

Imunologie v onkologii

Marcela Vlková

Nádorová imunologie

- Vztah mezi imunitním systémem a nádorem
- Role IS v obraně proti nádoru
- Zvyšování obranyschopnosti
- Imunodiagnostika nádorů
- Souvislosti mezi poruchami IS a nádorovými onemocněními

Způsoby maligní transformace buněk

- Maligní zvrát - transformace buněk jako důsledek selhání regulace buněčného dělení a sociálního chování bb.
- Mutace v onkogenech nebo anti-onkogenech
- Nekontrolované dělení - proliferace, únik z normální tkáňové lokalizace, diseminace do jiných tkání a agresivního růstu v nich.

Karcinogenese

- Karcinogeny (chemické, radioaktivní, mikrobiální)

Iniciace – vytvoření preneoplastického klonu -
vytvoření a progresse neoplastického klonu –
vytvoření maligního klonu.

- Další mutace podmiňující schopnost metastazovat.
- Význam nádorových kmenových buněk.

Imunitní systém a maligní nádor

Imunologická úprava nádoru (cancer immunoediting):

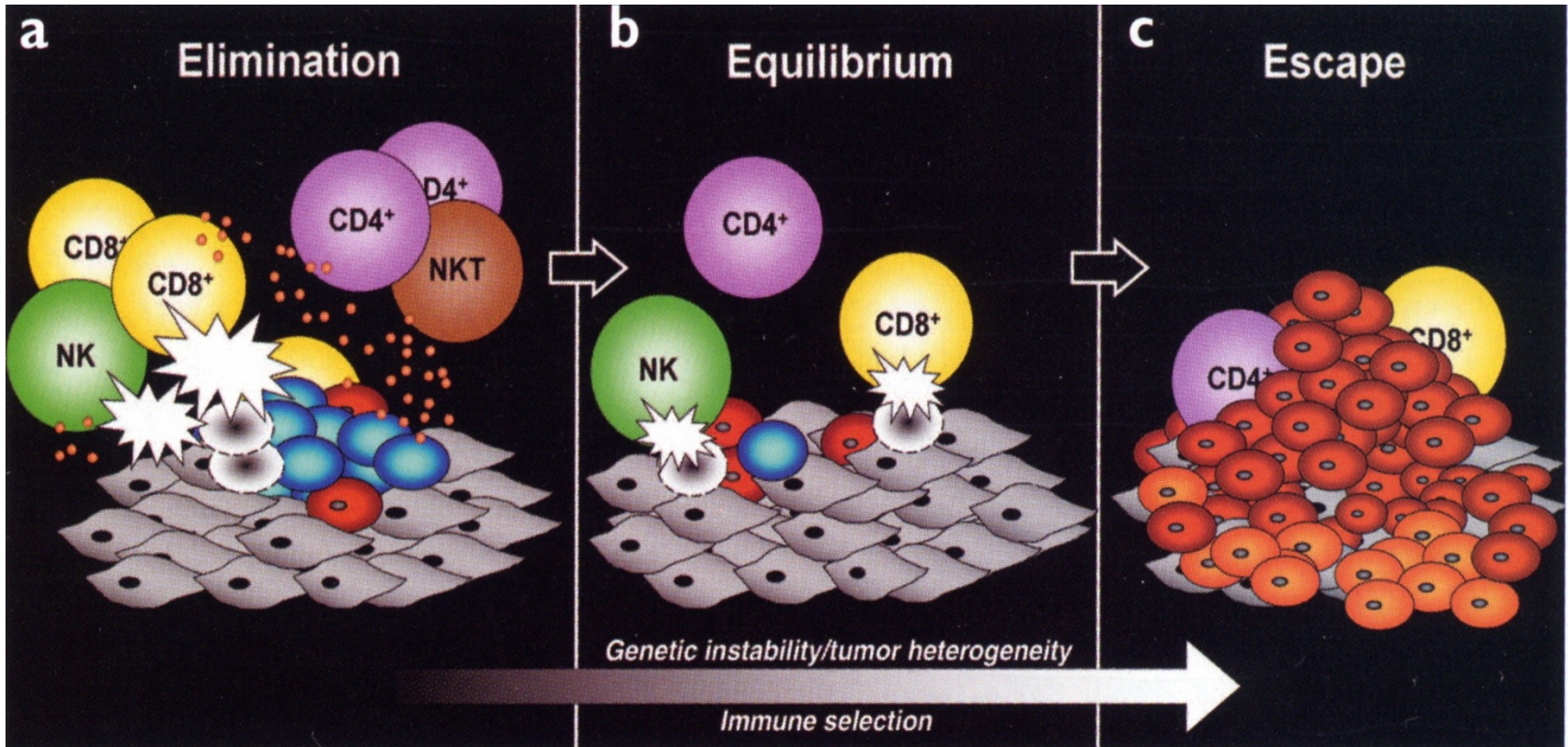
Stadium imunitního dozoru (immunological surveillance) – eliminace maligně transformovaných buněk.

Vytvoření rovnováhy mezi imunitním systémem a nádorem, selekce rezistentních mutantů – populace nádorových buněk konstantní, pod úrovní klinické detekovatelnosti

Imunitní systém není schopen buňky eliminovat, může trvat až 10 let (melanom, nádor prsu)

Únik maligních buněk před imunitními reakcemi – klinicky detekovatelné

Klonálně expandující nádorové buňky jsou geneticky značně nestabilní a snadno u nich dochází k chromosomálním aberacím



Cancer immunoediting

Dunn GV, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD:
Nature Immunology 2002; 3:991-998

Imunitní reakce na nádorové buňky

- Akutní zánět
DAMP nádoru – prozánětlivé cytokiny, ROI, RNI destrukce nádorových buněk, útlum angiogeneze a metastatické schopnosti
- Buňky NK
- Buňky NKT
- T-lymfocyty g/d, a/b
- Lymfocyty B

Buněčná imunita proti nádorům

- Ag nádorových buněk zachyceny APC
- Prezentace Ag na komplexech MHC-II.třídy
- Komplex MHC II.třídy a peptid – rozpoznán CD4+ T-lymfocyty.
- Aktivované T-lymfocyty – produkce cytokinů, které jsou 2.signálem pro konečnou diferenciaci cytotoxických CD8+ T-lymfocytů.

Reakce imunitního systému s nádorovými buňkami

- Existence nádorově specifických povrchových antigenů – dvě skupiny
- Antigeny specifické pro nádory (TSA – Tumor specific antigens)
- Antigeny asociované s nádory (TAA – Tumor – associated antigens)
 - produkty mutovaných genů (nové proteiny, cukry..)
 - idiotypy myelomů a lymfomů
- Jsou selektivně exprimovány pouze na nádorových buňkách
- Jsou rozpoznávány T- i B-lymfocyty

TSA

- Komplexy HLA (human leucocyte antigen) molekul I. třídy (hlavně HLA-A, HLA-B) s abnormálními fragmenty buněčných proteinů
- produkty mutovaných genů, resp. produkty abnormálního štěpení normálních proteinů v nádorové buňce
- typické pro chemicky indukované nádory a pro někte é leukemie asociované s chromozomálními translokacemi, které produkují specifický abnormální protein (fúzní protein Bcr-Ab- přepisem fúzního genu filadelfském chromozomu, produktu translokace mezi chromozomy 9 a 22)

TSA

- Komplexy HLA molekul s fragmenty proteinů onkogenních virů (u nádorů vyvolaných viry, jako je polyoma virus, SV40, EBV)
- Abnormální formy glykoproteinů; glykosylace, zejména sialylace (tj. připojování molekul kyseliny sialové na konce oligosacharidových řetězců) povrchových glykoproteinů mnohých nádorových buněk je odlišná od buněk normálních.
- Idiotypy myelomů a lymfomů; tyto druhy nádorových buněk odvozených od B, resp. T lymfocytů mají na povrchu klonotypické antigenně specifické receptory BCR, resp. TCR, jejichž vazebná místa jsou unikátními antigenními strukturami.

Buněčná imunita proti nádoru

- APC + nádorové Ag – aktivace nádorově-specifických CD4+ pomocných T-ly.
- Jeden typ b. (APC) může senzitivovat T-ly na Ag, které se vyskytují na jiné b. (nádorové).
- Vzniklé efektorové cytotoxické T-ly (CTL) rozpoznávají a zabíjejí nádorové b. bez další kostimulace.

Obrana proti nádorům – T-lymfocyty

- **CD4+ Th-lymfocyty**
- Sekrece IFN- γ – aktivace makrofágů
- TNF- α – po vazbě na buňku způsobují její apoptózu
- Zvýšení exprese MHC I.třídy – zvýšení citlivosti k lýze cytotoxickými lymfocyty

- **CD8+ Tc-lymfocyty**
- Rozpoznání a zabití potenciálně maligních buněk exprimujících peptidy:
 - Z mutovaných buněčných proteinů
 - Z proteinů onkogenních virův komplexu s MHC I.třídy

Protilátky

- Namířeny proti nádorovým Ag
- EBV –indukovaný Lymfom : Ab proti EBV
- Aktivace komplementu,ADCC
- (Ab-dependent cell cytotoxicity)

NK - buňky

- NK buňky (natural killers, přirození zabíječi)
- In vitro : lýza buněk napadených viry i nádorových b.
- Cíl:
 - Buňky, které neexprimují MHC I.třídy
 - buňky, které jsou obaleny IgG protilátkami
- Aktivitu NK buněk zvyšují IL-2 a IL-12.

Makrofágy

- Dva typy aktivovaných makrofágů:
- makrofágy typu M1 - produkující hlavně interleukin-12 (IL-12) – fagocytóza a degradace poškozených buněk
- makrofágy typu M2 produkující protizánětlivé cytokiny IL-10 a TGF- β - napomáhání hojení a regeneraci tkání poškozených poraněním nebo mikrobiální infekcí
- Makrofágy obvykle ve značném množství infiltrují nádory a jejich role je zde spíše negativní, jelikož bývají hlavně typu M2
- Imunitní systém pak vyhodnocuje nádorovou tkáň jako poškozenou, zraněnou, které je potřeba pomoci.
- Makrofágy asociované s nádory tak dosti výrazně podporují růst nádorů, angiogenezi, ale i schopnost buněk primárního nádoru metastazovat
- Maktofágy M1
- Lýza nádorových buněk
- Produkce TNF
 - Přímé působení – vazbou na receptory způsobují apoptózu
 - Nepřímé působení – trombóza v cévním zásobení

Nejdůležitější obranné mechanismy nádorů proti útoku imunitního systému

- Antigenní variabilita (ztráta nebo alterace TSA a TAA)
- Zvýšená exprese neklasických MHC I (blok NK- buněk)
- Nízká exprese HLA-I antigenů (blokáda CTL)
- Exprese FasL - indukce apoptózy Tc buněk
- Inhibice funkce dendritických buněk
- T-reg inhibice protinádorové reakce T-lymfocytů
- Produkce imunosupresivních cytokinů (TGF- β , IL-10)
- “Enhancement” efekt protinádorových protilátek

Jak nádory unikají před imunitní reakcí hostitele

- Aktivně potlačují expresi MHC I.třídy – unikají pozornosti spec.cytotoxických T ly.
- Zbavují se Ag, které by mohly vyvolat imunitní odezvu (rychle rostoucí nádory).
- Neexprimují kostimulátory nebo MHC II.třídy (nenavodí stimulaci cytotoxických T ly).
- Nádorové Ag mohou navodit specifickou imunologickou toleranci- obal z glykokalixových molekul (mukopolysacharidy), obal z fibrinu.

TAA – antigeny asociované s nádory

- produkty onkogenů a antigenů
- nejsou výlučně specifické pro nádorové buňky,
- nacházejí se i na některých normálních buňkách, většinou původem velmi odlišných od příslušných buněk nádorových.
- mohou existovat i v solubilní formě uvolňování z povrchu nádorových buněk
- slouží jako diagnostické markery

Nejznámější TAA-1

- Onkofetální antigeny
 - přítomné na (resp. v) normálních embryonálních buňkách, v postnatálním období mizí a objevují se pouze na některých nádorových buňkách
 - α -fetoprotein (AFP) - hepatom
 - karcinoembryonální antigen (CEA)- produkováný buňkami karcinomu tlustého střeva

Nejznámější TAA-2

- Melanomové antigeny
 - MAGE-1, Melan-A
 - silně exprimovány na melanomových buňkách,
 - v menším množství na normálních melanocytech nebo jiných buňkách (testikulární tkáně)
- Antigen ERBB2
 - receptor růstového faktoru epiteliálních buněk
 - v malém množství přítomen na normálních epiteliálních buňkách karcinomů mléčné žlázy

Nejznámější TAA-3

- EPCAM
 - Adhezivní molekula epiteliálních buněk
 - silná exprese na metastázách karcinomů
- Diferenciační antigeny leukemických buněk,
 - jsou přítomny na normálních buňkách vývojové řady leukocytů v těch diferenciačních stádiích, z nichž jsou leukemické buňky odvozeny
 - Např. povrchový antigen akutních lymfoblastických leukemií CALLA (common acute lymphoblastoid leukaemia antigen; CD10), charakteristický antigen pre-B buněk.

