

AKUTNÍ ÚČINEK UV ZÁŘENÍ NA IMUNITNÍ SYSTÉM

¹Jana ROSTOVÁ, ²MUDr. Lenka BORSKÁ, Ph.D., ¹doc. Ing. Zdeněk FIALA, CSc., ³prof. RNDr. Jan KREJSEK, CSc.

¹Univerzita Karlova v Praze, Ústav hygieny a preventivního lékařství Lékařské fakulty v Hradci Králové

²Univerzita Karlova v Praze, Ústav patologické fyziologie Lékařské fakulty v Hradci Králové

³Ústav klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové

Souhrn

Akutní expozice ultrafialovému záření (UV) vyvolává v organismu řadu akutních změn, jejichž rozsah a intenzita jsou modifikovány individuálními faktory. Cílem předkládané práce je přehled aktuálních poznatků o mechanismech akutního působení UV záření na imunitní systém. Imunitní změny vyvolané expozicí UV záření se projevují především poruchou protinádorové imunity, kontaktní hypersenzitivitou (CHS) i reakcí oddálené přecitlivělosti (DTH, tuberkulinová, granulomatózní) a vznikem „hapten specifické tolerance“. Mezi významné chromofory pro fotoimunosupresi patří kyselina urokanová a vznik thyminových dimerů v DNA (CPDs). Následkem UV záření jsou aktivovány transkripční faktory, např. AP-1, AP-2, NFκB, Stat3, TOB1, BTG2 a p52. Jiné transkripční faktory jsou naopak potlačeny (Id-rodina represorů transkripce a NF-Y, cykliny). Po akutní expozici UV záření se zvyšuje uvolňování prostaglandinů (PGE₂) a imunosupresivních cytokinů (TNFα, IL-10, IL-4 a IL-11). Snižuje se počet Langerhansových buněk, mění se jejich tvar a exprese povrchových molekul s následnou poruchou antigenní prezentace a přesměrováním imunitní odpovědi k Th2 typu. Přiblížení mechanismů vybraných akutních účinků UV záření na imunitní systém může přispět k efektivnější prevenci a účinnější terapii onemocnění indukovaných UV zářením.

Klíčová slova: Ultrafialové záření; Imunologické změny.

Acute Effects of Ultraviolet Radiation on the Immune System

Summary

Long term exposure to ultraviolet radiation (UV) causes many acute changes in organism, extent and intensity of which are modified by individual factors. The aim of this work is the review of current experience with mechanisms of acute effects of UV radiation on the immune system. Immune changes, caused by exposure to UV radiation, are manifested at first with antitumorous immunity damage, contact hypersensitivity (CHS) and late hypersensitivity reactions (DTH, tuberculine, granulomatous) and also with “hapten specific tolerance”. Urocanic acid and the rise of thymine dimers in DNA (CPDs) belong among significant chromophores for photoimmunosuppression. In consequence of UV radiation, the transcriptional factors e.g. AP-1, AP-2, NFκB, Stat3, TOB1, BTG2 and p53 are activated. Other transcriptional factors are inhibited (Id-family of transcription repressors and NF-Y, cyclines). Prostaglandins (PGE₂) and immunosuppressive cytokines (TNFα, IL-10, IL-4 and IL-11) release increases after acute exposure to UV radiation. The number of Langerhans' cells decreases; they change their shape and expression of surface molecules with the consequence of antigen presentation damage and immune answer redirection towards Th2 type.

Acquaintance with the mechanisms of selected acute UV radiation effects on the immune system may contribute to more effective prevention and therapy of diseases caused by UV radiation.

Key words: Ultraviolet radiation; Immunological changes.

Úvod

Ultrafialové (UV) záření patří mezi významné vlivy prostředí, které mohou determinovat stav lidského zdraví. Expozice UV záření vyvolává v organismu řadu akutních a chronických změn, jejichž rozsah a intenzita jsou modifikovány individuálními faktory, jako jsou doba a intenzita expozice, gene-

ticky podmíněná odolnost a aktuální stav organismu.

Imunitní změny se podílejí na etiologii všech ostatních poškození vyvolaných expozicí UV záření (26). UV záření modifikuje buněčné imunitní reakce, potlačuje imunitní odpověď na nádorové antigeny a vede k lokálnímu či systémovému vymizení reakcí kontaktní hypersenzitivity a granulomatózních reakcí (19). Za vznik specifické tolerance na-

vozené UV zářením, jsou odpovědný specifické Ts-lymfocyty. Klíčovým mechanismem těchto změn je poškození antigen prezentujících buněk a s tím spojená převaha Th2 typu imunitní odpovědi. Na tomto zvratu se UV záření podílí i nepřímo, stimulací produkce imunomodulačních cytokinů keratinocyty. Další změnou vyvolanou expozicí UV záření je potlačení funkcí „natural killers“ v apoptotických a lytických procesech (5).

Cílem předkládané práce je přehled aktuálních poznatků o mechanismech akutního působení UV záření na imunitní systém. Přiblížení mechanismů vybraných akutních účinků UV záření na imunitní systém může přispět k efektivnější prevenci a účinnější terapii onemocnění indukovaných UV zářením.

Imunologické změny

Součástí imunitního systému kůže jsou keratinocyty (produkce cytokinů), Langerhansovy buňky (LC, antigen prezentující buňky), T-Ly, endoteliální buňky (důležité především expresí adhezních molekul). Langerhansovy buňky reagují na antigenní stimulaci migrací do spádových uzlin, kde aktivují T-Ly. Tyto elementy cestují zpět do místa zánětu, kde jsou dále stimulovány lokálně produkovánými cytokiny (především z keratinocytů a žírných buněk). Cytokiny produkované T-Ly určují typ imunitní odpovědi.

