

Imunita

Imunita je schopnost organismu rozpoznávat cizorodé makromolekulární látky, bránit jejich vniknutí do organismu a zajišťovat jejich likvidaci v organismu.

Rozlišujeme imunitu látkovou (humorální) a buněčnou.

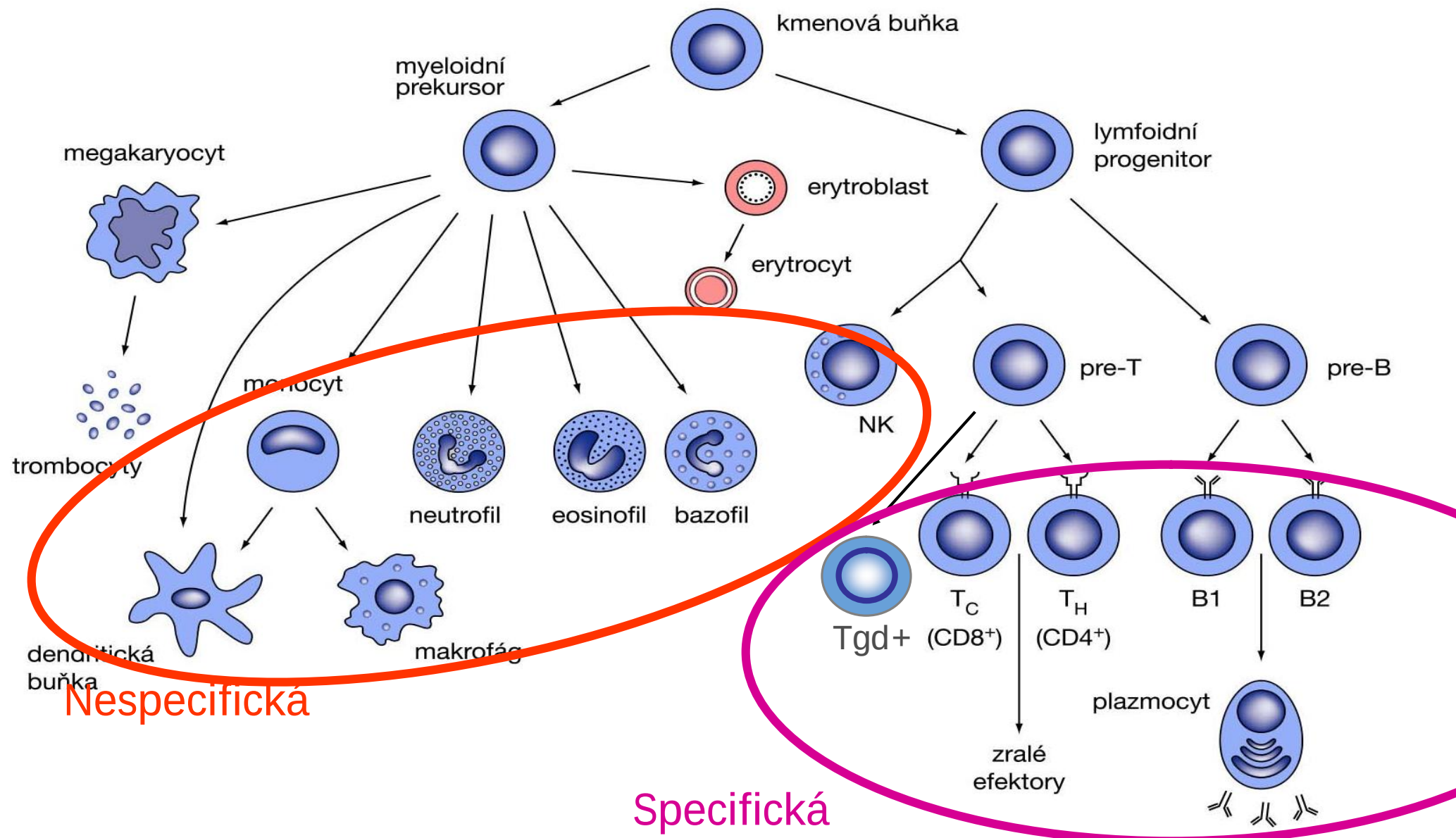
Imunita se v organismu uskutečňuje imunitní reakcí.

Cizorodé makromolekuly (bílkoviny, nukleové kyseliny, polysacharidy) se nazývají antigeny.

Proti antigenům organismus vytváří specifické proteiny nazývané protilátky.

Imunitní reakce je specifická vazba mezi antigenem a protilátkou a je podstatou imunitní reakce.

Hlavní typy buněk



Imunita látková

V imunitě hrají zásadní funkci lymfocyty.

Rozlišujeme dvojí typ lymfocytů:

- B lymfocyty
pocházejí z kostní dřeně, její přeměnou vznikají plasmatické buňky produkující protilátky a odpovídají za imunitu látkovou
- T lymfocyty
jsou závislá na thymu, pomáhají při tvorbě protilátek a fagocytární aktivitě , vykonávají imunitu buněčnou.

Látková imunita spočívá v tvorbě specifických protilátek.

Protilátky jsou svou podstatou imunoglobuliny.

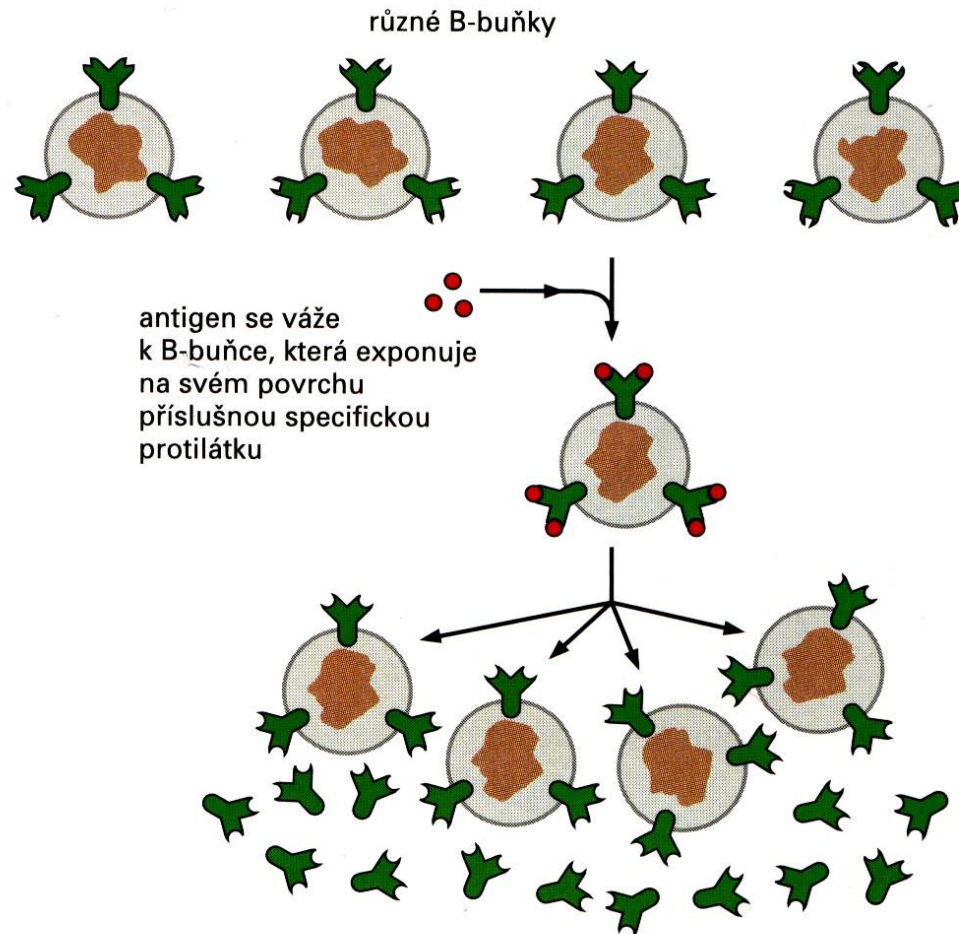
Imunoglobuliny se rozdělují do několika tříd:

IgG, IgM, IgA, IgE a IgD.