Onkogeny, anti-onkogeny

- Kódují
 - normální signalizační proteiny
 - transkripční faktory
 - proteiny regulující adhezivitu
 - proteiny regulující apoptózu.
- Vyskytují se v normálních buňkách a jsou aktivní v určitém čase vývoje či aktivace buňky
- Mutantní formy:
 - Abnormálně zvýšená aktivita = produkty onkogenů
 - Abnormálně snížená aktivita = produkty anti-onkogenů

Protoonkogeny – aktivace = onkogeny

Aktivace

Bodová mutace

Amplifikace (zmnožení) genu

Delece (ztráta části sekvence DNA) genu

Přestavba chromozomu

Inzerční mutageneze

- Mutantní formy:
 - Abnormálně zvýšená aktivita = produkty onkogenů
 - Abnormálně snížená aktivita = produkty anti-onkogenů

Onkogeny, anti-onkogeny

- Akumulace genetických poruch, které aktivují buněčné protoonkogeny a inaktivují antionkogeny
- Protoonkogeny – kódují bílkoviny pro přenos růstových a diferenciacních signálů do nitra buňky
- Anti-onkogeny
 - kontrola přenosu růstových a diferenciacních signálů do nitra buňky
 - inaktivace nebo dysfunkce vede k nekontrolovanému buněčnému dělení

Výsledek - dochází k úniku těchto buněk z normální tkáňové lokalizace a prostupu do jiných tkání a růstu v nich (metastáze)

Onkogeny

- Celulární onkogeny (c-onc) – geny vznikající aktivací protoonkogenů

Onkogeny a antionkogeny – kontrola růstu a buněčného dělení

Růstové faktory:

PDGF (platelet derived growth factor),
EgF (epidermal growth factor),
FgF (Fibroblast growth factor)

Receptory růstových faktorů:

ERBB2 receptor pro epidermální růstový faktor

Signální transduktory: proteiny signálních kaskád:

SRC – intracelulární proteinkináza – aberace vede k vyšší kinázové aktivitě stimulující nádorový růst

podobně u kinázy ras, G proteiny

Onkogeny a antionkogeny – kontrola růstu a buněčného dělení

Transkripční faktory:

- myc – klíčový gen pro kontrolu proliferace a diferenciaci –
- aberantní exprese c-myc – jeden z hlavních mechanismů onkogenního zvratu
- další geny: jun, myb, fos – aktivovány chromosomálními translokacemi u hematologických malignit

Regulátory buněčné smrti: Bcl-2 – inhibitor apoptózy,
Bax – regulátor apoptózy

Geny tlumící nádorový růst: p-53 nukleární protein tlumící růst nádoru

Regulátory buněčné smrti

Bcl-2 – inhibitor apoptózy,

- Rodina BCL-2
- Chrání buňky před apoptózou a tím podporují vývoj nádoru či způsobují selhání terapie:
- Vyskytují se u:
 - Folikulární lymfomy
 - Hormonálně dependentní nádory (karcinomy mléčné žlázy, prostaty, vaječníku)
- Bax – regulátor apoptózy

Nádorové supresory

- „pojistky“ buněčného cyklu
- Zabraňují abnormální proliferaci a přenosu poškozené genetické informace.
- Inaktivace nádorového supresoru – ztráta kontrolního mechanismu.
- Nádorové supresory mají recesivní charakter – nutný defekt obou alel.

Nádorové supresory - přehled

- p53
- pRb
- NF-1
- NF-2
- APC
- WT-1
- PTEN
- BRCA 1,2
- p16^{INK4}

Antionkogen p53

- Krátké raménko 17. Ch
 - fosfoprotein – sekvenčně specifická vazba DNA
 - transkripční faktor – brzda vstupu bb do S-fáze
 - zástava buněčného cyklu v G1 fázi
 - umožňuje přestávku nutnou k opravám DNA
- Nefunkčnost – smrt bb nebo genetická nestabilita
- Mutace p53 – nejčastější genetická změna v lidských nádorech (50%)
- Trojí význam - kontrola buněčného cyklu
 - apoptóza
 - udržení genetické stability

Aktivita se zvyšuje:

při oxidačním stresu

po UV záření

při zvýšené expresi onkogenů Ras a Myc

Nefunkční p53

- Poškozené mutované bb pokračují v buněčném cyklu.
- Možní poškozeným bb vyhnout se apoptóze.
- Vznik genetické instability, umožňující akumulaci mutací.

Antionkogeny

- **Protein Rb1** - fosfoprotein v jádrech všech bb, zajišťuje regulaci buněčného cyklu
 - stupeň fosforylace závisí na fázi buněčného cyklu (začíná G1/S, vrcholí G2/M)
- Fosforylace inaktivuje – regulace buněčného cyklu - blokuje přestup z G1 do S fáze
- Fosforylovaná nebo hyperfosforylovaná forma pRB – neaktivní – spuštění proliferace
- **Retinoblastom** druhým nejrozšířenějším zhoubným nádorem oka, může metastázovat až do mozku
- 2 formy:
 - dědičná forma heterozygoti – stačí 1 další mutace) (výskyt 1:20 000) postiženy obě oči, více ložisek - rozvoj onemocnění - už při narození
 - nedědičná forma – vzácnější vyžaduje 2 mutace (na každém homolog.ch.) postiženo jen 1 oko 1 nádorem-rozvoj onemocnění-do dvou let života
 - Vyskytuje se i u nádorů plic, močového měchýře prostaty, prsu

Virové onkogeny

- v-onc – geny retrovirů zodpovědné za maligní transformaci
 - Akutně transformující viry
 - Pomalu transformující viry

RNA, DNA - onkoviry

- DNA nádorové viry (onkodnaviry) – nestejnorodý soubor
- Buď proběhne v bb replikace viru, která vede k zániku bb – nevede k transformaci
- **permisivní bb.**
- Nebo se virus bb přizpůsobí a replikuje se společně s jejím genomem - **nepermisivní bb.**

Cílem viru není bb zahubit, ale řídí svou i její replikaci a v tom může nastat chyba.

Onkoviry

- **Lidský papilomavirus** – karcinom děložního čípku
- **EBV viry** – Burkittův lymfom, Hodgkinovy a ne Hodgkinovy nádory
- **Virus hepatitidy C** – karcinom jater
- **Lidský lymfotropní virus typu I (HTLV-1, HTLV-2)**
 - T-leukemie (lymfom) dospělých (HTLV-1)(ATLL),
 - doba latence asi 30 let,
 - vysoká proliferační aktivita napadených bb - větší pravděpodobnost mutací
- **Viry HIV-1 a HIV-2** - možná nemá přímý onkogenní potenciál, ale navozením imunodeficitu „ usnadňuje“ práci dalším virům
 - primární mozkový lymfom – asi EBV
 - Kaposiho sarkom – lidský herpes virus 8

RNA , DNA onkoviry

- Retroviry
- **Akutně transformující** – nádory vznikající během několika dní po injekci vnímavému zvířeti.
- **Chronické** – pomalu transformující – po měsících, netransformující buňky v kulturách – nemají onkogen – inzerční mutageneze – leukemické viry.
- Inzerce v blízkosti proto-onkogenu – tím dochází k jeho aktivace- přepis díky virovému promotoru.
- Vede ke konstitutivní produkci normálního proteinu (over-expresi) – pokud se začlení vedle protoonkogenu (např. c-myc nebo c-erbB).
- Vznik nesmrtelné buněčné linie x nestačí k zahájení kompletní maligní transformace.

Typy nádorů

- Karcinomy – epiteliální buňky
- Sarkomy – mezenchym
- Lymfomy – solidní nádory lymfytických tkání
- Leukémie – nádory lymfocytů a ostatních hemopoetických buněk

Relativní výskyt maligních nádorů

(Mak a Saunders, 2008)

- „Hematopoetické“ (8-10%)
 - Lymfomy (57%)
 - Leukemie (29%)
 - Plazmacytomy (myelomy) (14%)
- Ostatní (90-92%)
 - Karcinomy
 - Sarkomy

Lymfomy

(tvoří asi 57% všech hematopetických malignit)

Solidní nádory vycházející z maligní transformace jednoho lymfocytu. Lokalizovány většinou v lymfatických uzlinách, též ve slezině nebo thymu. Mohou být i v difusních lymfatických tkáních, např. v GALT, pak se nazývají extranodální.

Hodgkinský lymfom (HL, cca 12,5%)

Non- Hodgkinský lymfom (NHL, cca 44,5%)

Hodgkinský lymfom

V lymfatické uzlině je několik velkých mnohojaderných buněk (*buňky Reed-Sternbergovy*), které jsou maligně transformované lymfocyty B, zbytek tumorové masy je tvořen tzv. reaktivním infiltrátem z netransformovaných lymfocytů, fibroblastů a jiných buněčných elementů.

Postihuje především mladé pacienty (15-35 let), zvl. mužského pohlaví

Nehodgkinské lymfomy

- Skupina heterogenních nádorů (subtypy z B- i T-buněk).
- Nádorová masa je tvořena prakticky výhradně maligními lymfoidními buňkami.
- Vyskytuje se především u starších osob (65 let) ale významný počet je i u osob mezi 30-40 lety).
- Burkittův lymfom je vázán na EBV, je u dětí.

Leukemie

(tvoří asi 29% všech hematopoetických malignit)

- „Tekuté nádory“ krve, pocházejí z maligně transformovaných prekursorů hematopoetických prekursorů v kostní dřeni nebo zralých hematopoetických buněk v krvi. Mohou být lymfoidní, myeloidní, akutní, chronické.
- V dětském věku je nejčastější akutní lymfoblastická (75%) a myeloidní (20%) leukemie.
- U dospělých se nejčastěji vyskytuje chronická lymfatická leukemie (35%).

Monoklonální gamapatie

- Důsledek neregulované proliferace jednoho klonu plasmatických buněk tvořících homogenní imunoglobulinové molekuly – „paraprotein“.
- „Benigní“: MGUS - monoklonální gamapatie nejasného významu.
- Maligní: myelom (plasmacytom)
(tvoří asi 14% všech hematopoetických malignit)

Definice monoklonální gamapatie

Biochemická definice: přítomnost monoklonálního imunoglobulinu v séru a v moči (M-Ig)

Klinická definice:

- patofyziologicky související s klonální proliferací lymfoidní řady B diferencujících se v plazmocyty
- přítomností monoklonálního Ig v séru
- patologickými lezemi především ve skeletu

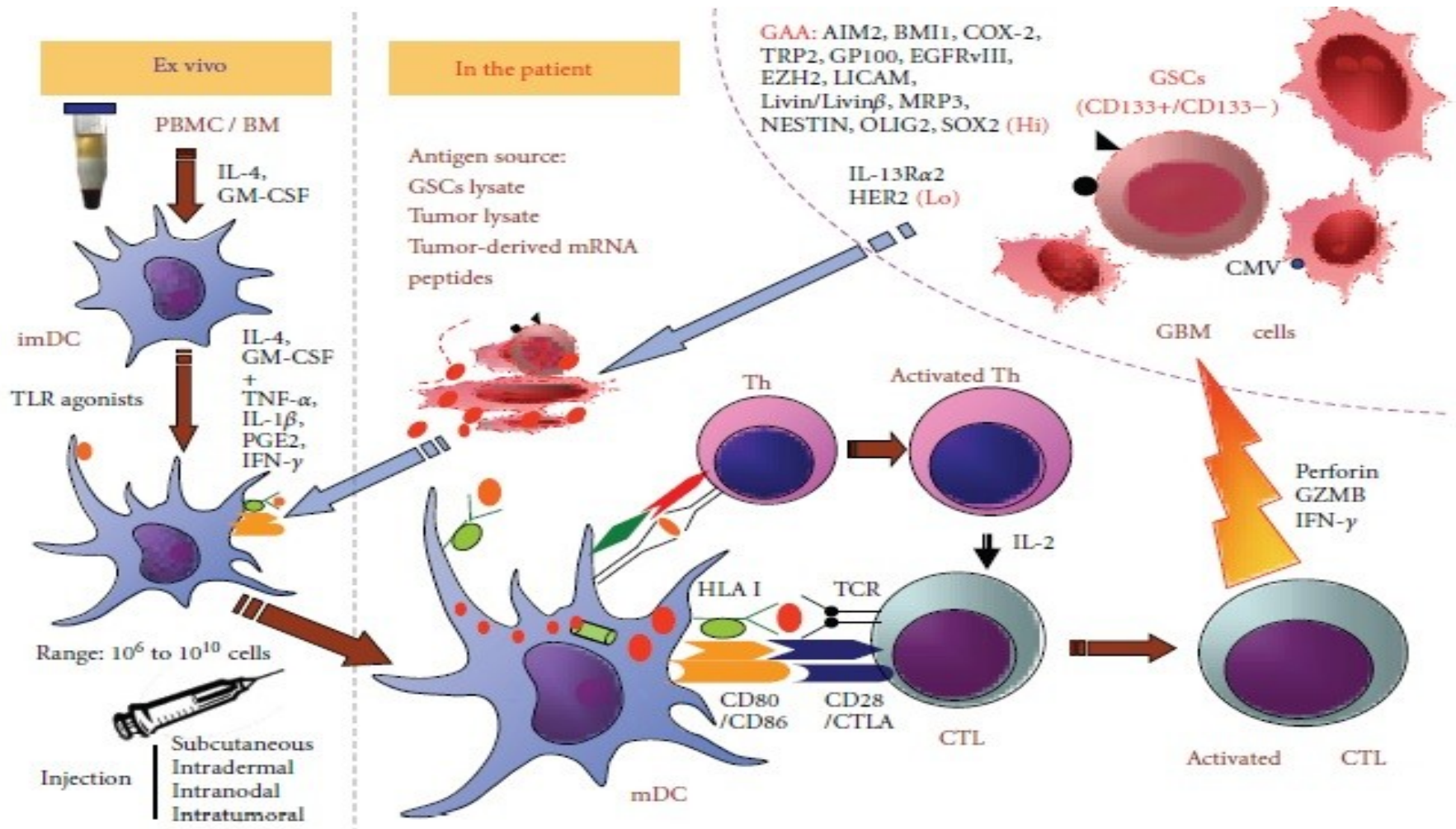
- **Waldenströмова makroglobulinemie**
- **dle WHO klasifikace lymfoplazmocytoidní lymfom**
- **Přítomnost monoklonálního imunoglobulinu třídy Ig-M**

