

# HLA SYSTÉM, JEHO STRUKTURA A FUNKCE

---

*HLA (Human Leukocyte Antigens ) =  
Hlavní histokompatibilní systém člověka*

# Struktura HLA systému

- Nejkomplexnější a nejpolymorfnější systém, každý člověk nese unikátní sestavu HLA alel, výjimka – monozygotní dvojčata
- lokalizace na krátkém raménku 6. chromozomu (4100 kb, více než 200 genů), geny uspořádány do 3 oblastí: **HLA I., II., III. třída**

## HLA I. třída zahrnuje geny:

- **-A, -B, -C** : jejich produkty glykoproteiny jsou **exprimovány na povrchu všech jaderných buněk** (transplantační, klasické)
- neklasické geny **HLA-E, -F, -G** (glykoproteiny - omezený výskyt)

## HLA II. třída zahrnuje geny:

- **-DR, -DQ, -DP** : jejich produkty glykoproteiny jsou **exprimovány na povrchu tzv. antigen prezentujících buněk**

## HLA III. třída zahrnuje:

- geny kódující strukturálně a funkčně odlišné proteiny než HLA I. a II. tř.
- složky komplementu C4, C2, faktor B, 21-hydroxylasa, TNF, heat shock protein Hsp 70

# HLA nomenklatura

## 1. Sérologická definice HLA antigenů

- **antigeny základní** – např. A9, A10, B51, B40, Cw3, DR2, DQ3....
- **antigeny splitové** (subtypy) - sdílejí společné sérologicky definované epitopy  
např. A10 → A25, 26, 34  
B40 → B60, 61  
Cw3 → Cw9, 10  
DR2 → DR15, 16  
DQ3 → DQ7, 8, 9
- maximálně 2 číslicové znaky

V r. 1987 – 10th International Histocompatibility Workshop, přijata nomenklatura založená na následujících principech:

- **HLA**= Hlavní histokompatibilní komplex člověka
- **A, B, C, DR, DQ, DP**.....lokusy
- **číslo ( A1, Cw3 )** = označení specifiity molekuly ( antigenu )

## 2. Molekulárně-genetická definice HLA alel

- molekulárně-genetická nomenklatura používá znaky dvou a vícemístné:
  - úroveň „**low resolution**“  
př. HLA-A\*02, \*31, B\*08, \*44, C\*02, \*12, DRB1\*04, \*13, DQB1\*07,  
\*08
  - úroveň „**high resolution**“  
př. HLA-A\*01:01, \*02:02, B\*07:01, \*35:01, C\*02:02, \*03:03,  
DRB1\*04:01,\*13:05, DQB1\*03:04, \*03:05
- Někdy více jak 4 znaky:  
C\*02:02:01, \*02:02:02.....alely se liší v tiché nukleotidové substituci na úrovni DNA, ale ne v aminokyselinové sekvenci na úrovni polypeptidu (tichá mutace)
  - A\*24:02:01:01      7. a 8. pozice – polymorfismus v nekódující oblasti
  - A\*24:02:01:02L    „ low expressed“ allele
  - B\*51:11N            „ null“ allele

# Funkce HLA systému

- Hlavní fyziologickou funkcí HLA molekul je **předkládat cizorodé antigeny nebo jejich fragmenty buňkám imunitního systému**, především T lymfocytům
- Tato prezentace antigenu je prvním předpokladem pro rozvoj imunitní reakce a tím obrany proti napadení mikroorganismy - *primární role imunitního systému je rozpoznat a eliminovat nebezpečné cizorodé agens, tzn., že imunitní systém musí rozlišovat mezi „vlastními“ a „cizími“ antigeny.*
- HLA restrikce - buněčné receptory T lymfocytů (TCR) rozpoznávají cizorodé antigenního peptidy navázané na molekuly HLA I. či II.tř.
- 2 způsoby prezentace cizorodých antigenů T lymfocytům:
  - endogenní (HLA I. tř.)
  - exogenní (HLA II. tř.)

