

Mikrobiální modulátory imunitního systému

PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Katedra biologických a lékařských věd, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

Mikrobiota je zásadním a neustálým stimulem imunity. Modifikované mikroorganismy, resp. složky jejich těl, slouží k cílené modulaci imunitních dějů. Vedle vakcín, které vyvolávají specifické reakce, se používají modulátory, jejichž účelem je nespecifická podpora imunity protimikrobní nebo dokonce protinádorové. Současný stav poznání umožňuje vysvětlit mechanismy účinku mikrobiálních modulátorů, klinické studie dokládají využitelný efekt. Pro aplikace v onkologii se nabízejí BCG vakcína, muramylpeptidy a glukany, pro prevenci respiračních a močových infekcí polybakteriální imunomodulátory. Tyto látky jsou podrobněji popsány a naznačena jejich terapeutická hodnota.

Klíčová slova: stimulace přirozené imunity, vakcína BCG, muramylpeptidy, glukany, polybakteriální imunomodulátory, receptory PRR, mikrobiální struktury PAMP, podpůrná imunomodulace v onkologii, prevence rekurentních a chronických infekcí respiračních a močových.

Immunomodulators of microbial origin

Microbiota is crucial, permanent stimulus of immunity. Modified microbes or components of their bodies could be used for efficient modulation of immune reactions. In addition to vaccines, which induce specific responses, immunomodulators providing less specific effect could be used. The aim of such agents is a support of antimicrobial immunity in general as well as stimulation of effectors of anti-cancer immunity. Contemporary gnose enables elucidate mode of actions of microbial modulators, clinical studies prove usable effect. For applications in oncology are indicated BCG vaccine, muramylpeptides and glucans, for prevention of respiratory and urinary tract infection polybacterial immunomodulators. All these agents are described in detail and their therapeutic values are discussed.

Key words: stimulation of innate immunity, BCG vaccine, muramylpeptides, glucans, polybacterial immunomodulators, receptors PRR, PAMP, immunomodulation in oncology, prevention of recurrent and chronic infections of respiratory and urinary tracts.

Prakt. lékáren. 2010; 6(3): 119–124

Podstata imunitního systému

Imunitní systém (IS) je základním homeostatickým činitelem, který zajišťuje integritu a identitu organismu. Reaguje na podněty z vnějšího i vnitřního prostředí (antigeny), je regulován svými regulačními molekulami (např. cytokiny). IS je zapojen do regulace neurohumorální, je ovlivňován nervovou soustavou (např. inervace lymfoidních orgánů), působí na něj řada hormonů (např. glukokortikoidy či prolaktin) a naopak produkty buněk IS zasahují např. do řízení tělesné teploty (IL-1) nebo chování (interferony).

Buňky IS a látky jimi produkované se nacházejí v celém těle, buď se pohybují volně, nebo se dočasně či trvale usazují v lymfoidní tkáni, která slouží jako místo setkávání buněk a výměny informací. Vedle toho se buňky morfologicky i funkčně proměňují. Další typickou vlastností imunocytů je jejich neustálá obnova: vznikají z kmenových buněk kostní dřeně, diferencují se pod vlivem růstových faktorů (CSF) a prostředí, aby žily, některé několik dnů či týdnů (neutrofily), jiné naopak desítky let (paměťové lymfocyty). Vedle neustálého množení probíhá mezi buňkami IS neustálý zánik procesem apoptózy, nepotřebné buňky uvolňují místo novým.

Selhávání imunity

Schematicky můžeme o poruchách imunity uvažovat jako o situacích, kdy systém nevykonává očekávanou funkci (např. obranu před mikroby) dostatečně, hovoříme o imunodeficitu. Je účelné určit, zda má imunodeficit povahu vrozené, geneticky podmíněné, vady. Hovoříme o primárním deficitu. Pomoc spočívá v celoživotní substituci chybějící struktury (podávání imunoglobulinů, antibiotická profylaxe). Poškozené geny se zatím nedaří „opravovat“, proto je nutné genový defekt řešit pomocí riskantní transplantace kostní dřeně (1).

Častější skupinou imunodeficitů jsou poruchy získané během života. Jde o situace, kdy vlivem pestré škály možných příčin (namátkou uvedme: malnutrice, stres, vyčerpání, HIV, záření, cytostatika, stárí, dysmikrobie) a jejich kombinací imunitní systém selhává. Jde jednak o poruchy skryté a prokazatelné díky laboratornímu vyšetření a dále o poruchy manifestní. V principu lze každé infekční onemocnění nebo nádor považovat za důsledek (dočasný – trvalejší; banální – fatální) imunodefektu. Stav imunity jedince nelze jednoduše hodnotit pomocí několika parametrů, neboť efektorových mechanismů je řada, navzájem se mohou zastupovat, takže klinický a laboratorní nález se mohou velmi lišit. Navíc

existují značné interindividuální rozdíly – dvě osoby s podobnými odchylkami laboratorních hodnot mohou subjektivně i objektivně vykazovat velmi odlišné příznaky poruchy.

Možnosti podpůrných zásahů do imunity

Jak již bylo naznačeno, imunita je komplexní, složitě regulovaný děj, jenž je permanentně konfrontován se zátěží stálé i proměnlivé mikrobioty a xenobiotik. Do tohoto složitého dynamického systému se snažíme zasáhnout terapeutickými, resp. preventivními intervencemi. Na jedné straně jsme schopni dosáhnout epochálních úspěchů – očkovaní přineslo miliony zachráněných životů, eradikaci neštovic (2) nebo naději, že vbrzku zmizí dětská obrna (3).

Na druhé straně s rozpaky čelíme dotazům na možnosti trvalého řešení problému rekurentních a chronických infekčních obtíží. Zatímco v případě několika jasně definovaných a třeba i velmi nebezpečných patogenů jsme díky vakcinaci schopni účinného preventivního zásahu, v případě patogenů s nižší, často pouze příležitostnou virulencí obrana selhává, neboť vyvolatelé se proměňují (virus chřipky) nebo střídají (původci respiračních infekcí), popř. mění kvantitativní zastoupení a vzájemné vztahy (kvasinky

při poševní kandidóze). Zde se jen zřídka může spolehnout na specifickou imunitu nadanou dlouhodobou pamětí. Existují sice individuální vakcíny, ovšem jejich příprava je náročná.

