

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

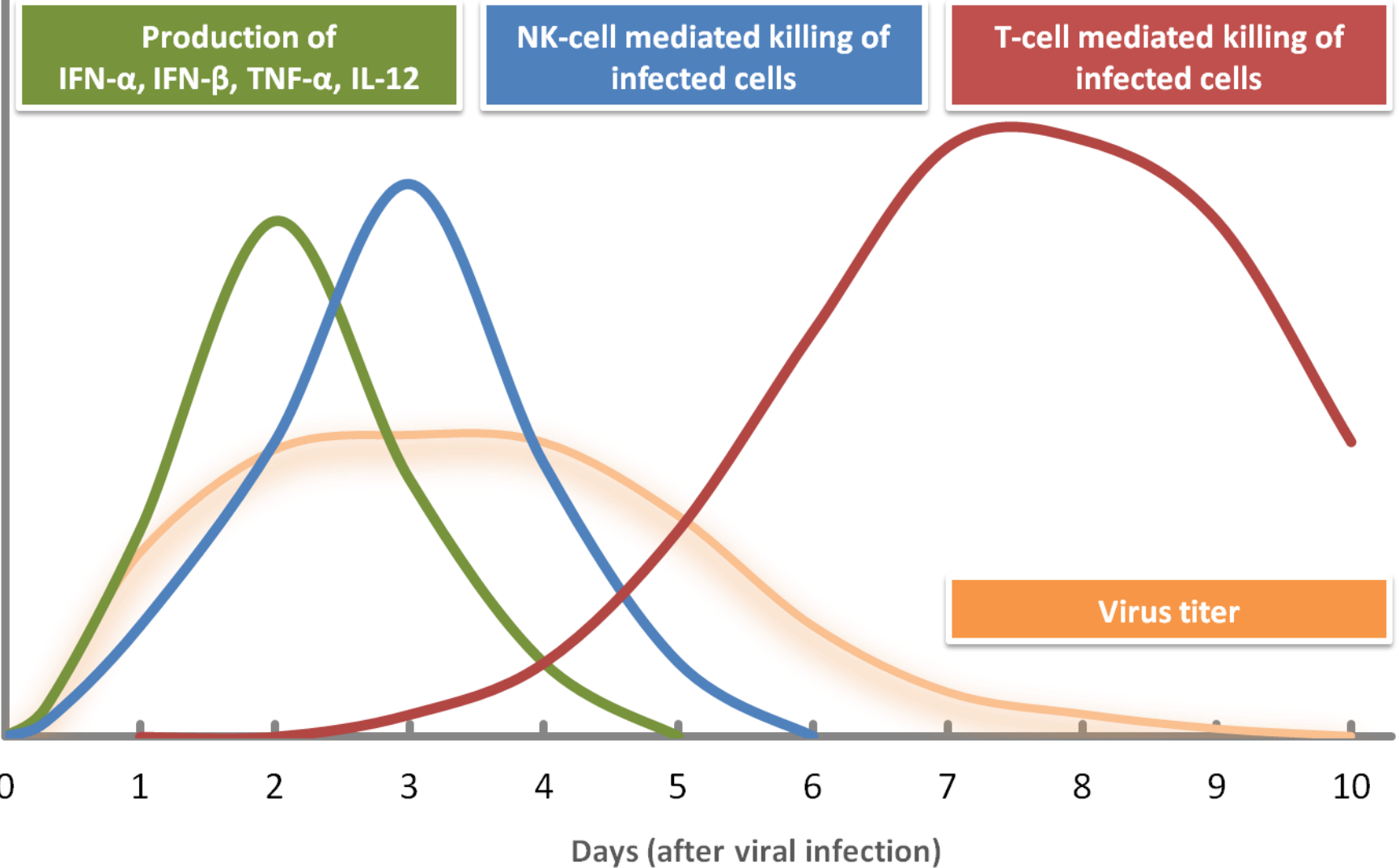
– Nespecifická imunita

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

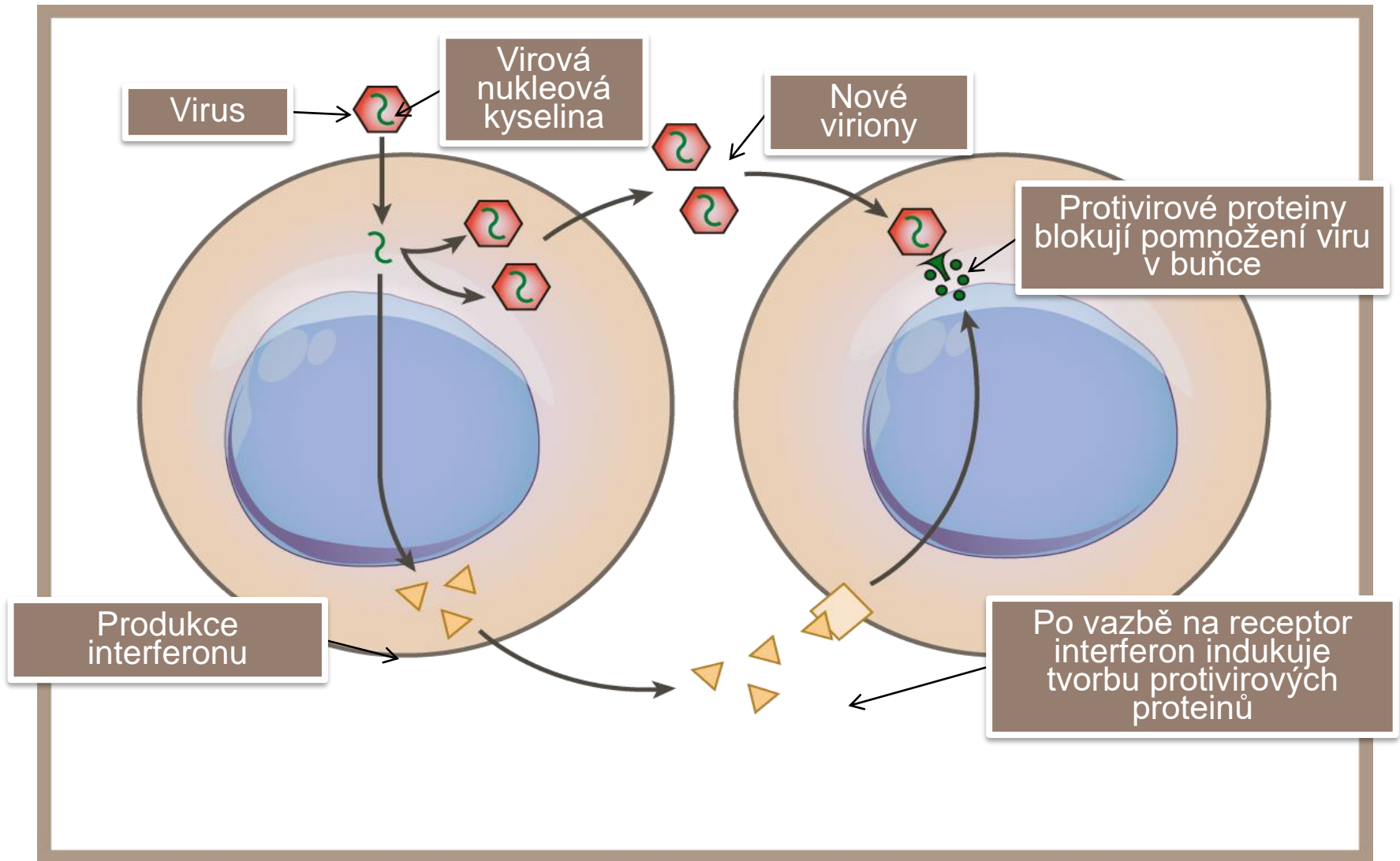
– Specifická imunita

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

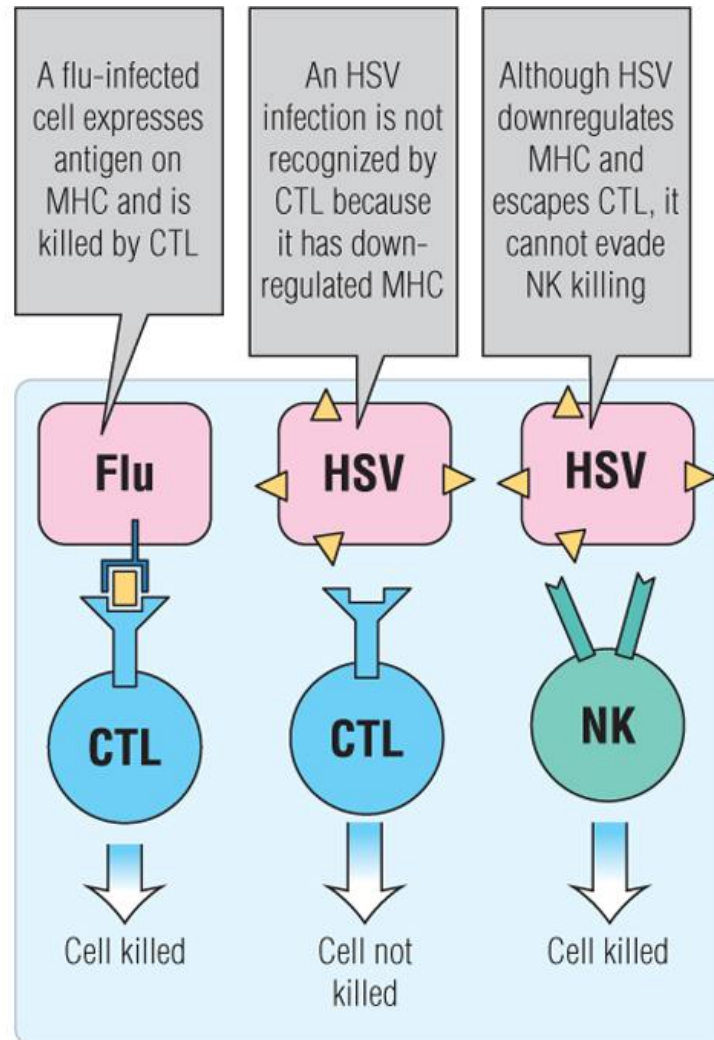
Mechanismy protivirové imunity



Mechanismus účinku interferonu



Význam TCL a NK buněk v obraně proti buňkám infikovaným buňkám



