

Bakteriálne imunomodulátory vo svetle nových poznatkov

doc. MUDr. Martin Hrubisko, PhD.

Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, OÚSA, Bratislava

Nové poznatky z oblasti neadaptívnej aj adaptívnej imunity umožnili nové pohľady na imunomodulátory pochádzajúce z baktérií. Tieto prípravky, pôvodne vyvíjané empiricky paralelne s klasickými antiinfekčnými vakcínami, sa v súčasnosti opierajú o teóriu aj praxou overené mechanizmy účinku. Ostatných 10 rokov sa realizoval celý rad experimentálnych prác, ale aj dvojito slepých, randomizovaných, kontrolovaných klinických štúdií, ktoré jednoznačne potvrdili ich účinnosť. Napriek uvedenému im mnohí kolegovia nedôverujú, či už z dôvodu, že neveria ich účinku, alebo sa boja nežiaducich účinkov. V predkladanom článku sa snažíme tieto pochybnosti vyvrátiť a predstaviť ich najvhodnejšie indikácie v svetle medicíny založenej na dôkazoch.

Ľúčové slová: recidivujúce infekcie, bakteriálne imunomodulátory, receptory rozoznávajúce vzory mikroorganizmov, molekulové vzory mikroorganizmov.

Bacterial immune-modulators from a new perspective

New knowledge from the field of innate and adaptive immunity provides new perspective for immune-modulators of bacterial origin. These preparations, historically developed empirically parallel with classical anti-infective vaccines, are nowadays coming from mechanisms proven both theoretically and in practice. In the past 10 years many experimental studies, but also randomized, double blind controlled studies were published, which confirmed their efficacy and safety. Despite stated many colleagues do not trust them – both from the view of efficacy and side effects. In submitted article we want to confute these doubts and to present most appropriate indications in the meaning of evidence based medicine.

Key words: recurrent infections, bacterial immune-modulators, pattern recognition receptors, microbe-associated molecular patterns.

Via pract., 2014, 11(3-4): 91–96

Vzťahy makroorganizmov s mikroorganizmami

Imunológia ako medicínsky odbor historicky vznikala na pôde mikrobiológie, pretože prvotná predstava o imunitnom systéme (IS) sa spájala iba s predstavou o jeho obrannej úlohe voči mikroorganizmom ako našim nepriateľom. V priebehu 2. polovice 20. storočia sa postupne spoznávali funkcie IS v oveľa širšom spektre. Pochopili sme, že imunitný systém nás chráni nie iba voči mikroorganizmom, ale aj voči vlastným chorým/poškodeným bunkám/tkanivám. Postupne sa zhromažďovali aj poznatky o úlohe IS v tolerancii neškodného, resp. všetkého pre život potrebného, ako aj o jeho rozhodujúcej úlohe v patogeneze mnohých ochorení, najmä ochorení z imunitnej dysregulácie (alergia, autoimunita, autozápalové a onkologické choroby).

Súčasná imunológia prehodnocuje pohľady na vzťah makroorganizmov s mikroorganizmami, najmä ostatné dve dekády sú obdobím prudkého nárastu poznatkov. Pochopili sme, že väčšina mikroorganizmov je pre makroorganizmus s normálne fungujúcim IS neškodná, ba dokonca, že symbióza s mikroorganizmami je pre naše zdravie nevyhnutná. Keď pred miliónmi rokov makroorganizmy „prišli na svet“, vstúpili do ríše už dávno obývanej mikroorganizmami a ak chceli prežiť, tej-

to skutočnosti sa museli prispôsobiť. V súčasnosti vieme, že prispôsobenie sa existencii mikroorganizmov je také hlboké, že makroorganizmy vo svojej aktuálnej podobe bez koexistencie s mikroorganizmami nedokážu normálne existovať. Bez mikroorganizmov by nebolo súčasnej podoby imunitného systému vyšších organizmov. Experimenty s bezmikróbnyimi zvieratami ukázali, že sterilne narodené a v sterilných podmienkach sa vyvíjajúce zvieratá okrem imunodeficiencie trpia imunitnou dysreguláciou – vyvíjajú alergické a autoimunitné ochorenia a žijú kratšie.

Z obrovského množstva mikroorganizmov je väčšina pre človeka neškodných, na druhej strane, patogénne mikroorganizmy sú pre človeka nebezpečné a môžu viesť až k ohrozeniu života. Avšak o patogénnosti a nebezpečnosti mikroorganizmu rozhodujú nielen jeho vlastnosti, ale aj kedy, za akých okolností a u akého jedinca (vek, celkové zdravie, stav imunity) kolonizácia či infekcia prebieha. Neprimerané rozmnoženie konkrétneho mikroorganizmu v tele človeka s následnými chorobnými prejavmi nazývame infekciou. V prípade neškodnej prítomnosti mikroorganizmu v makroorganizme hovoríme o kolonizácii a baktérie, ktoré nás za bežných okolností neohrozujú, prípadne sú pre nás prospešné, nazývame komenzálmi.

Najnovšie poznatky o vzájomných vzťahoch makroorganizmov s mikroorganizmami priniesli fascinujúce poznatky o tzv. metabióme, ktorý tvorí súhrn génov makroorganizmu a všetkých „jeho“ mikroorganizmov. Genóm človeka je súhrnom všetkých génov, resp. informácií, ktoré u konkrétneho jedinca gény kódujú. Mikrobiómom nazývame súhrn génov všetkých mikroorganizmov, ktoré makroorganizmus osídľujú, pričom génov pôvodom z mikroorganizmov je v našom tele 100-násobne viac ako našich vlastných génov. To, že genetika a jej uplatnenie sa v konkrétnych environmentálnych podmienkach stojí prakticky za všetkými chorobami je známe už dlhšie; výsledky výskumu však neustále dopĺňajú nové informácie o vplyvoch produktov kódovaných génmi mikroorganizmov.

V našom tele prítomné mikroorganizmy predurčujú fungovanie nie iba imunitného systému, ale rozhodujú aj o metabolizme, resp. metabolických chorobách, kardiovaskulárnom, aj psychikom zdraví. V tomto článku sa však zameriame iba na tú časť uvedených poznatkov, ktoré sa zaoberajú významom mikroorganizmov pre náš imunitný systém. Túto problematiku možno rozdeliť na oblasť probiotík (t. j. zdraviu prospešných živých mikroorganizmov) a oblasť pôsobenia neživých častí bakteriálnych buniek, t. j. problematiku bakteriálnych imunomodulátorov.