Podpořit imunitu proti širšímu spektru patogenů lze preparáty, u nichž předpokládáme efekt především na složky přirozené imunity, která má sice menší rozlišovací schopnost, nicméně tvoří základ imunity a je nezbytným předstupněm specifických reakcí a imunitní paměti. Třebaže fagocytóza či komplement jsou známy již více jak století, o jejich cíleném terapeutickém ovlivnění se uvažuje zejména v posledních dekádách jednak proto, že donedávna existovaly účinnější přirozené stimuly (nízký hygienický standard), populace byla odolnější (stimulována a selektována vážnými infekcemi), neselhávala antibiotika. Výzkum posledních 25 let přinesl teoretická východiska pro vysvětlení do té doby spíše empirických poznatků o přípravcích exogenního původu a umožnil využít látky odvozené ze struktur tělu vlastních.

Imunomodulátory mikrobiální

Mikroby byly a jsou nejmocnější exogenní stimul imunity. Nepřekvapí, že souběžně s vývojem vakcín (jejichž problematika je mimo rámec tohoto článku) byly zkoušeny empiricky přípravky pro obecnější posílení imunity, a to jak protimikrobní, tak třeba protinádorové. Již před 100 lety byly používány lyzáty z G+ bakterií, tzv. Cooleyovy toxiny, působily regresi nádorů.

Jak mohou mikrobiální buňky nebo jejich fragmenty zvýšit odolnost proti odlišným mikrobusům nebo dokonce aktivovat protinádorovou rezistenci? Přirozená imunita (kdysi též zvaná nespecifická) nemá schopnost přesné identifikace určité antigenní entity, ovšem dokáže rozeznat typické struktury mikrobusů, tzv. PAMP (pathogen-associated molecular patterns). Mezi PAMP patří látky vyskytující se u virů (dvouřetězcová RNA), u bakterií (peptidoglykan, kyselina teichoová, nemetylovaná DNA s motivem CG – cytosin-guanin) nebo u kvasinek (glukan). Lidské buňky netvoří PAMP, proto jsou tyto struktury dobrým znakem mikrobiálního napadení. Imunocyty mají pro PAMP receptory, tzv. PRR (pattern recognition receptor). Mezi PRR zařazujeme tzv. Toll-like receptory (TLR1-TLR11), manózoový receptor (MR), receptory NOD (nucleotide-binding oligomerization domain) nebo NALP (kryopyrin), dále dektin a další, některé dosud neobjevené struktury. Podstatné je to, že pomocí PRR může buňka rozeznat typické mikrobiální produkty, a to nejen na svém povrchu, ale i v cytoplazmě (TLR3, 7, 8, 9, 11, NOD,

NLP). Díky tomu jsou odhaleny nepatřičné, tělu cizí struktury. Pokud je rozeznávání PAMP doprovázeno i přítomností látek uvolněných z poškozených tkání (např. bílkoviny tepelného šoku – HSP), pak hovoříme o signálech nebezpečí, které alarmují imunitní mechanismy (4). Podle intenzity alarmu se pak odvíjí rozsah imunitní odezvy – od ignorace přirozené mikrobioty po endotoxinový šok. Ve stejném rozsahu lze předpokládat i terapeutickou manipulaci.

BCG vakcína

BCG vakcína je kontroverzní očkovací látka tvořená speciálním kmenem mykobakterií. O BCG víme, že stimuluje buněčnou imunitu, obsahuje PAMP (muramylpeptidy etc.). Mykobakteria BCG nebo jejich fragmenty byly teoreticky odůvodněnými a empiricky ověřenými kandidáty na imunomodulátory, především pro oblast onkologie.

Pokud jde o posilování protinádorové rezistence, vycházíme z konceptu imunity zaměřené vůči buňkám, které se staly pro tělo nebezpečnými – jsou napadeny nitrobuněčnými parazity (viry, mykobakteria), nebo jsou nádorově zvrhlé. Protivirovou a protinádorovou obranu zajišťují specifické lymfocyty T, vedle nich buňky přirozené imunity: NK buňky, makrofágy nebo dendritické buňky. V 70. letech m. s. přišel s myšlenkou posílit protinádorovou imunitu (tehdy zrovna objevenou) prof. Chedid, který navrhoval (a klinicky zkoušel) masivní dávky BCG vakcíny, které měly vyburcovat především buněčnou složku imunity k efektivní protinádorové aktivitě (5). Z mnohých zamýšlených aplikací BCG mykobakterií zůstala v podstatě jediná: BCG vakcína (Immucyst) pro instilaci do močového měchýře při léčbě rakoviny tohoto orgánu. Nicméně probíhá řada studií s cílem využít BCG vakcínu pro terapii dalších typů zhoubného bujení, některé naznačují užitečnost (6), jiné neprokazují pozitivní efekt doplňkové terapie BCG vakcínou (7, 8).

Muramylpeptidy

Muramylpeptidy, původně izolované z BCG vakcíny, jsou fragmenty peptidoglykanu, který je podstatnou složkou buněčných stěn většiny bakterií. Peptidoglykan má dvourozměrnou strukturu, kde řetězce polysacharidů (v nichž se pravidelně střídají kyselina N-acetylmuramová a N-acetylglukosamin) jsou napříč propojeny krátkými peptidy (tvoří je 5–15 aminokyselin, některé z nich jsou unikátní). Peptidoglykan je součástí lipopolysacharidu, resp. endotoxinu, tedy látek s výraznými biologickými účinky. Pokud fragmentujeme peptidoglykan, získáme

muramylpeptidy, přitom již N-acetylmuramová kyselina se dvěma vázanými aminokyselinami (muramyldipeptid) má silný imunostimulační efekt. Byly připraveny a testovány stovky analog muramyl peptidů se snahou připravit látku s dostatečnými imunostimulačními účinky a s přijatelnou toxicitou, především s nízkou pyrogenitou, kterou se nedařilo od hlavního efektu oddělit. Receptorem pro muramylpeptidy je molekula rozeznávající vzory patogenů NOD na dendritických buňkách a makrofázích.

