

Imunologické mechanismy obrany proti infekcím

Jiří Litzman

Faktory ovlivňující tíži klinických příznaků infekce

- **Faktory mikroorganismu**
 - Dávka
 - Virulence
 - Cesta vstupu
- **Faktory pacienta**
 - Integrita nespecifických bariér
 - Kompetence specifického imunitního systému
 - Genetické vlivy
 - Primární nebo sekundární reakce
 - Současná jiná infekce

Imunitní reakce protektivní a neprotektivní

- Protektivní imunitní reakce - vyvolá imunitní reakci vedoucí k eliminaci antigenu.
- Protektivní antigen – vyvolává protektivní imunitní reakci.
- Neprotektivní antigen – sice vyvolá imunitní reakci, ale ta nevede k eliminaci antigenu (např. protilátky při HIV infekci).

Imunitní mechanismy obrany proti virovým infekcím

– Nespecifická imunita

- Interferony (α a β)
- Přírození zabíječi (NK buňky)
- Receptorům podobné struktury v sekretech

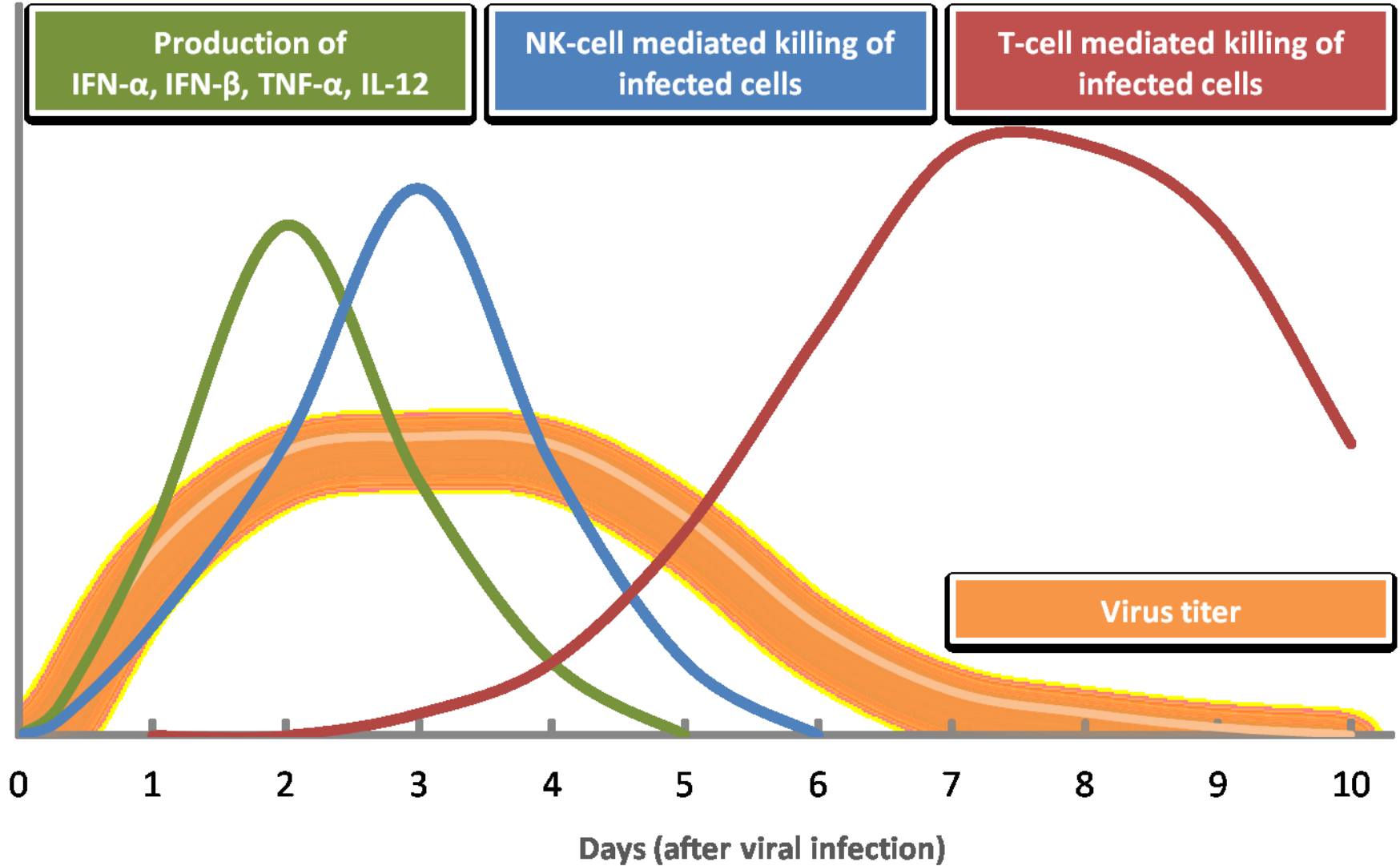
V některých případech též:

- Aktivace komplementového systému (EBV)
- Fagocytóza

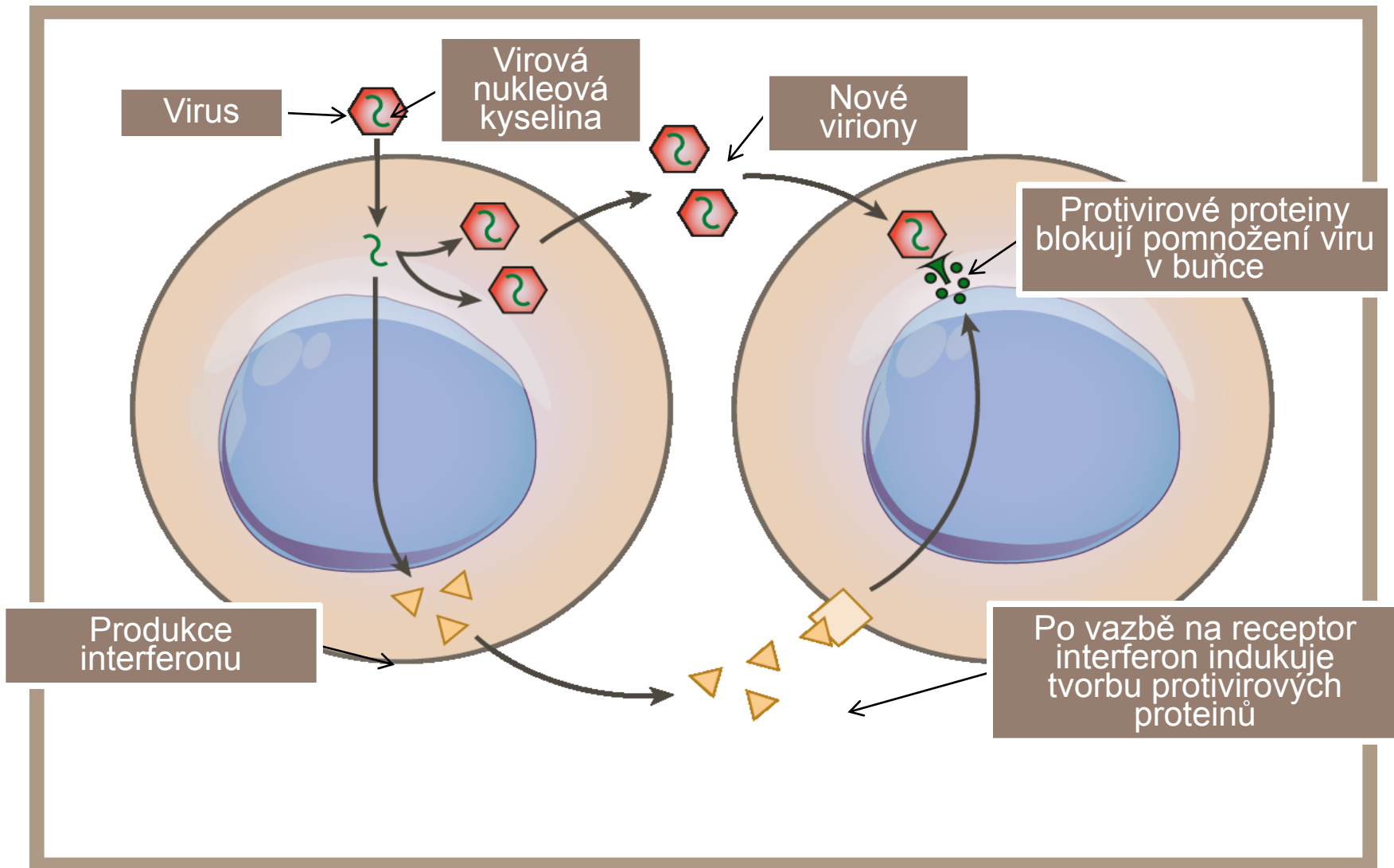
– Specifická imunita

- Protilátky - neutralizace extracelulárních virů
- Tc lymfocyty - eliminace virem infikovaných buněk

Mechanismy protivirové imunity



Mechanismus účinku interferonu



Mechanismy obrany virů proti imunitnímu systému

– Antigenní varianty

- antigenní drift - malé změny**
- antigenní shift - výrazná změna antigenního složení**

– Dlouhodobé přežívání v hostiteli

- Persistence viru (např. virus hepatitidy B)**
- Virová latence - virový genom přežívá uvnitř buňky, nedochází však k expresi virových částic (např. virus herpes simplex)**
- Transformace buňky**

– Imunosupresivní působení viru

Imunosupresivní působení virů

- Postižení funkce T-lymfocytů: HIV, spalničky, CMV, HHV-6
- Porucha prezentace antigenů: CMV (váže se na β -2 mikroglobulin), RSV - snížení exprese HLA-I antigenů
- Zásah do cytokinové sítě: EBV (IL-10 - like faktor), Poxviry (IL-1R, IFN γ R- like proteiny, CMV (IL-8R - like proteiny)
- Modulace apoptózy:- Adenoviry (inhibice TNF α -indukované apoptózy), CMV- (aktivuje inhibitory apoptózy), EBV (exprese bcl-2 - prevence apoptózy)

Mechanismy obrany proti bakteriálním infekcím

– Nespecifická imunita

- mechanické bariéry**
- fagocytující buňky**
- komplementový systém, klasická i alternativní cesta**

– Specifická imunita

- protilátky - opsonizují, aktivují komplementový systém, neutralizují toxiny**
- T-lymfocyty - zejména proti nitrobuněčným bakteriím**

Mechanismy ochrany bakterií proti imunitnímu systému

- Antifagocytární mechanismy: produkce toxinů, antifagocytární pouzdra
- Inhibice komplementového systému: M-protein *Str. pyogenes*, *E. coli*, *N. meningitidis*
- Antigenní varianty - *Borrelia recurrentis*
- Proteázy hydrolyzující IgA - *Neisserie*, *Haemophilus spp.*
- Sekvestrace v avaskulárních prostorech- *Salmonella typhi* ve žlučníku
- Intracelulární parazitismus
- L-formy bakterií

Imunita proti mykotickým infekcím

- Většinou se jedná pouze o oportunní patogeny, hluboké mykózy se objevují pouze u výrazně imunodeficitních pacientů. U imunokompetentních osob nacházíme pouze povrchové mykózy.
- Uplatňuje se zejména správná funkce fagocytujících buněk a T-lymfocytů.
- Protilátky jsou tvořeny, jejich průkaz může mít diagnostický význam. Nemají ale větší protektivní význam.

Imunita proti parazitárním infekcím

- Mechanismy se obvykle výrazně liší podle typu parazita.
- Často nevedou k úplné eliminaci parazita ale ke vzniku preunity – stavu, kdy parazit perzistuje, ale je zabráněno progresi a nové infekci.
- Důležitou roli hraje IgE a eozinofilní granulocyty.

Možnosti ovlivnění imunitní reaktivity

Základní imunomodulační přístupy

- Imunosuprese: antigen-nespecifické snížení imunitní reaktivity
- Imunopotenciace, imunostimulace: antigen-nespecifické zvýšení imunitní reaktivity
- Indukce imunitní tolerance: vyvolání antigen-specifické neodpovídavosti
- Vakcinace (umělá aktivní imunizace): indukce antigen-specifické imunitní odpovědi a paměti
- (Umělá) pasívní imunizace: přenesení chybějících protektivních protilátek

Imunizace

Aktivní nebo pasivní

Přirozená nebo arteficiální (umělá)