Ultrafialové záření oblasti UV suprimuje imunitu, v závislosti na dávce dává vznik kožní nebo systémové imunotoleranci. Tento stav je navozen jednak přímým mechanismem, inhibicí antigen prezentujících Langerhansových buněk, jednak nepřímo indukcí sekrece imunomodulačních cytokinů keratinocyty. Potlačena je i funkce NK-buněk, což se týká jejich úlohy v apoptotických a lytických procesech. Uvedený efekt je spojován především s pásmem UVB. Záření UVA spektra se někdy připisuje ochranný vliv, zprostředkovaný IF γ , proti UVB navozené imunosupresi. Význam této interakce ve slunečním záření není zcela jasný (8).

UV zářením vyvolané potlačení imunitních reakcí vede ke snížení rezistence k bakteriálním, virovým, parazitickým i fungálním infekcím, a to nejen ve vztahu ke kožním infekcím, ale i k infekcím systémovým (20). K expozici UV záření má také vztah zvýšený výskyt a exacerbace systémových autoimunitních chorob. Důležitý je vztah ultrafialového záření k **poruchám protinádorové imunity** (16). Je-li

navozena imunosuprese, je současně poškozen také imunitní dohled (12). Již delší dobu je známo, že UVB zářením vyvolané nádory u myši jsou vysoce antigenní a normálně jsou po transplantaci syngenním jedincům rychle odvrženy. Naproti tomu po implantaci UV ozářeným jedincům k odhojení nedojde, naopak vnesené nádorové buňky rostou. Tyto jevy vysvětluje UV zářením vyvolaná porucha prezentace nádorových antigenů a indukce supresorových T-Ly, které blokují normální rejekční odpověď. Supresorové buňky jsou tu specifické v tom, že příjemce transplantovaného nádoru kůže odmítá transplantáty jiné. Ts-Ly jsou navíc schopny urychlit vývoj primárního kožního karcinomu u myši po jejich injekční aplikaci v počátečním stadiu karcinogeneze. Dokonce bylo zjištěno, že suspenze buněk z UVB zářením vyvolaného tumoru kůže po i. v. aplikaci způsobí větší tumorózní proliferaci ve vnitřních orgánech předem ozářeného zvířete než u předem neozářených zvířat (18). S tumorem asociované antigeny, které vyvolávají tuto silnou imunitní odpověď, nejsou přesně známy, proto se ke studiu fotoimunologických dějů používá jiných buňkami zprostředkovaných imunitních odpovědí (CHS, DTH).

Kontaktní hypersenzitivita (CHS) i reakce oddálené přecitlivělosti (DTH, tuberkulinová, granulomatózní) patří do IV. typu imunopatologických reakcí. CHS lze vyvolat povrchovou aplikací haptenu ((2,4-dinitrochlorbenzen (DNCB), trinitrochlorbenzen (TNCB)), který díky své malé molekule proniká do kůže. Tam se váže na normální lidské bílkoviny, a vytváří tak antigen, který je pohlcen LC a prezentován T-lymfocytu. Díky uvolněným lymfokinům vzniká mononukleární infiltrát. Na rozdíl od DTH je kontaktní dermatitida jen epidermální reakcí. Pro vyvolání DTH reakce je nutná subkutánní injekce alergenu. Antigen je během pokusů aplikován v místě ozářené kůže nebo i na neozářenou plochu těla. Pro dosažení reprodukovatelnosti experimentálních výsledků je nutné respektování dávky záření a způsobu aplikace antigenu.

Místní imunosuprese je navoditelná jako tzv. *akutní nízkodávkový model UV expozice*. Ten je charakteristický neschopností senzibilizovat pokusné zvíře aplikací kontaktního alergenu přímo na předtím nízkou dávkou UV ozářené místo kůže. Pokud je ale haptenu aplikován na neozářená místa, pozdní přecitlivělost vzniká. Důležitým mediátorem těchto pochodů je TNF α . Příčinou je nerovnováha v produkci cytokinů, chybí IFN γ a IL-12 ze skupiny Th1 cytokinů, proti nim převažují cytokiny Th2 sku-

piny (IL-10 a 4) (19). Dávky UVB potlačující kontaktní hypersenzitivitu jsou stejné jako ty, které vedou k potlačení IFN γ vyvolaného zvýšení exprese povrchových molekul ICAM-1 na keratinocytech, tím je ozřejmen význam této molekuly v UV zářením vyvolaných změnách buněčné imunity (24, 27).

Je zajímavé, že potlačit vznik kontaktní přecitlivělosti lze i iradiací jiných tkání než kůže (např. oka). Tento jev, zdá se, souvisí s vlivem endokrinního a autonomního nervového systému (18).

Imunosupresi systémovou reprezentuje UV vysokodávkový model (5–30 kJ/m² UVB), charakteristický nemožností senzibilizace pokusné myši kontaktním alergenem a aloantigeny i na neozářených místech kožního povrchu. Ke vzniku systémové imunosuprese je důležité načasování senzibilizace vzhledem k iradiaci. Je-li senzibilizace provedena brzy po expozici UV záření, vzniká kontaktní alergie i pozdní přecitlivělost. Je-li však zvíře senzibilizováno až mezi 4. dnem a 3. postiradiačním týdnem, tyto odpovědi nevzniknou. Lokální účinek UV záření v potlačení CHS lze pozorovat ihned po ozáření. Potlačení kontaktní hypersenzitivity je pravděpodobně navozeno sníženým počtem antigen prezentujících buněk v kůži (4).

Kontaktní hypersenzitivita je potlačena ve fázi vzniku (porucha antigenní prezentace) i v efektorové fázi (porucha zvýšené exprese ICAM-1 endotelových buněk). Proč vlastně existují tyto nadbytečné mechanismy potlačující CHS po UVB expozici? Je známý vztah UV záření k zvýšené indukci a exacerbaci systémových autoimunitních chorob (SLE, dermatomyositis). UV záření vede k zániku keratinocyty, s tím jsou spojeny změny vlastních antigenů (štěpení, jiná konformace), které mohou prolomit imunologickou toleranci k vlastním antigenům a tím vést ke vzniku autoimunitního onemocnění. Dvojí potlačení hypersenzitivních reakcí po UV expozici může zajišťovat dvojí ochranu před vznikem autoimunitní reakce proti vlastním antigenům (17).