Mikroorganizmy a imunitný systém

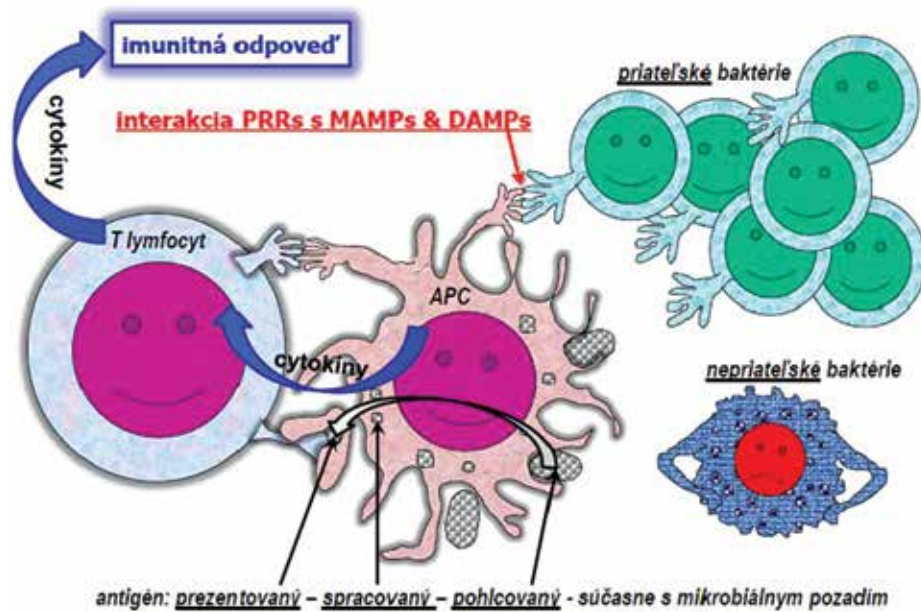
Mikroorganizmami sa jedinec osídľuje už v momente narodenia prechodom cez pôrodné cesty matky a krátko po ňom pri kontakte dieťaťa s matkou a okolitým svetom, pričom kvalita kolonizácie závisí od vonkajších faktorov: pozorovali sa významné rozdiely medzi deťmi narodenými *per vias naturales* a deťmi rodenými sekciou, resp. medzi deťmi ponechanými po pôrode s matkou a deťmi uloženými hneď po pôrode na novorodeneckej izbe, prípadne v inkubátore (1). Mikroorganizmy sa nachádzajú na koži a najmä na slizniciach: v ústnej dutine, v nose a prinosových dutinách, v dýchacích cestách, v zažívacom trakte, u žien v pošve. V tele zdravého dospelého človeka žije 600 – 1 000 druhov mikroorganizmov, kvantitatívne 10^{14} buniek, teda viac ako vlastných buniek (2)!

Ako sme už uviedli, imunitný systém sa u vyšších organizmov vyvinul pod selekčným tlakom mikroorganizmov, pričom gastrointestinálny trakt je najväčším lymfatickým tkanivom a súčasne aj najväčším rezervoárom mikroorganizmov. Spoločná existencia mikroorganizmov a lymfatického tkaniva vytvára symbiózu, pri ktorej probiotické mikroorganizmy vstupujú do odpovede na antigény významnou imunoregulačnou úlohou: ovplyvňujú spektrum vylučovaných cytokínov, ktoré rozhodujú o charaktere imunitnej odpovede. Z tohto pohľadu možno mikroorganizmy považovať za nedeliteľnú súčasť nášho imunitného systému – spolurozhodujú o charaktere imunitnej odpovede (obrázok 1).

Počas fylogénzy makroorganizmov infekcie vytvárali selekčný tlak, v dôsledku ktorého prežívali iba jedinci s dobre fungujúcim imunitným systémom, resp. iba jedinci s určitým typom imunitnej reaktivity. Situácia sa však v 20. rokoch 20. storočia razom zmenila objavom penicilínu a následnou syntézou stále účinnejších antibiotík. Človek tak v boji proti infekcii vynášiel mimoriadne účinnú zbraň, ktorá však mení prirodzený priebeh infekčných ochorení, potláča uvedený selekčný tlak, prežívajú aj jedinci so slabšou imunitou, a tak sa postupne mení náš genofond. Navyše sa kvalitatívne aj kvantitatívne mení naša kolonizácia mikroorganizmami esenciálne potrebná pre funkciu imunity. Častá antibiotická liečba ničí fyziologickú mikroflóru, čím mení odpoveď na spracúvané antigény a súčasne umožňuje pomnožiť sa odolným, potenciálne patogénnym druhom mikroorganizmov.

Komenzálnu mikroflóru okrem antibiotík výrazne kvalitatívne aj kvantitatívne mení spôsob života vrátane stravovania (rozdiel v ko-

Obrázok 1. Schéma prezentácie antigénu a imunitnej odpovede v „mikrobiálnom pozadí“



lonizácii mestského obyvateľstva a napr. farmárov je výrazný), používanie konzervačných látok a stabilizátorov na zabezpečenie dlhšej životnosti potravín, používanie pasterizácie, všadeprítomná dezinfekcia. Tzv. mikrobiálne pozadie, ktoré rozhoduje o priebehu imunitnej reakcie (obrázok 1), sa za ostatných 80 – 90 rokov významne zmenilo, sme osídlení celkovo menším množstvom mikroorganizmov a mení sa druhová skladba – súčasný spôsob života nevytvára v tele podmienky pre dostatočné prežívanie zdraviu prospešných mikroorganizmov, naopak, množia sa také druhy mikroorganizmov, ktoré imunitnú odpoveď modifikujú nesprávnym spôsobom. Civilizovaného človeka teda charakterizuje kvantitatívna aj kvalitatívna zmena mikroflóry – predovšetkým na úkor laktobacilov a bifidobaktérií, naopak v čreve sa množí nevhodná stafylokoková, klostrídiová a iná mikroflóra (3).

