

HLA systém, transfúze krve,  
reprodukční imunologie

*Tomáš Freiburger*  
***Ústav klinické imunologie a alergologie***  
***FN u sv. Anny v Brně***

# NOBELOVY CENY ZA IMUNOLOGII

1901 - E.A. Von Behring (*Germany*) for the work on serum therapy especially its application against diphtheria.

1905 - R. Koch

1908 - E. Metchnikov  
humoral theory)

1913 - C.R. Rich

1919 - J. Bordet (*Belgium*) for the discoveries relating to immunity (complement).

## Krevní skupiny, HLA, transplantace

**1930 - K. Landsteiner (*Austria/USA*) for the discovery of human blood groups.**

1951 - M. Theiler (*South Africa*) for the discoveries and developments concerning yellow fever.

1957 - D. Bovet (*Italy/Switzerland*) for the discoveries related to histamine and compounds, which inhibit action of histamine and other substances on the vascular system and the skeletal muscles.

1960 - Sir F. McFarlane Burnet (*Australia*) and Sir P.B. Medawar (*Great Britain*) for the discovery of acquired immunological tolerance.

1972 - G.M. Edelman (*USA*) and R.R. Porter (*Great Britain*) for their discovery concerning the chemical structure of antibodies.

1977 - R. Yalow (*USA*) for the development of radioimmunoassays of peptide hormones.

**1980 - B. Benacerraf (*USA*), J. Dausset (*France*) and G.D. Snell (*USA*) for their discoveries concerning genetically determined structures on the cell surface (major histocompatibility complex) that regulate immunological reactions.**

1982 - S. K. Bergstrom (*Sweden*), B. I. Samuelsson (*Sweden*) and J. R. Vane (*UK*) for their discoveries concerning prostaglandins and related biologically active substances.

1984 - N.K. Jerne (*Denmark/Switzerland*) for theories concerning the specificity in development (lymphocyte clonality) and control of the immune system; + G.J.F. Köhler (*Germany/Switzerland*) and C. Milstein (*Argentina/Great Britain*) for the discovery of the principle for production of monoclonal antibodies.

1987 - S. Tonegawa (*Japan/USA*) for the discovery of the genetic principle for generation of antibody diversity.

**1990 - J.E. Murray and E.D. Thomas (*USA*) for their discovery concerning organ and cell transplantation in the treatment of human diseases.**

**1996 - P.C. Doherty (*Australia/USA*) and R.M. Zinkernagel (*Switzerland*) for their discoveries concerning the specificity of the cell mediated immune defense ("dual recognition").**

1997 - S.B. Prusiner (*USA*) for the discovery of prions as a new biological principle of infection.

1999 - G. Blobel (*USA*) for discoveries concerning signal transduction.

**2011 - J. Hoffmann, B. Beutler - mechanisms of innate immunity; R. Steinman - discovery of dendritic cells**

- MHC (major histocompatibility complex)
  - soubor molekul zodpovědných za odvržení transplantované tkáně nebo orgánu (odtud název)
  - **hlavní úloha MHC spočívá v prezentaci antigenů T lymfocytům**
- MHC u člověka = HLA (human leukocyte antigen) systém

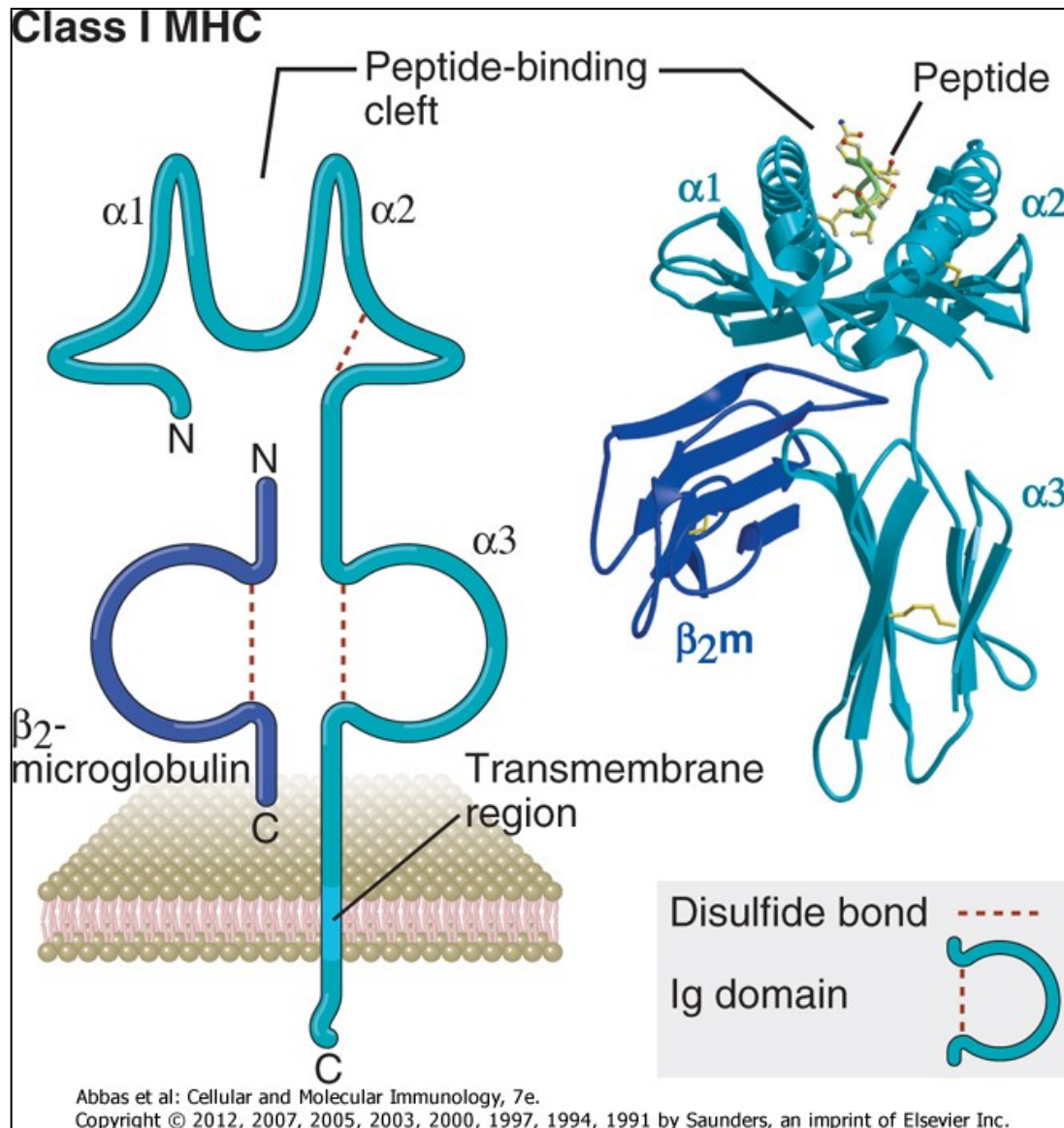
# MHC (HLA)

