

# Imunologické mechanismy obrany proti infekcím

Jiří Litzman

# **Faktory ovlivňující tíž 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 (  $\alpha$  a  $\beta$  )
- Přírození zabíječi (NK buňky)
- Receptorům podobné struktury v sekretech

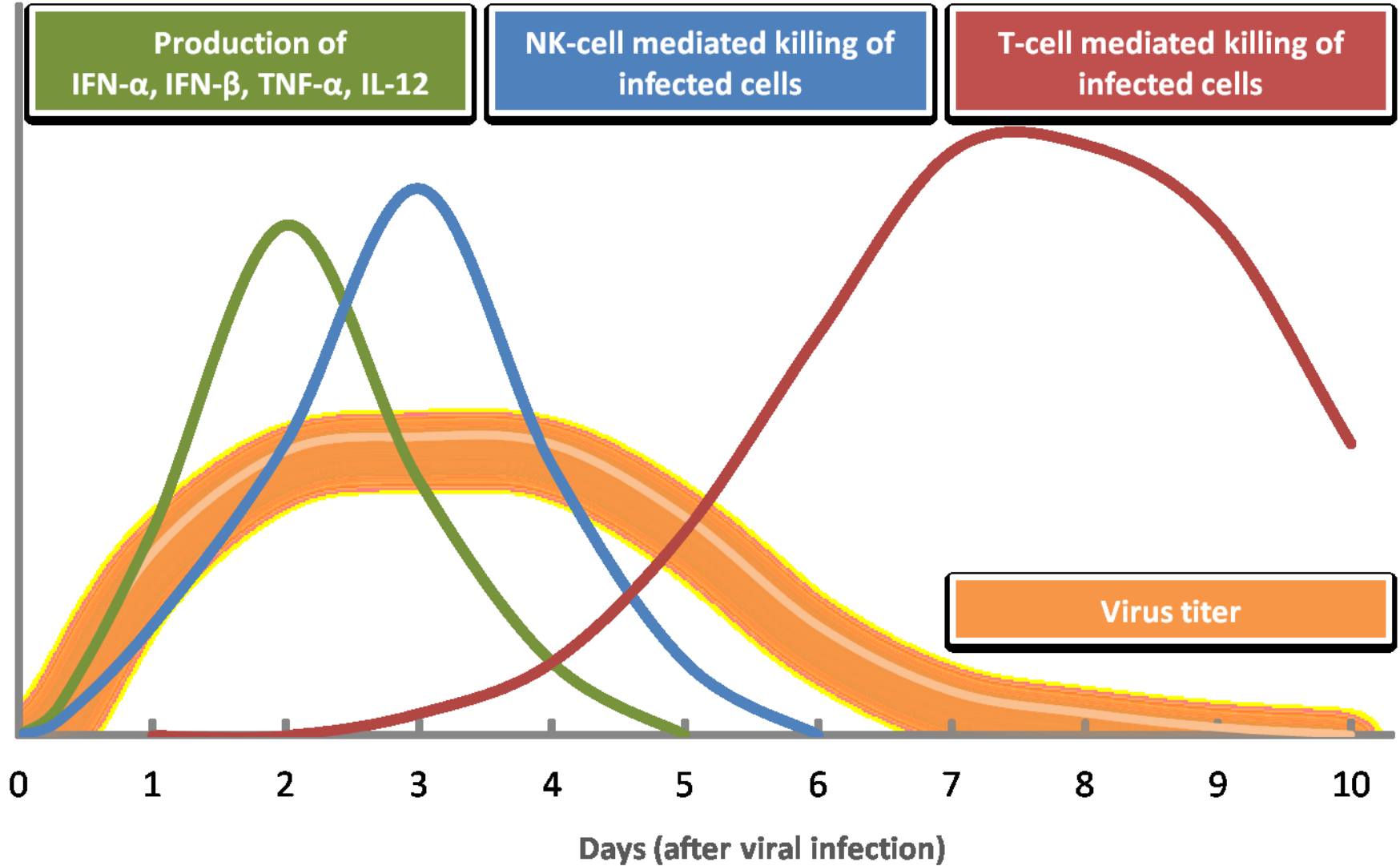
V některých případech též:

