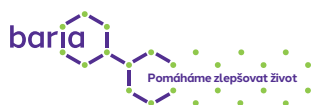


IMUNOLOGIE A IMUNOPATOLOGIE LIDSKÉ REPRODUKCE

Kniha byla vydána za laskavé podpory společností:



**Prof. MUDr. Zdenka Ulčová-Gallová, DrSc.,
MUDr. Jindřich Madar, CSc.,
a kol.**

IMUNOLOGIE A IMUNOPATOLOGIE LIDSKÉ REPRODUKCE

VYBRANÉ KAPITOLY

2., PŘEPRACOVANÉ A DOPLNĚNÉ VYDÁNÍ

Zdenka Ulčová-Gallová, Jindřich Madar a kol., IMUNOLOGIE A IMUNOPATOLOGIE LIDSKÉ REPRODUKCE, VYBRANÉ KAPITOLY, 2., PŘEPRACOVANÉ A DOPLNĚNÉ VYDÁNÍ

DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ

Autoři i nakladatel vynaložili velkou péči a úsilí, aby všechny informace v knize obsažené týkající se dávkování léků a forem jejich aplikací odpovídaly stavu vědy v okamžiku vydání. Nakladatel však za údaje o použití léků, zejména o jejich indikacích, kontraindikacích, dávkování a aplikačních formách, nenese žádnou odpovědnost, a vylučuje proto jakékoli přímé či nepřímé nároky na úhradu eventuálních škod, které by v souvislosti s aplikací uvedených léků vznikly. Každý uživatel je povinen důsledně se řídit informacemi výrobců léčiv, zejména informací přiloženou ke každému balení léku, který chce aplikovat.

Ochranné obchodní známky (chráněné názvy) léků ani dalších výrobků nejsou v knize zvlášť zdůrazňovány. Z absence označení ochranné známky proto nelze vyvozovat, že v konkrétním případě jde o název nechráněný.

Toto dílo, včetně všech svých částí, je zákonem chráněno. Každé jeho užití mimo úzké hranice zákona je nepřípustné a je trestné. To se týká zejména reprodukování či rozšiřování jakýmkoli způsobem (včetně mechanického, fotografického či elektronického), ale také ukládání v elektronické formě pro účely rešeršní i jiné. K jakémukoli využití díla je proto nutný písemný souhlas nakladatele, který také stanoví přesné podmínky využití díla. Písemný souhlas je nutný i pro případy, ve kterých může být udělen bezplatně.

Kapitoly 1 a 9 byly podpořeny výzkumným grantem: GAČR 17-11275S.

Edice MEDICA

Šéfredaktor: Mgr. Šárka Mašková

© Zdenka Ulčová-Gallová, Jindřich Madar, 2020

© Maxdorf, 2020

Illustrations © Maxdorf, 2020

Cover layout © Maxdorf, 2020

Cover photo © iStockphoto.com / peterschreiber.media

Vydal Maxdorf s. r. o., nakladatelství odborné literatury, Na Šejdru 247/6a, 142 00 Praha 4

e-mail: info@maxdorf.cz, internet: www.maxdorf.cz

Jessenius® je chráněná značka [No. 267113] označující publikace určené odborné zdravotnické veřejnosti

Odpovědný redaktor: Ing. Veronika Pátková

Jazyková redakce: Mgr. Martin Čermák

Ilustrace: Jiří Hlaváček

Sazba: Jan Štěpánek

Tisk: Books Print s.r.o.

Printed in the Czech Republic

ISBN 978-80-7345-648-1

HLAVNÍ AUTOŘI

- **Prof. MUDr. Zdenka Ulčová-Gallová, DrSc.**, Poradna a laboratoře pro imunologii reprodukce, Genetika Plzeň, s. r. o.; Gynekologicko-porodnická klinika LF UK a FN Plzeň
- **MUDr. Jindřich Madar, CSc.**, AREPIM, s. r. o., ambulance reprodukční imunologie

SPOLUAUTOŘI

- **Mgr. Štěpán Coufal**, Laboratoř buněčné a molekulární imunologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha
- **RNDr. Marcela Drahošová**, Ústav klinické imunologie a alergologie LF UK a FN Hradec Králové
- **Prof. RNDr. Vladimír Holáň, DrSc.**, Oddělení transplantační imunologie, Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i., Praha
- **Ing. Andrea Kestlerová**, AREPIM, s. r. o., ambulance reprodukční imunologie
- **MUDr. Alena Kokešová, Ph.D., MBA**, Klinika dětské chirurgie 2. LF UK a FN Motol, Praha
- **MUDr. Miloslav Kverka, Ph.D.**, Laboratoř buněčné a molekulární imunologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha
- **MUDr. Karin Malíčková**, Oddělení alergologie a klinické imunologie, GENNET, s. r. o., Praha; Oddělení imunologie, ISCARE I.V.F., a. s., Praha
- **Prof. MUDr. Jiří Městecký, CSc.**, Department of Microbiology, University of Alabama, Birmingham, USA; Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha
- **RNDr. Dana Nováková**, Klinika nukleární medicíny a endokrinologie 2. LF UK a FN Motol, Praha
- **Doc. MUDr. Bronislava Novotná, Ph.D.**, Alergologická ambulance, Interní gastroenterologická klinika LF MU a FN Brno
- **Doc. RNDr. Jana Pěkníková, CSc.**, Laboratoř reprodukční biologie, Biotechnologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha
- **Prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.**, Laboratoř buněčné a molekulární imunologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha; Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK v Praze

RECENZENTI 1. VYDÁNÍ

- **MUDr. Karel Nouza, DrSc.**, Centrum klinické imunologie, Havelská 14, Praha 1
- **Prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc.**, Laboratoř buněčné a molekulární imunologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha; Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK v Praze

SLOVO ÚVODEM

Předložené druhé, rozšířené vydání publikace „Imunologie a imunopatologie lidské reprodukce“ se zabývá vybranými úseky lidské fertility. Čtenář je vtažen do oboru teoretické i klinické imunologie, která se dnes již nezabývá pouze obranyschopností organismu před zevním prostředím s poškozujícími prvky, hlavně mikroorganismy. Imunologie jako taková je velmi široká odborná základna prakticky pro celou medicínu, jež se v poslední době nejvíce rozvíjí díky novým poznatkům, především z genetiky a vývojové biologie.

