

Imunitní systém ve zdraví a nemoci

Hrazeno z projektu MUNI 3.2.1, realizovaném v rámci Národního plánu obnovy pro oblast vysokých škol pro roky 2022-2024, reg. číslo NPO_MUNI_MSMT-16606/2022.



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy

MSMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

Transplantační imunita, krevní skupiny

MVDr. Mgr. Monika Dušková, Ph.D.



Krevní transfúze

Empirická pozorování: erythrocyty některých lidí se shlukují (aglutinují), jsou-li smíchány se sérem pocházejícím od některých jiných lidí, ale nikoliv se sérem vlastním.

Na povrchu erythrocytů se nacházejí molekuly s antigenními vlastnostmi, schopné vyvolat tvorbu protilátek.
Popsáno 24 systémů krevních skupin

Antigen (aglutinogen) na erythrocytu, protilátka (aglutinin) v plasmě

Systém ABO

1901 Karl Landsteiner - 3 krevní skupiny

1907 Jan Jánský 4 krevní skupiny

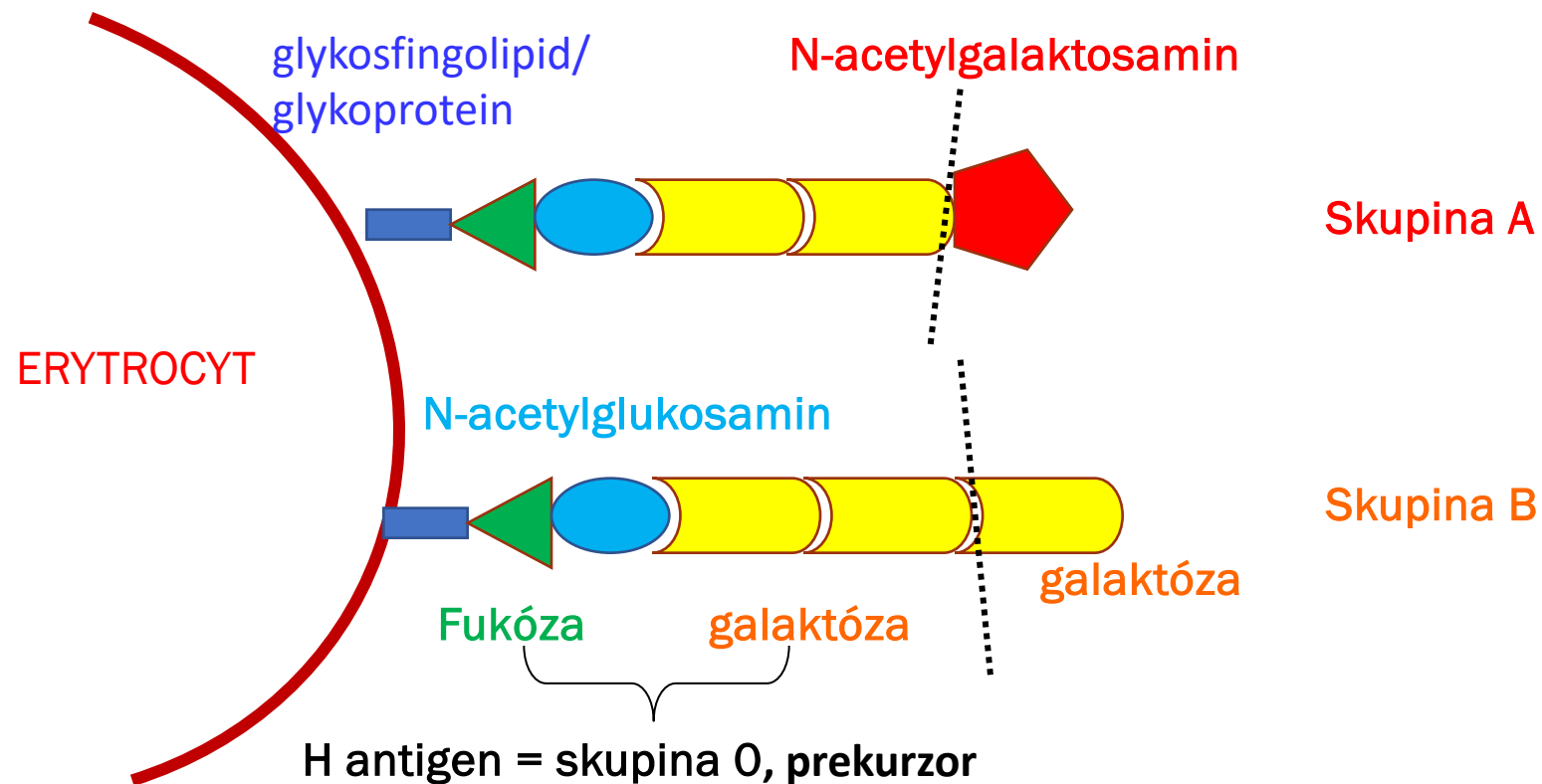
Rh systém

1940 – Karl Landsteiner

Další systémy erythrocytárních antigenů: Kell, Lewis, Duffy a další

A, B antigeny jsou běžné u všech mikroorganismů, proto máme v krvi protilátky

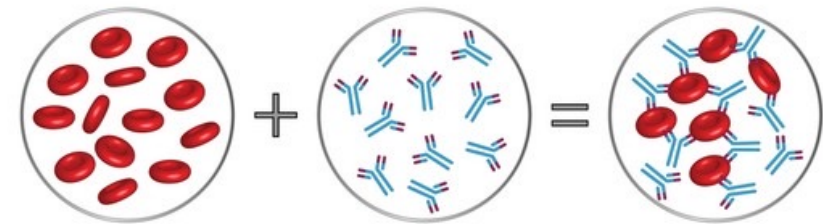
Na antigeny, které máme na svých erythrocytech máme navozenou toleranci (jedinec sk A netvoří anti A)



Příslušnost ke skupinám AB0 systému určuje přítomnost antigenu (aglutinogenu) A nebo B na erythrocytech a přirozeně se vyskytujících protilátek (aglutininů) anti A a anti B v krevním séru.

Protilátky jsou třídy IgM a po kontaktu s příslušným erythrocytem způsobují aglutinaci – shlukování.

krevní skupina	Aglutinogen na erythrocytech	Aglutinin v plazmě	% zastoupení v české populaci
A	A	anti B	41,5
B	B	anti A	14,1
AB	A, B	-	6,6
0	-	anti A, anti B	37,8



shutterstock.com · 2338319319

Skupinový systém AB0 (Vácha et al., 2004, skripta MU Brno)

Ukázka aglutinačního stanovení krevních skupin v jamkách na sklíčku:

Anti A
Anti B Anti B Anti A



V jamkách jsou umístěny erytrocyty

Do jamek přidají protilátky anti A, anti B (ve sloupcích)