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)

Postižení organismu způsobené imunitní reakcí na viry

- Autoimunitní fenomény: hemolytická anémie indukovaná EBV, autoimunitní hepatitis po infekci HBV.
- Imunokomplexové postižení: HBV, některé vaskulitidy.
- Tc - mediované postižení: spalničky (exantém), coxackie viry (myokarditida).

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**

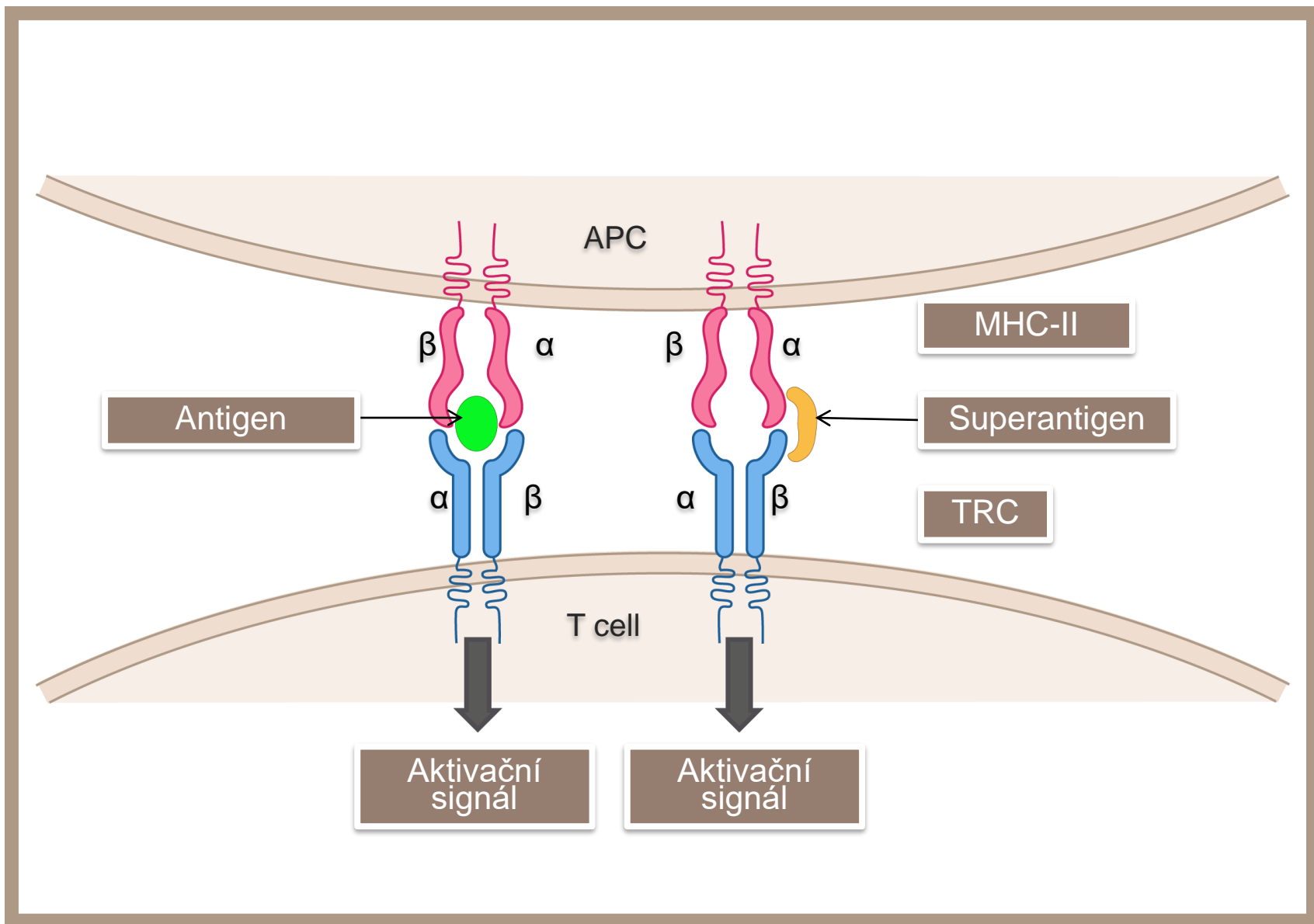
Mechanismy ochrany bakterií proti imunitnímu systému