- Aktivace komplementového systému (EBV)
- Fagocytóza

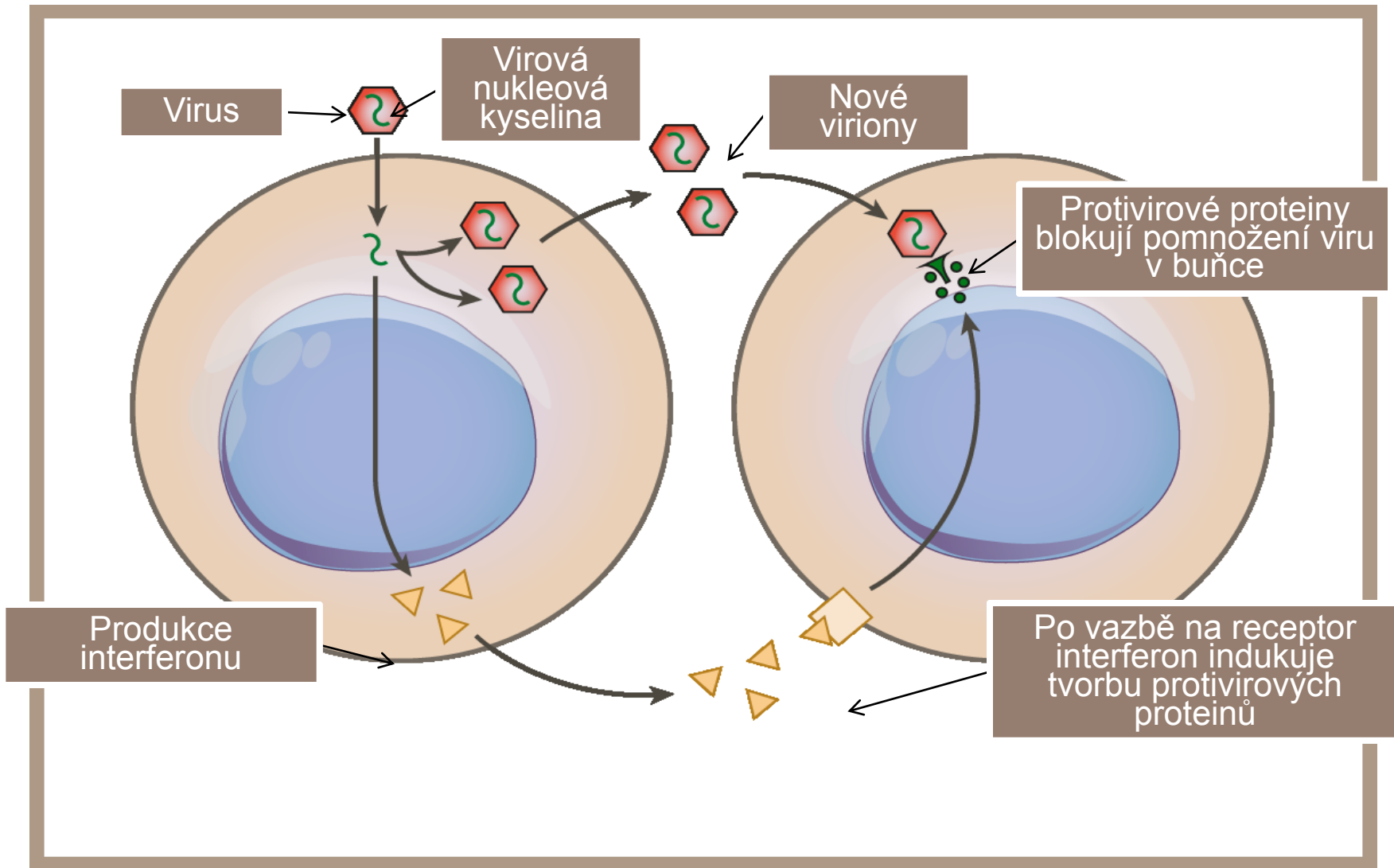
## – Specifická imunita

- 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  $\beta$ -2 mikroglobulin), RSV - snížení exprese HLA-I antigenů
- Zásah do cytokinové sítě: EBV ( IL-10 - like faktor), Poxviry ( IL-1R, IFN $\gamma$ R- like proteiny, CMV ( IL-8R - like proteiny)
- Modulace apoptózy: - Adenoviry (inhibice TNF $\alpha$ -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**