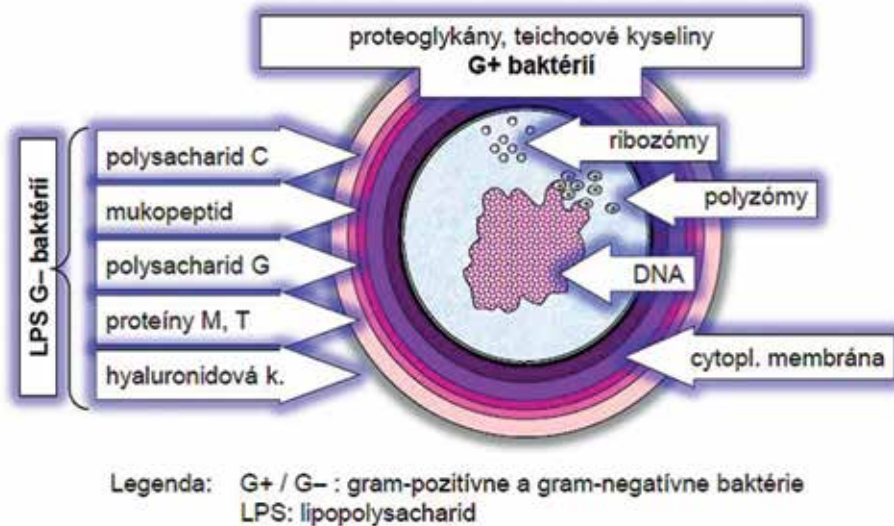
Ako probiotické mikroorganizmy označujeme komezály, ktorých prítomnosť má v našom tele viaceré prospešné funkcie: 1) udržiavajú slizničný imunitný systém v stave neustáleho dozoru – tento je vďaka ich prítomnosti v ustavičnom strehu a môže optimálne reagovať na nebezpečenstvo; 2) kontaktom s bunkami IS ovplyvňujú ich diferenciáciu do rôznych subpopulácií a ovplyvňujú ich funkcie; 3) bránia iným patogénom v adherencii na sliznicu a pomnožení; 4) svojimi metabolickými produktmi ovplyvňujú prakticky všetky zložky fungovania zdravia, vrátane mentálneho. V tomto článku sa sústredíme najmä na vplyv konkrétnych štruktúr mikroorganizmov a ich využitie vo forme imunomodulačných prípravkov.

Vplyv bakteriálnych antigénov na neadaptívnu a adaptívnu imunitu

Pri kontakte s mikroorganizmami sa aktivujú obe základné zložky imunitného systému, vrodenná – neadaptívna, aj získaná – adaptívna. Ako prvá reaguje neadaptívna imunita namierená proti akémukoľvek druhu mikroorganizmu; je rýchla, jej účinok je však málo špecifický. V priebehu evolúcie makroorganizmov sa vytváral systém adaptívnej imunity namierený proti konkrétnemu druhu kmeňu mikroorganizmu; zasahuje konkrétny mikroorganizmus s istým oneskorením, avšak účinnejšie.

V súčasnosti sme svedkami renesancie záujmu aj o neadaptívnu imunitu. Získali sa nové poznatky o úzkom prepojení neadaptívnych a adaptívnych imunitných mechanizmov; dnes vieme, že adaptívna imunita nemôže bez nadväznosti na neadaptívne mechanizmy fungovať. Obe zložky IS kooperujú a vytvárajú jeden funkčný celok; tvorí ich celý rad buniek a nimi tvorených cytokínov, ktoré majú za cieľ homeostázu – okrem iného zničiť škodlivé mikroorganizmy, prípadne aj vlastné bunky, pokiaľ sú poškodené, respektíve trpia chorobným procesom.

Priechodové sa ukázali najmä poznatky o receptoroch rozoznávajúcich vzory patogénnosti mikroorganizmov (*pattern recognition receptors* – PRRs, skrátene vzorové receptory), ktoré sa viažu s tzv. molekulovými vzormi mikroorganizmov (*microbe-associated molecular patterns* – MAMPs). MAMPs (sacharidy, lipidy, glykolipidy a niektoré motívy bakteriálnej DNA, obrázok 2) sú špecifické molekuly mikroorganizmov, preto sa v evolúcii na imunitných, ale aj „náravníkových“ štruktúrových bunkách (epitelové,

Obrázok 2. Schematické znázornenie zloženia baktériového lyzátu

endotelové) makroorganizmov vytvorili PRRs, ktoré predstavujú špecifické molekuly určené na spoznanie mikrobiálneho nebezpečia a štartovanie imunitnej odpovede práve na základe kontaktu s MAMPs. Interakcia PRRs s MAMPs sa považuje za primárny spúšťač reakcií neadaptívnej imunity, ovplyvňuje však aj rozvoj adaptívnej imunity (obrázok 1), a to najmä aktiváciou buniek prezentujúcich antigén (4).

Z viacerých skupín PRRs sa najviac preskúmali receptory TLR (*toll-like receptors*, TLRs), ktoré sú kľúčovým spúšťačom ostatných reakcií neadaptívnej a následne aj adaptívnej imunity (5). TLRs sa nachádzajú najmä na nárazníkových bunkách – makrofágoch, dendritových, epitelových a endotelových bunkách. Po kontakte TLRs s MAMPs sa štartuje kaskáda dejov sprostredkovaná vnútrobunkovými signálnymi molekulami vedúca k transkripcii DNA, výsledkom je syntéza imunoregulačných molekúl, ktorých pôsobenie je v imunitnom systéme vyšších organizmov nenahraditeľné pre jeho optimálnu prácu. MAMPs sú druhovo a asi aj kmeňovo špecifické, to s ktorými PRRs sa spoja ovplyvňuje spektrum cytokínov tvorených bunkami prezentujúcimi antigén (APC), a tak ovplyvňuje špecifickú imunitnú odpoveď na spracúvaný antigén.