Její specializovaná část, tzv. reprodukční imunologie, zasahuje do vytváření imunitního systému jedince, vzniku imunologické tolerance, vysvětluje vývoj germinativních buněk, spermie a vajíčka a všechny imunologické vztahy nejen k nim, ale hlavně pak k embryu s ohledem na mateřský organismus, dotýká se fyziologické i patologicky se vyvíjející časné i pozdní gravidity. Vyjadřuje se rovněž k různým imunologicky podmíněným poruchám těhotenství, kam patří například potrácivost, hypotrofizace plodu, preeklampsie či jiné komplikace u matky spojené mimo jiné se základním autoimunitním onemocněním, eventuálně vázané jen na samotnou in vitro fertilizaci. Reprodukční imunologie má i své nástroje k ovlivnění patologických reakcí v podobě cílené terapie.

Tento obor tedy zahrnuje diagnostiku imunologicky podmíněné snížené plodnosti, ale také způsoby imunologické terapie mířící k ovlivňování tolerance matka – plod. Reprodukční imunologie je možná více než ostatní klinické obory vtažena do systému neuro-endokrinních vztahů modulujících právě lidskou plodnost jako takovou. Její výsledky jsou důležité především v gynekologii a porodnictví, respektive reprodukční medicíně obecně. Dnes se odhaduje, že 15 % párů se sníženou plodností vykazuje dysbalanci právě v neuro-endokrinně-imunologických vztazích a reakcích zvláště v období reprodukce.

Cílem předloženého druhého vydání naší knihy je seznámit čtenáře se současnými imunologickými poznatky, procesy rozmnožování, a hlavně vyzdvihnout imunopatologické jevy u chorob vázajících se k reprodukci, jež jsou buněčnou i protilátkovou imunitou ovlivněny. Publikace je určena především lékařům a studentům medicíny, aby jim usnadnila pochopení některých velmi složitých – i patologických – procesů v oblasti reprodukce. Měla by též napomoci k uvážlivému rozhodnutí ohledně terapeutického postupu imunologickou cestou u párů, jež dosud řeší svoji sníženou plodnost.

Zdenka Ulčová-Gallová

OBSAH

Slovo úvodem	6
1 Vývoj imunitního systému jedince	11
1.1 Úvod	11
1.2 Prenatální vývoj imunitního systému	11
1.3 Časné postnatální období a faktory ovlivňující další vývoj imunitního systému novorozence	14
1.4 Závěr	17
2 Imunologická tolerance v reprodukci	19
2.1 Tolerance semialogenního plodu – imunologický paradox	19
2.2 Imunitní systém	20
2.3 Imunologická tolerance	21
2.4 Prenatální vývoj imunity	25
2.5 Postnatální vývoj imunity	26
3 Imunologie a imunopatologie mužského pohlavního systému	28
3.1 Fyziologické ochranné mechanismy vývoje a zrání varlat	28
3.2 Vývoj spermií a autoimunitní poškození mužského pohlavního ústrojí	29
3.3 Vlastnosti semenné plazmy	32
4 Imunologie a imunopatologie ženského pohlavního ústrojí	34
4.1 Fyziologické ochranné mechanismy vývoje ovarií	34
4.2 Autoimunitní poškození ovarií	34
4.3 Endometrióza	35
5 Imunologie oplození	40
5.1 Interakce spermie se zona pellucida a oplozovací membránou vajíčka	40
5.2 In vitro fertilizace a imunita	45
6 Imunologie a imunopatologie těhotenství	50
6.1 Fyziologické ochranné mechanismy v místě nidace zárodku	50
6.2 Imunopatologie implantace	52
6.3 Imunopatologie vývoje a funkce placenty	53
6.4 Imunologie preeklampsie	54
7 Systémové autoimunity a gravidita	59
7.1 Definice	59
7.2 Etiologie, patogeneze, výskyt	59
7.3 Antifosfolipidové protilátky a antifosfolipidový syndrom	60
7.4 Systémový lupus erythematodes	65

7.5	Sjögrenův syndrom	66
7.6	Primární vaskulitidy	66
7.7	Revmatoidní artritida	67
7.8	Polymyozitida/dermatomyozitida	68
7.9	Systémová sklerodermie	69
7.10	Možnosti imunointervenční terapie systémových autoimunitních onemocnění u těhotných žen	69
7.11	Vitamin D a lidská reprodukce	72
8	Orgánově specifické autoimunity a gravidita	74
8.1	Definice	74
8.2	Etiologie, patogeneze, výskyt	74
8.3	Autoimunitní endokrinopatie	75
8.4	Gastrointestinální autoimunity.	81
8.5	Diabetes mellitus	83
8.6	Roztroušená skleróza	85
8.7	Závěr	86
9	Úloha mateřského mléka v obraně a vývoji imunitního systému novorozence	87
9.1	Humorální obranné faktory v lidském mléce	87
9.2	Protilátky lidského mléka	89
9.3	Cesty indukce protilátkové odpovědi v lidském mléce.	92
9.4	Buňky kolostra a mléka a jejich význam	93
9.5	Krátkodobý a dlouhodobý dopad kojení na imunitu novorozence	95
10	Astma a gravidita	97
10.1	Mezinárodní doporučení pro péči o astma v těhotenství	97
10.2	Fyziologické změny během těhotenství, respirační fyziologie	97
10.3	Faktory, které ovlivňují průběh astmatu.	98
10.4	Diagnóza asthma bronchiale.	99
10.5	Vliv těhotenství na astma a astmatu na těhotenství.	104
10.6	Průběh astmatu v těhotenství	106
10.7	Péče o astma v těhotenství	106
10.8	Onemocnění nejčastěji souběžně se vyskytující jak v těhotenství, tak u astmatu (komorbidita)	114
10.9	Astma během porodu.	119
10.10	Astma a laktace	120
10.11	Závěr	121
11	Jiné souvislosti s imunologií reprodukce	122
11.1	Onkologická onemocnění a plodnost	122
11.2	Transplantace dělohy a plodnost.	123
11.3	Imunologická antikoncepce	124