Změny Langerhansových buněk jsou také klíčové pro vznik „**hapten specifické tolerance**“. Poruchy funkcí těchto buněk mohou být navozeny jak přímým poškozením ultrafialovým zářením, tak změnami ve složení keratinocyty produkovaných cytokinů (IL-1 α , TNF α , IL-6, IL-10 a PGE₂) (6). Inefektivní prezentace antigenu T-lymfocytům má za následek vznik specifických Ts-Ly. Díky nim je možno toleranci k danému haptenu přenést na naivní zvířata injikováním splenocytů ozářených zvířat (3).

Vznik fotoimunosuprese je komplexním, řetězovým dějem, na kterém se podílí řada mechanismů od tvorby genetických mutací přes změny produkce humorálních faktorů až ke změnám na úrovni buněk. Po expozici kůže UV záření vzniká poškození DNA (cyklobutanové pyrimidinové dimery), izomerace kyseliny urokanové (z trans- na cis-UCA). UV záření také poškozuje cytoplazmatické a membránové struktury, přičemž ovlivňuje sekreci cytokinů, interferuje v jimi zprostředkovaných biologických reakcích, zejména snížením produkce transkripčních faktorů. Lokálně, ale i do systémové cirkulace je uvolněna řada mediátorů, jako jsou cytokiny, neuropeptidy, neurohormony, prostanoidy a histamin. Mnoho z imunosupresivních efektů UV záření je daleko méně vyjádřeno, je-li urychlena oprava DNA. Proto je UV zářením vyvolané poškození genomu považováno za nejvýznamnější pro vznik imunosupresivních pochodů (7).

Z **UV chromoforů** jsou z hlediska imunity důležité hlavně dva: kyselina urokanová a DNA. Významnou roli **kyseliny urokanové** ve fotoimunosupresi potvrzuje již ta skutečnost, že suprese vzniku kontaktní přecitlivělosti závisí na záření vlnové délky odpovídajícím akčnímu spektru UCA (10). UCA je derivátem histidinu, je tvořena keratinocyty a akumuluje se v epidermis. Hlavním izomerm kůže je trans-UCA, cis forma z ní vzniká následkem UV záření. Zvýšené množství cis-UCA lze v kůži detekovat po několik týdnů od UV expozice, v krvi je vzestup její hladiny přechodnější. Cis-UCA potlačuje buněčné imunitní reakce. Po systémové aplikaci prodlužuje přežití allograftu, topicky aplikovaná u myši zvýšila vznik kožních karcinomů. Cis-UCA brání správné prezentaci nádorových antigenů Langerhansovými buňkami jak při vzniku, tak při opětovném vyvolání imunitní reakce (7). Pomocí protilátek proti cis-UCA lze snížit pravděpodobnost vzniku UV zářením vyvolaného karcinomu. Kyselina urokanová vede ke snížené epidermální antigenprezentační aktivitě, jiným působením této sloučeniny je zvýšení tvorby PGE₂. Některé z jejích imunosupresivních mechanismů inhibuje IFN γ . IL-12 má také schopnost potlačit imunosupresivní účinky cis-UCA, a mohl by tak snad nabízet terapeutickou alternativu pro prevenci karcinomů kůže.

Je zajímavé, že imunosupresivní účinky cis-UCA se nedaří vyvolat *in vitro* (15). Možným vysvětlením je zprostředkování jejích účinků produkty interakce UCA s ROS, což podporuje fakt, že anti-

oxidační látky mají rušivý vliv na cis-UCA vyvolanou imunosupresi (15, 23). Samotná izomerace trans-UCA na cis formu má snad jen částečný význam pro vznik imunosupresivních vlivů. UVA i UVB záření vyvolávají vznik stejného množství cis-UCA, ale jen UVB záření vede k imunosupresi. Možným vysvětlením je to, že UVA záření vede jen k izomeraci, nikoli k fotooxidaci kyseliny urokanové. Obě izoformy kyseliny urokanové jsou účinnými antioxidanty, ale oxidační produkty UCA (kys. glyoxalová, imidazolové produkty) se objevují jen po expozici záření o vlnových délkách kratších než 320 nm (UVB) (15).

Jedním z následků UVB expozice je **vznik thyminových dimerů v DNA (CPDs)**. Jejich vliv na imunosupresi potvrzují studie s DNA enzymem T4 endonukleázou inkorporovanou v liposomech, jejíž lokální aplikace antagonisticky působila vůči imunosupresivnímu účinku UV záření (19, 28). Mechanismem působení těchto změn DNA na imunitní systém je jednak zvýšená produkce imunosupresivních cytokinů (IL-10, TNF α), ale i aktivace apoptózy.

- UVA zářením aktivovaný **transkripční faktor AP-2** se s ceramidy účastní na signálních transdukčních pochodech vedoucích ke změnám genové exprese v keratinocytech (19). Keratinocyty jsou sice bohaté na antioxidantní mechanismy (SOD, kataláza, glutathion reduktáza, thioredoxin reduktáza, tokoferol, vitamín C, glutathion aj.), ale ani tato ochrana nemusí být dostatečná. Proto jsou oxidačním stresem aktivovány redox senzitivní transkripční faktory **NF κ B** a zástupci skupiny AP-1. Transkripční faktor **AP-1** je proteinovým dimerem, který se skládá buď z heterodimeru mezi zástupci genových produktů rodin *fos* a *jun*, nebo je homodimerem genových produktů rodiny *jun*. AP-1 je zapojen do kontroly buněčného růstu a do přežití regulací exprese a funkce mnoha proteinů regulujících buněčný cyklus (cyklin D1, p53, p21, p19 a p16) (1).