Sleduje se aglutinace

Vzorek 1: krevní skupina A - v jamkách s anti A vzniká aglutinát

Vzorek 2: krevní skupina B – v jamkách a anti B vzniká aglutinát

Vzorek 3: krevní skupina AB: aglutinace nastává s anti A i s anti B

Vzorek 4: krevní skupina 0: aglutinace nenastává ani s anti A ani s anti B

<https://soudni.lf1.cuni.cz/file/5716/Laboratorn%C3%AD%20metody.pdf>

Rh systém

Náhodně objeveno při imunizaci králíků krví opic *Macacus rhesus*

Králíci vytvářeli protilátky, které aglutinovaly lidské krvinky

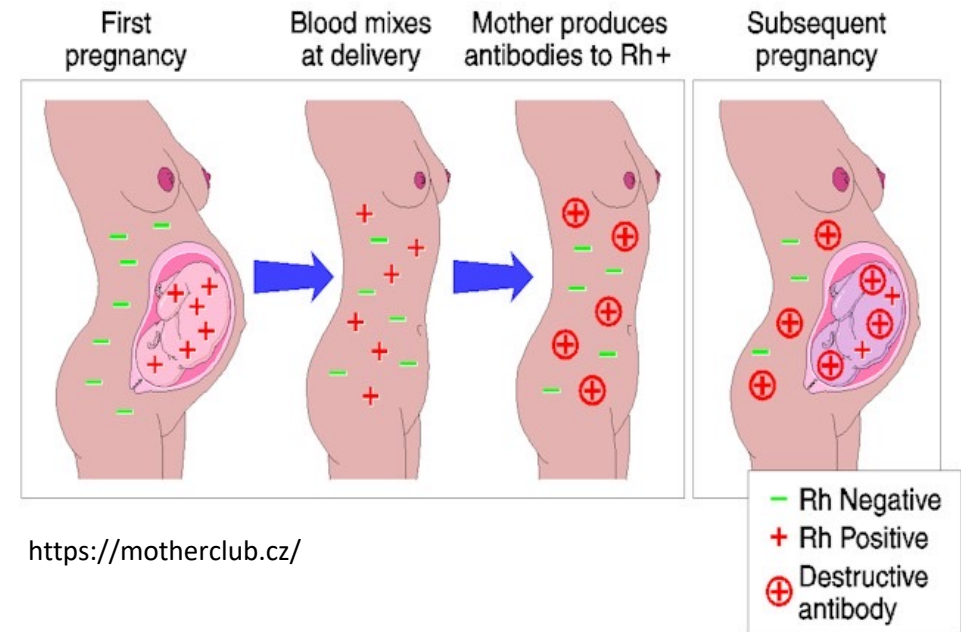
V plasmě nejsou přirozené protilátky, tvoří se až po kontaktu s antigenem na erytrocytech a jsou IgG
(při těhotenství Rh⁻ matky s Rh⁺ plodem)

Je to komplex tří antigenů CcDdEe

D: Rh⁺ ... 85% (jedinec má na erytrocytech antigen D)

d: Rh⁻ ... 15% (jedinec nemá na erytrocytech antigen D)

*Platí pro bělošskou populaci v Evropě,
mimo Evropu Rh⁻ minimální*



Dědičnost krevních skupin

Fenotyp - krevní skupina A - Genotyp AA nebo AO

Fenotyp - krevní skupina B - Genotyp BB nebo BO

Fenotyp - krevní skupina AB - Genotyp AB

Fenotyp - krevní skupina 0 - Genotyp OO

Rodiče A x A - Dítě - A nebo O

Rodiče A x B - Dítě - A, B, AB nebo O

Rodiče B x B - Dítě - B nebo O

Rodiče A x O - Dítě - A nebo O

Rodiče B x O - Dítě - B nebo O

Rodiče AB x AB - Dítě - A, B nebo AB

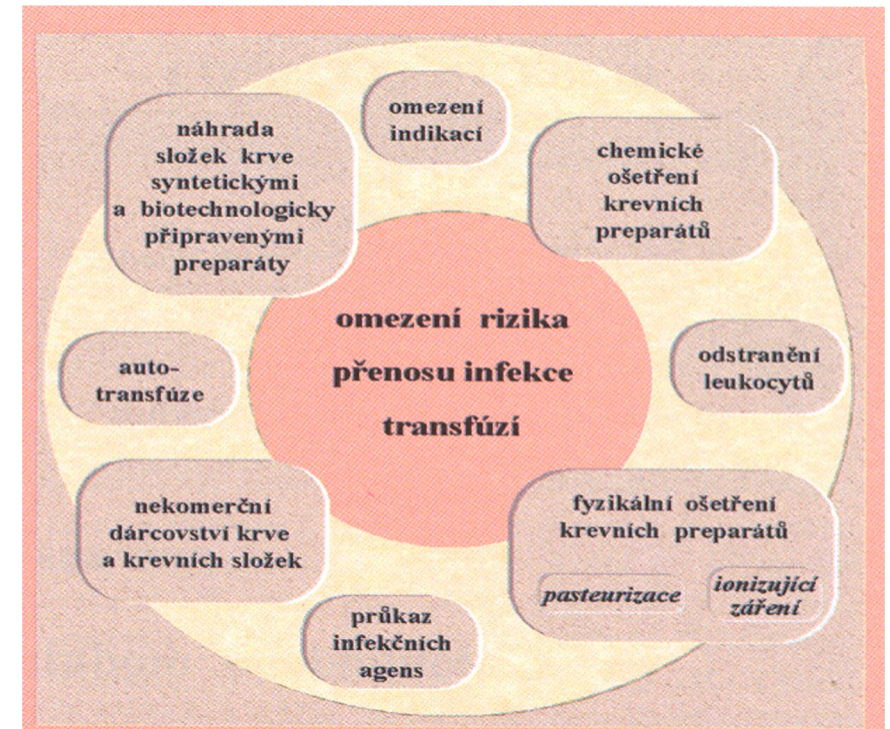
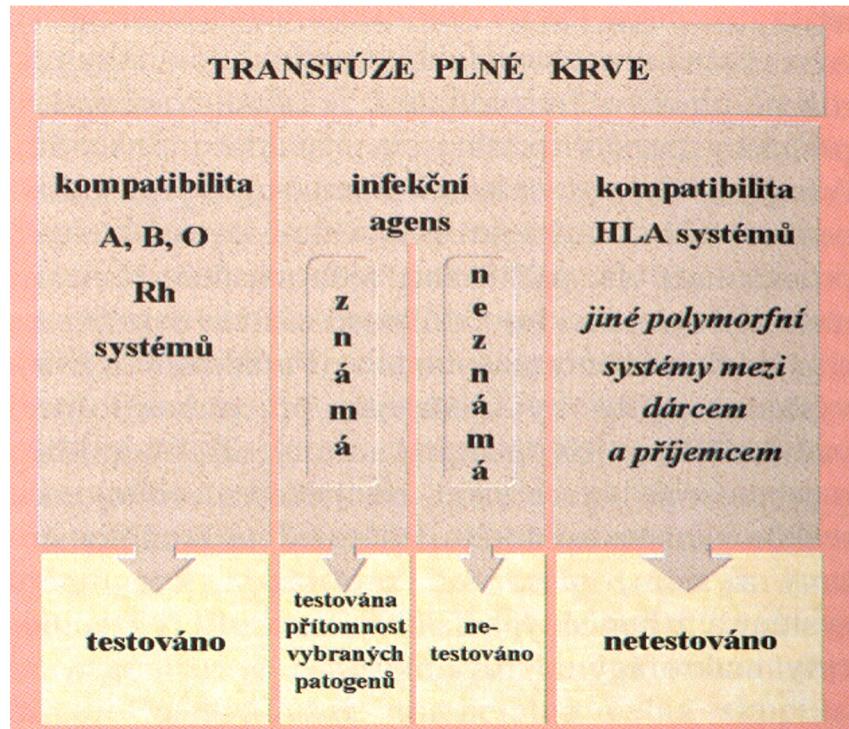
Rodiče AB x A - Dítě - A, B nebo AB