Buňky aktivované přímo muramylpeptidy produkují řadu prozánětových cytokinů, mj. TNFα (9), IL-1, IL-6 nebo IL-8 (10, 11), exprimují více adhezních molekul (12), mají vyšší cytotoxicitu (13), stejně tak vyšší aktivita byla popsána u NK buněk (14, 15). Aktivované dendritické buňky a makrofágy ovlivňují ostatní imunocyty, např. lymfocytům T předkládají zachycené antigeny a ovlivňují je svými cytokiny a dalšími informačními molekulami, takže nepřekvapí odezva na podání muramylpeptidů u cytotoxických lymfocytů T (16) nebo podpurný (adjuvantní) účinek těchto látek při protilátkové odpovědi na vakcínu (17).

Nyní je v ČR registrován mifamurtid (komplex muramyltripeptid-fosfatidyletanolamin) formulovaný do lipozomů (Mepact). Je indikován v kombinaci se standardní terapií k léčbě osteosarkomů (18), přináší slibné výsledky: přežívání 60–70% pacientů s lokalizovaným nádorem a 20% pacientů s metastázami (19). Účinek mifamurtidu je zprostředkován aktivovanými makrofágy, které jej v lipozomech pohlcují, jsou stimulovány m. j. k protinádorové aktivitě. Do ní lze zahrnout vlastní cytotoxické působení makrofágů a efekt jejich cytokinů (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-12). Cytokiny mají protinádorový efekt (TNF-α) a současně stimulují protinádorové účinné buňky imunity (cytotoxické lymfocyty T, NK buňky).

Ostatní muramylpeptidy stejně jako příbuzné lauroylpeptidy své uplatnění v terapii kvůli vedlejším účinkům u nás zatím nenalezly, byť jich byla řada preklinicky testována.

Glukany

Glukany (polymery z β-D-glukózy vázané většinou přes atomy uhlíku 1–3) jsou biopolymery přítomné v bakteriích, kvasinkách, houbách i v rostlinách. Mají trojřoubovicovou strukturu, která je nestálá, obtížně izolovatelná a standardizovatelná. Dostatečný účinek mají glukany obsahující více než 50 glukózových jednotek.

Glukany jsou na buňkách přirozené imunity rozeznávány receptory ze skupiny dektinů (20) nebo receptory pro komplement (21). Opět lze uvažovat o nesespecifickém, širěji zaměřeném

Tabulka 1. Polybakteriální imunomodulátory registrované v ČR. Přehled preparátů dle AISLP (v 2010.1)

preparát	složení	indikace	dávkování
Broncho-vaxom pro adultis	Lyofilizovaný bakteriální lyzát kmenů: <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Diplococcus pneumoniae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae et ozaenae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes et viridans</i> , <i>Neisseria catarrhalis</i>	Prevence opakovaných infekcí dýchacích cest a akutních exacerbací chronické bronchitidy; podpůrná léčba při akutních infekcích dýchacích cest. Přípravek je určen pro dospělé a děti od 12 let	Doplňková léčba akutních stavů: 1 tobolka denně nalačno do odeznění příznaků, nejméně po dobu 10 dnů. V případě, kdy je třeba léčba antibiotiky, měl by se přípravek podávat současně s nimi Léčba preventivní nebo udržovací: 1 tobolka denně nalačno během 10 následujících dní v měsíci po dobu 3 po sobě následujících měsíců
Broncho-vaxom pro infantibus	Lyofilizovaný bakteriální lyzát kmenů: <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Diplococcus pneumoniae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae et ozaenae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes et viridans</i> , <i>Neisseria catarrhalis</i>	Prevence opakovaných infekcí dýchacích cest a akutních exacerbací chronické bronchitidy; podpůrná léčba při akutních infekcích dýchacích cest. Přípravek je určen pro děti od 6 měsíců do 12 let	Doplňková léčba akutních stavů: 1 tobolka denně nalačno do odeznění příznaků, nejméně po dobu 10 dnů. V případě, kdy je třeba léčba antibiotiky, měl by se přípravek podávat současně s nimi Léčba preventivní nebo udržovací: 1 tobolka denně nalačno během 10 následujících dní v měsíci po dobu 3 po sobě následujících měsíců
Luivac	Lysatum bacteriale mixtum min. z 10 ⁹ bakterií každého kmene: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Branhamella catarrhalis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> 3 mg v 1 tabletě	Opakující se infekce dýchacích cest (rýma, sinusitida, katar horních cest dýchacích, bronchitida) a chronické záněty středního ucha. Pro děti od 3 let, mladistvé a dospělé	1 tableta denně. První léčebná kúra trvá 21 dní, pak následuje 28 dní přestávka, pak druhá 28denní kúra Léčba se obvykle zahajuje v době, kdy je pacient bez příznaků infekce. Při akutní infekci nemůže Luivac nahradit nezbytnou léčbu antibiotiky, může však být podáván současně
Ribomunyl	<i>Klebsiellae pneumoniae</i> ribosomates 263 mikrogramů, <i>Streptococci pneumoniae</i> ribosomates 225 mikrogramů, <i>Streptococci pyogenes</i> ribosomates 225 mikrogramů, <i>Haemophili influenzae</i> A ribosomates 37,5 mikrogramů, membranae <i>Klebsiellae pneumoniae</i> proteoglycana 1,125 mg v 500 mg (1 sáček) zrněného prášku (granulí)	Ribomunyl je určen k prevenci u osob trpících opakovanými infekty dýchacího ústrojí a jejich komplikacemi. Je vhodný v případech recidivujících infekcí v oblasti ušní, nosní, krční, u opakovaných tracheitid a laryngitid, bronchitid a pneumonií. Rovněž u osob s astmatem bronchiale (snižuje intenzitu a frekvenci záchvatů). Lék mohou užívat dospělí, dospívající a děti, lépe starší jednoho roku	Jeden sáček/tableta denně ráno na lačno, zapít vodou. 1. měsíc po dobu prvních 3 týdnů vždy 4 po sobě jdoucí dny, 4. týden bez podání. Následujících 5 měsíců vždy 4 po sobě jdoucí dny v měsíci 1 sáček/tableta ráno na lačno
Urovaxom	Lysatum <i>Escherichiae coli</i> cryodesiccatum 6 mg v 1 tvrdé tobolce	Prevence opakujících se infekcí močových cest. Podpůrná léčba při akutní infekci močových cest	Preventivní podávání: 1 tobolka denně, nejlépe ráno nalačno po dobu 3 měsíců Akutní infekce močových cest: 1 tobolka denně, nejlépe ráno nalačno, jako přídatná léčba při antibakteriální terapii, podává se do vymizení příznaků, minimálně 10 dní

účinku zprostředkovaném v prvním kroku dendritickými buňkami a makrofágy, které svým přímým působením nebo cytokinovou produkcí ovlivňují jak buňky nežádoucí, tak ostatní složky imunity. Glukany, resp. houby, které je produkuje, užívá tradiční japonská medicína empiricky – houba šitake (*Lentinus edodes*) obsahuje glukán zvaný lentinan. Možnost terapeutického použití je předpokládána více než 20 let (22). Nicméně dosavadní písemnictví přineslo spíše případové studie, např. (23) a minimum zpráv o větších souborech léčených pacientů (24). Přitom glukany mají rovněž radioprotektivní (25), antigenotoxický (26) nebo hemopoetický (27) efekt, jenž zvyšuje jejich terapeutický potenciál.