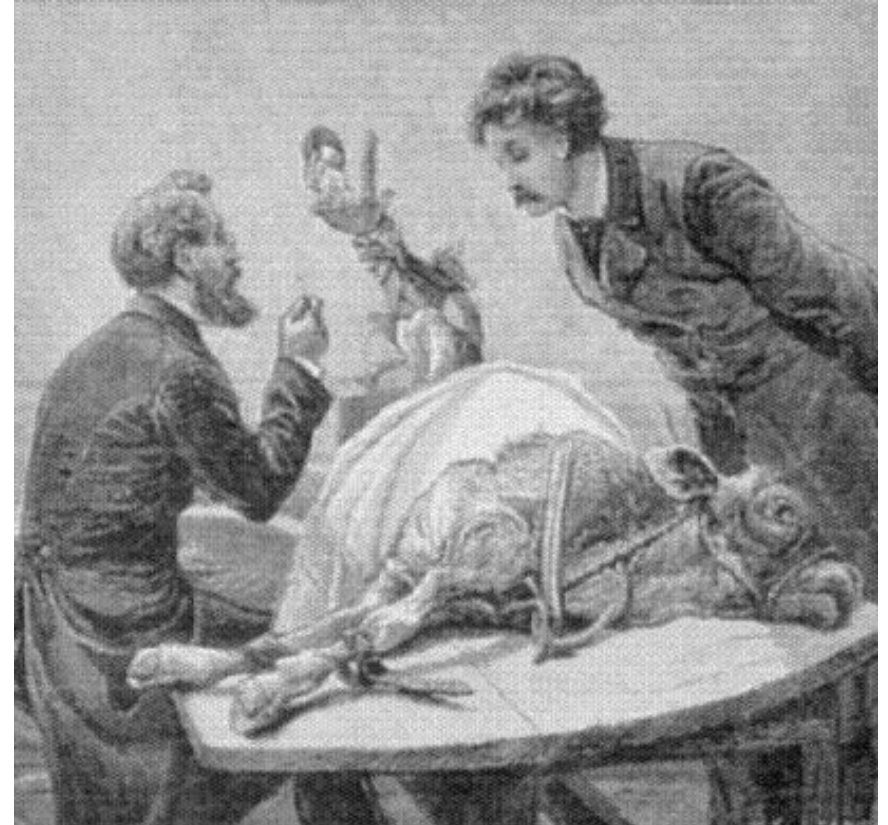
**Terapie, krátkodobá  
profylaxe**



Aktivní umělá imunizace  
= vakcinace

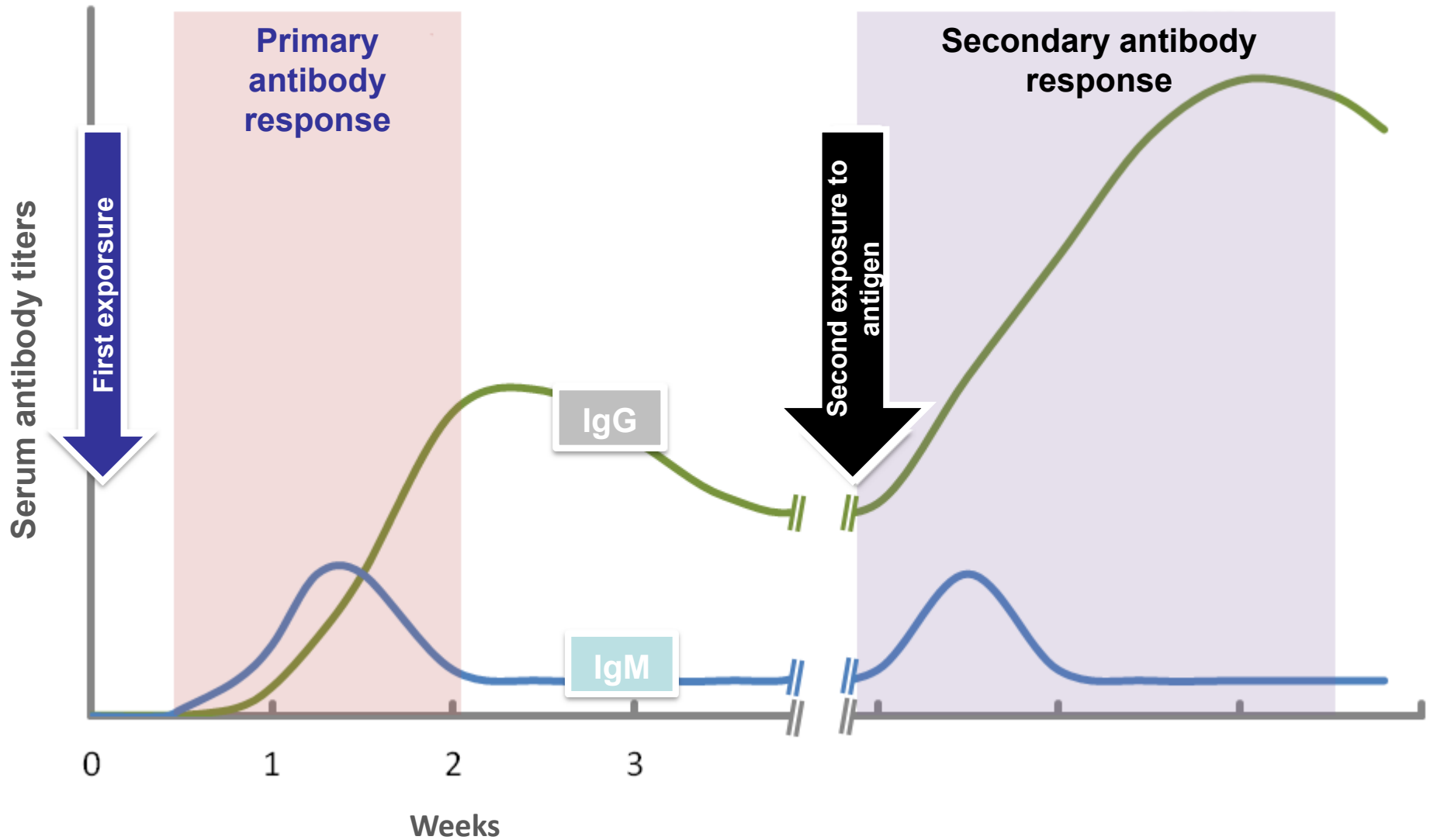
Aktivní umělá imunizace  
= vakcinace

# Edward Jenner



Discovery of small pox vaccine

# Protilátková odpověď po první a opakované imunizaci

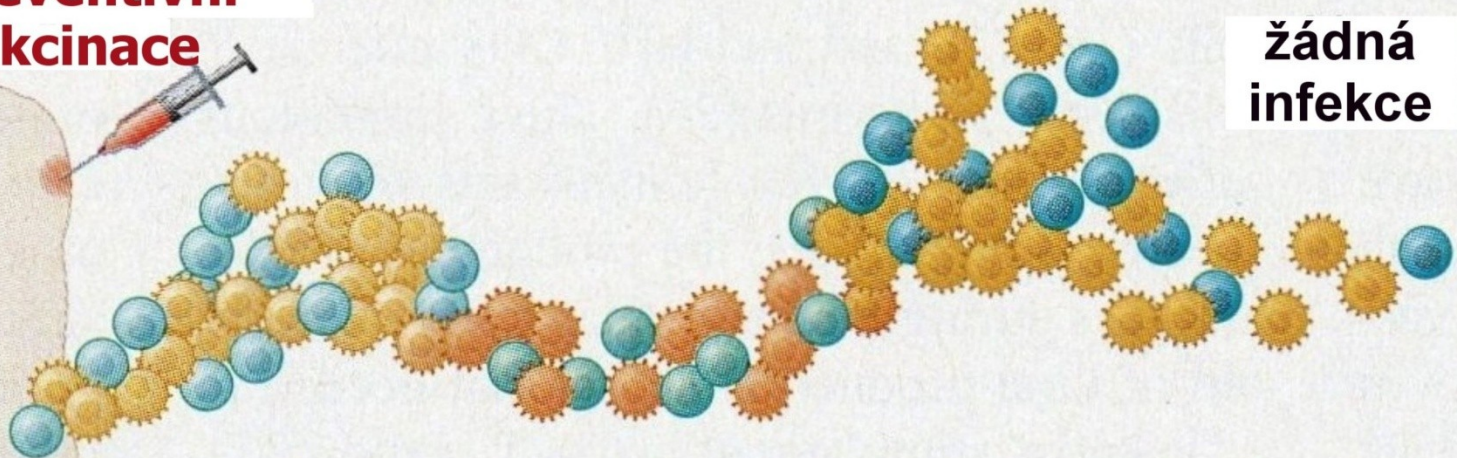