- MHC I. a II. třídy - dvě základní třídy MHC molekul lišící se
  - strukturou
  - expresí
  - prezentovanými antigeny
  - cílovými T lymfocyty (funkcí)
- Genetika HLA
- Typizace HLA
- Klinické využití typizace HLA
  - asociace HLA s nemocemi
  - transplantace

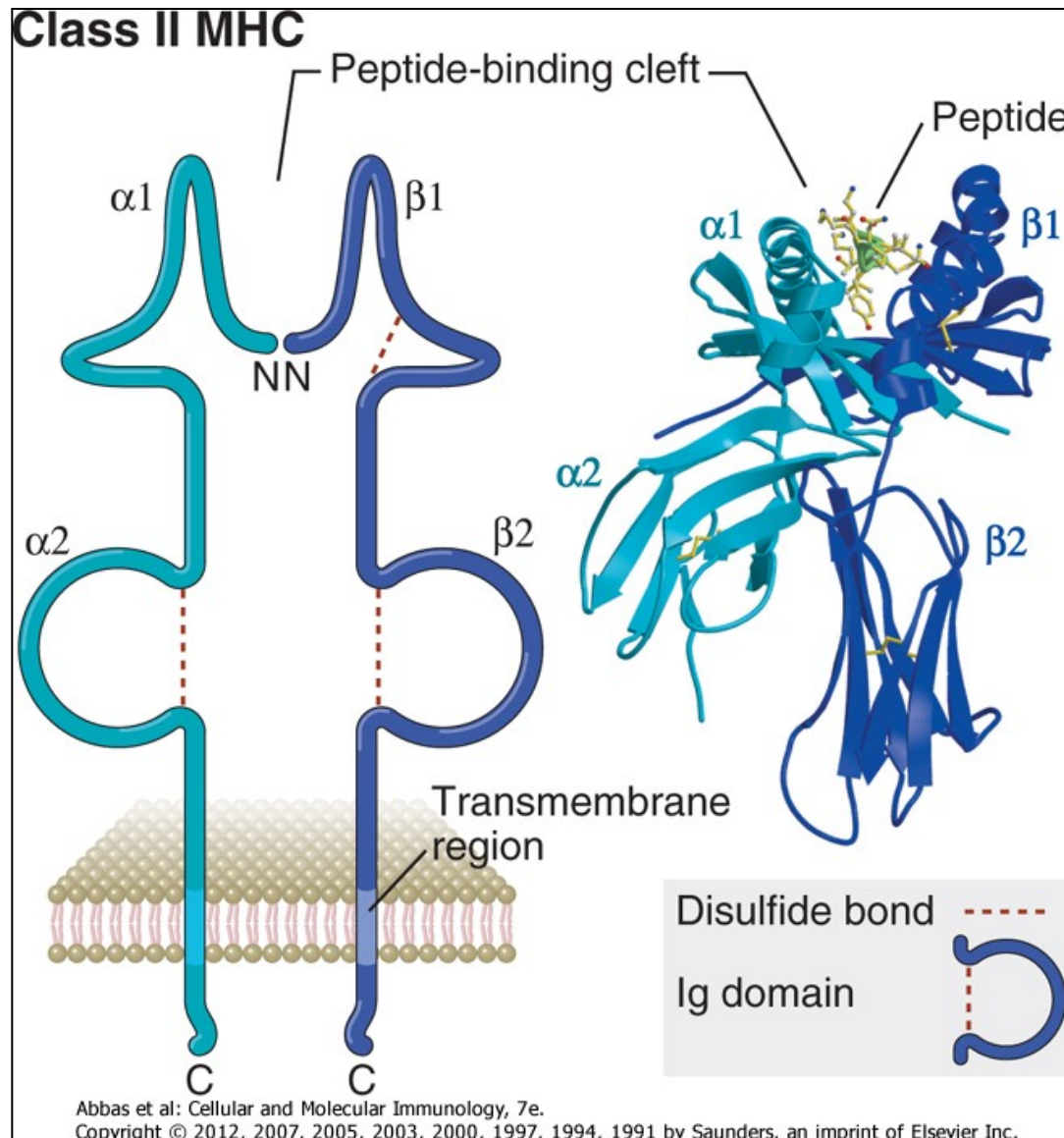
# Struktura molekul MHC

- Prostorová struktura MHC I. a II. třídy je podobná
- MHC I. třídy
  - těžký řetězec  $\alpha$  nekovalentně spojen s  $\beta$ 2-mikroglobulinem (kódovaným mimo MHC oblast)
  - řetězec  $\alpha$  tvořen doménami pro vazbu peptidu ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2), doménou podobnou imunoglobulinové doméně ( $\alpha$ 3), transmembránovou a cytoplazmatickou částí
- MHC II. třídy
  - heterodimery 2 těžkých řetězců  $\alpha$  a  $\beta$  spojených nekovalentní vazbou
  - řetězce tvořeny doménami pro vazbu peptidu ( $\alpha$ 1,  $\beta$ 1), doménami podobnými imunoglobulinové doméně ( $\alpha$ 2,  $\beta$ 2), transmembránovými a cytoplazmatickými částmi