Již po jediné expozici UVB záření dochází ke zvýšení aktivity **Stat3**, což je spojeno se sníženou apoptózou, větší leukocytární infiltrací a hyperplazií. Přenašeči signálu a aktivátory transkripce (signal transducer and activator of transcription „Stat proteiny“) se rovněž řadí mezi transkripční faktory, jsou aktivovány fosforylací prostřednictvím JAK tyrosinkináz. „Stat proteiny“ pak tvoří dimery a pře-

stupují do jádra, kde aktivují transkripci cílových genů. V současnosti je známo 7 forem „Stat proteinů“; Stat1 má význam jako proapoptotický faktor, zatímco Stat3 a Stat 5 se podílejí na přežití buňky. Experimentálně byla prokázána vyšší aktivita Stat3 u několika typů lidských malignit. Stat1 je přenašečem signálu vyvolaného vazbou IFN γ na membránový receptor. UV záření brání fosforylaci Stat1, tím brání uplatnění efektu IFN γ . Tato změna je příkladem toho, že UV záření zasahuje do imunitních pochodů nejen změnou uvolňování imunomodulačních látek, ale zasahuje i do jejich účinků (4).

Již za 24 hodin po jediné UVB expozici se hladina Stat3 v buňce několikanásobně zvýší. K aktivaci Stat3 je třeba jeho fosforylace, k zvýšení aktivity příslušných fosforyláz dochází již ve 12–24 h. Největší počet buněk v časném stadiu apoptózy (po jediné expozici UVB) lze spatřit mezi 3–6 h, pak zanikajících buněk ubývá se současným zvyšováním antiapoptotického Stat3 (2).

Tolerovatelné množství UV záření vede k aktivaci transkripčních faktorů, které zajistí zastavení buněčného cyklu a tím i dostatek času pro opravu poškozeného genomu. Patří sem například **TOB1, BTG2** (11).

Nízká dávka UV záření stimuluje podjednotku 4 (**p52**) globálního transkripčního faktoru (TFIIH), p52 je přímo zapojen do NER a transkripčních pochodů.

Vysoké dávky UV záření **potlačují účinek několika transkripčních faktorů**, např. Id-skupina, HMG (high mobility group), NF-Y, některé cykliny. Tím se zabrání přežití hrubě poškozených buněk a připraví cesta k apoptóze.

Id-rodina represorů transkripce. Id1 snižuje transkripci inhibitoru buněčného cyklu p16 a tím podporuje proliferaci. Id2 potlačuje účinky Rb skupiny proteinů (11).

HMG-proteiny, další ze skupiny transkripčních faktorů, jsou potlačeny vysokými dávkami UV záření. Jejich účinky je nastartování transkripce bez sekvenční specifity.

Velké dávky UV záření potlačují také obě podjednotky **NF-Y** regulátoru transkripce. Jeho vlivem je ovlivněna transkripce několika genů spojených s poškozením a buněčným cyklem, např. topoizoméráza II b, hsp70, E2F1, cyklin A i B1.

Po velké dávce ultrafialového záření jsou ovlivněny i **cykliny**. Cyklin D si ponechává nezměněnou účinnost (uplatňuje se v G1-fázi), mitotické cykliny A2 a B1 jsou potlačeny (11).

- V odpovědi na nízkou dávku UV záření se zvyšuje aktivita několika **genů spojených se strešovou odpovědí**. Patří sem tzv. „Heat shock proteiny“ (Hsp) 70 1A a 1B fungující jako chaperony. Hsp jsou schopny zvýšit odolnost buněčných linií k UVB poškození. Proteiny jsou chromofory pro UVB pásmo a vyšší vlnové délky, po ozáření se mění jejich prostorová konformace a jsou rozeznány chaperony (11).
- Keratinocyty produkují řadu **neuropeptidů**, jedním z nich je proopiomelanokortin (POMC). Tato látka je prekurzorem ACTH, β -endorfinu, β -lipotropního hormonu a α , β , γ melanocyty stimulujícího hormonu (MSH). POMC-peptidy působí prostřednictvím melanokortinových receptorů, z nichž MC1-R (specifický pro α -MSH a ACTH) je exprimován na keratinocytech a na imunokompetentních buňkách. UV záření působí *in vivo* indukci α -MSH a jeho prostřednictvím blokuje vznik kontaktní hypersenzitivity (19).
- **Cytokiny.** *TNF α* je významný především pro lokální inhibici vzniku kontaktní přecitlivělosti. Stimuluje migraci antigen prezentujících buněk do drénujících lymfatických uzlin, díky čemuž nejsou k dispozici pro zpracování antigenu v kůži (31). Tento názor podporuje nález podobných morfologických změn LC jak po aplikaci *TNF α* , tak po UV záření. Stejně tak pokusy o imunizaci kůže s předem injikovaným *TNF α* nevedou ke vzniku CHS. Přesto ale není jeho význam pro vznik lokální imunosuprese zcela jasný, studie na myších s deficiencí TNF1 či 2 receptoru neukázaly změny v migraci LC do regionálních lymfatických uzlin (6). *TNF α* je uvolněn stimulací receptoru, např. navázáním lipopolysacharidu nebo poškozením DNA. *TNF α* je po UVB expozici vyplavován ve dvou vlnách: první je nezávislá na poškození DNA a objeví se během několika hodin. Druhá vlna začíná po 12 hodinách tvorbou mRNA a ústí po 24. hodině expresí proteinu. Množství *TNF α* uvolněného po ozáření ultrafialovým světlem je úměrné četnosti CPDs (31). Účast *TNF α* v pochodech UV zářením navozené imunosuprese je komplexní, protože naopak nedostatek tohoto mediátoru je příčinou poruch eferentní fáze CHS (17).

TNF α má vliv i na citlivost organismu k poškození UV zářením. Nízké dávky UVB potlačují CHS jen u některých jedinců (UVB-vnímaví), příčinou je polymorfismus genu pro *TNF α* . Zastoupe-

ní UVB-vnímavých jedinců v populaci je 60%, u pacientů s prokázaným karcinomem kůže se toto procento zvyšuje na 93 %, takže citlivost k UV záření je možno považovat za rizikový faktor pro vznik malignit kůže (22).