Zmenená a/alebo nedostatočná stimulácia PRRs vedie k dysregulácii imunitnej odpovede, prípadne k jej nedostatočnosti (6), a takto aj k patogenéze rôznych chorôb. Za normálnych okolností, pri dostatočnom a vyváženom „mikrobiálnom pozadí“, sa prostredníctvom simulácie konkrétnych PRRs indukujú konkrétne imunitné bunky (APC, naivné T lymfocyty, mastocyty) k produkcii takej zmesi cytokínov (najmä IL-10, IL-12, TGF- β), ktorá vedie k vyváženému vyzrievaniu všetkých potrebných subpopulácií T lymfocytov, vrátane regulačných. Regulačné T

bunky sú esenciálne pre optimálne fungovanie imunitnej odpovede, vrátane fenoménu imunologickej tolerancie, bránia vzniku ochorení z porušenej imunitnej regulácie, akými sú autoimunitné a alergické choroby (7).

I keď sa primárne PRRs vytvorili v rámci ochrany makroorganizmov pred ríšou mikroorganizmov, ich existencia a funkcia je v súčasnosti oveľa komplexnejšia. Na transgénnych myšiach sa ukázalo, že zvýšená expresia TLR4 zvyšuje hostiteľovu odpoveď na lipopolysacharid a umožňuje tak lepšie prežívanie (8). V iných experimentoch sa zistilo, že zvýšená produkcia Th2 cytokínov vedúca k syntéze IgE charakteristická pre alergickú reakciu sa môže potlačiť lipopeptidom stimulujúcim TLR2 receptory a hyperreaktivita na alergén sa môže čiastočne odstrániť expozíciou endotoxínu, ktorý stimuluje TLR4 (9).

TLR pozostávajú zo signálneho peptidu, motívov bohatých na leucín, z cysteínovej, transmembránovej a cytoplazmovej domény, ktorá je homológa s interleukínom 1 (9). TLR1 a TLR2 viažu triacylované lipoproteíny baktérií, TLR3 viažu vírusovú DNA, TLR4 viaže lipopolysacharidy. TLR5 viaže baktériové flagelíny nachádzajúce sa na bazolaterálnom povrchu črevných epitelových buniek, čo ho predurčuje k detekcii baktérií penetrujúcich cez črevný epitel (10). Všetky tieto poznatky umožnili lepšie pochopiť mnohostranný účinok baktériových imunomodulátorov na imunitný systém a do budúcnosti dávajú výhľad na syntézu nových špecifických imunomodulátorov.

Hygienická hypotéza predpokladá, že znížená expozícia „civilizovanej populácie“ mikroorganizmom smeruje imunitný systém novorodenca smerom k Th2 fenotypu asociovanému s atopiou. Avšak v krajinách žijúcich

tzv. západným štýlom života sú na vzostupe nie iba alergické choroby charakteristické Th2 lymfocytovou odpoveďou, ale aj choroby asociované s Th1 fenotypom (diabetes mellitus I. typu a iné autoimunitné choroby). Tiež je známe, že populácie s vysokým premorením parazitmi (ktoré indukujú k Th2 odpovedi) sú chránené pred vznikom alergických ochorení. Je teda zrejme, že vznik alergie nemožno vysvetliť iba Th1/Th2 dysbalanciou, ale že do hry vstupuje minimálne jeden ďalší faktor. Ukazuje sa, že jedným z rozhodujúcich sú regulačné T bunky. Objav TLRs 4, 5, 7, 8 na týchto bunkách ukazuje nové imunoregulačné signálne dráhy, ktorých patológia sa môže uplatniť pri vzniku alergických aj autoimunitných, prípadne aj onkologických chorôb. Stimulácia regulačných T buniek cez TLRs suprimuje Th1 aj Th2 imunitnú odpoveď (9).

Supresia nadmernej expresie Th2 fenotypu je jedným z možných prístupov k ovplyvneniu alergických chorôb. Podávanie bakteriálnych imunomodulátorov a probiotík stimulujúcich signálne dráhy cez konkrétne TLR imunitných buniek môže podporiť diferenciáciu a vyzrievanie regulačných T buniek, a tak potlačiť nadmernú aktivitu zápal indukujúcich lymfocytových subpopulácií (9).

Mechanizmy účinku imunomodulátorov z baktérií

Ešte v polovici 20. storočia mnohé z imunitných mechanizmov, ktoré v súčasnosti považujeme za základné, neboli známe, a tak aj používanie bakteriálnych imunomodulátorov vychádzalo z empirie. Zo začiatku išlo skôr o klasické bakteriálne vakcíny podávané parenterálne a až s rozvojom poznatkov o slizničnej imunite sa postupne rozširovalo orálne užívanie. Definitívne sa mechanizmy účinku a z nich vyplývajúce možnosti použitia pochopili až s rozvojom nových poznatkov o neadaptívnej imunite, najmä o interakcii MAMPs s TLRs. Po orálnom podaní bakteriálnych antigénov dochádza týmto mechanizmom k stimulácii lymfatického tkaniva asociovaného s črevom (GALT, Peyerove plaky), z ktorého potom aktivované imunitné bunky (predovšetkým T lymfocyty a dendritové bunky) recirkulujú do rôznych častí lymfatického tkaniva asociovaného s mukózou (MALT), či už sliznice dýchacích ciest, uropoetického traktu alebo pohlavných orgánov (11).

Baktériové lyzáty sa pripravujú fyzikálnou alebo chemickou lýzou industriálne kultivovaných druhov/kmeňov baktérií a obsahujú všetky dôležité imunogénne komponenty bakteriálnych buniek (obrázok 2). Konečný purifikovaný a lyofi-

lizovaný produkt obsahuje najmä kyslé proteíny, peptidy a aminokyseliny molekulovej veľkosti od niekoľko 100 do niekoľko 100 000 Daltonov (hlavný pík pri gélovej filtrácii je medzi 7 – 8 kD). V prípravku OM-85 (Broncho-vaxom) sa overilo, že obsahuje aj menšie množstvo hydrolyzovaných (a teda detoxikovaných) lipopolysacharidov, teichoové kyseliny, cukry a mastné kyseliny (12). Uvedené molekuly sú terčom pre ľudské PRRs, viažu sa na TLR-4 (13) a v menšej miere aj na TLR-2 (14), ktoré sa exprimujú vo významnom množstve najmä na APC bunkách, ako sú makrofágy a dendritové bunky. Tieto zistenia vysvetlili už skoršie známu skutočnosť, že OM-85 je silným aktivátorom APC (15, 16). Aktivácia TLR-2 a signifikantne najmä TLR-4 sa potvrdila aj s prípravkom OM-89 (Uro-vaxom) (17).