# Schéma MHC I



# Schéma MHC II



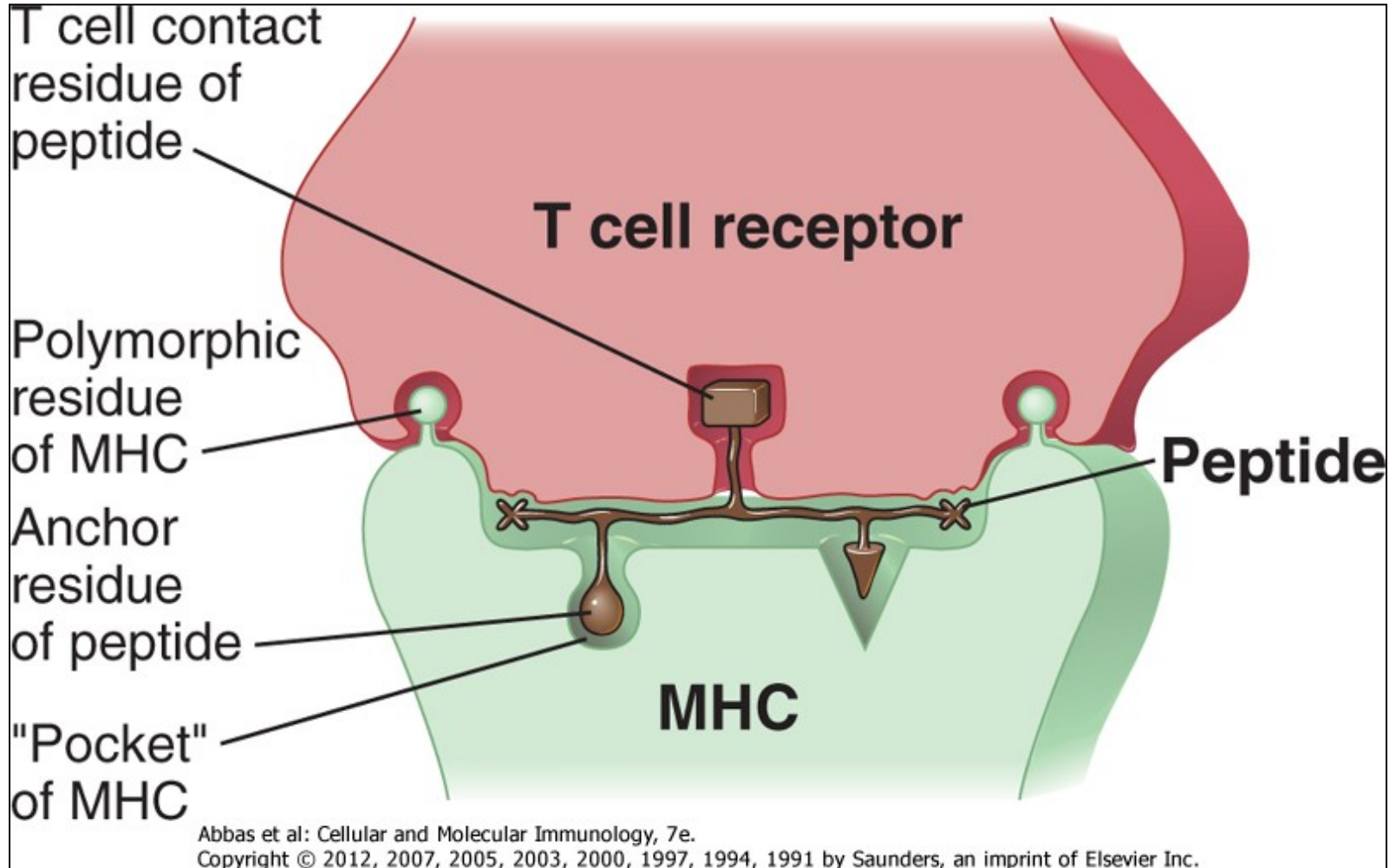
Geny:  
 lokus A  
 kóduje  
 řetězec  $\alpha$   
 lokus B  
 kóduje  
 řetězec  $\beta$

# Charakteristika interakcí mezi MHC a peptidy

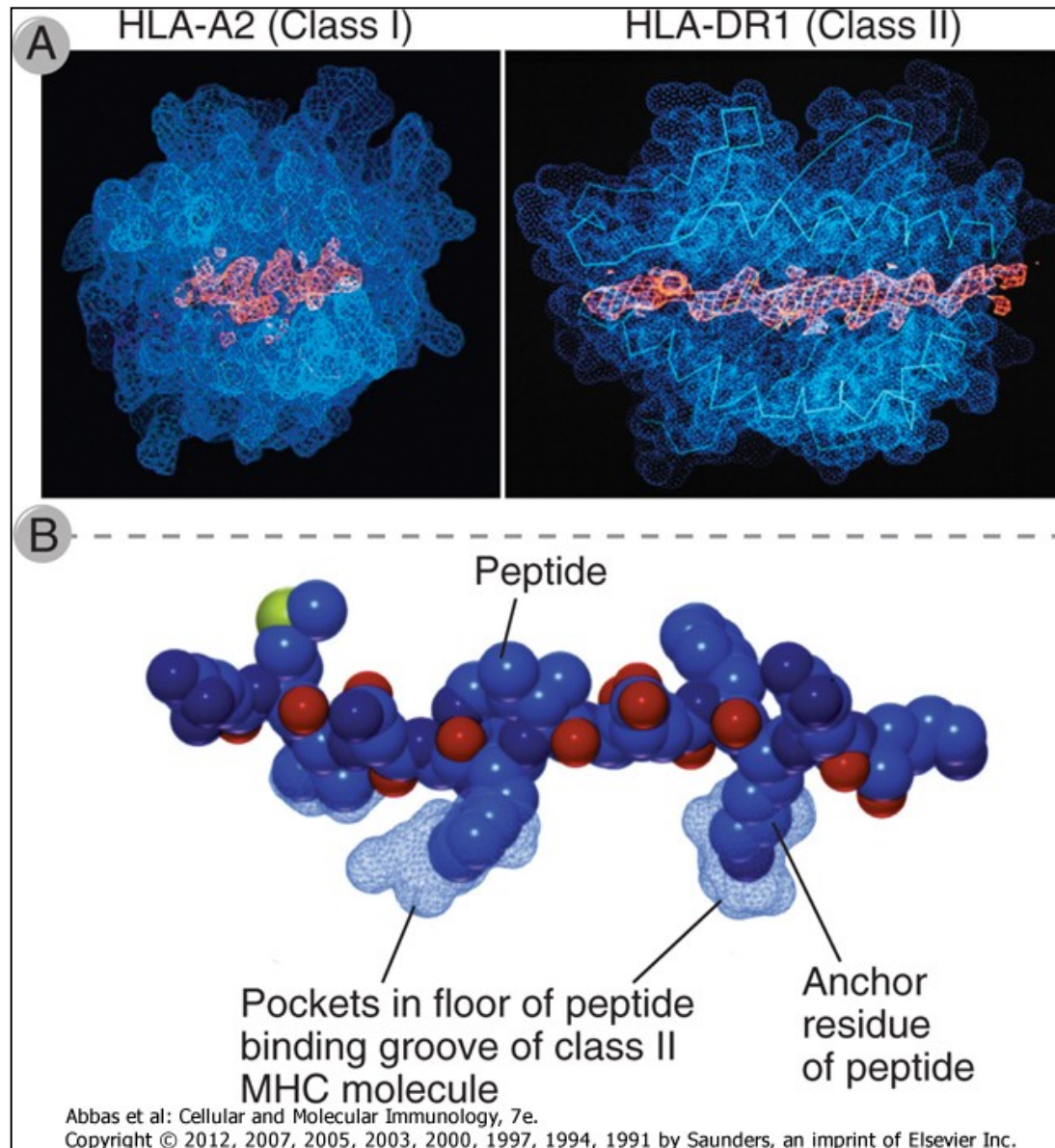
- MHC molekuly **neodlišují peptidy vlastní a cizí**
- Imunogennost proteinových antigenů je určena schopností buněk předkládajících antigen vytvořit peptidy, které se budou vázat na vlastní molekuly MHC
- MHC molekuly vážou v 1 chvíli jeden peptid, ale celkově mohou vázat řadu strukturálně podobných peptidů (x TCR-epitop)
- Vazba je nekovalentní, ligand je lineární a sestává z 8-11 aminokyselin (MHC I), resp. z 10-30 aminokyselin (MHC II)
- *T-lymfocyty jsou schopny poznávat i lipidové a glykolipidové struktury: je to populace NK-T, která poznává tyto antigeny „neklasickými molekulami MHC“ – CD1*