- 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

Poškození organismu způsobené imunitní reakcí proti baktériím

- Indukce autoimunity
 - Zkřížená reaktivita bakteriálních a tělových antigenů - revmatická horečka
 - II. typ přecitlivělosti - autoimunitní hemolytická anémie při mykoplasmové infekci
 - HSP - indukce RA mykobaktériemi?
 - Superantigeny (Streptokoky, Stafylokoky)
- Immunokomplexové postižení (poststreptoková glomerulonefritida)
- IV. typ přecitlivělosti - kavitace při TBC

Aktivace TCR antigenem a superantigenem



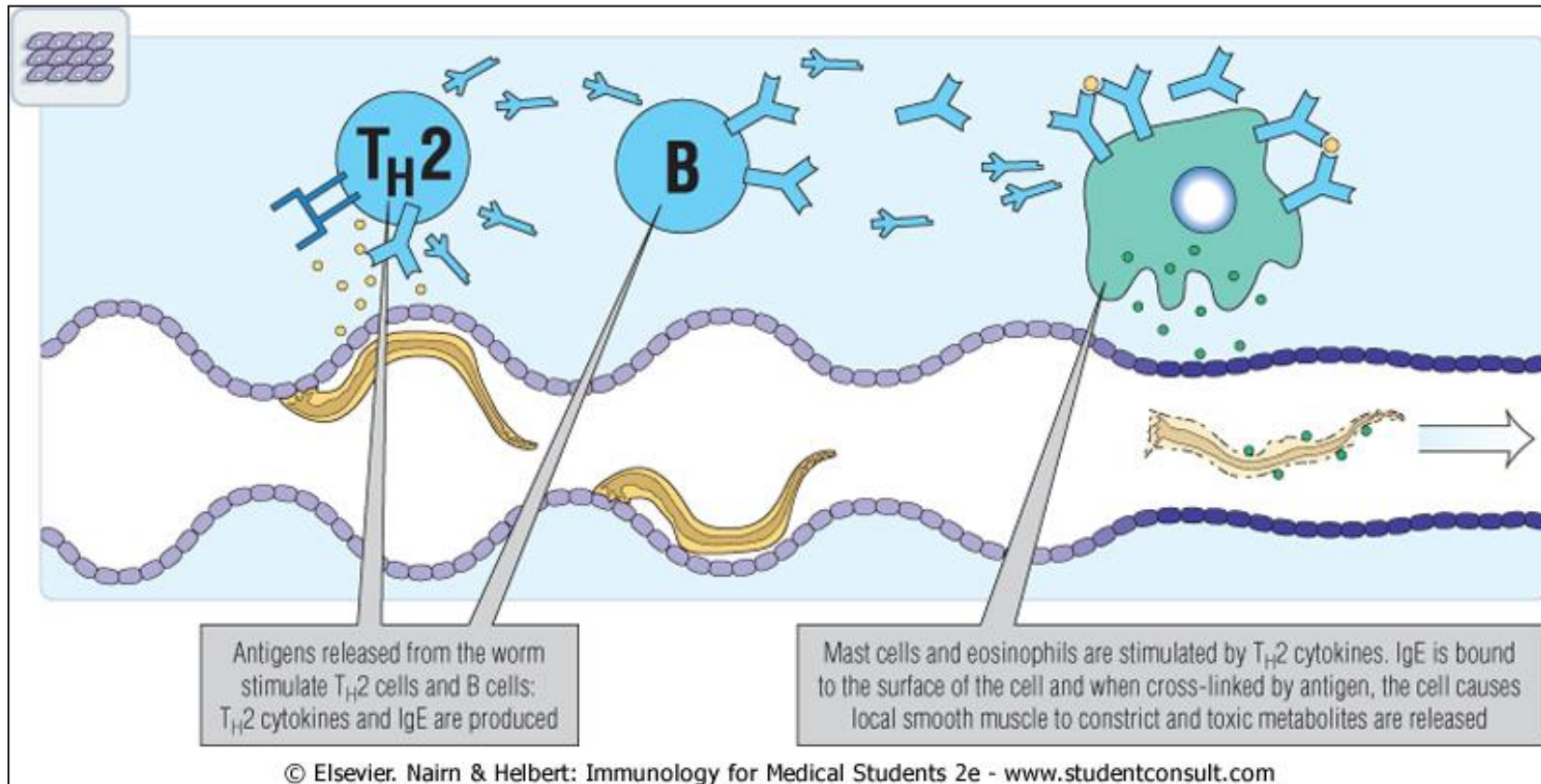
Imunita proti mykotickým infekcím

- 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.