Ke glukanovým preparátům podávaným perorálně se obrací pozornost až v poslední době – dříve byly považovány za málo účinné (28). Nyní byl efekt prokázán (29), hledá se a nachází jejich místo v podpůrné onkologické léčbě, např. hepatocelulárního karcinomu (30), rakoviny pankreatu (31) nebo kolorektálního karcinomu (32). Účinek těchto preparátů je dán speciální lékovou formou – velmi jemnou disperzí.

Další možná aplikace glukanu směřuje do alergologie. Bylo prokázáno, že pokud glukany reagují s dendritickými buňkami a makrofágy, pak je stimulována část imunitního systému kontrolovaná lymfocyty T_H1. Tyto lymfocyty podporují mj. protinádorovou a protivirovou rezistenci a rovněž antagonizují větev imunity řízenou buňkami T_H2, jejichž zvýšená aktivita stojí mj. za alergickými reakcemi. Stimulací buněk T_H1 lze dosáhnout tlumení alergických obtíží. Z této úvahy vyplývá snaha využít glukany pro léčbu alergií, konkrétně při sezónní rýmě (33, 34).

V současné době není bohužel registrován žádný glukanový preparát jako lék, v zahraničí jsou registrované přípravky, např. TIANDIXIN®. Jde o lentinan určený k podpůrné léčbě v onkologii. Existují potravní doplňky obsahující glukany. Jako přirozený zdroj glukanu jsou doporučovány houby, např. šitake nebo hlíva ústřední.

Polybakteriální imunomodulátory

Bakterie byly historicky druhým typem mikroorganismů (první byly viry při Jennerově vakcinaci koncem 18. století), použitým cíleně

k modulaci imunity (očkovací látka proti antraxu zavedená Pasteurem 1881). Bakteriální vakcíny slouží dosud výborně k prevenci určitých nemocí, jejich efekt je specifický, např. očkování proti meningokoku typu A nechrání proti typu B. Mnohé chorobné stavy mají polymikrobní příčinu, např. faryngitida začíná většinou jako virová infekce následovaná bakteriózou způsobenou často vlastními, oportunními bakteriemi. Občasnou epizodu chápeme zejména u dětí jako běžný jev, často opakované či chronické infekce horních cest dýchacích (IHCD) se řeší antibiotiky, jejichž pozitivní efekt nebývá trvalý, je-li vůbec jaký. Slizniční rezistence pacienta selhává, posílení (lokální) imunity je žádoucí. Preparáty určené k tomuto účelu byly připravovány zprvu jako tzv. autovakcíny – jde vlastně o očkovací látku z mikrobů, které byly získány od pacienta a byly považovány za příčinu jeho obtíží, jednak infekčních, jednak alergických, v nichž vlastní mikrob hrál roli alergenu (35). Předpokládalo se, že účinek je specifický, založený na sekrečních protilátkách třídy IgA. Připravovaly se i vakcíny ze směsí bakterií (36).

Tabulka 2. Vybrané polybakteriální imunomodulátory jako potravní doplňky – údaje zpracovány dle informací na webu

preparát	složení	indikace	dávkování
Candivac	1 kapsle obsahuje 5 mg aktivní substance, připravené lyofilizací inaktivovaných mikroorganismů <i>Candida albicans</i> (CCM 8355) 0,83 mg, <i>Candida krusei</i> (CCM 8357) 0,83 mg, <i>Candida glabrata</i> (CCM 8356) 0,83 mg, <i>Propionibacterium acnes</i> (CCM 7083) 2,50 mg	Přípravek CANDIVAC příznivě ovlivňuje imunitní systém a napomáhá zvyšování obranyschopnosti organismu, zvláště vaginální sliznice	1 kapsle denně, nejlépe na lačno po dobu 10 dní, poté 20 dní vynechat a opět užívat 1 kapsli denně po dobu 10 dní, následně opět 20 dní vynechat a opět užívat 1 kapsli denně po dobu 10 dní Po ukončení tohoto základního cyklu užívání přípravku Candivac je možno v tomto dávkování po opětovné 20denní přestávce pokračovat Po konzultaci s lékařem lze pro docílení dlouhodobějšího efektu přípravek užívat i vícekrát ročně
Acnevac	1 kapsle obsahuje 5 mg aktivní substance, připravené lyofilizací inaktivovaných mikroorganismů <i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 7587), <i>Staphylococcus epidermidis</i> (CCM 7588), <i>Propionibacterium acnes</i> (CCM 7083)	Přípravek ACNEVAC příznivě ovlivňuje imunitní systém a napomáhá zvyšování celkové obranyschopnosti organismu, zvláště kůže	1 kapsle denně, nejlépe na lačno po dobu 10 dní, poté 20 dní vynechat a opět užívat 1 kapsli denně po dobu 10 dní, následně opět 20 dní vynechat a opět užívat 1 kapsli denně po dobu 10 dní Po ukončení tohoto základního cyklu užívání přípravku ACNEVAC je možno v tomto dávkování po opětovné 20denní přestávce pokračovat. Po konzultaci s lékařem lze k docílení dlouhodobějšího efektu preparát užívat i vícekrát ročně
Olimunovac	1 kapsle obsahuje 9 mg aktivní substance, připravené lyofilizací inaktivovaných mikroorganismů: 1 kapsle obsahuje 9 mg aktivní substance, připravené lyofilizací inaktivovaných mikroorganismů: <i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 7587), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (CCM 7589), <i>Propionibacterium acnes</i> (CCM 7083)	Přípravek OLIMUNOVAC příznivě ovlivňuje imunitní systém a napomáhá zvyšování celkové obranyschopnosti organismu, zvláště dýchacích cest Přípravek OLIMUNOVAC lze s výhodou použít jako součást opatření k posílení imunity v obdobích zvýšeného výskytu infekcí dýchacích cest	Základní kúra – 4 pětidenní cykly podávání 1 kapsle denně, nejlépe ráno na lačno s pětidenními přestávkami, po 25 dnech přestávky 2 udržovací pětidenní cykly s 25denní přestávkou Po ukončení tohoto základního cyklu užívání přípravku OLIMUNOVAC je možno v tomto dávkování po opětovné 25denní přestávce pokračovat. Po konzultaci s lékařem lze k docílení dlouhodobějšího efektu preparát užívat i vícekrát ročně
Dentivac plus	1 tableta obsahuje 10 mg aktivní substance, připravené lyofilizací inaktivovaných mikroorganismů <i>Streptococcus mutans</i> (CCM 7533), <i>Actinomyces viscosus</i> (CCM 7536), <i>Porphyromonas gingivalis</i> (CCM 7537), <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (CCM 7604), <i>Propionibacterium acnes</i> (CCM 7083)	Přípravek DENTIVAC PLUS příznivě ovlivňuje imunitní systém, napomáhá zvyšování obranyschopnosti celého organismu a navození fyziologického stavu imunity dutiny ústní	1 tableta denně, nejlépe ráno po jídle a po vyčištění chrupu po dobu 10 dní, poté 20 dní vynechat a opět užívat 1 tabletu denně po dobu 10 dní, následně opět 20 dní vynechat a opět užívat 1 tabletu denně po dobu 10 dní. Tabletou nechat volně rozpustit v ústech (doporučuje se 3–5 min.) a dokonale sliny s rozpuštěným přípravkem několikrát proválet v celé dutině ústní Po ukončení tohoto základního cyklu užívání přípravku DENTIVAC PLUS je možno v tomto dávkování po opětovné 20denní přestávce pokračovat. Pro docílení dlouhodobého efektu doporučujeme využívat nejméně 1 balení ročně. U osob s dlouholetými potížemi lze kúru aplikovat i několikrát ročně na doporučení lékaře