12	Využití současných laboratorních metod v reprodukční imunologii.	126
12.1	Metody stanovení autoprotilátek	126
12.2	Metody stanovení buňkami zprostředkované imunity.	136
12.3	Metody stanovení cytokinů.	143
12.4	Další faktory	146
12.5	Spermiogram dle standardů WHO 2010	147
12.6	Závěr	151
	Závěr	154
	Summary.	155
	Seznam použitých zkratk	156
	Seznam ilustrací	160
	Slovo o autorech	161
	Rejstřík	169

1 VÝVOJ IMUNITNÍHO SYSTÉMU JEDINCE

Štěpán Coufal, Helena Tlaskalová-Hogenová, Alena Kokešová,
Miloslav Kverka

1.1 ÚVOD

Lidský imunitní systém se vyvíjí postupně již během intrauterinního života. Funkční kapacita imunitního systému je však nekompletní, a to nejen během prenatálního období, ale i během časných fází postnatálního života, což přispívá ke zvýšení mortality a morbidity.

Mnoho z chybějících faktorů je novorozenci dodáváno matkou: systémová imunita je zajištěna přenosem specifických IgG protilátek přes placentu, imunita na sliznicích je pak zabezpečována širokým spektrem faktorů mateřského kolostra a mléka. Náhlý přechod novorozence do komplexního světa plného antigenních a mitogenních stimulů z kolonizující mikrobioty vede k zánětlivé odpovědi (tzv. *physiological inflammation*) a k rychlému vyžívání obranných mechanismů. Toto kritické období je zabezpečováno faktory přirozené imunity, které hrají hlavní úlohu v první linii obrany proti infekčním podnětům a jsou důležité ve vývoji (nastavení) imunologické rovnováhy v organismu. Narušení vývoje imunitního systému v časných obdobích života pak může v pozdějším věku vést ke vzniku různých imunopatologických stavů, metabolických či kardiovaskulárních chorob.

1.2 PRENATÁLNÍ VÝVOJ IMUNITNÍHO SYSTÉMU

Počátek vývoje imunitního systému je v časném embryonálním období spojen s tvorbou krvetvorby (hematopoezou). Buňky imunitního systému vznikají z kmenových buněk žloutkového vaku, jež představují společný základ pro hematopoetický a imunitní systém. Hematopoeza se ve žloutkovém vaku lidského plodu objevuje od 3. týdne gestace. Kolem 5.–6. týdne gestace dochází k migraci pluripotentních kmenových buněk do dalších tkání, které se účastní krvetvorby, tj. fetálních jater, sleziny a kostní dřene. Zatímco fetální játra se krvetvorby účastní po celou dobu nitroděložního vývoje, slezina se krvetvorby účastní pouze přechodně (3.–5. měsíc gestace). Od 5. měsíce gestace se hlavním místem krvetvorby stává kostní dřeň.

Diferenciace kmenových buněk ve specifické buněčné linii je ovlivňována kontaktem a působením tkáňového prostředí, v němž pokračuje proliferace a další vývoj buněk. Dochází tak k ustanovení stabilních buněčných linií. Podle indukčního vlivu tkáňového prostředí se vyvíjejí erytrocyty, granulocyty, monocyty, megakaryocyty a lymfocyty z prekurzorových buněk.

1.2.1 Adaptivní imunita

T lymfocyty

Okolo 5.–7. týdne gestace se zakládá thymus z třetí žaberní výchlípký a od 8.–9. týdne gestace migrují prekurzorové buňky z oblastí fetální hematopozeze do thymu. V thymu se demarkuje kůra a dřev. V kůře thymu dochází k procesu přeskupování genů, jež kódují T-buněčný receptor (TCR), a k pozitivní selekci thymocytů rozpoznávající vlastní molekuly HLA. Thymocyty jsou v tomto stadiu označovány jako kortikální thymocyty. Během migrace do dřev thymu dochází k maturaci a získání imunokompetence T lymfocytů, pro kterou je nezbytný kontakt s epitelovými buňkami thymu a dendritickými buňkami.

Thymocyty procházejí negativní selekcí, přičemž thymocyty rozpoznávající vlastní antigenní struktury v kontextu s vlastními molekulami HLA s vysokou afinitou jsou odstraňovány programovanou buněčnou smrtí – apoptózou. Tento proces umožňuje fyziologicky eliminovat autoreaktivní buňky. Některé autoreaktivní buňky však nejsou odstraněny a vyvíjejí se z nich tzv. přirozené regulační T lymfocyty (nT_{reg}). Zachovány jsou thymocyty, které rozpoznaly vlastní antigenní struktury v kontextu s vlastními molekulami HLA s nízkou afinitou. Tyto buňky si zachovávají expresi CD4 nebo CD8 molekul a jsou označovány jako naivní zralé T lymfocyty (také dřevové thymocyty). Naivní T lymfocyty jsou funkční, opouštějí thymus a migrují do periferních lymfatických struktur.

B lymfocyty

Prekurzory B lymfocytů jsou přítomné ve fetálních játrech a omentu okolo 8.–9. týdne gestace. Zatímco omentum se vývoje B lymfocytů účastní pouze přechodně, fetální játra představují významné místo B-buněčného vývoje. Okolo 16.–20. týdne gestace jsou B lymfocyty hojně přítomné také v kostní dřevě.

Podobně jako v případě vývoje T lymfocytů dochází rovněž během vývoje B lymfocytů k přeskupování genových segmentů a ke změnám genomu kódujícího imunoglobuliny. Vznikají tak klonálně specifické povrchové imunoglobuliny představující povrchový B-buněčný receptor (BCR) ve formě IgM a IgD (10.–13. týden gestace). Autoreaktivní klony B lymfocytů, jež rozpoznaly skrze BCR vlastní antigenní struktury s vysokou afinitou, jsou eliminovány apoptózou. Stejně tak jsou odstraňovány buňky, které prostřednictvím B-buněčného receptoru vlastní antigenní struktury nerozpoznaly vůbec. Tyto děje se odehrávají na úrovni nezralých B lymfocytů. V důsledku tohoto přísně regulovaného procesu zůstávají pouze buňky, jež rozpoznaly vlastní antigenní struktury s nízkou afinitou.