Jsou obsaženy v krevní plasmě plasmě.

B-BUŇKY

Protilátky jsou v těle vyráběny zvláštní třídou bílých krvinek, tzv. B-lymfocyty. Každý klidový B-lymfocyt má na povrchu určitý typ v membráně vázané protilátky, která slouží jako receptor pro rozeznání specifického antigenu. Jakmile se antigen naváže na tento receptor, B-buňka je stimulována k dělení a tvorbě a sekreci téže protilátky, která zachytila na povrchu antigen.



B-buňka je stimulována k tvorbě dalších molekul identické protilátky, které jsou pak vylučovány

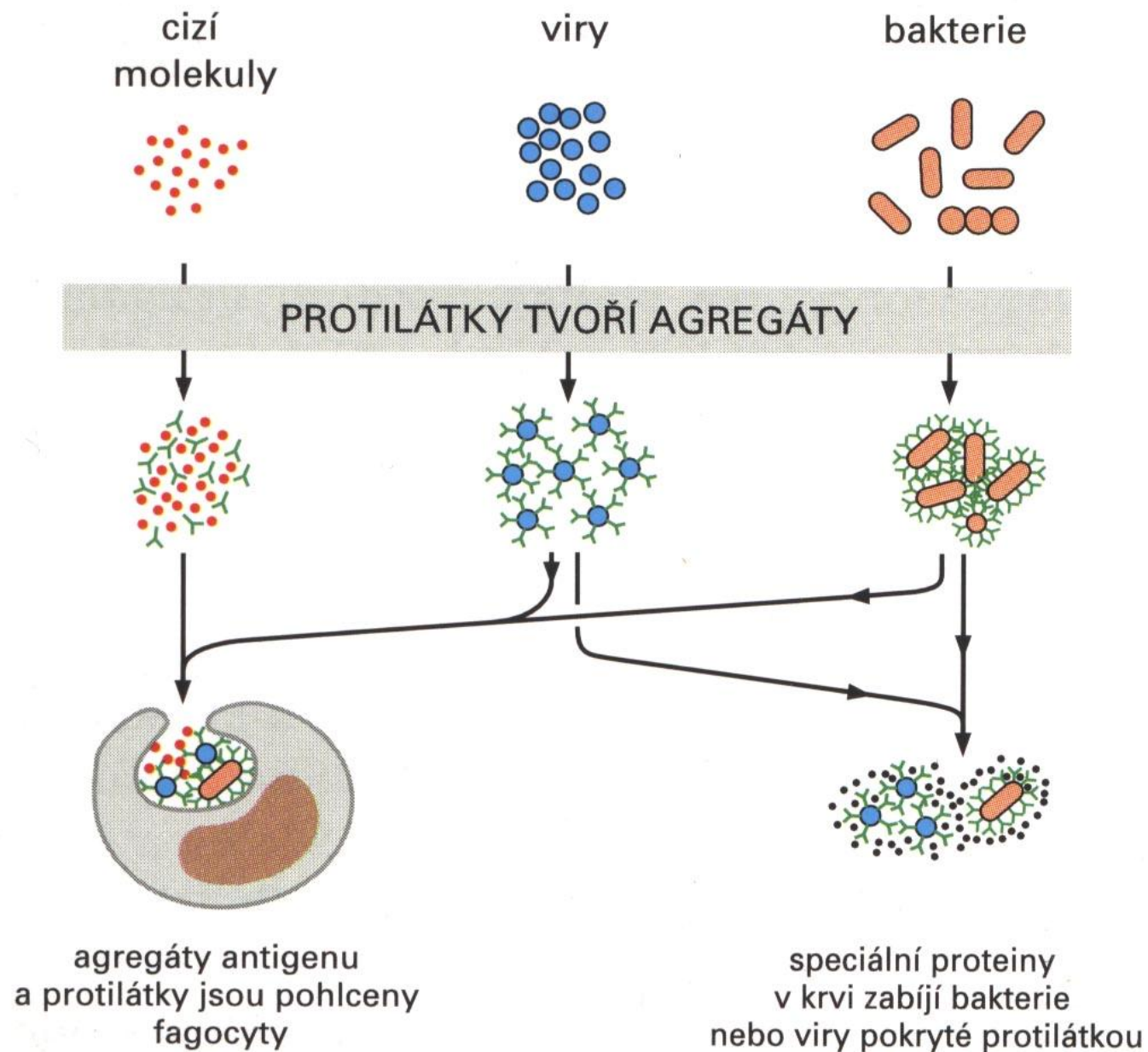
Při prvním setkání s antigenem organismus odpovídá primární imunitní odpovědí. Za několik dní jsou prokazatelné protilátky.

Při druhém setkání s antigenem je již v organismu zásoba paměťových buněk a sekundární odpověď je intenzivnější.

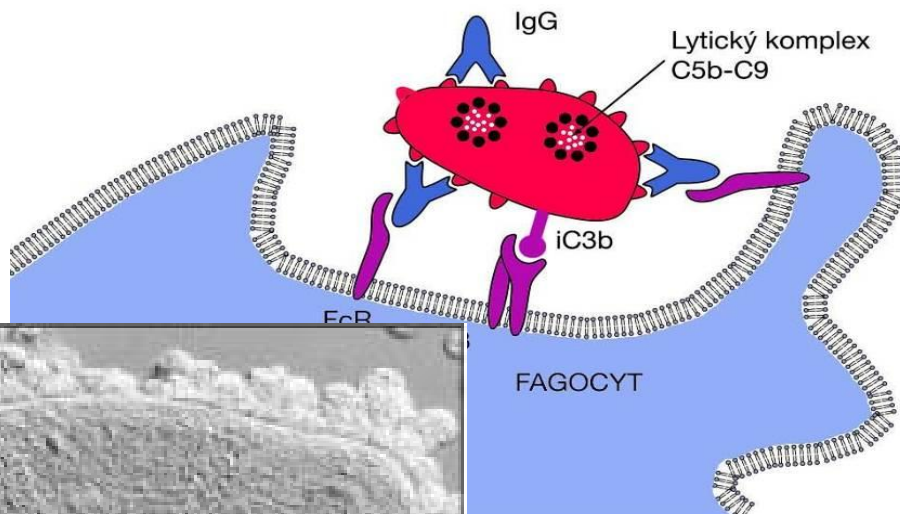
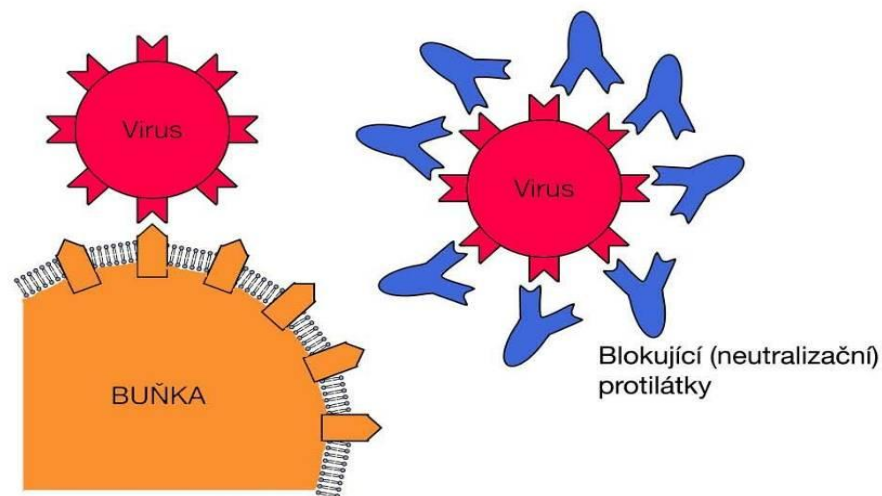
Při vazbě protilátky s antigenem dochází k:

- aglutinaci (shlukování)
- precipitaci (srážení)
- aktivaci komplementu
- aktivaci fagocytózy

PROTILÁTKY NÁS CHRÁNÍ PROTI INFEKCI



Funkce protilátek



- neutralizace

IgG, IgA

- opsonizace

IgG

- aktivace komplementu

IgM, IgG3 >G1>G2

- senzibilizace pro zabíjení NK buňkami, příp. pro aktivaci granulocytů

IgG

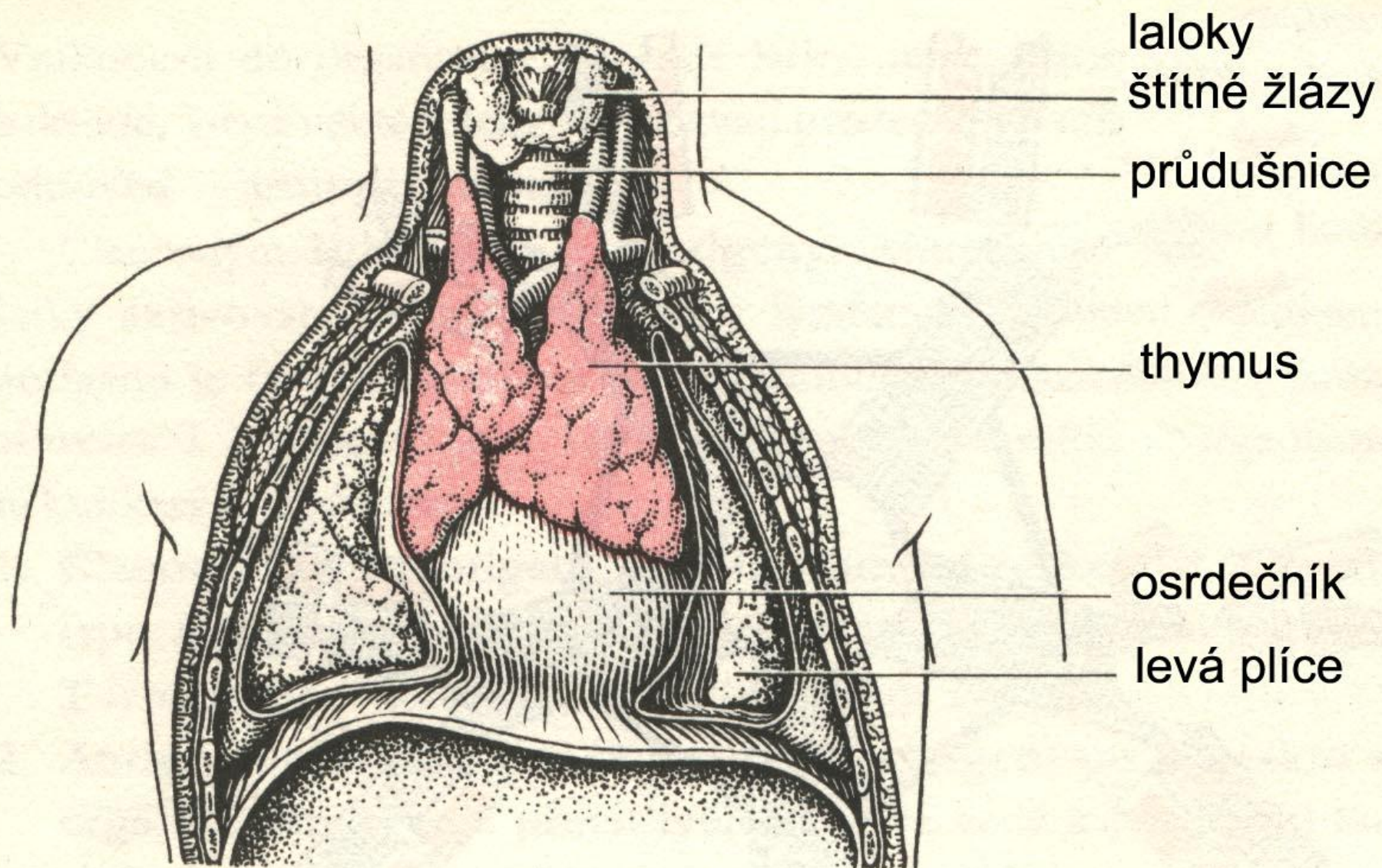
- senzibilizace pro mastocyty + jejich aktivace

IgE

Imunita buněčná

Buněčná imunita je zprostředkována T lymfocyty.

Thymus (brzlík) prodělává v průběhu života velké změny, maximum dosahuje mezi 2-3 rokem, po pubertě involuje.



Imunita buněčná

Buněčná imunita je zprostředkována T lymfocyty.

Thymus (brzlík) prodělává v průběhu života velké změny, maximum dosahuje mezi 2-3 rokem, po pubertě involuje.

Významným mechanismem buněčné imunity je fagocytóza.

