

Anti-infekční imunita

Marcela Vlková

Vývoj imunitního systému

- Ovlivněn neustálou interakcí s mikroorganismy
- Utváření individuální imunologické reaktivity; přirozená mikroflóra
- Patogeny = nejvýznamnější evoluční činitel
- Historie
 - Usedlý způsob života, zvětšování lidských komunit
 - zvýšení napadení infekčními činiteli
 - 2.polovina 19.stol. – imunizace, ATB

Současná situace

- ročně zemře
 - 4 mil. lidí na infekce dolních cest dýchacích
 - 2 mil. lidí na infekce zažívacího ústrojí
 - 2 mil. lidí na TBC
 - 400 tis. lidí na tetanus
 - 300 tis. lidí na pertusi
 -AIDS + pohlavně přenosné choroby

Problémy v současnosti

- Rezistence k ATB
- Globální transport lidí z rozvojových zemí
- Ve vyspělých zemích - snížená nebo změněná expozice přirozeným mikrobiálním podnětům...problémy při nastavování optimální imunologické reaktivity

Rozdělení mikroorganismů-podle schopnosti vyvolat onemocnění

- Komensální (saprofytické) –symbióza, přirozená mikroflóra
- Potenciální patogeny – u jedinců s oslabeným imunitním systémem
- Patogenní mikroorganismy
 - Imunitní odpověď – Ag nespecifická...specifická
 - Průnik do organismu – obrana:
 - Obecné obranné mechanismy
 - Slizniční imunita
 - **Překonání těchto bariér je základní součástí patogenicity mikroorganismů**

Člověk a přirozená mikroflóra

- Vnitřní a vnější povrchy těla
- Unikátní vzorec osídlení
 - Expozice vnějšmu mikrobiálnímu prostředí
 - Genetické faktory
- Nastavení během ontogenetického vývoje
 - **Osídlování trávicího traktu**
 - Během porodu enterobakterie
 - Kojení – Bifidobacterium
 - Pevná strava – definitivní kolonizace – 400 druhů bakterií

Vaginální mikroflóra

- *Lactobacillus vaginalis* – produkce kys. mléčné, snižuje pH prostředí
- Vaginální epitelie – tvorba glykogenu (kontrolována estrogenem)...glukóza + *Lactobacillus*...kys. mléčná
- **Přirozená mikroflóra je určována endokrinním systémem**

Prospěšné působení přirozené mikroflóry

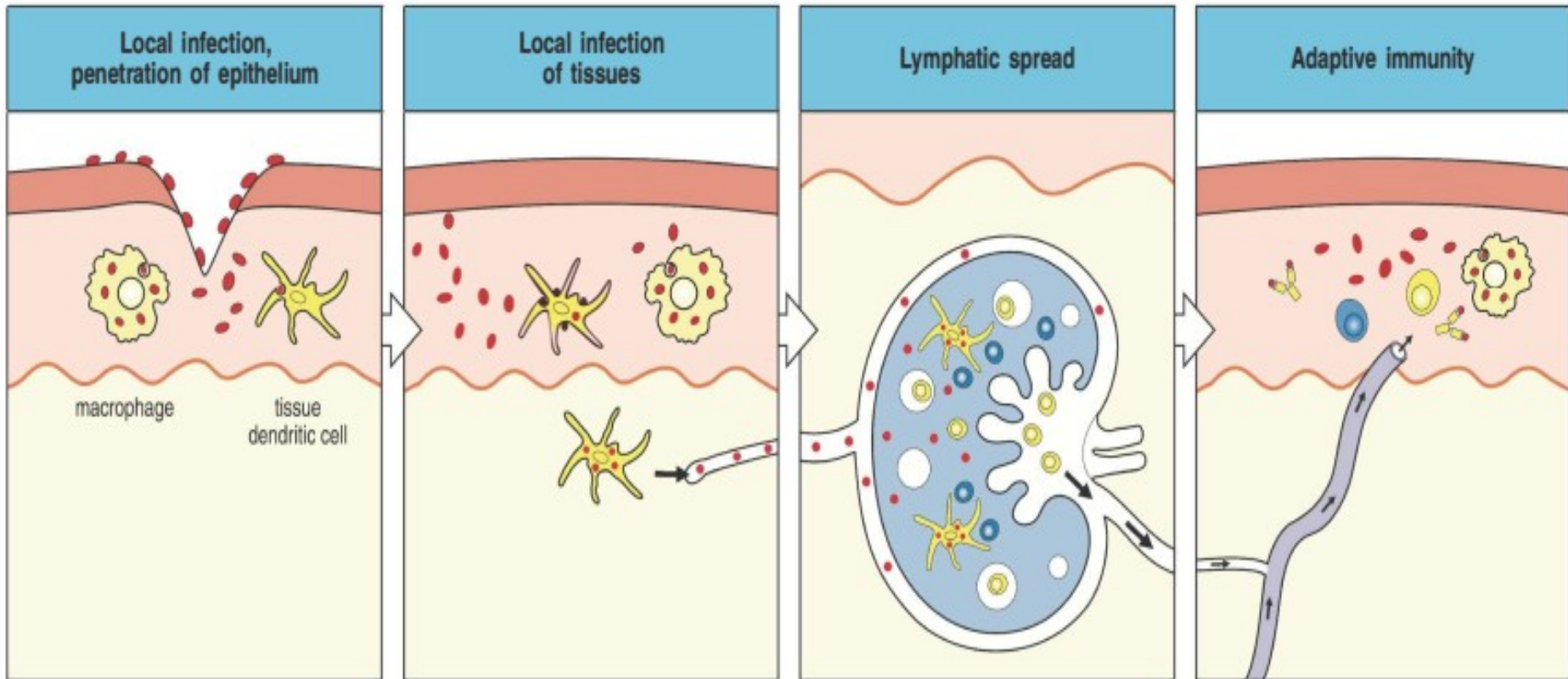
- Trávení potravy
- Vitaminy
- Odstraňování toxických produktů trávení
- Soutěž o „životní prostor“ s patogeny
 - Povrchové receptory
 - Nutriční zdroje
 - bakterioiciny

Negativní ovlivňování fyziologické mikroflóry

- ATB
- Hygienické návyky
- Urbanizace
- Očkování
- Skladba potravy

Přirozená mikroflóra je kontrolována mechanismy slizniční imunity

Časová posloupnost imunitní odpovědi



Protection against infection

Wound healing induced
Antimicrobial proteins and peptides,
phagocytes, and complement destroy
invading microorganisms

Complement activation
Dendritic cells migrate to lymph nodes
Phagocyte action
NK cells activated
Cytokines and chemokines produced

Pathogens trapped and
phagocytosed in lymphoid tissue
Adaptive immunity initiated
by migrating dendritic cells

Infection cleared by specific antibody,
T-cell-dependent macrophage activation
and cytotoxic T cells

INFEKČNÍ ONEMOCNĚNÍ

- Výsledek dlouhodobé i krátkodobé interakce patogenního organismu s hostitelem
- Patogenita: výsledek dlouhodobého vývoje-
přizpůsobit se prostředí a připravit na boj s
hostitelem
- Virulence- výsledek krátkodobé interakce
konkrétního kmene mikroorganismu a
hostitele

INTERAKCE PATOGENNÍHO ORGANISMU S HOSTITELEM

- Parazitické organismy tvoří zhruba dvě třetiny všech živočichů
 - jejich dlouhodobé přežití je závislé na nalezení vhodného hostitele
 - Vzájemný vztah hostitel – mikroorganismus, vznikají různé druhy infekcí: inaparentní, benigní, těžké, lokalizované nebo difúzní, akutní, subakutní, chronické
- Pro parazita není vždy nejvýhodnější svého hostitele zničit, je více možností vývoje infekčního procesu
 - akutní lytický průběh infekce cytopatogenními viry
 - persistentní průběh infekce necytopatogenními viry

VARIABILITA PATOGENA A HOSTITELE

- Variabilita patogenních organismů je dána vysokou reprodukční schopností – krátký generační čas, vysoký počet potomstva
- Kompenzována u vyšších obratlovců variabilitou, které představují lymfocyty (TCR, BCR) a APC (MHC)
- Sekundární variabilita je dána mutací genů kódujících další složky imunitního systému, bariéry, nespecifickou imunitu ...
- Kombinací obou typů vzniká individuální variabilita hostitele v odolnosti k onemocnění

SCHOPNOST ORGANISMU ODOLÁVAT INFEKCI

ODOLNOST

- rezistence k dané infekci
- bariéry a nespecifické imunitní mechanismy (odolnost)
- specifická imunita

VNÍMAVOST k infekci zvyšují

- nedostatečná imunokompetence (i fyziologická)
- porušené bariéry
- přechodné imunosuprese infekčního i neinfekčního původu
- primární a sekundární imunodeficience
- alergické, autoimunitní a lymfoproliferativní choroby
- imunologická tolerance k dané infekci (antigenu)

Mechanismy mikroorganismů využívané pro únik před imunitním systémem

integrace do genomu a přetrvávání v latentní formě

variabilita povrchových molekul

potlačení exprese MHC gp v napadené bb

integrace molekul vlastních hostiteli do mikrobiální stěny

antigenní mimikry - povrchové struktury mikroorganismu napodobují strukturu hostitelských buněk

...

Viry a imunitní systém

- Virová infekce indukuje komplexní imunitní odpověď, vznik imunitní paměti
- Maligní transformace, autoimunita

INTERAKCE VIRŮ S IMUNITNÍM SYSTÉMEM

- **Viry jsou obligátní intracelulární parazité, kteří ke své replikaci potřebují genetický a metabolický aparát buňky**
- **Patogeneze se liší podle jejich struktury (DNA, RNA, obal aj.) a faktorů virulence**
- **Podle průběhu lze odlišit tři různé typy virové infekce**
 - lytický průběh u cytopatogenních virů
 - persistentní infekce u necytopatogenních virů
 - transformace napadených buněk u onkogenních virů
- **Reakce virů s imunitním systémem**
 - navázání na povrchové receptory
 - pomnožování v buňkách imunitního systému
 - narušení cesty prezentace antigenu
 - inhibice regulačních a efektorových mechanismů – imunosuprese
 - navození imunopatologického stavu

Buněčné terče patogenních virů

- Buňky:
 - Epitelové
 - Endotelové
 - Imunitního systému (T-, B-lymfocyty, makrofágy a další)
 - Nervové
 - Jaterní
 -

Vstup virových částic do nitra buňky

Pomocí membránových receptorů:

CD4 - HIV, herpesvirus7

CD21 - EBV virus

CD46 – virus spalniček, herpes virus6

CD71 – Virus hepatitidy B

CD150 – Virus spalniček

...