Významným mediátorem systémové imunosuprese je **IL-10**, jehož hladina se po vyšších expozicích UV záření zvyšuje v séru. Bylo prokázáno, že intraperitoneální aplikace IL-10 brání efektorové, ale nikoli indukční fázi CHS. Na druhou stranu obě tyto fáze jsou u DTH reakce aplikací IL-10 potlačeny, to naznačuje že na DTH a CHS reakcích se účastní podobné, ale nikoli zcela stejné imunitní pochody. IL-10 se zdá být hlavním mediátorem navozujícím UV zářením vyvolanou systémovou imunosupresi, např. aplikace protilátek proti IL-10 u UVB zářením exponovaných myší zabránil vzniku suprese DTH reakce. Při studiu IL-10 deficientních myší se ukázalo, že UV záření u nich oslabí CHS, ale nevede k potlačení DTH (6). IL-10 snižuje produkci cytokinů T-Ly (31), produkci *TNF α* keratinocyty (17), expresi kostimulačních molekul na LC. Následkem je přesměrování imunitní odpovědi směrem k Th2 typu. Zdrojem IL-10 v lidské kůži pravděpodobně nejsou keratinocyty, ale makrofágy (9).

IL-4 je dalším cytokinem který podporuje vznik Th2 typu imunitní odpovědi. Po UVB expozici se v závislosti na dávce záření zvyšuje jeho sérová hladina. IL-4 je produkován v největší míře neutrofily infiltrujícími kůži, v menší míře jej produkují také mastocyty degranulující díky ultrafialovému záření, T-Ly. Dalšími vlivy IL-4 jsou snížení exprese E-selectinu na endotelových buňkách a tím snížené vycestovávání zánětlivých buněk. Odstranění UV zářením vyvolaného poškození umožňuje podpora fagocytózy neutrofily a makrofágy. IL-4 potlačuje apoptózu, zvyšuje produkci cytokinů neutrofily. Potlačuje expresi *TNF α* II receptoru a tím vede k oddálení repopulace epidermis Langerhansovými buňkami. IL-4 má souvislost se vzestupem koncentrace IL-10 (29).

IL-11 inhibuje apoptózu a proliferaci epiteliálních a jiných buněk, podporuje fibrotizaci tkání, reguluje funkce B-Ly a snižuje cytokinovou produkci makrofágů (11).

Na rozdíl od předchozích jsou známy i některé látky, jejichž **aplikací dojde k potlačení UV-indukované tolerance**: IL-12, sDec2, protilátky proti CTLA-4, proti IL-4. **IL-12** podporuje vznik reakcí Th1 typu. Tento cytokin je tvořen např. dendritic-

kými buňkami, makrofágy, B-Ly, keratinocyty. Je nezbytný pro vznik kontaktní hypersenzitivity a DTH reakce. Experimentální i. p. aplikace IL-12 před UV ozářením brání vzniku systémové imunosuprese, dokonce je schopen zabránit vzniku imunitolerance, je-li aplikován před resenzitizací (7). Neschopnost LC-buněk tvořit tento cytokin přispívá k Th2 typu imunitní odpovědi, potlačuje aktivitu NK (24). Potlačit UV zářením navozenou imunosupresi je možné i aplikací **sDec2**. Tato solubilní forma receptoru dectin-2 se váže na svůj ligand na povrchu T-Ly a inhibuje tím jím převáděnou stimulaci. Obdobné účinky mají **protilátky proti CTLA-4**, které brání interakci mezi CTLA-4 a B-7 molekulou APC (antigen prezentující buňky) buněk a tím i uvolnění imunosupresivního cytokinu IL-10 (3).

- **Prostaglandiny** (PG) vznikají z kyseliny arachidonové účinkem cyklooxygenázy (COX). Jsou známy dvě formy tohoto enzymu, COX-1 je konstitučně přítomna téměř ve všech buňkách, COX-2 je inducibilním genovým produktem, její exprese se zvyšuje mj. následkem UV záření. Zvýšení hladin prostaglandinů v kůži po ozáření ultrafialovým světlem se zdá být důsledkem jednak zvýšené aktivity COX-2, ale i vyšší aktivity fosfolipáz, které uvolňují kyselinu arachidonovou z membrán a zvyšují tím nabídku substrátu pro COX-1.

Vyšší hladina PGE₂ se dává do spojitosti s karcinogenezí díky nekontrolované proliferaci poškozených buněk. Vyšší aktivita COX-2 a zvýšená hladina PGE₂ je prokazována v kožních prekancerózách i v karcinomech kůže. Aktivita COX-2 se zdá zvyšovat s rostoucí invazivitou a závažností karcinomu (1).

- Významnou roli v kožním imunitním systému hrají **Langerhansovy buňky** (LC), patřící mezi dendritické buňky. Funkcí LC je prezentace antigenu (spolu s molekulou MHC II) T-lymfocytům. Indukují tak obvykle odpověď cytotoxických a pomahačských T-Ly. Jsou významné v antivirové a protitumorové obraně, při vzniku kontaktní hypersenzitivity a v GvH reakci. UVB záření je snadno poškozuje, již pro jejich lokalizaci v suprabazální vrstvě epidermis, kam UV záření dobře proniká. Do 24 hodin dochází v závislosti na dávce k **snížení počtu** Langerhansových buněk v epidermis, důsledkem této změny je zneemožněno vyvolání vzniku kontaktní přecitlivě-

losti v ozářené oblasti (13). Ke zmenšení počtu LC přispívá jednak apoptóza, jednak jejich vycestování do regionálních lymfatických uzlin. LC, které zůstanou v kůži, vykazují **morfologické změny**. Mají kulatější tvar, celá buňka je oteklá a má menší počet dendritických výběžků. Současně je také postižena **funkce LC**. Zvyšuje se produkce některých cytokinů (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α) (21). Snižuje se exprese povrchových molekul MHC II. třídy a aktivita ATPázy Langerhansových buněk, je zmenšené množství povrchových kostimulačních molekul, jako jsou CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), CD54 (ICAM-1). UV zářením navozená inhibice ICAM-1 má za následek poruchu sdružování LC a T-buněk. LC ztrácejí schopnost stimulovat Th1-Ly, schopnost stimulovat Th2-Ly však zůstává zachována. Th2 cytokiny (IL-4 a IL-10) pak vedou k potlačení buněčné imunitní odpovědi.