Imunoterapie nádorů

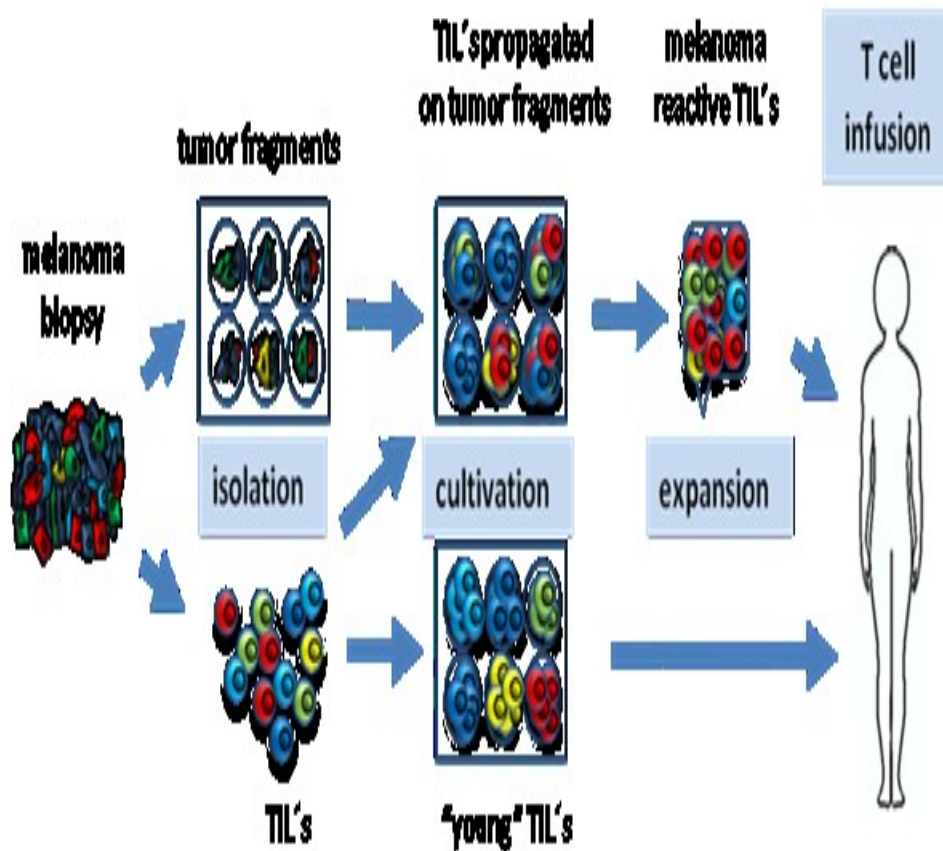
- **Specifická léčba - chirurgické odstranění, ozáření, cytostatika**
 - cytostatika zabíjejí (poškozují) všechny dělicí se b., především b. imunitního systému.
- **Stimulace aktivní imunitní protinádorové reakce**
 - a) vakcinace nádorovými b. nebo Ag – podávání vlastních APC (dendritické b.) po jejich inkubaci s nádorovými Ag „in vitro“.
 - b) stimulace hostitelské imunitní reakce cytokiny a kostimulátory: systémové podání cytokinů (IL-2) stimuluje proliferaci a aktivitu NK buněk a cytotoxických T ly (toxické projevy-horečka, plicní edem), IFN alfa (současně s chemoterapií).
 - c) nespecifická stimulace imunitního systému -lokální podávání látek, které stimulují zánět .

Vakcinace nádorovými b. nebo Ag

– podávání vlastních APC (dendritické b.) po jejich inkubaci s nádorovými Ag „in vitro“

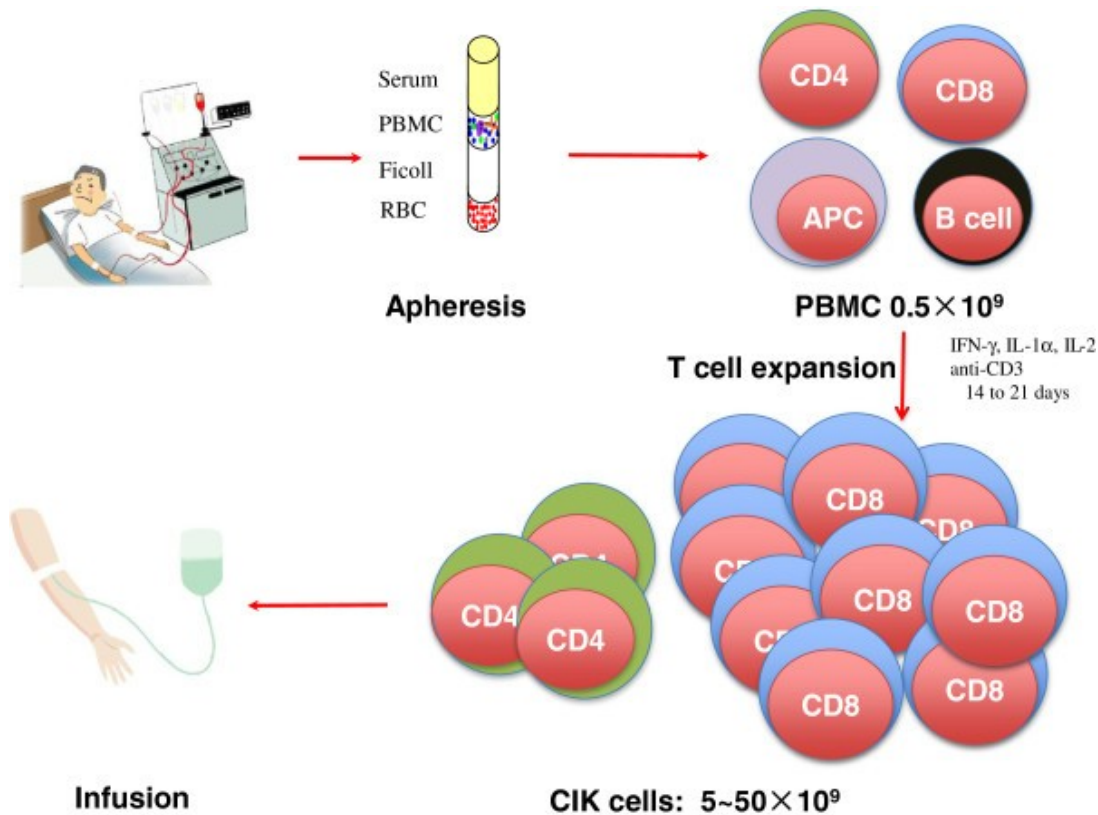


Adoptivní T-buněčná terapie – TIL buňky (tumor infiltrating lymphocytes)



- Ex –vivo namnožení a stimulace patientských T-lymfocytů získaných z nádorů – TIL buňky (tumor infiltrating lymphocytes)

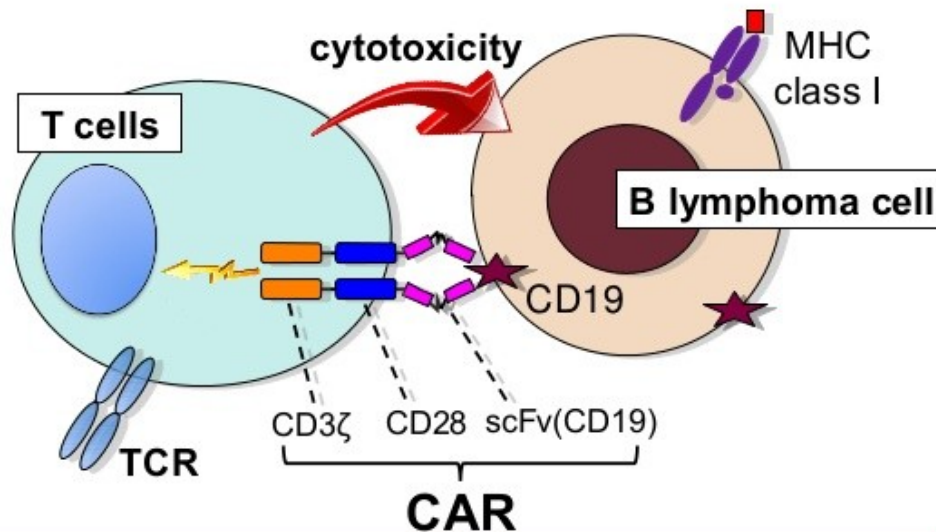
Adoptivní T-buněčná terapie – LAK buňky (lymphokine activated killers)



- LAK buňky - Ex –vivo namnožení a systimulace patientských T a NK-lymfocytů získaných z krve pomocí zejména IL-2

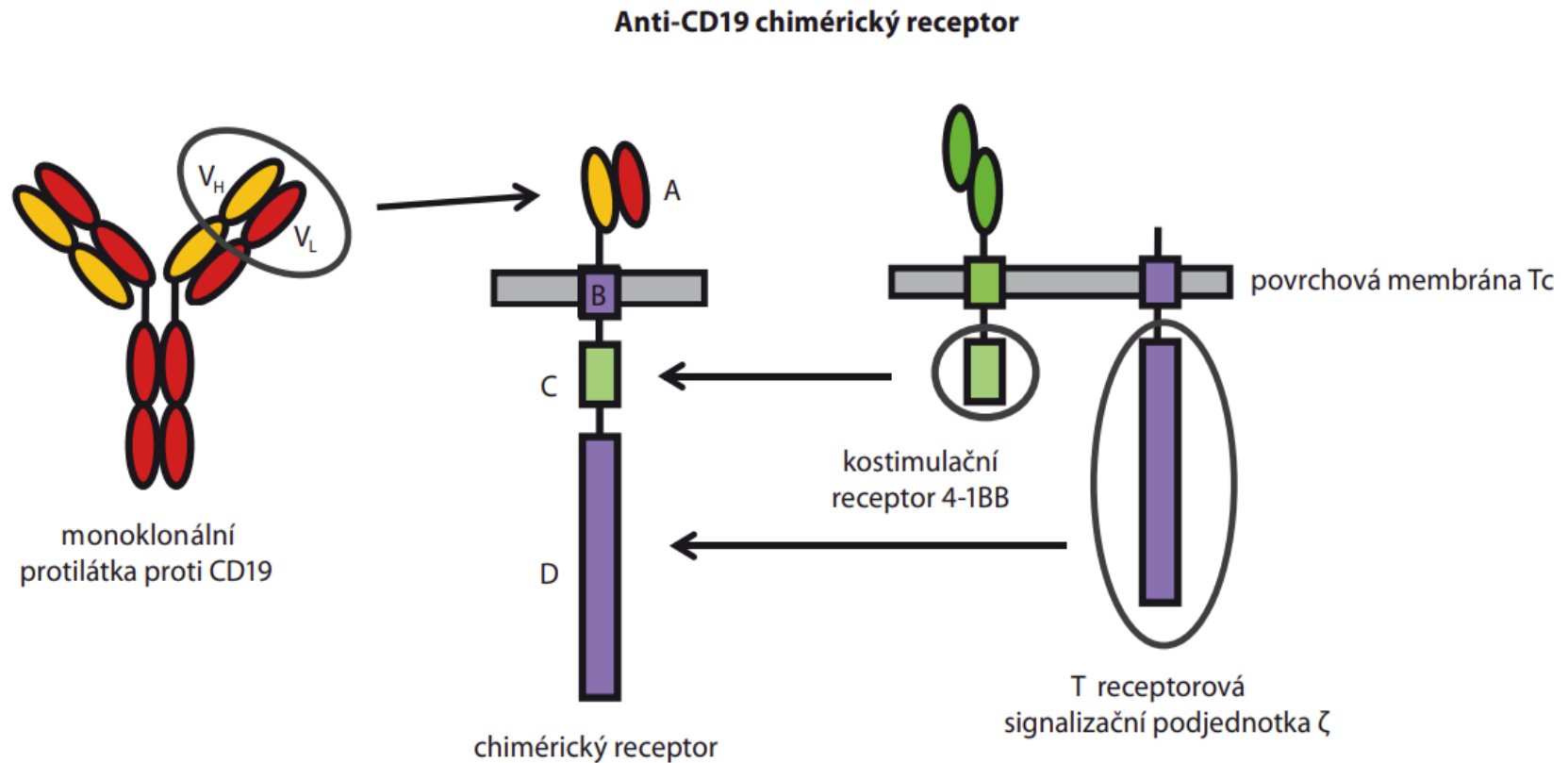
Adoptivní T-buněčná terapie – CAR buňky – chimérický antigenní receptor

Cytotoxicity of CD19-specific CAR-expressing T Lymphocytes against B Cell Lymphoma



CD19-CAR T cells, which are engineered to express extracellular single-chain immunoglobulin variable fragments to CD19, linked to cytoplasmic T cell activation domains including CD3- ζ , showed remarkable therapeutic benefits toward CD19⁺ B cell malignancies.