**A**

**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.)

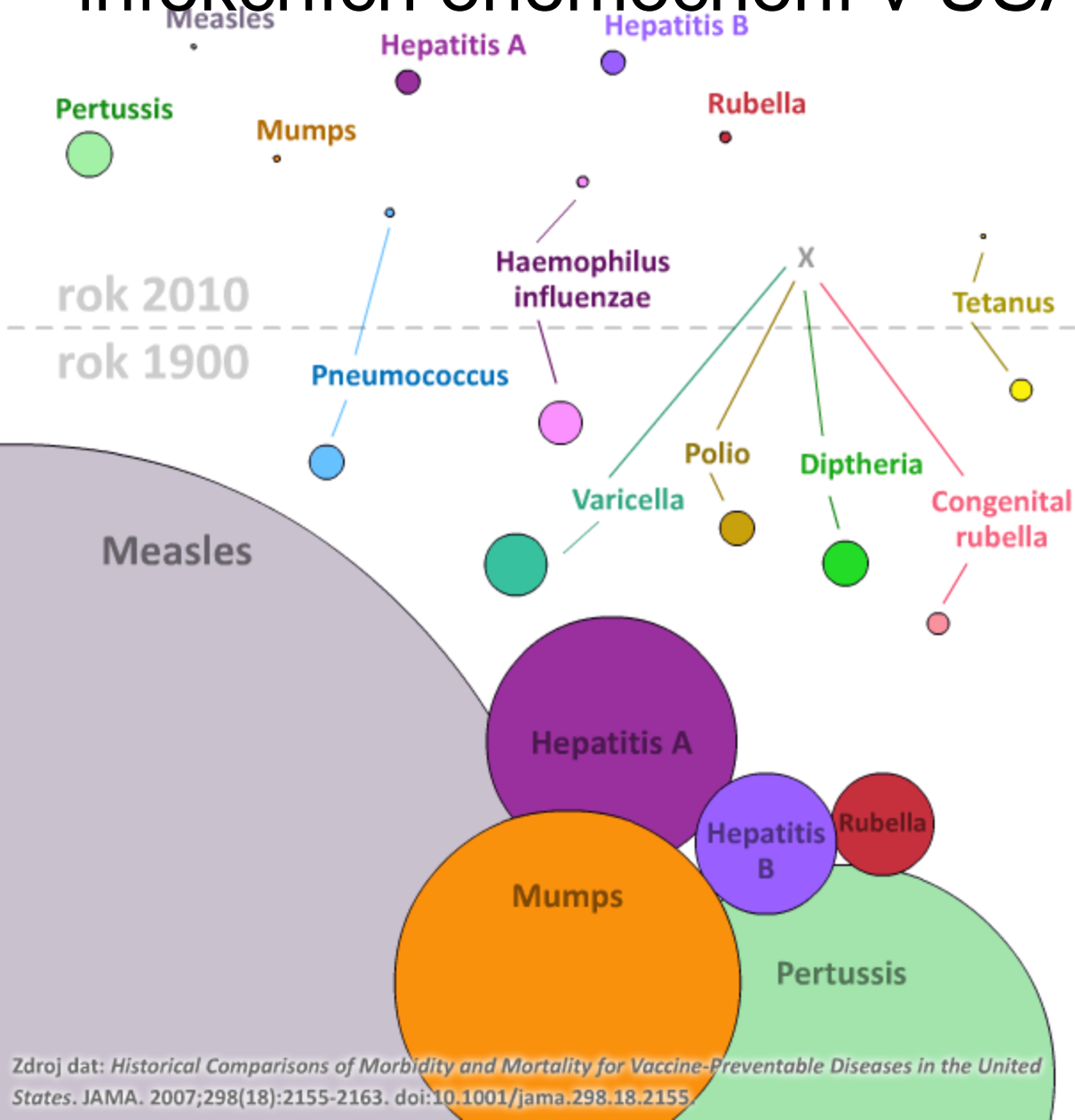
Následky dětské poliomyelitidy



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

Novorozenecký tetanus

# Vliv očkování na výskyt infekčních onemocnění v USA



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