Po UVB expozici se s rostoucí dávkou zvyšuje i počet vcestovalých buněk, ačkoli vysoké dávky vedou opět ke snížení migrace. Langerhansovy buňky vycestované do lymfatických uzlin lze rozdělit do dvou subtypů. První z nich se vyznačuje sníženým množstvím HLA-DR molekul, u druhého je počet těchto molekul normální. S rostoucí dávkou UV záření roste množství buněk s malým množstvím molekul MHC II a klesá počet buněk druhé skupiny. Mezi další charakteristiky první skupiny patří celkově menší velikost buňky, menší počet kostimulačních molekul (B7-1, B7-2, ICAM-1, CD40, CD83), nezměněné množství molekul ICAM-3 a LFA-3, vyšší počet molekul CD1a. Uvedené údaje svědčí pro to, že UV záření zabránilo vyžrávání těchto LC, naopak vedlo k většímu výskytu apoptózy u této skupiny. Naproti tomu skupina LC s velkým množstvím MHC II má současně i zvýšené počty kostimulačních molekul včetně markeru vyžrávání CD83. K zvýšené expresi těchto molekul vedou pravděpodobně cytokiny uvolněné UV ozářenými keratinocyty (TNFα, GM-CSF, IL-1β). Funkčně si tyto buňky zachovávají schopnost stimulovat T-Ly. Dvojí vliv na Langerhansovy buňky může být způsoben rozdílnou anatomickou lokalizací jednotlivých buněk nebo rozdíly ve vyžrávání in situ LC (21).

- **Ts-Ly** (regulační). Imunizace haptenem kůže exponované UV záření vede ke vzniku „haptenu specifické tolerance“ díky vzniklým Ts-Ly. Jejich vliv je uplatňován díky navození apoptózy APC

prostřednictvím Fas/FasL mechanismu (6). Přesná charakteristika buněk uplatňujících se v UV záření vyvolané toleranci není známa. Je to hlavně podmíněno jejich malou proliferační schopností, takže znemožňující jejich klonování. Předpokládá se, že pro imunosupresi jsou mimořádně významným subtypem regulačních T-Ly buňky s povrchovými molekulami CD4 a CD25, současně exprimující i negativně regulační molekulu CTLA-4 (brání uvolnění IL-2, CD25 a CD69 expresi, proliferaci aktivovaného T-Ly). Supresorové vlivy těchto lymfocytů mohou být navozeny uvolňováním imunosupresivních cytokinů (IL-10, TGF- β) nebo také přímým mezibuněčným kontaktem (2).

Pro správnou **aktivaci T-Ly** je nutný Ag-specifický a kostimulační signál od APC. Aktivovaný lymfocyt se může začít dělit, zároveň zvýšeně exprimuje některé molekuly (IL-2 α receptor (CD25) a časnou aktivační molekulu (CD69)). Interakce mezi APC a T-Ly bez přítomnosti kostimulačního signálu vede k navození tolerance vůči předkládanému antigenu. Podle tohoto schématu probíhá interakce UV zářením exponované LC s Th1-lymfocytem, která nevede k buněčné proliferaci, ale učiní lymfocyty tolerantními vůči prezentovanému antigenu. Příčinou je nedostatečné zvýšení exprese kostimulačních molekul B7 (CD80, CD86) na LC a tím porucha signální cesty přes CD28 T-Ly (30). Po expozici UVB se u dendritických buněk (kostní dřeně) objevuje porucha prezentace antigenu, ale nezávislá na B7/CD28 kostimulaci. Zde hraje roli porucha „bundlingu“ F-aktinu a výsledkem není tolerance T-Ly, ale jejich apoptóza. K navození apoptózy T-Ly mohou přispívat IL-10, homodimery IL-12p40 tvořené dendritickými buňkami (30).

Jak již bylo uvedeno dříve interakcí mezi antigen prezentujícími buňkami ovlivněnými UV zářením a T-Ly **vznikají preferenčně Th2-Ly**. Klíčové pro přesměrování imunitních reakcí k Th2 typu jsou antigen prezentující buňky. Následkem UV záření u nich vzniká porucha prezentace antigenu, která se ale týká jen Th1-buněk, prezentace pro Th2-Ly probíhá normálně. Podíl na převaze Th2 imunitních reakcí má nadbytek IL-10 a neschopnost dendritických buněk a makrofágů tvořit biologicky aktivní IL-12 (IL-12p70); místo toho tvoří jeho přirozeného antagonistu IL-12p40 homodimer. IL-12 je nezbytný pro aktivaci Th1, ale ne Th2-lymfocytů. Vazba neaktivního IL-12p40 homodimeru

na IL-12 receptor Th1-lymfocytů ještě více potlačuje aktivitu těchto buněk. Důvodem pro sníženou tvorbu tohoto cytokinu mohou být některé po UV expozici uvolněné mediátory, např. PGE₂, IL-4, IL-10 (25).

Dectiny (lektinové receptory typu C) poslední dobou přitahují pozornost pro svůj vztah k T-Ly odpovědným za imunosupresi. Dectin-1 je exprimován na makrofázích a dendritických buňkách a uplatňuje se při interakci s T-Ly jako kostimulační signál. Dectin-2 se nalézá na dendritických buňkách, včetně buněk Langerhansových, hraje důležitou roli v UV záření vyvolané imunosupresi. Uplatňuje se jak v UV záření inhibované senzitivizaci, tak i v navození tolerance. Inhibitory dectinu-2 brání rozvoji tolerance, i když jsou aplikovány před resenzitivizací (až po první aplikaci antigenu), a to přímým účinkem na Ts-Ly odpovědné za imunosupresi. Mechanismus tohoto vlivu není zcela jasný, může se uplatňovat již inhibice vzniku těchto buněk, nebo až inhibice jejich supresorové aktivity, případně vlivy oba (3). Ligand dectinu-2 není znám, ale mohl by sloužit jako marker UV zářením indukovaných regulačních T-Ly (3).