# Schéma komplexu HLA – antigen -T lymfocyt



# Vazba peptidu do vazebné oblasti MHC



# Exprese molekul MHC na buňkách

- MHC I třídy jsou přítomny **na všech jaderných buňkách** (tedy ne na erytrocytech!)
  - Exprese MHC I je na většině buněk zvýšena působením IFN, TNF, LT (tedy při vrozených imunitních reakcích)
- MHC II třídy jsou konstitučně přítomny **na buňkách imunitního systému** (buňky předkládající antigen – dendritické buňky, makrofágy, B-lymfocyty), dále na buňkách **endotelových** a na **epitelu thymu**
  - Expresi MHC II na buňkách prezentujících antigen (ne však na neuronech) zvyšuje IFN $\gamma$

# Původ a zpracování antigenů

- HLA I. třídy
  - prezentuje **cytoplazmatické antigeny** (peptidové fragmenty proteinů kódovaných infikujícími viry či intracelulárními parazity, peptidy aberovaných buněk, např. nádorových, extracelulární antigeny uvolněné do cytoplazmy apod.)
  - **proteolytická degradace** antigenů **v proteasomech**
  - transport peptidů do ER, kde vazba na molekulu HLA I
  - komplex HLA I s antigenem přes Golgiho systém exocytózou na povrch buňky

# Původ a zpracování antigenů

- HLA II. třídy
  - prezentuje pohlcené **extracelulární peptidy** (mikrobiální antigeny)
  - **proteolytická degradace** proteinů **v endosomech a lysosomech**
  - molekula HLA II v ER zablokována pro vazbu peptidu, transportována přes Golgiho systém do endosomu/lysosomu
  - vazebná část HLA II molekuly v endosomu/lysosomu uvolněna, navázání peptidu a transport exocytózou na povrch buňky