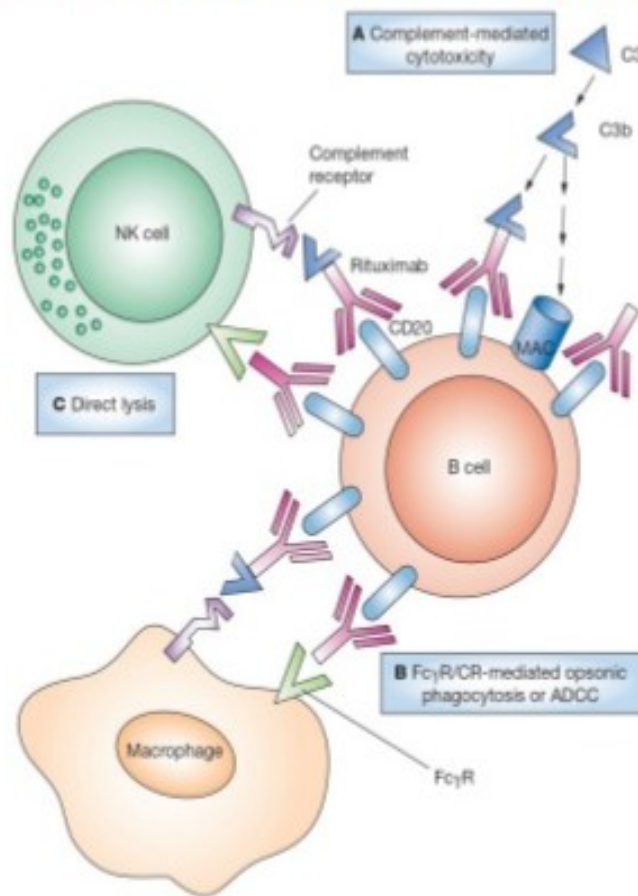
- In vitro geneticky modifikované buňky s chimerickým Ag receptorem – do buňky je pomocí retoviru vložen konstrukt obsahující extracelulární část = PL a intracelulární doménu zajišťující aktivaci T lymfocytu nebo NK buňky



- A. extracelulární rozeznávací části pocházející z molekuly monoklonální protilátky specifické pro povrchový antigen leukemických buněk CD19
- B. B. krátkého transmembránového úseku (20 hydrofobních aminokyselin), kterým je receptor zakotvený v povrchové membráně buňky
- C. C. intracelulárního signalizačního úseku pocházejícího z pomocného (kostimulačního) receptoru T lymfocytů zvaného 4-1BB (CD137)
- D. D. intracelulárního signalizačního úseku pocházejícího ze signalizační podjednotky $\alpha\beta$ T-receptorového komplexu

Imunoterapie nádorů pomocí humanizovaných monoklonálních protilátek

Rituximab: mechanism of action

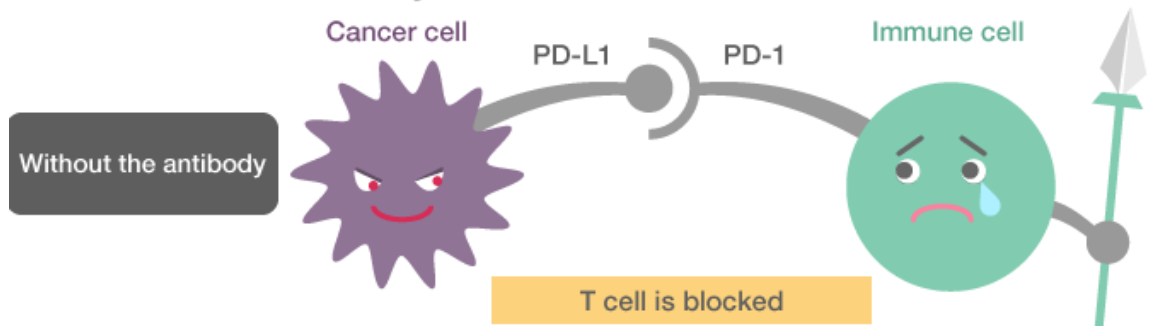


zaměřeny proti nádorovým Ag (TAA)
– po vazbě na nádorový Ag je vyvolána apoptóza nád.bb nebo se opsonizací aktivují ADCC a fagocytóza

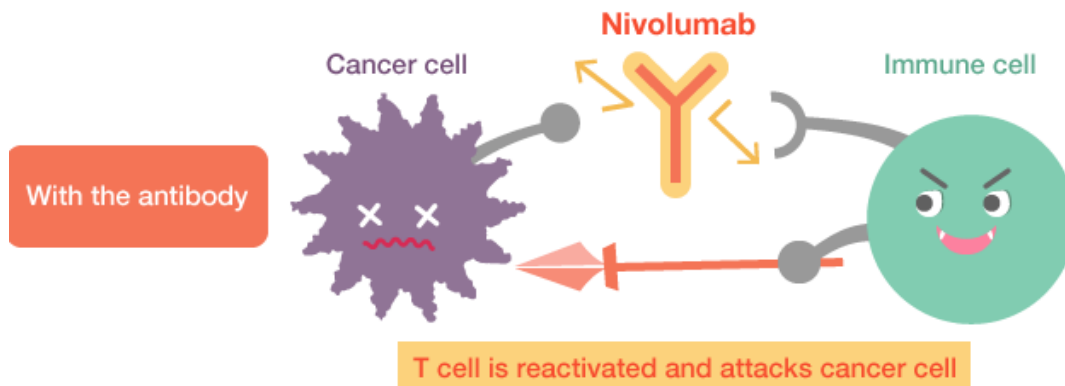
- a) adaptivní buněčná terapie – pacientovi podávány kultivované imunitní b. s protinádorovou aktivitou
- b) podání protilátek s protinádorovou aktivitou

Imunoterapie nádorů – použití inhibičních protilátek na T-lymfocytech

How the Anti-PD-1 Antibody Works



When PD-L1 binds with PD-1, the cancer puts the brakes on immune cells (T cells) and blocks attacks on cancer cells.

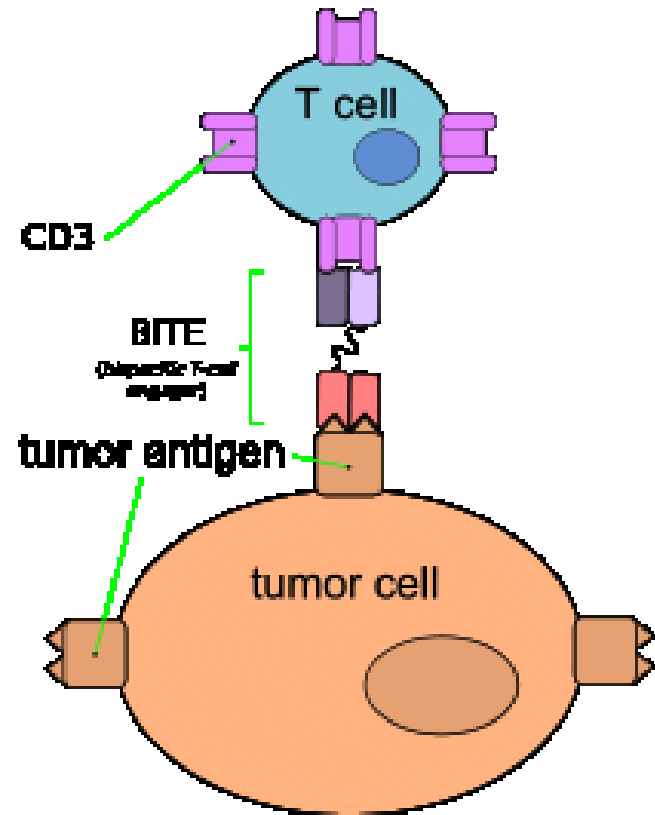


Nivolumab removes the brakes on T cells by preventing PD-L1 from binding with PD-1, thereby reactivating T cells and allowing them to attack cancer cells.

- CTLA4, PD-1 – nádorové bb. Mohou exprimovat ligandy těchto receptorů a tím aktivně potlačovat T-buněčnou reakci.
- Podáním MPL proto CTLA4 a PD-1 – zrušení inhibiční signalizace a odblokování T-lymfocytů.

Imunoterapie nádorů – použití B-specifických protilátek

- 1 vazebné místo reaguje s Ag nádoru a druhé se váže na povrch T-lymfocytů nebo NK buněk.
- Aktivované lymfocyty pak mohou leukemickou buňku lyzovat (blinatumomab - anti CD3 and anti CD19 na blastech akutní leukémie z B-buněk).



Stimulace imunitní odpovědi u nádorů

- Zničení klonů nádorových buněk
- Odstranění nádoru

X

- Nádorové buňky vznikají z vlastních buněk
- Malá exprese Ag
- Slabá imunogennost

- Silná imunitní odpověď vzniká pouze u onkogenních virů

Transplantační imunologie

Transplantace

- Přenosy tkání nebo orgánů
 - Cíl: náhrada nefunkční tkáně nebo orgánu příjemce zdravým ekvivalentem (štěp) od dárce
- Štěpy:
- **Syngenní** – dárce geneticky identický s příjemcem (identická dvojčata) (ISOGRAFT)
 - **Alogenní** – geneticky odlišní dárci stejného živočišného druhu (ALLOGRAFT)
 - **Xenogenní** – dárce z jiného živočišného druhu (prase) (XENOGRAFT)
Nedostatek vhodných dárců - značné množství přirozených protilátek → hyperakutní odhojování → vývoj transgenních prasat – bb by nesly méně antigenů rozeznávaných lidskými přirozenými protilátkami
-
- **Autologní transplantace** – přenos tkání jedince na jiné místo jeho organismu (AUTOGRAFT)
 - **Implantace** – umělé (syntetické) náhrady tkání

Druhy transplantace

- Nejčastějším druhem transplantace v klinické praxi jsou krevní transfuze
- Orgánové transplantace – ledviny, srdce, játra, rohovka
- Transplantace kostní dřeně

Hlavní histokompatibilitní komplex

Jedná se o genetický systém, který je primárně zodpovědný za **rozeznávání vlastního od cizorodého (Major Histocompatibility Complex)**. U člověka je hlavním histokompatibilním systémem komplex **HLA (Human Leucocyte Antigen)** – rozsáhlý komplex genů, které determinují povrchové molekuly (Ag) umístěné v plazmatické membráně buněk.

HLA

- Antigeny se chovají jako **transplantační**, tzn. že jsou příčinou odhojení tkáně při inkompatibilních transplantacích.
- HLA systém je homologický s lokusem H-2 u myši (systém, na kterém byl poprvé objeven princip histokompatibility) a je lokalizovaný v určitém úseku krátkého raménka chromosomu 6.
- Obsahuje geny pro histokompatibilní antigeny, složky komplementu a pravděpodobně i Ir-geny (immune response genes, geny zodpovědné za intenzitu imunitní odpovědi).

Funkce HLA-systému

- Hlavní fyziologickou funkcí molekul MHC je předkládat antigeny nebo jejich fragmenty buňkám imunitního systému, především T-lymfocytům
- Prezentace antigenu je prvním předpokladem pro rozvoj imunitní reakce a tím obrany proti napadení mikroorganismy

Orgánové transplantace

- Ortotopická transplantace – na stejné místo
- Ektopická transplantace – na jiné místo organismu
- Transplantované orgány
 - Ledviny- celosvětově přes 39 000 ročně
 - Srdce - 5 000 ročně
 - Játra - 15 000 ročně
 - Plíce
 - Pankreat
 - Velké klouby

Transplantace orgánů, tkání, buněk

- Dárce (donor).... Štěp
- Příjemce (recipient)
- Přihojení štěpu
- Odhojení štěpu - rejekce nejčastěji jako důsledek histoinkompatibility
- Dárce - reakce štěpu proti hostiteli (graft versus host reaction –GvHR)

Kritéria výběru pro transplantace

- Genetický rozdíl (MHC)
- Druhy tkáně – závisí na obsahu buněk, které mají schopnost prezentovat Ag (např. kůže)
- Imunologicky privilegovaná místa:
 - Např oko – přední komora-rohovka
- Aktivita imunitního systému příjemce – úprava imunosupresí
- Stav transplantovaného orgánu

Transplantace – vyšetření příjemce štěpu

- Určení krevní skupiny ABO (transplantace orgánů)
- Typizace HLA I (A, B, C)
- Typizace HLA II (DR, DQ)
- Přítomnost autoprotilátek
- Přítomnost preformovaných aloprotilátek (panel reactive antibody)
- „Crossmatching“ – přítomnost preformovaných protilátek specifických pro potenciálního donora
- Přítomnost aloreaktivních T-lymfocytů: Kultivace směsi lymfocytů (mixed lymphocyte culture assay) – shoda v oblasti HLA-D.