- **Keratinocyty** jsou v kůži považovány za nejvýznamnější buňky pro produkci mnoha faktorů, jako jsou cytokiny, chemokiny, růstové faktory. Konstituční produkce těchto látek je nízká, ale zvyšuje se po expozici UVB záření. UVB vede k výraznému zvýšení produkce prozánětlivých mediátorů IL-1, IL-6, IL-8, TNF α , VEGF a PGE₂. Následkem je vznik zánětu, chemotaxe neutrofilů a makrofágů (29).

V odpovědi na UV záření tvoří keratinocyty také **endotelin-1**. Důvodem pro jeho zvýšenou tvorbu může být přímo poškození DNA keratinocyty, ale i stimulace IL-1 α a TNF α tvořenými v melanomu. Významným ligandem ET-1 je „endotelin-B receptor“ (ET_B), jehož blokáda snižuje růst melanomu a navozuje u jeho buněk apoptózu. Aktivace signální cesty ET-1/ET_B snižuje expresi E-cadherinu na melanocytech a buňkách melanomu prostřednictvím aktivace kaspázy-8 (bez aktivace dalších kaspáz a bez navození apoptózy). E-cadherin je známým faktorem potlačujícím invazivitu melanomu. Dalším vlivem ET-1 je aktivace ras, která je nutná pro invazivitu melanomu, ale mutace tohoto genu se v melanomech nalézají vzácně. Díky oběma uvedeným účinkům se ET-1 podílí na zvýšení invazivity mela-

nomu. Větší množství endotelinu-1 i ET_B je nalézáno v lézích lentigo senilis a také se zvyšuje při progresi od névu k malignímu melanomu, exprese druhého receptoru pro ET-1, ET_A , je u melanomu snížena (14).

- Po 2–3 dnech expozice UV záření jsou v kůži aktivovány **makrofágy** (subpopulace CD11b + CD1a) produkující velké množství IL-10, čímž podporují potlačení imunitní odpovědi v kůži (preferenční aktivací Ts-Ly). T-lymfocyty odpovídající na stimulaci makrofágů mají typický IL-2R α negativní fenotyp, jejich růst je závislý na stimulaci IL-4 a ne IL-2 (29).
- **Neutrofily** se po jediné expozici UVB záření objevují v epidermis již za 24 h, s maximem mezi 2.–3. dnem. Jejich přítomnost je provázena zvýšenou produkcí některých cytokinů (IL-4, IL-6, IL-8, TNF α), navíc byl prokázán jejich vztah k preferenční aktivaci Th2-lymfocytů.
- UV záření vede také k **funkční inhibici NK- buněk** (mj. díky chybění pro jejich aktivaci nutného IL-12) (25). Snižuje se jejich sekrece cytotoxických faktorů, reaktivních forem kyslíku. Následkem je nižší zabíječská efektivita. Také je menší uvolňování některých cytokinů, mezi nimi IFN γ . Poškození funkcí NK se podílí hlavně na poškozené protinádorové imunitě, ale i na poruchách v DTH reakcích (4).
- **Endotelové buňky** jsou pro zánětlivou reakci významné expresí povrchových molekul, které umožňují vycestování zánětlivých buněk z cév. Aktivované endotelové buňky exprimují E-selektin (CD62E), P-selektin (CD62P), na které se váže L-selektin přítomný na lymfocytech. Významnou kontaktní molekulou je endoteliální **ICAM-1**, jejíž exprese se zvyšuje díky prozánětlivým cytokinům, interakce ICAM-1/ β_2 integriny leukocytů umožňuje jejich vycestování do místa zánětu. Právě nedostatečné zvýšení exprese těchto molekul je příčinou poruchy eferentní fáze UV zářením navozené poruchy CHS. Mechanismem této poruchy je působení IL-10 (tvorěný Ts-Ly) potlačující produkci TNF α (keratinocytů), který je nutný pro zvýšení exprese ICAM-1 na povrchu endotelových buněk (22).
- Imunitní mechanismy se uplatňují i v pochodech **navození programované buněčné smrti**. Z hlediska karcinogeneze je proto imunosuprese významná i poškozením těchto mechanismů. Povrchový receptor CD95 (Fas/Apo1) navozuje apo-

ptózu je-li stimulován svým ligandem CD95L (FasL). Podle současného názoru Ts-Ly navozují apoptózu cílové buňky tímto mechanismem. Na této úrovni působí inhibičně (proti vzniku tolerance) IL-12.