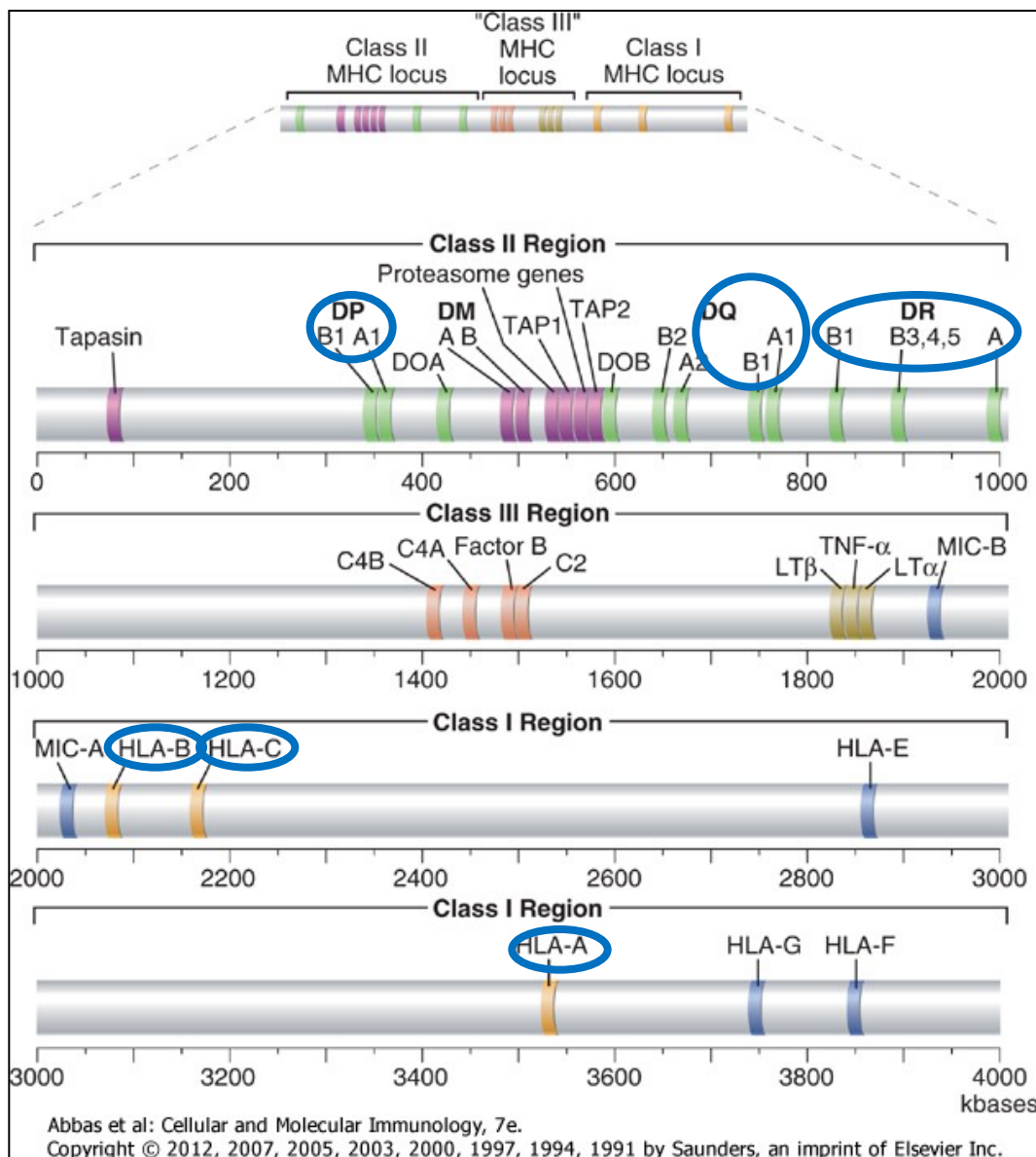
# Prezentace antigenů lymfocytům T

- T-lymfocyty poznávají antigeny pouze ve formě peptidových fragmentů vázaných na MHC I. nebo II. třídy  
- **fenomen MHC-restrikce**
- MHC I. třídy
  - Prezentace antigenů **cytotoxickým** T lymfocytům CD8+
- MHC II. třídy
  - Prezentace antigenů **pomocným** T lymfocytům CD4+

# Genetika HLA

- HLA systém je na krátkém raménku 6. chromozomu (3,5 Mb)
  - Soubor MHC genů na 1 chromosomu se nazývá **haplotyp**
  - Nízká míra rekombinace mezi geny na jednotlivých lokusech – určité kombinace se vyskytují častěji než by odpovídalo volné kombinovatelnosti alel = **vazebná nerovnováha**
- **Kodominantní exprese:**
  - Každý jedinec má dvě alely (2 haplotypy), jeden od každého z rodičů
- Vysoká míra polymorfizmu:
  - Geny MHC jsou **nejpolymorfnějšími geny** v genomu
  - Je obtížné najít 2 jedince s plnou shodou MHC genů

# Lokalizace genů HLA



HLA II. třídy:  
DR, DQ, DP

HLA III. třídy:  
C4, C2, LT, TNF...

HLA I. třídy:  
A, B, C



# HLA typizace

- stanovení HLA výbavy konkrétního jedince
- **serologické** techniky – stanovení antigenu (HLA-A2)
  - mikrolymfocytotoxický test
  - HLA I. třídy (na ústupu)
  - cross-match test
  - screening anti-HLA protilátek
  - relativně rychlá a levná
- **molekulárně genetické** metody – určení alely (HLA-A\*0201)
  - sekvenčně specifická PCR, hybridizace specifických sond, sekvenace
  - vyšší přesnost a spolehlivost typizace
    - nízké (HLA-DR\*03) nebo vysoké (HLA-DR\*0302) rozlišení
  - vyšší náklady

# Klinické využití HLA typizace

- Asociace molekul HLA systému s chorobami
- Transplantologie

# Asociace molekul HLA systému s chorobami

- Choroby s imunologickou patogenezí (např. autoimunitní, jako revmatoidní artritida, juvenilní diabetes, celiakie..)
- Choroby s etiopatogenezí nejasnou (m. Bechtěrev, psoriasis vulgaris)
- Choroby, u nichž se imunopatogenetický mechanismus neuplatňuje (narkolepsie, idiopatická hemochromatóza, adrenogenitální syndrom)
- **Možné příčiny:**
  - HLA antigen je znakem přítomnosti defektního genu, který se nachází v blízkosti HLA (vazebná nerovnováha)
  - selhání mechanismu negativní selekce autoreaktivních T lymfocytů
  - selhání funkce regulačních T lymfocytů
  - HLA antigeny jsou receptory pro mikroby - fenomén molekulárního mimikry a zkřížená reaktivita

# Vztah antigenů HLA k chorobám

	HLA	Relativní riziko
m. Bechtěrev	B27	90-100
Celiakie	DR3	12
IDDM	DR3/DR4	20
Revmatoidní arthritida	DR4	6

- relativní riziko je poměr pravděpodobnosti vzniku onemocnění u nositele specifické alely HLA a u jedince bez této alely

Přítomnost specifických alel HLA systému může **zvýšit dispozici** daného jedince ke vzniku autoimunitní choroby, ale **není dostačující** podmínkou, aby onemocnění vzniklo.

# Ankylozující spondylartritis (M. Bechtěrev)

- Postiženi především muži
- Začíná obvykle sakroileitidou, postupně postižena celá páteř
- Dochází k fibrotizaci až osifikaci intervertebrálních kloubů a ligament
- Mohou být postiženy i kyčelní a ramenní klouby
- Mimokloubní příznaky: iridocyklitida, aortitida
- Většina pacientů (90%) je **HLA-B27 pozitivních** (x 3-10% zdravých; vysoká negativní prediktivní hodnota vyšetření!)
- Jen u 2% HLA-B27 pozitivních se vyvine AS
- Obvykle je přítomna hypergamaglobulinémie, zánětlivé příznaky

# Celiakie (glutenová enteropatie)

- Klasické příznaky – dítě ve věku 4 – 24 měsíců: zvracení, steatorhea, stolice objemné 1 – 3x denně, neprospívání, malá postava
- V současnosti stále větší počet pacientů diagnostikován ve vyšším věku s nevýraznými nespecifickými příznaky – průjemy, úbytek na váze, abdominální dyskomfort, únava, periferní neuropatie, nutriční deficiencie, anemie, osteoporóza, psychické poruchy, infertilita
- Neléčená celiakie je asociována se vznikem střevního lymfomu!
- 95% pacientů jsou nositelé HLA-DQ2 a/nebo HLA-DQ8 (také 20% zdravé populace; vysoká negativní prediktivní hodnota vyšetření HLA)