# Další funkce

- ochrana fetálního allograftu

- Plod v těle matky je vlastně cizí štěp, polovina genetické výbavy pochází od otce.
- Klasické HLA produkty I. třídy –A, -B, nejsou exprimovány na buňkách trofoblastu → T lymfocyty jsou k plodu ignorantní. Naopak na trofoblastu jsou syntetizovány molekuly HLA-G, (-E) → NK inhibice.
- Závěr: Neklasické HLA-G, (-E) molekuly hrají speciální biologickou roli = ochrana vyvíjejícího se fetu před mateřskými T a NK buňkami, hrají roli při potlačení imunitní odpovědi matky proti plodu

- HLA molekuly jsou ligandy pro receptory NK buněk

- HLA molekuly aktivují nebo blokují aktivitu NK buněk přes **aktivační a inhibiční receptory** ( KIR-killer immunoglobuline-like receptor)
- NK buňky rozeznávají také neklasické HLA-E a –G molekuly

- úloha HLA molekul v transplantologii

- HLA molekuly jsou silné aloantigeny indukující rejekci štěpu

# Exprese a distribuce HLA molekul

- produkty genů HLA I. tř. - nalezeny na všech jaderných buňkách
- HLA geny exprimovány kodominantně – oba geny (alely) každého HLA lokusu se vyjádří syntézou polypeptidového řetězce HLA produktu
- na mladých červených krvinkách – atypický antigenní systém Bga, Bgb, Bgc (reziduální HLA antigeny )
- plazma – solubilní HLA antigeny
- produkty genů HLA II. tř. – omezená distribuce na APC: B lymfocyty, makrofágy, dendritické buňky, Langherhansovy buňky kůže, některé endoteliální buňky



typ buňky, tkáň	exprese	
	HLA I	HLA II
<b>BUŇKY IMUNITNÍHO SYSTÉMU</b>		
<b>dendritické buňky</b>	+++	+
<b>makrofágy</b>	+++	++
<b>T lymfocyty</b>	+++	+
<b>B lymfocyty</b>	+++	+++
<b>JINÉ JADERNÉ BUŇKY</b>		
<b>neutrofilní granulocyty</b>	+++	-
<b>eosinofilní granulocyty</b>	+++	-
<b>epitelové buňky</b>	+++	-
<b>hepatocyty</b>	+	-
<b>nervové buňky</b>	+	-
<b>buňky ledvin</b>	+	-
<b>NEJADERNÉ BUŇKY</b>		
<b>trombocyty</b>	++	-
<b>erytrocyty</b>	-	-

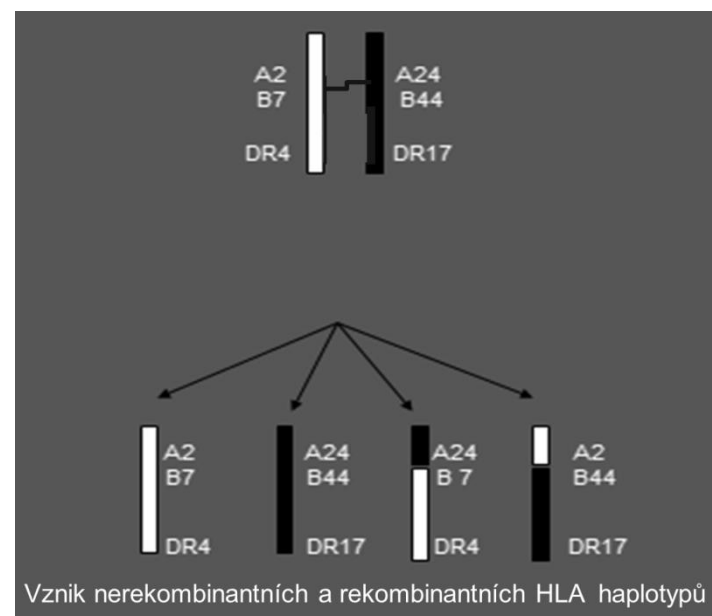
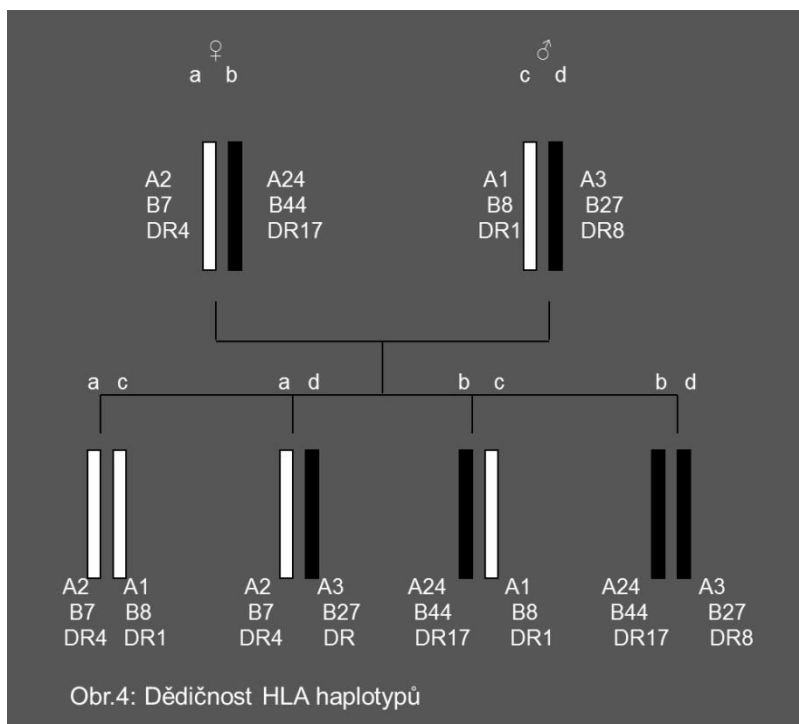
Tab.1.: Odlišnosti v expresi molekul HLA I. a II. třídy na různých buněčných typech ( J. Krejsek a O. Kopecný, Klinická imunologie, str. 125, 2004)