Umělá imunizace

Aktivní imunizace
= vakcinace

Pasivní imunizace

Rychlost nástupu

Opožděná

Okamžitá

Délka účinnosti

Dlouhodobá

**Krátkodobá
(maximálně týdny)**

Použití

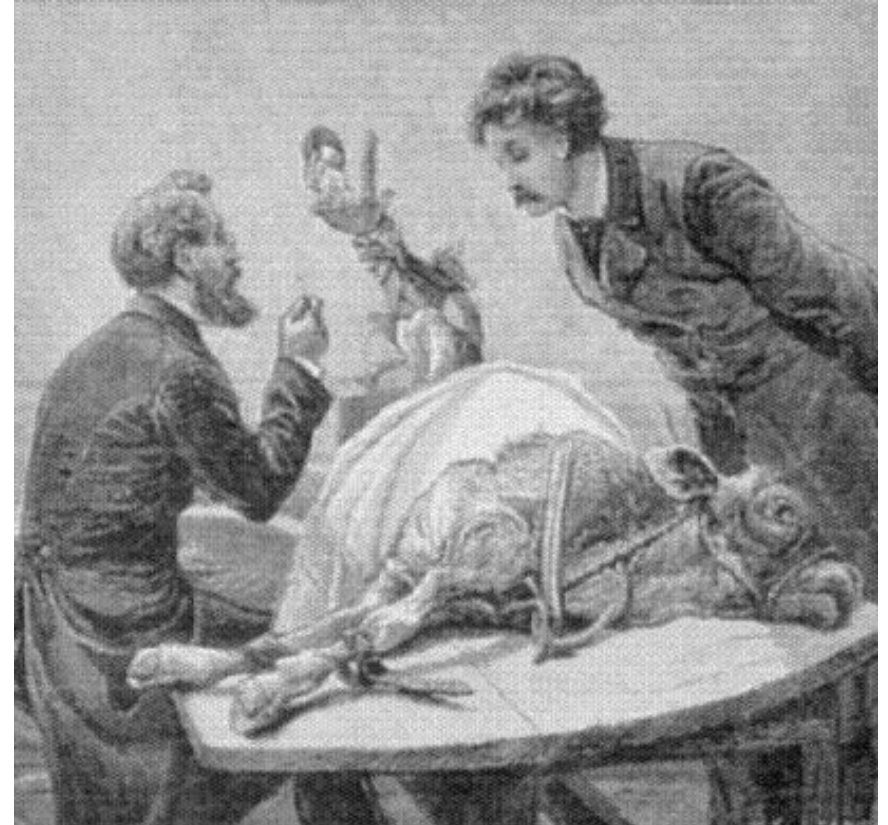
**Dlouhodobá
profylaxe**

**Terapie, krátkodobá
profylaxe**

Aktivní umělá imunizace
= vakcinace

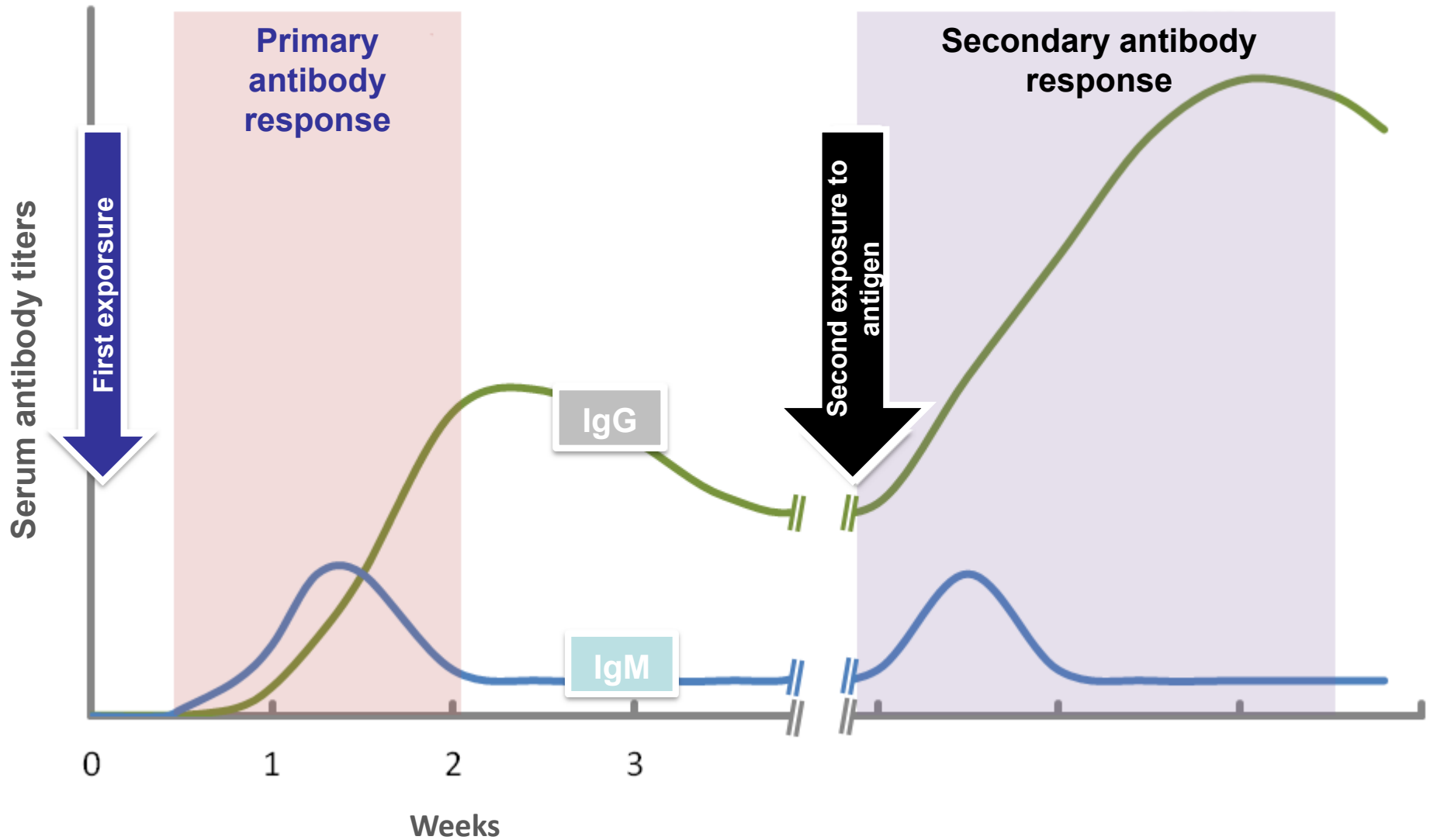
Aktivní umělá imunizace
= vakcinace

Edward Jenner



Discovery of small pox vaccine

Protilátková odpověď po první a opakované imunizaci

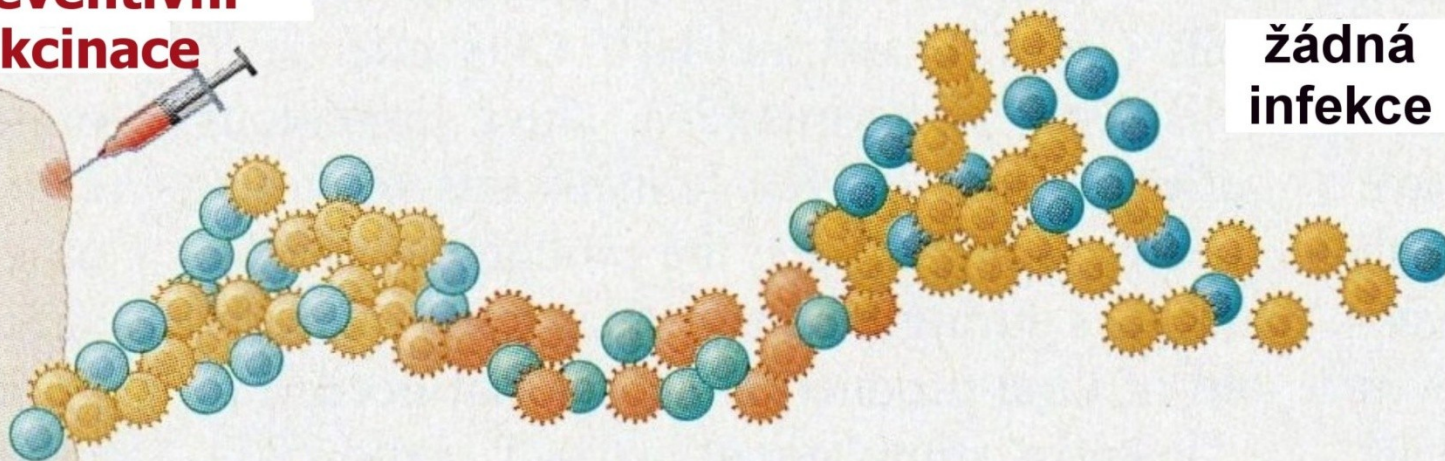


A

**preventivní
vakcinace**



**žádná
infekce**



patogen

Expanze
T/B efektorových
buněk

Vytvoření
T/B paměťových
buněk

Další expanze
T/B efektorových
buněk

Adjuvantia

- Pokud jsou podány s antigenem nespecificky zvyšují odpověď na podaný antigen.
- Freundovo adjuvans: mrtvé *Mycobacterium tuberculosis* + emulze vody v oleji. Používá se u zvířat.
- $Al(OH)_3$ (alum) – je používám v lidské medicíně, při přípravě některých vakcín.
- Mechanismy účinku – zabránění rychlému rozkladu, zlepšení prezentace antigenu...

Vakcinace chrání proti závažným infekcím



(From World Health Organization.)

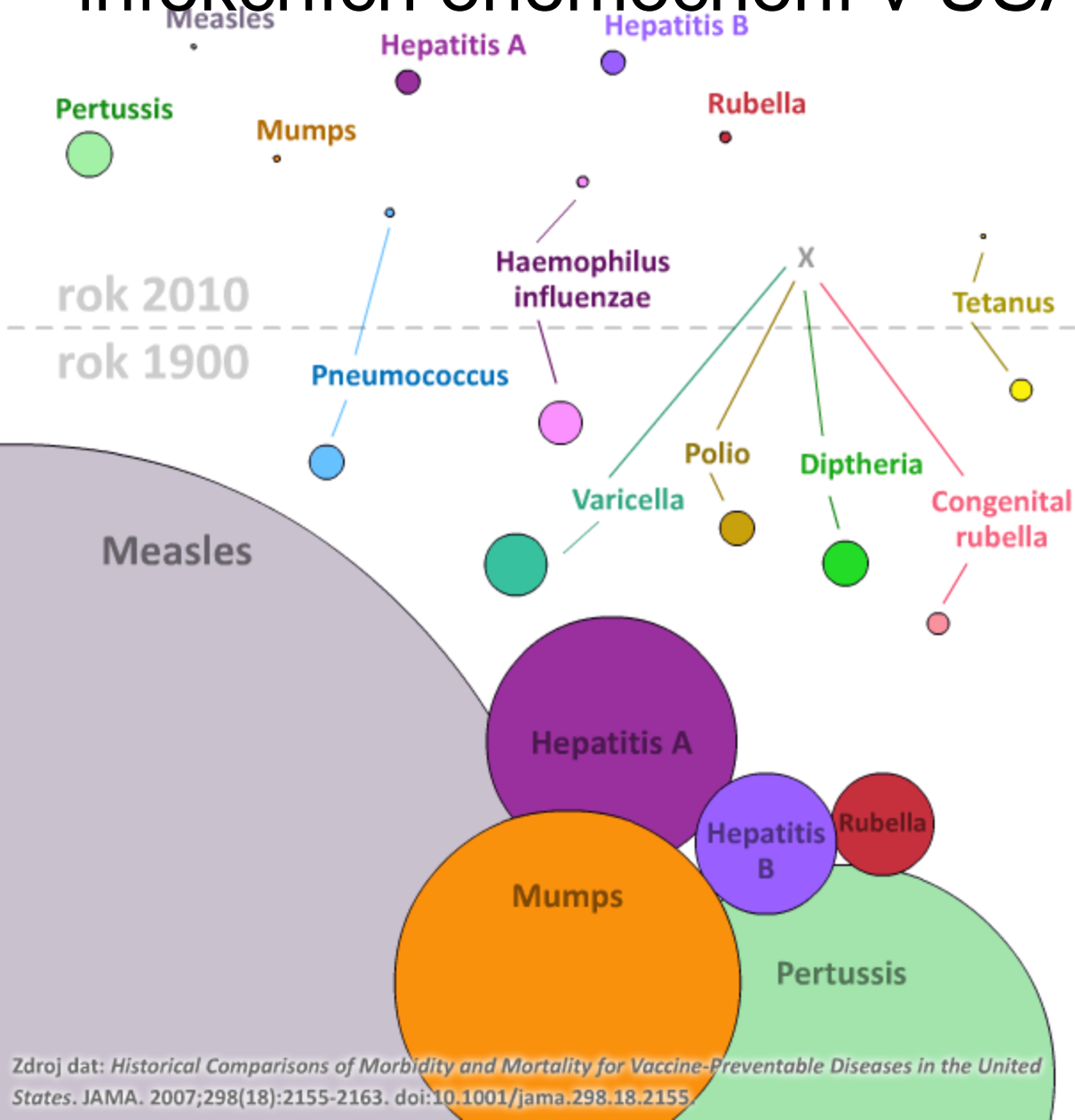
Následky dětské poliomyelitidy



(From the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA.)

Novorozenecký tetanus

Vliv očkování na výskyt infekčních onemocnění v USA