# Faktory důležité v patogenezi celiakie

- expozice glutenu (prolaminům, zejm. gliadinu)
- genetická dispozice k reaktivitě na gluten
  - výskyt v rodinách: u 10-20% příbuzných 1. stupně, 40% HLA identických sourozenců, 75% jednovaječných dvojčat
  - 95% pacientů jsou nositelé HLA-DQ2 a/nebo HLA-DQ8 (také 20% zdravé populace; vysoká negativní prediktivní hodnota vyšetření HLA)
- Prolaminy - směs polypeptidů (30-70kD) s vysokým obsahem prolinu a glutaminu (získá se alkoholickou extrakcí glutenu)
  - pšenice – gliadiny; žito – sekaliny; ječmen – hordeiny; (oves – aveniny - je nejméně toxický)

# Celiakie – výskyt autoprotilátek

- Lze prokázat protilátky proti řadě antigenů: gliadinu, endomysiu hladkého svalstva, tkáňové transglutamináze....
- Za nejspecifičtější je v současné době považováno vyšetření protilátek proti tkáňové transglutamináze (TTG) ve třídě IgA



# Transplantace

- přenosy tkání nebo orgánů
- nahrazují nefunkční tkáň nebo orgán příjemce zdravým ekvivalentem
- zásadní úloha imunitních pochodů

# Typy transplantací

- Dle vztahu a dárce a příjemce
  - autologní
  - alogenní
    - syngenní
  - xenogenní

Dle charakteru transplantátu (štěpu)

- orgánové - ledvina, srdce, plíce, pankreas, játra, - rohovka
- tkáňové - kostní dřeň (kmenové buňky krvetvorby), kožní štěpy

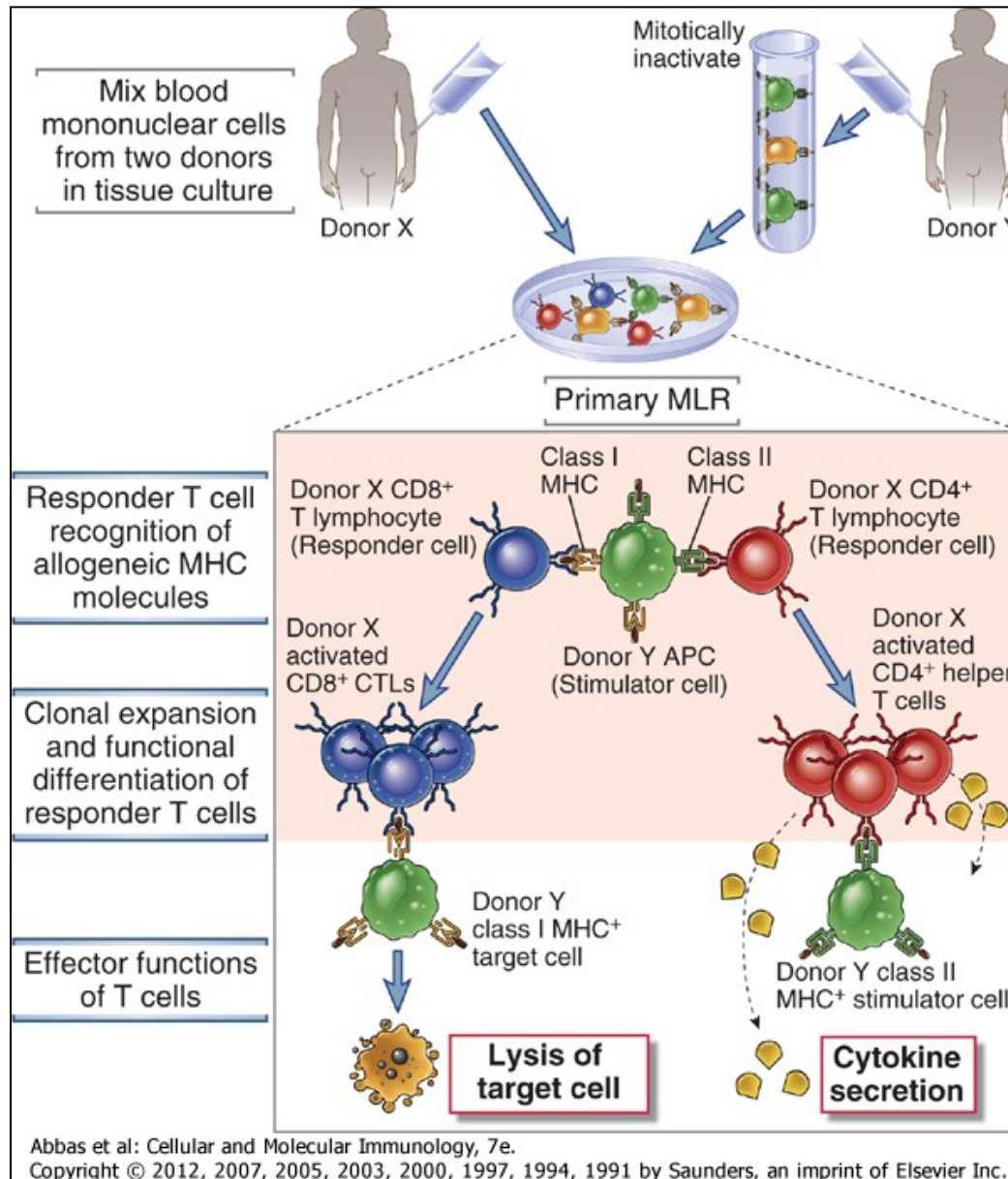
# HLA a transplantace

- Shoda mezi dárce a příjemcem štěpu v HLA znacích
  - snížení výskytu komplikací
  - vyšší úspěšnost transplantací
  - delší přežívání pacientů i transplantátů
  - zvýšení kvality života pacientů po transplantaci
- Imunitně zprostředkované komplikace transplantace
  - rejekce štěpu
  - reakce štěpu proti hostiteli (GvHD)

# Transplantace – vyšetření příjemce štěpu

- Určení krevní skupiny AB0
  - transplantace orgánů
- Typizace HLA I (A, B, C), HLA II (DR, DQ)
  - Tx ledvin (A, B, DR – nízké rozlišení)
  - HSCT (A, B, C, DR, DQ – vysoké rozlišení)
- Přítomnost autoprotilátek
- Preformované aloprotilátky (panel reactive antibody)
- „Crossmatching“ – přítomnost preformovaných protilátek specifických pro potenciálního donora
- Kultivace směsi lymfocytů (mixed lymphocyte culture assay) – shoda v oblasti D.