Rodiče AB x B - Dítě - A, B nebo AB

Rodiče AB x O - Dítě - A nebo B

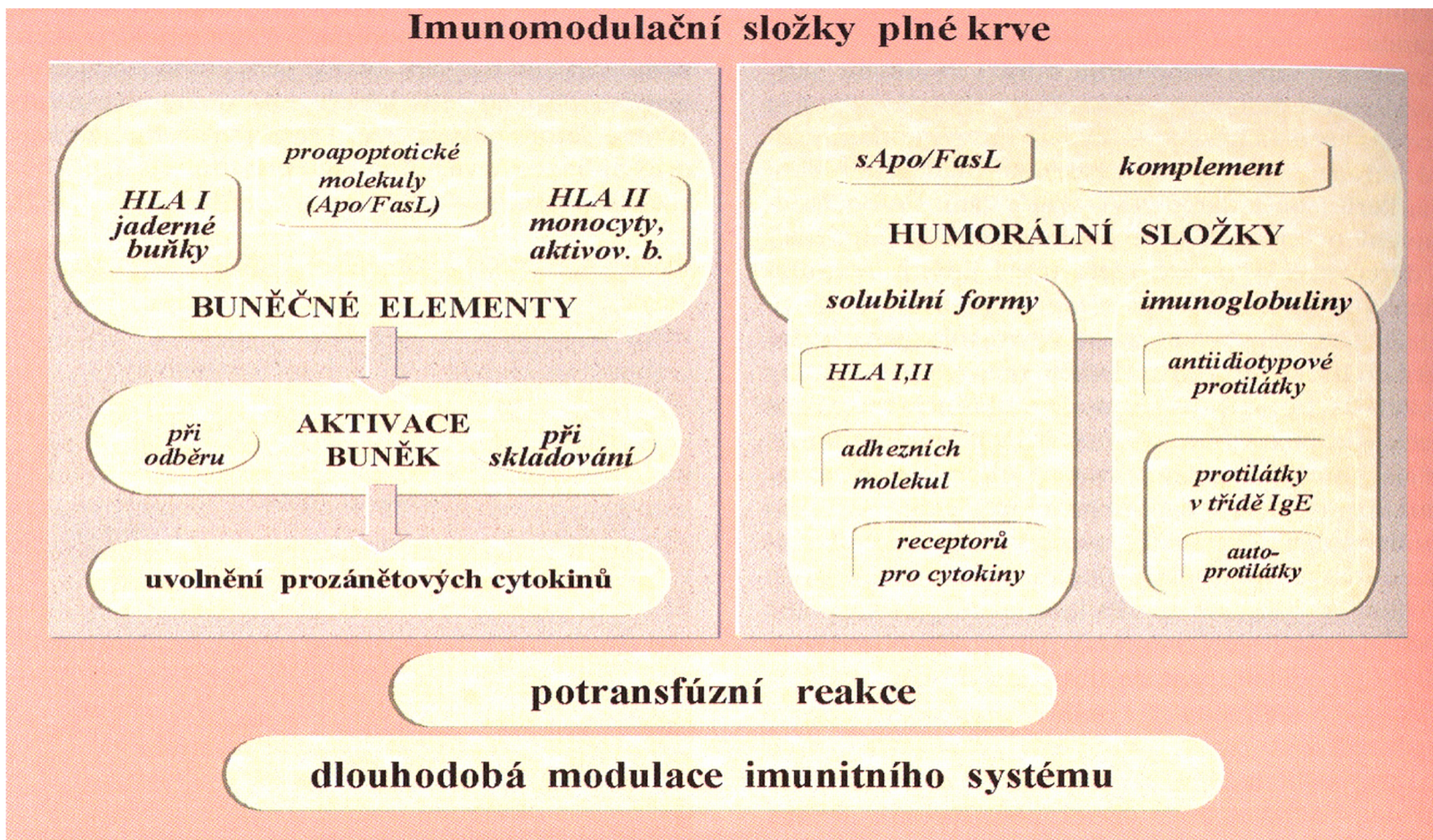
Rodiče O x O - Dítě - pouze O

Kromě kompatibility v ABO a Rh systémech je u transfúzí důležitá také **minimalizace rizika přenosu patogenů**



Krejsek, Kopecký: Klinická imunologie, Nucleus HK, 2004

Při nekompatibilitě v ABO a Rh systému hrozí aglutinace a následná destrukce erytrocytů imunitními mechanismy. Krevní transfúze ale může mít na imunitní systém také **imunomodulační působení**.

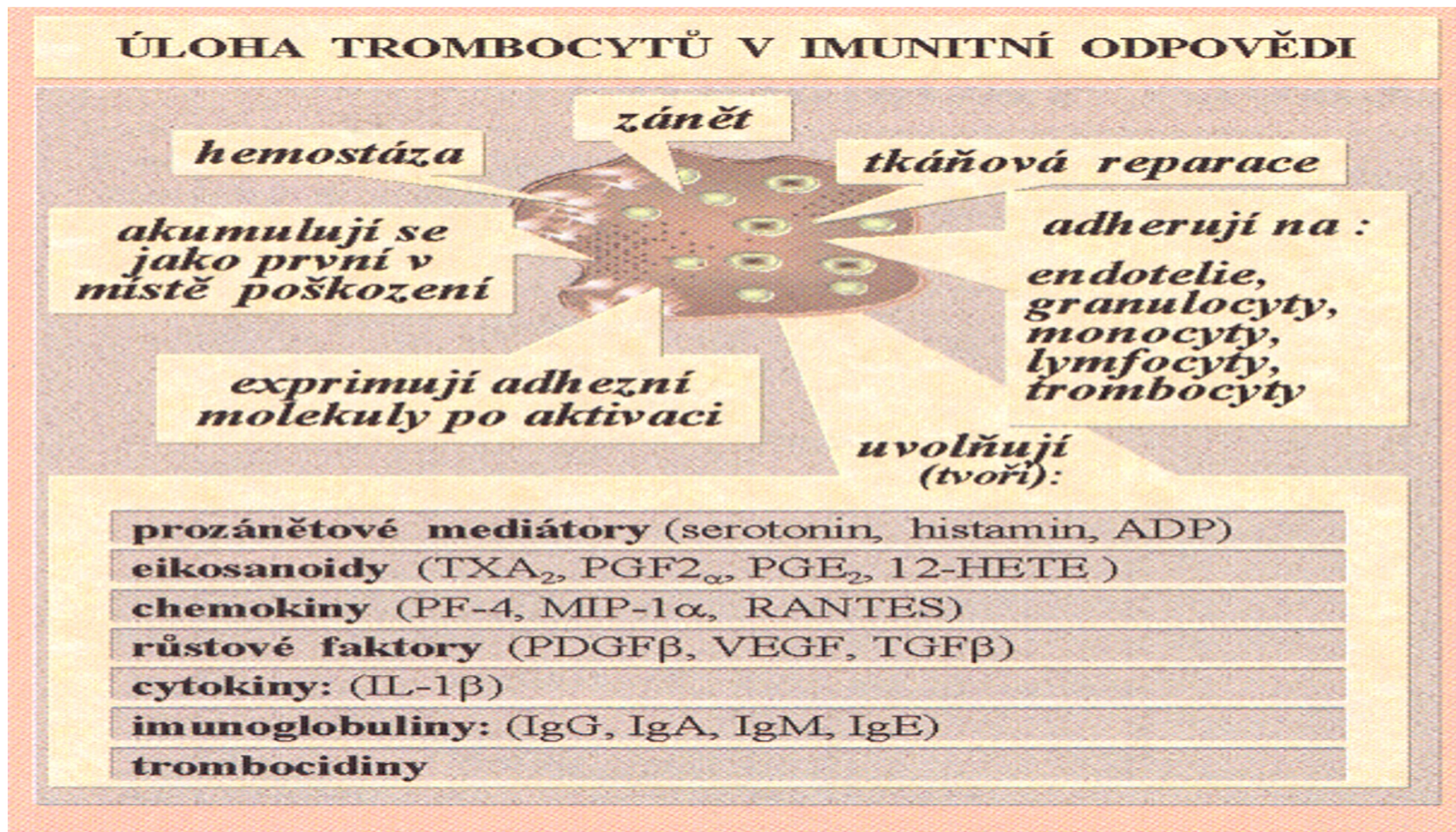


Krejsek, Kopecký: Klinická imunologie, Nucleus HK, 2004

Působení erytrocytů na imunitní systém

- Neutralizace chemokinů přes nespecifický Duffy antigen/chemokine receptor
- Transport komplexů Ag-Ab na receptot CR1 a transport do sleziny
- Regulace/zpomalení pohybu leukocytů v kapilárách
- Některé povrchové molekuly mohou sloužit jako receptory pro infekční činitele a ty se mohou skrýt před imunitním systémem
- Hemoglobin z erytrocytů je zdrojem železa, které je nutné pro růst bakterií