Během 11.–12. týdne gestace se B lymfocyty dostávají do fetální cirkulace, přičemž zastoupení B1 buněk přesahuje počty u dospělých jedinců. V periferní krvi, kostní dřeni a v játrech se od poloviny 12. týdne gestace objevují B lymfocyty s membránovými imunoglobuliny třídy IgM, IgG a IgA. Vývoj zralých B lymfocytů je dokončen v periferních lymfatických orgánech. Od 10. týdne gestace mohou B lymfocyty plodu pod vlivem antigenní stimulace proliferovat a diferencovat se v plazmatické buňky produkující protilátky třídy IgM – to je vystupňováno například v důsledku intrauterinních infekcí. Hladina IgG v séru se pomalu zvyšuje v období mezi 6. a 22. týdnem gestace. Od 26. týdne gestace pak dochází k silnému vzestupu hladiny IgG v cirkulaci plodu, což je výsledkem transplacentárního přenosu mateřského IgG.

Z výše uvedeného vyplývá, že plod disponuje B lymfocytovým systémem schopným diferencovat se v buňky tvořící protilátky a nízká hladina tvorby protilátek je důsledkem malé antigenní stimulace během nitroděložního života. Nízká hladina protilátek plodu je během nitroděložního života dominantně kompenzována prostřednictvím transplacentárního přenosu maternálních protilátek třídy IgG do cirkulace plodu prostřednictvím neonatálního receptoru (FcRn). Transplacentární přenos IgG začíná ve 13. týdnu gestace, a v době porodu může hladina mateřských IgG protilátek v cirkulaci plodu dokonce převyšovat mateřské hodnoty. Tento proces, představující pasivně získanou imunitu, zajišťuje plodu a posléze i novorozenci okamžitou ochranu před některými virovými infekcemi, jež matka sama prodělala nebo proti nim byla účinně očkována (např. spalničky, hepatitida A, zarděnky, dětská obrna, záškrt či plané neštovice).

1.2.2 Přirozená imunita

Vývoj monocyto-makrofágového systému začíná ve žloutkovém vaku od 2.–4. týdne gestace a dále významně pokračuje ve fetálních játrech. Dendritické buňky jsou přítomné okolo 15. týdne gestace a monocyty se v cirkulaci plodu objevují kolem 18.–20. týdne gestace.

V porovnání s buňkami dospělých jedinců mají monocyty, makrofágy a dendritické buňky plodu sníženou odpovídatost na podněty, sníženou expresi molekul HLA II. třídy a kostimulačních molekul (CD80, CD86), důsledkem čehož je snížena jejich schopnost antigenní prezentace a aktivace T lymfocytů s cílem fyziologicky omezit imunitní reakce, které by mohly ve zvýšené míře poškozovat i vlastní struktury. Dendritické buňky stimulují preferenčně vyzrávání subsetu T_H2 . V důsledku dominující T_H2 odpovědi makrofágy vykazují sníženou odpověď na stimulaci $IFN-\gamma$ a je pro ně typický přesmyk do subsetu M2.

U monocytů a neutrofilních granulocytů byla popsána snížená schopnost chemotaxe a adheze. Neutrofilní granulocyty vykazují sníženou mikrobicidní schopnost a sníženou tvorbu molekul zúčastněných v procesu NETózy (*neutrophil extracellular trap*). To je v době porodu kompenzováno jejich vysokým počtem. U neutrofilních granulocytů předčasně narozených dětí bylo navíc popsáno

dlouhodobé snížení jejich funkce. U buněk přirozené imunity byla dále popsána snížená exprese či signalizace některých receptorů přirozené imunity (*pattern recognition receptors*), které rozpoznávají molekulární vzory asociované s mikrobi (MAMPs – *microbe-associated molecular patterns*) nebo nebezpečím (DAMPs – *danger-associated molecular patterns*). Buňky novorozence tak odpovídají na stimulaci méně než u dospělého jedince.

NK buňky se objevují od 6. týdne gestace a v době porodu dosahují počtu srovnatelného s počtem v periferní krvi dospělých. V porovnání s NK buňkami dospělých jedinců exprimují vysoké hladiny inhibičního receptoru CD94/NKG2A, nízké hladiny aktivačních receptorů CD94/NKG2C, KIR a vykazují sníženou cytotoxickou aktivitu, schopnost degranulace a tvorbu prozánětlivých cytokinů TNF- α a IFN- γ .

Postupná proliferace a diferenciacie buněčného substrátu imunitního systému plodu je provázána i zvyšující se syntézou sérových proteinů s imunologickou aktivitou. Syntéza komplementu začíná ve fetálních játrech během I. trimestru a kolem 19.–20. týdne gestace sérum plodu obsahuje všechny složky komplementu. V době porodu dosahuje syntéza komplementu více než 2/3 hladiny dospělých jedinců, avšak aktivita komplementového systému je v době porodu a v časně fázi po narození výrazně omezená. Kromě placentární bariéry, plodových obalů, transplacentárně přenesených mateřských IgG protilátek a vlastních rozvíjejících se imunitních mechanismů se na obraně plodu dále podílí také plodová voda prostřednictvím obsažených antimikrobiálních molekul (např. cystatin, laktoferrin, lysozym, beta-defenziny) a imunitních buněk (např. přirozené lymfoidní buňky, NK buňky, neutrofilní granulocyty a T lymfocyty).

1.3 ČASNÉ POSTNATÁLNÍ OBDOBÍ A FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ DALŠÍ VÝVOJ IMUNITNÍHO SYSTÉMU NOVOROZENCE

Zatímco některé funkce jsou v okamžiku porodu vyvinuté až na efektorovou úroveň, pro jiné je připravený příslušný buněčný substrát, protože jejich funkce nemohla být plně vyvinuta v důsledku redukované antigenní stimulace během nitroděložního vývoje.