Role IgE a mastocytů v obraně proti mnohobuněčným parazitům



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)**

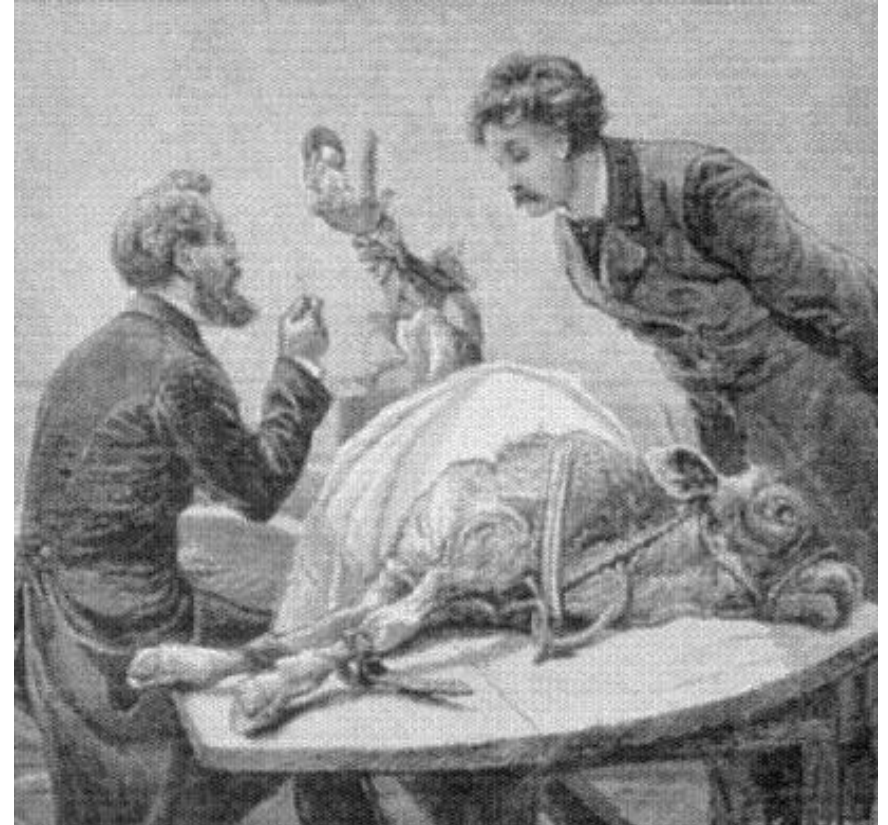
Použití

**Dlouhodobá
profylaxe**

**Terapie, krátkodobá
profylaxe**

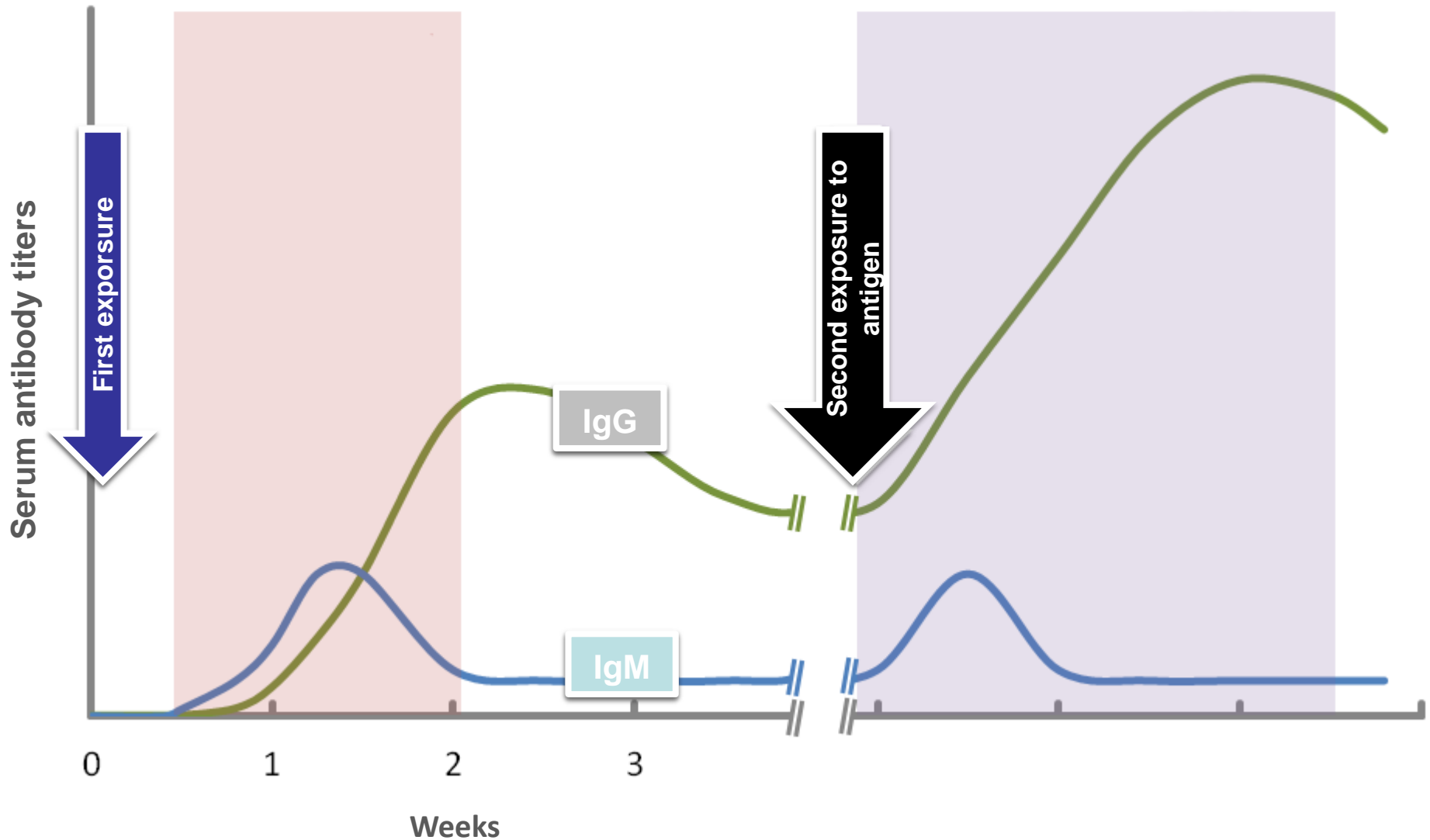
Aktivní umělá imunizace
= vakcinace

Edward Jenner



Discovery of small pox vaccine

Protilátková odpověď po první a opakované imunizaci