Působení trombocytů na imunitní systém



Krejsek, Kopecký: Klinická imunologie, Nucleus HK, 2004

Orgánové transplantace

Transplantace – přenos tkání nebo orgánů – terapeutické nebo výzkumné účely

Základní pojmy:

- Dárce (donor) a příjemce (akceptor)
- Štěp – transplantovaný orgán nebo tkáň
- Rejekce – odvržení (odhojení) štěpu
- Reakce štěpu proti hostiteli (graft versus host GvH) – imunitní buňky štěpu reagují proti tkáním příjemce

Histokompatibilita – tkáňová slučitelnost na základě podobnosti antigenů HLA komplexu

Typy transplantací z hlediska histokompatibility:

- Autologní – v rámci jednoho organismu
- Syngenní mezi jedinci inbredního kmene, identickými dvojčaty
- Alogenní – mezi geneticky odlišnými jedinci
- Xenogenní – mezi jedinci jiných živočišných druhů

Historie transpantací

Experimenty na zvířatech už před více než 100 lety

1902 – ledviny u psa

1952 – ledviny u člověka

1963 – jater

1967 – srdce

1968 – kostní dřeně

V České republice:

1961 – ledviny

1983 – játra

1986 – rozvoj transplantačního programu

Nyní 7 transplantačních center,
z toho 4 transplantují jen ledviny

<http://www.kst.cz/> Koordinační středisko transplantací

Počty transplantací V ČR za rok 2023:

Dárci celkem: zemřelí/žijící 343 (44)

Transplantace ledviny 488 (36)

Transplantace jater 189 (8)

Transplantace srdce 84

Transplantace pankreatu 30 (ostrůvky 5)

Transplantace plic 67

Tenké střevo 0

Děloha 0

HLA antigeny

Lidské histokompatibilní antigeny byly původně nalezeny na leukocytech, kde jsou vyjádřeny v nejvyšší hustotě.

HLA *human leukocyte antigen* je označení pro hlavní histokompatibilní systém MHC u člověka.

Historie: v 50. letech 20. st. objevil francouzský imunolog J. Dausset první antigen tohoto systému.

Geny HLA komplexu jsou na krátkém raménku 6. chromosomu, dělí se do tří tříd:

HLA I. třídy a zahrnuje lokusy HLA A, HLA B, HLA C

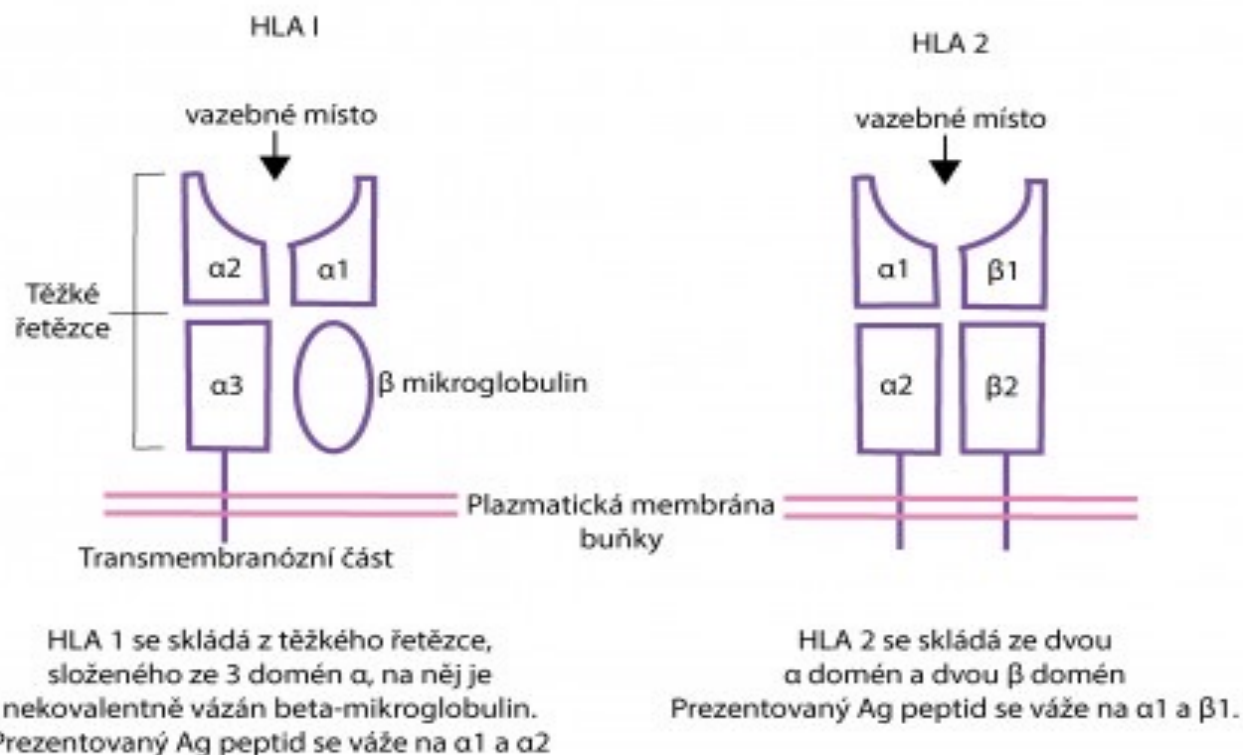
HLA II. třídy zahrnuje lokusy HLA DR, HLA DQ, HLA DP

Třída III. nemá přímý vztah k histokompatibilitě, kóduje ale důležité imunitní molekuly, např. složky komplementu, TNF = Tumor necrosis factors , HSP = Heat shock proteins a další.

HLA antigeny I. třídy se vyskytují na všech jaderných buňkách a trombocytech.