Year	1900 Cases	2010 Cases	% Change	Disease
1900:	29 005	0	100%	Varicella
2010:	0	0	100%	
1900:	21 053	0	100%	Diphtheria
2010:	0	0	100%	
1900:	16 316	0	100%	Polio (paralytic)
2010:	0	0	100%	
1900:	152	0	100%	Congenital rubella
2010:	0	0	100%	
1900:	580	8	99%	Tetanus
2010:	8	8	99%	
1900:	530 217	61	99%	Measles
2010:	61	61	99%	
1900:	47 745	6	99%	Rubella
2010:	6	6	99%	
1900:	20 000	270	99%	Haemophilus influenzae
2010:	270	270	99%	
1900:	162 344	2 528	98%	Mumps
2010:	2 528	2 528	98%	
1900:	117 333	11 049	91%	Hepatitis A
2010:	11 049	11 049	91%	
1900:	200 752	21 291	89%	Pertussis
2010:	21 291	21 291	89%	
1900:	66 232	11 269	83%	Hepatitis B (acute)
2010:	11 269	11 269	83%	
1900:	16 069	4 167	74%	Pneumococcus <5 years of age
2010:	4 167	4 167	74%	

Zdroj dat: *Historical Comparisons of Morbidity and Mortality for Vaccine-Preventable Diseases in the United States*. JAMA. 2007;298(18):2155-2163. doi:10.1001/jama.298.18.2155

Vakcíny první generace

- **Atenuované mikroby:** spalničky, zarděnky, příušnice, rotaviry, varicella, BCG (proti TBC), poliomyelitis (Sabinova), cholera, žlutá zimnice
- Obvykle výborná imunogenicitá, nebezpečí reverze patogenicity
- **Inaktivované mikroorganismy:** poliomyelitis (Salkova), vzteklina, hepatitis A, klíšťová encefalitida, cholera, mor, dříve pertusse,
- Vzhledem k horší imunogenicitě jsou nutné opakovaná očkování.