Rozmnožování virů

- Po vstupu do cytoplazmy je virus zbaven obalů
- Replikace nukleových kyselin viru – jiná u DNA a jiná u RNA virů, provázená značným množstvím chyb, které nejsou opravovány – důsledek – defektní viriony, ale především značná genetická variabilita viru
- Translace vzorových proteinů na ribozomech hostitelské buňky
- Virové proteiny po translační modifikaci – vytvoření kapsidy obsahující virovou nukleovou kyselinu
- Uvolňování virionů – cytolýzou buňky nebo postupně – perzistence viru

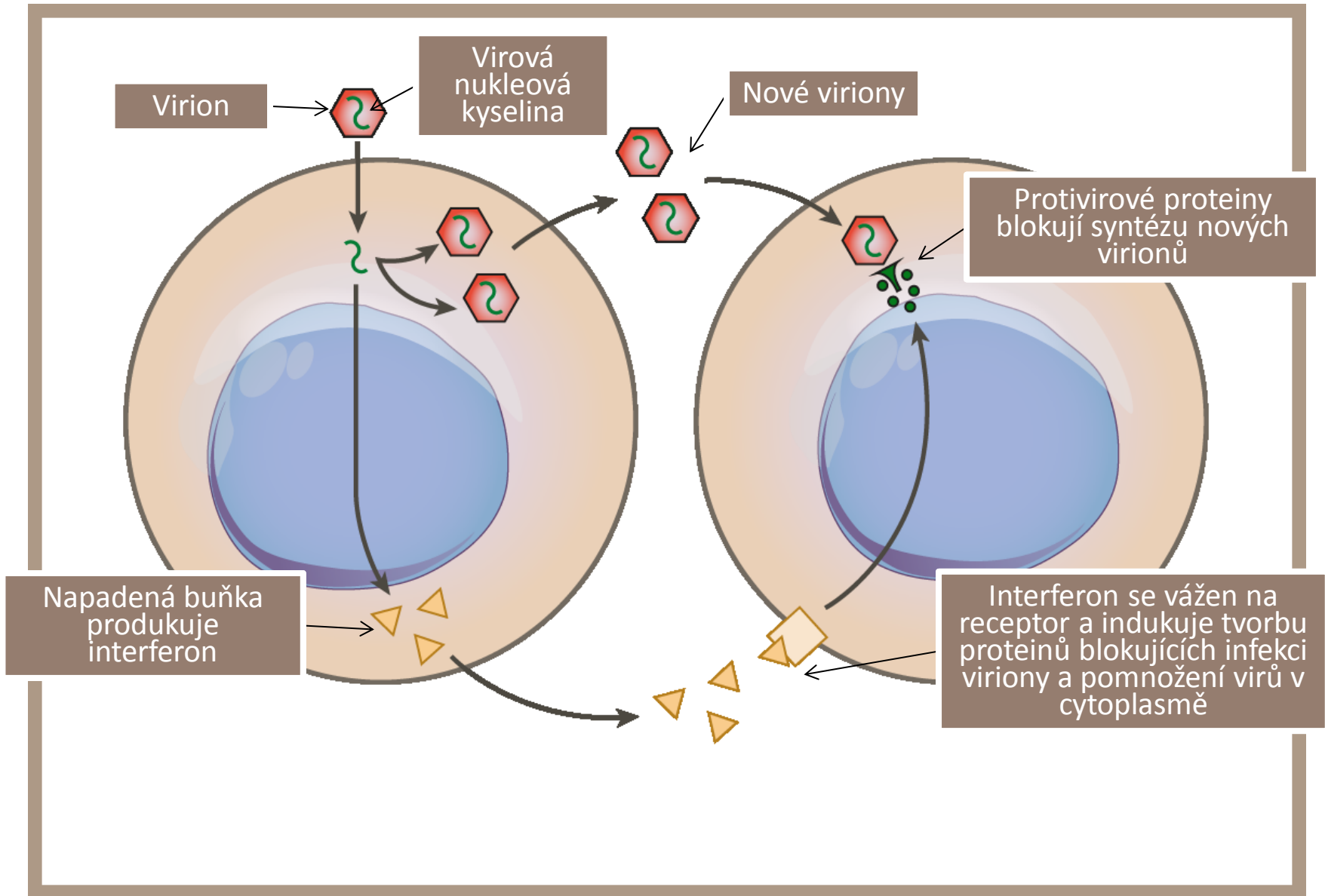
Interferonový systém

- Nejvýraznější protivirový potenciál
- Likvidace většiny virových infekcí

Interferony α a β

- V infikovaných bb. je indukována produkce IFN α a IFN β - vazba na receptory v neinfikovaných bb.
- Důsledek
 1. vytvoření RNAázy L – rozklad virových RNA
 2. Syntéza PKR – fosforylace elongačního faktoru II = zábrana translace virové mRNA
- Zabránění replikaci viru a navozují tzv. antivirový stav

Mechanismus účinku interferonu (IFN)



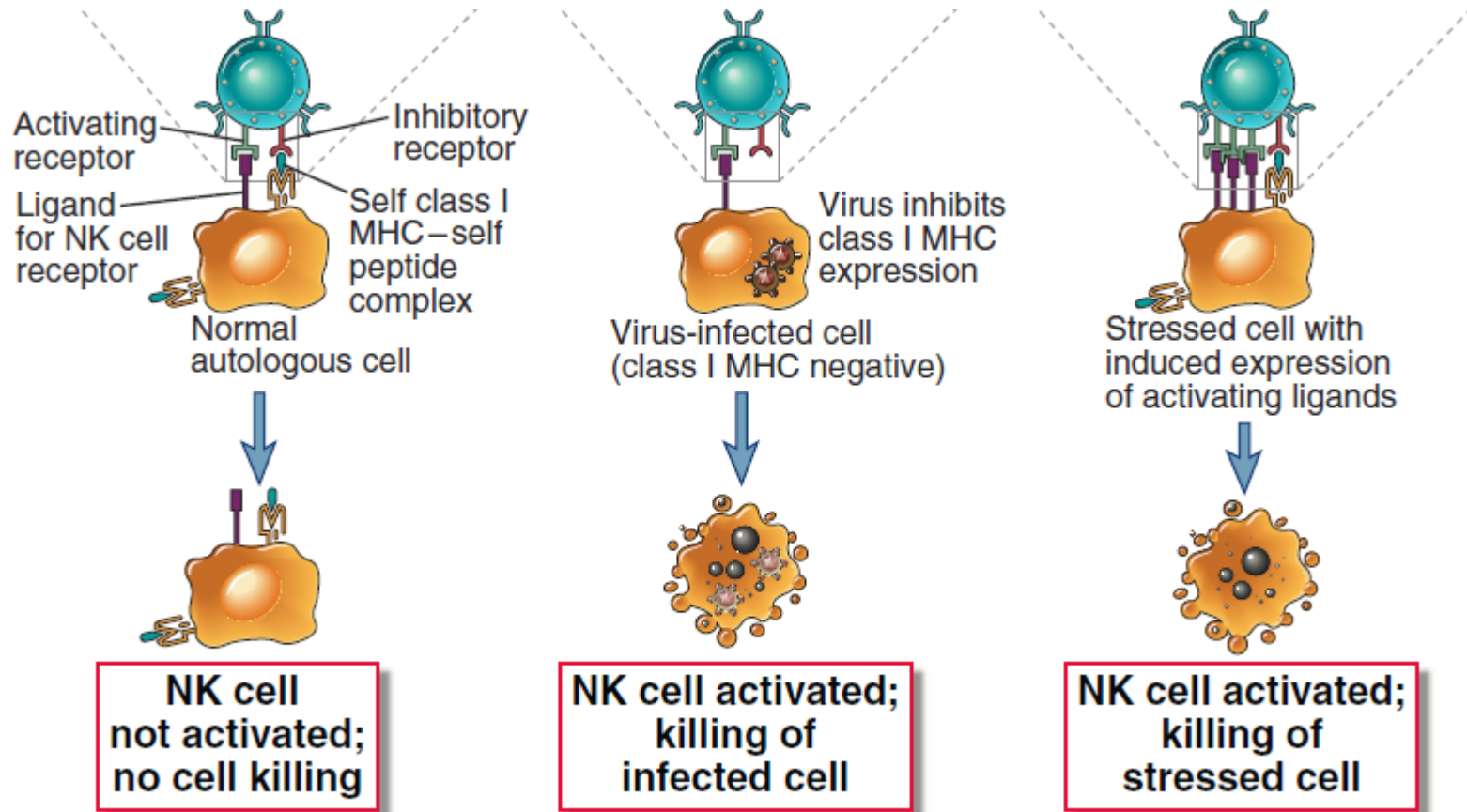
Interferon γ

- Produkován T-lymfocyty po Ag stimulaci a NK - buňkami
- Stimuluje přeměnu makrofágů v aktivované
- Zesiluje funkce Th1
- Zvyšuje expresi HLA II. Třídy
- Zvyšuje působení cytotoxických buněk