Taliani autori preukázali, že lyzát OM-85 vedie k aktivácii ľudských dendritových buniek prostredníctvom aktivačných faktorov NF- κ B a MAPK, čo v konečnom dôsledku vedie k zvýšenej produkcii interleukínu IL-6, IL-10, IL-12 a chemokínov CXCL8, CXCL6, CCL3, CCL20, CCL22 (18). Tiež zistili, že OM-85 stimuluje v makrofógoch expresiu vzorových receptorov TLR2, NOD1 a NOD2, pričom tento efekt je závislý od dávky.

Dôležitou súčasťou bunkovej steny baktérií, ktorá sa v stene buniek makroorganizmov nevyskytuje, sú **proteoglykány**, preto neprekvapí, že sú významnými stimulátormi fagocytózy, chemotaxie a NK aktivity (*natural killer*). Ako najúčinnějšíe, a pritom netoxické, sa osvedčili najmä proteoglykány z *Klebsiella pneumoniae*. V polymorfonukleároch stimulujú oxidačné vzplanutie, v monocytoch a makrofógoch tvorbu cytokínov (IL-1, IL-6, IL-8, rastové faktory, chemotaktické faktory), v NK-bunkách syntézu interferónov, najmä alfa. Proteoglykány sú polyklonové aktivátory T- aj B-lymfocytov. Stimulujú blastickú transformáciu, syntézu DNA a imunoglobulínov (19). Aj účinok proteoglykánov na imunitný systém človeka je sprostredkovaný cez PRRs. V experimentoch sa potvrdilo, že lipopolysacharidová frakcia F1 podjednotky proteoglykánu z *Klebsiella pneumoniae* sa viaže na receptory TLR4, MD2 a CD14 (20).

Špecifickú protilátkovú odpoveď, okrem povrchových antigénov z bunkovej steny, vyvolávajú aj **ribozomy**. Imunogénnou zložkou sú drobné peptidové časti ribozómových proteínov obsahujúce rovnaké epitopy ako proteíny na povrchu baktérií, preto sú protilátky vytvorené ribozómovou imunizáciou protektívne voči celým patogénom. Navyše, protilátky nerozoznávajú iba pôvodný kmeň z ktorého pochádzali ribozomy, ale ich aktivita je namierená proti všetkým

Tabuľka 1. Zloženie najčastejšie používaných bakteriálnych imunomodulátorov

Druh / kmeň	Broncho-vaxom	Luivac	Ribomunyl	Candivac	Uro-vaxom
Haemophilus influenzae	+	+	+		
Klebsiella pneumoniae	+	+	+		
Klebsiella ozaenae	+	-			
Moraxella catarrhalis*	+	+			
Staphylococcus aureus	+	+			
Streptococcus mitis	-	+			
Streptococcus pneumoniae	+	+	+		
Streptococcus pyogenes	+	+	+		
Streptococcus viridans	+	-			
Candida albicans				+	-
Candida krusei				+	-
Candida glabrata				+	-
Propionibacterium acnes				+	-
Escherichia coli				-	18 kmeňov

* *Moraxella catarrhalis* je aktuálne platný názov pre mikroorganizmus známy aj pod staršími názvami *Neisseria catarrhalis*, resp. *Branhamella catarrhalis*.

kmeňom daného druhu. Pri perorálnom podaní ribozómov sa stimuluje predovšetkým tvorba IgA protilátok, a to sekrečných aj sérových (2).

Prípravky, ktorých hlavnou indikáciou sú recidivujúce respiračné infekcie a prevencia bakteriálnych exacerbácií chronických respiračných ochorení sa vyrábajú z najčastejších pôvodcov katarov horných a dolných dýchacích ciest. Zloženie u nás používaných prípravkov uvádzame v tabuľke 1. Špecifické indikácie majú lyzáty z *Candida albicans* či z *Escherichia coli*. Rovnako ako lyzáty sa osvedčil aj ribozómový prípravok Ribomunyl, ktorý obsahuje purifikované ribozómy zo štyroch respiračných patogénov potencované pridaním proteoglykánov z *Klebsiella pneumoniae*, ktoré účinkujú ako adjuvans a nešpecifický imunostimulátor. Podobne ako lyzáty aj ribozómovo-proteoglykánový prípravok stimuluje významne neadaptívnu imunitnú odpoveď (napr. stimuluje polymorfonukleáry k oxidačnému vzplanutiu, chemotaxii a adhézii, stimuluje APC k tvorbe cytokínov IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α a GM-CSF a NK bunky k tvorbe IFN- α), aj adaptívnu protilátkovú odpoveď (19).

Použitie druhov sa selektovali podľa pôvodnej predstavy o vakcinačnom účinku – očakávala sa tvorba druhovo špecifických protilátok voči použitému druhom – kmeňom. V súčasnosti však vieme, že imunomodulačný účinok týchto prípravkov je duálny: stimuluje neadaptívnu aj adaptívnu imunitu, pričom za primárny a kľúčový účinok považujeme väzbu bakteriálnych antigénov na vzorové receptory PRRs. Väzba v prípravku obsiahnutých MAMPs s PRRs stimuluje sekréciu imunoregulačných cytokínov

a súčasne stimuluje fagocytózu všetkých antigénov vakcíny, ich spracovanie a prezentáciu APC bunkami T lymfocytom (CD4⁺ aj CD8⁺). Pomocné CD4⁺ bunky stimulujú diferenciáciu B lymfocytov na plazmocytov produkujúce ochranné protilátky IgM, IgG a IgA nie iba voči antigénom obsiahnutých druhov, ale dochádza k stimulácii tvorby protilátok aj proti iným druhom baktérií (21, 22) a aj protivírusových protilátok, čo sa s výhodou môže využiť pri súčasnom očkovaní, napr. proti chrípke (23). Klinickú účinnosť bakteriálnych imunomodulátorov overila každodenná prax a potvrdili ju mnohé randomizované placebo kontrolované klinické štúdie aj veľké multinacionálne post-registračné štúdie.