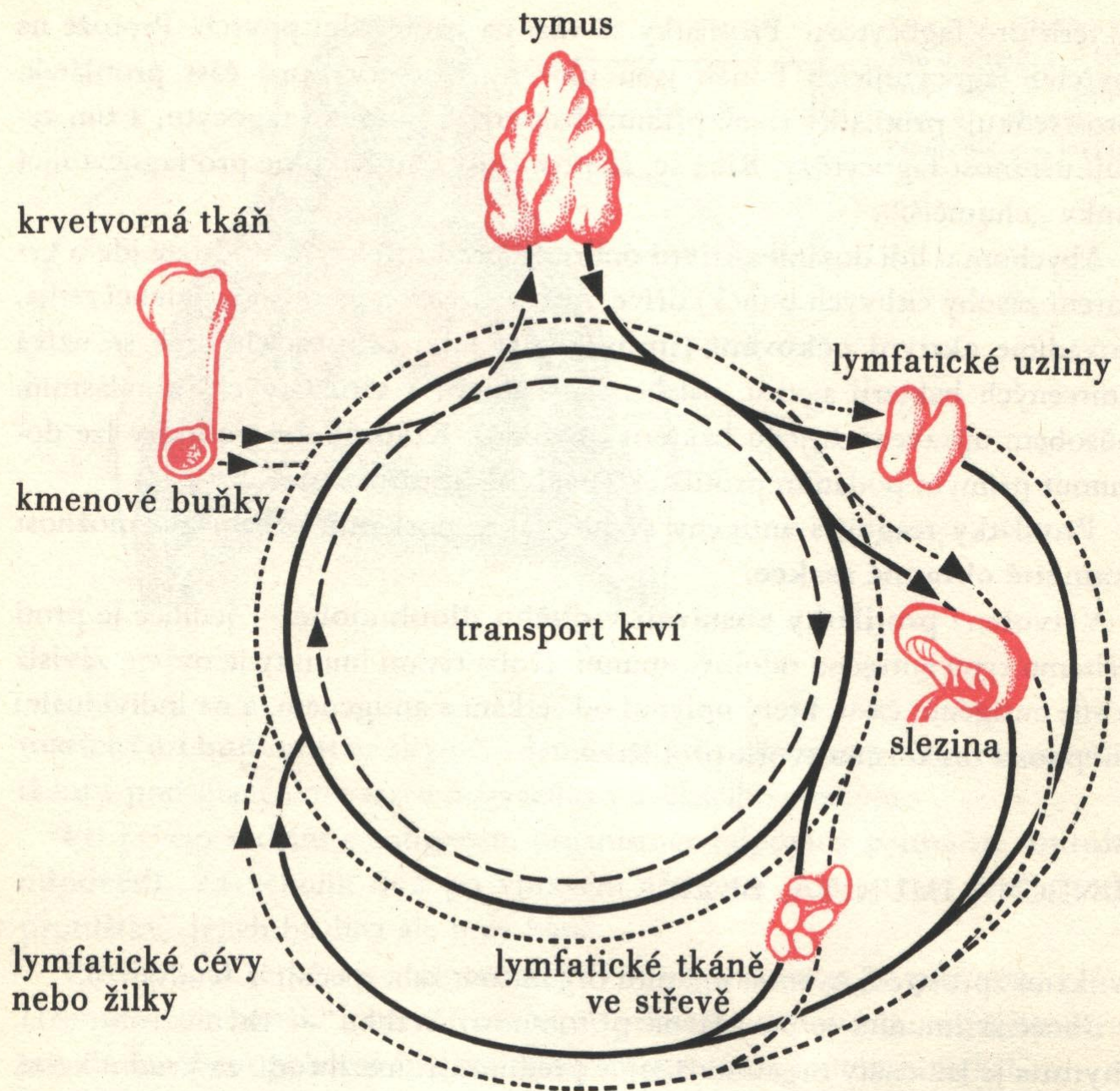
Imunita je rozhodující pro přijetí neb o odmítnutí transplantátu.
Pro potlačení imunity se používají imunosupresiva.

Nepřiměřeně intenzivní imunitní reakce je alergie.
Podněty vyvolávající alergii se nazývají alergen.

Působí-li vlastní bílkoviny jako antigeny dochází k autoimunitní reakci.

Rozdělení imunity

- Imunita vrozená
- Imunita získaná
 - Imunita přirozená
 - Imunita umělá
 - Imunita aktivní
 - Imunita pasivní
- Imunita specifická
 - zprostředkovaná B a T lymfocyty
- Imunita nespecifická
 - kůže, sliny, žaludeční šťáva, fagocyty, horečka



Rozdělení složek imunity

nespecifické

specifické

buněčné

neutrofily
monocyty-makrofágy,
DC, NK buňky

lymfocyty T

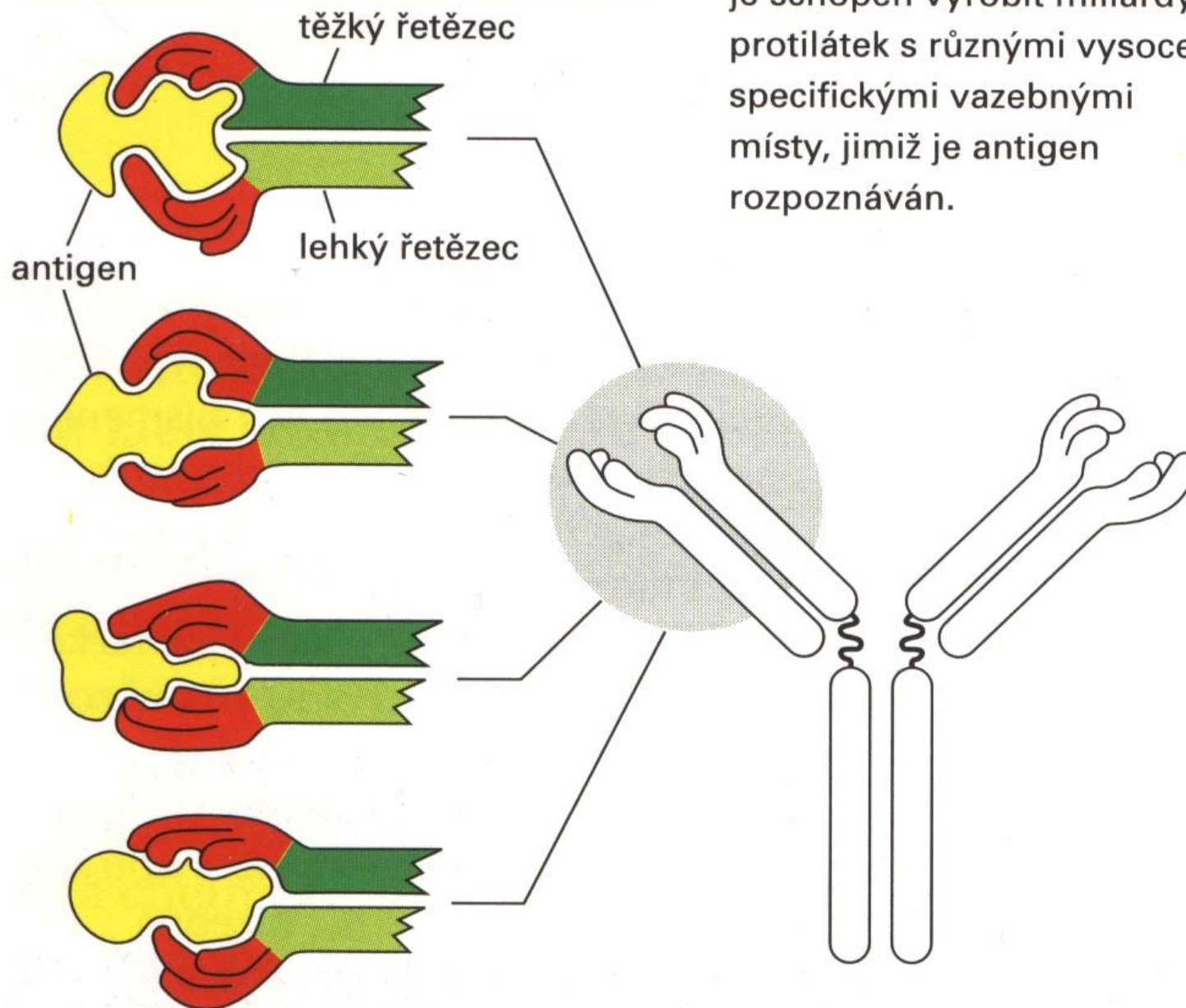
humorální komplement

proteiny akutní
fáze (CRP, MBL..)