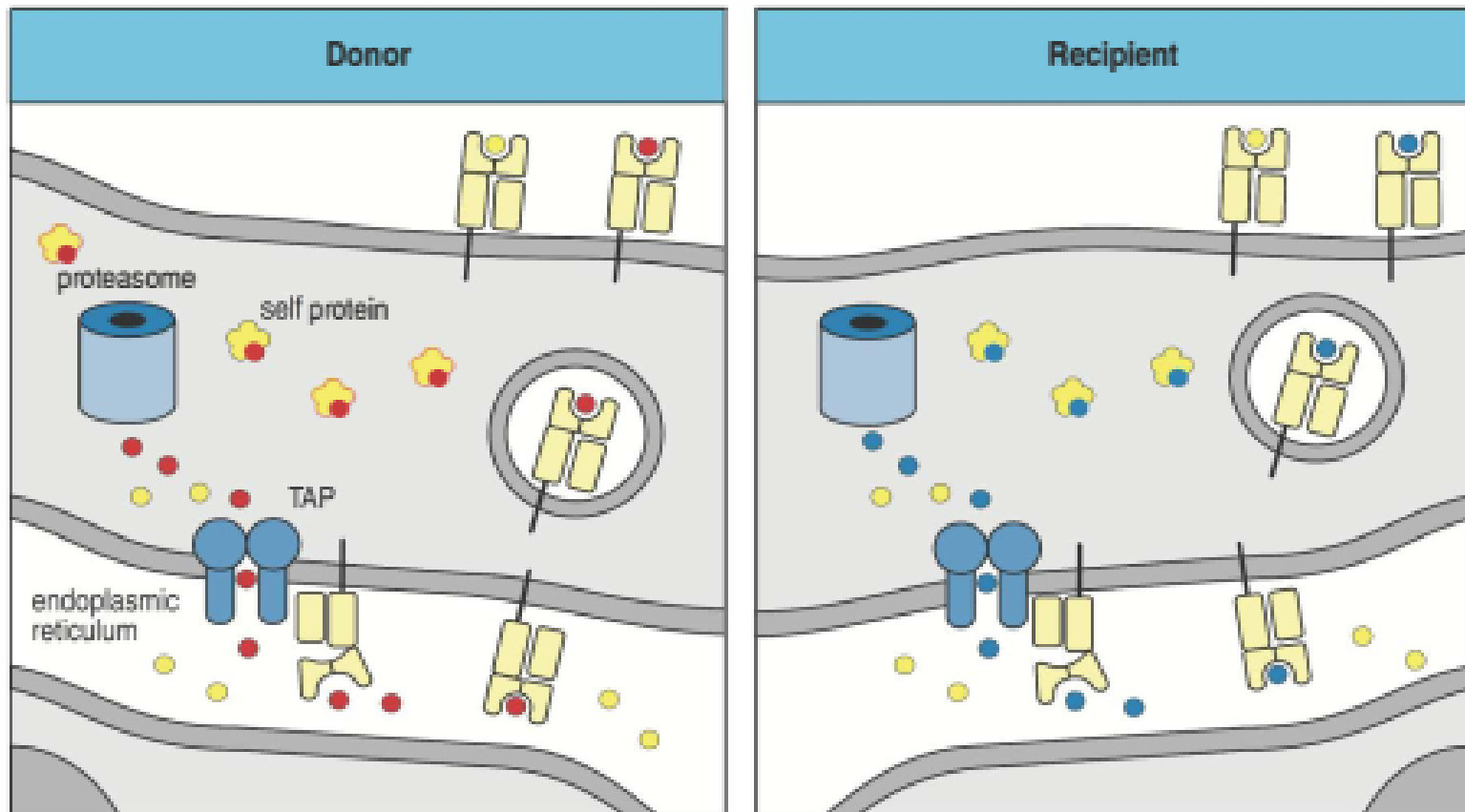
Cross-match

- Sérum příjemce se smíchá s lymfocyty dárce v přítomnosti komplementu...
- Pokud jsou v séru přítomné cytotoxické protilátky - aloantigeny, dojde k lýze dárcových leukocytů za účasti komplementového systému

Aloimunitní reakce

- Buňky jednoho jedince reagují s tkáňovými Ag druhého jedince
- Je způsobena
 - HLA systémem
 - Vedlejšími histokompatibilitními Ag
- Vznikají:
 - Aloreaktivitou T-lymfocytů
 - Tvorba protilátek proti alo- Ag

Prezentace HLA Ag dárce a příjemcem

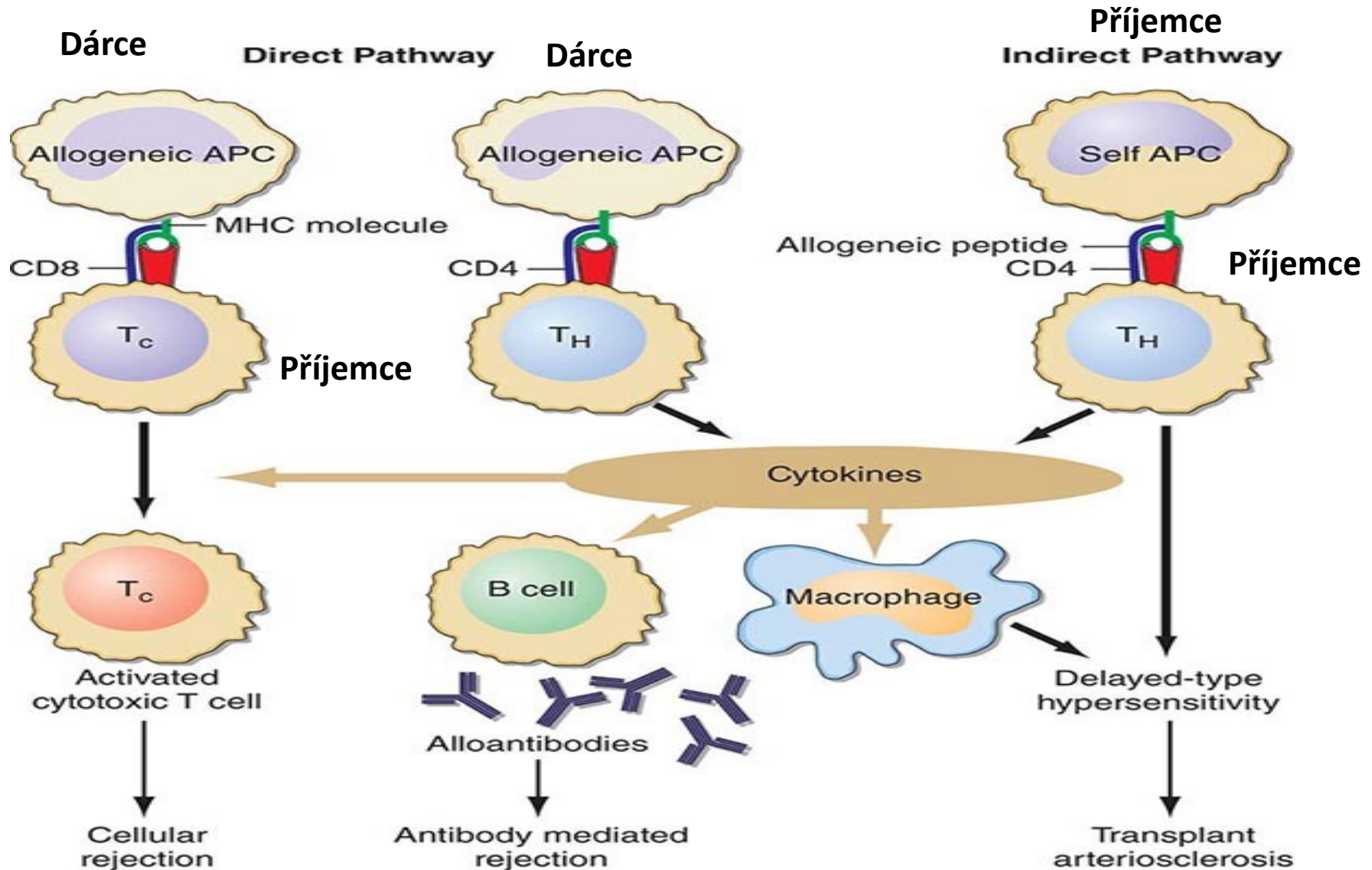


Polymorphic self proteins that differ in amino acid sequence between individuals give rise to minor H antigen differences between donor and recipient

Aloreaktivita T-lymfocytů

- Genetický polymorfismus → Imunokompetentní buňky jednoho jedince reagují s antigeny tkáně jiného jedince
- Vznikají na základě: aloreaktivity ...
- **přímé rozpoznání antigenů**
 - T-lymfocyty příjemce jsou schopny rozeznávat jako **cizorodé**:
 - odlišné alelické formy MHC gp – vážou různé peptidové fragmenty normálních buněčných proteinů
 - T-lymfocyty příjemce náhodně váží na tyto mnohočetné struktury MHC s peptidy, se kterými se nemohly setkat během vývoje a není vůči nim ustanovena tolerance
 - Alogenní buňky dárce se imunitnímu systému příjemce jeví jako např. napadané virem
- **nepřímé rozpoznání antigenů**
 - Odlišné MHC gp dárce jsou zpracovávány APC příjemce a jejich štěpy jsou předkládány T-lymfocytům jako cizorodé Ag

Přímá a nepřímá cesta rozpoznávání



Průkaz aloreaktivity T-lymfocytů (MLR)

Směsná lymfocytární reakce (mixed lymphocyte reaction - MLR)

- V kultuře smícháme lymfocyty s příměsí monocytů dvou geneticky odlišných jedinců
- T lymfocyty reagují na alogenní komplexy MHC – nastává aktivace a buněčná proliferace
- Reagují buňky příjemce na buňky dárce? – jednosměrná MLR reakce
 - buňky dárce se ozáří nebo se vystaví cytostatikům – mitomycinu C
 - nemůžou se dělit. Další aktivace a proliferace buněk je pak dána reakcí příjemce

Aloimunitní reakce – tvorba protilátek

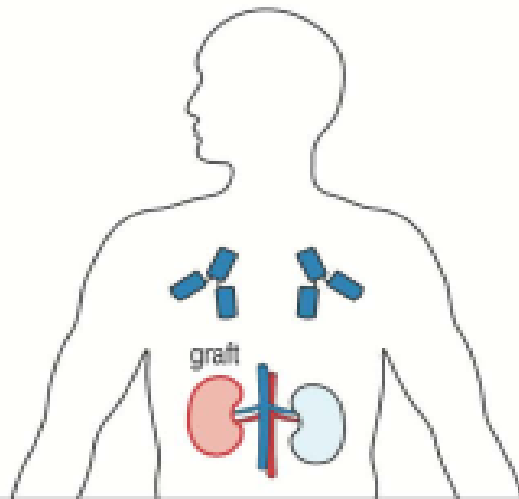
- Vznikají na základě: aloreaktivity ...
- Odlišné alelické formy vedlejších histokompatibilních antigenů (MHC dárce a příjemce geneticky shodné) – méně intenzivní aloreaktivita
- Aloantigeny mohou v příjemci transplantátu vyvolávat tvorbu protilátek.
- Tvorba protilátek proti aloantigenům – mohou vznikat stejně jako při aktivaci T-lymfocytů.
- Nebo mohou být přítomné již před transplantací (krevní transfuze, opakované těhotenství).
- Nebezpečné protilátky proti štěpu jsou takové, které aktivují komplement.
- Přítomnost těchto protilátek = kontraindikace transplantace → hyperakutní rejekce

Úloha protilátek při transplantaci

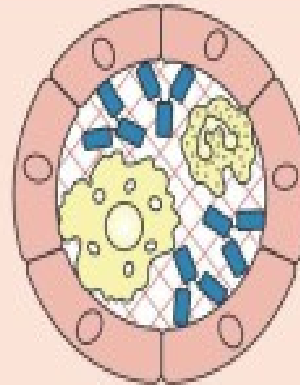
- Protilátky jsou namířeny proti HLA Ag transplantátu – Donor specific antibodies (DSA)
- Klinicky nejvýznamnější jsou ve třídě IgG – namířeny proti HLA I. a II. třídy a také proti molekulám MICA a MICB (=non HLA- antigeny MHC class I Chain related A, MHC class I Chain related B)
- Váží se na své Ag cíle na endotelové výstelce transplantátu
- Po vazbě aktivují komplement – dochází k rozvoji zánětu, který poškozuje endotelové buňky a aktivaci koagulační kaskády
- Protilátky poškozují štěp mechanismem ADCC
- Účastní se všech typů rejekce, dominují u hyperakutní rejekci
- Přítomnost donor specifických protilátek u příjemce – nepříznivý faktor ovlivňující prognózu přežití transplantovaného orgánu
- Hladina protilátek koreluje s rizikem rejekčních příhod
- Nález IgG protilátek proti antigenům HLA- I. třídy – kontraindikace k transplantaci
- Nález IgG protilátek proti antigenům HLA- II. třídy – kontraindikace k retransplantaci
- Odstranění protilátek - plasmaferézou

Protilátková rejekce

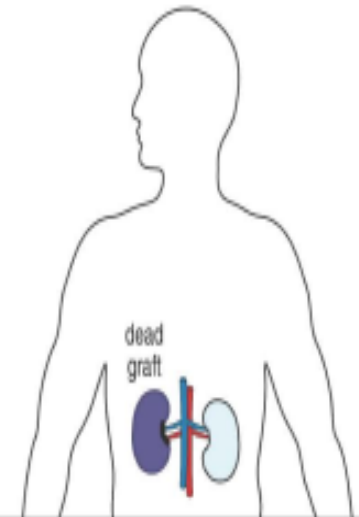
Normal kidney grafted into patient with defective kidney and preexisting antibodies against donor antigens



Antibodies against donor antigens bind vascular endothelium of graft initiating an inflammatory response, which occludes blood vessels



Graft becomes engorged and purple-colored because of the hemorrhage



Ovlivnění transplantátu přirozenou reaktivitou

- Podpora exprese adhezních molekul na stěnách endotelu, zvyšování prostupnosti pro zejména dendritické buňky migrující z transplantované tkáně do lymfatických uzlin příjemce a naopak podpora průniku efektorových buněk do transplantované tkáně.
- Podpora rozvoje zánětu především na endotelové výstelce cév transplantovaných orgánů.
- Jedná se o nespecifickou odpověď na předoperační a perioperační poškození transplantovaného orgánu a není závislá na HLA dárce a příjemce.
- Sama o sobě není schopna vyvolat rejekci.