Porod představuje náhlou změnu životních podmínek, přerušeni mateřské ochrany a masivní expozici cizorodým antigenům prostředí. V době porodu je proto fyziologicky snížena prozánětlivá odpověď, cytotoxická kapacita, stejně tak schopnost zpracovávat antigeny a poskytovat kostimulační signály s cílem zabránit poškození vlastních struktur novorozence silnou zánětlivou odpovědí vyvolanou touto masivní antigenní expozicí. Tyto faktory jsou zároveň zodpovědné za větší náchylnost novorozence k infekcím. Dochází ke kolonizaci mikroorganismy, jež fyziologicky kolonizují epitelové povrchy jedince (kůže, horní cesty dýchací, uro-

genitální a gastrointestinální trakt) a vytvářejí tak komplexní ekosystémy – souhrnně označované jako mikrobiota (dříve též jako mikroflóra).

Díky gnotobiotickým laboratořím, které umožnily studium vývoje imunitního systému na bezmikrobních zvířatech, bylo zjištěno, že tato stimulace imunitního systému jedince v časném postnatálním období významným způsobem ovlivňuje jeho další vývoj a maturaci a stejně tak indukci regulačních mechanismů. Dochází k modulaci T_H2 odpovědi, jež dominovala v průběhu nitroděložního vývoje a fyziologicky potlačovala riziko T_H1/T_H17 poškozujícího zánětu, ve směru T_H1 imunitní odpovědi a k indukci a vyžívání T-regulačních lymfocytů. V průběhu života se z naivních T a B lymfocytů, exprimujících vysoké hladiny CD45RA, stávají paměťové lymfocyty (CD45RO), které zajišťují rychlou a efektivní adaptivní imunitní odpověď při opětovném setkání s konkrétním antigenem.

Tvorba protilátek u novorozence se v porovnání s dospělými jedinci liší jak kvantitativně, tak kvalitativně. Během prvních měsíců po narození dochází k poklesu mateřských IgG protilátek. Kolem 3. měsíce života je hladina mateřského IgG v cirkulaci velmi snižena, přičemž tvorba vlastních IgG protilátek ještě není plně rozvinutá. Dochází tak k poklesu celkové koncentrace IgG v cirkulaci kojence. Ačkoli tvorba protilátek po narození postupně stoupá, hladiny sérových imunoglobulinů odpovídající dospělým jedincům je dosaženo výrazně později (IgM ve 3. roce, IgE po 4. roce, IgG po 6. roce, IgA okolo 12. roku, sekreční IgA ve slinách však již okolo 1. roku po narození). Pokles mateřských a nedostatečné množství vlastních protilátek tak představuje příčinu snížení obranyschopnosti dítěte v tomto období.

Ochrannou úlohu plní sekreční IgA obsažený v mateřském mléce. Převládajícím izotypem tvořených protilátek jsou v tomto období IgM. Do třídy IgM patří i tzv. přirozené protilátky, které jsou nízkoafinitní a polyspecifické a podílejí se kromě obrany organismu také na odstraňování rozpadlých produktů vlastních buněk. Prostřednictvím izotypového přesmyku se vytvářejí protilátky různých tříd. Následně pak pomocí interakce pomocných T lymfocytů s B lymfocyty dochází k afinitní maturaci, kdy protilátky zvyšují svou afinitu.

1.3.1 Kolonizace a její imunomodulační účinky

Na vyžívání imunitního systému jedince a utváření optimální mikrobioty se významným způsobem podílí typ porodu, výživa dítěte a matky a další zevní faktory. Díky novým, avšak neobecně přijatým poznatkům o mikrobiotě placenty se uvažuje o tom, že k počátečnímu osídlování bakteriemi může docházet již prenatálně. Na mikrobiální kolonizaci tak může mít velký vliv i délka gestace.

V prvním týdnu po narození dochází k masivní mikrobiální kolonizaci a utvoření velmi komplexní fyziologické mikrobioty novorozence, která zraje a vyvíjí se do 3. roku života. V průběhu tohoto období dochází k dynamickým změnám v jejím složení. Největším zdrojem antigenů pro imunitní systém novorozence

jsou především mikroorganismy osidlující trávicí trakt, zejména střevo. Na utváření diverzity, denzity a aktivity mikrobioty neonatálního střeva mají vliv vnitřní i vnější faktory: vnitřní zahrnují genotyp hostitele i celkovou zralost gastrointestinálního traktu (GIT); mezi vnější patří již zmíněný způsob porodu, druh výživy, užívání antibiotik a přítomnost mikroorganismů v okolním prostředí.

Bylo popsáno, že novorozenci narození vaginálním způsobem jsou kolonizováni rektovaginální mikrobiotou matky, v jejich střevě tak dominují bakterie rodu *Lactobacillus* a *Prevotella*. Ty jsou méně zastoupené u novorozenců narozených císařským řezem, kde naopak dominují bakterie typické pro osídlení kůže, např. *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* spp. Tyto děti jsou také více ohroženy potenciálně patogenními mikroby typu *Clostridium difficile* a některými kmeny *Escherichia coli*.

Podobně bylo popsáno ovlivnění střevní mikrobioty novorozenců způsobem výživy, kde mateřské mléko (MM) významně podporuje růst bakterií rodu *Bifidobacterium*. Naopak děti krmené umělou výživou jsou více kolonizovány *C. difficile*, *Bacteroides fragilis*, *E. coli* a ostatními zástupci čeledi *Enterobacteriaceae*. MM je komplexní tekutina, která má nezastupitelnou roli ve výživě dítěte a její složení podléhá dynamickým změnám reflektujícím potřeby kojeného dítěte. Kojené děti mají nižší riziko různých akutních a chronických onemocnění (průjemová onemocnění, infekce močových cest, bakteriální meningitidy, alergická onemocnění, diabetes mellitus 1. typu, nekrotizující enterokolitida a další gastrointestinální onemocnění) než děti krmené umělou výživou.