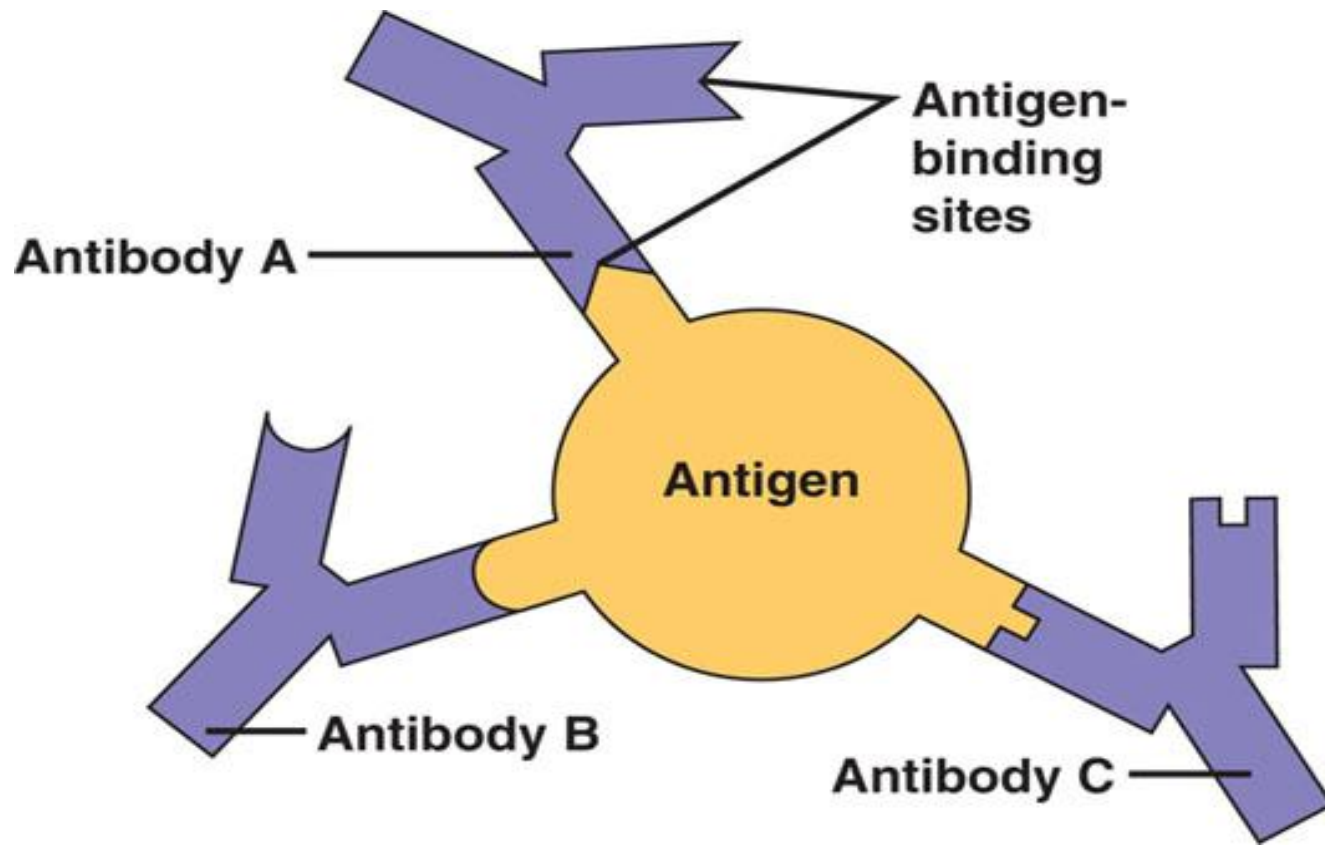
protilátky
(lymfocyty B)

SPECIFITA PROTILÁTEK

Každý živočišný jedinec je schopen vyrobit miliardy protilátek s různými vysoce specifickými vazebnými místy, jimiž je antigen rozpoznáván.