HLA antigeny II. třídy se vyskytují na antigen prezentujících buňkách:

- monocyty, makrofágy, dendritické buňky, B-lymfocyty a také na aktivovaných T lymfocytech



<https://www.vovcr.cz/odz/zdrav/187/page10.html>

Vazba peptidů (antigenních fragmentů) do vazebných míst MHC molekul I a II třídy

Funkce MHC molekul: vázat peptidové fragmenty a vystavovat je na svém povrchu pro rozpoznávání T lymfocyty

- antigeny produkované buňkou (MHC I)

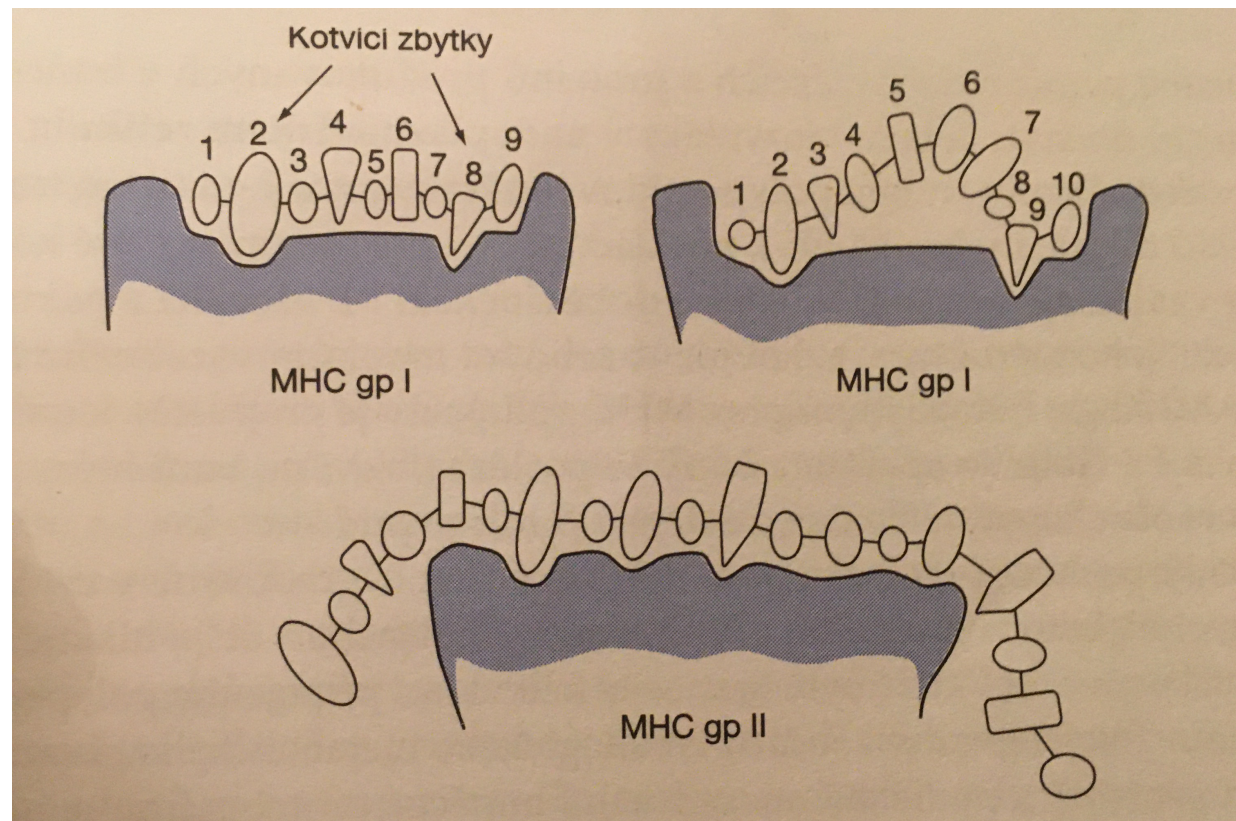
- antigeny pohlcené buňkou (MHC II)

Velikost vazebného místa:

MHC I 8 – 10 AK

MHC II 15 – 35 AK

Význam „vazebného motivu“



Geny HLA patří ke genům s nejvyšším polymorfismem:

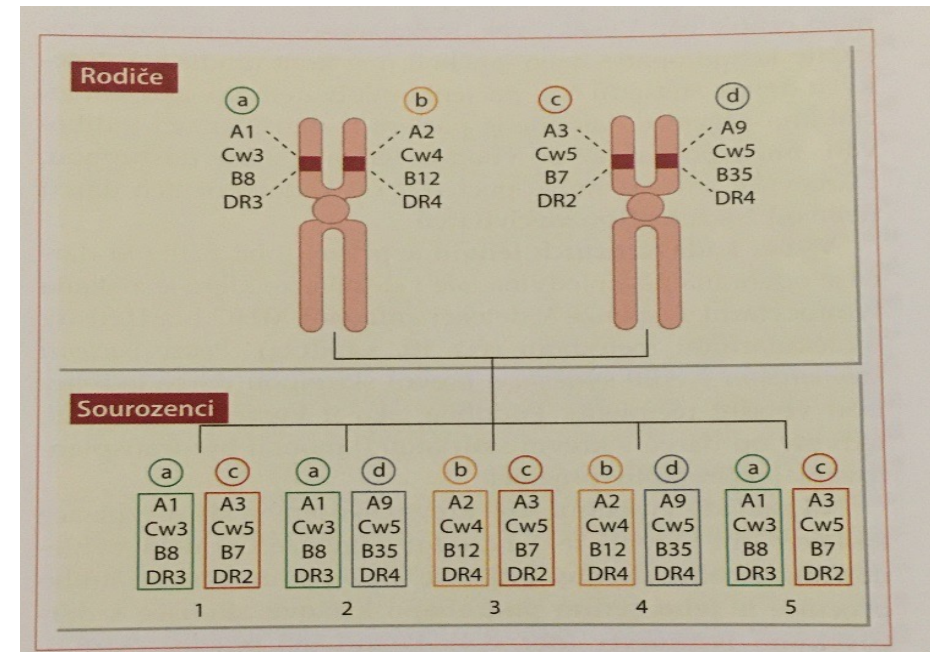
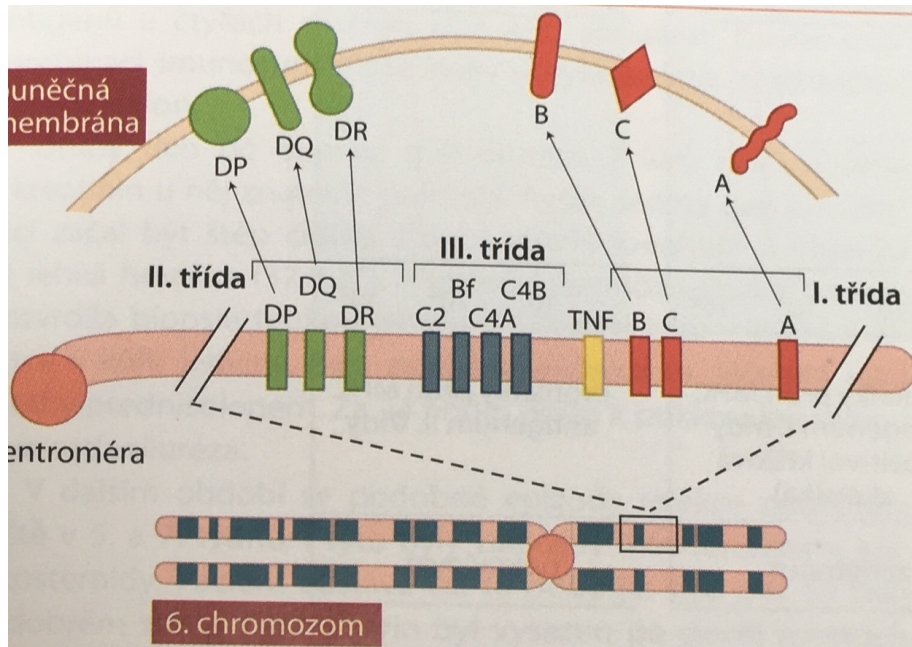
- každý člověk je z hlediska své kombinace alel jednotlivých lokusů unikátní.

V rámci jednotlivých lokusů HLA I i II třídy existují desítky až stovky alelických forem.