# Srovnání vlastností a funkce HLA I a HLA II

Charakteristika	HLA I	HLA II
Struktura	$\alpha$ řetězec + $\beta$ 2m	$\alpha$ a $\beta$ řetězce
Domény	$\alpha$ 1, $\alpha$ 2 a $\alpha$ 3 + $\beta$ 2m	$\alpha$ 1, $\alpha$ 2 a $\beta$ 1, $\beta$ 2
Buněčná exprese	téměř všechny jad.buňky	APC (B buňky, dendritické buňky,makrofágy)
Peptidy vázající místo	uzavřené,váže 8-9 amk tvořené doménami $\alpha$ 1 a $\alpha$ 2	otevřené, váže 12-17amk tvořené doménami $\alpha$ 1 a $\beta$ 1
Peptidy	endogenní antigeny	exogenní antigeny
Peptidy prezentované	CD8+T buňkám	CD4+T buňkám

# Dědičnost HLA systému

- geny vázané X geny volně kombinovatelné
- HLA geny jsou vázané → děděny „en bloc“ od rodičů jako haplotyp
- někdy rekombinace ( crossing-over během meiotického dělení) v HLA oblasti → výměna genetického materiálu mezi homologickými chromozómy → vznikají rekombinantní sestavy alel



# HLA a choroby

- 1967 – první zprávy o asociaci HLA systému s onemocněním u člověka
- 1973 – objevena asociace HLA-B27 s ankylozující spondylitidou ( m. Bechtěrev )
- následně byly studovány stovky onemocnění pro možnou asociaci onemocnění s HLA systémem, u více než 50ti onemocnění byla prokázána statisticky významná asociace

## Rysy HLA asociovaných chorob:

- choroby asociované s HLA antigeny jsou většinou nemaligní chronická onemocnění
- převážně autoimunitní onemocnění
- většina chorob je multifaktoriálních ( geny+ environmentální složka)
- Spouštěčem onemocnění často environmentální faktory (např. mikroorganismy, stres, ...)

## Některé příklady asociace HLA alel s chorobou:

Birdshot retinopathy	-A29	RR=200
Ankylosing spondylitis (M.Bechtěrev)	-B27	81,8
Narcolepsy	-DQB1*06:02	100
Psoriasis vulgaris	-B13, Cw6	4,5 7,2
Celiac disease	- DQB1*02, *03:02 - DQA1*03:01, *05	13,3
Type I diabetes mellitus	- DQB1*02, *03:02 - DQA1*03:01, *05	10
Rheumatoid arthritis	- DR4	4
Multiple sclerosis	-DR2, -DQ6	4

# Typizace HLA antigenů

- Pro účely transplantace nebo krevní transfuze (trombocytové TP) - vyšetření dárce i příjemce
- vyšetření HLA znaků asociovaných s chorobami