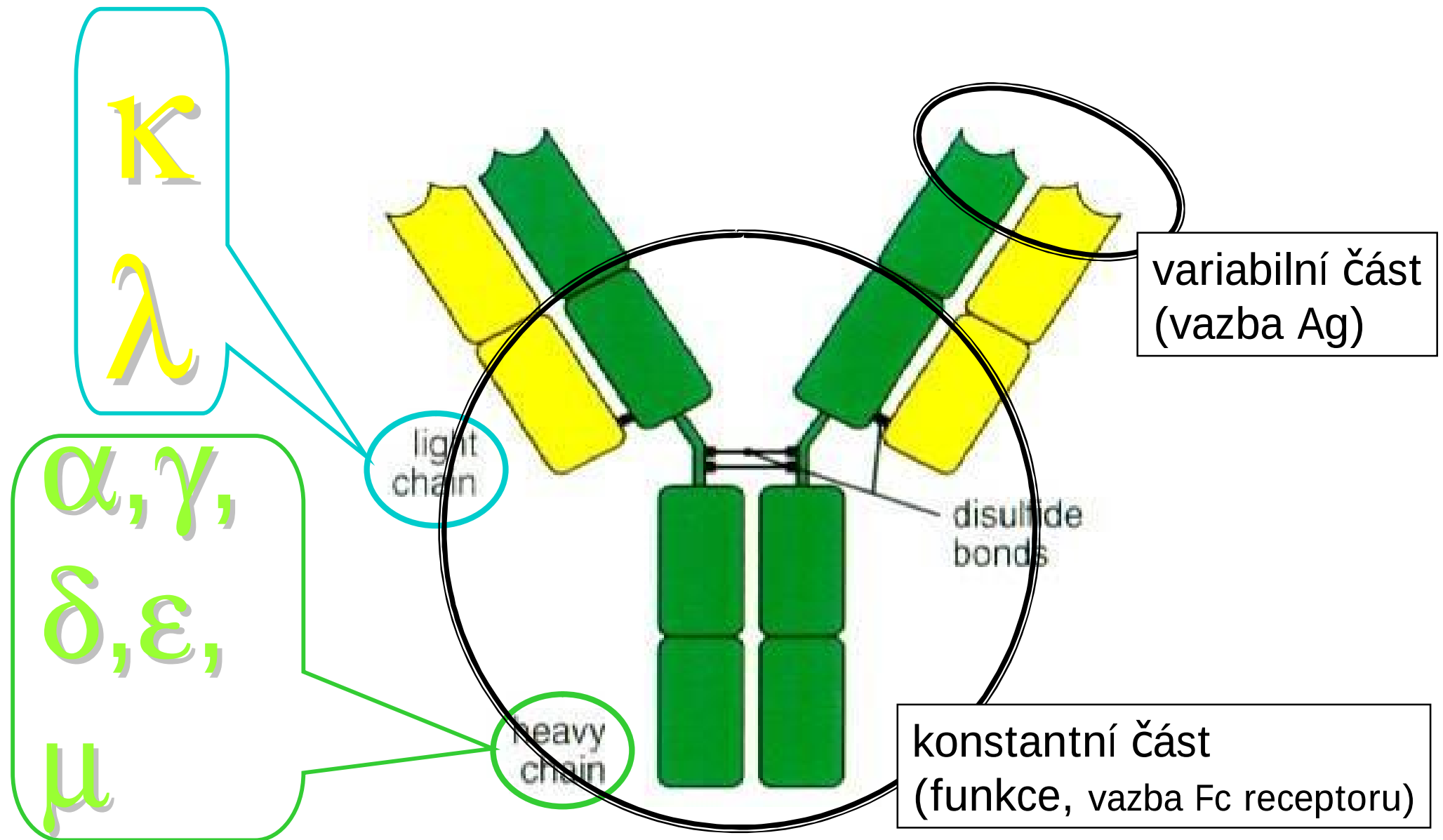
Antigenní determinanty = epitopy



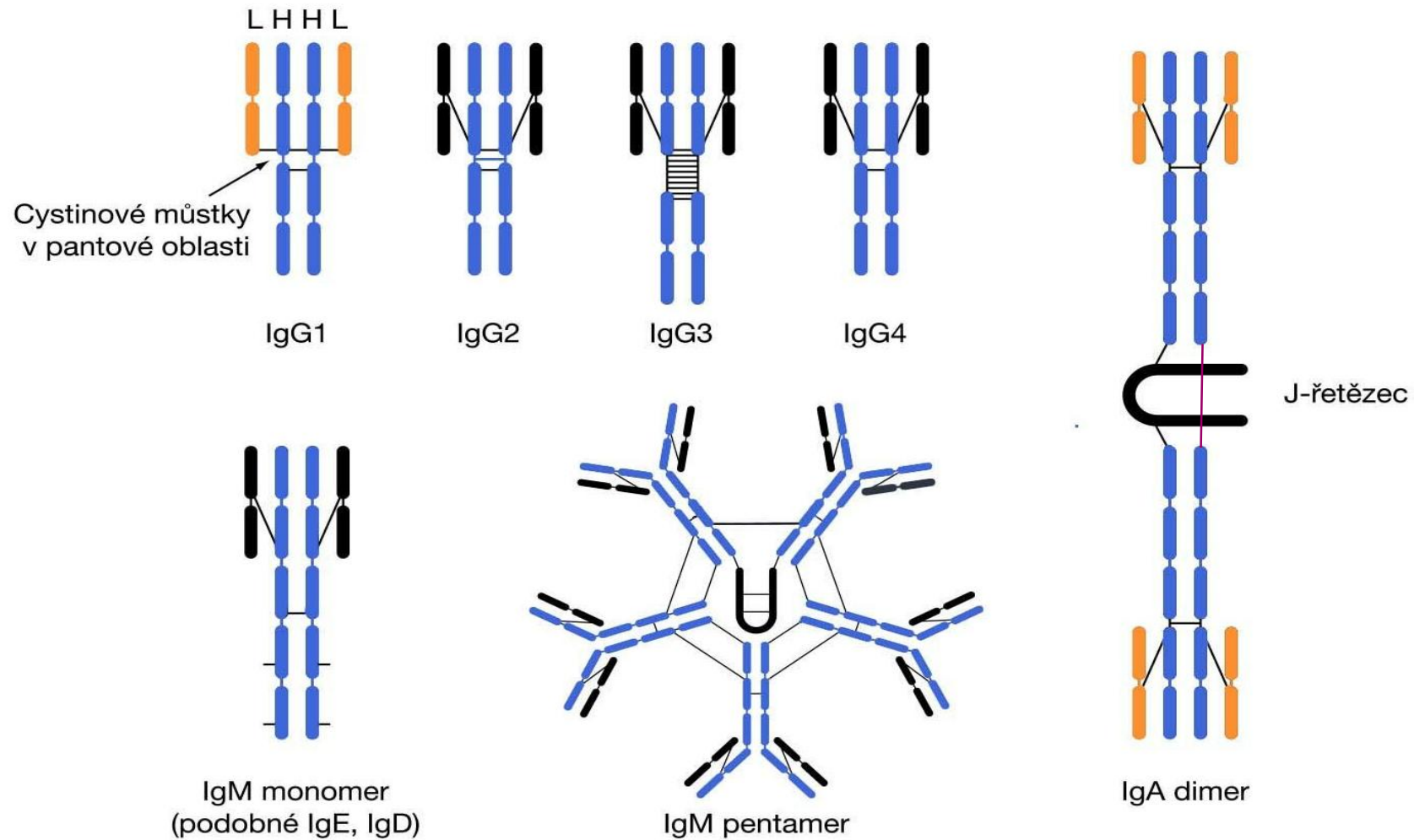
**Epitopes
(antigenic
determinants)**



Struktura protilátky (imunoglobulinu)



Struktury izotypů protilátek

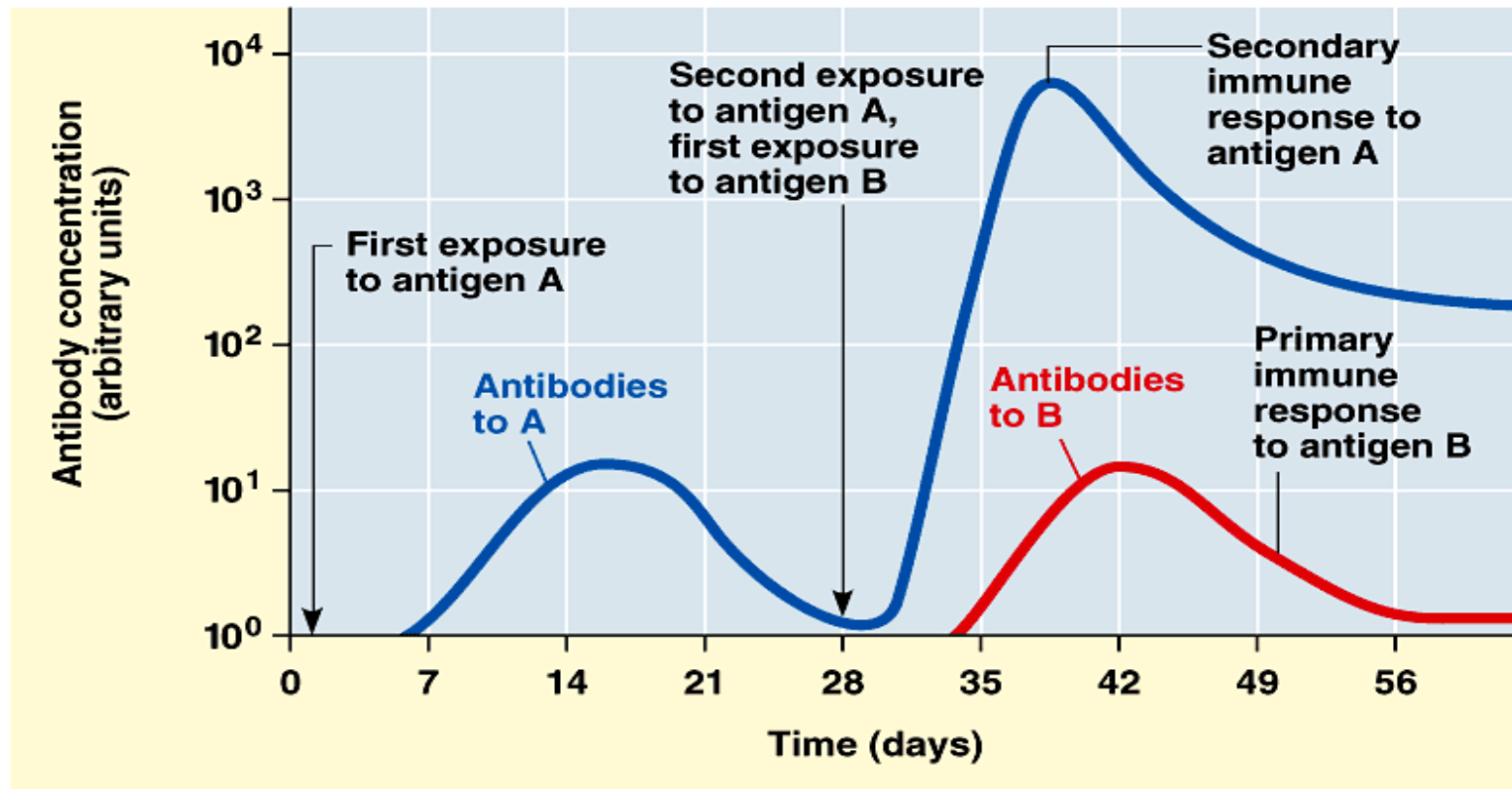


Charakteristika Ig

Izotyp	M.h. (kDa)	Obsah v séru (g/l)	Lokalizace	T (1/2) biol (dny)	Funkce
IgG	155	8-18	sérum, intersticiální tekutina	21	opsonizace; neutralizace; přestupuje placentu; sekundární odpověď
IgA	160- 350	0.9-3.5	sérum, slzy, sliny, povrch sliznic, mléko	6	ochrana sliznic, opsonizace
IgM	900	0.9-2.5	sérum, povrch B- buněk	6	aktivace komplementu; primární odpověď; receptor pro antigen
IgD	180	0.1	sérum, povrch B- buněk	3	receptor pro antigen
IgE	190	3×10^{-4}	sérum, intersticiální tekutina	2	ochrana proti parazitům