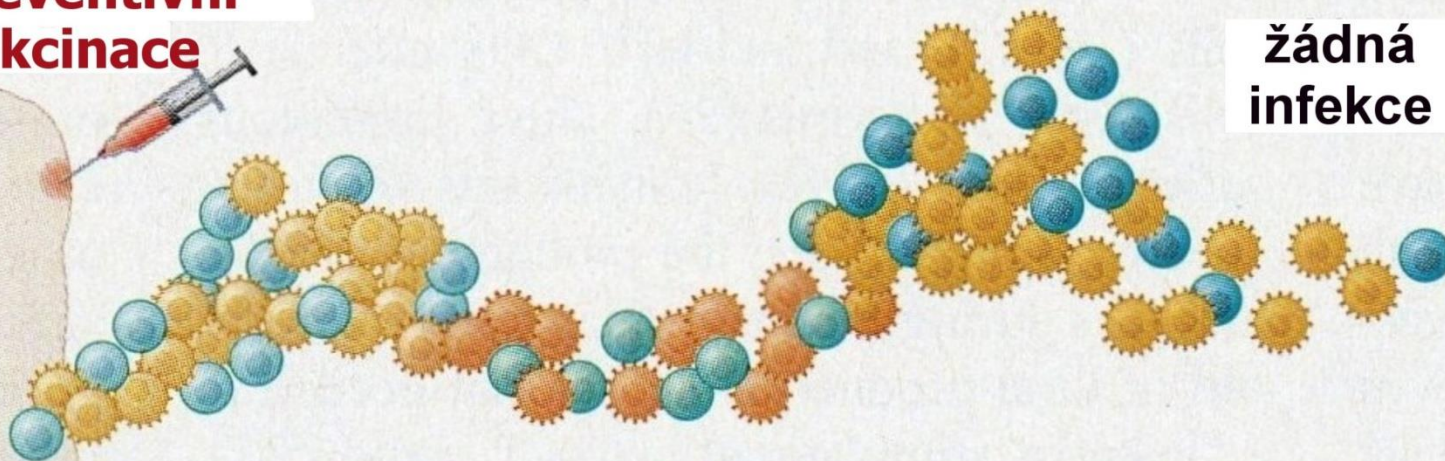


A

**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...
- Řada nových adjuvancií je patentově chráněna a informace jsou omezené.

Vakcinace chrání proti závažným infekcím



(From World Health Organization.)

Následky dětské poliomyelitidy



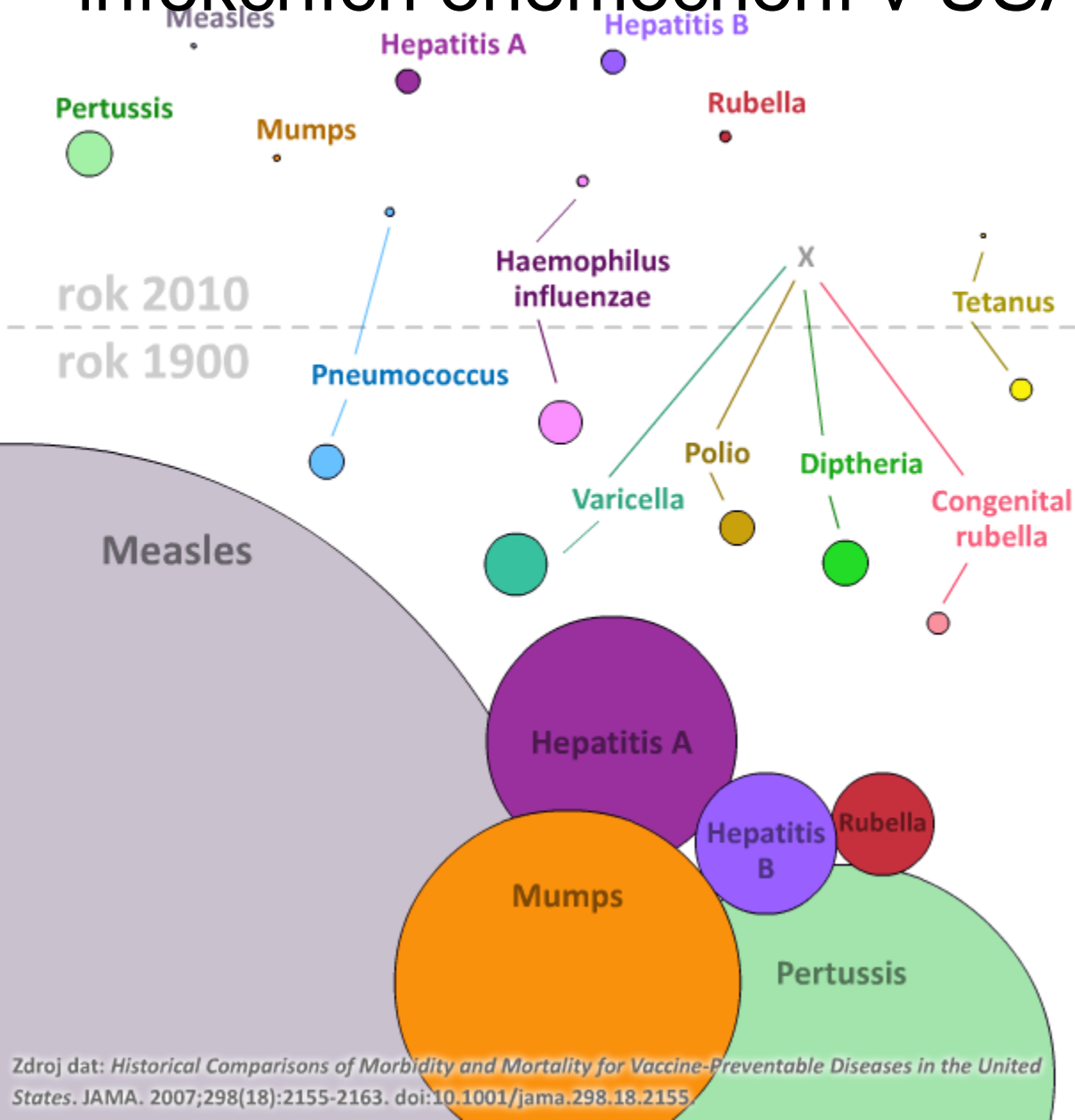
(From the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA.)

