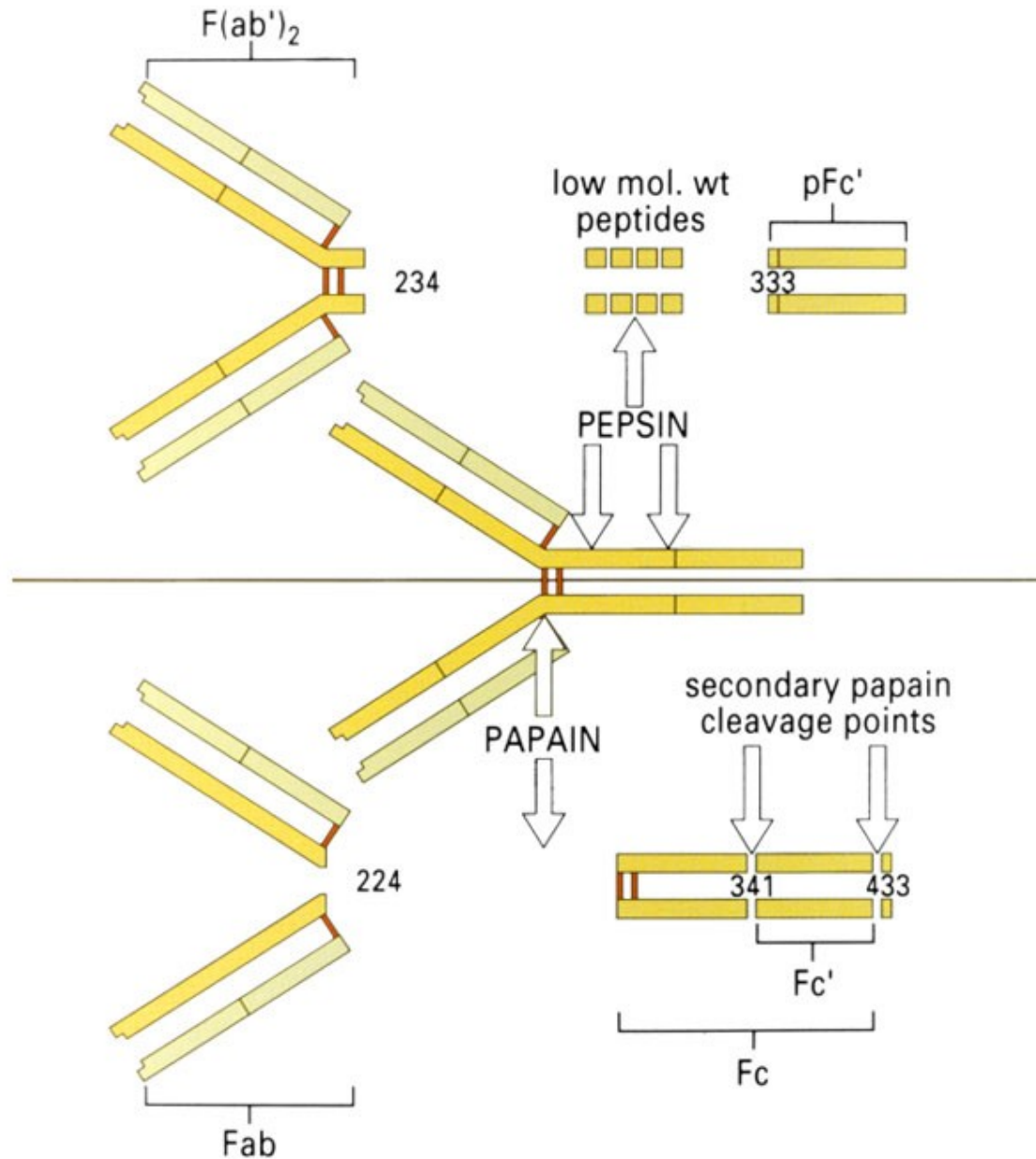
Struktura molekuly protilátky

- 2 identické těžké řetězce (H) a 2 identické lehké řetězce (L) spojené disulfidickými můstky
- strukturně podobné domény (110-120 AK): 2 u lehkých řetězců, 4-5 domén u těžkých řetězců
- lehký i těžký řetězec
 - **variabilní oblast** (VH a VL); N-konec
 - každá oblast obsahuje 3 hypervariabilní úseky (6-10 AK)
 - **vazba antigenu**
 - **konstantní oblast** (CL, CH1-CH3/CH4); C-konec
 - CL - izotyp kappa, lambda
 - CH - izotyp (třída) protilátky (IgG, M, A, E, D), podtřídy
 - membránově vázaná nebo sekretovaná forma
 - **biologické (efektorové) funkce** protilátky
- flexibilita vazebné části – pantová oblast mezi CH1 a CH2

The basic structure of IgG1

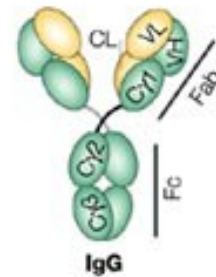
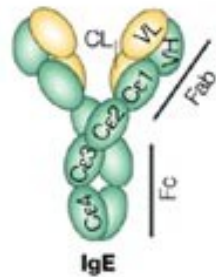
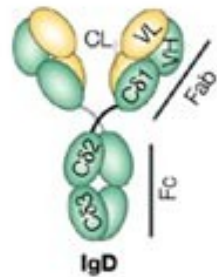


Enzymic cleavage of human IgG1

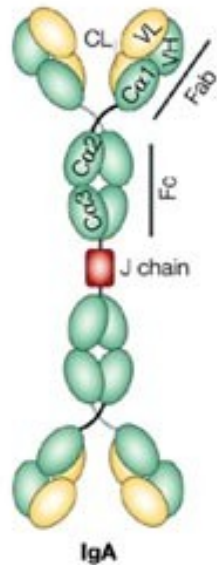


- Proteolytickým štěpením (trypsinem, papainem) můžeme rozdělit molekulu IgG na 2 fragmenty:
 - Fab (antigen binding) – je zodpovědný především za specifickou vazbu na antigen
 - Fc (krystalizabilní) . Je na něj vázána řada funkcí imunoglobuliné molekuly (třeba vazba na Fc receptory)