NK- buňky

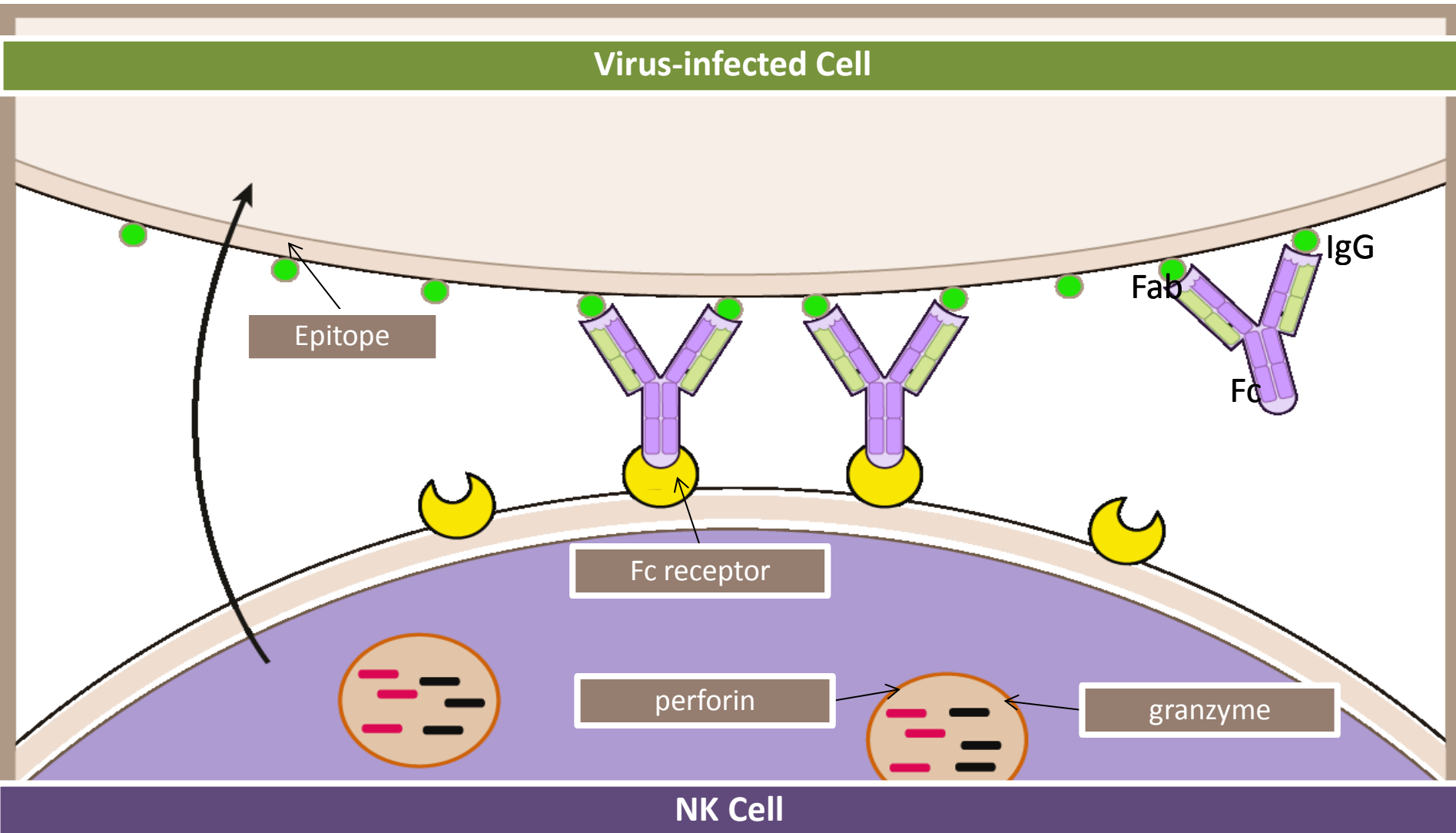
- Nejsou schopny specifického rozpoznání viru
- Identifikace virové buňky pomocí receptorů KAR (Killers activation receptors) poznávají heterogenní skupinu ligandů, které se objeví na buňkách v důsledku stresu, maligní konverse, virové infekce
- KIR (Killers inhibitory receptors) se váží na molekuly MHC I, které jsou přítomny na většině zdravých buněk
- Fc receptor na NK buňce – po vazbě Ig spolu s navázaným virovým Ag – stimulace NK buněk

Reakce NK buněk



Celulární cytotoxicita závislá na protilátkách

Antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC)



Důsledek působení NK buněk

- Perforin – vmezeření se do cytoplazmatické membrány terčové buňky – vytvoření otvorů v terčové buňce – lýza buňky
- Granzym – rozklad nitrobuněčných cílů, dále pak štěpení latentních kaspáz vznik molekuly s proteolytickou aktivitou – zahájení procesu apoptózy
- NK buňka dále tvoří $\text{TNF}\alpha$ – po vazbě na specifický receptor – aktivace nitrobuněčných kaspáz
- Fazba Fas na terčové buňce a FasL na NK buňce – spuštění apoptózy
- Vznik apoptotických tělísek – odstranění makrofágy

Th- lymfocyty

- Infekce- makrofágů – prezentace virových Ag na MHC vede ke:
- Stimulace Th1 lymfocytů (IFN γ)
- Stimulace Th2 lymfocytů – tvorba protilátek:
 - IgA - slizniční imunita – blok adheze virů na epitel sliznic
 - IgG, IgM – v oběhu – neutralizace virů, aktivace komplementu, je schopen lyzovat některé viry
 - IgA a IgG vzniklé při virové infekci mají preventivní efekt při sekundární infekci

Cytotoxické T- lymfocyty

- Rozoznávají specifické anti-virové peptidy na MHC I. třídy
- Regulace pomocí cytokinů Th1 stimuluje Tc lymfocyty
- Zničení infikovaných buněk
- Pomocí cytokinů necytotoxicky inhibují replikaci virů

Mechanismy úniku virů před obrannými reakcemi organismu

- Únik specifické imunitě
- Integrace do genomu buňky a přetrvání v latentním stavu (herpetické viry, retroviry)
- Variabilita povrchových molekul – vedoucí k nové aktivaci T- a B-lymfocytů
- Tvorba virových homologů Fc receptorů (HSV-1,2)
- Inhibice aktivace komplementu (VV, HSV1,2, HHV8) a sestavení MAC (HIV-1)
- Virové superantigeny – vazba na T lymfocyty prostřednictvím β -řetězce – aktivace velké části lymfocytu – masivní reakce IS, může vést až k útlumu IS

Mechanismy úniku virů před obrannými reakcemi organismu

- Narušení cytokinové signální sítě:
 - Tvorba analogů protizánětlivých cytokinů (IL-10)
 - Tvorba analogů receptorů pro cytokiny (TNF α R, IFN-R, CCR)
 - Tvorba analogů cytokinů
- Aktivace T-lymfocytů:
 - Blokování prezentace Ag
 - Deregulace interferonových systémů
- Cytotoxické T-lymfocyty
 - Snižování exprese HLA I. třídy (HSV, VZV-Varicella Zoster Virus)
- NK – buňky
 - Zvyšování exprese HLA – E (CMV)

Integrace virů do hostitelského genomu

- Vede k perzistenci...reaktivace...nové onemocnění
 - Varicella....pásový opar
 - EBV.....krevní malignity
 - Papiloma virus....kožní nádory, karcinom děložního čípku
- Virovými infekcemi jsou ohroženi jedinci s imunodeficity T lymfocytů a s kombinovanými poruchami imunity
- Zvýšená náchylnost k herpetickým infekcím u jedinců s dysfunkcí NK bb.

Ochrana proti bakteriím

- Extracelulární bakterie
- Intracelulární bakterie
- Mykobakterérie

Extracelulární invazivní bakterie

- Rozmnožující se mimo buňky – v cirkulaci, v dýchacích cestách, v gastrointestinálním traktu
- Gram pozitivní i negativní koky: *Staphylococcy*, *Streptococcy*, *Nisseira*, *Haemophilus*
- Střevní bakterie: *Salmonella*, *Shigella*, *Helicobacter*
- Indukují zánět – destrukce tkání v místě infekce
- Vznik hnisavých - pyogenních infekcí

Extracelulární neinvazivní bakterie

- Zůstávají na povrchu (sliznic), které kolonizují
- Působí často svými toxiny

Bakteriální toxiny

- Produkce toxinů – endotoxiny: komponenty buněčných stěn
- Endotoxin gram-negativních bakterií LPS – lipopolysacharid – silný aktivátor makrofágů
- Enterotoxiny aktivně sekretované bakteriemi
- Enterotoxiny některé z nich jsou pro buňky cytotoxické, některé interferují s normálními buněčnými funkcemi...

Staphylococcus aureus

- G+, čeled' *Staphylococcaceae*
- Obligátní patogen zodpovědný za řadu toxických nebo hnisavých infekcí různých tkání – klouby, kosti, endokard, kůže, plíce
- 50 faktorů virulence a velká rezistence k ATB

Faktory virulence

- Polysacharidová kapsula a buněčná stěna – tvorba biofilmů, rezistence k fagocytóze, adherence ke kolagenu, fibronektinu, fibrinogenu. Stěna obsahuje kys.lipoteichovou a peptidoglycan, které reagují s TLR2
- Protein A – adherence k von Willebrantovu faktoru, interference s molekulou Ig
- Exotoxiny schopné lyzovat buňky, např. hemolyziny nebo toxiny tvořící póry
- Exotoxiny jako superantigeny:
 - TSST – toxin syndromu toxického šoku
 - stafylokokové enterotoxiny
 - obojí stimulují T-lymfocyty k produkci Th1 a prozánětlivých cytokinů

Extracelulární bakterie

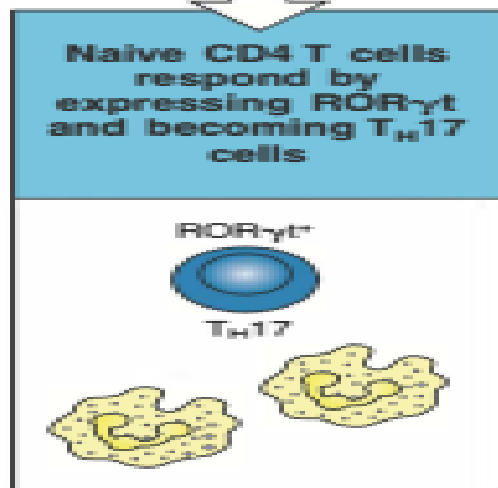
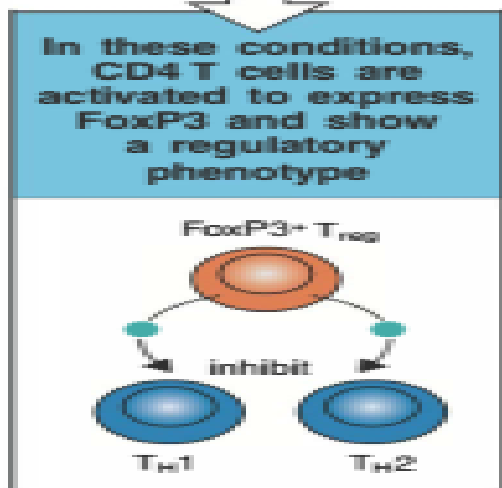
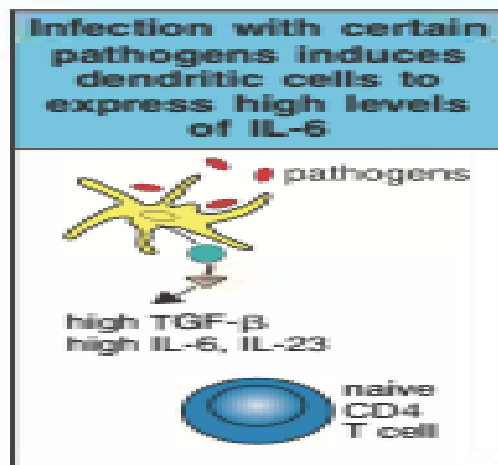
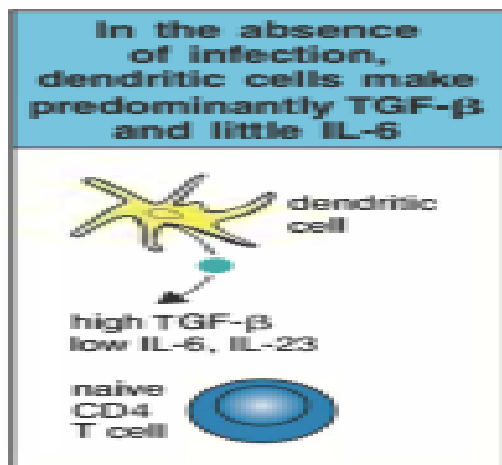
- Obsahují ve svých stěnách peptidoglykany – aktivace komplementu alternativní cestou
- Gram- negativní bakterie – LPS - aktivace komplementu alternativní cestou
- Bakterie s obsahem manózy v buň. stěně -aktivace komplementu lektinovou cestou
- Vede k označení bakterií pro fagocyty – zvýšení fagocytárních schopností
- Jde i přes TLR-receptory
- Fagocyty produkují cytokiny IL-1, 6 a TNF – zvýšení teploty produkce proteinů akutní fáze
- **Malá citlivost k působení membranolýtického komplexu**