# 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.

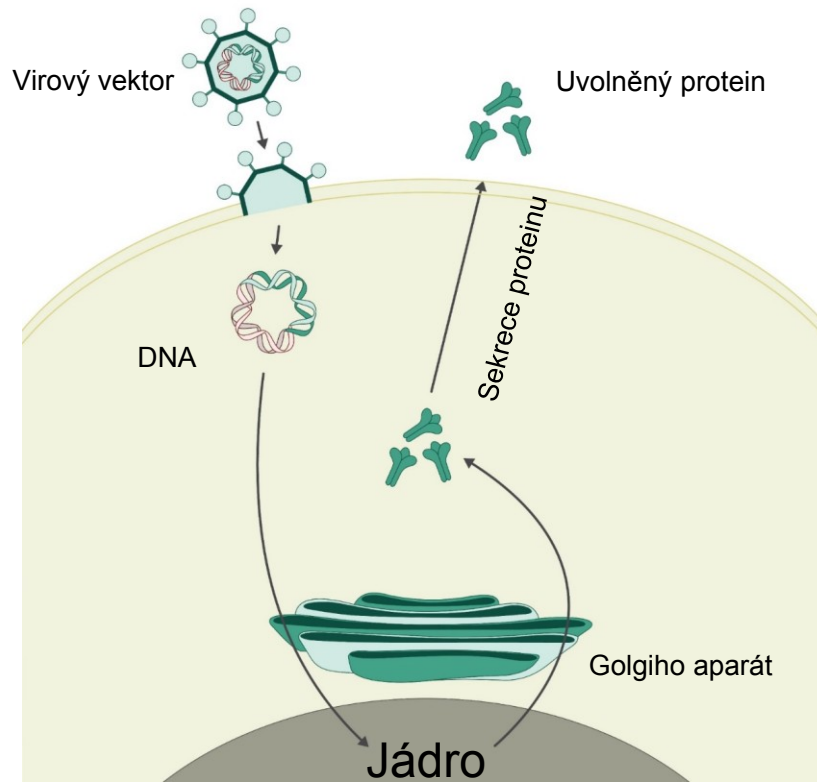
Schválené EMA: Vaxzevria (Oxford- Astra-Zeneca), Johnson & Johnson,

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.

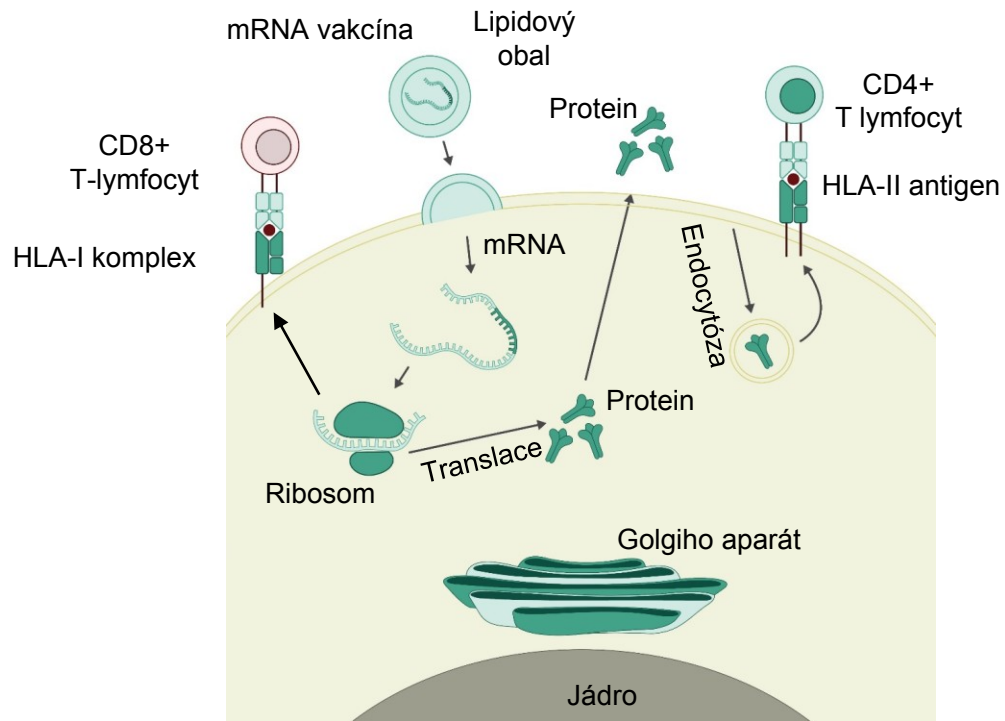
Aplikace intramuskulární,  
intraepidermální - „gene gun“  
slizniční