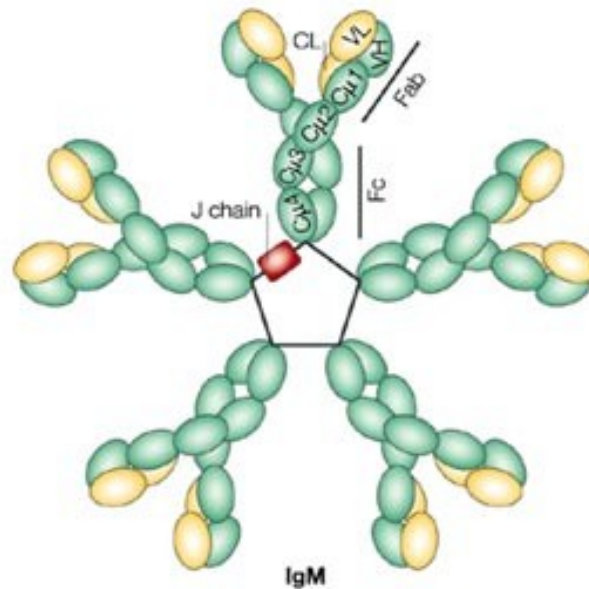
Třídy imunoglobulinů, formy výskytu



IgG, IgE, IgD
monomers



IgA dimer
(monomer,
trimer)



IgM pentamer
(hexamer)

Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Oligomery jsou spojeny J řetězcem.
Membránové formy vždy jako monomer.

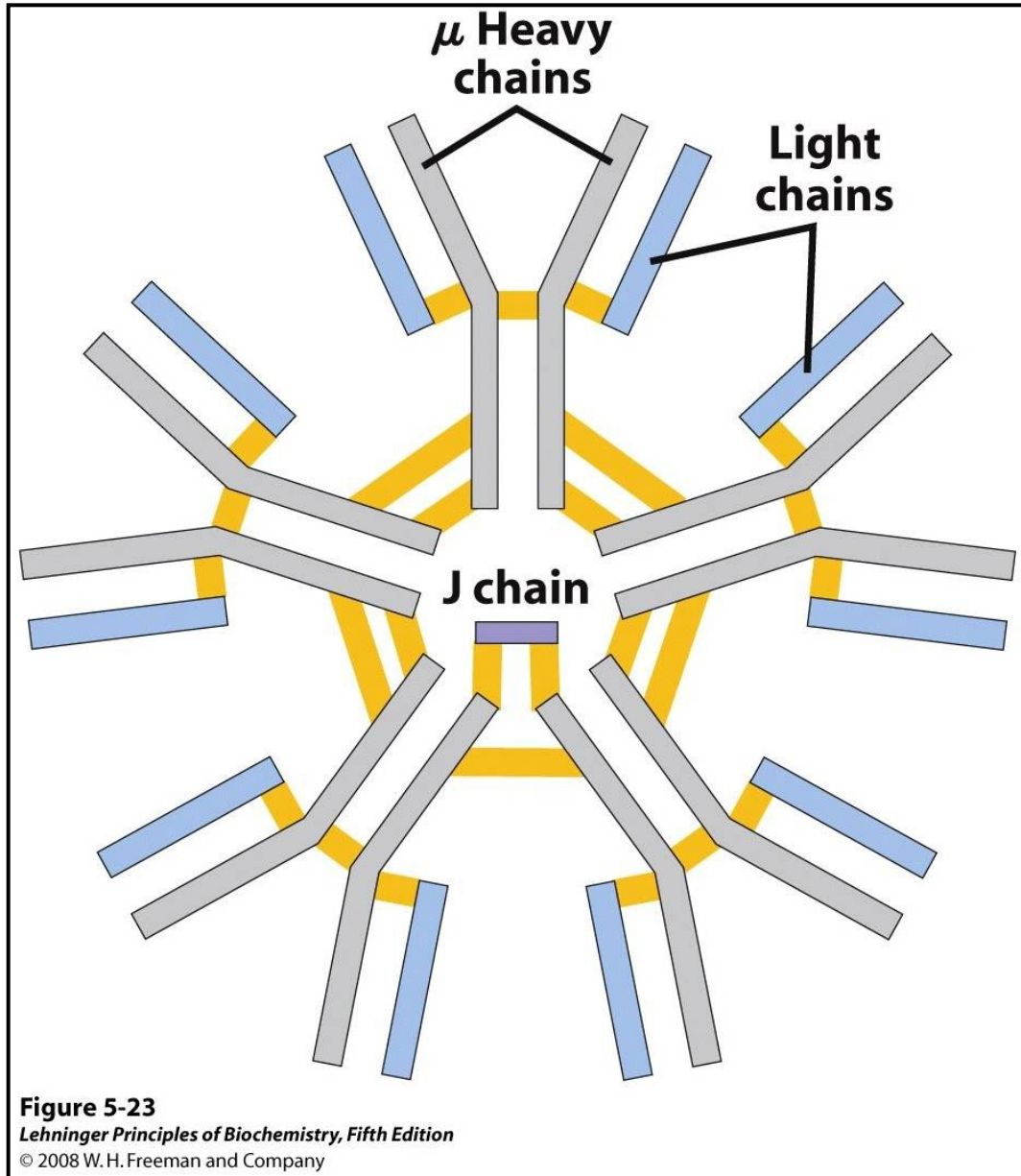
Třídy a podtřídy imunoglobulinů

Izotyp	Podtřídy	Koncentrace v séru	Biol. poločas	Funkce
IgM	-	0,9-2,5 g/l	6 d	Receptor pro antigen (naivní B lymfocyty); primární odpověď; aktivace komplementu
IgD	-	Stopa	3 d	Receptor pro antigen (naivní B lymfocyty)
IgG	IgG1-4	8-18 g/l (převaha IgG1)	21 d	Sekundární odpověď; neonatální imunita; aktivace komplementu; opsonizace; neutralizace
IgA	IgA1,2	0,9-3,5 g/l	6 d	Slizniční imunita; opsonizace
IgE	-	0,0003 g/l	2 d	Obrana proti parazitům; reakce časně přecitlivělosti