Adaptivní odpověď proti extracelulárním bakteriím

- Bakterie s polysacharidovým pouzdem....T-independentní tvorba Ab
- Bakterie produkující toxiny.....neutralizační Ab, opsonizace, fagocytóza

Infekcemi extracelulárními bakteriemi jsou ohroženi lidé s poruchami funkce fagocytů, C, tvorby Ab

Ochrana proti extracelulárním bakteriím



Na začátku infekce nejsou dendritické bb. plně aktivovány, záleží na koncentraci IL-6. Při vysoké koncentraci IL-6 vzniká Th17 odpověď
Působením IL17 na epitel se zvyšuje sekrece chemokinů pro „přivolání“ neutrofilů

Th17 REAKCE

- Th17 diferenciace – snadněji než Th1 nebo Th2
- Th17 bb. opouštějí lym. Uzlinu a putují do místa infekce
- Receptor pro IL-17 – epitelové bb. , fibroblasty, keratinocyty – pod vliv IL17 – produkují IL-6, CXCL8, CXCL12, G-CSF, GM-CSF
- Chemokiny vedou neutrofilů do místa zánětu, stimulují produkci makrofágů, podpora přeměny stávajících monocytů v makrofágy

Th17 a extracelulární bakterie

- Th17 buňky kromě IL-17 produkují také IL-22
- Ten v kooperaci s IL-17 zvyšuje produkci anti-mikrobiálních peptidů – beta defensinů keratinocyty– zvyšování zánětlivé reakce
- IL-17 mohou produkovat také CD8+ T-lymfocyty

Adaptivní T-regulační lymfocyty

- Pokud není přítomna infekce – dendritické bb. nejsou aktivovány prozánětlivými signály – produkce TGF- β
- Tyto dendritické bb. nabízejí CD4+ T-lymfocytům vlastní Ag v přítomnosti TGF- β
- Vznik adaptivních regulačních T-lymfocytů, které nejsou specifické pro patogenní Ag x jsou specifické pro Ag vlastní nebo Ag komensální mikroflóry

Komplikace ochrany proti extracelulárním bakteriím

- Septický šok – při průniku bakterií do krevního oběhu a jejich dalším množením
- Při masivním rozpadu bakterií se uvolňuje LPS – endotoxinový šok

Mechanismy úniku extracelulárních bakterií před obrannými reakcemi organismu

- Variabilita antigenů – *Nisseria*, *E. coli*, *Salmonela*
- Inhibice aktivace komplementu
- Rezistence k fagocytóze – *Pneumococcus*
- Vymývání reaktivních metabolitů kyslíku – kataláza – pozitivní stafylokoky
- Antigenní mimikry-M protein *Staphylococcus pyogenes* je antigenně podobný srdečnímu svalu - vznik autoimunity
- Účinky superantigenů- stafylokokové superantigeny vyvolávají polyklonální aktivaci T lymfocytů, nadprodukcii IL-2 - klinické příznaky střevních otrav

Obrana proti bakteriím-intracelulárním, plísním

- Intracelulární parazitizmus je umožněn schopností uniknout nitrobuněčnému zabíjení ve fagocytech
- Mykobakterie, Yersinia, Listeria, Brucella, Candida albicans, Aspergillus, Pneumocystis...
- Obranné mechanismy hostitele: spolupráce **makrofág + Th1**

OBRANNÉ MECHANISMY PROTI INTRACELULÁRNÍM BAKTÉRIÍM

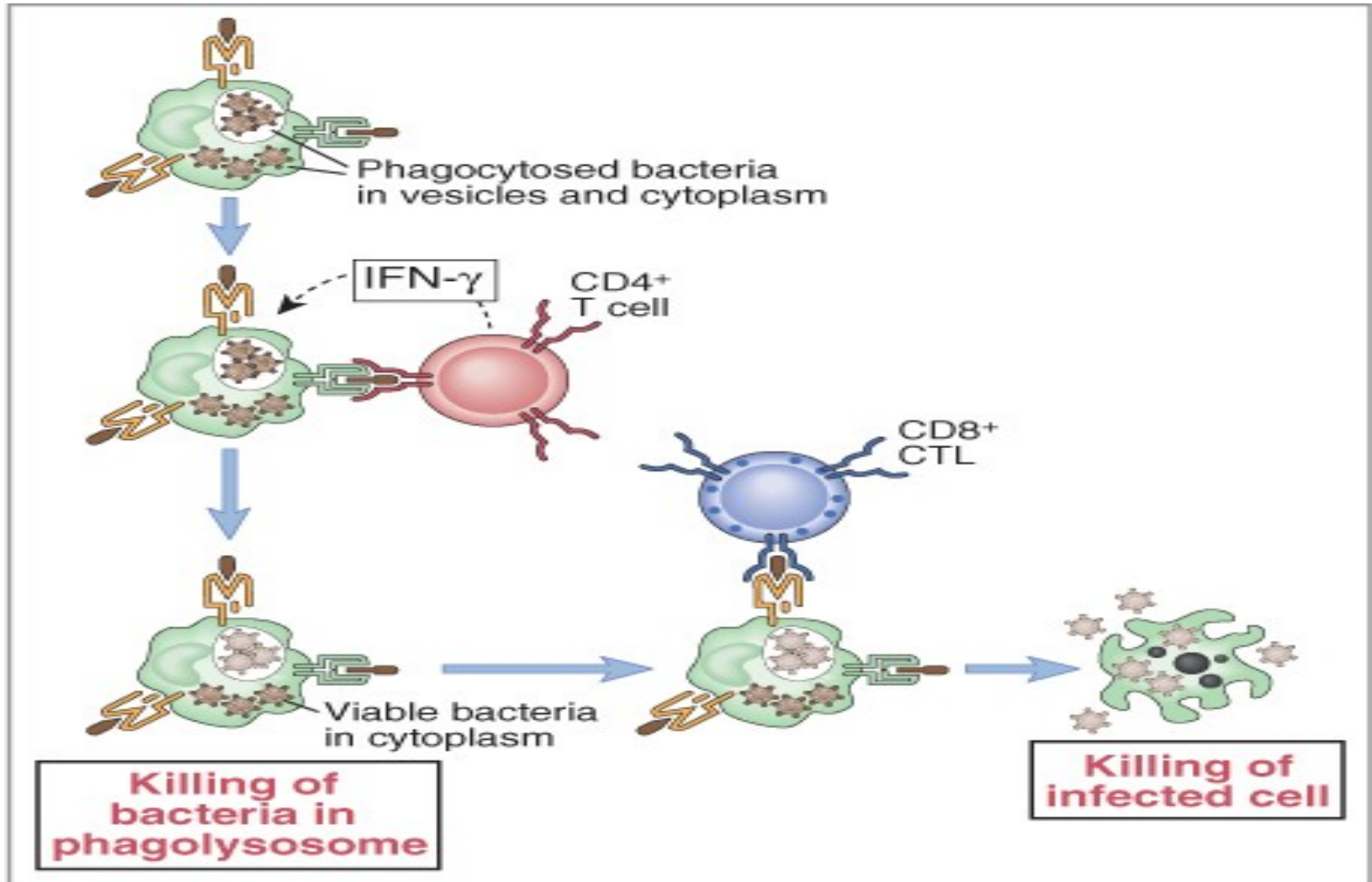
- **NESPECIFICKÉ**
- fagocytóza
- T- lymfocyty $\gamma\delta$
- žírné buňky, $\text{TNF}\alpha$, histamin
- **SPECIFICKÁ IMUNITA**
- buněčný typ (Th1)
- interferonem aktivované makrofágy
- oddálený typ přecitlivělosti

Ochrana proti intracelulárním bakteriím

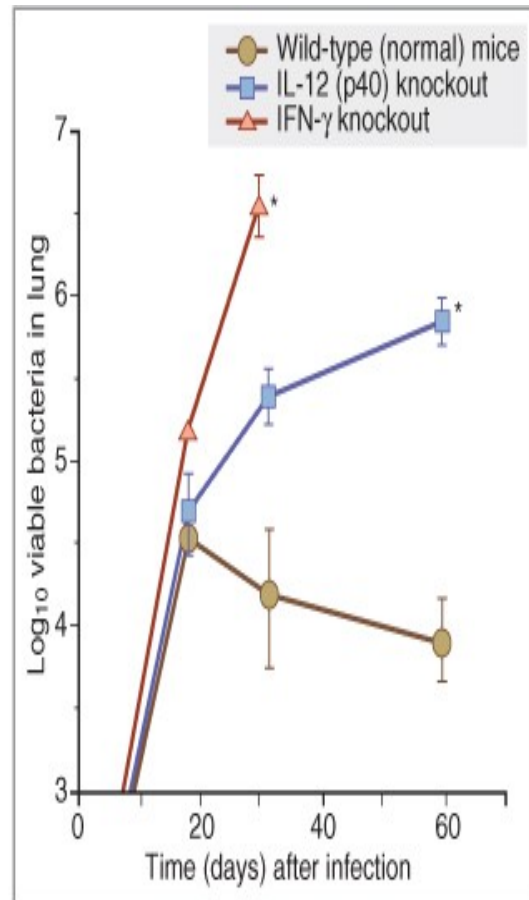
- Intracelulární mikroorg. + makrofág...IL-12 – aktivace NK- buněk – produkce $\text{INF}\gamma$
- IL-12 + T-prekursor...Th1
- Th1 produkce TNF, $\text{INF}\gamma$...aktivace makrofágů k tvorbě NO
- $\text{INF}\gamma$ – aktivace plazmat. buněk k tvorbě IgG2
- Komplex IgG2+Ag...vazba na FcR makrofágů
- **Tc** – rozpoznání Ag + HLA I.tř.