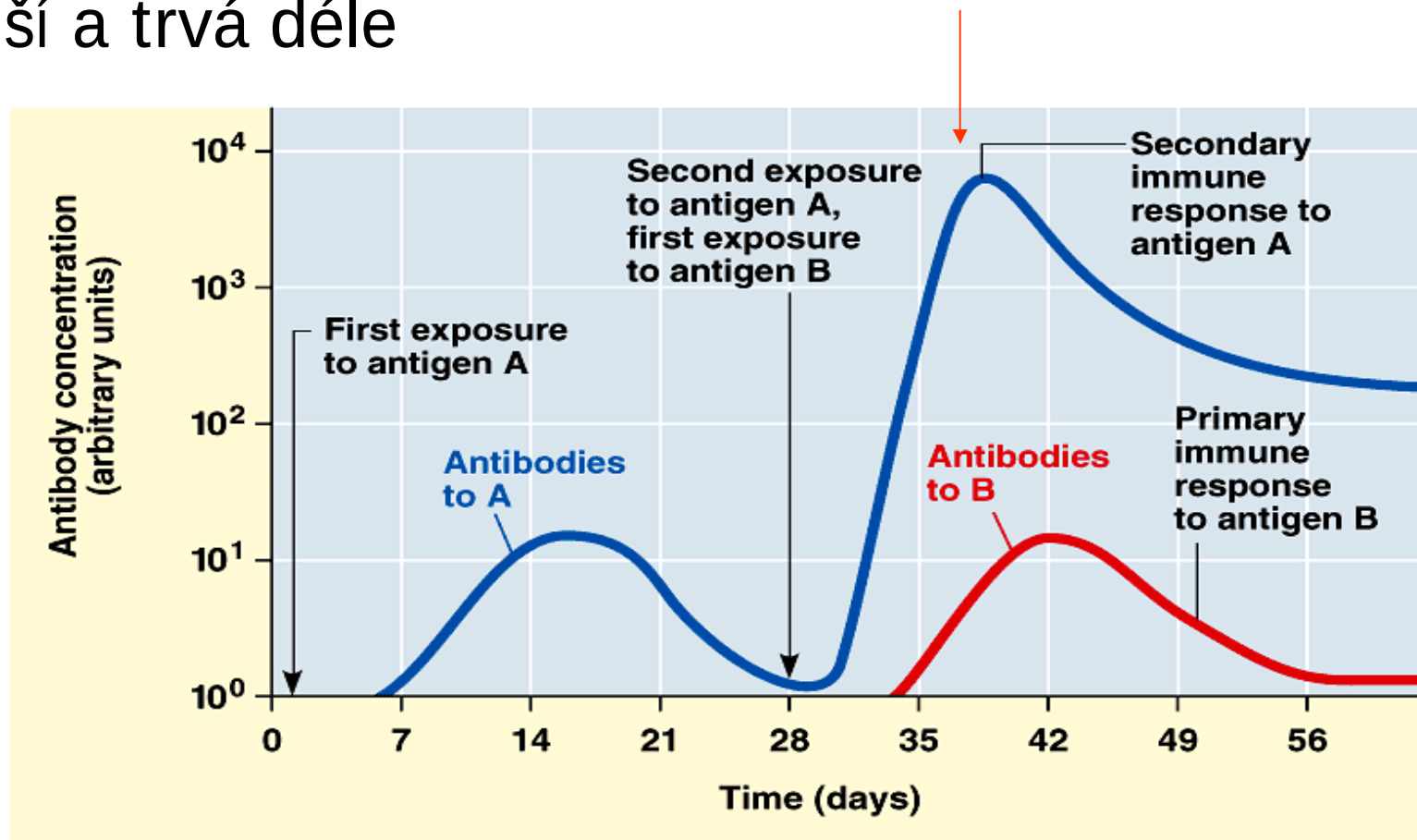
Primární imunitní odpověď

- | Tento proces je vnímám jako nemoc
- | Nakonec si efektorové buňky s antigenem poradí a odstraní jej z těla.



Sekundární imunitní odpověď

- Pokud se člověk setká se stejným antigenem později v životě, odpověď organismu je rychlejší (2 - 7 dnů) a prudší a trvá déle



Příprava polyklonálních protilátek

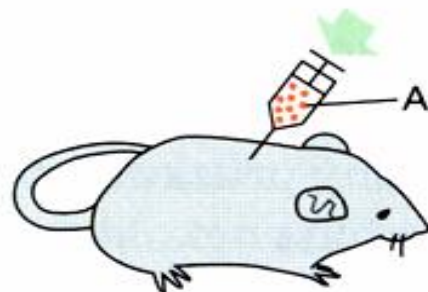
- opakovaná injekce antigenu lab. zvířeti (králík, koza)
- po několika týdnech se zvíře utratí a odebere se mu krev
- z krve se odstraní buňky a srážlivé faktory - *antisérum*
- test titru a čistoty imunoglobulinů

Nevýhody:

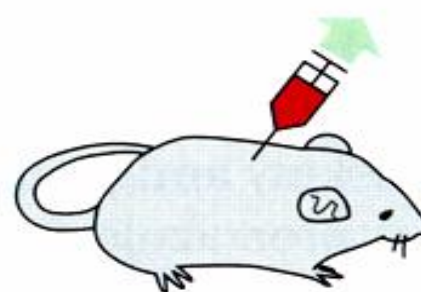
- tvorba různých Ig proti danému antigenu (polyvalence)
- Ig se chemicky navzájem podobají, nelze získat čistou frakci daného Ig
- množství získané protilátky je omezené (celý postup nutno opakovat)

PRODUKCE PROTILÁTEK V LABORATORNÍCH ZVÍŘATECH

Protilátky lze vyrábět v laboratoři tak, že se zvířeti vstříkne antigen A (používá se myši, králíků, ovcí a koz).