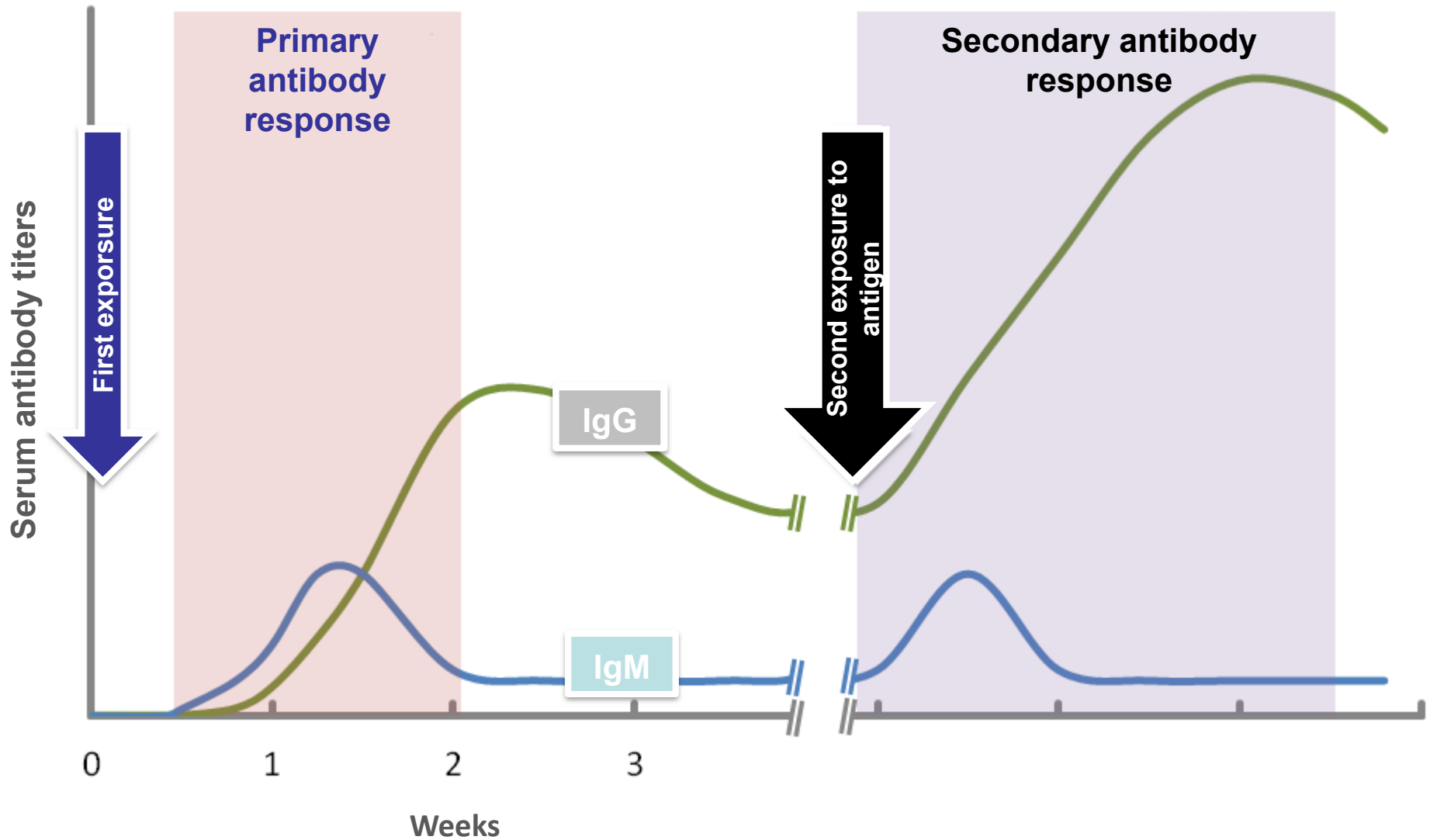
IgM

- vázaný na membránu ve formě monomeru – receptor na B lymfocytech – po navázání antigenu zprostředkuje aktivaci B lymfocytů, důležitý pro **vývoj B lymfocytů**
- rozpustný ve formě pentameru (hexameru) – 10 (12) vazebných míst
- Neprochází placentou
- Je prvním imunoglobulinem tvořícím se při imunitní odpovědi, stejně jako prvním imunoglobulinem, který si aktivně novorozenec nebo i plod.
- zajišťuje **primární imunitní odpověď**
- **účinná aktivace komplementu**

IgM sekretovaná forma



Imunitní odpověď po prvním a opakovaném setkání se s antigenem ("primární a sekundární protilátková odpověď")