Infekcemi intracelulárními mikroorganismy jsou ohroženi lidé s poruchami fagocytózy a T-lymfocytů

Kooperace CD4+ a CD8+ T-lymfocytů v ochraně proti intracelulárním bakteriím

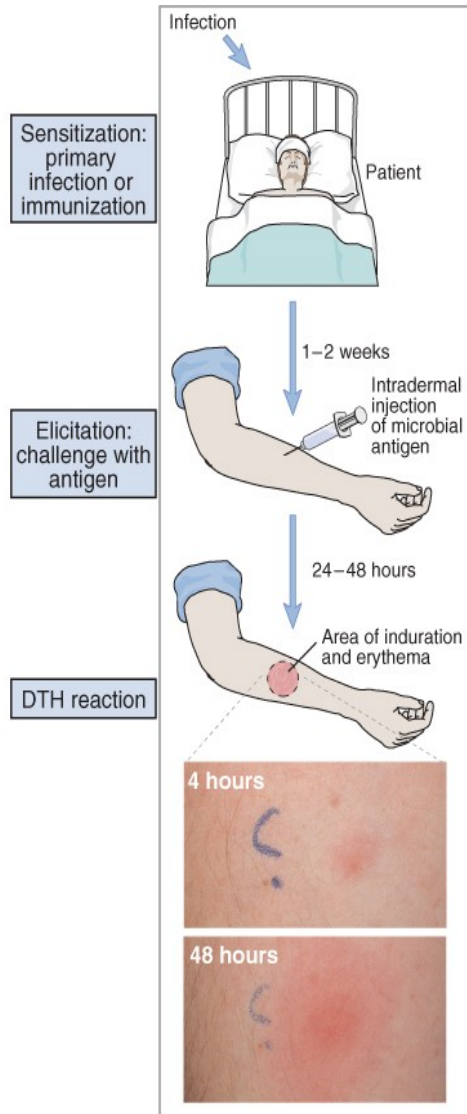


Role IL-12 a IFN- γ i obraně proti intracelulárním bakteriím



Poškození organismu aktivací makrofágů

- Oddálený typ hypersensitivity (DTH)
- Perzistence intracel. bakterií ve fag. Buňkách vede k chronické Ag stimulaci a T-buněčné a makrofágové aktivaci – formace granulomu – vede k tkáňové nekróze a fibróze



Mykobakterie

- čeleď *Mycobacteriaceae*, G+, aerobní
- bakteriální stěna bez buněčné membrány stěna silnější než u ostatních bakterií
- stěna je hydrofobní, „vosková“, bohatá na mykolové kyseliny a peptidoglykan, které jsou svázané arabinogalaktanem přítomnost lipoarabinomananu
- dlouhá kultivace
- neprodukuje toxiny, faktorem virulence je
- schopnost přežít v makrofágu
- infekce přes sliznice nebo kůži, tvorba granulomů

Mechanismy úniku intracelulárních bakterií před obrannými reakcemi organismu

- Inhibice formace fagolysosomu – mykobakterium tuberculosis, Legionella
- Inaktivace reaktivních metabolitů kyslíku a dusíku – Mycobacterium Leprae
- Disrupce membrány fagosomu – únik do cytoplasmy – Listéria monocytogenes - listeriolysin

Mechanismy úniku intracelulárních bakterií před obrannými reakcemi organismu

- Inhibice fúze fagozóm+lysozóm
- Přežívání ve fagozómu
- Inhibice kyselého pH
- Produkce peptidů, které po vazbě na TCR inhibují T-ly

SIRS-Systemic Inflammatory Response Syndrom

- G- i G+, kvasinky, viry...
- **Imunitní odpověď – 2 fáze**
 - Nepřiměřená, autodestruktivní, sebezsilující
 - Deprese imunitní reakce
- **Počátek rozvoje SIRS**
 - Aktivace přirozené imunitní odpovědi- monocyty, makrofágy, vazba **LPS+CD14** na mono, produkce **pluripotentních prozánětlivých cytokinů** (TNF α , IL-1, IL-12, IL-6)
 - TNF α : indukce IL-6, aktivace C (C3a, C5a)
 - IL-12 : stimulace Th1

Hladina TNF α a IL-1 koreluje se závažností SIRS

SIRS

- Snížená exprese receptoru pro C3 na ery
- Změna adhesivních molekul na endoteliích a leukocytech (E-, P-selektiny)...dezintegrace tkání
- Aktivace koagulační kaskády
- Přímé poškození buněk organismu působením $\text{TNF}\alpha$ a IL-1
- **Pozdější fáze SIRS – imunodeprese**
 - Snížená exprese HLA DR na mono
 - Endogenní kortikosteroidy
 - lymfopenie
 - Protizánětlivé cytokiny
 - Apoptóza buněk imunitního systému ($\text{TNF}\alpha$)

SIRS

- K rozvoji SIRS dochází u nemocných, kteří jsou geneticky predisponováni ke zvýšené reaktivitě imunitního systému
- Otázka: působení ATB x kortikosteroidy
 - ATB: protiinfekční působení, uvolňování LPS do krevního oběhu
 - Kortikoidy: protizánětlivé, tlumí transkripci prozánětlivých cytokinů, indukce apoptózy buněk imunitního systému

Monitorování nastupujícího SIRS

- Monitorování nastupujícího SIRS:
 - Hladiny CRP, prokalcitoninu, TNF α , IL-8, exprese HLA-DR na monocytech
- Terapie:
 - Vyvazování LPS pomocí monoAb
 - Vyvazování TNF α pomocí monoAb
 - Tlumení TNF α (pentoxyfilin)
 - Inhibitory IL-1

Imunitní ochrana proti parazitům

- Infekce způsobené prvoky, červy a ectoparasity
- Parazité existují v různých formách - prezentace různých Ag v průběhu životního cyklu
- Parazitické infekce jsou chronické – malá nespecifická imunitní odpověď + schopnost uniknou specifické imunitní odpovědi

Obrana proti prvokům

- Podobné jako u bakterií
 - Extracelulární (Entamoeba histolytica, Giardia lamblia).....protilátky
 - Intracelulární (Leishmania, Toxoplasma, Plasmodium).....aktivované makrofágy + Th1

INTRACELULÁRNÍ PRVOCI A IMUNITNÍ SYSTÉM

- **Charakteristika invaze**
 - napadají buňky - často makrofágy, ale i enterocyty, erytrocyty aj.
 - často složitý životní cyklus s několika hostiteli
- **Únikové a imunosupresivní mechanismy**
- sekvestrace antigenu
- inhibice fagocytózy (zábrana vzniku fagolysozomu)
- imunosuprese (např. IL-10)
- **Obrana hostitele**
- NK buňky, T- lymfocyty $\gamma\delta$
- Th1 odpověď - aktivace makrofágů (IFN γ)
- přímá cytotoxicita Tc lymfocytů

EXTRACELULÁRNÍ PRVOCI A IMUNITNÍ SYSTÉM

- **Charakteristika invaze**
- žijí mimo buňky hostitelského organismu, často v krvi
- **Únikové a imunosupresivní mechanismy**
- antigenní variabilita - HAT trypanosóm - exprimují pouze jeden Variant Surface Glykoprotein (VSG) - častá změna vede ke kolísání hladiny parazitémie, rezistence ke komplementu
- nespecifická imunosuprese – makrofágy, polyklonální aktivace B-lymfocytů
- **Obrana hostitele**
- protilátková TH2
- protilátky (IgM) usnadňují fagocytózu (v Kupferových buňkách) k likvidaci asi není nutný komplement

HELMINTI A IMUNITNÍ SYSTÉM

- **Charakteristika**
- mnohobuněčné organismy
- řada druhů s různou patogenezí
- **Únikové a imunosupresivní mechanismy**
- antigenní variabilita
- antigenní mimikry
- imunosuprese
- imunopatologické procesy
- **Obrana hostitele**
- zánětlivá reakce (opouzdření)
- hypersenzitivita I. typu - IgE, žírné buňky, eosinofily, histamin
- hypersenzitivita IV. typu
- buněčná cytotoxicita závislá na protilátkách (ADCC)

VÝVOJ IMUNITNÍ REAKCE PROTI HELMINTŮM

- kontakt žírných buněk, bazofilů, eosinofilů s parazitem
- produkce IL-4 (žírné b.) - diferenciaci TH2 lymfocytů
- stimulace a proliferace specifických klonů B lymfocytů
- pod vlivem IL-4 cytokinový přesmyk k produkci IgE
- IgE obsazují Fc receptory basofilů a vyvolávají hypersenzitivní reakci I. typu
- pod vlivem IL-5 se aktivují eosinofily k fagocytóze či ADCC
- později se zapojují i mechanismy Th1 lymfocytů a produkce
- protilátek jiných izotypových tříd

Mastocyty a obrana proti parazitům

- IgE se váží na FcεRI mastocytů a bazofilů ("antigenně specifické receptory")
- Navázání multivalentního antigenu (mnohobuněčného parazita) pomocí IgE na vysokoafinní Fc receptor pro IgE (FcεRI)
- Agregace několika molekul FcεRI