MM je významným zdrojem složek jak humorálních (sekreční IgA, antimikrobiální peptidy, cytokiny), tak i celulárních (monocyty, makrofágy, neutrofilní granulocyty, NK buňky a lymfocyty), poskytujících kojenci ochranu v období po ukončení transplacentárního přenosu mateřských IgG protilátek, a usnadňuje mu tak přechod do zevního prostředí, kdy jeho imunitní systém není zcela vyzrálý. Prostřednictvím obsažených růstových faktorů (epidermálního růstového faktoru [EGF]), hormonů (oxytocinu, prolaktinu, prostaglandinů), enzymů (peroxidázy, lipoproteinové lipázy, α -amylázy), přenašečů a dalších bioaktivních molekul (např. mozkového neurotrofního faktoru [BDNF] a ciliárního neurotrofního faktoru [CNTF]) MM zásadním způsobem ovlivňuje vývoj tělních soustav včetně nervové tkáně, trávicího traktu a imunitního systému. Díky cytokinům (IL-6, IL-10, TGF- β) a solubilním receptorům se MM podílí také na udržování homeostázy a regulaci imunitní odpovědi. Důležitý význam pro funkci imunitního systému a jeho regulaci mají obsažené polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (LC-PUFA), obzvláště díky optimálnímu poměru živin. Z výše uvedených důvodů se umělé kojenecké výživy snaží reflektovat složení mateřského mléka, a jsou proto obohacovány mj. o vybrané probiotické oligosacharidy a esenciální mastné kyseliny (více viz kap. 9).

V poslední době se ukazuje prospěšný význam některých probiotik, jejich komponent a produktů, které pozitivně ovlivňují střevní mikrobiotu, vedou

ke zlepšení bariérové funkce střeva, stimulaci slizničního imunitního systému a ovlivnění produkce pro- i protizánětlivých mediátorů. Úspěšně byla probiotika použita například v prevenci nekrotizující enterokolitidy u nedonošených dětí, při předcházení průjmu po léčbě antibiotiky a jako prevence vzniku pouchitidy po chirurgické léčbě ulcerózní kolitidy. Existují také studie ukazující pozitivní vliv probiotik na výskyt kojeneckého ekzému, nikoli však na vývoj respiračních alergií a vznik alergické senzitivace.

Během batolecího období dochází k zesílení kontaktu s faktory vnějšího prostředí a mikrobiálními podněty. Dítě je postupně odstaveno a fyziologický vývoj imunitního systému je dále významně ovlivňován složením jeho stravy.

1.4 ZÁVĚR

Vývoj imunitního systému je dynamický proces, kdy se pod vlivem vnějších faktorů rozvíjí geneticky daný potenciál imunitního systému. V časném postnatálním období dochází ke kolonizaci mikroorganismy, a tím k masivní expozici cizorodým antigenům. Utváří se fyziologická mikrobiota, jež poskytuje ochranu před patogenními mikroorganismy a je nezbytná pro další vývoj a maturaci imunitního systému. Výživa mateřským mlékem nejen podporuje utváření fyziologické mikrobioty, ale má zásadní roli v ochraně před infekcemi a významným způsobem reguluje imunitní systém.

Poděkování

Práce vznikla za podpory grantu GAČR 17-11275S.

■ **Tabulka 1.1** Shrnutí vlivu zevního prostředí na vývoj imunitního systému

Nitroděložní období	<ul style="list-style-type: none"> • buněčný a orgánový základ imunitního systému • relativní oddělení od podnětů vnějšího světa, komunikace matka – plod • transplacentární přenos mateřských IgG protilátek
Porod	<ul style="list-style-type: none"> • masivní expozice externím antigenům • pozitivní význam přirozeného porodu, kolonizace mateřskou mikrobiotou
Novorozenecké a kojenecké období	<ul style="list-style-type: none"> • funkční nevyzrálost složek imunitního systému jako součást fyziologických regulací s cílem zabránit poškozujícímu zánětu v důsledku masivní expozice DAMP/PAMP • nezkušenost T a B lymfocytů adaptivního imunitního systému • pozitivní vliv kojení na vývoj imunitního systému, nervové tkáně, trávicího traktu a střevní mikrobioty

Tabulka 1.2 Odlišnosti imunitního systému novorozence a dospělého jedince

Neutrofilní granulocyty	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ funkce, migrace, adheze, odpovědavnost, oxidativní vzplanutí • plná funkce po dosažení porodní váhy • u nedonošených novorozenců funkce dlouhodobě snižena
Monocyty	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ schopnost prezentovat antigeny a poskytovat kostimulační signály • u makrofágů přesmyk do M2c
Dendritické buňky	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ schopnost prezentovat antigeny a poskytovat kostimulační signály, prozánětlivá odpovědavnost na podněty • stimulace preferenčního vyzrávání do T_H2
NK buňky	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ cytotoxická kapacita, cytoplazmatická granula, schopnost degranulace, tvorba IFN-γ
T lymfocyty	<ul style="list-style-type: none"> • vysoký počet T-regulačních buněk po narození • dominance T_H2 odpovědi po narození
B lymfocyty	<ul style="list-style-type: none"> • po narození převaha B1 • tvorba polyspecifických nízkofinitních IgM protilátek

LITERATURA

1. Clapp DW: Developmental regulation of the immune system. *Semin Perinatol* 2006; 30: 69–72.
2. Coufal Š a kol.: Role střevní bariéry, mikrobioty a imunitního systému v patogenezi nekrotizující enterokolitidy. *Alergie* 2016; 3: 172–182.
3. Holt PG, Jones CA: The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy* 2000; 55: 688–697.
4. Krejssek J, Andrýs C, Krčmová I: *Imunologie člověka*. Garamon, Hradec Králové, 2016.
5. Kumar SKM, Bhat BV: Distinct mechanisms of the newborn innate immunity. *Immunol Lett* 2016; 173: 42–54.
6. Levy O: Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 379–390.
7. Lodinová-Žádníková R, Slavíková M, Tlaskalová-Hogenová H et al.: The antibody response in breast-fed and non-breast-fed infants after artificial colonization of the intestine with *Escherichia coli* O83. *Pediatr Res* 1991; 29: 396–399.
8. Nevorál J a kol.: *Praktická pediatrická gastroenterologie, hepatologie a výživa*. Mladá fronta, Praha, 2013.
9. Tlaskalová-Hogenová H, Šterzl J, Štěpánková R et al.: Development of immunological capacity under germfree and conventional conditions. *Ann N Y Acad Sci* 1983; 409: 96–113.