IgG1-4

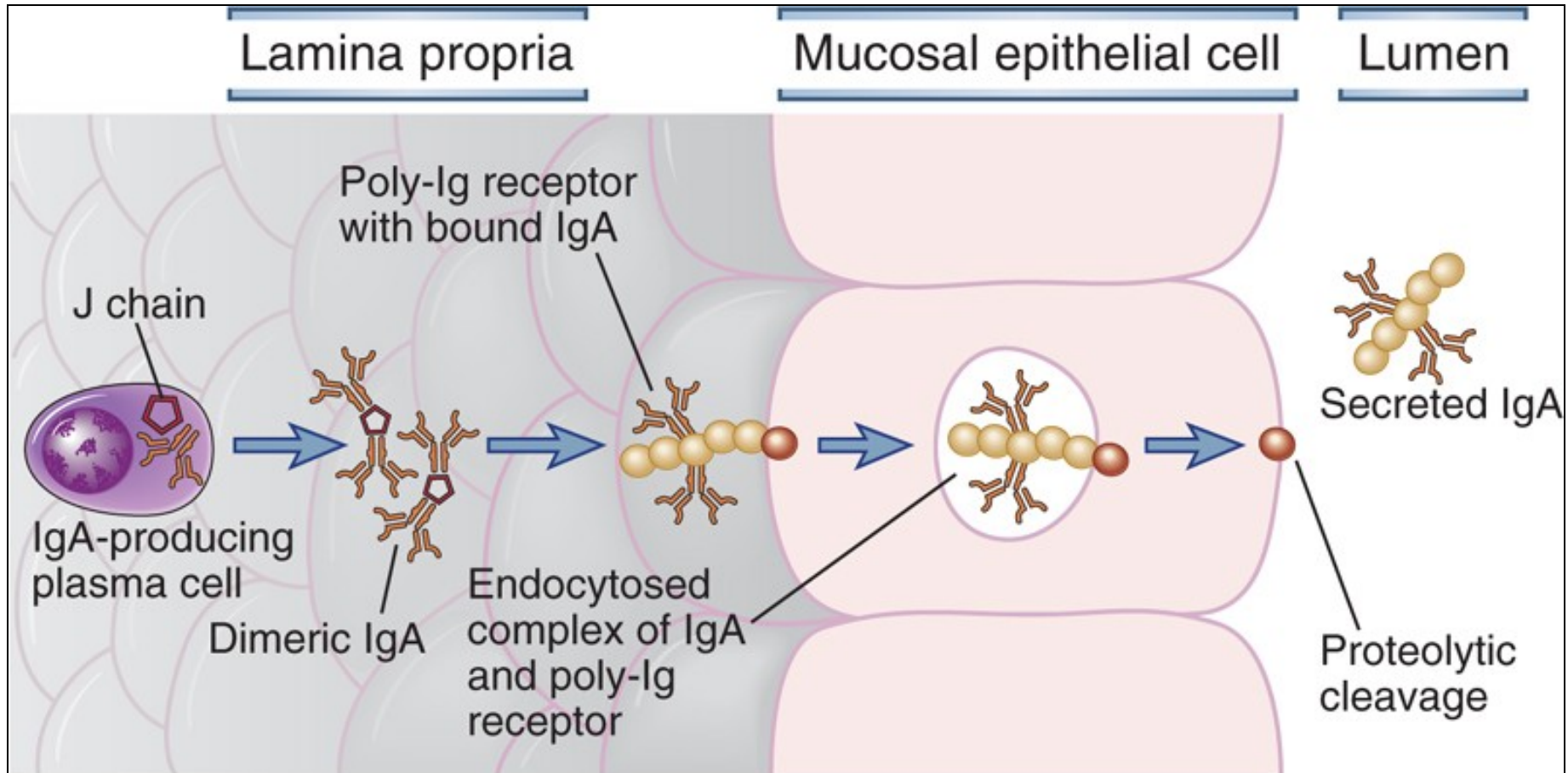
- nejhojnější protilátka v séru, intersticiální tekutině
- největší zastoupení má podtřída IgG1
- výskyt ve formě monomeru
- nejdelší poločas (21 d)
- sérové hladiny bývají kolem 10 g/l
- přestup přes placentu

- klíčová úloha v sekundární imunitní odpovědi
- aktivace komplementu, opsonizace, neutralizace

IgA1,2

- slizniční forma (dimer) – významná úloha ve **slizniční imunitě** (neutralizace, opsonizace; neaktivuje C)
 - produkován plazmatickými buňkami a B lymfocyty v submukóze
 - transportován na slizniční povrch pomocí transportního Fc receptoru (poly-Ig-receptor)
 - transport přes epitel transcytózou: endocytóza – přeprava v transportním váčku – fúze s luminální membránou – odštěpení z receptoru proteolýzou
 - část poly-Ig-receptoru zůstává po uvolnění na slizniční povrch součástí dimeru IgA = sekreční komponenta – zajišťuje rezistenci vůči proteázám
- sérová forma (monomer, dimer, trimer) – opsonizace

Transcytózsa IgA



Abbas et al: Cellular and Molecular Immunology, 7e.

Copyright © 2012, 2007, 2005, 2003, 2000, 1997, 1994, 1991 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.

IgE

- Sérové hladiny jsou velmi nízké, udávají se v UI/ml (10^{-3} g/l).
- Váže se na receptor pro IgE ($Fc\epsilon R$) na žírných buňkách a bazofilech.
- Vazba antigenu na takto navázaný IgE žírnou buňku aktivuje, dojde k uvolnění granulí.
- Z patologického hlediska známe tuto reakci především při alergických chorobách,
- Fyziologicky se uplatňuje v reakci na mnohobuněčné parazity.