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

# RNA vakcíny

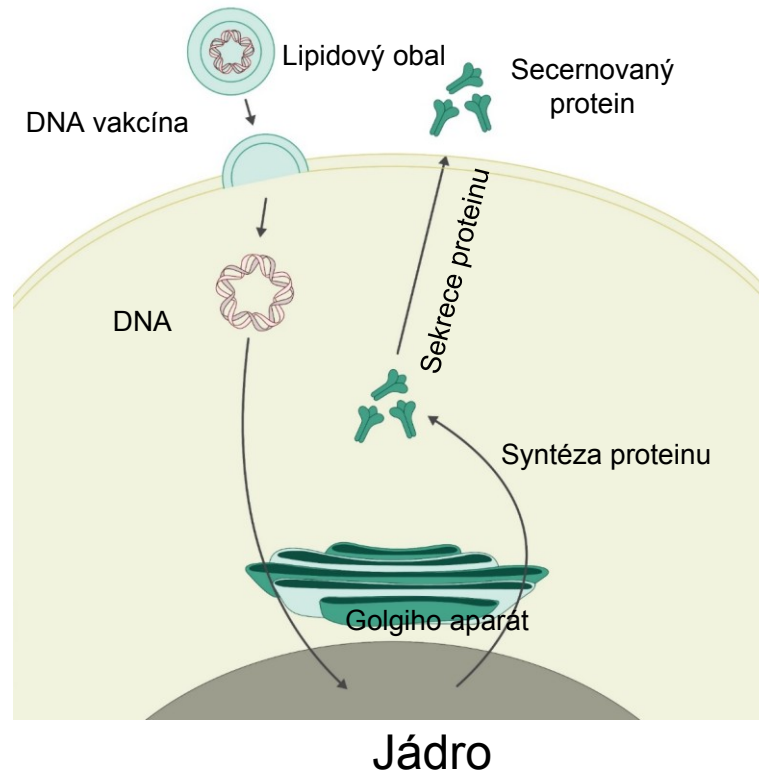
- RNA pro syntézu protektivních virových antigenů je vnesena do buněk, ty krátkodobě produkují virové proteiny.
- Schválené EMA: Comirnaty (Pfizer-BioNTech), Moderna,
- Na schválení EMA čeká CVnCoV (CureVac)

# 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 používána, řada přístupů preventivních (očkování proti onkogenním virům) i terapeutických
- **Prevence a léčba Alzheimerovy choroby** – reakce proti  $\beta$ -amyloidu příp.  $\tau$ -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

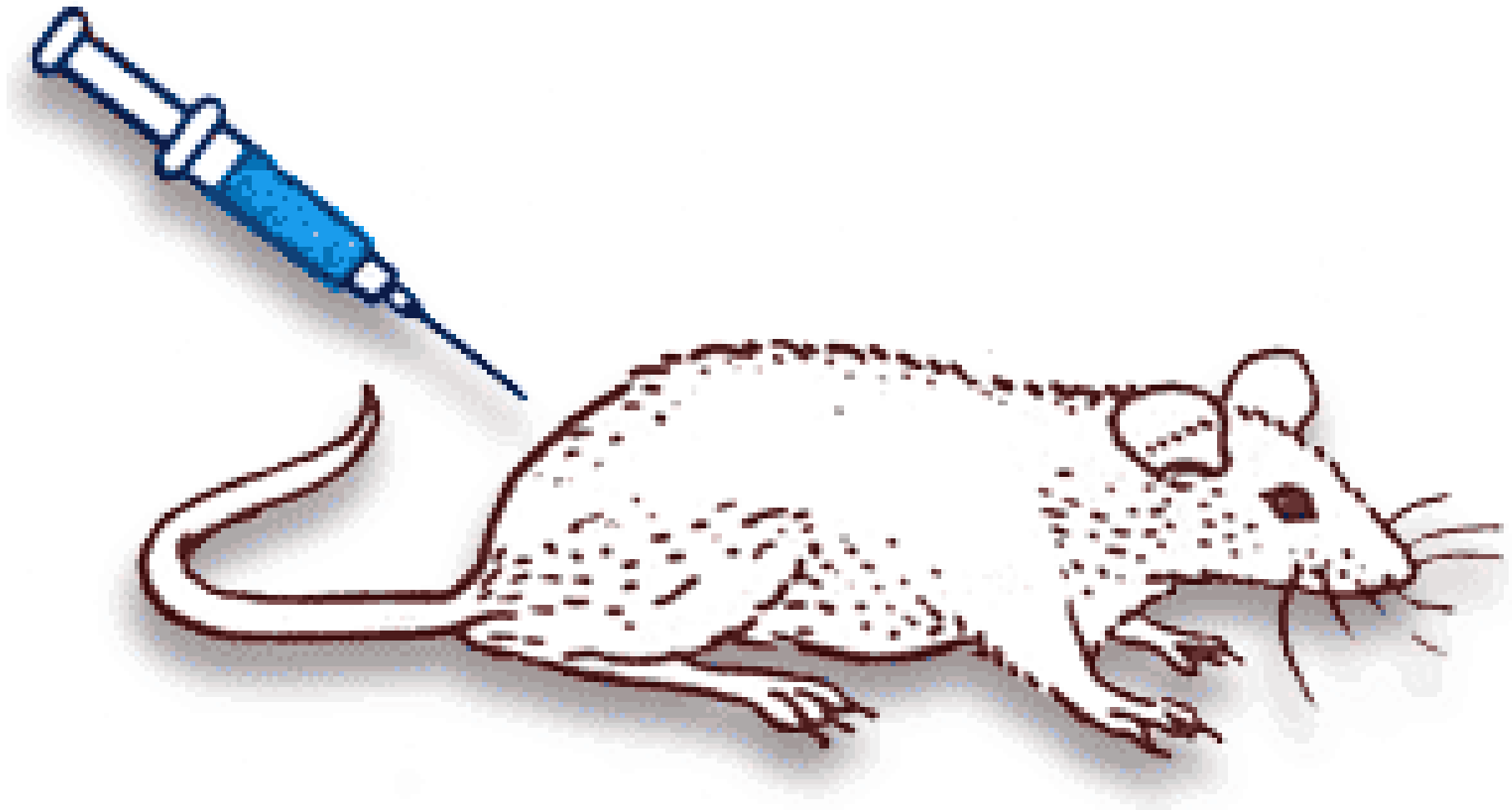
- Extrakcí etanolem je možno ze u plazmy získat imunoglobulinou frakci
- Obsahuje zejména IgG.
- V současné době jsou téměř výhradně používány preparáty intravenózní a subkutánní.
- Používají se k substituci u osob s poruchou tvorby protilátek.
- Mají i významné imunoregulační vlastnosti, používají se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