Bakteriálne imunomodulátory v svetle klinických štúdií a medzinárodných odporúčaní

Hlavnou indikáciou imunomodulátorov z baktérií sú **recidivujúce infekcie**. Hoci antibiotiká zvyčajne pomôžu zvládnuť konkrétny prípad infekcie, nedokážu zabrániť jej opakovaniu. U jedincov so sklonom k recidivujúcim infekciám neuvážaná, opakovaná či prolongovaná preskripcia antibiotík vedie k dysmikróbii a vzniku rezistentných bakteriálnych kmeňov. Navyše, infekcia býva častým provokujúcim faktorom exacerbácie chronických, najmä respiračných ochorení, a tak je faktorom významne ovplyvňujúcim nie iba aktuálnu kvalitu života postihnutých, ale aj ďalšiu prognózu vývoja chronických chorôb. Recidivujúce infekcie predstavujú klinický aj pracovno-sociálny problém civilizovaných krajín.

Klinickú účinnosť bakteriálnych imunomodulátorov v prevencii recidivujúcich infekcií preverila dlhoročná prax, ale súčasne sa potvrdila v mnohých otvorených aj randomizovaných placebo kontrolovaných klinických štúdiách. Najviac prác sa venovalo pacientom s chronickými respiračnými ochoreniami, mnohé sa však zamerali aj na oblasť chronických recidivujúcich infekcií uropoetického systému, najmä dolných močových ciest, niektoré aj na chronické kožné choroby, ktorých častým zhoršujúcim faktorom býva infekcia.

Najmä **chronická obštrukčná choroba pľúc** (CHOCHP) je ochorením, pri ktorom sú recidivujúce infekcie popri pokračujúcom fajčení druhým najvýznamnejším faktorom nepriaznivo ovplyvňujúcim prognózu. Základná farmakoterapia CHOCHP (bronchodilatancia, inhalačné kortikosteroidy, ich kombinácie, mukolytiká, antibiotiká) vedie k potláčaniu symptómov, jej vplyv na prognózu choroby je však obmedzený až sporný. Popri fajčení významným faktorom rozhodujúcim o prognóze CHOCHP sú infekčné exacerbácie. Práve preto sa opakovane skúmali aj možnosti imunoterapie. Z celého radu liečebných modalít sa z pohľadu medicíny založenej na dôkazoch ako účinné preverilo iba obmedzené množstvo prístupov: očkovanie proti chrípke, pneumokoková vakcína a podávanie bakteriálneho lyzátu OM-85 (24). Efekt OM-85 (Broncho-vaxom) v liečbe, resp. profylaxii infekčných exacerbácií chronickej bronchitídy a CHOCHP sa potvrdil v celom rade kvalitných štúdií (5, 26, 27, 28). Táto skutočnosť viedla aj k tomu, že imunoterapia sa uvádza ako vhodný doplnujúci liečebný postup v medzinárodných odporúčaníach pre liečbu CHOCHP (29).

Aj pri **astme** sú infekcie najčastejšou príčinou exacerbácií, pričom exacerbácie nielenže významne ovplyvňujú kvalitu života astmatikov, ale každá exacerbácia znamená aj ďalšiu progresiu choroby a zhoršenú prognózu (30).

Poľskí autori sledovali 25 detí vo veku od 4 do 16 rokov s atopickou astmou, ktoré v priebehu predošlých 12 mesiacov prekonali > 6 respiračných infekcií (31). Detom podávali profylakticky OM-85 (Broncho-Vaxom 3,5 mg 10 dní v 3 po sebe idúcich mesiacoch) a sledovali klinický aj laboratórny vývoj (infekčné epizódy, vplyv na T-lymfocyty). Počet infekcií sa znížil o 78 %, počet podaných antibiotík poklesol o 83 %, podávanie expektorancií sa zredukovalo na 48 %. Počet T lymfocytov sa v prípade ich zníženej alebo zvýšenej hodnoty pred liečbou po liečbe normalizoval, u pacientov s normálnym počtom T lymfocytov pred

liečbou sa počet lymfocytov liečbou nezmenil. Signifikantnú redukciu exacerbácií, redukciu potreby užívať záchrannú liečbu a antibiotiká potvrdili aj v placebom kontrolovanej štúdií na 60 dospelých pacientoch (32).

Efekt OM-85 v liečbe nealergickej astmy sledovali aj v jednoducho zaslepenej štúdií na 50 dospelých pacientoch priemerného veku 38 rokov (33). 25 pacientov dostalo k štandardnej antiastmatickej liečbe baktériový lyzát, u 25 pacientov sa pridalo placebo. Podávala sa terapeutická kúra (30 dní 7 mg denne) a po mesačnej pauze nasledovala profylaktická kúra (10 dní v mesiaci 3 mesiace po sebe). V aktívne liečenej skupine sa štatisticky významne redukoval nie iba počet a celkové trvanie infekcií, ale aj bronchiálna hyperreaktivita. Súčasne sa pozoroval významný vzostup celkovej hladiny protilátok IgG, IgA a IgM a naopak pokles v triede IgE. Signifikantné boli aj zmeny v prieduškových výplachoch – poklesla eozinofília, normalizoval sa pomer CD4 / CD8 a stúpol sekrečný IgA.

Vhodnosť liečby bakteriálnymi imunomodulátormi u astmatikov nepotvrdili iba tieto staršie štúdie, ale s imunomodulátorom OM-85 prebehli aj celkom nové štúdie. Z roku 2014 je publikácia gréckych autorov, ktorí podávali Broncho-vaxom v prospektívnom, dvojito-slepo placebo kontrolovanom protokole. V aktívnom ramene sa významne zlepšila kontrola nad ochorením a zredukovala sa dávka inhalačných kortikosteroidov (34).