Novorozenecký tetanus

Železná plíce



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

Ten Great Public Health Achievements in the 20th Century (CDC)

- **Vaccination to reduce epidemic diseases**
- Improved motor vehicle safety.
- Safer workplaces
- Control of infectious diseases
- Decline in death from cardiovascular disease
- Food Safety
- Improvements in maternal and child health
- Family planning
- Fluoridation of drinking water
- Reductions in prevalence of tobacco use

WHO: top 10 threats to global health in 2019

1. Air pollution and climate change
2. Noncommunicable diseases (NCDs)
3. Global influenza pandemic
4. Fragile and vulnerable settings
5. Antimicrobial resistance
6. Ebola and other high-threat pathogens
7. Weak primary healthcare
8. Vaccine hesitancy
9. Dengue
10. HIV

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

Pokusy o vakcíny proti SAR-Cov2.

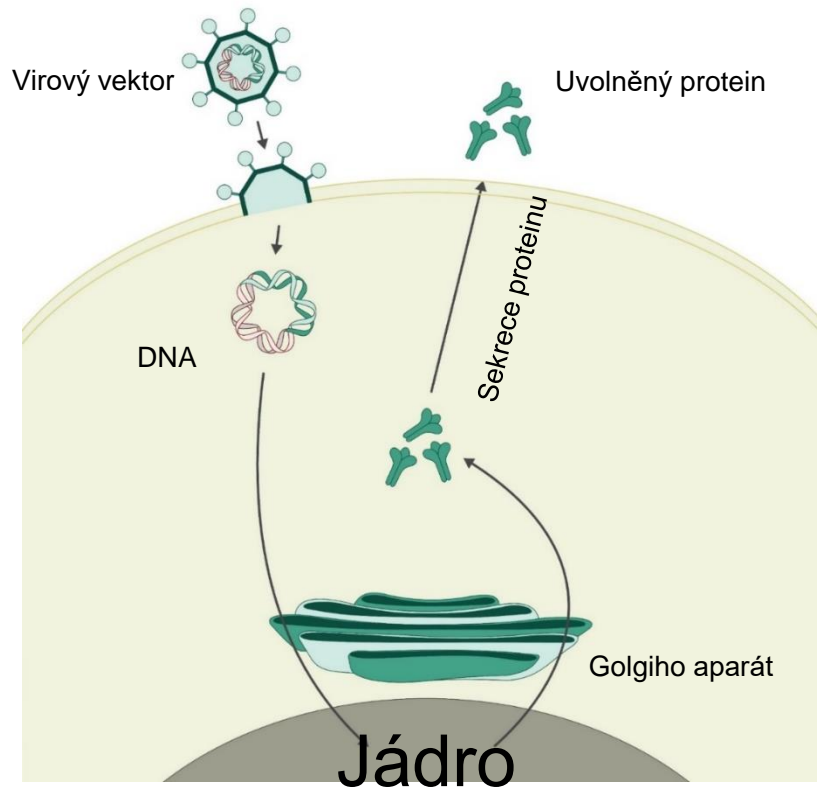
Vzhledem k horší imunogenicitě jsou nutné opakovaná očkování.

Vakcíny druhé generace

Využívají imunogenní části mikroorganismů získané přímo z mikrobů nebo rekombinantními mechanismy

- **Toxoidy:** tetanus, záškrť
- **Podjednotkové :** chřipkové vakcíny, pertusse, Novavax (anti SARS-Cov_2)
- **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) –vakcína Oxford-Astra-Zeneca, vakcína Johnson & Johnson.

Adenovirová vektorová vakcína



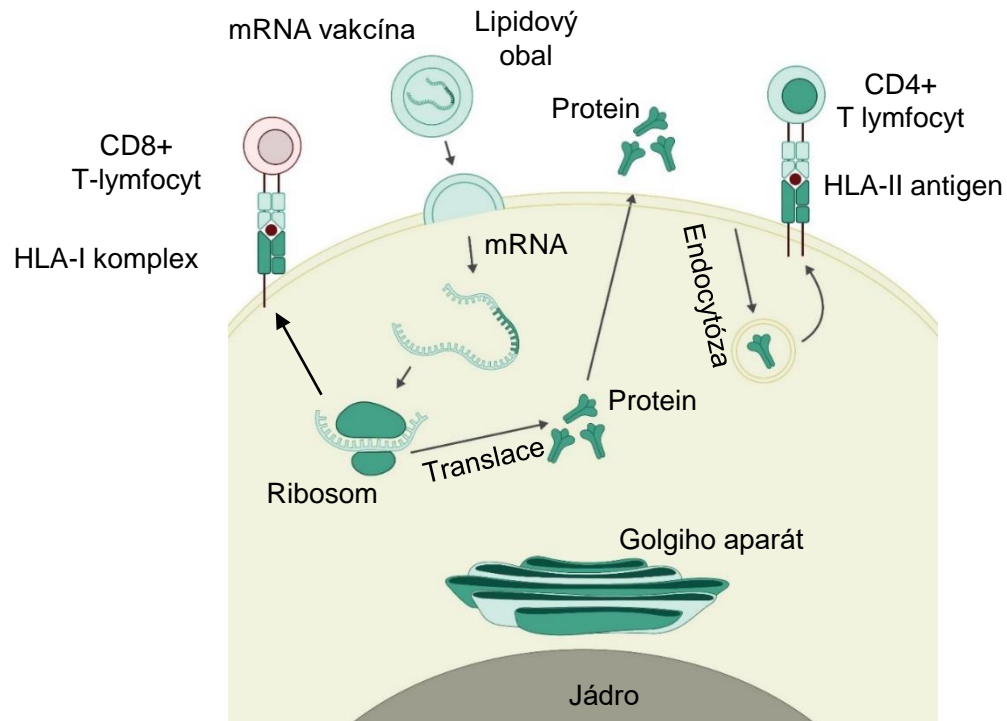
Vakcíny třetí generace

- Do buněk se vnáší genetická informace pro tvorbu protektivního antigenu:
- DNA vakcíny
- RNA vakcíny