K zajímavým zjištěním patřil fakt, že protektivní účinky měly polybakteriální vakcíny nejen u pacientů, jejichž mikroby obsahovaly, ale působily i na jiné osoby. Předpokládala se zkřížená reaktivita, resp. sdílení určitých antigenních struktur vakcíny a bakterií ostatních léčených osob. Tak vznikl koncept polyvalentních bakteriálních lyzátů – imunomodulátorů (PBIM). Jedním z prvních (37) byl přípravek OM-85, který obsahoval materiál z 8 druhů šetrně usmrčených bakterií, které nejčastěji působí respirační infekce. Vedle polybakteriálních byly zavedeny i monobakteriální přípravky (38), u nichž byly značné pochyby o specifickém účinku. Rozpaky působily preparáty založené na ribosomech bakterií (39), neboť nukleové kyseliny nebyly považovány za účinné imunogeny.

Zpočátku provázela používání PBIM skepse, bylo pochybováno, zda se složky přípravku po p. o. podání vůbec dostanou k imunocytům, a pokud ano, zda jimi vyvolaný efekt bude dostateč-

ný při ochraně daného pacienta, jehož bakterie se nejspíš antigenně liší od těch v přípravku. Někteří kolegové zůstali rezervovaní k podávání PBIM doposud. Většina informací o imunostimulačních aktivitách PBIM pocházela buď z pokusů *in vitro*, nebo po injekčním podání, tedy z jiných aplikačních způsobů, než které měly preparáty na trhu.

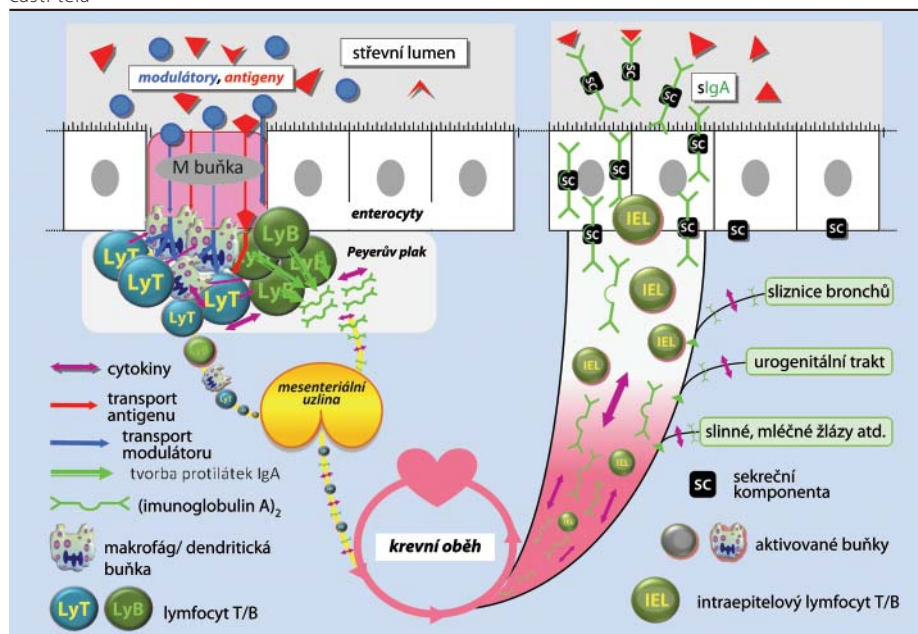
Z dnešního pohledu již dokážeme vysvětlit a pochopit působení PBIM. Při perorálním podání je známa cesta imunomodulačních molekul ze střevního obsahu k lymfoidní tkáni – přenos zajišťují tzv. M buňky, které jsou vmezeřeny ve střevním epitelu, zachytávají mikrobiální fragmenty, tedy i PBIM. M buňky komunikují s buňkami Peyerových plátů, v nichž dochází k reakci na látky přenesené ze střevního lumen.