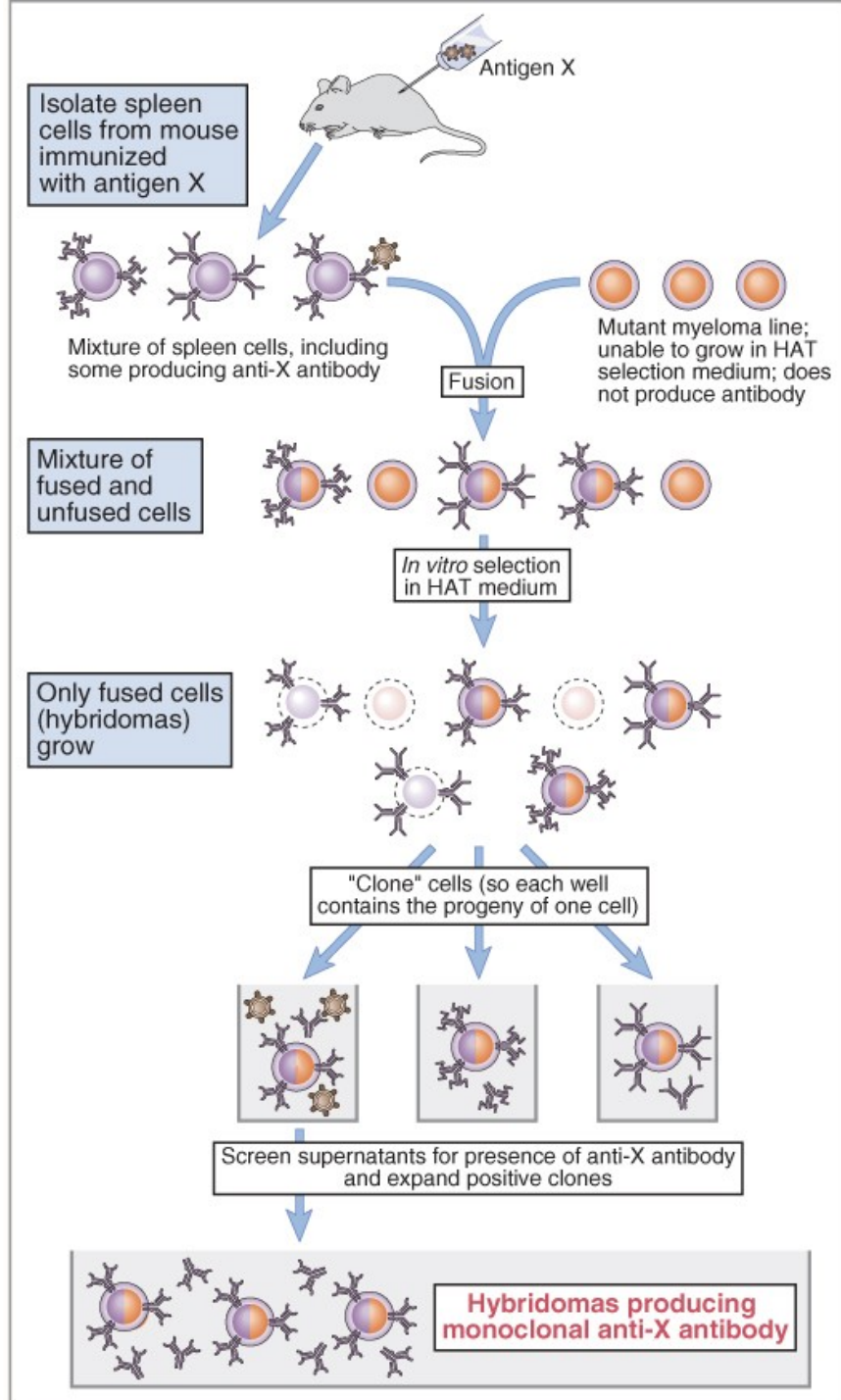
# Polyklonální a monoklonální protilátky