Perzistujúca **rhinosinuitída** je najčastejšou komorbiditou astmy, pričom je známe, že zhoršuje kvalitu života astmatikov a neliečená prispieva k horšej prognóze a k exacerbáciám astmy. Infekčné exacerbácie rhinosinuitídy vedú väčšinou aj k exacerbácii astmy, a tak otázka prevencie infekcií horných dýchacích ciest je pri súčasnom výskyte astmy rovnako dôležitá ako prevencia infekcie dolných dýchacích ciest. Viaceré placebo kontrolované aj prospektívne otvorené štúdie potvrdili významný efekt bakteriálnych lyzátov na počet a trvanie infekčných epizód rhinosinuitídy a na spotrebu antibiotík u detských aj dospelých pacientov s opakovanými rhinosinuitídami (35, 36, 37). To, že relevantných poznatkov o účinnosti imunomodulačnej liečby v liečbe rhinosinuitídy sa nahromadilo dostatok, našlo odraz aj v ostatných odporúčaníach európskej rinologickej spoločnosti v dokumente EPOS (38).

Rovnako významnou indikáciou bakteriálnych imunomodulátorov sú tiež **recidivujúce infekcie urogenitálneho traktu**. Recidivujúce infekcie dolných aj horných močových ciest

(*urinary tract infections* – URI) sú veľmi častým problémom v ambulanciách praktických lekárov, urológov, aj imunológov. Antibiotiká alebo chemoterapeutiká síce vyriešia akútny problém, nezabránia však relapsom. Pri opakovaných relapsoch URI sa odporúča dlhodobá chemopfyloxia (zvyčajne chinolónmi), táto sa však spája so selekciou rezistentných uropatogénov (39) a spôsobuje dysmikrobiu. Porovnateľne účinnou a bezpečnejšou alternatívou je profylaxia URI pomocou bakteriálnych imunomodulátorov (39). Za týmto účelom sa vyvinula špeciálna orálna vakcína Uro-vaxom, ktorej účinnosť potvrdili viaceré randomizované kontrolované klinické štúdie, najmä u žien, vrátane tehotných (40, 41).

Rovnako účinné však môže byť aj podávanie lyzátu vyrobeného z respiračných patogénov (39). Prevencia URI pomocou imunomodulátora z respiračných patogénov sa dá vysvetliť dvoma spôsobmi. Jednak predpokladáme, že sa významne uplatňuje efekt na základné mechanizmy neadaptívnej imunity (interakcia MAMPs-PRRs, podrobne vyššie), ale úlohu iste zohráva aj stimulácia tvorby antimikrobiálnych protilátok proti patogénom, ktorých antigény nie sú vo vakcíne obsiahnuté. To v praxi ukázala štúdia slovenských autorov (39) a priamo túto skutočnosť potvrdila práca nemeckých autorov, ktorí po prípravku OM-89 (obsahuje výlučne antigény uropatogénnych *E. coli*) pozorovali významný vzostup syntézy protilátok aj voči *Proteus mirabilis* a *Klebsiella pneumoniae* (42).

Zhrnutie

Poznatky o význame bazálnych mechanizmov neadaptívnej imunity, najmä o receptoroch rozoznávajúcich vzory patogénnosti mikroorganizmov (PRRs), pre funkciu ostatných mechanizmov neadaptívnej, ale aj adaptívnej imunity, odštartovali obdobie obnoveného záujmu o neadaptívnu imunitu. Zároveň nám umožnili lepšie pochopiť mechanizmy účinku a možnosti využitia bakteriálnych imunomodulátorov. V súčasnosti môžeme konštatovať, že pre imunoterapiu pomocou týchto prípravkov máme dostatok teoretických podkladov, aj dôkazov o účinnosti a bezpečnosti.

90 rokov po objave prvého antibiotika si odborná verejnosť začína uvedomovať, že hoci si už bez antibiotík nedokážeme modernú medicínu predstaviť, boj s mikroorganizmami sme nevyhrali a ani nikdy nevyhráme. Začínáme sa na mikroorganizmy pozeráť ako na prirodzenú súčasť nášho životného prostredia, ale aj nášho vlastného tela, dokonca z istého pohľadu vnímame mikroorganizmy ako súčasť našej imunity. Preto je jednou z logických ciest prevencie

recidivujúcich infekcií podpora telu vlastných, prirodzených obranných mechanizmov. A práve pri vytváraní a udržiavaní tejto prirodzenej odolnosti nám môžu pomôcť imunomodulátory vyrobené z baktérií.