2 IMUNOLOGICKÁ TOLERANCE V REPRODUKCI

Vladimír Holář

2.1 TOLERANCE SEMIALOGENNÍHO PLODU – IMUNOLOGICKÝ PARADOX

Skutečnost, že se geneticky odlišný plod může úspěšně vyvíjet v těle matky, představuje jednu z největších a stále fascinujících záhad fyziologie. Přestože již bylo dosaženo velkého pokroku v poznávání mechanismů zajišťujících toleranci plodu, řada otázek s tím spojených zůstává stále nezodpovězená. Nepochybně však v toleranci plodu hraje významnou roli imunitní systém.

Základní funkcí imunitního systému je rozlišovat antigeny těla vlastní a cizí a proti cizím reagovat. Imunitní systém chrání organismus před viry, bakteriemi, parazity a jinými patogeny a také zajišťuje eliminaci poškozených, infikovaných nebo maligních buněk. Tato schopnost rozlišovat cizí antigeny a reagovat proti nim nemusí být pro organismus vždy prospěšná.

Příkladem je imunologické odhojování cizích tkání nebo orgánů při léčebných transplantacích. Geneticky odlišné tkáně, jako jsou srdce, ledvina či kůže, pocházející od alogenního nebo semialogenního dárce jsou imunitním systémem rozpoznávány jako cizí a bez výjimky odhojovány během jednoho až dvou týdnů po transplantaci. Organismy však vyvinuly mechanismy, které imunitnímu systému brání odhojovat antigenně odlišný plod. Vytvářející se zárodek od geneticky odlišného otce představuje tzv. semialogenní transplantát (někdy i zcela alogenní – v případech darovaného embrya), který v těle matky přežívá navzdory normální reaktivitě jejího imunitního systému proti všem jiným antigenům. Tento paradox zajišťují mechanismy **imunologické tolerance** a zvláštnosti trofoblastu a dalších placentárních obalů, které plod v těle matky ochraňují.

Imunologická tolerance je definována jako stav, kdy imunitní systém nereaguje na jeden jediný antigen (nebo skupinu antigenů), ale zároveň normálně reaguje na jiné antigeny. Právě přežívání plodu od geneticky odlišného otce (plod nese polovinu antigenů od otce a polovinu od matky, je to tzv. semialogenní transplantát) je typickým příkladem fyziologického stavu, kde se uplatňuje imunologická

tolerance. Matka toleruje antigeny plodu, ale normálně reaguje na jiné antigeny. Dnes je zřejmé, že při toleranci plodu se uplatňuje více různých imunologických a anatomicko-fyziologických mechanismů.

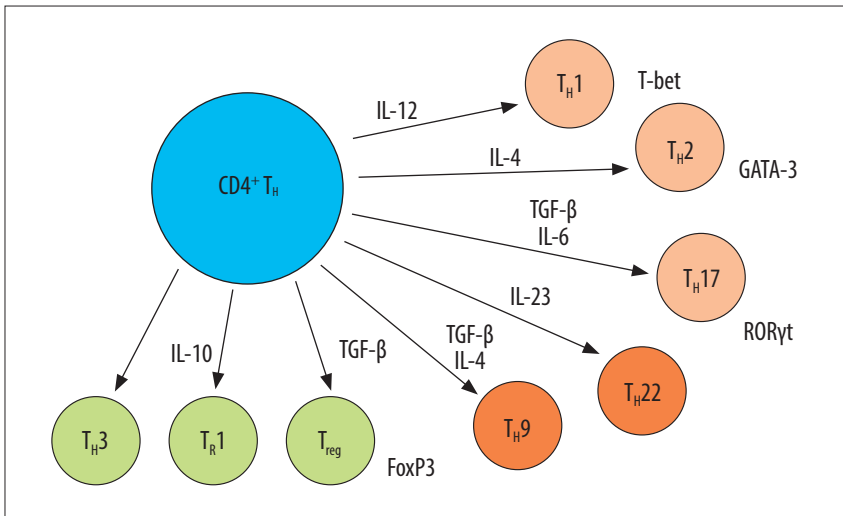
2.2 IMUNITNÍ SYSTÉM

Imunitní systém člověka zahrnuje dvě vzájemně interagující složky – tzv. **přirozenou** (vrozenou, nespecifickou) imunitu, která chrání organismus již před setkáním s cizím antigenem, a imunitu **adaptivní** (získanou, specifickou), která se vyvíjí až po setkání s antigenem a je přísně antigeně specifická. Obě tyto složky však spolu těsně a účinně spolupracují: buňky přirozené imunity na svém povrchu prezentují antigeny buňkám adaptivní imunity a opačně – buňky adaptivní imunity ovlivňují funkce buněk přirozené imunity. Jelikož imunologická tolerance je specifický děj, právě buňky specifické imunity v něm hrají velmi důležitou roli.

Specifické imunologické reakce jsou zajišťovány dvěma populacemi buněk, které nesou antigeně specifické receptory. Jsou to T a B lymfocyty. Populace T lymfocytů, která se vyvíjí v brzlíku (thymu), zajišťuje buňkami zprostředkovanou imunitu. Naproti tomu B lymfocyty vyvíjející se v kostní dřeni jsou odpovědné za produkci protilátek. Obě tyto populace buněk vzájemně interagují a kooperují. Produkce protilátek je regulována populacemi T lymfocytů a z druhé strany se i B lymfocyty podílejí na prezentaci antigenů T buňkám a mají také imunoregulační vlastnosti. Na rozdíl od B buněk T lymfocyty nikdy neprodukují protilátky, ale vykazují cytotoxické reakce a mají pomocné a regulační funkce včetně schopnosti inhibovat imunitní reakce.