Rejekce transplantátu

Ovlivňující faktory:

- Genetický rozdíl dárce a příjemce v genech kódujících MHC
- Druh tkáně- nejsilnější reakce vznikají proti vaskularizovaným tkáním obsahujícím hodně bb prezentujících antigen
- Aktivita imunitního systému příjemce- imunodeficientní příjemci vyvíjí menší odhojovací reakci, imunosuprese
- Stav transplantovaného orgánu- délka ischemie, způsob uchování, traumatizace orgánu při odběru a samotné transplantaci → vaskulární (popř. chronická) rejekce
- Farmakologická imunosuprese – imunosupresivní léčba – celkový útlum imunitních reakcí

Druhy rejekce

Imunitní reakce protilátkového typu:

- způsobená protilátkami buď přirozenými nebo vytvořenými v důsledku předchozích imunizací
- Hyperakutní (min. – hod.)
- Akcelerovaná (3 – 5 dnů po transplantaci)

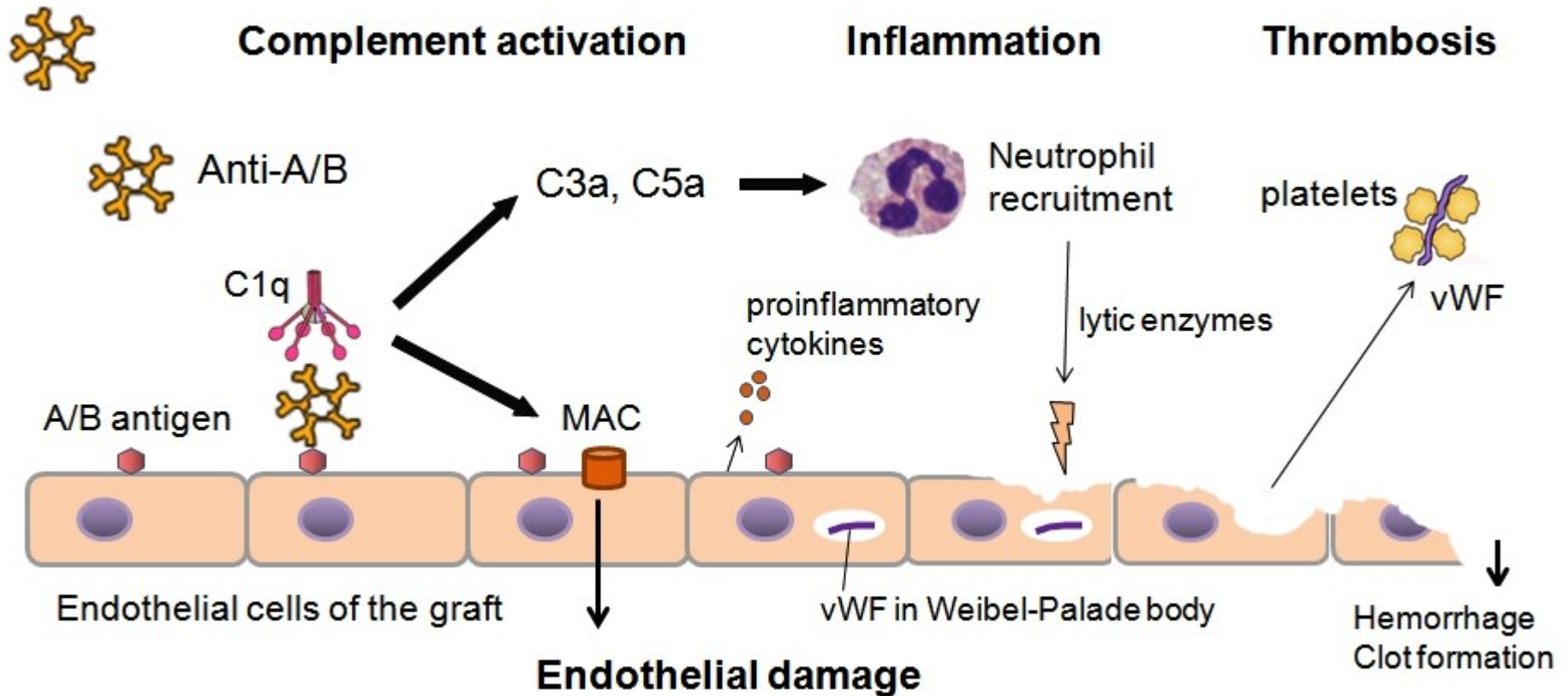
Imunitní reakce buněčného typu proti štěpu:

- Akutní odhojování (dny – týdny)
- Chronická (2 měsíce po transplantaci)

Hyperakutní rejekce

- Minuty až hodiny
- Imunitní reakce protilátkového typu
- V krvi příjemce již před transplantací přítomny preformované nebo přirozené protilátky.
- Vazba protilátek na tkáň transplantovaného orgánu vede k aktivaci komplementu a lýze buněk.
- Aktivace koagulačních faktorů a destiček, vznik trombů, akumulace neutrofilů.
- Prevence – negat. Cross match před Tx, **ABO** kompatibilita

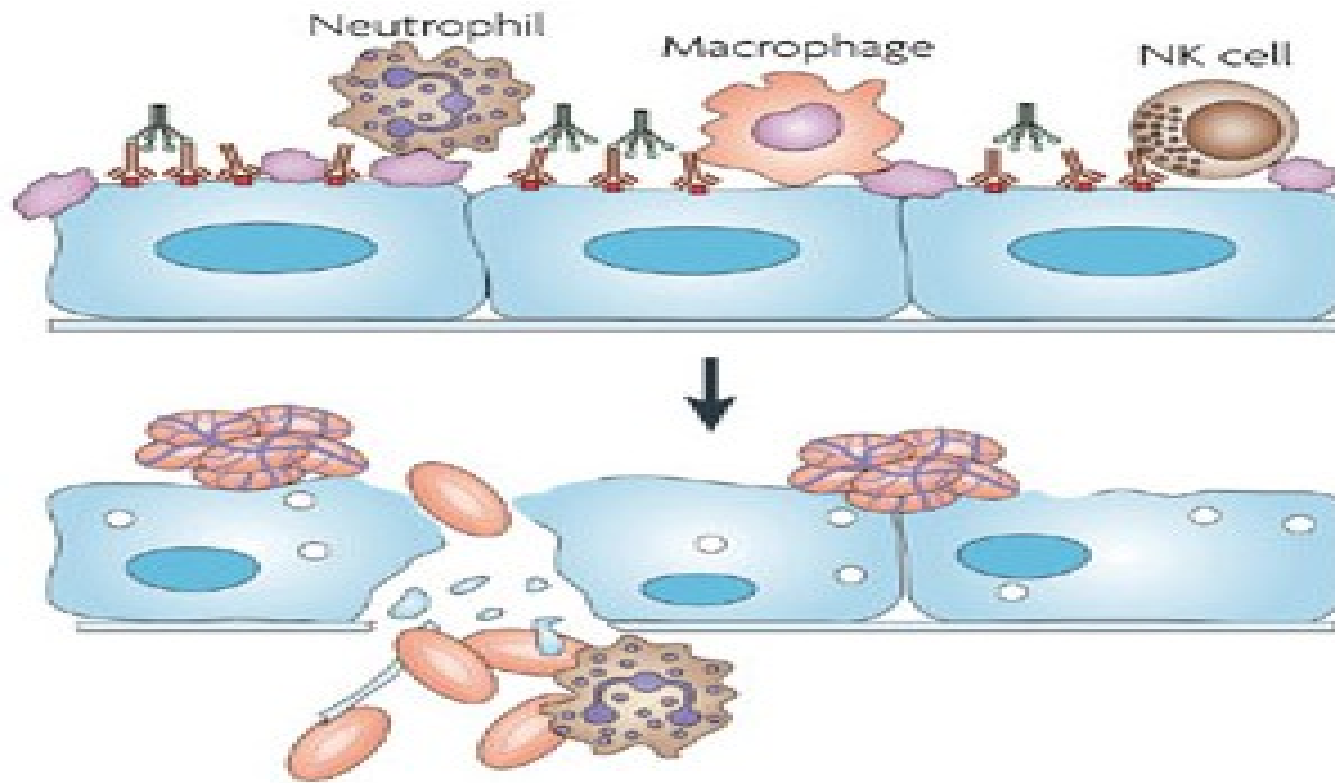
Hyperakutní rejekce



Akcelerovaná rejekce

- 3-5 dní po transplantaci
- Spuštěna Ab, které neaktivují komplement
- Vazba Ab na Fc receptory fagocytů a NK buněk
- Typická pro xenotransplantáty, při transfuzi krve při neshodě v ABO systému
- Přítomna i u orgánových transplantací, pokud jsou u příjemce preformované Ab proti tkáňovým Ag dárce
- V praxi pouze ojedinělý výskyt: před transfuzí se vyšetřuje krevní skupina i přítomnost cytotoxických Ab

Akcelerovaná rejekce



Akutní rejekce způsobená buňkami

- Dny až týdny po transplantaci nebo při přerušení imunosupresivní léčby
- Th1 a Tc1 reakce namířená proti Ag tkáně štěpu
- Infiltrace okolí a malých cév lymfocyty, monocyty, granulocyty – vede k destrukci transplantované tkáně

Chronická rejekce

- Od 3. měsíce po transplantaci
- Nejčastější příčina selhání štěpu
- Nejasný mechanismus:
 - Th2 reakce s produkcí alopertilátů
 - Patogenetická úloha cytokinů a růstových faktorů
 - Neimunologické faktory – ischemie tkání
- Výsledek – nahrazování funkční tkáně vazivem, poškození endotelu vede k poruše prokrvení štěpu a postupná ztrátě jeho funkcí.
- Nejčastější nález: poškození cév – transplantační vaskulární skleróza

Chronická rejeckce

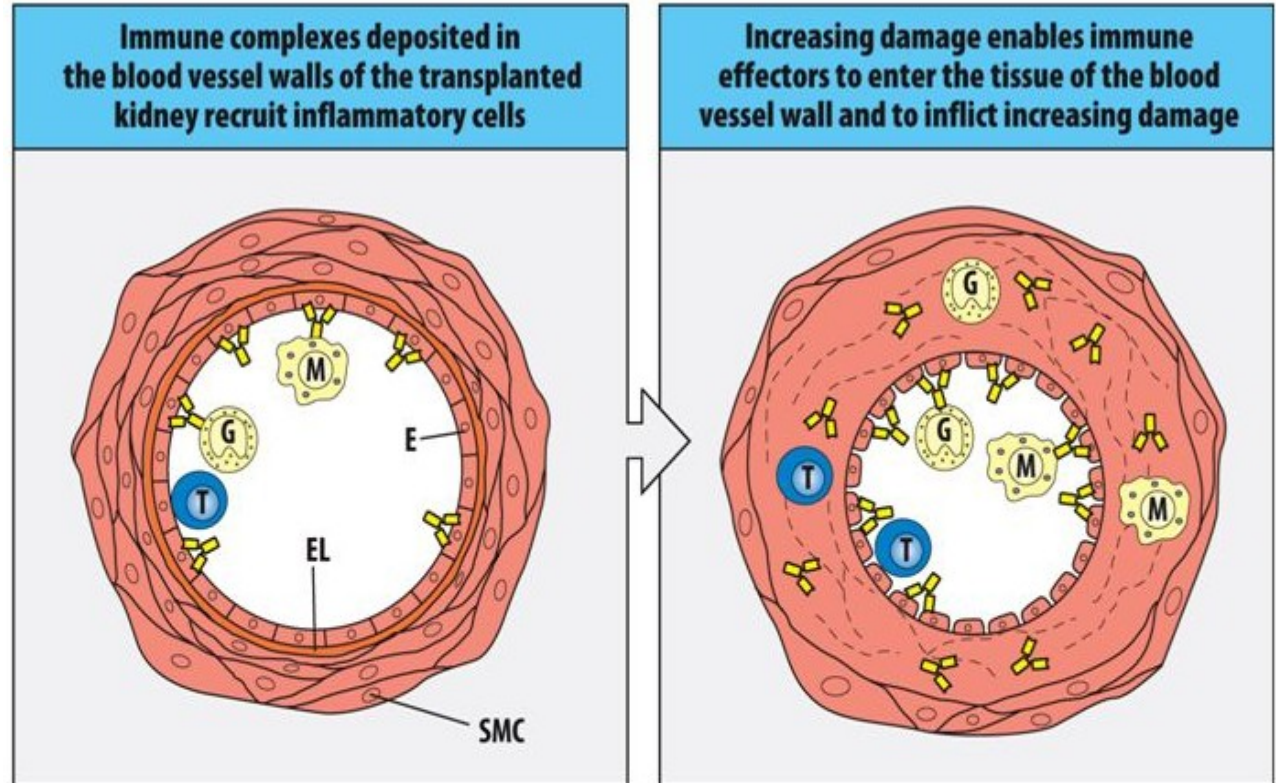
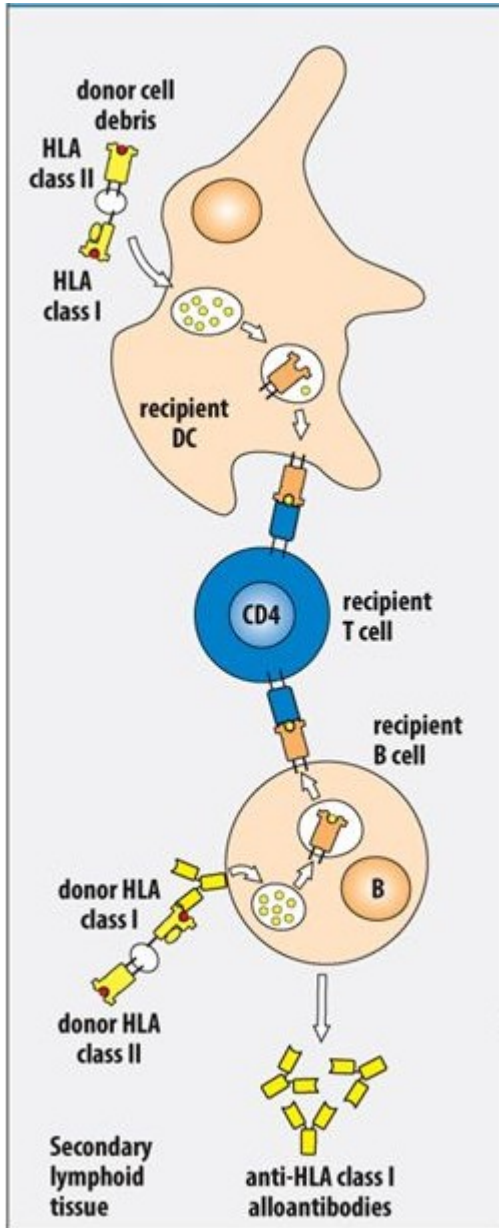