- 1. Serologické metody

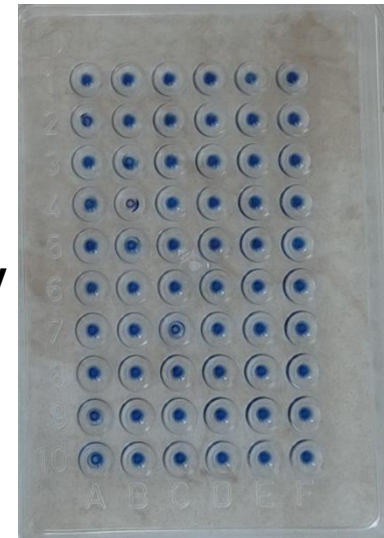
- **Lymfocytotoxický test ( LCT )**

- Lymfocyty inkubovány se specifickými HLA antiséry, po přidání komplementu dojde k proděravění membrány lymfocytů s navázanou protilátkou (obarvení)
- Hodnotí se skóre mikroskopicky

- 2. Molekulárně-genetické metody

- **Polymerázová řetězová reakce (PCR)**

- Izolace DNA, amplifikace DNA, detekce produktu PCR



*Terasakiho deska*

# Transplantace

- Transplantace orgánová – srdce, játra, ledviny, plíce, kombinované Tx
  - 2 typy dárců – kadaverózní dárce a dárce žijící
- Transplantace kostní dřeně, periferních kmenových buněk, pupečnickové krve
  - Podle typu dárce Tx autologní, alogenní, syngenní
  - Alogenní transplantace – příbuzenecká, nepříbuzenecká
  - Registry dárců

# Registry dárců kostní dřeně v ČR

- **Český národní registr dárců dřeně (ČNRDD)** - Plzeň
- **Český registr dárců krvetvorných buněk (CSCR)** - Praha
- Podmínky pro vstup do registru:
  - věk 18-35 let
  - dobrý zdravotní stav, žádné závažné onemocnění v minulosti
  - ochota překonat určité nepohodlí a ztrátu času, spojené s jednou či několika návštěvami zdravotnického zařízení, případně s odběrem krvetvorných buněk v zájmu záchrany života druhého člověka.



# Požadavky na dárce orgánů

## - kadaverózní dárce

- Kadaverózní dárce orgánů je osoba s prokázanou mozkovou smrtí při zachovalém krevním oběhu, s funkčními orgány a bez přítomnosti kontraindikace dárce.
- Zákon č.285/2002 Sb. určuje přesná pravidla na určení mozkové smrti a souvisejících předpisů včetně požadavků na kvalifikaci odborníka potvrzující mozkovou smrt.
- V ČR platí předpokládaný souhlas s dárce, osoby nesouhlasící s dárce mají právo se přihlásit do speciálního registru osob nesouhlasících s dárce (registr NROD) .
- Pracoviště zvažující dárce musí ověřit, zda pacient v tomto registru není. Souhlas rodiny není zákonně nutný, ale obvykle se bez souhlasu rodiny dárce neuskuteční.
- Nejčastější dárce jsou s úrazy hlavy, nitrolební krvácení a další, první informaci o možném dárce podává ošetřující lékař do spádového transplantačního centra ještě před ověřením smrti mozku.
- Smrt mozku je ze zákona potvrzována komplexem vyšetření (angiografie-znázornění oběhu krve kontrastní látkou, kdy se prokáže zástava kr. oběhu mozku).

# Požadavky na dárce orgánů

## - žijící dárce

- přibližně 10% dárců představují u nás **žijící dárce ledviny (rodiče, sourozenci, jiní příbuzní)**.
- (absolutní kontraindikací pro Tx ledviny od žijícího dárce je onemocnění ledvin, maligní nádory s možností metastáz, přítomnost australského antigenu (riziko přenosu hepatitidy B), pozitivita na HIV a věk do 18 let. Další podmínkou všech Tx ze žijících dárců je vyloučení jednání pod nátlakem či za úplatu)
- živý dárce – kratší doba studené ischemie, odběr a Tx jsou naplánované a probíhají prakticky ve stejnou dobu . Tato skutečnost výrazně přispívá k vynikajícím výsledkům Tx od žijících dárců i bez shody v HLA. Nutnou podmínkou je negativní cross-match (křížová zkouška) mezi dárce a příjemcem a shoda v KS.