HLA-A (68), HLA-B (125), HLA-C (44), HLA-DR (95), HLA-DP (46) a HLA-DQ (37)

Dědí se kodominantně – jedinec má vždy dvě alely daného lokusu (jednu od otce, druhou od matky)

Celá oblast se dědí v bloku jako tzv. haplotyp, sourozenci mají 25 % šanci být HLA identičtí



Chapel Helen a kol.: Základy klinické imunologie, Triton, 6. vydání, 2018

Požadavek shody v HLA systému není u všech orgánů stejný. Největší míra shody je nutná u transplantací kostní dřeně. U solidních orgánů je největší míra shody nutná u ledviny, méně u srdce a jater.

Míra shody se stanovuje pomocí tzv. **typizace HLA**:

Sérologické metody: k lymfocytům na destičce se přidávají MoAb (dříve séra) proti jednotlivým alelám HLA. Dále se přidá králičí komplement a barvivo. Pokud si HLA a MoAb odpovídá, komplement se aktivuje a naruší lymfocyty, tzn. vstoupí do nich barvivo.

Směsné lymfocytární reakce: lymfocyty dárce a příjemce, které se liší v HLA, reagují po smíchání zvýšením proliferace. Jednu populaci lze ozářit – proliferuje pak jen ta druhá.

Molekulárně biologické metody: pro jednotlivé molekuly (alely) HLA jsou specifické primery a po PCR jsou namnožené produkty vizualizovány na ELFO.

Sekvenční typizování: namnožen a sekvenován je celý polymorfní úsek vyšetřovaných HLA genů a následně porovnán s databází sekvencí známých alel.

Imunologické aspekty transplantací

Rejekce: odvržení štěpu. Hlavní imunologický problém. IS příjemce reaguje proti tkáni dárce

Infekce: pro zvládnutí/tlumení rejekce musí být pacienti po transplantacích léčeni imunosupresivními léky. Tyto léky tlumí imunitní systém, tím snižují riziko rejekce, ale zároveň hrozí vyšší riziko infekčních komplikací

Graft versus host reakce GvH – reakce štěpu proti hostiteli:

- Specifický problém u transplantací kmenových buněk krvetvorby/kostní dřeně (KD)
- Imunitní buňky v KD dárce reagují proti tkáním příjemce
- Pacienti před transplantací KD podstupují tzv. myeloablaci (uměle navozený útlum vlastního IS)
- GvH reakce může mít akutní nebo chronickou formu
- Důležitá co největší shoda v HLA systému

Rejekce

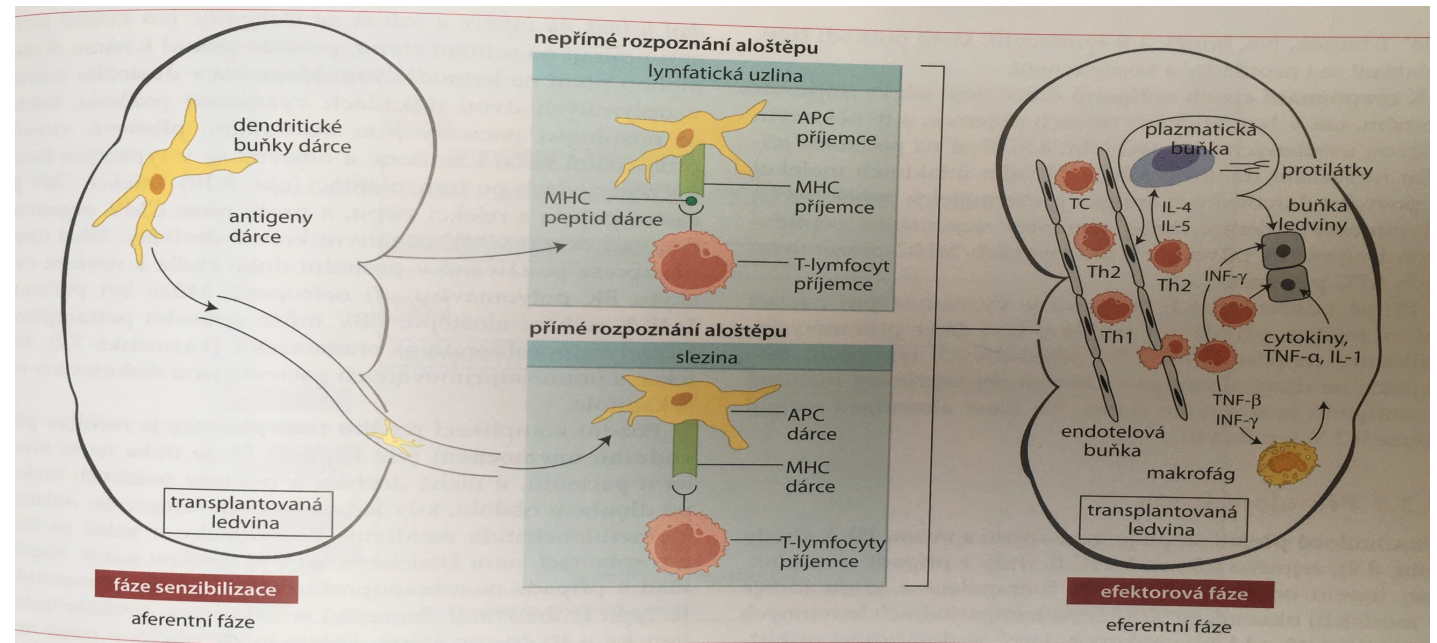
Při rejekci je klíčové rozpoznávání dárcových Ag ze štěpu:

- přímé: molekuly MHC dárce na dárcových APC buňkách jsou rozpoznávány příjemcovými T lymfocyty
- nepřímé: peptidové fragmenty dárcových MHC jsou prezentovány APC buňkami příjemcovým lymfocytům