Vakcíny druhé generace

Využívají imunogenní části mikroorganismů získané přímo z mikrobů nebo rekombinantními mechanismy

- **Toxoidy:** tetanus, záškrť
- **Podjednotkové :** chřipkové vakcíny, pertusse
- **Polysacharidové** – buď „nativní“ – špatná imunogennost, hlavně v prvních 2 letech života, nebo konjugované na proteinové nosiče (např. tetanický nebo difterický toxoid): Haemophilus influenzae B (konjugovaná), Meningococcus (konjugované i nekonjugované), Pneumococcus (konjugovaná)
- **Rekombinantní:** hepatitis B
- **Virus-like particles** (neobsahují DNA): papilomaviry
- **Vektorové vakcíny** – genet. informace o antigenech je vnesena rekombinantní technologií do virů (neschopných se v lidském těle množit) –zatím ve vývoji

Podjednotkové vakcíny

Obsahují jeden nebo více antigenů patogenu (SARS-CoV-2)

Autorizováno EMA: Novavax (NVX-CoV2373).

Autorizované: EpiVacCorona (Vector, Rusko), BRD-Dimer (Ústav mikrobiologie Čínská akademie věd)

Další: SOBERANA 02 (Kuba) a vakcína Sanofi Pasteur – GSK

Virové vektorové vakcíny

Nepatogenní virus přenáší genetickou informaci pro tvorbu protektivních antigenů do buňky, ta následně uvedené antigeny syntetizuje a uvolňuje.

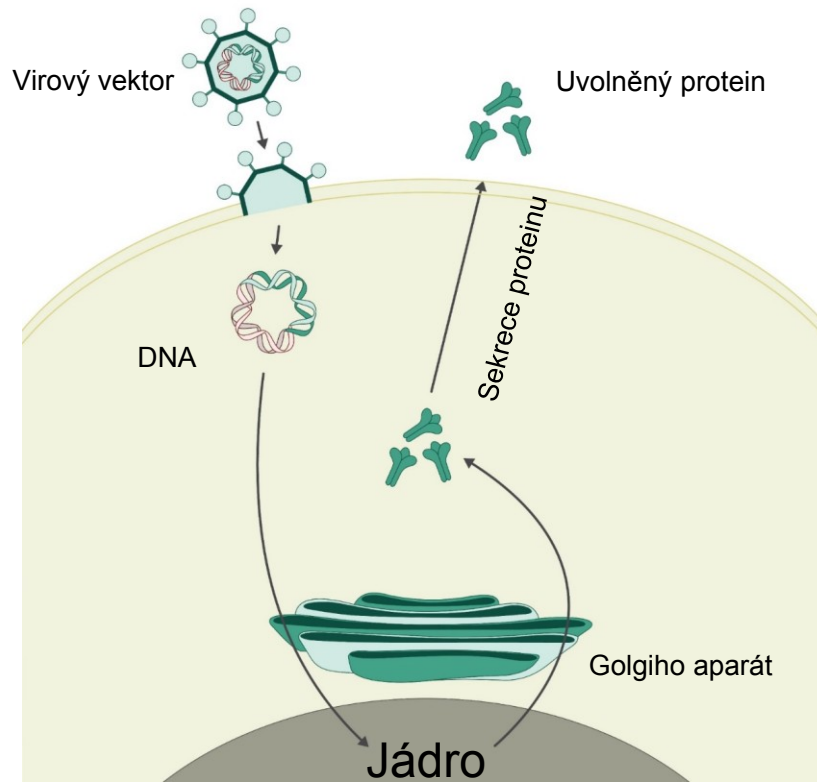
Schválené EMA: Vaxzevria (Oxford- Astra-Zeneca), Johnson & Johnson,

Další používané:

Sputnik V (Gamalejův institut epidemiologie a mikrobiologie)

Convidecia (Čína),

Adenovirová vektorová vakcína



Vakcíny třetí generace – DNA nebo RNA vakcíny

Úsek DNA/RNA kódující příslušný antigen je vpraven s vhodným promotorem do bakteriálního plasmidu.

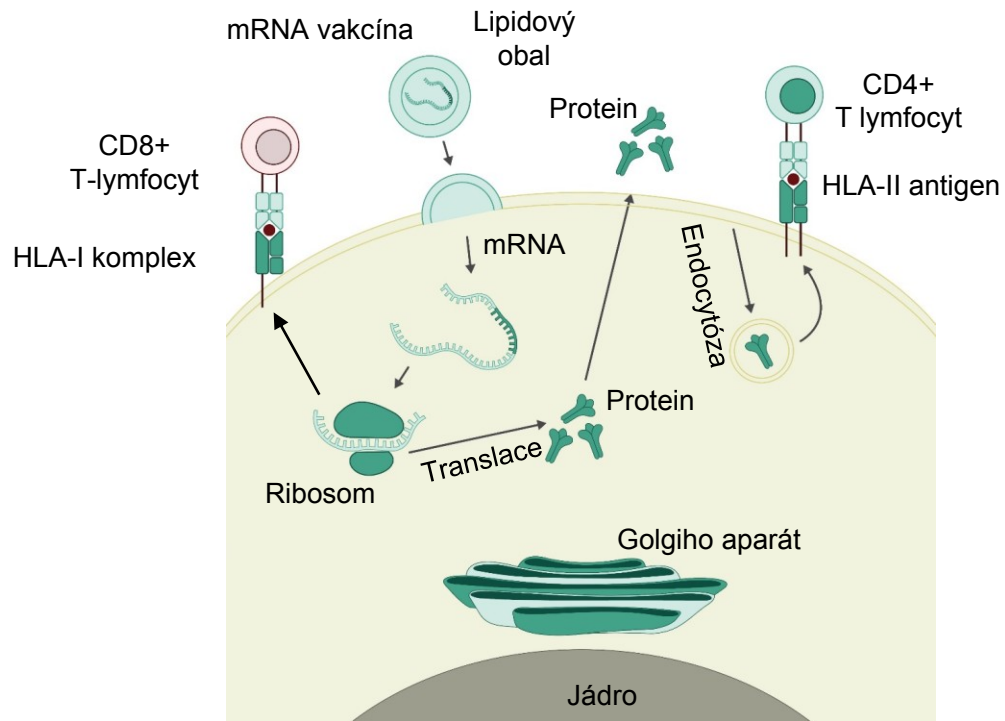
Aplikace intramuskulární,
intraepidermální - „gene gun“
slizniční