# Mixed lymphocyte culture

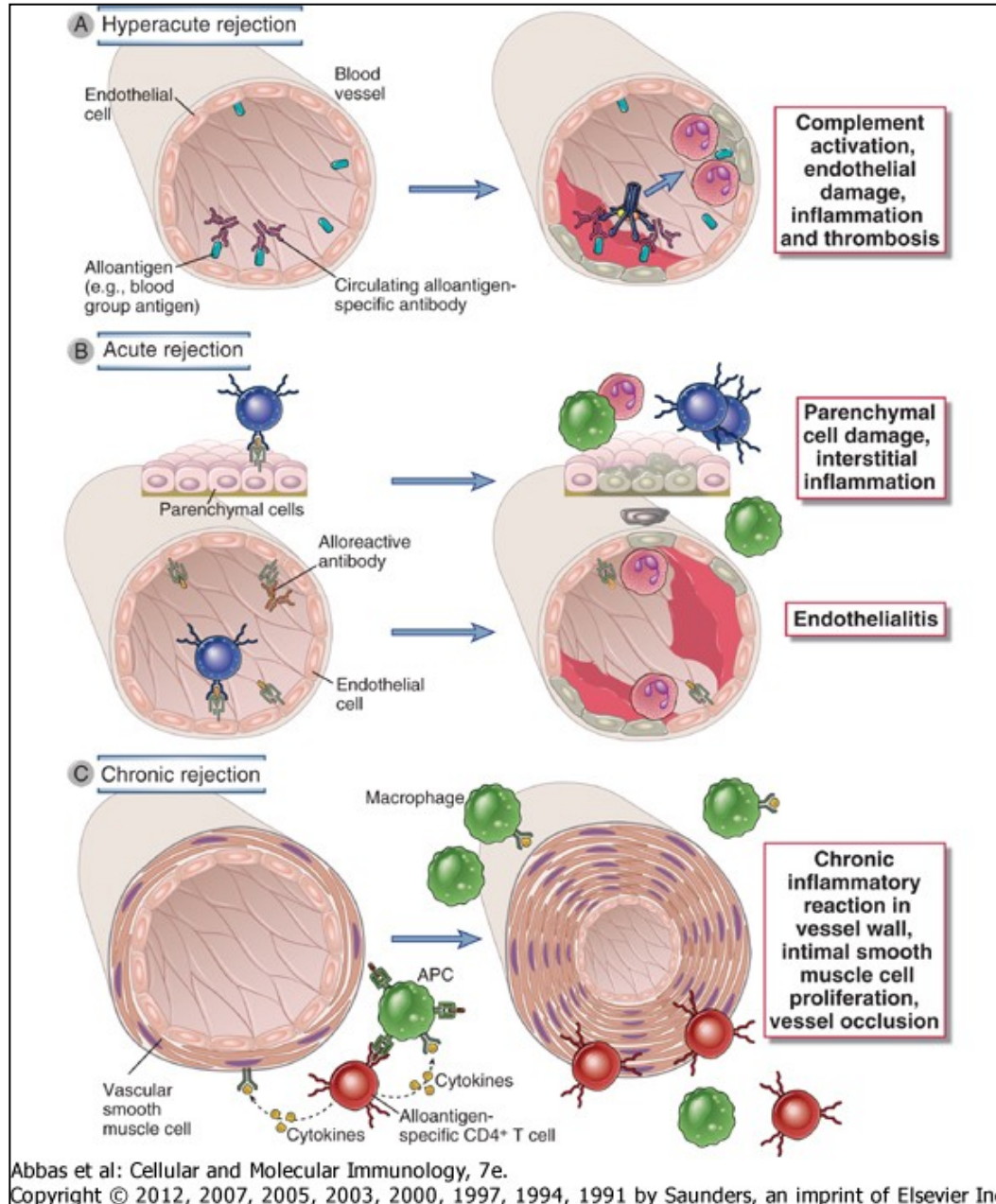


# Transplantace – rejekce štěpu

- Rejekce **hyperakutní** - během minut- protilátky proti ABO nebo preformované protilátky proti HLA antigenům
- Rejekce **akutní** – po prvním týdnu - je způsobena efektorovými lymfocyty T příjemce, odpovídajícími na HLA dárce, a protilátkami
- Rejekce **chronická** – asi po půl roce- reakce pozdní přecitlivělosti, vedoucí k fibróze, poškození cév a ztrátě funkce štěpu

Imunosupresivní léčba

# Mechanizmy rejekce štěpu



# Transplantace hematopoetických buněk

- Užívá se buď kostní dřeň nebo izolované periferní CD34+ kmenové buňky
- Indikace:
  - Maligní nádory (leukémie, lymfomy neuroblastom...)
  - Selhání kostní dřeně
  - Primární imunodeficiency



# Reakce štěpu proti hostiteli (graft versus host reaction, GvHR)

- Makulopapulární exantém, generalizovaná erythrodermie, puchýře, deskvamace
- Hepatopatie, zvýšení koncentrace bilirubinu v séru
- Průjem, velké bolesti břicha, ileus

Imunosupresivní léčba

# Transfúze krve = transplantace krve

- Transfúze krve – nejčastější druh transplantace v klinické praxi
- Krevní skupiny
  - polysacharidové a peptidové antigeny
  - protilátky
- Inkompatibilita krve v těhotenství
- Komplikace transfúze

# Polysacharidové antigeny krevních skupin

- Nejdůležitější je systém **ABO**
- Antigeny mohou být přítomny i v sekretech a na mnoha epiteliálních a endoteliálních buňkách
- „Základní strukturou“ ABO antigenů je substance H; velmi řídké se vyskytuje „bombajský fenotyp“, tj. nepřítomnost H-substance
- **Protilátky** jsou **IgM isotypu**, vyskytují se přirozeně