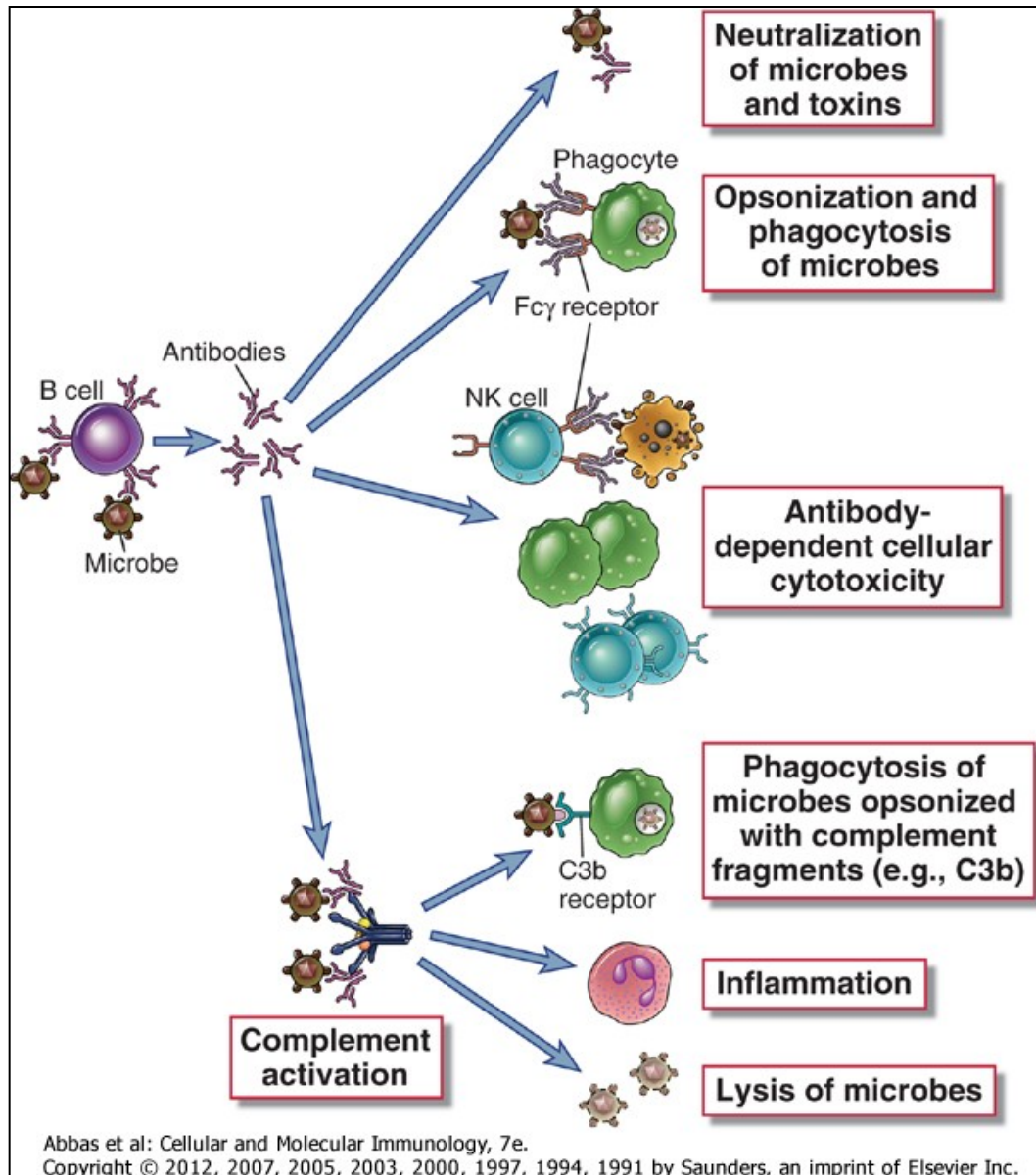
IgD

- Sérové hladiny jsou velmi nízké, o fyziologických funkcích sérového IgD víme velmi málo.
- IgD je přítomen na B-lymfocytech, kde tvoří B-buněčný receptor (BCR) (obdobně jako monomerní IgM).

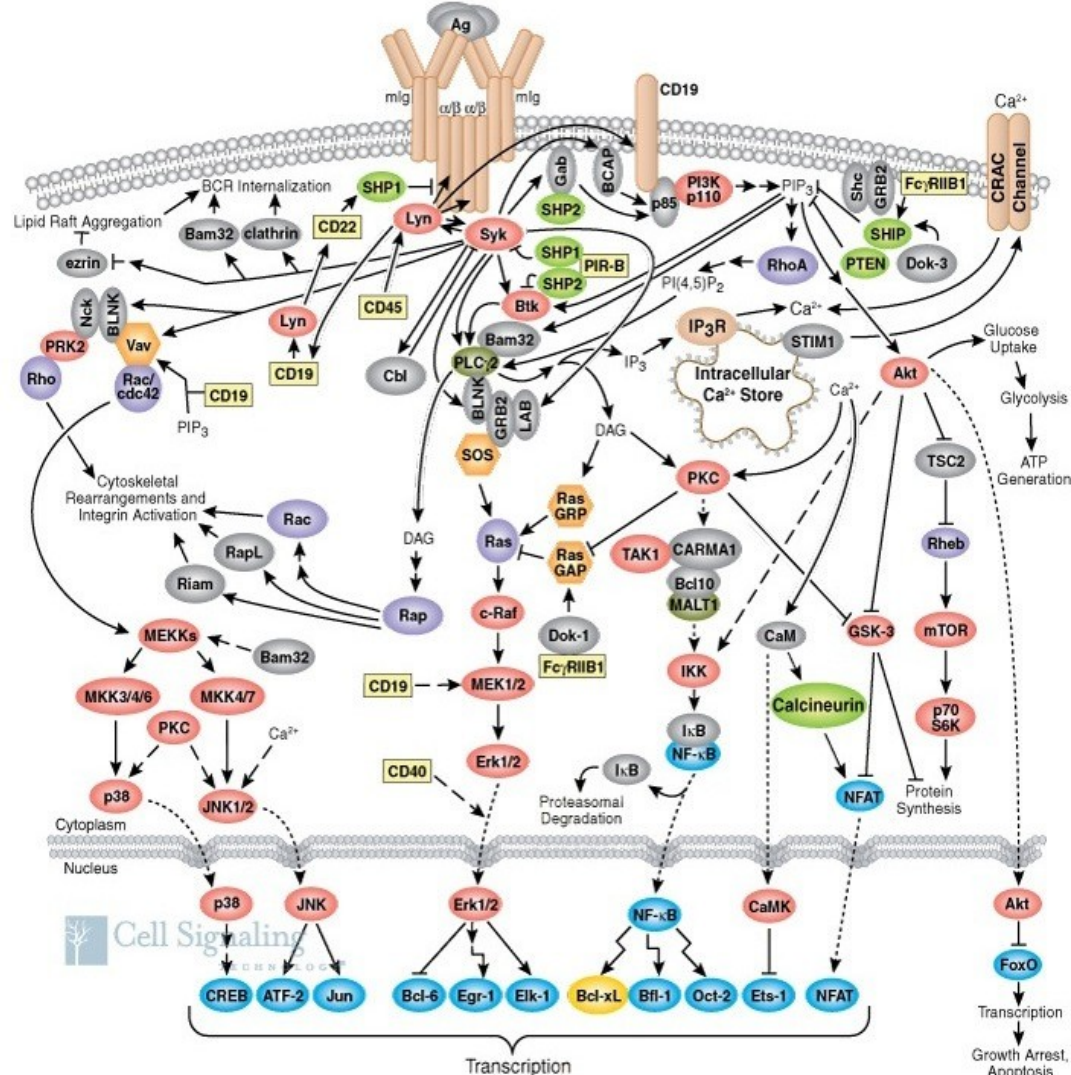
Biologické funkce imunoglobulinových molekul