Antigen se vytváří in vivo a indukuje jak protilátkovou, tak celulární imunitní reakci

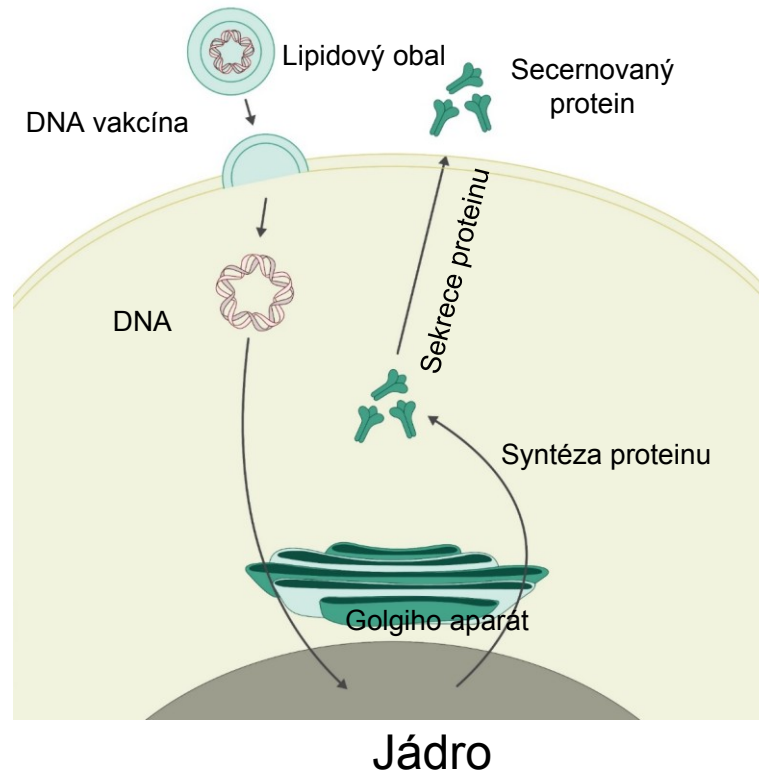
RNA vakcíny

- RNA pro syntézu protektivních virových antigenů je vnesena do buněk, ty krátkodobě produkují virové proteiny.
- Schválené EMA: Comirnaty (Pfizer-BioNTech), Moderna,
- Na schválení EMA čeká CVnCoV (CureVac)

RNA vakcína



DNA vakcína



Inaktivované virové vakcíny

- Virus je pěstován na tkáňových mediích a následně inaktivován
- BBIBP-CorV (Sinopharm, Čína), CoronaVac (Čína), WIBP-CorV (Čína); Covaxin (Indie); CoviVac(Rusko) – všechny autorizovány v zemích svého vzniku
- VLA2001 – je vyvíjena firmou Valnea SE

Další možnosti vývoje vakcín

- **Antigeny vnesené do potravin (banány, brambory)**
-
- **Antiidiotypové protilátky**

Další potenciální využití vakuinačního přístupu

- **Protinádorová vakcinace** – již požívána, řada přístupů preventivních (očkování proti onkogenním virům) i terapeutických
- **Prevence a léčba Alzheimerovy choroby** – reakce proti β -amyloidu příp. τ -proteinu
- **Antikoncepce** – nejčastěji anti-HCG
- **Léčba vysokého tlaku** - Vakcinace proti enzymům angiotensin-renin-aldosteronového systému
- **Očkování proti autoimunitním chorobám** – např. autoimunitnímu specifickému TCR.
- **Očkování proti drogám (kokain), nikotinismu..**

Pasivní umělá imunizace

- Principem je dodání specifických protilátek chránících proti rozvoji onemocnění nebo léčících onemocnění.
- Je používána zejména u infekčních chorob nebo onemocnění způsobených toxiny.
- Účinek je „okamžitý“ ale krátkodobý.
- Nedochozí ke vzniku specifické imunitní paměti.

Antiséra používaná v lidské medicíně

- Antibakteriální: tetanus (lidské), botulismus (koňské), antigangrenózní (koňské), záškrť (koňské)
- Protivirová: hepatitida B (lidské), vzteklina (koňské), varicella-zoster (lidské), CMV (lidské), klíšťová encefalitida (lidské), hepatitida A, spalničky a jiné virózy (nespecifický lidský imunoglobulin)
- Proti hadím a pavoučím jedům (koňská)
- Anti Rh (lidské)