# Protilátky proti leukocytům a trombocytům

- V imunologii leukocytů a trombocytů hrají důležitou roli imunoglobuliny třídy IgG, IgM a IgA
- Antigeny leukocytů
  - 1. antigeny společné s erytrocytárními – AB0, Rh, P, MNSs, ...
  - 2. antigeny specifické pro leukocyty
    - specifické antigeny lymfocytů      **HLA antigeny**
    - specifické antigeny granulocytů      **HNA antigeny**
    - specifické antigeny monocytů      **HMA antigeny**
- Antigeny trombocytů
  - 1. antigeny společné s erytrocytárními – AB0, Le, P, I, ...
  - 2. HLA antigeny I. třídy (HLA-A, -B a -Cw)
  - Specifické antigeny trombocytů      **HPA antigeny**

# Anti-HLA protilátky

- Silné imunogeny
- způsobují komplikace v těhotenství, po transfuzích a transplantacích
- Klinické syndromy způsobené anti-HLA protilátkami:
  - **Febrilní nehemolytická potransfuzní reakce – FNHTR**  
(teplota, třesavka, zimnice, bolest hlavy)
    - příčinou mediátory a cytokiny z leukocytů uvolněné v průběhu zpracování a skladování TP
    - někdy je příčinou přítomnost antileukocytárních (částo a-HLA) protilátek v plazmě pacienta při podání TP kontaminovaných leukocyty
    - Snížení výskytu FNHTR – plošná leukodeplece TP
  - **Potransfuzní reakce TRALI - imunní TRALI (poškození plic způsobené transfuzí)**
    - a-HLA nebo antigranulocytární protilátky v plazmě DK reagující proti antigenům leukocytů příjemce transfuze nebo antileukocytární protilátky v plazmě příjemce transfuze reagující proti antigenům leukocytů přítomných v TP
    - aktivované leukocyty - obstrukce plicní mikrocirkulace, vzniká plicní edém
    - klinické projevy do 6 hodin po podání transfuze (většinou neprodleně po zahájení transfuze)

# Anti-HLA protilátky

## Klinické syndromy způsobené anti-HLA protilátkami

### ➤ Refrakterita

- refrakterita na podání trombocytových transfuzních přípravků způsobená přítomností anti-HLA protilátek v séru pacienta reagujícími s HLA antigeny I. třídy nacházejících se na membránách trombocytů dárce
- výběr HLA kompatibilního dárce transfuzního přípravku z registru HLA otypovaných dárců nebo zkouška kompatibility v lymfocytotoxickém testu mezi sérem příjemce a lymfocyty dárce (cross-match)

### ➤ Akutní rejekce

- odvrhnutí transplantovaného štěpu
- pravděpodobnost vzniku akutní rejekce je tím větší, čím větší odlišnosti v HLA systémech dárce a příjemce existují
- úloha non-HLA faktorů

# System HNA (Human Neutrophil Antigens)

- Známo 7 antigenů, které jsou uspořádány do 5 HNA systémů

# Klinické syndromy způsobené anti-HNA protilátkami

## ➤ Aloimunitní neutropenie novorozence

- způsobená mateřskými aloprotilátkami proti HNA antigenům na neutrofilech plodu při absenci na neutrofilech mateřských
- nebo jako transplacentární přenos protilátek od matky s autoimunitní neutropenií

## ➤ Potransfuzní reakce TRALI a FNHTR

- viz. výše

## ➤ Autoimunitní neutropenie u dětí

- vyvolaná antigranulocytárními autoprottilátkami nejčastěji proti HNA-1a, HNA-1b, HNA-2a, HNA-4a

# HPA antigeny

- Antigeny specifické pro trombocyty
- Nachází se na glykoproteinech destičkových membrán, většina HPA antigenů je součástí GPIIb/IIIa
- na trombocytech 6 bílelických systémů - **HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5, HPA-15** (33 HPA alel na 6 glykoproteinech)



# Anti-HPA protilátky

- antitrombocytární protilátky jsou většinou třídy IgG, často také IgM a zřídka IgA
- v kavkazské populaci je protilátka proti antigenu HPA-1a nejčastější příčinou **fetomaternální aloimunitní trombocytopenie**
- antitrombocytární protilátky vznikající jako odpověď imunitního systému na HPA antigen, se dělí:
  - **aloprotilátky** (po transfuzi, po transplantaci, v průběhu těhotenství)
  - **autoprotilátky** způsobující destrukci vlastních trombocytů (autoimunitní trombocytopenie, ITP)
  - léky indukovaná trombocytopenie (antiepileptika, analgetika, antibiotika)