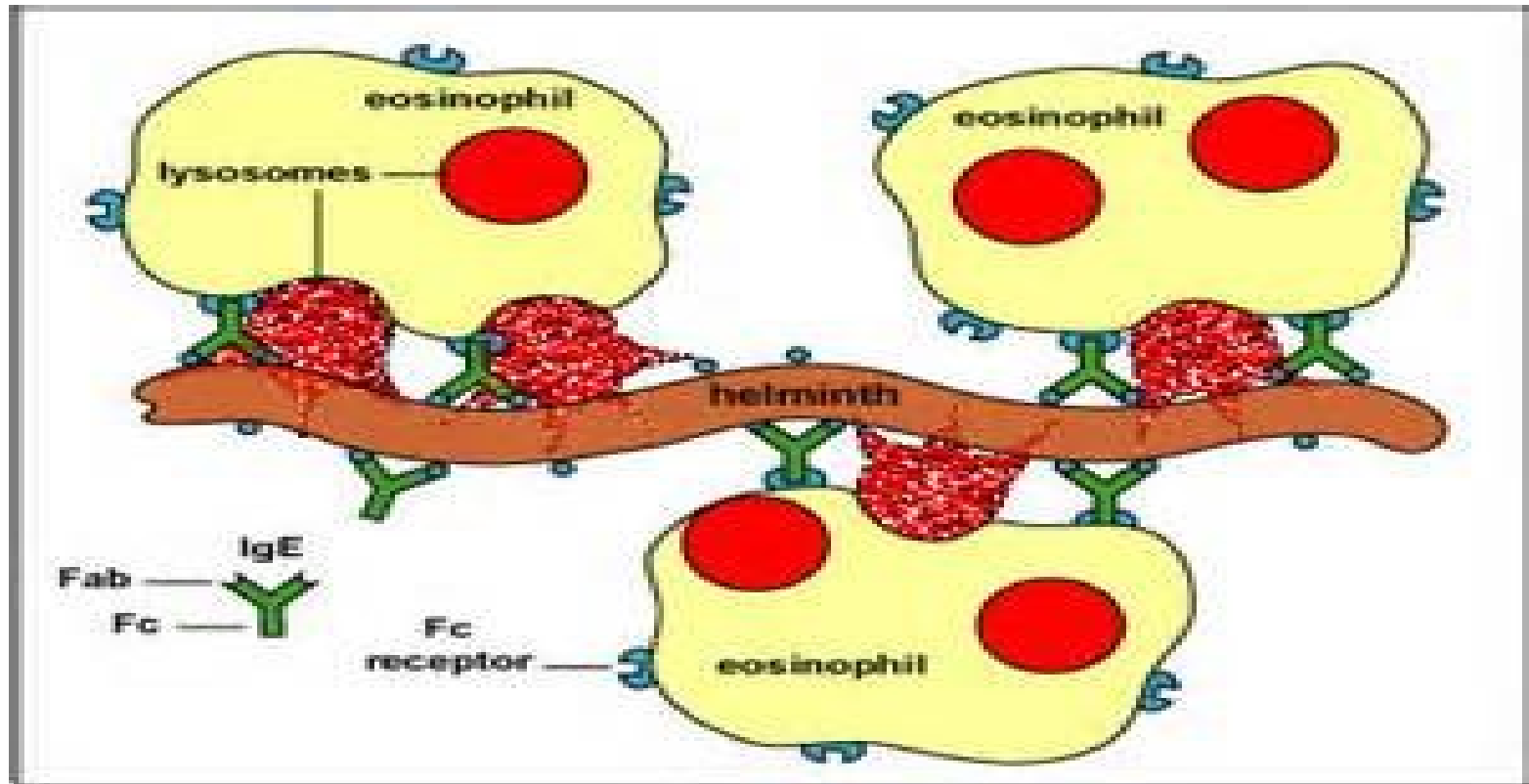
Mastocyty a obrana proti parazitům

- iniciace degranulace mastocytu (fúze cytoplazmatických granulí s povrchovou membránou a uvolnění jejich obsahu) – uvolnění histaminu
- Histamin způsobuje vasodilataci, zvýšení vaskulární permeability, erytém, edém, svědění, kontrakci hladké svaloviny bronchů, zvýšení peristaltiky střev, zvýšení sekrece hlenu slizničními žlázkami v respiračním traktu a GITu.
- aktivace metabolismu kyseliny arachidonové (leukotrien C4, prostaglandin PGD2) - amplifikace zánětlivé reakce
- zahájení produkce cytokinů (TNF, TGF β , IL-4,5,6...) mastocytem

Imunita proti parazitům - pozdější stadium infekce

- Th1, produkce Ab vyšších tříd
- Eosinofily:
 - Aktivace vlivem IL-5 (z Th2)
 - fagocytóza komplexu IgE+parazitární částice prostřednictvím svých IgE receptorů
 - eosinofily proti parazitům používají extracelulární baktericidní látky uvolněné z granulí (eosinofilní kationický protein, proteázy)

Funkce eosinofilů



Mechanismy úniku parazitů před obrannými reakcemi organismu

- Antigenní variace –Trypanosoma, Plasmodium
- Získaná rezistence ke komplementovému systému
- Inhibice hostitelovy imunitní odpovědi
- Snížení exprese Ag

Tkáňové poškození infekcemi

- Přímé mechanismy – toxiny, cytopatický efekt
- Nepřímé mechanismy – poškozující reakce
 - Přejídné
 - Chronický zánět – trvalé, autoimunita

Možnosti léčebného ovlivnění imunitního systému

Kauzální léčba

a) transplantace kmenových buněk

u závažných vrozených poruch imunitního systému (některá lymfoproliferativní a myeloproliferativní onemocnění, deficience typu SCID)

komplikace : infekční komplikace

reakce štěpu proti hostiteli

získání kmenových buněk - odběrem z lopaty kosti kyčelní

- z pupečnickové krve

- z periferní krve po stimulaci GM-CSF

b) genová terapie

pomocí vhodného expresního vektoru je do lymfocytů nebo kmenových buněk vnesen funkční gen, který nahrazuje nefunkční gen

použito jako léčba některých případů SCID

Substituční léčba

- autologní transplantace kmenových buněk po chemoterapii a radioterapii
- léčba intravenózními imunoglobulíny (pochází z plazmy dárců krve)
- substituce C1 inhibitoru u hereditárního angioedému
- substituce erythropoetinu u pacientů s chronickým renálním selháním
- substituce G-CSF u agranulocytózy (Kostmannova syndromu)

Imunomodulace

Imunomodulace = léčebný postup směřující k úpravě narušených imunitních funkcí

- imunostimulace
 - nespecifická
 - antigenně specifická
- imunosuprese - nespecifická
 - antigenně specifická

Nespecifická imunomodulační léčba

a) nespecifická imunosupresivní léčba

nespecifická = postihuje nejen nežádoucí autoreaktivní a aloreaktivní lymfocyty, ale i ostatní složky imunity (riziko snížení antiinfekční a protinádorové imunity)

používá se u léčby autoimunitních chorob, u orgánových transplantací a někdy u závažných stavů alergií

1) kortikoidy - protizánětlivý, imunosupresivní účinek

- blokují aktivitu transkripčních faktorů (AP-1, NF κ B)
- potlačují expresi genů (IL-2, IL-1, fosfolipáza A, MHCgPII, adhezivních molekuly)
- inhibice uvolnění histaminu z bazofilů
- vyšší koncentrace indukují apoptózu
- Prednison, metylprednison

2) imunosupresiva zasahující do metabolismu DNA

- cyklofosfamid (alkylační látky)
- methotrexát (antimetabolit)
- azathioprin (purinový analog)

3) imunosupresiva selektivně inhibující T lymfocyty

cyklosporin A (potlačuje expresi IL-2 a IL-2R v aktivovaných T lymfocytech)

takrolimus

rapamycin

monoklonální protilátka anti-CD3 (imunosuprese po transplantacích, léčba rejekčních krizí)

4) Intravenozní imunoglobulinová terapie v imunosupresivní terapii

b) protizánětlivá a antialergická léčba

- **nesteroidní protizánětlivé léky**
- **antihistaminika** - blokují H1 receptor
 - snižují expresi adhezivních molekul
 - snižují sekreci histaminu...
 - I., II. a III. generace
 - Zyrtec, Alerid, Zodac...
- **inhibitory zánětlivých cytokinů**
 - antagonist receptoru pro IL-1
 - monoklonální protilátky proti TNF
 - thalidomid (inhibitor TNF)

c) nespecifická imunostimulační léčba

imunostimulancia - stimulují imunitní systém

syntetické imunomodulátory - Methisoprinol (Isoprinosine) – užíván u virových infekcí s těžším nebo recidivujícím průběhem

bakteriální extrakty a lyzáty - Broncho-Vaxom - prevence recidivujících infekcí dýchacích cest
- **Ribomunyl**

produkty imunitního systému - IL-2 - renální adenokarcinom

- **IFN α , IFN β** - virové hepatitidy, některé leukemie
- **erythropoetin**
- **G-CSF, GM-CSF** - neutropenie
- **transfer faktor**
- **thymové hormony**

Antigenně specifická imunomodulační léčba

specifická imunomodulace = navození imunitní reakce
či tolerance vůči určitému antigenu

- a) Aktivní imunizace
- b) Pasivní imunizace
- c) Specifická imunosuprese

a) aktivní imunizace

= využití antigenu k vyvolání imunitní reakce, která může později chránit před patogenem nesoucím daný antigen (nebo antigen jemu podobný)

imunizace vakcínami vyrobenými z inaktivovaných nebo oslabených mikroorganismů nebo jejich antigenů (polysacharidová pouzdra, toxiny)

vzniká dlouhotrvající imunita, aktivována buněčná i protilátková imunita

podání injekční nebo orální

profalyktická

riziko vyvolání infekce nebo anafylaktických reakcí



Aktivní imunizace

Pasivní imunizace

Rychlost nástupu

Opožděná

Okamžitá

Délka účinnosti

Dlouhodobá

**Krátkodobá
(maximálně týdny)**

Použití

**Dlouhodobá
profylaxe**

**Terapie, krátkodobá
profylaxe**

Pasivní 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.

b) pasivní imunizace

- **přirozená** - přestup mateřských protilátek do krve plodu
- **terapeutická** - použití zvířecích protilátek proti různým toxinům
(hadí jedy, tetanický toxin, botulotoxin)
- **profylaktická** - lidský imunoglobulín z imunizovaných jedinců
(hepatitida A, vzteklna, tetanus)
- - anti-RhD protilátky - zabránění imunizace matky RhD⁺ plodem
- poskytuje dočasnou (3 týdny) specifickou humorální imunitu
- riziko vyvolání anafylaktických reakcí

Antiséra používaná v lidské medicíně

- Antibakteriální: tetanus (lidské), botulismus (koňské), antigangrenózní (koňské), záškrt (koňské)
- Protivirová: hepatitida B (lidské), vzteklna (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

- Podávají se u imunosuprimovaných jedinců
- Extrakcí etanolem je možno ze séra získat imunoglobulinovou frakci – 16% roztok je používán jako „normální imunoglobulin“. Obsahuje zejména IgG, stopy dalších tříd jsou terapeuticky zanedbatelné.
- Další manipulací (odstranění polymerů IgG, které by se vázaly na Fc receptory a aktivovaly komplement) je možno získat deriváty k intravenóznímu podání
- Nově jsou používány i imunoglobuliny pro subkutánní léčbu.

Nespecifické imunoglobulinové deriváty

(příprava z plasmy 15 000-60 000 zdravých dárců krve)

Intravenózní - 5%:

7S - intaktní molekula IgG

5S - molekula IgG rozštěpena v pantové oblasti na fragmenty Fab₂ a Fc (Gama-Venin)

IgM, obohacené preparáty (Pentaglobin)

Intramuskulární 16% roztok převážně IgG

Subkutánní - jedná se v podstatě

o intravenózní deriváty zahuštěné na 16%.