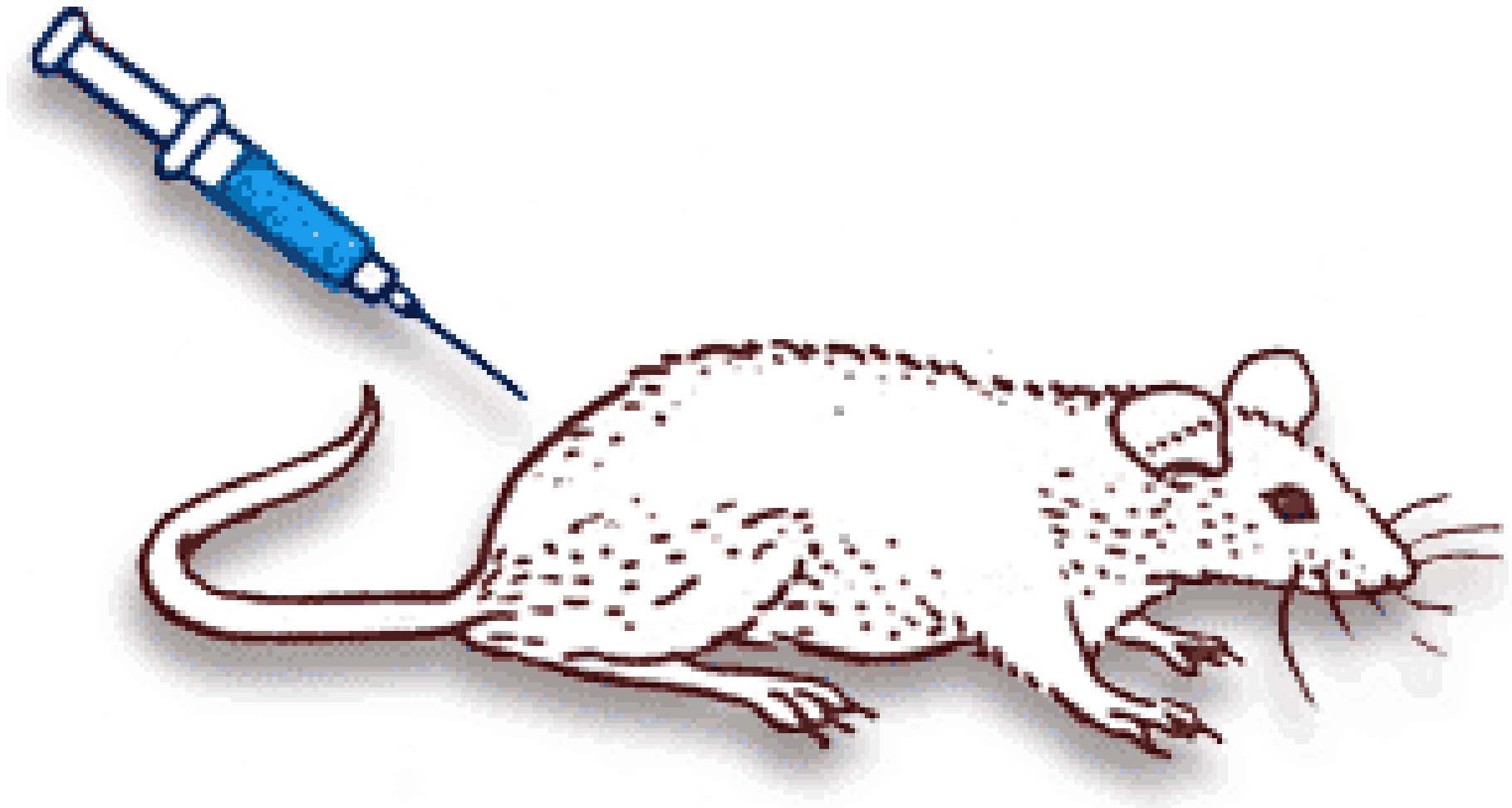
Nespecifické imunoglobulinové preparáty

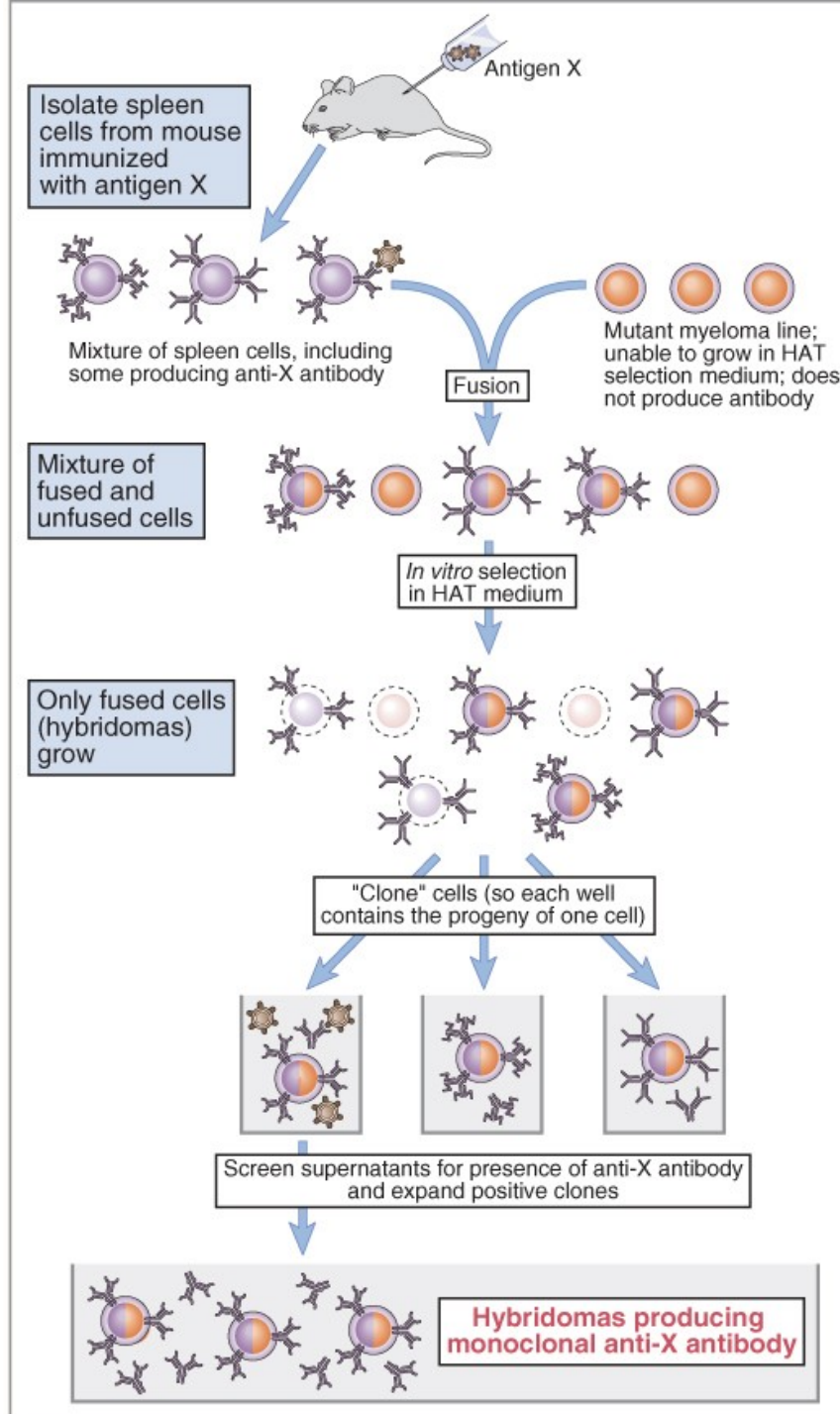
- Extrakcí etanolem je možno ze u plazmy získat imunoglobulinou frakci
- Obsahuje zejména IgG.
- V současné době jsou téměř výhradně používány preparáty intravenózní a subkutánní.
- Používají se k substituci u osob s poruchou tvorby protilátek.
- Mají i významné imunoregulační vlastnosti, používají se u některých autoimunitních chorob.