Figure 15.11 The Immune System, 4th ed. (© Garland Science 2015)

E: endothel
 G: granulocyte
 T: alloreactive T

M: macrophage
 EL: elastic lamina
 SMC: smooth muscle cell

Možnost potlačení rejekcí

- Geneticky shodní dárci na základě HLA – typizace
- Trvalá imunosuprese po transplantaci
- X zvýšené nebezpečí infekcí a sekundárních malignit

Transplantace hematopoetických kmenových buněk

- = transplantace kostní dřeně
- **Cíl:** osídlení dřeně příjemce kmenovými buňkami dárce → vznik celé krvetvorby
- Kmenové buňky z kostní dřeně, pupečnickové krve, z periferní krve dárce po stimulaci růstovými faktory.
- Poruchy krvetvorby, imunodeficience, vrozené metabolické vady, leukemie, léčba ozáření, těžce probíhající autoimunitní choroby.
- Vždy se jedná o rizikovou proceduru zatíženou velkou mírou morbidit a letality.

Transplantace hemopoetických kmenových buněk

Zdroj:

kostní dřeň (odběr z lopaty kosti kyčelní)

periferní krev (dárce „stimulován“ růstovými faktory ke zvýšení tvorby kmenových buněk)

pupečnicková krev (zdroj nezralých kmenových buněk omezené imunogennosti)

Typy transplantace:

autologní

alogenní

Průběh transplantace

- **Myeloablace** – zničení vadných kmenových buněk příjemce
je potřeba uvolnit prostor v kostní dřeni, ozářením nebo farmakologicky, od doby myeloablace do doby přihojení nemá pacient prakticky žádné periferní leukocyty, je ohrožen infekcemi, proto je nutné dodržovat sterilní podmínky
- **Suspenze směsi dřeňových buněk do periferní žíly**- kmenové buňky si najdou cestu do kostní dřene a usídlí se tam (předepsaný počet buněk na kg)
- **Engraftment – přihojení**- ve chvíli, kdy je detekována krvetvorba: erytro
→ granulo → trombo → lymfocyty
- Odvržení štěpu – rejekce – zástava krvetvorby pocházející od dárce, obnova krvetvorby příjemce
- Reakce štěpu proti hostiteli

Pluripotentní kmenové buňky

- Expresí znaku CD34 a CD45, CD117, CD133 a další
- Nízký podíl – méně než 1%
- Pro transplantaci bb je nutné získat pro štěp dostatečný počet kmenových buněk.
- U autologní transplantace, nebývá imunologický problém, ale je problém se získáním vzorku dřene před započítáním nemocí, jinak nutnost zbavit dřeň nádorových buněk.

Transplantace kmenových buněk pupečnickové krve

- Vysoký obsah CD34+ - více než 1% z jaderných elementů
- Po porodu zůstává v placentárních cévách až 150ml fetální krve, možno získat 80-100ml.
- Obsah kmenových buněk v této krvi postačuje na úplnou transplantaci u dětí nebo dospělých s nízkou hmotností.
- Stoupá procento využití v budoucnosti.

Složení pupečnickové krve

- Vysoký počet leukocytů
- Snížen celkový počet T-lymfocytů
- T-lymfocyty mají nižší známky aktivace (nižší exprese CD25 a HLA-DR).
- Vyšší zastoupení NK buněk
- Jiné zastoupení pluripotentních prekurzorových buněk krvetvorby (erytrocyty, monocyty, megakaryocyty).
- Zastoupení prekurzorových buněk je podobné jako v kostní dřeni.

T-lymfocyty v pupečnickové krvi

- Nejen nižší počet, ale i trvale snížená odpovědávost na alogenní podněty.
- Navíc nízká produkce IL-12 přítomnými APC.
- Snížení výskytu reakce štěpu proti hostiteli.
- Využití při léčbě krevních malignit – akutní myeloblastické leukémie, chronické myeloidní leukémie, ale i neuroblastomu.
- Dále nenádorová onemocnění např. idipopatická aplastická anémie, srpkovitá anémie, různé typy SCID a další.

Výhody transplantace pupečnickové krve

- Buňky je možné zamrazit na dlouho dobu v tekutém dusíku
- Využití v případě onemocnění daného jedince
- Použití pro alogenní transplantace
- Minimální riziko přenosu infekčních agents, včetně CMV a EBV
- Je možné tyto buňky využít pro genové manipulace – např. vnesení intaktních genů pro vyléčení geneticky podmíněných nemocí
- Nevýhody:
 - u relapse maligních onemocnění není reakce štěpu proti hostiteli, ve které by T-lymfocyty dárce napadaly maligně transformované buňky příjemce
 - Není známo jestli dárce trpí geneticky přenosnou chorobou

Obnova imunitního systému po transplantaci kmenových buněk

- Postupně dochází k úpravě počtu jednotlivých druhů leukocytů.
- Obnova funkcí těchto buněk může trvat měsíce až roky.
- V podstatě nikdy úplně nedojde k úplné restauraci všech složek imunity do optimálních fyziologických hodnot.
- Nejrychleji se obnovují NK-buňky – po pěti měsících je dosaženo normálních hodnot i funkčnost.

Obnova T-lymfocytů po transplantaci kmenových buněk

- T-lymfocyty normálně dozrávají v thymu – ve věku nad 40let je to ale nefunkční tkáň.
- Extrathymová diferenciaci – zpravidla v gastrointestinálním traktu a v játrech.
- Rychleji se zvyšuje počet CD8+ T-lymfocytů a to až nad fyziologickou mez, podíl CD4+ T-lymfo je dlouhodobě snížen (CD8+ T-lymfocyty mají i větší radiorezistenci).
- Obnova funkcí u CD8+ T-lymfocytů – zhruba po třech měsících u CD4+ T-lymfo to trvá déle.
- Mají sníženou proliferační aktivitu, tvoří méně IL-2.
- Zdrojem T-lymfocytů mohou být také prekurzory T-lymfocytů příjemce, které přežily přípravný režim.
- Prekurzory T-lymfocytů dárce v transplantovaném štěpu.
- Byl zaznamenán přenos imunity vůči konkrétnímu virovému agens z dárce.

Obnova B-lymfocytů po transplantaci kmenových buněk

- Podíl B-lymfocytů je výrazně snížen po dobu prvních 9-ti měsíců pro transplantaci.
- Po tuto dobu nesou B-lymfocyty znaky nevyzrálých buněk např. CD10, tzv. transientní B lymfocyty.
- Zdrojem B-lymfocytů – kmenové buňky ve štěpu nebo rezidující kmenové buňky v příjemci, dále B-lymfocyty v kostní dřeni, lymfatických uzlinách a ve slezině.
- Jsou přítomny i ve štěpu.
- Byl prokázán i přenos specifické humorální imunity z dárce na příjemce.
- Dynamika tvorby Ig je podobná jako u dětí.

Reakce štěpu proti hostiteli

- Začíná už před vlastní transplantací – ozáření, cytostatika – rozsáhlé poškození buněk příjemce (játra a slizniční imunitní systém).
- Uvolnění značného množství prozánětlivých cytokinů a chemokinů (IL-1 β , TNF- α , GM-CSF, IFN- γ).
- Dlouhodobý důsledek zvýšená exprese HLA I. a II. třídy na buňkách příjemce.
- Po infuzi štěpu jsou jako první napadány endotelové buňky cévního řečiště.
- T-lymfocyty ve štěpu rozeznávají tkáňové antigeny příjemce jako cizorodé (aloreaktivita) a reagují proti nim.

Reakce štěpu proti hostiteli

- **T-lymfocyty ve štěpu rozeznávají tkáňové antigeny příjemce jako cizorodé (aloreaktivita) a reagují proti nim**
- Akutní GvH – dochází k poškození jater, kůže a střevní sliznice
- Prevence:
 - co nejbližší gen. příbuzný dárce,
 - odstranění T-lymfocytů
 - imunosuprese

Chronická Gvh

- Měsíce až roky
- Tvorba Th2, aloprotilátek, produkce cytokinů
- Infiltrace tkání – vede k fibrotizaci tkání
- Chronický zánět cév, kůže, vnitřních orgánů nebo žláz
- Náhrada funkční tkáně vazivem
- Porucha prokrvení
- Ztráta funkce příslušných orgánů a tkání
- Průběh připomíná autoimunitní onemocnění

Reakce štěpu proti leukemickým buňkám (GvL)

Garft – versus - leukemia

- **T-lymfocyty ve štěpu reagují vůči zbytkovým leukemickým buňkám příjemce**
- **Schodný s akutní GvH**

- GvH – nežádoucí reakce
- GvL – žádoucí reakce
- Řešení - T-lymfocytů ze štěpu + imunosuprese → omezení rizika GvH reakce X riziko návratu onemocnění! → po přihojení kostní dřeně aplikovat malé dávky periferních T-lymfocytů dárce – navození specifické tolerance

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

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

Možnosti potlačení transplantačních rejekcí a reakce proti štěpu hostiteli

- Výběr dárců geneticky blízkých příjemců
- Použití imunosupresivních léků
- Procedury odstraňující T-lymfocyty dárce ze štěpu
- Purifikace kmenových buněk z periferní krve

Autologní transplantace

- Poškození krvetvorby u osob trpících nádorovým onemocněním.
- Neselekční působení chemoterapie a radiační terapie na buňky kostní dřeně.
- Nutná podpora krvetvorby.
- Aplikace rekombinantních růstových faktorů: G-CSF, GM – CSF – řešení neutropenie.
- Neřeší se trombocytopenie – důsledek: krvácivé projevy.
- Autologní transplantace bb. kostní dřeně nebo kmenových buněk krvetvorby.

Provedení autologní transplantace kmenových buněk periferní krve

- Pacient je uveden do remise běžným terapeutickým postupem.
- Po dosažení požadované leukopenie v periferní krvi se začnou podávat růstové faktory, nejčastěji G-CSF.
- Prudká stimulace krvetvorby, pluripotentní kmenové buňky jsou častěji uvolňovány do periferie.
- Z ní se získávají leukafarézou – oddělení leukocytů a plasmy.
- Z takto získaných buněk se magneticky separují.
- Štěp by měl dosahovat 5×10^6 CD34+ buněk na kilogram příjemce.
- Poté následuje léčba nádoru vysokodávkovými režimy – vede k útlumu krvetvorby.
- Poté se podávají kmenové buňky.

Autologní transplantace kmenových buněk periferní krve

- Umožňuje vysokodávkovou chemoterapii nádoru, která by bez kmenových buněk nebyla možná.
- Časté použití při léčbě non-Hodgkinských lymfomů v relapsu, mnohočetného myelomu, akutní myeloblastické leukémie.
- Někdy se používá i při léčbě solidních nádorů a autoimunitních chorob (RA, SLE, SM).

Imunologické aspekty transfuze krve

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.
- Mezi malé krevní skupiny patří systémy MN a Ss.

Transfúze krve

System krevních skupin „AB0“

O: ceramid-Glu-Gal-GalNAc-Gal



A: ceramid-Glu-Gal-GalNAc-Gal-**GalNAc**



B: ceramid-Glu-Gal-GalNAc-Gal-**Gal**



Přirozené isohemaglutininy

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

Bílkovinné antigeny krevních skupin

- Nejdůležitější je systém Rh.
- Protilátky jsou IgG isotypu, objevují se pouze po antigenním stimulu.
- Mezi malé krevní skupiny patří systémy Kelly, Lewis, Duffy.

Inkompatibilita v Rh systému mezi matkou a plodem

Protilátky proti Rh = IgG

Transplacentární přenos

Hemolytický účinek (+ C-systém, fagocyty, buňky K)

Coombsův antiglobulinový test (přímý, nepřímý)

Cave: Mater certa, pater semper incertus!

Profylaxe: anti Rh sérum po porodu

Reprodukční imunologie

Reprodukční imunologie

se zabývá studiem funkce imunitní soustavy v reprodukčních orgánech.

Imunologie / imunopatologie:

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

Imunitní soustava dozrává perinatálně, tehdy 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 antigenní znaky
jsou proto vnímány jako cizí

Podmínkou přežití gamet je dobře fungující soubor pasivních a aktivních ochranných mechanismů, specifických pro orgány rozplzovací soustavy (např. hematotestikulární "bariéra"). Speciální ochranu vyžaduje také semialogenní plod, rostoucí v děloze matky.