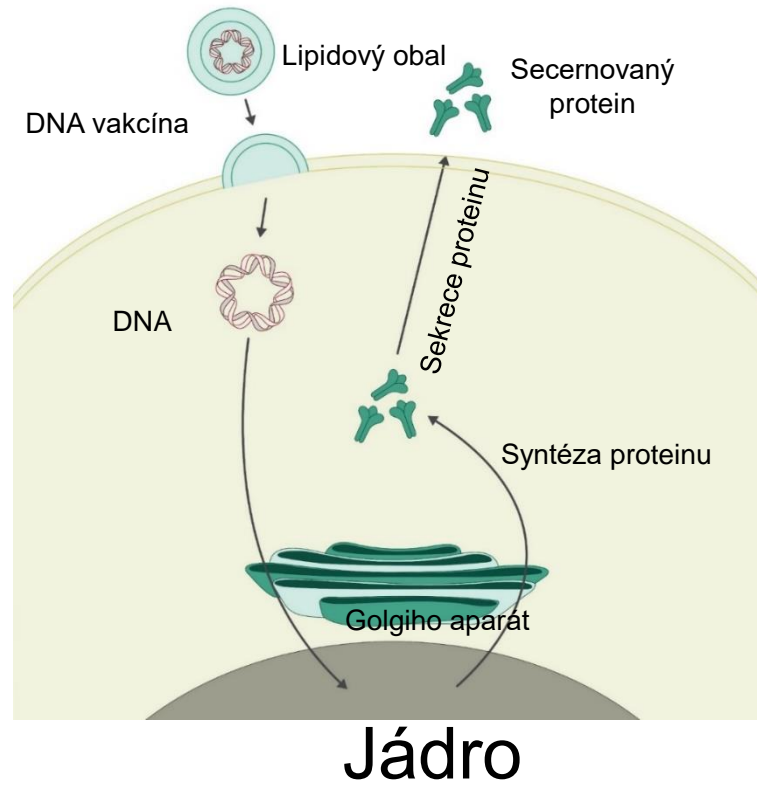
RNA vakcíny

- RNA pro syntézu protektivních virových antigenů je vnesena do buněk, ty krátkodobě produkují virové proteiny.
- Proti SARS-Cov2: Comirnaty (Pfizer-BioNTech), Spikevax (Moderna)

RNA vakcína



DNA vakcína



Pravidelné očkování v ČR

povinné plošné očkování proti

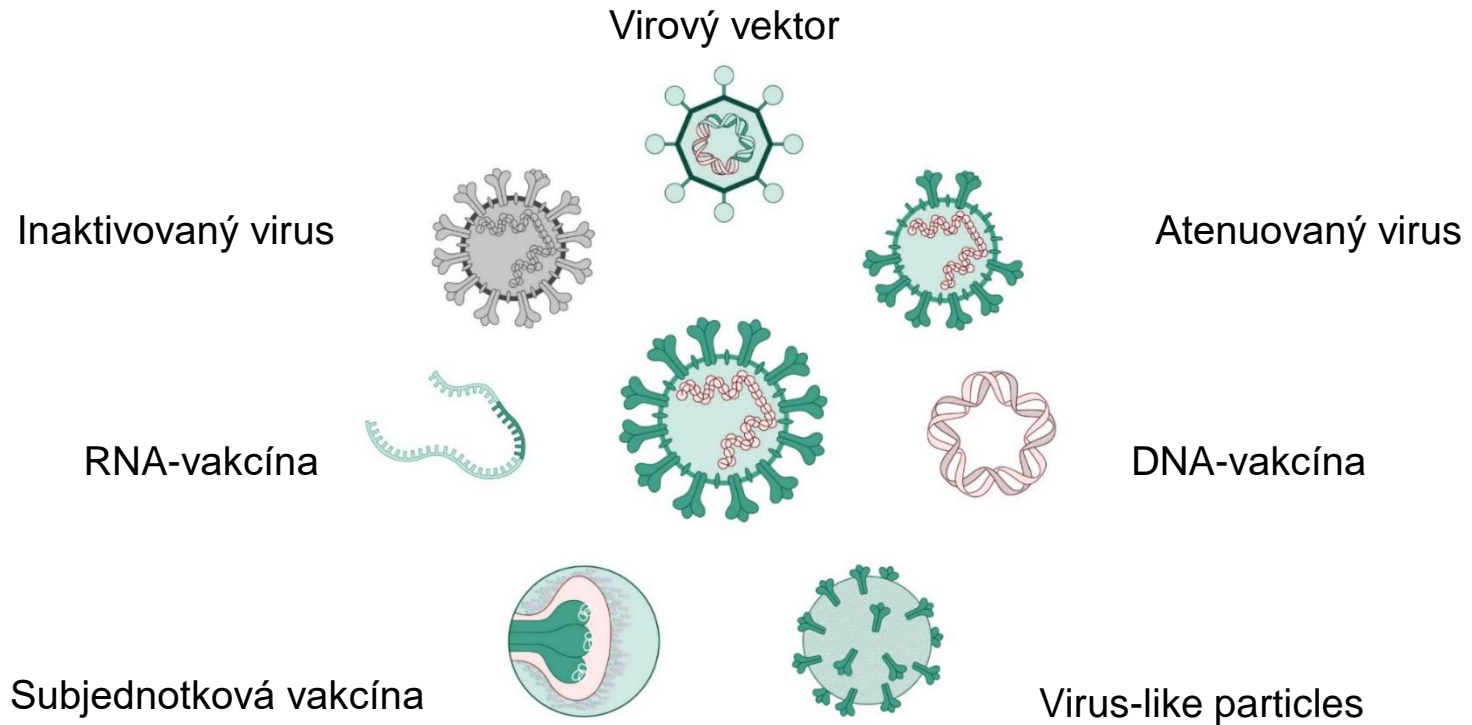
záškrtu, tetanu, černému kašli, hemofilové invazivní infekci, virové hepatitidě B, dětské obrně, spalničkám, zarděnkám, příušnicím

doporučená očkování

u rizikových dětí proti tbc (BCG)

proti pneumokokovým a meningokokovým onemocněním, klíšťové encefalitidě, virové hepatitidě A, planým neštovicím, rotavirům
infekci lidskými papilomaviry,
chřipce

Nejčastěji zkoušené typy vakcín proti SARS-CoV-2



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..**

BCG (Bacille Calmette Guérin) vakcína

- Připravena v roce 1921 – po 13 letech pasážování *Mycobactera bovis*, na bramboru s glycerinem a hovězí žlučí.
- Byla a je využívána v ochraně proti *M. tuberculosis* a částečně i dalším mykobakteriím.
- Chrání především proti závažným diseminovaným formám TBC.
- Jedná se o živou vakcínu stimulující T-lymfocyty, byla podávána 4. den po narození.
- Podávání bylo ale často doprovázeno BCG infekcí, nejčastěji BCG lymfadenitidou, proto většina evropských států postupně od plošného podávání BCG vakcíny postupně ustoupila.
- Byly snahy o vyžití BCG v léčbě nádorů (nespecifický imunostimulátor), v současné době je lokální podávání BCG vakcíny lékem volby u ca. močového měchýře.
- Nepotvrdilo se, že by BCG vakcína chránila proti rozvoji atopických chorob (stimulace Th1 lymfocytů).
- Současné statistiky ale naznačují, že lidé, kterým byla podána BCG vakcína mohou být odolnější vůči některým infekcím (včetně COVID 19) – snad mechanismem “trained immunity”.