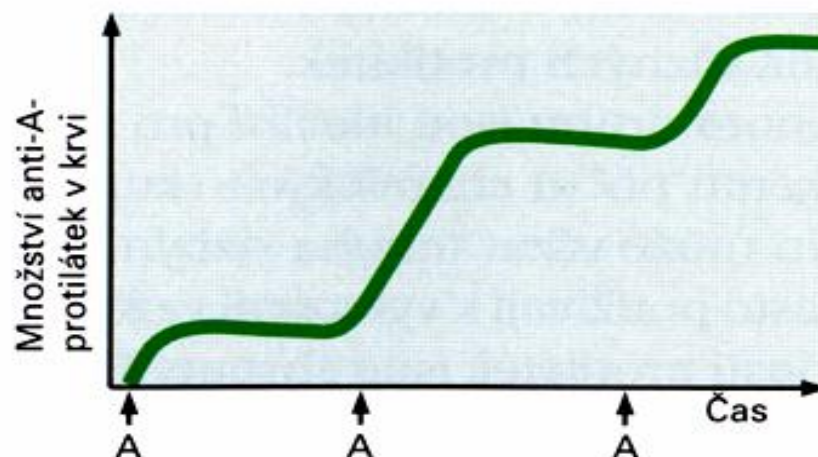


vstříknutí antigenu A



pozdější odebrání krve

Opakované injekce téhož antigenu v intervalech několika týdnů stimulují specifické B-buňky k tvorbě a sekreci velkého množství anti-A-protilátek do krevního oběhu.



Protože se injekcí antigenu A stimuluje mnoho různých B-buněk, bude v krvi přítomna řada protilátek proti A, každá z nichž bude vázat antigen A poněkud odlišně.

Monoklonální protilátky

- produkt jednoho klonu B lymfocytů, který je chemicky a funkčně homogenní
- B lymfocyty izolované z laboratorních živočichů nelze kultivovat *in vitro*

Myelomové buňky:

- maligní buňky
- možnost kultivace *in vitro*
- vysoká schopnost tvorby protilátek
- protilátky nejsou specifické pro určitý antigen
- vznikají maligní transformací normálního lymfocytu

Monoklonální protilátky

- | Protože antigeny mívají několik epitopů, protilátky vznikají v těle z několika klonů B buněk, každý zaměřen na odlišný epitop
- | monoklonální protilátky vznikají z jediného klonu B buněk a jsou zaměřeny proti jedinému epitopu
- | monoklonální protilátky mají široké využití ve výzkumu (zjištění, zda je přítomen určitý antigen, boj proti nádorovým buňkám se známými epitopy atd.)

Příprava monoklonálních protilátek

Milstein a Köhler 1975:

- provedli fúzi normálních lymfocytů produkujících protilátky s maligní myelomovou buňkou
- získali hybridní buňky (hybridomy):
 - možnost kultivace *in vitro*
 - vysoká schopnost tvorby jediné (monoklonální) protilátky
 - protilátka svou specifitou odpovídá produktu normálního lymfocytu použitého k fúzi

Příprava monoklonálních protilátek

Postup:

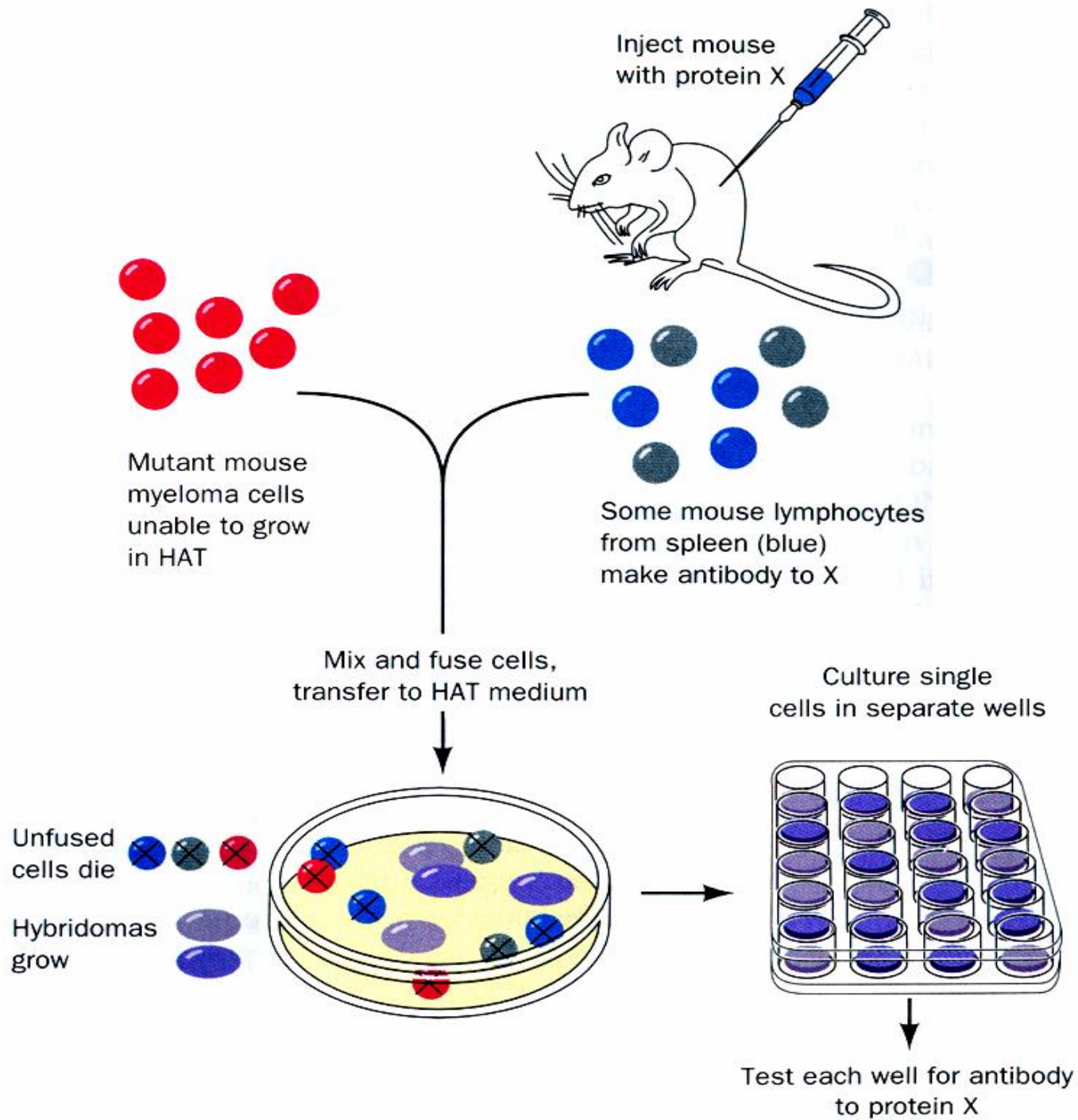
- antigen je injekcí přenesen do laboratorní myši a vyvolá proliferaci specifických protilátkotvorných buněk
- z utraceného zvířete je vyjmuta slezina
- získané lymfocyty se použijí k fúzi s maligními myelomovými buňkami
- hybridní buňky získávají nesmrtelnost z myelomové buňky a schopnost tvorby specifické protilátky z lymfocytu
- hybridní buňky se selektují od nefúzovaných buněk na základě schopnosti růst v selekčním médiu HAT
- skrínink hybridů podle schopnosti tvorby specifické protilátky
- kultivace žádaných hybridů v kultuře nebo jako nádor v lab. zvířeti
- získání neomezeného množství čisté protilátky

Příprava monoklonálních protilátek

Princip selekce hybridů:

Médium HAT

- obsahuje hypoxantin, aminopterin, tymín
- umožňuje růst jen buňkám s funkční hypoxantin-guanin fosforibozyl transferázou (HGPRT)
- linie myelomových buněk používaných k fúzi je HGPRT-



Využití protilátek

- | Léčebné využití protinádorových protilátek
- | Imunoanalýza
- | Western blotting
- |