V rámci populace T lymfocytů rozeznáváme několik fenotypově a funkčně odlišných subpopulací, které se liší spektrem produkovaných cytokinů a také svými selektivními funkcemi. Dvě základní populace T lymfocytů jsou představovány buňkami nesoucími buď znak CD8 (kam patří většina cytotoxických T buněk), nebo buňkami exprimujícími znak CD4, které jsou označovány hlavně jako pomocné (*helper*, T_H) lymfocyty. V rámci CD4-pozitivních T_H lymfocytů rozlišujeme další subpopulace označované T_H1 , T_H2 , T_H17 , T_H9 a T_H22 , které se liší spektrem produkovaných cytokinů, expresí charakteristických transkripčních faktorů a také svými specifickými funkcemi při imunitní reakci. Vývoj těchto subpopulací závisí na cytokinovém prostředí, ve kterém se dané lymfocyty vyvíjejí (obr. 2.1). Do skupiny CD4-pozitivních T lymfocytů patří také populace regulačních T lymfocytů (T_{reg}), která tlumí imunitní reakce.

Populace B lymfocytů produkuje především protilátky, ale má také imunoregulační vlastnosti, jak bylo popsáno u subpopulace tzv. regulačních B buněk (B_{reg}). Tyto B buňky produkují vysoké hladiny inhibičního interleukinu 10 (IL-10), prostřednictvím kterého tlumí imunitní reakce.



Obr. 2.1 Vývoj jednotlivých subpopulací T_H lymfocytů. Vývoj je determinován cytokinovým prostředím, ve kterém se lymfocyty nacházejí. Jednotlivé subpopulace jsou pak charakterizovány přítomností specifických transkripčních faktorů (T-bet, GATA-3, RORγt, FoxP3)

Obě tyto základní populace buněk specifické imunity, tj. T a B lymfocyty, jsou odpovědné za antigenně specifické imunitní reakce, podílejí se na odhojování transplantátů, ale mohou také imunitní reakce inhibovat a tím zajišťovat imunologickou toleranci. Tím se podílejí na toleranci plodu v těle matky.

2.3 IMUNOLOGICKÁ TOLERANCE

Základní vlastností imunitního systému je schopnost nereagovat proti vlastním antigenům (tolerovat vlastní) a přitom reagovat na cizí antigeny. Organismy vyvinuly řadu mechanismů, které zajišťují toleranci vlastních antigenů. Většina těchto mechanismů je využívána také k toleranci plodu.

Možnost navodit specifickou imunologickou toleranci byla poprvé prokázána v roce 1953 na experimentálním modelu transplantační tolerance. V Anglii prof. Peter Brian Medawar se svými spolupracovníky (Billingham et al., 1953) a u nás prof. Milan Hašek (Hašek, 1953) nezávisle na sobě ukázali, že podání antigenu (cizích buněk) do organismu během jeho embryonálního vývoje indukuje nereaktivitu vůči tomuto antigenu v dospělosti, zatímco imunitní systém takto ovlivněného jedince normálně reaguje vůči jiným antigenům. Následné studie mechanismu imunologické tolerance ukázaly, že se více různých mechanismů

podílí na udržení stavu tolerance, a později bylo prokázáno, že většina těchto mechanismů přispívá i k toleranci geneticky odlišného plodu v těle matky.

Význam imunologické tolerance při ochraně plodu je také podporován zjištěním, že placentární obaly chránící vyvíjející se embryo neizolují plod zcela od imunitního systému matky. Bylo prokázáno, že buněčný mikrochimerismus existuje na rozhraní mezi plodem a tkáněmi matky v oblasti deciduy (tj. mukózní tkáň endometria) v děloze (Nelson, 2002) a že v séru matek je možné detekovat protilátky proti fetálním HLA antigenům (Lee et al., 2013). Tyto nálezy zdůrazňují význam regulačních funkcí imunitního systému a imunologické tolerance v těhotenství.

2.3.1 Mechanismy imunologické tolerance

Základním mechanismem imunologické tolerance, který se podílí na nereaktivitě proti tělu vlastním složkám (autotolerance), je **klonální delece**. Tento mechanismus zajišťuje eliminaci buněčných klonů, které by reagovaly proti vlastním antigenům. Předpokládá se, že když se vyvíjející thymocyt v brzlíku ve stadiu dvojité pozitivní buňky ($CD4^+ CD8^+$ buňka) setká s antigenem s vysokou afinitou, dojde k jeho apoptické smrti. Tímto mechanismem jsou v brzlíku eliminovány potenciálně autoreaktivní buněčné klony. Víme však, že i když je klonální delece autoreaktivních buněk základním mechanismem autotolerance, není to mechanismus jediný. Ne všechny autoantigeny jsou exprimovány v brzlíku nebo se do brzlíku dostávají. Naproti tomu také některé exogenní antigeny podané do organismu se mohou dostat do brzlíku a tam se podílet na inhibici vývoje populací potenciálně specificky reaktivních buněčných klonů. Je tedy možné předpokládat, že i antigeny uvolňované z plodu se mohou dostat do krevního oběhu matky, a tudíž i do brzlíku, kde by mohly přispívat k delecii specifických buněčných klonů.

Je však zřejmé, že ne všechny potenciálně reaktivní buněčné klony jsou eliminovány během svého vývoje v brzlíku. Proto se musejí uplatňovat další imunologické mechanismy, které tlumí reaktivitu buněk, jež unikly klonální delecii. Jedním z těchto mechanismů, který přispívá k zajištění tolerance vlastních složek, je buněčná **anergie**. Anergie je definovaná jako stav, kdy lymfocyt v organismu přežívá, odpovídá na růstové faktory, ale nereaguje na specifický antigen. Anergní buňka vzniká, když se lymfocyt setká s antigenem na jiné než profesionální buňce mající schopnost prezentovat antigen, tj. na buňce neposkytující druhý aktivizační signál (první aktivizační signál představuje rozpoznání antigenu přes specifický receptor, druhým signálem je interakce povrchových molekul na T lymfocytu a na buňce prezentující antigen). Anergní buňka pak nereaguje na antigen, který vyvolal její anergii, ale normálně odpovídá na jiné signály. Je možné předpokládat, že anergní buňky vznikají i na pomezí mezi tkáněmi plodu a matky a nebo na periférii, kde jsou antigeny uvolněné z plodu zachyceny