Příprava imunoglobulinových preparátů

Polyklonální „antiséra“ (hyperimunní séra)

xenogenní (imunizace zvířat – králík, koza, prase, kůň...)

alogenní (lidská od přirozeně i záměrně imunizovaných dobrovolníků)

Monoklonální protilátky

myší

modifikované (chimerické, humanizované, lidské)

Využití imunoglobulinových preparátů

Identifikace a kvantifikace antigenů (mikrobiologie, hematologie, transplantologie, klinická imunologie)

Imunoterapie a imunoprolaxe

(klasická pasivní imunizace, terapie nádorů, imunomodulace, především imunosuprese)

Izolace a purifikace antigenních preparátů

Indikační skupiny imunoglobulinové léčby

Substituce tvorby protilátek

Primární imunodeficiencie

Sekundární imunodeficiencie

Imunoregulace

Autoimunitní choroby

Vaskulitidy

Alergická onemocnění

Léčba infekčních chorob - substituce i
imunoregulace

Aktivní imunizace

Vlastnosti očkovací látky

- **bezpečnost** – nesmí vyvolávat onemocnění nebo poškozovat organismus
- **specifická** – musí vyvolávat tvorbu protilátek proti danému antigenu
- **prezentovatelnost antigenu** (v komplexu s MHC gp.)
- **účinnost** – očkovací látka musí vyvolat dostatečně silnou imunitní reakci

Vakcinace je hodnocena z medicínského i ekonomického pohledu jako jeden z nejefektivnějších způsobů prevence vzniku a šíření infekčních chorob.

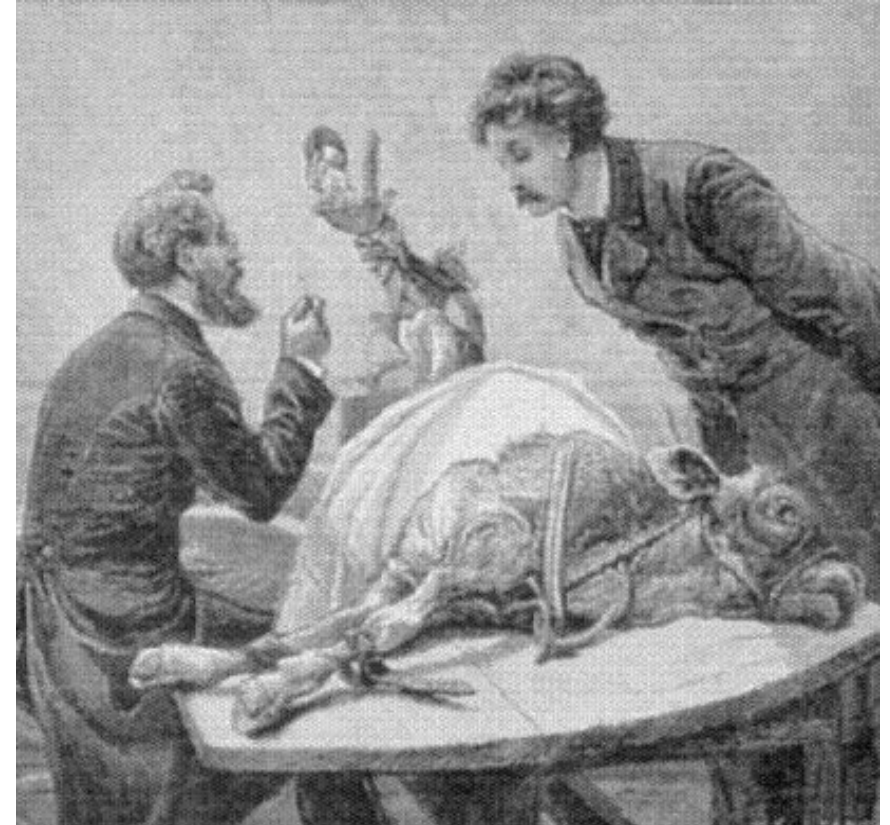
Na individuální úrovni chrání jedince před onemocněním.

Na populační úrovni (kolektivní imunita daná vysokou proočkovaností populace) brání šíření infekčních agens a ochrání i neočkované osoby.

Aktivní imunizace

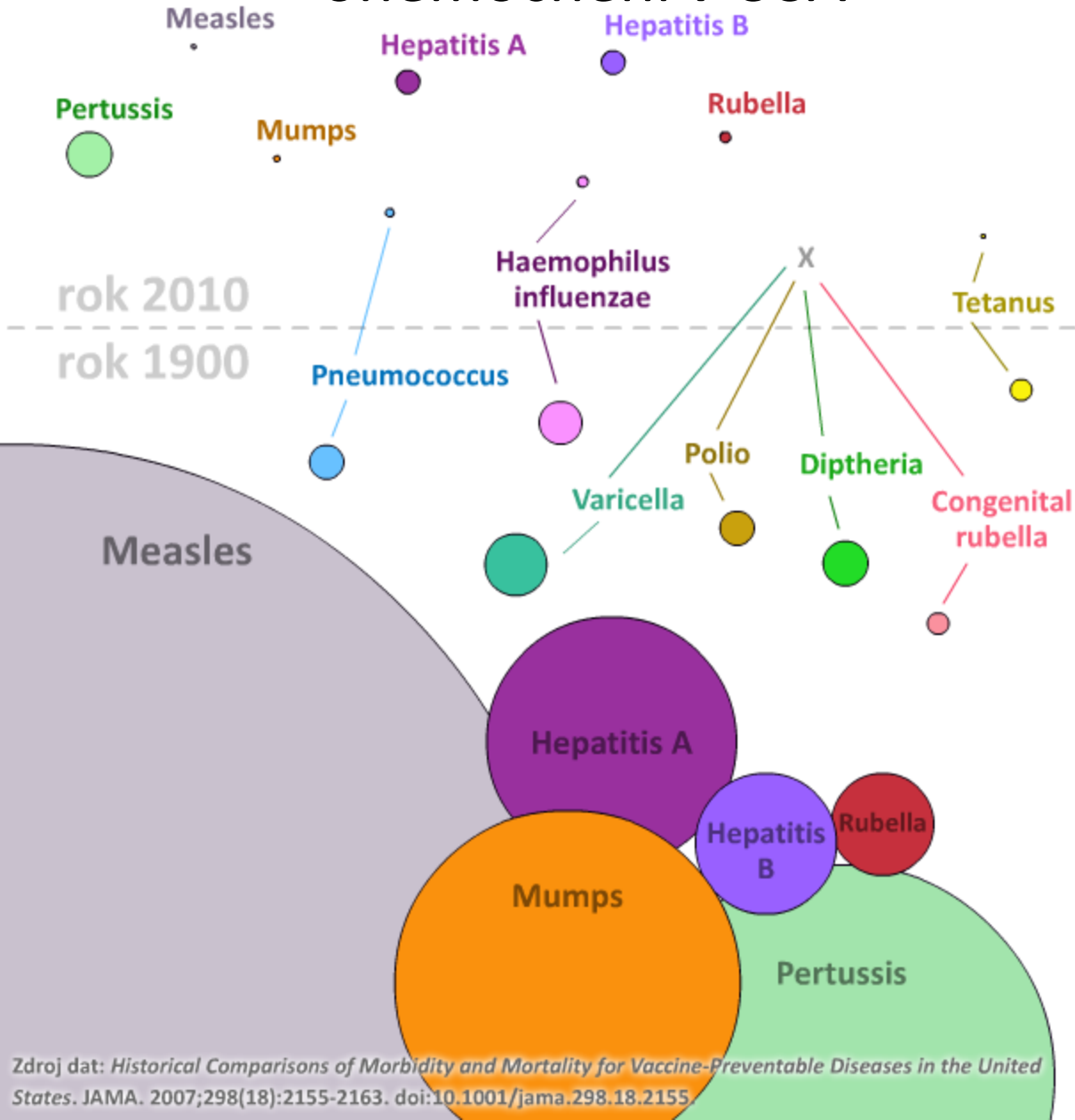
- Použití Ag k vyvolání imunitní reakce, která později chrání před patogenem nesoucí tento nebo podobný antigen
- Zakladatel E. Jenner – jako první v roce 1796 naočkoval virus kravských neštovic, 1798 - publikace
- Vyvolání je mírného onemocnění a především ochrana před pravými neštovicemi

Edward Jenner



Discovery of small pox vaccine

Vliv očkování na výskyt infekčních onemocnění v USA



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

Imunologické adjuvans

- anorganické či organické chemické látky, makromolekuly nebo celé buňky některých usmrcených bakterií, které nespecificky zesilují imunitní reakci na podaný antigen
- váže antigen, zabraňuje jeho rychlému uvolnění z místa aplikace a jeho degradaci
- mohou antigen prezentující buňky antigen lépe fagocytovat.
- může aktivovat monocyty a makrofágy, nebo podporovat produkci cytokinů

Imunologické adjuvans

- Zesiluje a udržuje imunogenost antigenu.
- Účinně moduluje imunitní reakci.
- Redukuje potřebné množství antigenu i nutnost opakovaného podání.
- Zlepšuje účinnost vakcín u novorozenců, starých osob i nemocných s podlomenou imunitou.
- Jejich význam je zvláště důležitý u strukturálně jednoduchých preparátů.

Freudovo adjuvans

- tvořeno směsí minerálních olejů, vosků a inaktivovaných *Mycobacterium tuberculosis*
- nekompletní adjuvans pak obsahuje pouze olejovou emulzi
- používá se ve veterinárním lékařství

Adjuvans v humánní medicíně

- hydroxid hlinitý
 - hexavakcína,
 - samostatné očkování tetanickým toxoidem
- fosforečnan hlinitý
 - očkování proti hepatitídě B
- fosforečnan vápenatý
 - alergenové vakcíny

Moderní adjuvans

- vakcína proti rakovině děložního čípku obsahující AS04 (deacylovaný lipopolysacharid adsorbovaný na hydroxidu hlinitém)
- indukuje vyšší a delší protilátkovou odpověď, ale také mnohem silnější specifickou imunitní paměť ve srovnání s hodnotami pozorovanými po vakcinaci pouze s aluminiovou solí.