Polyklonální a monoklonální protilátky

- polyklonální (séra)
 - směs imunoglobulinových molekul s různou specificitou (zpravidla proti různým epitopům 1 antigenu)
 - příprava imunizací zvířat
- monoklonální
 - produkt 1 klonu B lymfocytů s jedinečnou specificitou
 - produkce nádorem z plazmatickým buněk (myelom)
 - příprava hybridomovou technologií

Příprava monoklonálních protilátek - I





Využití monoklonálních protilátek

- v diagnostice ke klasifikaci lymfocytů a jiných leukocytů (CD markery, průtoková cytometrie)
- v diagnostice infekčních či systémových onemocnění nebo nádorů, pokud jsou známy specifické antigeny (protilátky) vyskytující se u těchto onemocnění (bez ohledu na příčinnou souvislost; imunoanalýzy, průtoková cytometrie)
- **v terapii**, k zacílení buněk a molekul důležitých v patogenezi nemocí
- ve výzkumu

Příklady klinického využití monoklonálních protilátek v léčbě imunopatologických chorob

- Imunosuprese: anti-CD3 (OKT3),
 - anti CD25 (basiliximab, daclizumab),
 - anti CD20 (rituximab)
- Blokára prozánětlivých cytokinů:
 - Anti –TNF– α (infliximab, adalimumab) – revmatoidní aritida, Crohnova choroba,
- Blokáda adhezivních molekul:
 - anti integrin $\alpha4\beta1$ (natalizumab) – roztroušená mozkomíšní skleróza
 - Anti-CD11a (efalizumab) - psoriáza
- Protialergická léčba
 - anti-IgE (omalizumab): těžké formy astmatu

Další příklady využití monoklonálních protilátek v medicíně

- Antiagregační léčba:
 - trombocytární receptor gpIIb/IIIa (abciximab)
- Antivirová léčba:
 - RS virus (palivizumab)

Využití monoklonálních protilátek v léčbě autoimunitních a zánětlivých chorob

- Imnosupresivní léčba:
 - Anti-CD3 (dnes už vyjímečně)
 - Anti-CD20
 - Anti-CD52
- Protizánětlivá léčba
 - Blokáda prozánětlivých cytokinů:
 - Anti-TNF- α , IL-6, IL-1
 - Blokáda adhezivních molekul:
 - Anti-integrin $\alpha 4\beta 1$ (léčba roztroušené mozkomíšní sklerózy)
 - Anti-CD11a (léčba psoriázy)
- Protialergická léčba
 - anti-IgE

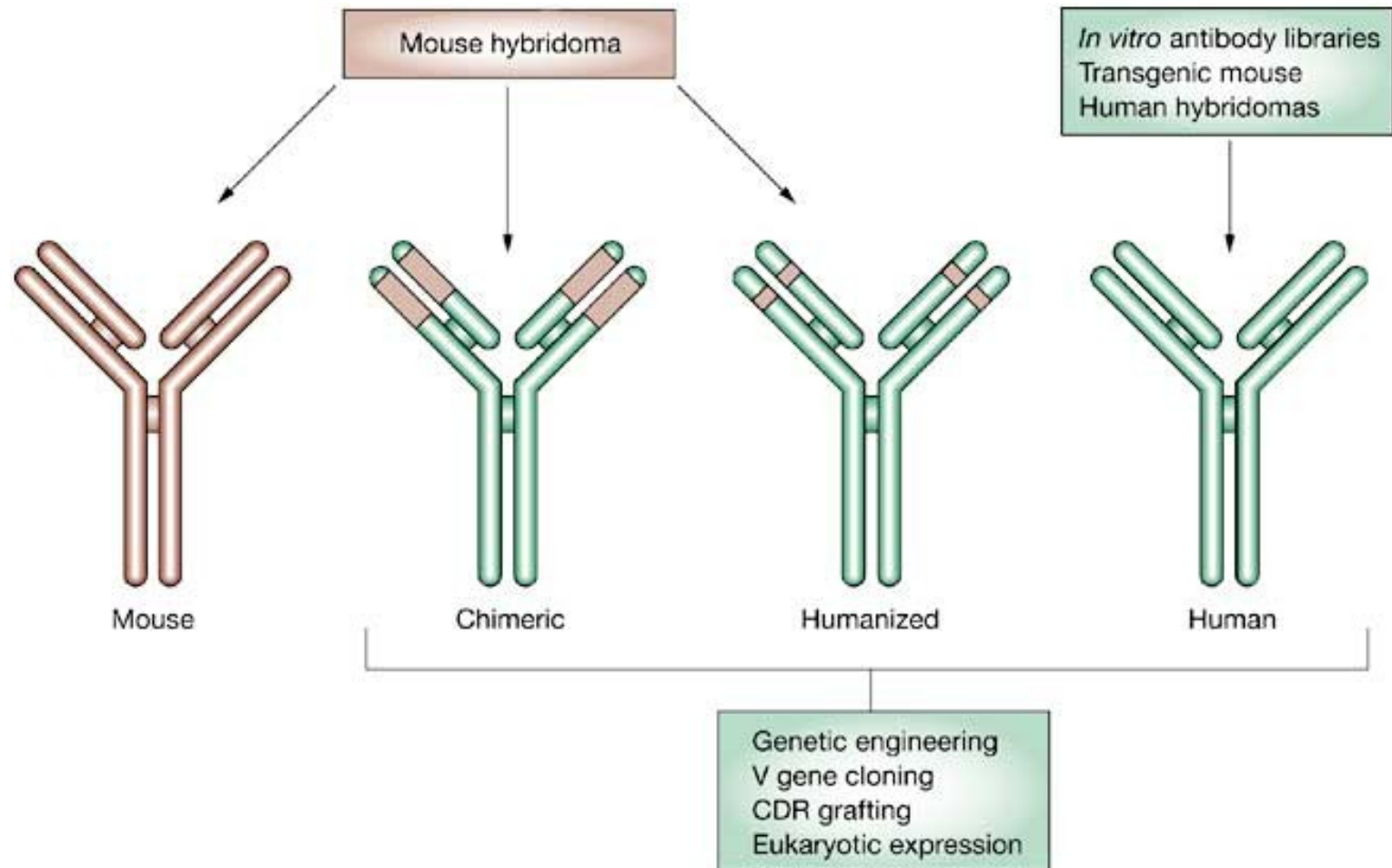
Příklady využití monoklonálních protilátek v léčbě zhoubných nádorů

- Protilátky proti anigenům bílých krvinek:
 - anti CD-20 (rituximab) léčba lymfomů,
 - anti-CD52 (Alemtuzumab) – léčba lymfomů
- Anti-receptorové protilátky:
 - anti-epidermal growth factor (receptor HER-2) (trastuzumab) – mamární karcinom
 - anti-epidermal growth factor (receptor EGFR) (cetuximab) – kolorektální karcinom

Další příklady využití monoklonálních protilátek v medicíně

- Antiagregační léčba:
 - trombocytární receptor gpIIb/IIIa (abciximab)
- Antivirová léčba:
 - RS virus (palivizumab)

Typy monoklonálních protilátek používaných k terapii



Hohlfeld R *et al.* (2005) Drug Insight: using monoclonal antibodies to treat multiple sclerosis; *Nat Clin Pract Neurol* 1 34-44 [doi: 10.1038/ncpneuro0016]

nature
CLINICAL
PRACTICE

NEUROLOGY