- Aktivace komplementového systému (IgG, IgM)
- Opsonizace (zejména IgG, též IgA)
- Neutralizace antigenů (IgG, IgA, IgM)
- Zábřana adherence (IgA, IgG)
- Aglutinace, precipitace (IgG, IgM)
- Degranulace žírných buněk (IgE)
- Přechod placentou (IgG)
- Imunoregulace (zejména IgG)
- Fenomén ADCC (IgG)

Biologické funkce imunoglobulinových molekul



Přenos aktivačního signálu v B-lymfocytech



Dva typy B-lymfocytární odpovědi na antigen

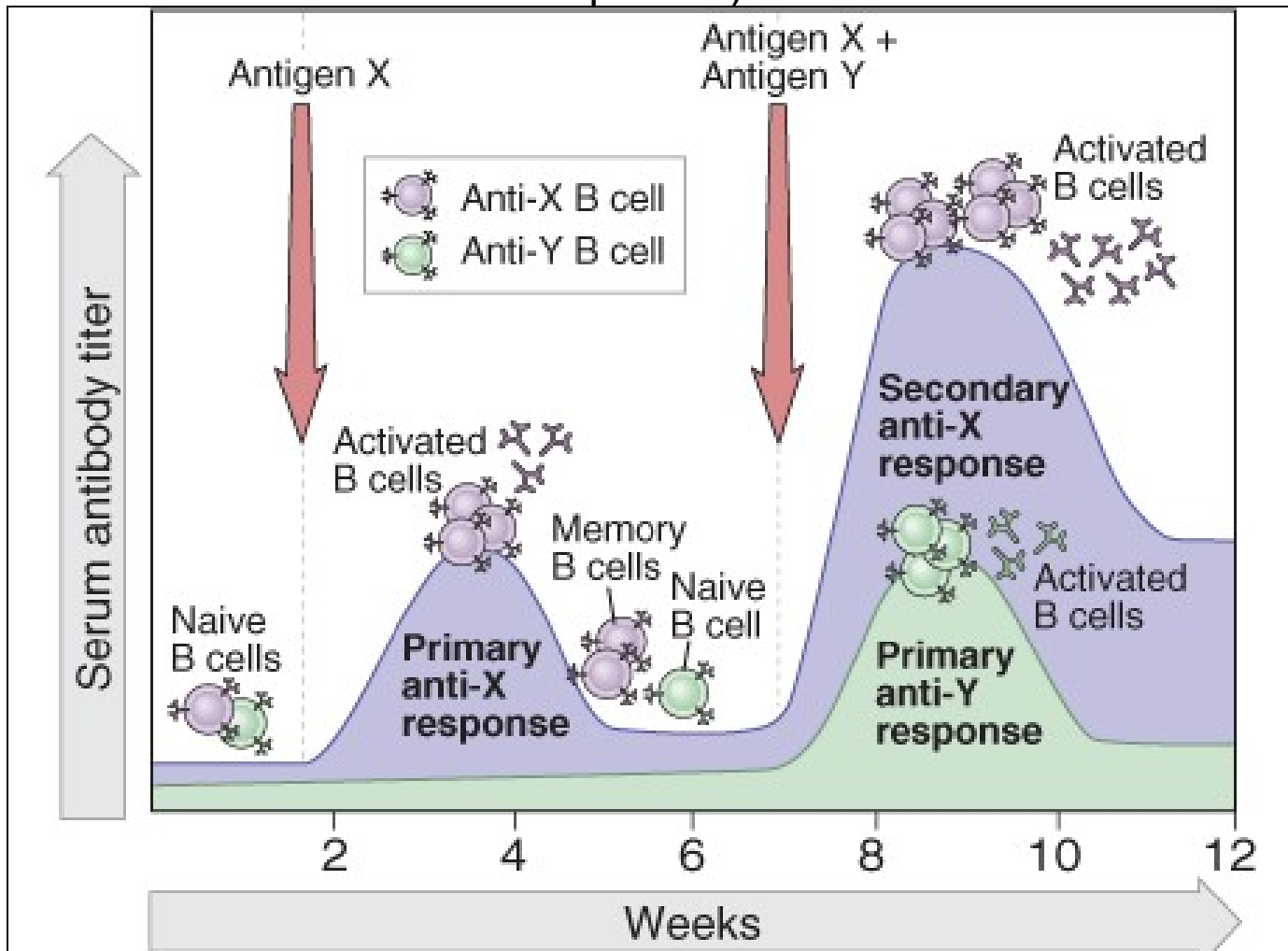
- **T dependentní odpověď**

- Jedná se o nejčastější formu protilátkové odpovědi
- Vyžaduje souhru B-lymfocytů, antigen prezentujících buněk (mohou jimi být i B-lymfocyty) a T-lymfocytů.
- Dochází k isotypovému přesmyku, afinitní maturaci, vzniku paměťových buněk.
- Tj. proběhne primární i sekundární fáze protilátkové odpovědi.

- **T-independentní odpověď**

- Odpověď na antigeny s řadou stejných epitopů – typicky polysacharidové antigeny.
- Nahromadění B-buněčných receptorů (BCR) do jednoho místa vede k vzájemné aktivaci tyrozinkináz a následné aktivaci buňky.
- Tento proces nevyžaduje pomoc T-lymfocytů.
- Vytváří se pouze protilátky třídy IgM (nedochází k izotypovému přesmyku), nedojde k afinitní maturaci, nevytváří se imunitní paměť.
- Tj. proběhne pouze primární fáze protilátkové odpovědi.