Adjuvans:

základní mechanismy účinku

- „Doručení“ antigenu buňkám a orgánům imunitního systému
 - *minerální soli*
 - *emulze*
 - *liposomy*
 - *virosomy,*
 - *biodegradovatelné polymerní mikrosféry,*
 - *ISCOM (immune stimulating complexes)*
- Imunostimulace aktivace buněk vrozené imunity
- *ligandy TLR, cytokiny, saponiny, bakteriální exotoxiny*
- *Budoucnost mají komplexní adjuvantní systémy (integrovaná adjuvancia); je nutno vzít v úvahu zvláštnosti patogeneze i rozdílné imunogenní vlastnosti*

Adjuvans aktivuje dendritické buňky

Aktivace přímá

interakce složek adjuvans charakteru „PAMP“
s TLR i dalšími PRR

Aktivace nepřímá

prostřednictvím „DAMP“ uvolňovaných při
poškození tkání mikroby (kyselina močová,
ATP, HMGB-1)

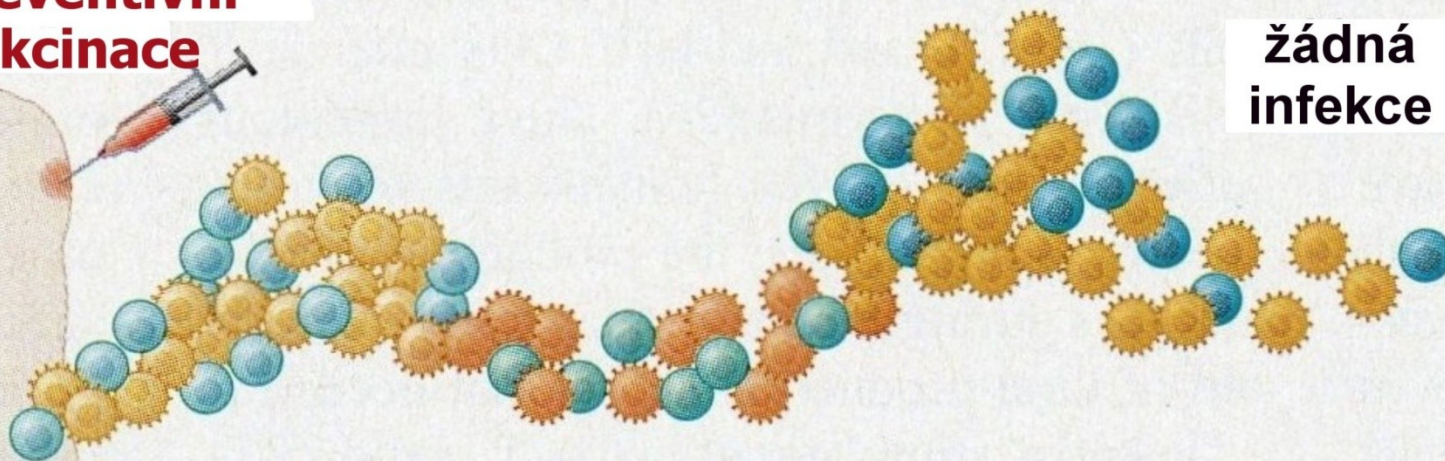
Význam „fylogeneticky konservovaných“ struktur mikrobů.

A

**preventivní
vakcinace**



**žádná
infekce**



patogen

Expanze
T/B efektorových
buněk

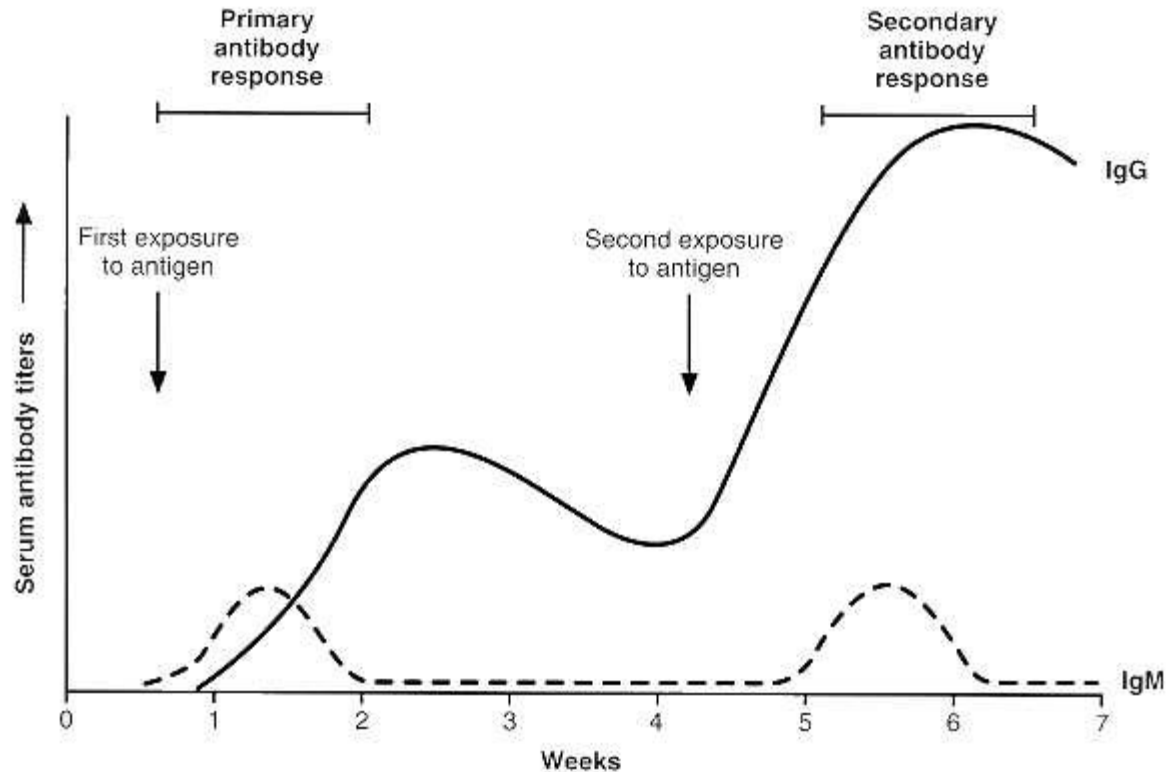
Vytvoření
T/B paměťových
buněk

Další expanze
T/B efektorových
buněk

Imunologická paměť a vakcinace

Otevřeným problémem protektivní účinnosti vakcinace je, zda se paměťové buňky, které jsou indukovány vakcinací, dokáží aktivovat a diferencovat do efektorových elementů ještě před tím, než se patogen začne projevovat.

Primární a sekundární imunitní odpověď



„Klasické“ vakcíny

- **Atenuované mikroby:** spalničky, zarděnky, příušnice, rotaviry, varicella, BCG (proti TBC), poliomyelitis (Sabinova), cholera, žlutá zimnice
- **Inaktivované mikroorganismy:** poliomyelitis (Salkova), vzteklna, hepatitis A, klíšťová encefalitida, cholera, mor, dříve pertusse,
- **Toxoidy** (chemicky modifikované, inaktivované): tetanus, záškrt

„Moderní“ vakcíny

- **Podjednotkové** (izolované složky mikroorganismů): chřipková, pertusse
- **Polysacharidové** (polysacharidová pouzdra): Haemophilus influenzae B (konjugovaná), Meningococcus (skupina A a C, konjugované i nekonjugované), Pneumococcus (konjugovaná i nekonjugovaná)
- **Rekombinantní**: konkrétní gen z viru, bakterie či parazita, který je kóduje vznik specifického antigenu. Tento gen se inkorporuje do jiného organismu jež poté produkuje specifický antigen hepatitis B
- **Virus-like particles** (neobsahují DNA): papilomaviry

NOVÉ VAKCÍNY

Subjednotkové

Splitové, štěpené (připravované štěpením infekčních agens a izolací imunoprotektivních složek)

Rekombinantní (vlození genu kódujícího protektivní antigen do produkčního mikroorganismu, který pak tento antigen produkuje, vyprodukovaný antigen je izolován a purifikován)

Imunogennost je zvýšena adsorpcí na minerální nosič nebo konjugací s bílkovinným nosičem, např. toxoidem.

NOVÉ VAKCÍNY

Vektorové (vektorem jsou především poxviry, např. vysoce atenuovaný kmen Ankara, ptačí poxviry, adenovirus, *S. typhi* a další, kromě antigenů mohou kódovat i cytokiny, např. IL-2)

DNA-vakcíny (gén, kódující antigen umístěn do bakteriálního plasmidu, který obsahuje imunomodulační nemetylovaný motiv bakteriální DNA – CpG)

Ostatní biologicky významné součásti vakcín

Antibiotika (kanamycin, neomycin)

Konservační prostředky (thiomersal)

Stabilizátory: struktura a konformační integrita epitopů je ovlivněna především teplotou a pH.

Chlorid hořečnatý, humánní albumin, laktóza, sorbitol, želatina.

Látky z technologického procesu (např. OVA)

Národní imunizační programy ČR

Vyhláška č. 537/2006 Sb.
o očkování proti infekčním nemocem

Novela: Sbírka zákonů č. 299/2010 (zejména BCG)

Pravidelné očkování v ČR 2011

(Vyhláška 537/2006, novela 299/2010 Sb.)

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 (A+C) onemocněním, klíšťové encefalitidě, virové hepatitidě A, planým neštovicím, infekci lidskými papilomaviry, chřipce

Povinné očkování - vymahatelnost

Rozhodnutí Ústavního soudu (únor 2011):

V obecné rovině je povinné očkování ospravedlnitelné nejen ve vztahu k Úmluvě na ochranu lidských práv a důstojnosti lidské bytosti v souvislosti s aplikací biologie a medicíny, ale i k dalším základním právům občana podle Ústavy ČR a Listiny základních práv a svobod. Jde o opatření nezbytné pro ochranu veřejné bezpečnosti, zdraví a práv a svobod druhých.

Hexavakcína

Záškrt, tetanus, pertuse, virová hepatitida B, dětská obrna, infekce způsobené H. influenzae b.

Ukončení do 18 měsíců věku, přeočkování.

Spalničky, zarděnky, příušnice

Od 15. měsíce, přeočkování za 6-10 měsíců („vychytávací“, „catch up“ dávka)

Očkovací kalendář ČR 2011

2. měsíc (od 9. týdne)	hexavakcína (1. dávka)
3. měsíc	hexavakcína (2. dávka)
4. měsíc	hexavakcína (3. dávka)
15. měsíc	spalničky, zarděnky, příušnice (1. dávka)
Do 18 měsíce	hexavakcína (4. dávka)
21.-25.měsíc	spal.,zard.,příuš. (2. d.)
5.-6. rok	záškrt,tetanus,pertuse
10.-11. rok	záškrt,tetanus,pertuse dětská obrna

Principy správné vakcinace

- Individuální přístup k očkovanému.
- Dodržování absolutních a relativních kontraindikací.
- Dodržování správné očkovací techniky.
- Použití vhodné vakcíny podle věku.
- Vybrání vhodného místa aplikace.
- Desinfekce místa vpichu (alkohol)
- Zdravotnický dohled po dobu 30 min.

c) specifická imunosuprese

= navození tolerance vůči určitému antigenu

probíhají klinické studie:

navození tolerance perorálním podáním antigenu

alergenová imunoterapie (pyly, hmyzí jedy)