Literatúra

- Montgomery SB, Wakefield AJ, Morris DL, et al. The initial care of newborn infants and subsequent hayfever. *Allergy*. 2000; 55:916–22.
- Béné MC, Faure GC. From Peyer's Patches to Tonsils. Specific Stimulation with Ribosomal Immunotherapy. *Drugs*. 1997;54(Suppl.1):24–28.
- Hrubiško M, a kol. *Probiotiká ako súčasť imunitného systému človeka*. Bratislava: Bonus; 2012, 215 s.
- Medzhitov R, Janeway C. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunol Rev*. 2000; 173: 89–97.
- Armant MA, Fenton MJ. Toll-like receptors: a family of pattern-recognition receptors in mammals. *Genome Biol*. 2002;3(8): Reviews 3011.
- Bellou A, Schaub B, Ting L, Finn W. Toll receptors modulate allergic responses: Interaction with dendritic cells, T cells and mast cells. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2003;3(6):487–494.
- Caramalho I, Lopes-Carvalho T, Ostler D, et al. Regulatory T cells selectively express Toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med*. 2003;197:403–411.
- Bihl F, Salez L, Beubier M, et al. Overexpression of toll-like receptor 4 amplifies the host response to lipopolysaccharide and provides a survival advantage in transgenic mice. *J Immunol*. 2003;170:6141–6150.
- Staros EB. Innate Immunity: New Approaches to Understanding Its Clinical Significance. *Am J Clin Pathol*. 2005;123(2):305–312.
- Gewirtz AT, Navas TA, Lyons S, et al. Cutting edge: bacterial flagellin activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression. *J Immunol*. 2001;167:1882–1885.
- Lusardi M. Challenging mucosal immunity with bacterial extract to prevent respiratory infections: an old therapy revisited. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2004;61(1):4–5.
- Meredith M, Chiavaroli C. Mechanism of action and therapeutic efficacy of the biotechnology-derived immunostimulating extract OM-85 in respiratory tract infections. *Int. J. Biotechnology*, Vol. 9, Nos. 3/4, 2007.
- Alyanaki MA, Grella F, Aumenier A, et al. Transforming growth factor- β and natural killer T cells are involved in the protective effect of a bacterial extract on type I diabetes. *Diabetes*. 2006;55:179–185.
- Huber M, Mossmann H, Bessler WG. Th1-orientated immunological properties of the bacterial extract OM-85-BV. *European Journal of Medical Research* 2005;10:209–217.
- Byl B, Libin M, Gerard M, et al. Bacterial extract OM 85-BV induces interleukin-12-dependent IFN-gamma production by human CD4+ T cells. *Journal of Interferon and Cytokine Research*. 1998;18:817–821.
- Zelle-Rieser C, Ramoner R, Bartsch G, Thurnher M. A clinically approved oral vaccine against pneumotropic bacteria induces the terminal maturation of CD83+ immunostimulatory dendritic cells. *Immunology Letters*. 2001;76:63–67.
- Bessler WG, Puce K, von dem EU, et al. Immunomodulating effects of OM-89, a bacterial extract from *Escherichia coli*, in murine and human leukocytes. *Arzneimittelforschung*. 2009;59:571–577.
- Parola C, Salogni L, Vaira X, et al. PLoS ONE 2013; 8(12): e82867. doi:10.1371/journal.pone.0082867
- Clot J. Pharmacology of Ribosomal Immunotherapy. *Drugs*. 1997;54 (Suppl.1):33–36.
- Miller SJ, Ernst RK, Bader MW. LPS, TLR4 and infectious disease diversity. *Nature Reviews Microbiology* 2005;3(1):36–46.
- Huber M, Baier W, Serr A, Bessler WG. Immunogenicity of an *E. coli* extract after oral or intraperitoneal administration: induction of antibodies against pathogenic bacterial strains. *International Journal of Immunopharmacology*. 2000;22:57–68.
- Sedelmeier EA, Bessler WG. Biological activity of bacterial cell-wall components: immunogenicity of the bacterial extract OM-89. *Immunopharmacology*. 1995;29:29–36.
- Centani S, Pregliasco F, Bonfatti G, et al. Clinical Efficacy of a Vaccine-Immunostimulant Combination in the Prevention of Influenza in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Chronic Asthma. *Journal of Chemotherapy*. 1997;9(4):273–278.
- Niewoehner DE. Interventions to prevent chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *Am J Med*. 2004;117(12A):415–485.
- Soler M, et al. Double-Blind Study of OM-85 in Patients with Chronic Bronchitis and Mild COPD. *Respiration*. 2007;74:26–32.
- Collet JP, et al. the PARI-IS Study Steering Committee and Research Group. Effects of an immunostimulant agent on acute exacerbations and hospitalizations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156:1719–1724.
- Collet JP, et al. Economic impact of using an immunostimulating agent to prevent severe acute exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Can Respir J*. 2001;8:27–33.
- Li J, Zheng JP, Yuan JP, et al. Protective effect of a bacterial extract against acute exacerbation in patients with chronic bronchitis accompanied by chronic obstructive pulmonary disease. *Chinese Medical Journal* 2004;117(6):828–834.
- Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Updated 2014. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, Inc. http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2014_Jan23.pdf
- Hrubiško M, Laššán Š. Exacerbácia astmy ako obávaaná komplikácia – vieme jej predísť? *Klin Imunol Alergol*. 2013;33(1):4–11.
- Stasiak-Barmuta A, Piotrowska T, Alifir M, Hofman J. Immunomodulatory effect of Broncho-Vaxom (B-V) in children with atopic bronchial asthma and dysfunction of T lymphocytes. *Int Rev Allergol Clin Immunol*. 1997;3(4):205–8.
- Czerniawska-Mysik G, Adamek-Guzik T, Dyczek A, Kotlinska T. Double-blind clinical study with Broncho-vaxom in the treatment of recurrent acute bronchitis and bronchial asthma. *Int J Immunotherapy*. 1992;8(3):153–9.
- Abdou MA, Hanna KM, El Attar S, et al. Influence of a bacterial extract, Broncho-vaxom, on clinical and immunological parameters in patients with intrinsic asthma. *Int J Immunotherapy*. 1993;1X(2):127–133.
- Christopoulos A, Pandeli L, Demopoulos P. The Effect of the Oral Bacterial Extract OM-85 BV on Asthma Control – a Prospective Study. *British Journal of Medicine & Medical Research*. 2014;4(1):368–381.
- Grevers G, Palacios OA, Rodriguez B, et al. Treatment of recurrent respiratory tract infections with a polyvalent bacterial lysate: results of an open, prospective, multinational study. *Adv Ther*. 2000;17(2):103–116.
- Heintz B, Schlentner WW, Kirsten R, Nelson K. Clinical efficacy of Broncho-Vaxom in adult patients with chronic purulent sinusitis – a multicentric, placebo-controlled, double-blind study. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*. 1989;27(11):530–534.
- Supajatura V, Ushio H, Nakao A, et al. Differential responses of mast cell Toll-like receptors 2 and 4 in allergy and innate immunity. *J Clin Invest*. 2002;109:1351–1359.
- Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps (EPOS 2012). *Rhinology*. 2012; 50(23):1–298.
- Krčméry S, Hromec J, Gábríšová Z, Tahotný R. Imunoterapia a dlhodobá chemopropylaxia v prevencii recidivujúcich uroinfekcií u žien. *Vnitř Lék*. 2010;56(9):955–960.
- Baertschi R, Balmer JA, Eduah SB, et al. Bacterial extract for the prevention of recurrent urinary tract infections in pregnant women: a pilot study. *Int J Immunotherapy*. 2003; XIX(1):25–31.
- Bauer HW, Alloussi S, Egger G, et al. A Long-Term, Multicenter, Double-Blind Study of an *Escherichia Coli* Extract (OM-89) in Female Patients with Recurrent Urinary Tract Infections. *European Urology* 2005; 47:542–548.
- Huber M, Baier W, Serr A, Bessler WG. Immunogenicity of an *E. coli* extract after oral or intraperitoneal administration: induction of antibodies against pathogenic bacterial strains. *Int J Immunopharmacol*. 2000; 22:57–68.

doc. MUDr. Martin Hrubisko, PhD.

Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, OÚSA, Heydukova 10, 812 50 Bratislava
martin.hrubisko@ousa.sk