Rozpoznávání je následováno efektorovou fází – imunitní destrukce tkáně štěpu

Reakce probíhají ve štěpu i v lymfatických tkáních příjemce

Chapel Helen a kol.: Základy klinické imunologie, Triton, 6. vydání, 2018



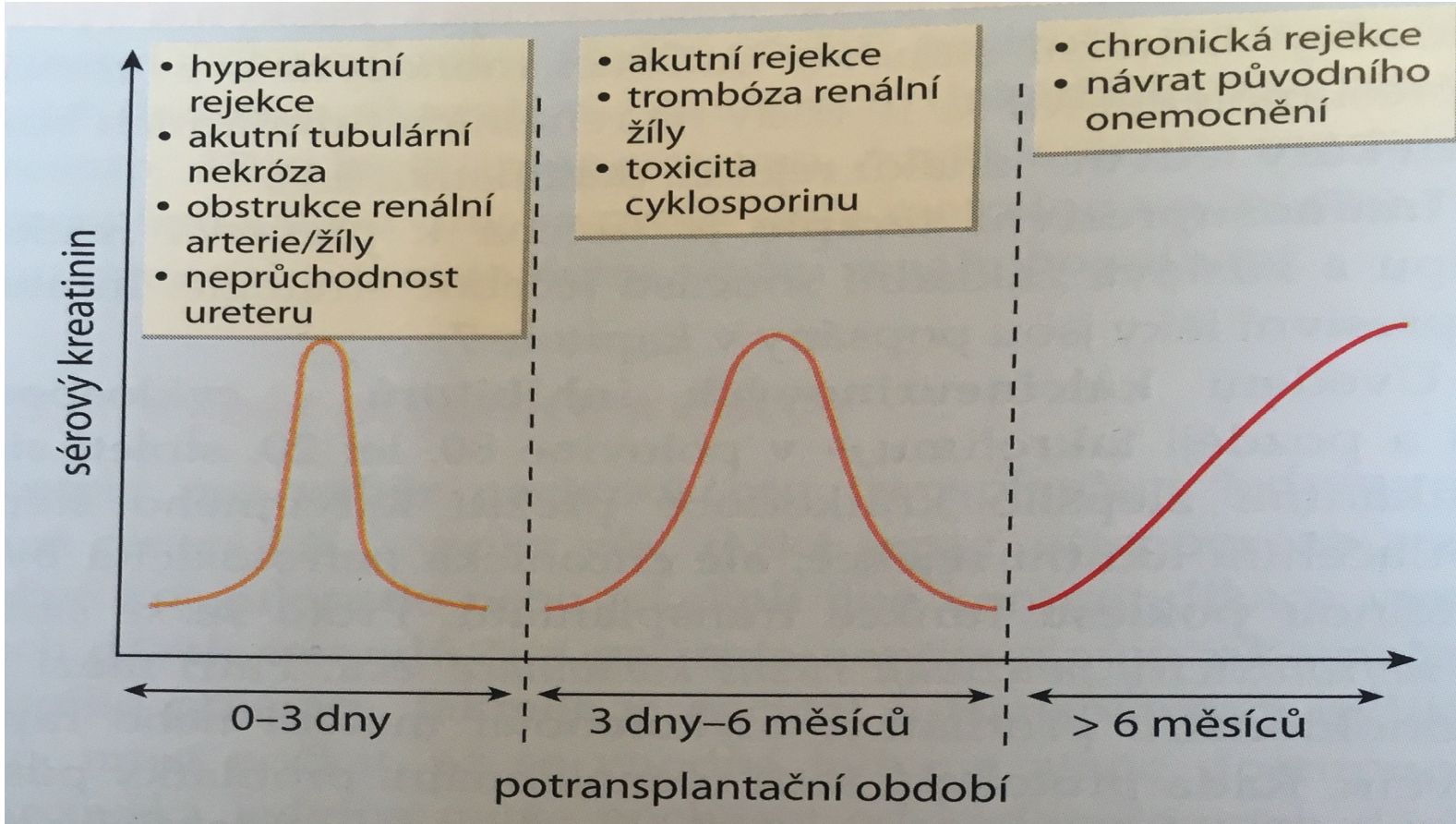
Typy rejekce dle průběhu u alo- a xenotransplantací

REJEKCE	DOBA NÁSTUPU	PATOGENETICKÉ MECHANISMY
hyper-akutní	<i>hodiny</i>	vazba přirozených protilátek aktivace komplementového systému trombóza štěpu
akutní	<i>dny až 90 dnů</i>	reakce vůči HLA molekulám donora (<i>TH1 lymfocyty</i>) alospécifické cytotoxické T-lymfocyty
chronická	<i>100 dnů až roky</i>	zánětová reakce namířená proti endotelovým buňkám štěpu obliterace cévního řečiště fibrotická přestavba parenchymu štěpu dyslipidemie

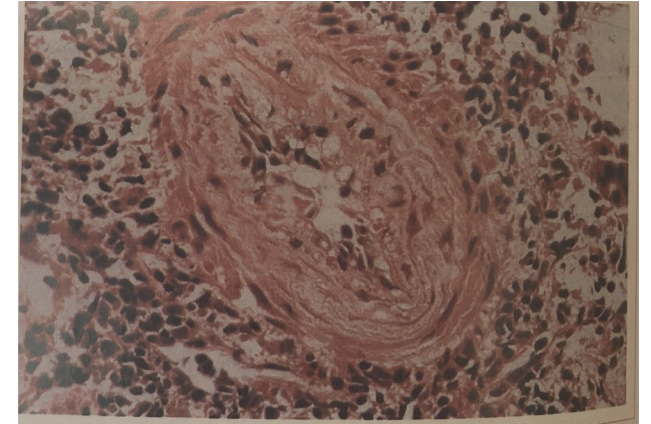
REJEKCE	DOBA NÁSTUPU	PATOGENETICKÉ MECHANISMY
hyper-akutní	<i>minuty hodiny</i>	vazba přirozených protilátek na endotelové buňky lytické působení aktivovaného komplementu imunomodulační účinek sublytického MAC
akutní vaskulární	<i>dny týdny</i>	vazba xenoprotiátek aktivace endotelových buněk prokoagulační podmínky intravaskulární koagulace ischémie
chronická	<i>měsíce</i>	mechanismy imunologické i neimunologické povahy

Krejsek, Kopecký: Klinická imunologie, Nucleus HK, 2004

Rizika a časové aspekty rejekce u transplantace ledviny

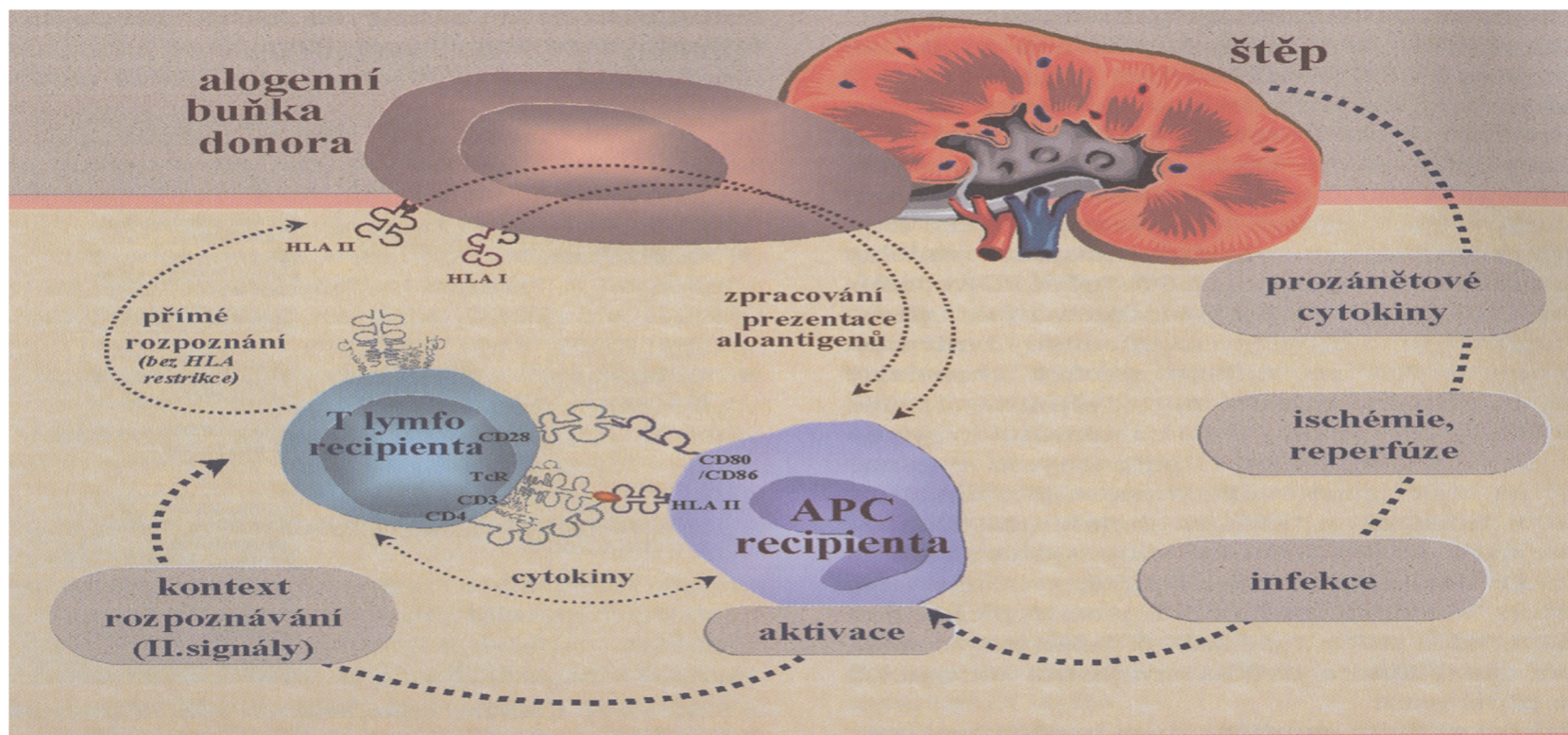


Změny cévy při chronické rejekci



Chapel Helen a kol.: Základy klinické imunologie, Triton, 6. vydání, 2018

Pro průběh rejekce je důležité i působení nespecifické imunity a mediátorů zánětu (kontext rozpoznávání)