# Polysacharidové antigeny systému ABO

0: ceramid-Glu - Gal - GluNAc - Gal  
|  
Fuc

A: ceramid-Glu - Gal - GluNAc - Gal - **GalNAc**  
|  
Fuc

B: ceramid-Glu - Gal - GluNAc - Gal - **Gal**  
|  
Fuc

# Přirozené isohemaglutininy (IgM)

Krevní skupina A: isohemaglutininy anti-B

Krevní skupina B: isohemaglutininy anti-A,

Krevní skupina 0: isohemaglutininy anti-A, anti-B

Krevní skupina AB: isohemaglutininy anti-A ani anti-B  
nejsou přítomny

- **Křížová zkouška** (cross-match test):  
sérum příjemce + erytrocyty dárce

# Bílkovinné antigeny krevních skupin

- Nejdůležitější je systém Rh
- Protilátky jsou IgG isotypu, objevují se pouze po antigenním stimulu

# Malé krevní skupiny

- **System MNS**
  - silně glykosylované proteiny (glycophoriny) nesou antigeny M, N, S, s
  - protilátky IgG i IgM (podle cílového antigenu)
- **System Duffy**
  - glykoprotein, nejvýznamnější antigeny jsou  $Fy^a$  a  $Fy^b$
  - protilátky IgG
- **System Kell**
  - glykoprotein, nejvýznamnější je K antigen
  - protilátky IgG
  - třetí nejčastější příčina hemolytické reakce novorozenců
- **System Lewis**
  - antigeny  $Le^a$  a  $Le^b$  jsou součástí antigenů ABO systému
  - protilátky IgM

# Inkompatibilita v Rh systému mezi matkou a plodem

- senzitivace Rh- matek plodem Rh+
- v následné graviditě protilátky proti Rh (**IgG**), přestupují přes placentu
- **hemolytický účinek** (+ C-systém, fagocyty, buňky K): erythroblastosis fetalis
- Dg: Coombsův antiglobulinový test (přímý, nepřímý)
- Profylaxe: anti Rh sérum do 72 hod. po porodu (abortu...)



# Transfúze krve - komplikace

Po převodu krve **neslučitelné v systému AB0** dochází k **hemolytické reakci**, která je způsobena intravaskulární destrukcí červených krvinek protilátkami příjemce

**Příznaky:** Bolesti na hrudi, v zádech, dušnost, neklid, horečka s třesavkou, zvracení, hypotenze, šokový stav. Přežije-li nemocný šokový stav, objeví se do 24 hod. žloutenka, selhání ledvin, krvácení z diseminované intravaskulární koagulace, trombocytopenie a fibrinolýzy

# Transfúze krve - komplikace

- Reakce **vyvolané protilátkami proti leukocytům a trombocytům** - asi u 1/3 nemocných s těmito protilátkami po opakovaných transfuzích – do 3 hod. po převodu  
Příznaky: horečka, třesavka, zimnice, bolesti hlavy, zrudnutí, tlak na hrudi, kašel)
- Alergické reakce - kopřivka, larygospasmus
- Anafylaktoidní reakce – IgA-anti IgA
- Aloimunizace
- Reakce z přetížení oběhu - u zdravého lze převést 1l/za 2-3 hod., přetížení vede k akutnímu srdečnímu selhání
- Vzduchová embolie (při přetlakové transfusi)

# Transfúzí indukovaná GvHR

- Může být způsobena podáním neozářené krve imunodeficitnímu pacientovi (T-buněčný primární imunodeficiency, leukémie....)
- Je terapeuticky prakticky nezvládnutelná

# REPRODUKČNÍ IMUNOLOGIE

zabývá se studiem funkce imunitní soustavy  
v reprodukčních orgánech.

Imunologie / imunopatologie:

- mužského (uro)genitálního traktu
  - ženského genitálního traktu
    - fertilizace
    - nidace
    - těhotenství

Imunitní soustava dozrává perinatálně, tedy je také uzavírána "inventura" vlastních antigenů

**ALE !!**

zralé gamety, jejich přídatné tkáně  
a endokrinně aktivní buňky  
se objevují až v období puberty.

Jejich orgánově specifické znaky jsou proto imunitou vnímány jako cizí.

# Sterilita v důsledku patologické autoimunitní reakce proti spermiím

- **vrozená primární porucha** imunitní soustavy (např. defekt tlumivých buněk, autoimunitní nebo alergická dispozice)
- **získaná porucha regulace imunity** v urogenitálním traktu (záněty infekční, úrazové, poruchy prokrvení, punkce a biopsie varlat, anální sex bisexuálů aj.)

# Imunologické příčiny ženské sterility

## Autoimunitní poškození ovaria

- **vrozený defekt imunity** vede k poškození oocyту a přídatných tkání již během zrání ovaria (buněčná imunita, ale i tvorba autoproti látek) – výsledkem může být primární sterilita
- **navozená tvorba proti látek nebo buněčná imunita**  
v důsledku
  - opakovaných zánětů adnex, okolního peritonea (stav po apendicitidě) apod.
  - opakovaných odběrů oocyту pro IVF
  - endometriózy

# Imunologie těhotenství

Oplozené vejce, pak embryo a další přídatné tkáně představují pro matku cizorodý, "semialogenní" štěp.



# Embryonální ochranné mechanismy

pasivní: velmi nízká exprese klasických HLA znaků skup. A,B,C na buňkách cytotrofoblastu (chybějí antigeny HLA-DR a DQ, které jsou nutné pro aktivaci imunitní odpovědi)

aktivní: produkce nespecifických tlumivých působků (alfa-fetoprotein, hCG) a indukce Th2 buněk v mateřské deciduální tkáni; **klíčovou funkci má produkt embryonálního HLA-G genu**

# Mateřské ochranné mechanismy

- Imunosupresivní působení hCG, vysokých hladin progesteronu
- snížení koncentrace "toxických" Tc lymfocytů v periimplantační zóně i v oběhu
- převaha Th<sub>2</sub> nad Th<sub>1</sub>, CD8 nad CD4
- deciduální makrofágy a monocyty mají sníženou fagocytární schopnost, navíc produkují embryoprotektivní faktory;
- snižuje se produkce IL-2 i exprese rIL-2 na lymfocytech v periimplantační zóně i v oběhu