Efekt zprostředkovaný dle dnešních poznatků reakcí PAMP z modulátorů s PRR na buňkách střevní lymfatiky je doložen řadou preklinických studií dokládajících systémový účinek PBIM

po p. o. aplikaci (40, 41). Po orální aplikaci zvířatům byla zjištěna řada změn na úrovni cytokinů, buněčné kinetiky nebo tvorby protilátek. Uvedme např. zvýšení produkce interferonu gama a útlum tvorby IL-4, což naznačuje posun od proalergického k normálnímu vztahu T_H1 a T_H2 lymfocytů (40, 42, 43). PBIM mohou stimulovat tvorbu imunocytů v kostní dřeni (44), tvorbu prozánětových cytokinů (45) nebo aktivovat lymfocyty B (46), resp. specifickou protilátkovou odpověď jak na antigeny imunomodulátorů, tak na další antigeny, s nimiž byl organismus konfrontován v době aplikace modulátoru (41, 47). Zkrátka, PBIM mají potenciál stimulovat přirozenou i specifickou imunitu proti patogenům daného pacienta.

Lymfatická tkáň střeva komunikuje prostřednictvím informačních molekul a migrujících buněk s ostatními kompartmenty, takže perorální stimulace se promítne i do zvýšené rezistence respiračního nebo urogenitálního traktu, zvýšená

Obrázek 1. Představa o působení imunomodulátorů ve střevě a šíření jejich účinku do ostatních částí těla



pohotovost k odpovědi na patogeny je tedy i v místech, kam modulatory nebyly aplikovány.

Pokud jde o klinický efekt PBIM, je k dispozici řada studií včetně jejich metaanalýzy (48), které pozitivní terapeutický efekt dokládají. Ovšem i autoři těchto studií žádají kvalitnější, dvojité zaslepené, multicentrické studie pro potvrzení naznačených účinků (49). Některé studie se opírají o změny frekvence respiračních infekcí, jiné efekt dokládají i zlepšenými laboratorními nálezy, např. zvýšená tvorba imunoglobulinů, včetně slizničního IgA (50). Stejný efekt na slizniční IgA, jakož i vyšší proliferační aktivitu lymfocytů, zaznamenali autoři další studie testující jiný PBIM (51).

Setkáme se i s kritickým pohledem na účinek PBIM (52). Nelze nalézt výsledky studií, které účinek PBIM neprokazují – buď takové studie nejsou, nebo nemusely být uveřejněny.

Původní a dodnes hlavní indikací PBIM byla prevence respiračních (37, 49, 53–56) a močových infekcí (57–59). K dalším indikacím patří mírnění alergických obtíží (60) nebo zánětů ústní sliznice a parodontu (51).

Shrňme-li problematiku PBIM, pak je řada údajů potvrzujících terapeutický potenciál v naznačených indikacích. Vzhledem k tomu, že imunita každého člověka je jiná, má rozdílný genetický základ, jinou historii i aktuální stav, nelze předpokládat uniformní účinky těchto látek. Pozitivní účinek léčby má smysl hodnotit klinicky, laboratorní parametry vypovídající o efektu léčby jsou obtížně posouditelné. Výběr určitého preparátu pro daného pacienta nelze opřít o srovnávací studie, protože takové nejsou

dostupné. Přehled preparátů registrovaných v ČR včetně indikací a dávkovacích schémat je v tabulce 1, potravní doplňky v tabulce 2.

Literatura

1. Ariga T. Gene therapy for primary immunodeficiency diseases: recent progress and misgivings. *Curr Pharm Des.* 2006; 12: 549–556.
2. Berman JG, Arita I. The confirmation and maintenance of smallpox eradication. *N Engl J Med.* 1980; 303: 1263–1273.
3. Obregon R, Chitnis K, Morry C, Feek W, Bates J, Galway M, Ogden E. Achieving polio eradication: a review of health communication evidence and lessons learned in India and Pakistan. *Bull WHO.* 2009; 87: 624–630.
4. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol.* 1994; 12: 991–1045.
5. Chedid L, Lamensans A, Parant F, Parant M, Adam A, Petit JF, Lederer E. Protective effects of delipidated mycobacterial cells and purified cell walls against Ehrlich carcinoma and a syngeneic lymphoid leukemia in mice. *Cancer Res.* 1973; 33: 2187–2195.
6. Conti-Freitas LC, Foss-Freitas MC, Mamede RCM, Foss NT. Effect of BCG stimulus on proinflammatory cytokine production in laryngeal cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2009; 58: 25–29.
7. Bottomley A, Debruyne C, Felip E, Millward M, Thiberville L, D'Addario G, Rome L, Zatlouk P, Coens C, Giaccone G. Symptom and quality of life results of an international randomized phase III study of adjuvant vaccination with BCG in responding patients with limited disease small-cell lung cancer. *Eur J Cancer.* 2008; 44: 2178–2184.
8. Uyl-de Groot CA, Vermorken JB, Hanna MG, Jr, Verboom P, Groot MT, Bonsel GJ, Meijer CJLM, Pinedo HM. Immunotherapy with autologous tumor cell-BCG vaccine in patients with colon cancer: a prospective study of medical and economic benefits. *Vaccine.* 2005; 23: 2379–2387.
9. Parant M, Parant F, Vinit MA, Jupin C, Noso Y, Chedid L. Priming effect of muramyl peptides for induction by lipopolysaccharide of tumor necrosis factor production in mice. *J Leukocyt Biol.* 1990; 47: 164–169.
10. Darciass EC, Bahr GM, Pouillart PR, Riveau GJ, Parant MA. Selective potentiation of cytokine expression in human who-

le blood by murabutide, a muramyl dipeptide analogue. *Cytokine.* 1996; 8: 658–666.