Imunitní soustava v rozplzovacích orgánech má tudíž dvě protichůdné povinnosti:

- chránit vnitřní stálost
- umožnit existenci "cizorodých" gamet a semialogenního plodu

Imunita v reprodukčním traktu muže

Co a jak musí vyřešit:

a) ochránit před infekcí, vadnými buňkami atd.

Obranné mechanismy slizniční imunity, t.j.
makrofágy / fagocyty, NK a LAK (lymfokiny aktivované NK buňky),
specifické mechanismy humorální a buněčné imunity.

**b) umožnit dozrání relativně „cizorodých“ spermií,
aniž by byly napadeny vlastní imunitní reakcí.**

Mechanismy zabezpečující imunologickou
toleranci k spermiím:

pasivní ochrana – nízká antigenicita spermií a jejich
prekurzorů

převaha tlumivých buněk (Th2)

Hematotestikulární bariéra

- Specializovaná buněčná bariéra mezi krví a vyvíjejícími se spermiogenními buňkami v semenotvorných kanálcích varlat.
- Tvořena pevnými spojeními v oblasti baze Sertoliho buněk.
- Chrání zárodečné buňky před toxickými látkami obsaženými v krvi a zároveň vytváří imunologickou bariéru.
- Diferenciace spermatogonií začíná až v období puberty.
- Organismus vytvořeny imunokompetentní buňky, které by mohly nově vzniklé spermie identifikovat jako "cizí,,.
- Brání kontaktu imunitního systému s diferencujícími se spermii a zabraňuje tak autoimunitní odpovědi.

Patologická imunitní reakce proti mužským gonádám

- Získané poruchy imunity v urogenitálním traktu, typicky záněty, poruchy prokrvení, ale i punkce a biopsie varlat, anální sex u bisexuálů, ale někdy ji vyvolá i vrozená porucha imunity.
- Způsobuje poškození spermií během jejich vývoje, zejména kvůli buňkami zprostředkované imunitě, dále například blokádu spermií protilátkami.

Imunita v reprodukčním traktu zdravé ženy

Co a jak musí vyřešit:

a) ochránit před infekcí, vadnými buňkami atd.

Obranné mechanismy slizniční imunity, t.j. fagocyty, NK a LAK buňky, specifické mechanismy humorální a buněčné imunity.

b) umožnit dozrání relativně „cizorodých“ vajíček a přídatných tkání

pasivní ochrana – nízká antigenicita povrchu zona pelucida a buněk cumulus oophorus
převaha tlumivých buněk (Th2) ve stromatu ovaria, folikulární tekutině a tubách

Zona pelucida

- Glykoproteinový obal vajíčka savců –
produkován samotným vajíčkem v průběhu
oogeneze
- Funkce:
 - selekce spermií (nepoškozené spermie)
 - Zabránění polyspermie – vajíčko je oplozeno více
než jednou spermií

Cumulus Oophorus

- Obal z folikulárních buněk vaječnickového folikulu v závěrečném stádiu před ovulací
- Koordinuje dozrávání vajíčka, zvyšuje fertilizaci

Imunologické bariéry reprodukčních orgánů ženy

- Nejsilnější ochrana v děložním krčku
- Zde působí makrofágy – možnost ovlivnění spermií
- Imunita v urogenitálním traktu je tlumena cytokiny - TGF β
- Imunita je ovlivněna mikroflórou, věkem údobím menstruačního cyklu, těhotenstvím a přítomností infekce

Imunologické bariéry reprodukčních orgánů ženy

- Přirozenou složkou mikroflóry – Gram-pozitivní tyčky z rodu *Lactobacillus* – k osídlení dochází v pubertě (10^8 organismů/gram vaginální tekutiny)
- Nízké pH
- Tvorba peroxidu vodíku- laktobacily

Imunita v reprodukčním traktu zdravé ženy

Co a jak musí vyřešit:

c) ochránit spermie v době ovulace před napadením imunitním systémem ženy

pasivní ochrana – potlačení imunogenních HLA znaků na povrchu spermií

aktivní mechanismy – zejm. změny v imunologických vlastnostech cervikálního hlenu v době ovulace
ze strany muže – přítomnost imunosupresivních faktorů v seminální plazmě

d) tolerovat „semialogenní“ plod

imunologie nidace a těhotenství

Imunologické příčiny ženské sterility

- **Autoimunitní poškození ovaria**
 - Vrozený defekt imunity – poškození oocyty a přídatných tkání již během zrání ovaria
 - Zapříčiněno jak buněčnou tak protilátkovou imunitou
- **Navozené příčiny sterility**
 - Aktivace buněčné imunity a tvorba protilátek při
 - Opakovaných zánětech dutiny břišní
 - Opakované odběry pro oocyty pro IVF
 - Endometrióza

Imunologie reprodukce – negativní mechanismy - ženy

- Zvýšená přítomnost protilátek proti spermiím u chronických infekcí
- Pohyb spermií je ovlivněn navázáním protilátek – navázání IgG nebo IgA na bičík neovlivňuje schopnost pronikat hlenem děložního hrdla.
- Navázáním protilátek zejména třídy IgA nebo kombinace IgG a IgA na hlavičku spermie – výrazně omezuje pohyb.
- IgG možnost aktivace komplementu x spermie mají na svém povrchu CD46 – brání aktivaci komplementového systému.

Imunologie reprodukce – negativní mechanismy - muži

- Přítomnost protilátek proti spermiím
- Důvody vzniku – narušená hematotestikulární bariera z důvodů poranění, po vasektomii, chronické infekce urogenitálního traktu, častější u homosexuálních mužů.
- V ejakulátu se pak nacházejí Ig třídy IgG a IgA.
- Ve spermatu infertilních mužů často zvýšený počet leukocytů - vznik reaktivních kyslíkových radikálů – perforace cytoplazmatické membrány spermií – zabránění fúze s plazmatickou membránou vajíčka.

Sterilita v důsledku patologické imunitní reakce proti spermiím

- Vrozená, tj. primární porucha
 - Defekt tlumivých buněk nebo alergická dispozice
- Získaná porucha regulace imunity v urogenitálním traktu
 - Infekční záněty
 - Úrazové poruchy prokrvení
 - Punkce a biopsie varlat
 - Anální sex bisexuálů

Imunologie těhotenství

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

Imunitní buňky v urogenitálním traktu ženy

- Slizniční výstelka dělohy – přeměna v deciduální tkáň – vstup a vývoj lymfocytů – 70% je tvořeno populací CD56+NK buněk, malá frakce T-lymfocytů – typu Th2
- Převaha Nk buněk v první polovině těhotenství

Placentární mechanismy ochrany plodu proti napadení IS matky

- Minimální prostupnost placenty pro buňku
- Na trofoblastu nejsou exprimovány klasické HLA-I antigeny, chybějí antigeny HLA-DR, DQ – nutné k aktivaci T-lymfocytů
- Přítomny neklasické HLA-G – chrání trofoblast před útokem NK buněk
- CD46 na povrchu trofoblastu zabraňuje vazbě C3b – blokování aktivace komplementu

Placentární mechanismy ochrany plodu proti napadení IS matky

- Specifická imunita matky – převládá Th2 odpověď
- Uplatňování imunosupresivního efektu HCG a progesteronu
- Částečná blokáda lymfatických cév drénujících placentu

Mateřské ochranné mechanismy

- Spouštěny embryonálními faktory (produkty HLA-G, hCG, AFP)
- Snížení koncentrace "toxických" Tc lymfocytů v periimplantační zóně i v oběhu
- Deciduální makrofágy a monocyty mají sníženou fagocytární schopnost, navíc produkují embryoprotektivní faktory (typ M2)
- Snižuje se produkce IL-2 i exprese receptoru pro IL-2 na lymfocytech v periimplantační zóně i v oběhu

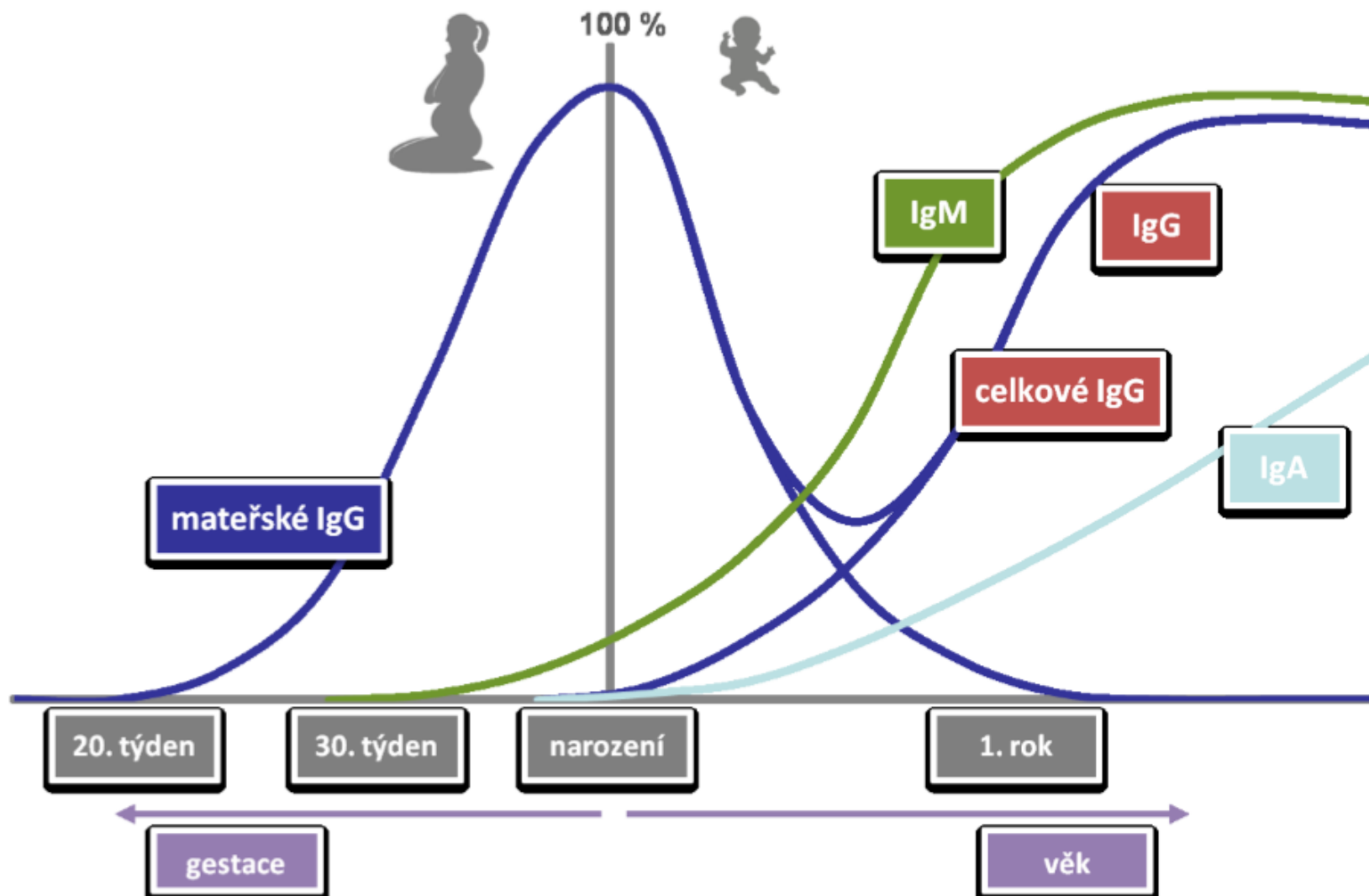
Transplacentární přenos faktorů imunity

- v 3. trimestru se dostává z plodu do mateřského oběhu cca 200 000 buněk denně - zejména buňky trofoblastu
- do oběhu plodu pronikají transplacentárně
- mateřské lymfocyty („mikrochimerismus“)
- imunoglobuliny (IgG) (úloha FcRn)

Význam kojení

- Hlavním imunoglobulinem v mateřském mléku je sekreční IgA: neutralizuje viry, je baktericidní, agreguje antigeny, brání adhezenci bakterií na povrch epitelových buněk
- Buňky v mateřském mléku :
 - fagocyty, především makrofágy
 - lymfocyty, především CD4
- Hlavním zdrojem je kolostrum

Hladiny sérových imunoglobulinů v pre- a postnatálním období



Imunitní systém v dětství

- Zvýšená náchylnost k infekčním chorobám.
- Infekce obvykle probíhají poměrně lehce.
- V prvních 2 letech mohou probíhat velmi závažně infekce opouzdřenými baktériemi.
- Často první manifestace atopických chorob.
- Začínají se objevovat autoimunitní choroby.

Imunita v dospělém věku

- Vytvořila se imunita proti řadě patogenů, frekvence infekcí je nízká.
- Typické „dětské choroby“ obvykle probíhají těžce a komplikovaně.
- Nejčastější výskyt autoimunitních chorob.

Imunita ve stáří

- Porušena primární imunitní reakce, naproti tomu sekundární imunitní reakce obvykle nebývají oslabeny.
- Pokles počtu lymfocytů, zejména CD4+, hladiny imunoglobulinů vykazují spíše zvýšení.
- Celkově snížená imunitní reaktivita vede k mírným celkovým příznakům infekcí.
- Porucha regulace se projevuje častým výskytem autoprotilátek a paraproteinů, ty však nevedou ke klinickým onemocněním.