Imunitní odpověď po prvním a opakovaném setkání se s antigenem (“primární a sekundární imunitní odpověď”)



Imunologická paměť

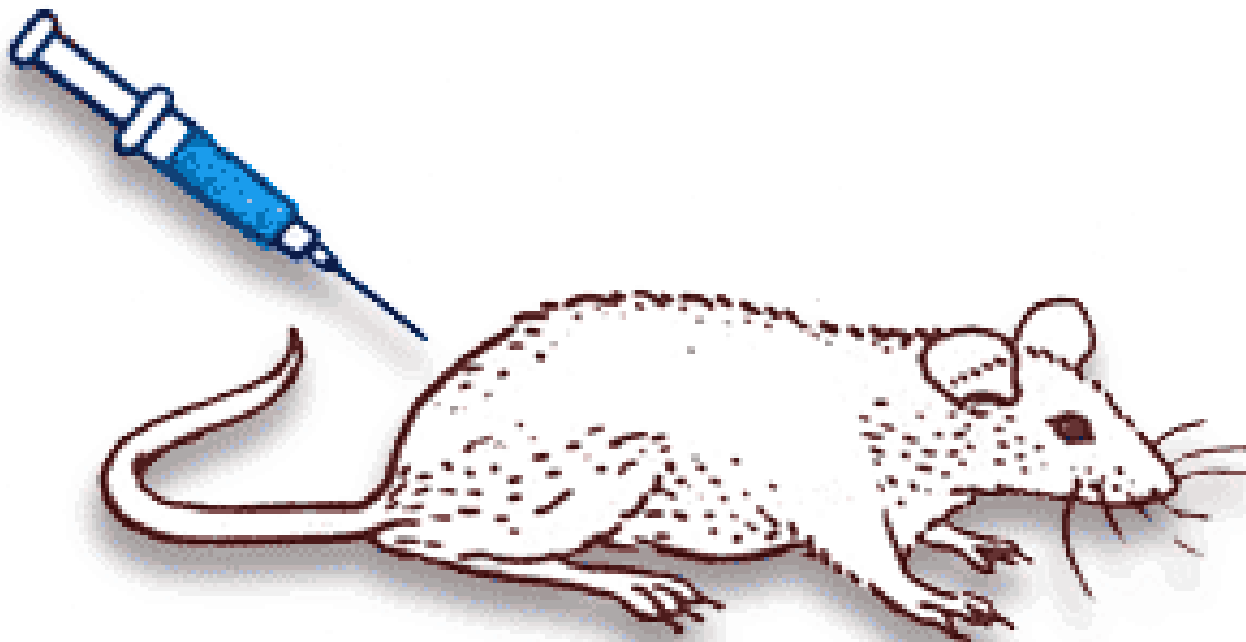
- Je jedním z charakteristických rysů adaptivní imunity.
- Je založena na existenci dlouho žijících, antigen-specifických paměťových T- a B-lymfocytů.
- Tyto buňky jsou v případě opakované antigenní stimulace schopny rychlé proliferace a terminální diferenciaci v efektorové buněčné formy.
- Výsledkem je rychlejší, rozsáhlejší a efektivnější odpověď po opakovaném setkání se s antigenem.

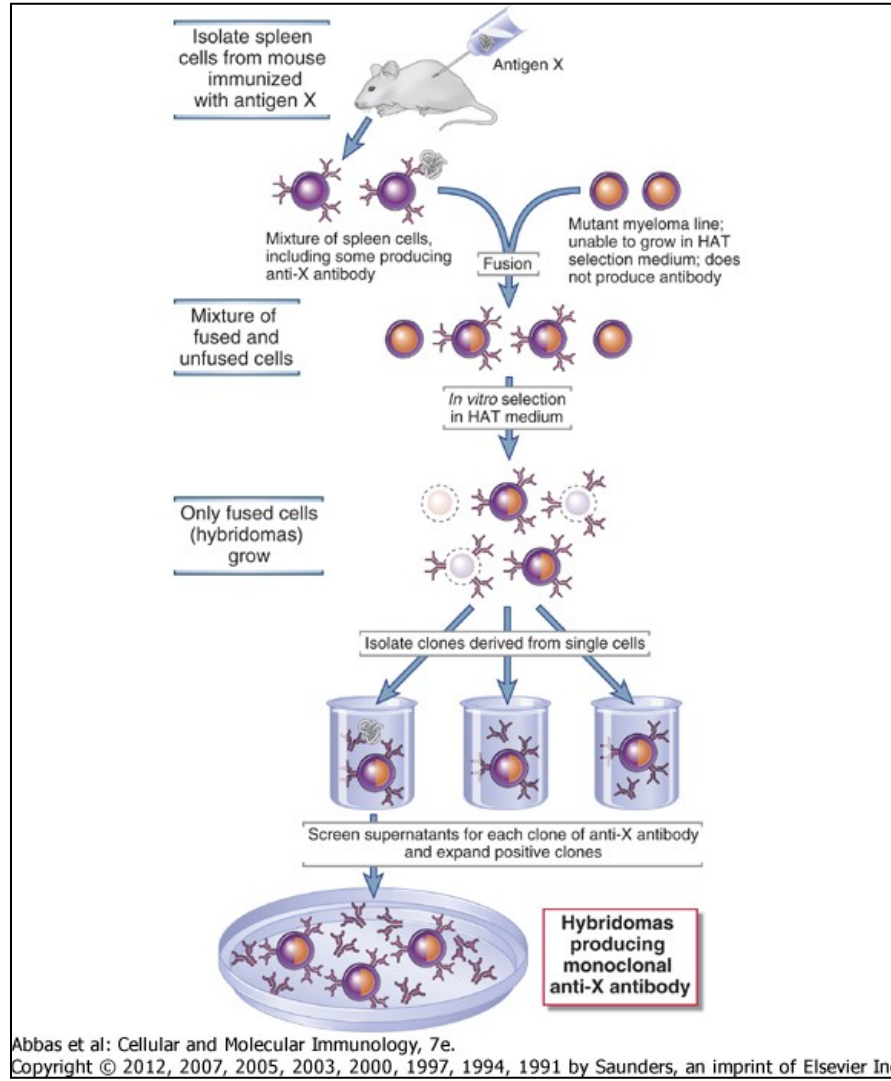
POLYKLONÁLNÍ a MONOKLONÁLNÍ PROTI LÁTKY

- **POLYKLONÁLNÍ PROTI LÁTKY**
 - *Směs imunoglobulinových molekul, jejichž vazebná místa nesou specificitu vůči různým epitopům na celé molekule antigenu*
 - **Získávají se obvykle imunizací zvířat**