11. Yang S, Tamai R, Akashi S, Takeuchi O, Akira S, Sugawara S, Takada H. Synergistic effect of muramyl dipeptide with lipopolysaccharide or lipoteichoic acid to induce inflammatory cytokines in human monocytic cells in culture. *Infect Immun.* 2001; 69: 2045–2053.
12. Asano T, McIntyre BW, Bednarczyk JL, Wygant JN, Kleiner ES. Liposomal muramyl tripeptide upregulates adhesion molecules on the surface of human monocytes. *Oncol Res.* 1995; 7: 253–257.
13. Galligioni E, Favaro D, Santarosa M, Quaia M, Spada A, Freschi A, Alberti D. Induction and maintenance of monocyte cytotoxicity during treatment with liposomes containing muramyl tripeptide despite tachyphylaxis to the cytokine response. *Clin Cancer Res.* 1995; 1: 493–499.
14. Sosnowska D, Mysliwski A, Dzierzbicka K, Kolodziejczyk AM. The in vitro effect of new muramyl peptide derivatives on cytotoxic activity of NK (natural killer) cells from hamsters bearing Ab Bomirski melanoma. *Biotherapy.* 1997; 10: 161–168.
15. Athie-Morales V, O'Connor GM, Gardiner CM. Activation of human NK cells by the bacterial pathogen-associated molecular pattern muramyl dipeptide. *J Immunol.* 2008; 180: 4082–4089.
16. Hornung RL, Longo DL, Gowda VL, Kwak LW. Induction of a CD8+ cytotoxic T lymphocyte response to soluble antigen given together with a novel muramyl dipeptide adjuvant, N-acetyl-D-glucosaminyl-(beta 1-4)-N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine (GMDP). *Therap Immunol.* 1995; 2: 7–14.
17. Tamura M, Yoo YC, Yoshimatsu K, Yoshida R, Oka T, Ohkuma K, Arikawa J, Azuma I. Effects of muramyl dipeptide derivatives as adjuvants on the induction of antibody response to recombinant hepatitis B surface antigen. *Vaccine.* 1995; 13: 77–82.
18. Anonym. Mifamurtide: CGP 19835, CGP 19835A, L-MTP-PE, liposomal MTP-PE, MLV 19835A, MTP-PE, muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine. *Drugs R D.* 2008; 9: 131–135.
19. Meyers PA. Muramyl tripeptide (mifamurtide) for the treatment of osteosarcoma. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2009; 9: 1035–1049.
20. Amati L, Pepe M, Passeri ME, Mastronardi ML, Jirillo E, Coviello V. Toll-like receptor signaling mechanisms involved in dendritic cell activation: potential therapeutic control of T cell polarization. *Curr Pharm Des.* 2006; 12: 4247–4254.
21. van Bruggen R, Drewniak A, Jansen M, van Houdt M, Roos D, Chapel H, Verhoeven AJ, Kuijpers TW. Complement receptor 3, not Dectin-1, is the major receptor on human neutrophils for beta-glucan-bearing particles. *Mol Immunol.* 2009; 47: 575–581.
22. Kimura Y, Tojima H, Fukase S, Takeda K. Clinical Evaluation of Sizofilan as Assistant Immunotherapy in Treatment of Head and Neck Cancer. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1994; 192–195.
23. Mashiko H, Satoh J, Hatayama H, Kitamura H. A case of advanced gastric cancer with liver metastasis completely responding to a combined immunotherapy with UFT, mitomycin C and lentinan. *Gan to Kagaku Ryoho (Jap J Cancer Chemother)* 1992; 19: 715–718.
24. Suto T, Fukuda S, Moriya N, Watanabe Y, Sakaki D, Yoshida Y, Sakata Y. Clinical study of biological response modifiers as maintenance therapy for hepatocellular carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1994; 33(Suppl): S145–S148.
25. Gu Y-H, Takagi Y, Nakamura T, Hasegawa T, Suzuki I, Oshima M, Tawaraya H, Niwano Y. Enhancement of radioprotection and anti-tumor immunity by yeast-derived beta-glucan in mice. *J Med Food.* 2005; 8: 154–158.
26. Tohamy AA, El-Ghor AA, El-Nahas SM, Noshay MM. Beta-glucan inhibits the genotoxicity of cyclophosphamide, adriamycin and cisplatin. *Mut Res.* 2003; 541: 45–53.