- 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– $\alpha$  (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- $\alpha$ , 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

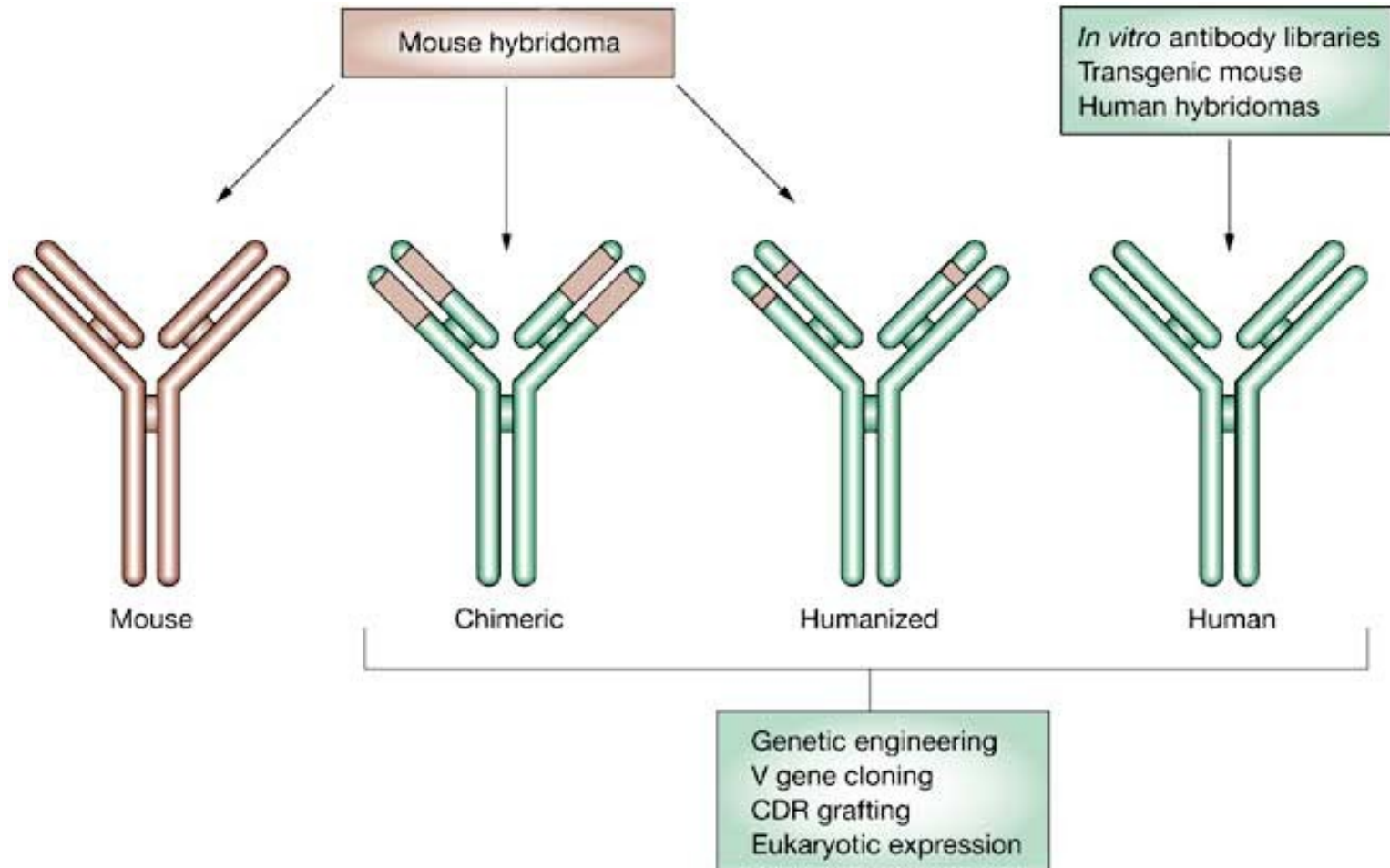
- Protilátky proti anigenům bílých krvinek:
  - anti CD-20 (rituximab) léčba lymfomů,
  - anti-CD52 (Alemtuzumab) – léčba lymfomů
- Anti-receptorové protilátky:
  - anti-epidermal growth factor (receptor HER-2) (trastuzumab) – mamární karcinom
  - anti-epidermal growth factor (receptor EGFR) (cetuximab)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