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.

Pasívní přirozená imunizace

- Transplacentární IgG protilátek z matky na dítě.
- Zajišťuje na protilátkách závislou ochranu před infekcemi v prvních (cca 6) měsících po narození.
- Tato ochrana ale také znemožňuje použití živých virových vakcín, u kterých je nutné pomožení viru v těle (MMR – vakcína – spalničky, příušnice, zarděnky).

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)

Monoklonální protilátky používané k pasivní antimikrobiální imunizaci

- Řada preparátů namířených proti viru SAR-Cov-2 – terapie i profylaxe
- Monoklonální protilátka namířená proti RS viru (palivizumab) je podávána výrazně nedonošeným (a dalším ohroženým) dětem jako profylaxe. Terapeutický efekt nemá.

Nespecifické imunoglobulinové preparáty

- Extrakcí etanolem je možno z plazmy získat imunoglobulinovou frakci – jako 16% roztok je označován jako „normální imunoglobulin“.
- Obsahuje zejména IgG, stopy dalších tříd jsou terapeuticky zanedbatelné.
- Další manipulací (odstranění polymerů IgG) je možno získat deriváty k intravenóznímu podání.
- Nově jsou používány i imunoglobuliny pro subkutánní léčbu.
- V současné době jsou téměř výhradně používány preparáty intravenózní a subkutánní.

Využití nespecifických imunoglobulinových derivátů - I

- Substituce defektní tvorby protilátek
u nemocných s primárními nebo sekundárními hypogamaglobulinémiemi.
- Vždy se jedná pouze o substituci IgG! Ostatní třídy imunoglobulinů nejsou v používaných preparátech v terapeuticky významných koncentracích přítomny (jsou aktivně odstraňovány).
- Vždy se jedná o dlouhodobou léčbu, u nemocných s primárními hypogamaglobulinémiemi o léčbu celoživotní.

Využití nespecifických imunoglobulinových derivátů - II

- Vysoké dávky intravenózních preparátů se používají jako protizánětlivá a imunosupresivní léčba u závažných autoimunitních zánětlivých chorob.
- Mechanismus je komplexní (inhibice fagocytózy, tlumení funkce B-lymfocytů, zásah do regulačních funkcí T-lymfocytů).
- Účinnost je variabilní a ne vždy přesně predikovatelná.
- Jednoznačnou indikací je Kawasakiho choroba. U imunitní trombocytopenické purpura (ITP), pokud není možno použít jiné přístupy.

Využití nespecifických imunoglobulinových derivátů - III

- Nespecifické imunoglobulinové preparáty se někdy využívají jako profylaxe infekčních chorob, pokud nejsou k dispozici specifické imunoglobulinové deriváty (hepatitis A).

Imunosupresivní léčba

- Antigen-nespecifické snížení imunitní odpovědi.
- Indikována především u autoimunitních chorob, vaskulitid a u pacientů po transplantacích.
- Výjimečně používána u těžkých alergických chorob nebo u onemocnění způsobených nadměrnou aktivací T-lymfocytů (psoriáza).
- Léčba vždy vede k sekundárnímu imunodeficitu - náchylnosti k infekcím a častějšímu výskytu malignit, zejména lymfatického systému.
- Ke snížení výskytu vedlejších reakcí se obvykle používá kombinovaná léčba.

Antiproliferativní imunosupresiva

- Antagonisté kyseliny listové - metotrexat
- Alkylační látky - cyklofosfamid
- Purinové analogy- azathioprin
- Inhibitory inosinmonofosfát dehydrogenázy
- mykofenolát mofetil

Imunosupresiva zasahující do metabolismu IL-2

- Kalcineurinové inhibitory: Blokují funkci Ca^{2+} -dependentního kalcineurinu, tím blokují aktivaci NF-AT. Nedojde k derepresi genu pro IL-2.
 - Cyklosporin A- vazba na cyklofilin
 - Tacrolimus vazba na FK 506 BF
- Sirolimus (Rapamycin) - blokuje přenos signálu z IL-2, též se váže na FK 506 BF.

Glukokortikoidy jako imunosupresiva

- Imunosupresivně působí především vysoké dávky (0,5-1 mg Prednisonu/kg/den). Nižší dávky mají pouze protizánětlivý efekt.
- Mechanismy účinky:
 - Snížená produkce cytokinů (IL-1, TNF- α , IL-2)
 - Snížení exprese adhezivních molekul
 - Inhibice exprese HLA-II
 - Inhibice fosfolipázy A2 v granulocytech - blok tvorby metabolitů kyseliny arachidonové.
- Vedlejší činky: redistribuce tuku, vznik vředové choroby, steroidní diabetes, hypertenze, poruchy růstu dětí, hypokalémie, osteoporóza, katarakta, psychózy....

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

Imunopotenciační léky

Onkologická léčba:

- Imunostimulací cytokiny – hlavně IL-2, IFN- α , γ
- Blokáda imunosupresivně působících T-lymfocytárních check-pointů – nyní zejména blokáda PD-1 a CTLA-4 .

Léčba pacientů s různými klinickými příznaky imunodeficitu (časté, závažné infekce), obvykle u pacientů bez průkazu jasného laboratorního imunodeficitu

- Bakteriální „imunomodulátory“: Broncho-vaxom, Luivac
- Thymové hormony
- Dialyzát lidských leukocytů („transfer faktor“)
- Syntetické imunomodulátory: inosiplex
- Mnoho dalších „potravinových doplňků“, kterým ale chybí klinický průkaz účinnosti (stejně jako některým látkám výše uvedeným)