27. Patchen ML, Vaudrain T, Correia H, Martin T, Reese D. In vitro and in vivo hematopoietic activities of Betafectin PGG-glucan. *Exp Hematol*. 1998; 26: 1247–1254.
28. Dritz SS, Shi J, Kielian TL, Goodband RD, Nelssen JL, Tokach MD, Chengappa MM, Smith JE, Blecha F. Influence of dietary beta-glucan on growth performance, nonspecific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs. *J Animal Sci*. 1995; 73: 3341–3350.
29. Rice PJ, Adams EL, Ozment-Skelton T, Gonzalez AJ, Goldman MP, Lockhart BE, Barker LA, Breuel KF, Deponti WK, Kalbfleisch JH, et al. Oral delivery and gastrointestinal absorption of soluble glucans stimulate increased resistance to infectious challenge. *J Pharmacol Experiment Therap*. 2005; 314: 1079–1086.
30. Isoda N, Eguchi Y, Nukaya H, Hosho K, Suga Y, Suga T, Nakazawa S, Sugano K. Clinical efficacy of superfine dispersed lentinan (beta-1,3-glucan) in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepato-Gastroenterology* 2009; 56: 437–441.
31. Shimizu K, Watanabe S, Watanabe S, Matsuda K, Suga T, Nakazawa S, Shiratori K. Efficacy of oral administered superfine dispersed lentinan for advanced pancreatic cancer. *Hepato-Gastroenterology* 2009; 56: 240–244.
32. Hazama S, Watanabe S, Ohashi M, Yagi M, Suzuki M, Matsuda K, Yamamoto T, Suga Y, Suga T, Nakazawa S, et al. Efficacy of orally administered superfine dispersed lentinan (beta-1,3-glucan) for the treatment of advanced colorectal cancer. *Anticancer Res* 2009; 29: 2611–2617.
33. Yamada J, Hamuro J, Hatanaka H, Hamabata K, Kinoshita S. Alleviation of seasonal allergic symptoms with superfine beta-1,3-glucan: a randomized study. *J Allerg Clin Immunol*. 2007; 119: 1119–1126.
34. Kirmaz C, Bayrak P, Yilmaz O, Yuksel H. Effects of glucan treatment on the Th1/Th2 balance in patients with allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled study. *Eur Cytokine Netw*. 2005; 16: 128–134.
35. Dolezalova K, Kuralova Z. Bacterial autovaccine therapy in children with respiratory allergy in early childhood. *Sb Ved Pr Lek Fak Karlovy Univerzity Hradci Kralove Suppl*. 1976; 19: 599–601.
36. Riglova J, Jirkal J. Preliminary experiences with the combined autovaccine and polyvalent vaccine. *Sb Ved Pr Lek Fak Karlovy Univerzity Hradci Kralove*. 1968; 11: 659–664.
37. Debbas N, Derenne JP. Preventive effects of an immunostimulating product on recurrent infections of chronic bronchitis in the elderly. *Lung* 1990; 168(Suppl): 737–740.
38. Idohou N, Couderc R, Rocharveiller M, Tallet F, Giroud JP, Raichvarg D. The Immunomodulating Agent RU 41740 Complexed with Very-Low-Density Lipoproteins Enhances Human Polymorphonuclear Neutrophil Oxidative Metabolism In vitro. *Pharmacology* 1993; 46: 341–345.
39. HbabiHaddioui L, Roques C. Inhibition of *Streptococcus pneumoniae* adhesion by specific salivary IgA after oral immunisation with a ribosomal immunostimulant. *Drugs* 1997; 54: 29–32.
40. Nimier K, Wolff F, Allouch PY, Guy-Grand D, Bloy C. Protective effects of RU 41740, a bacterial immunomodulator, against experimental infections: induction of cytokine and immunoglobulin release in mice after oral administration. *Int J Immunopharmacol*. 1999; 21: 561–574.
41. Mimouni J, Ramsteiner A, Fontanges R. In vivo study of the immunomodulating activity of OM-85 using the plaque-forming cells technique (PFC) in mice. *Int J Immunopharmacol*. 1995; 17: 787–792.
42. Huber M, Mossmann H, Bessler WG. Th1-orientated immunological properties of the bacterial extract OM-85-BV. *Eur J Med Res*. 2005; 10: 209–217.
43. Nikolova M, Stankulova D, Taskov H, Nenkov P, Maximov V, Petrunov B. Polybacterial immunomodulator Respivax restores the inductive function of innate immunity in patients with recurrent respiratory infections. *Internat Immunopharmacol*. 2009; 9: 425–432.
44. Aloui R, Gormand F, Guibert B, Corallo F, Fayolle MP, Pacheco Y. RU 41740 (Biostim (R)) stimulates the production of granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-8 by human bronchial epithelial cells in vitro. *Gen Pharmacol*. 1996; 27: 1351–1353.
45. Keul R, Roth M, Papakonstantinou KE, Nauck M, Perruchoud AP, Block LH. Induction of interleukin 6 and interleukin 8 expression by Broncho-Vaxom (OM-85 BV) via C-Fos/serum responsive element. *Thorax* 1996; 51: 150–154.
46. Lanzilli G, Falchetti R, Cottarelli A, Macchi A, Ungheri D, Fuggetta MP. In vivo effect of an immunostimulating bacterial lysate on human B lymphocytes. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2006; 19: 551–559.
47. Portales P, Clot J. Immunostimulants revisited: focus on the pharmacology of Ribomunyl. *Biodrugs* 2006; 20: 81–84.
48. Berber A, Del-Rio-Navarro B. Compilation and meta-analysis of randomized placebo-controlled clinical trials on the prevention of respiratory tract infections in children using immunostimulants. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2001; 11: 235–246.
49. Del-Rio-Navarro BE, Espinosa Rosales F, Flenady V, Sienra-Monge JLL. Immunostimulants for preventing respiratory tract infection in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006; CD004974.
50. Tricarico D, Varricchio A, D'Ambrosio S, Ascione E, Motta G. Prevention of recurrent upper respiratory tract infections in a community of cloistered nuns using a new immunostimulating bacterial lysate. A randomized, double-blind clinical trial. *Arzneimittel-Forschung* 2004; 54: 57–63.
51. Petrunov B, Marinova S, Markova R, Nenkov P, Nikolaeva S, Nikolova M, Taskov H, Cvetanov J. Cellular and humoral systemic and mucosal immune responses stimulated in volunteers by an oral polybacterial immunomodulator „Dentavax”. *Int Immunopharmacol*. 2006; 6: 1181–1193.
52. Steurer-Stey C, Lagler L, Straub DA, Steurer J, Bachmann LM. Oral purified bacterial extracts in acute respiratory tract infections in childhood: a systematic quantitative review. *Eur J Pediatr*. 2007; 166: 365–376.
53. Gutierrez-Tarango MD, Berber A. Safety and efficacy of two courses of OM-85 BV in the prevention of respiratory tract infections in children during 12 months. *Chest* 2001; 119: 1742–1748.
54. Bellanti J, Olivieri D, Serrano E. Ribosomal immunostimulation: assessment of studies evaluating its clinical relevance in the prevention of upper and lower respiratory tract infections in children and adults. *Biodrugs* 2003; 17: 355–367.
55. Soler M, Mutterlein R, Cozma G, Swiss-German OMSG. Double-blind study of OM-85 in patients with chronic bronchitis or mild chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 2007; 74: 26–32.
56. Rozy A, Chorostowska-Wynimko J. Bacterial immunostimulants – mechanism of action and clinical application in respiratory diseases. *Pneumonol Alergol Pol*. 2008; 76: 353–359.
57. Bauer HW, Alloussi S, Egger G, Blumlein HM, Cozma G, Schulman CC, Multicenter UTISG. A long-term, multicenter, double-blind study of an *Escherichia coli* extract (OM-89) in female patients with recurrent urinary tract infections. *Eur Urol*. 2005; 47: 542–548.
58. Schulman CC, Corbusier A, Michiels H, Taenzer HJ. Oral Immunotherapy of Recurrent Urinary Tract Infections – A Double-Blind Placebo-Controlled Multicenter Study. *J Urol*. 1993; 150: 917–921.
59. Ha US, Cho Y-H. Immunostimulation with *Escherichia coli* extract: prevention of recurrent urinary tract infections. *International J Antimicrob Agent*. 2008; 31(Suppl 1): S63–67.
60. Banche G, Allizond V, Mandras N, Garzaro M, Cavallo GP, Baldi C, Scutera S, Musso T, Roana J, Tullio V, et al. Improvement of clinical response in allergic rhinitis patients treated with an oral immunostimulating bacterial lysate: in vivo immunological effects. *International J Immunopathol Pharmacol*. 2007; 20: 129–138.

PharmDr. Petr Jílek, CSc.

Katedra biologických a lékařských věd
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Univerzita Karlova v Praze
Heyrovského 1203,
500 05 Hradec Králové
jilek@faf.cuni.cz