- **MONOKLONÁLNÍ PROTI LÁTKY**
 - *Produkt jednoho klonu B-lymfocytů, vykazují jedinečnou specificitu proti jednomu epitopu na molekule antigenu*
 - **Získávají se obvykle metodikami in vitro**

Příprava monoklonálních protilátek

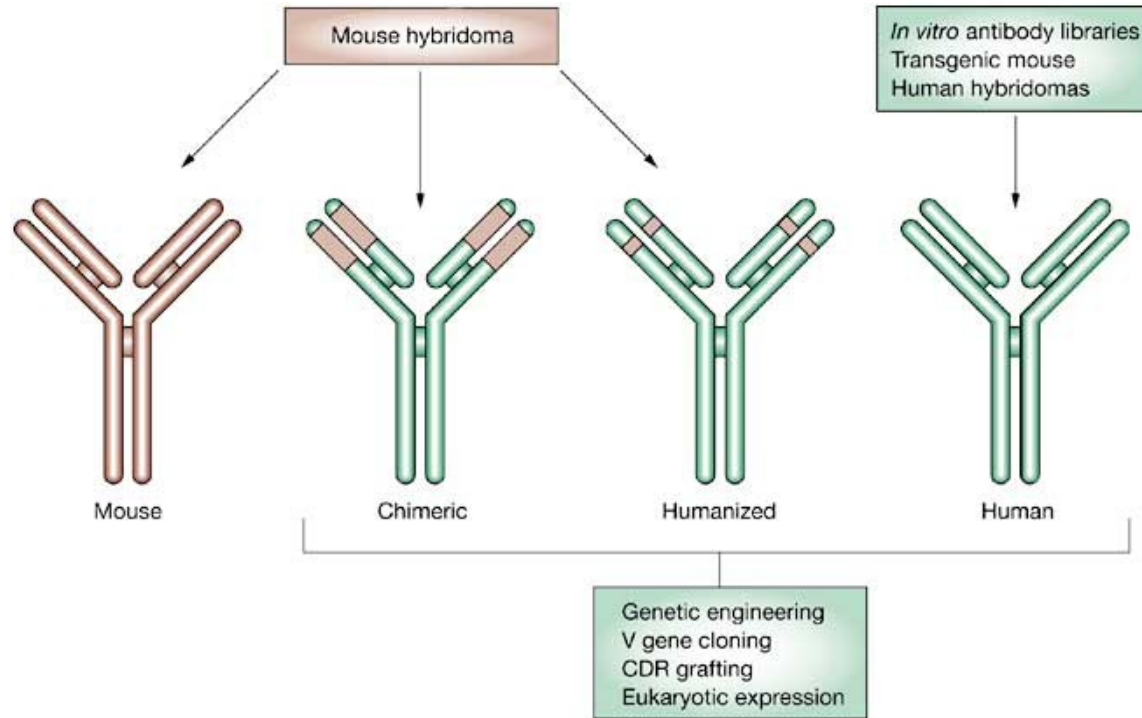




Využití monoklonálních protilátek

- V diagnostice, jedná se o vysoce specifická diagnostická agens používaná v různých oblastech především imunologie a mikrobiologie.
- V terapii, k zacílení buněk a molekul důležitých v patogenezi nemocí. Tvoří velkou část tzv. biologických terapií.
- Ve výzkumu

Typy monoklonálních protilátek používaných k terapii



Hohlfeld R *et al.* (2005) Drug Insight: using monoclonal antibodies to treat multiple sclerosis; *Nat Clin Pract Neurol* 1 34-44 [doi: 10.1038/ncpneuro0016]

nature
CLINICAL
PRACTICE

NEUROLOGY

Příklady klinického využití monoklonálních protilátek v léčbě imunopatologických chorob

- **Imunosuprese:** anti-CD3 (OKT3),
 - anti CD20 (rituximab)
- **Blokáda prozánětlivých cytokinů:**
 - anti –TNF- α (infliximab, adalimumab)
 - revmatoidní aritida, Crohnova choroba,
- **Blokáda adhezivních molekul:**
 - anti integrin α 4b1 (natalizumab) – roztroušená mozkomíšň skleróza
 - Anti-CD11a (efalizumab) - psoriáza
- **Protialergická léčba:**
 - anti-IgE (omalizumab): těžké formy astmatu

Příklady využití monoklonálních protilátek v léčbě zhoubných nádorů

- Protilátky proti anigenům bílých krvinek:
 - anti CD-20 (rituximab) léčba lymfomů,
 - anti-CD52 (Alemtuzumab) – léčba lymfomů
- Anti-receptorové protilátky:
 - anti-epidermal growth factor (receptor HER-2) (trastuzumab) – mamární karcinom
 - anti-epidermal growth factor (receptor EGFR) (cetuximab) – kolorektální karcinom

Další příklady využití monoklonálních protilátek v medicíně

- Antiagregační léčba:
 - trombocytární receptor gpIIb/IIIa (abciximab)
- Antivirová léčba:
 - RS virus (palivizumab),
 - SAR-Cov2
- Osteoporóza
 - RANKL (Denosumab)
- Hyperlipidémie
 - protein PCSK9 (alirocumab, evolocumab)
- Migréna
 - CGRP nebo jeho receptor (Eptinezumab Erenumab Fremanezumab Galcanezumab)