Literatura

1. AFAQ, F. – ADAMI, VM. – MUKHTAR, H. Photochemoprevention of ultraviolet B signaling and photocarcinogenesis. *Mutat. Res.*, 2005, vol. 571, no. 1/2, p. 153–173.
2. AHSAN, H. – MOAMMIR, HA. – AHMAD, N. Ultraviolet B exposure activates Stat3 signaling via phosphorylation at tyrosine⁷⁰⁵ in skin of SKH1 hairless mouse: A target for the management of skin cancer? *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, vol. 333, no. 1, p. 241–246.
3. ARAGANE, Y. – MAEDA, A. – SCHWARZ, A., et al. Involvement of Dectin-2 in Ultraviolet Radiation-Induced Tolerance. *J. Immunol.*, 2003, vol. 171, no. 7, p. 3801–3807.
4. ARAGANE, Y. – KULMS, D. – LUGER, TA., et al. Downregulation of interferon γ -activated STAT1 by UV light. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, vol. 94, no. 21, p. 11490–11495.
5. ASSEFA, Z. – GARMYN, M. – VANTIEGHEM, A., et al. Ultraviolet B radiation-induced apoptosis in human keratinocytes: Cytosolic activation of procaspase-8 and the role of Bcl-2. *FEBS Lett.*, 2003, vol. 540, no. 1/3, p. 125–132.
6. BEISSERT, S. Use of mutant mice in photoimmunological and photocarcinogenic investigations. *Methods*, 2002, vol. 28, no. 1, p. 130–137.
7. BEISSERT, S. – RUHLEMANN, D. – MOHAMMAD, T., et al. IL-12 Prevents the Inhibitory Effects of cis-Urocanic Acid on Tumor Antigen Presentation by Langerhans Cells: Implications for Photocarcinogenesis. *J. Immunol.*, 2001, vol. 167, no. 11, p. 6232–6238.
8. BERNEBURG, M. – KRUTMANN, J. Photoimmunology, DNA repair and photocarcinogenesis. *J. Photochem. Photobiol. B*, 2000, vol. 54, no. 2/3, p. 87–93.
9. DING, W. – BEISSERT, S. – DENG, L., et al. Altered cutaneous immune parameters in transgenic mice overexpressing viral IL-10 in the epidermis. *J. Clin. Invest.*, 2003, vol. 111, no. 12, p. 1923–1931.
10. ETTLER, K. *Fotoprotekce kůže. Ochrana kůže před účinky ultrafialového záření*. 1. vyd., Praha, Triton, 2004. 133 s.
11. GENTILE, M. – LATONEN, L. – LAIHO, M. Cell cycle arrest and apoptosis provoked by UV radiation-induced DNA damage are transcriptionally highly divergent responses. *Nucleic. Acids. Res.*, 2003, vol. 31, no. 16, p. 4779–4790.
12. ICHIM, C. Revisiting immunosurveillance and immunostimulation: Implications for cancer immunotherapy. *J. Transl. Med.*, 2005, vol. 3, no. 8, p. 1–13.
13. ITO, T. – SEO, N. – YAGITA, H., et al. Alterations of immune functions in barrier disrupted skin by UVB. *J. Dermatol. Sci.*, 2003, vol. 33, no. 3, p. 151–159.
14. JAMAL, S. – SCHNEIDER, RJ. UV-induction of keratinocyte endothelin-1 downregulates E-cadherin in melanocytes and melanoma cells. *J. Clin. Invest.*, 2002, vol. 110, no. 4, p. 443–452.

15. KAMMEYER, A. – EGGELTE, TA. – OVERMARS, H., et al. Oxidative breakdown and conversion of urocanic acid isomers by hydroxyl radical generating systems. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2001, vol. 1526, no. 3, p. 277–285.
16. KLENER, P. *Klinická onkologie*. 1. vyd., Praha, Galén, 2002. 686 s.
17. KOMURA, K. – HASEGAWA, M. – HAMAGUCHI, Y., et al. Ultraviolet Light Exposure Supresses Contact Hypersensitivity by Abrogating Endothelial Intercellular Adhesion Molecule-1 Up-regulation at the Elicitation Site. *J. Immunol.*, 2003, vol. 171, no. 6, p. 2855–2862.
18. MALINA, L. *Fotodermatózy*. 1. vyd., Praha, Maxdorf, 1999. 205 s.
19. MALINA, L. Vliv ultrafialového záření na imunitní systém a působení zevních fotochemoprotektivních prostředků na UVR vyvolanou imunosupresi. *Čas. Lék. čes.*, 2002, roč. 141, č. 11, s. 338–342.
20. MULLENDERS, LH. – BERNEBURG, M. Photoimmunology and nucleotide excision repair: impact of transcription coupled and global genome excision repair. *J. Photochem. Photobiol. B.*, 2001, vol. 56, no. 2/3, p. 97–100.
21. NAKAGAWA, S. – KOOMEN, CW. – BOS, JD., et al. Differential Modulation of Human Epidermal Langerhans Cell Maturation by Ultraviolet B Radiation. *J. Immunol.*, 1999, vol. 163, no. 10, p. 5192–5200.
22. NIIZEKI, H. – INOKO, H. – WAYNE, SJ. Polymorphisms in the TNF region confer susceptibility to UVB-induced impairment of contact hypersensitivity induction in mice and humans. *Methods*, 2002, vol. 28, no. 1, p. 46–54.
23. NISHIGORI, C. Cellular aspects of photocarcinogenesis. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2006, vol. 5, no. 2, p. 208–214.
24. REEVE, VE. Ultraviolet radiation and the contact hypersensitivity reaction in mice. *Methods*, 2002, vol. 28, no. 1, p. 20–24.
25. SCHMITT, DA. – ULLRICH, SE. Exposure to Ultraviolet Radiation Causes Dendritic Cells/Macrophages to Secrete Immune-Suppressive IL-12p40 Homodimers. *J. Immunol.*, 2000, vol. 165, no. 6, p. 3162–3167.
26. SCHWARZ, T. Mechanisms of UV-induced immunosuppression. *Keio. J. Med.*, 2005, vol. 54, no. 4, p. 165–171.
27. STEGE, H. Effect of xenogenic repair enzymes on photoimmunology and photocarcinogenesis. *J. Photochem. Photobiol. B*, 2001, vol. 65, no. 2/3, p. 105–108.
28. STEGE, H. – ROZA, L. – VINK, AA., et al. Enzyme plus light therapy to repair DNA damage in ultraviolet-B-irradiated human skin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, vol. 97, no. 4, p. 1790–1795.
29. TEUNISSEN, MB. – PISKIN, G. – DI NUZZO, S., et al. Ultraviolet B Radiation Induces a Transient Appearance of IL-4+ Neutrophils, Which Support the Development of Th2 Responses. *J. Immunol.*, 2002, vol. 168, no. 8, p. 3732–3739.
30. WACHTER, T. – AVERBECK, M. – HARA, H., et al. Induction of CD4+ T Cell Apoptosis as a Consequence of Impaired Cytoskeletal Rearrangement in UVB-Irradiated Dendritic Cells. *J. Immunol.*, 2003, vol. 171, no. 2, p. 776–782.
31. YAROSH, DB. – BOUMAKIS, S. – BROWN, AB., et al. Measurement of UVB-Induced DNA damage and its consequences in models of immunosuppression. *Methods*, 2002, vol. 28, no. 1, p. 55–62.

Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ, ČR NR 8154-3/2004 a Výzkumného záměru MZO 00179906.

Korespondence: Jana Rostová
Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové
Ústav hygieny a preventivního lékařství
Šimkova 870
500 38 Hradec Králové
e-mail:rostova@volny.cz

Do redakce došlo 17. 2. 2006