Krejsek, Kopecký: Klinická imunologie, Nucleus HK, 2004

Specifika transplantací jednotlivých orgánů

- **Ledviny:** terminální fáze ledvinného selhání. ABO, HLA I i HLA II se testuje, navíc i stav senzibilizace proti HLA. Hrozí akutní tubulární nekróza a proto nutná dialýza i po operaci.
- **Játra:** ojedinělá imunologická situace (hepatocyty, žlučové cesty a sérové proteiny dárce, Kupfferovy buňky od příjemce. Schopnost vychytávat protilátky z oběhu – menší riziko rejekce. Testuje se ABO, HLA I.
- **Srdce:** shoda v ABO, u HLA není nutná, riziko – zrychlený proces aterosklerózy štěpu, neprojevuje se obvyklou bolestí.
- **Plíce:** cystická fibróza, primární plicní hypertenze, i spolu se srdcem, hrozí obliterující bronchiolitida (fibrotizace)
- **Pancreas:** u diabetiků, i s ledvinou, i samotné ostrůvky
- **Kožní štěpy:** alogenní u popálenin jako dočasná náhrada, autologní po kultivaci a zmnožení buněk, také acelulární dermis u popálenin.
- **Rohovka:** cca 50 let již se dělá, není nutná HLA typizace, nebezpečí vaskularizace

Imunosupresivní terapie

Kdy je indikována: posttransplantační léčba, autoimunity, hypersenzitivity

V transplantologii je používána na **tlumení rejekce a je cílena hlavně na lymfocyty**

Nespecifické postupy: ozařování, thymektomie, splenektomie, plasmaferéza

Specifické postupy: léky, které mají působit na určité složky IS, např. na:

- migraci buněk
- syntézu DNA
- tvorbu cytokinů v buňkách
- stabilizaci membrán

Rozdělení imunosupresiv a příklady

1. Kortikoidy

Kortikosteroidy – přirozené, kortikoidy umělé

Intracelulární receptory, ovlivnění transkripce genů, protizánětlivý účinek

2. Látky zasahující do metabolismu DNA

Inhibují syntézu DNA, působí na dělící se buňky

azathioprin, kyselina mykofenolová, cyklofosfamid, metotrexát

3. Látky inhibující buněčné složky imunity

Antibiotika houbového původu - cyklosporin (CsA), rapamycin, takrolimus (FK506)

Cyklosporin: (přípravek Sandimun) r. 1978

výrazný mezník v transplantologii

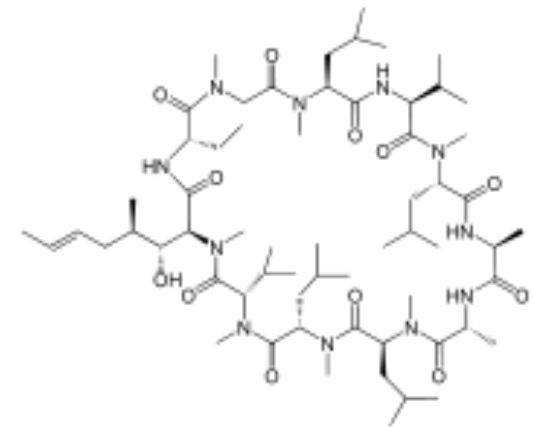
Cyklosporin

Inhibuje Ca dependentní signální dráhy související s TCR receptory.

Váže se na cyklofilin a tento komplex ve druhém kroku inhibuje kalcineurin.

Kalcineurin je fosfatáza, která normálně defosforyluje nukleární faktor aktivovaných T buněk (NFAT)

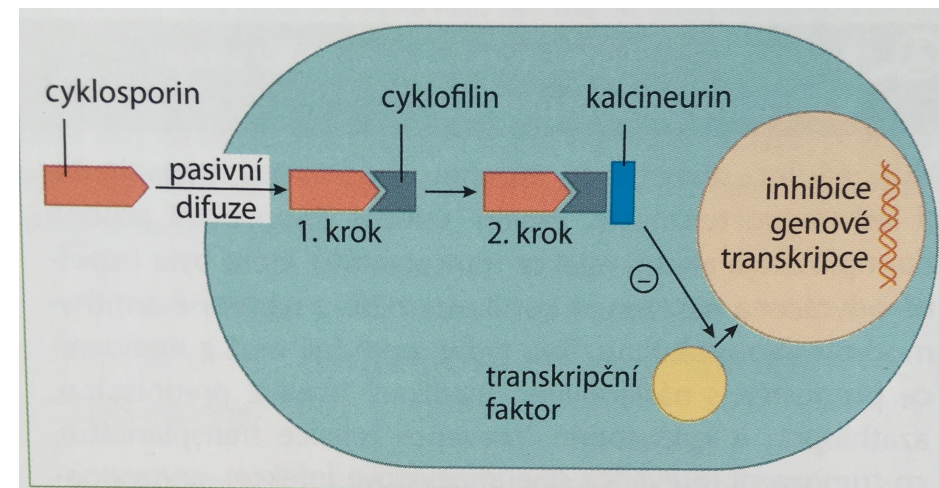
Defosforylací je normálně tento faktor aktivován, vstupuje pak do jádra a reguluje expresi genů pro cytokiny.



Cyklosporin zablokováním defosforylace celý proces inhibuje

a tlumí produkci příslušných cytokinů

hlavně IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IFN gama.



Chapel Helen a kol.: Základy klinické imunologie, Triton, 6. vydání, 2018

4. Protilátky proti T lymfocytům

protilátky polyklonální

- málo se používají, např. anti D proti Rh faktoru
- antithymocytární globulin králičí, koňský proti T lymfocytům

protilátky monoklonální – moderní, velký rozvoj nyní (chimerické nebo humanizované)

V indikacích: rejekce štěpu, léčba autoimunit, astmatu, hematologických malignit a solidních nádorů

Příklady v transplantologii:

OKT3 (proti CD3)

Daclizumab proti CD 25 (receptor pro IL-2)

Alemtuzumab (proti CD 52 na monocytech a lymfocytech)

Použitá literatura a zdroje obrázků:

Krejsek, Kopecký: Klinická imunologie, Nucleus HK, 2004

Sobotková, Bartůňková: Antibiotická imunosupresiva. Remedia: 18, 3 2008

Chapel Helen a kol.: Základy klinické imunologie, Triton, 6. vydání, 2018

Bartůňková a kol.: Imunodeficiency, 2. vydání, Grada, 2007

Toman M a kol.: Veterinární imunologie, Grada, 2000

MUNI SCI



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY