

Wojciech Feleszko

Klinika Pneumonologii i Alergologii Wieku Dziecięcego, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Nieswoista stymulacja odporności w leczeniu i zapobieganiu infekcjom wirusowym – nowości 2022

Non-specific immune stimulation in the treatment and prevention of viral infections. Highlights of 2022

Streszczenie

Pandemia koronawirusa spowodowała zainteresowanie metodami nieswoistej stymulacji odporności, a dane epidemiologiczne wykazujące niski poziom zachorowań lub bezobjawowy przebieg zakażenia wśród dzieci w wieku przedszkolnym wskazują na możliwości, jakie daje trenowana odporność śluzówkowa w ochronie przed wirusami oddechowymi.

W minionym roku ukazało się wiele publikacji z zastosowaniem lizatów bakteryjnych, czyli preparatów immunostymulujących, zawierających fragmenty drobnoustrojów. W badaniach *in vitro* wykazano działanie immunostymulujące i ochronne lizatów bakteryjnych (w tym OM-85) wobec śluzówki układu oddechowego. Działanie tych leków miało dodatkowy korzystny efekt polegający na zmniejszeniu antybiotykoterapii stosowanej w zakażeniach układu oddechowego. Okres pandemii zaowocował ogromną aktywnością naukową w zakresie możliwych strategii immunomodulacyjnych w odniesieniu do wirusów oddechowych. Znaczący efekt prewencyjny i przeciwwirusowy przypisuje się stymulacji z użyciem antygenów bakteryjnych przyjmowanych drogą doustną (lizatów bakteryjnych).

Słowa kluczowe

SARS-CoV-2, odporność trenowana, odporność nieswoista, antybiotyki, lizat bakteryjny, OM-85

Abstract

The coronavirus pandemic has sparked interest in non-specific immune stimulation methods. Epidemiological data show a low incidence or asymptomatic course of SARS-CoV-2 infection among preschool children, indicating a potential for trained mucosal immunity to protect against respiratory viruses.

Several publications published last year have shown the potential immunomodulatory properties of bacterial lysates. Most *in vitro* studies demonstrate immunostimulatory and protective effects of bacterial lysates (including OM-85) in respiratory tract mucosa and enhanced resistance against respiratory viruses. Interestingly, these drugs exert an additional beneficial effect by reducing the need for antibiotic therapy in respiratory infections.

In conclusion, the pandemic resulted in tremendous scientific activity on possible immunomodulatory strategies against respiratory viruses. A significant preventive and antiviral effect has been attributed to the use of orally delivered bacterial preparations, i.e. bacterial lysates.

Key words

SARS-CoV-2, trained immunity, non-specific immunity, antibiotics, bacterial lysate, OM-85

Okres pandemii wirusa SARS-CoV-2 przyniósł światu naukowemu bezprecedensowe zainteresowanie zagadnieniami wirusologii, epidemiologii oraz immunologii. Badacze w większości ośrodków na świecie rozpoczęli wyścig, mający początkowo na celu identyfikację genomu wirusa, następnie jego biologii i specyfiki odpowiedzi immunologicznej gospodarza, aż wreszcie – wyalenie skutecznej, bezpiecznej i immunogennej szczepionki przeciwko pandemicznemu wirusowi. W tym samym czasie starano się zrozumieć istotę śluzówkowej odpowiedzi immunologicznej na wirusa SARS-CoV-2, jak również na inne sezonowe wirusy oddechowe, co zaowocowało odkryciem defektu odporności nieswoistej w obrębie szlaku zależnego od interferonów typu I i III, jako kluczowego czynnika ryzyka w ciężkim przebiegu zakażenia SARS-CoV-2 [1].

W niniejszym artykule przedstawię najważniejsze odkrycia z dziedziny immunologii ostatnich 2 lat oraz perspektywy stosowania nieswoistych stymulatorów odporności w celu ochrony przed wirusami oddechowymi, w tym sezonowymi rinowirusami, adenowirusami, wirusami paragrypy i grypy, RSV, a także wirusem SARS-CoV-2.

Struktura i funkcja układu odpornościowego związanego z błonami śluzowymi

Budowa i funkcja układu odpornościowego związanego z błonami śluzowymi opiera się na trzech filarach [2], które stanowią:

- integralność mechanicznej bariery nabłonkowej, dodatkowo wzmocnionej przez śluz zawierający immunoglobuliny IgA i inne cząsteczki antybakteryjne,
- rozbudowana sieć komórek odporności nieswoistej, złożonej z komórek zdolnych do eliminacji zakażeń (komórki NK, makrofagi, neutrofile, eozynofile), komórek wydzielających mediatory (komórki tuczne, bazofile, eozynofile) oraz komórek prezentujących antygen (komórki dendrytyczne i makrofagi),
- odporność swoista, będąca efektem skojarzonej operacji odporności komórkowej i humoralnej z udziałem limfocytów T i B, swoistych dla danego drobnoustroju.

Odporność nieswoista, do niedawna uważana za mniej skuteczną, stanowi pierwszą linię obrony i jej rola została dostrzeżona w obliczu zakażenia wirusem SARS-CoV-2. Dowiedziono bowiem, że dla skutecznej obrony przed zakażeniem wystar-

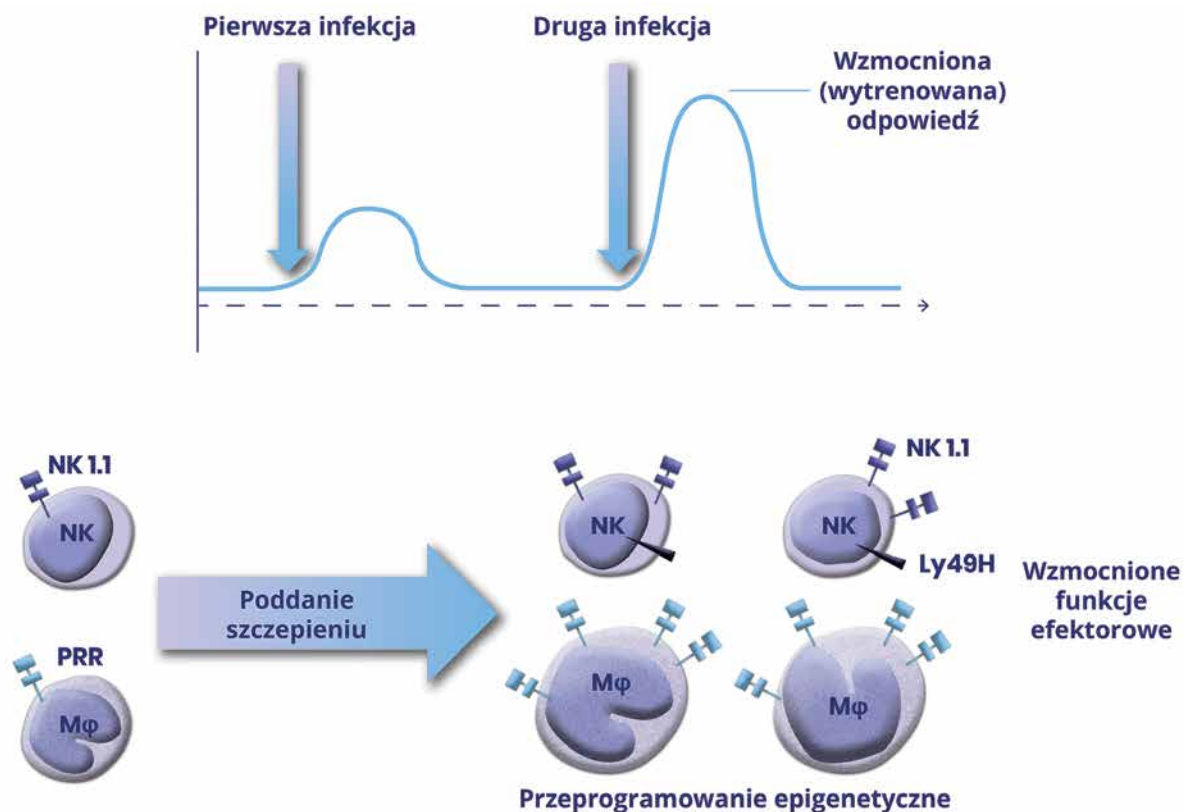
czą sprawne mechanizmy odporności nieswoistej, w szczególności szlak wydzielania interferonów typu I i III. Elementy odporności nieswoistej (wrodzonej), takie jak na przykład komórki dendrytyczne i makrofagi, rozpoznają patogeny za pomocą receptorów na powierzchni komórek. Prowadzi to do uruchomienia kaskad sygnalizacyjnych, których efektem jest odpowiedź zapalna prowadząca do eliminacji patogenu [3].

Mechanizmy odporności nieswoistej są wspomagane przez odporność swoistą (adaptacyjną), która korzysta z wcześniejszych sygnałów dostarczanych przez układ odporności nieswoistej [4]. Wskutek tego dochodzi do stopniowej aktywacji odpowiedzi immunologicznej swoistej, co wymaga czasu i znaczącego zaangażowania komórek obecnych w węzłach chłonnych. Odporność swoista charakteryzuje się nie tylko ogromną zdolnością rozpoznania i eliminacji każdego patogenu, jaki kiedykolwiek zetknie się z ludzkim układem odporności, ale przede wszystkim zdolnością do pamięci immunologicznej [5].

Trenowana odporność nieswoista

Największym odkryciem w immunologii ostatnich dwóch lat jest niewątpliwie odkrycie zjawiska trenowanej odporności nieswoistej [6]. Jest to zjawisko, w którym powtarzający się kontakt komórek odporności nieswoistej (komórek NK, makrofagów, komórek wielojądrzastych itd.) z antygenami wirusowymi lub bakteryjnymi nawet przy braku zakażenia prowadzi do długotrwałego przeprogramowania metabolicznego tych komórek i przełączenia ich w stan „wyższej aktywności” (ryc. 1). Nie oznacza to automatycznie reakcji i odpowiedzi immunologicznej, ale stan „przedalarmowy”, w którym pobudzone komórki łatwiej poradzą sobie z ewentualną przyszłą inwazją. Trenowana odporność wrodzona jest więc w pewnym sensie podobna do zjawiska pamięci immunologicznej odporności swoistej, z tą niewielką różnicą, że stan przeprogramowania może trwać kilka, kilkanaście tygodni [3].

W świetle aktualnych badań wytrenowana odporność wrodzona może również pomóc w ochronie przed nawracającymi infekcjami i w zmniejszeniu stanu zapalnego podczas prawdziwego zakażenia. Rola wytrenowanej odporności wrodzonej została zauważona w kontekście pandemii COVID-19, gdzie zaobserwowano, że u niektórych osób, w szczególności dzieci, wirus jest łatwo eliminowany w obrębie śluzówek dzięki pobudzonym mechanizmom odporności wrodzonej. Następnie okazało się, w badaniach *in vitro*, że eliminacja wirusa



Rycina 1. Mechanizm działania trenowanej odporności nieswoistej. Powtarzalne infekcje lub kontakt z antygenami drobnoustrojów powoduje zmiany epigenetyczne i zmiany w metabolizmie komórek odporności nieswoistej (na rycinie są to komórki NK i makrofagi), skutkiem czego wchodzi one na poziom wyższej aktywności i wykazują zwiększoną aktywność efektorową, polegającą na zabijaniu i wychwytywaniu drobnoustrojów

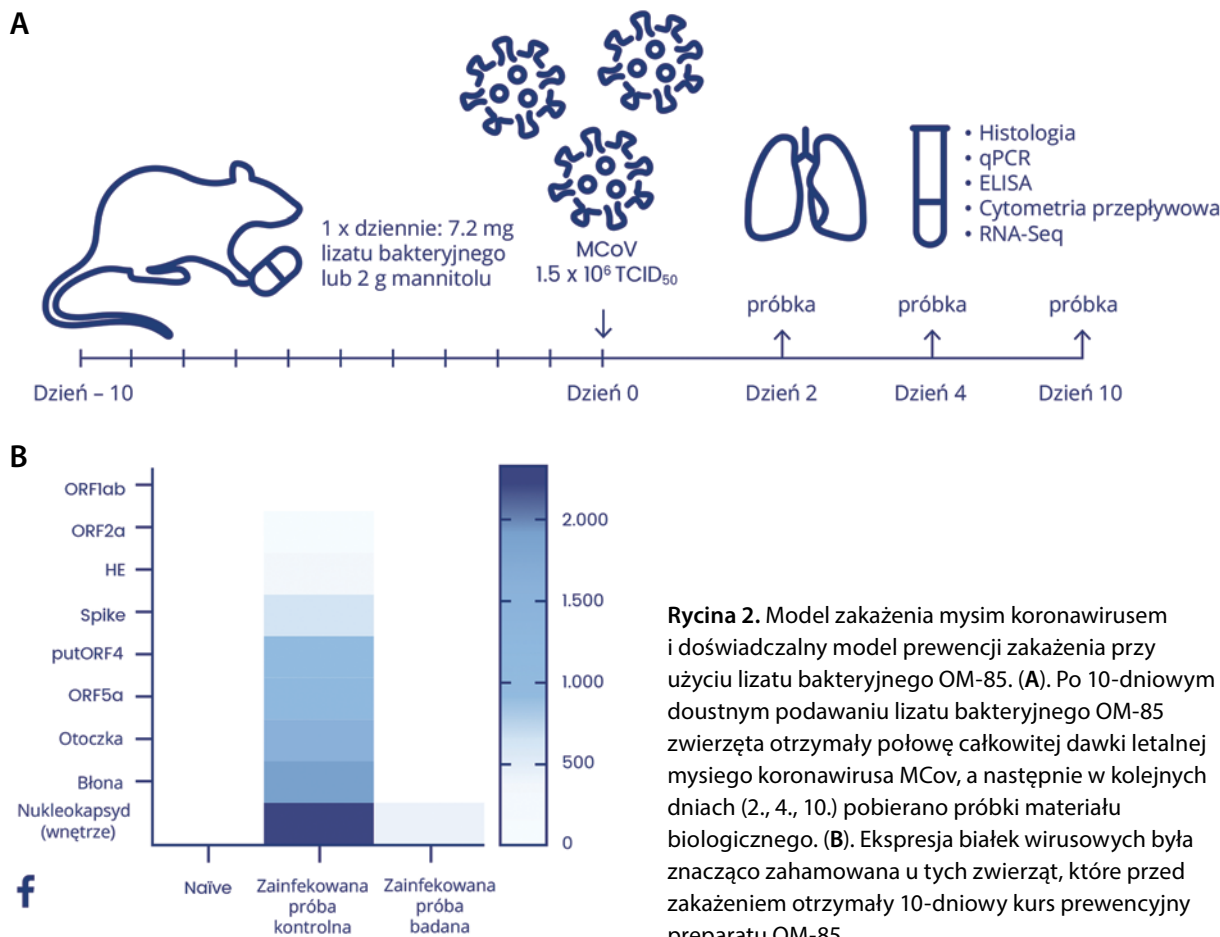
SARS-CoV-2 z zakażonych komórek przebiega sprawniej i skuteczniej po uprzedniej aktywacji komórek odporności nieswoistej [7]. Odkrycia te wprawdzie dzisiaj nie budzą już takich emocji w kontekście posiadania przez nas skutecznych szczepionek przeciwko COVID-19, jednakże wiedza na ten temat znacząco zmienia układ sił w walce z sezonowymi wirusami oddechowymi przy użyciu na przykład lizatów bakteryjnych.

Trenowana odporność nieswoista w modelu mysiego koronawirusa

Początkowe badania nad immunologią zakażenia wirusem SARS-CoV-2 i testowanie nowych układów terapeutycznych przeprowadzano w modelach zwierzęcych. Takim modelem jest model mysiego beta-koronawirusa, który podobnie jak u ludzi namnaża się w drogach oddechowych, wywołując u myszy śmiertelne zapalenie płuc (ryc. 2) [8]. W eksperymentalnej pracy Salzmanna i wsp. badano, w jaki sposób podawanie zwierzętom lizatu bakteryjnego (w tym wypadku użyto lizatu OM-85) odbija się na wrodzonej odpowiedzi immunologicznej w płucach oraz stopniu namnażania się koronawirusa. Przebieg zakażenia u myszy analizowano 2., 4.

i 10. dnia po zakażeniu, stwierdzając znaczące spowolnienie replikacji beta-koronawirusa u zwierząt, które otrzymały 10 dni przed zakażeniem doustne leczenie lizatem bakteryjnym. Zniszczenie tkanki płucnej, badane jako rozmiar apoptozy, czyli programowanej śmierci komórki, było znacząco mniejsze u leczonych zwierząt, a za korzystny efekt odpowiadał mechanizm odporności nieswoistej, w szczególności interferon typu I i aktywowane przez niego makrofagi. Wyniki te wskazują na to, że korzystny efekt przeciwwirusowy był zupełnie nieswoisty dla konkretnego typu wirusa, ale spowodowany był treningiem i aktywacją mechanizmów odporności nieswoistej, zależnych od interferonu I (ryc. 2).

Niemal jednocześnie ukazuje się inna praca, w podobnym modelu zakażenia dróg oddechowych – mysiej grypy A oraz w modelu dożylnego zakażenia drożdżakiem *Candida albicans*. W tym wypadku jednakże użyto innego lizatu bakteryjnego – MV130 – porównując go z leczeniem placebo. Badacze podawali lizat przez 3 kolejne tygodnie, a zakażenie wywołano dopiero w 4. tygodniu [9]. Stwierdzono znaczącą różnicę w stanie klinicznym i śmiertelności zwierząt w grupie leczonej lizatem. Mało tego, za korzystny efekt odpowiadały mechanizmy odpor-



Rycina 2. Model zakażenia mysim koronawirusem i doświadczalny model prewencji zakażenia przy użyciu lizatu bakteryjnego OM-85. (A). Po 10-dniowym doustnym podawaniu lizatu bakteryjnego OM-85 zwierzęta otrzymały połowę całkowitej dawki letalnej mysiego koronawirusa MCoV, a następnie w kolejnych dniach (2., 4., 10.) pobierano próbki materiału biologicznego. (B). Ekspresja białek wirusowych była znacząco zahamowana u tych zwierząt, które przed zakażeniem otrzymały 10-dniowy kurs prewencyjny preparatu OM-85

ności nieswoistej, wzmożona produkcja nieswoistych cytokin (IL-1, IL-6, TNF- α), a przede wszystkim aktywacja i przeprogramowanie metaboliczne makrofagów. Badanie to zostało bardzo starannie zaplanowane i przeprowadzone z użyciem wielu kontroli potwierdzających postawioną hipotezę [9]. Reasumując, lizaty bakteryjne wykazują korzystny nieswoisty efekt przeciwwirusowy, zależny od trenowanej odporności nieswoistej, w szczególności aktywnych makrofagów.

Lizat bakteryjny i ekspresja receptorów dla SARS-CoV-2 oraz innych wirusów

We wcześniejszych badaniach wykazano, że lizaty bakteryjne charakteryzują się zmniejszeniem ryzyka zakażenia wirusowego w obrębie nabłonka [10]. Efekt ten był zależny od zmniejszenia ilości (ekspresji) receptora ICAM-1 na komórkach nabłonka, będącego receptorem wejścia dla rinowirusa. Warto zauważyć, że mechanizm ten obrazuje uruchomienie funkcji obronnych samego nabłonka, co jest dodatkowym mechanizmem uzupełniającym immunomodulacyjne działanie lizatów bakteryjnych [10].

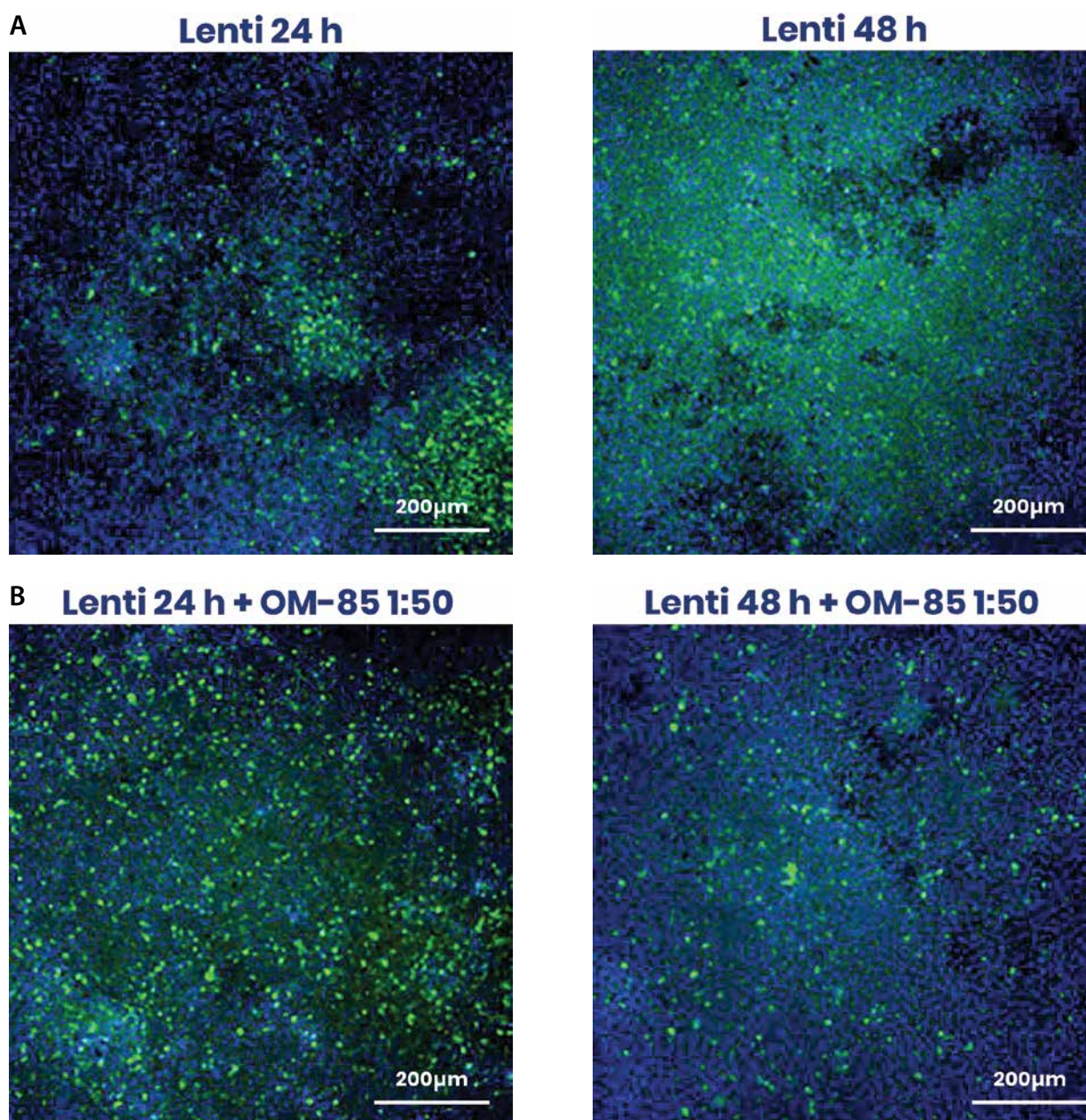
W eksperymencie, jakie przeprowadzono w minionym roku, analizowano ponownie funkcje obronne nabłonka polegające na unikaniu wnikania wirusa przez receptor powierzchniowy, tyle że w odniesieniu do wirusa SARS-CoV-2. W tym celu badacze szwajcarscy wykonali eksperymenty w hodowlach ludzkich komórek nabłonka oskrzeli, które były ekspozowane na wirusa SARS-CoV-2, a jednocześnie do hodowli dodano lizat bakteryjny i porównano z hodowlą, gdzie lizatu nie było [11]. Wyniki opublikowano na łamach czasopisma „Biomedicines”, ukazując, że komórki poddane działaniu lizatu bakteryjnego OM-85 produkują mniej receptora ACE2 (to główny receptor dla koronawirusa SARS-CoV-2) na powierzchni komórek oraz receptora wtórnego DPP4. Ponadto odnotowano zwiększone uwalnianie cząsteczek ADAM17 i sACE2, które pozakomórkowo wiążą wirusa, co sprzyja ochronie osób przyjmujących lizat, oraz obniżoną aktywność enzymów biorących udział w internalizacji, czyli „wciąganiu” wirusa do wnętrza komórki. Są to TMPRSS2 i siarczany heparyny. Następnie naukowcy sprawdzili w układzie doświadczalnym, czy obserwowane zmiany na poziomie molekularnym, subkomórkowym prze-

kładają się na zmniejszoną zakaźność wirusa w hodowli komórkowej. W tym celu użyto podobnego wirusa, którym był lentiwirus – posiadający również białko S i posługujący się tym samym narzędziem przy atakowaniu komórki. Badacze wykazali spektakularnie mniejszą zakaźność tego wirusa w obecności lizatu OM-85 (ryc. 3), co oznacza, że komórki nabłonka nabywały znaczącej „odporności” na atak wirusa [11].

Identycznymi wynikami mogli poszczycić się badacze z zespołu Donaty Vercelli z Uniwersytetu Arizony w Tucson [12]. Obserwowali oni komórki

pierwotne nabłonka dróg oddechowych poddane działaniu lizatu OM-85. Poza znaczącym spadkiem transkrypcji stężenia receptora ACE2 i enzymu TMPRSS2 (transmembranowej proteazy serynowej, ułatwiającej wejście wirusa do wnętrza komórki) odnotowano także znaczące obniżenie ilości komórek posiadających choćby jedną kopię tego receptora, co przekładało się na znacząco mniejszą zakaźność eksperymentalnego lentiwirusa [12].

Reasumując: oba powyższe badania sugerują, że lizat bakteryjny OM-85 wykazuje zdolność do zmniejszonego zakażenia komórek nabłonka koro-



Rycina 3. Hodowla komórek nabłonka oskrzeli, eksponowanych na lentiwirus po 24 i 48 godzinach od zakażenia, obraz spod mikroskopu fluorescencyjnego. (A). Panel górny. Hodowla kontrolna, widoczna znacząca proliferacja lentiwirusa. (B). Panel dolny. Zmniejszona zakaźność lentiwirusa w obecności lizatu bakteryjnego. Do hodowli komórkowej dodano lizat bakteryjny OM-85, uzyskując zahamowanie proliferacji wirusa wskutek „uszczelnienia” bariery nabłonkowej [11]. Komórki nabłonka uzyskują odporność na atak wirusa

nawirusem SARS-CoV-2 przez mechanizmy zależne od regulacji obecności białka ACE2 i innych enzymów biorących udział w inwazji koronawirusowej.

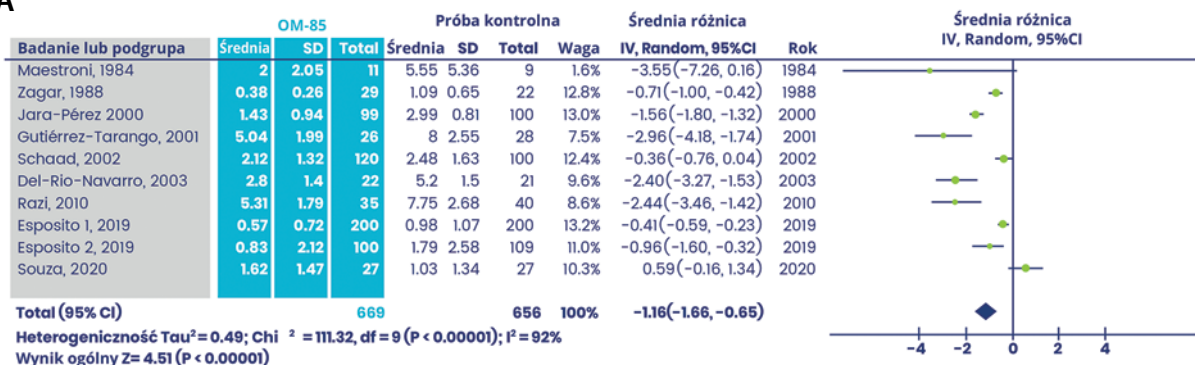
Aktywacja trenowanej odporności przy użyciu lizatów bakteryjnych sprzyja zmniejszeniu niepotrzebnej antybiotykoterapii

Powyższe wyniki w wirusowych układach eksperymentalnych upoważniają do rozważań nad kliniczną przydatnością stosowania lisatu OM-85 w zapobieganiu innym zakażeniom wirusowym górnych dróg oddechowych oraz ich powikłaniom, w tym antybiotykoterapii. Warto w tym kontekście podkreślić, że nadmierna i niepotrzebna antybiotykoterapia stanowi poważny problem medyczny, przyczyniający się do zjawiska antybiotykooporności, poważnego problemu zdrowia publicznego.

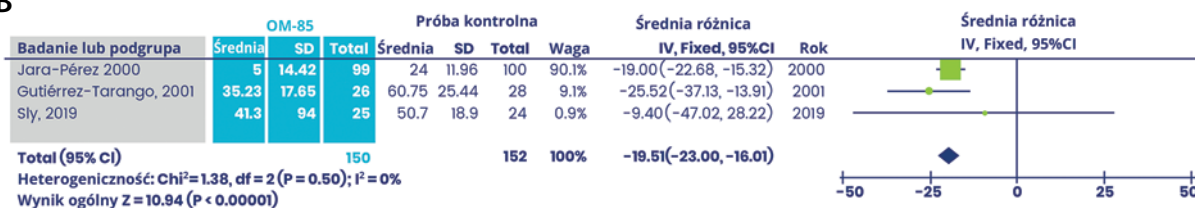
Dlatego warto odnotować fakt, że w minionym roku ukazał się przegląd systematyczny z metaanalizą 14 badań oceniających konieczność podjęcia antybiotykoterapii u dzieci z nawracającymi zakażeniami dróg oddechowych, które przyjmowały lizat bakteryjny OM-85 (n = 890), w porównaniu z placebo (n = 969) (ryc. 4) [13]. Badanie wykazało korzystny wpływ przyjmowania OM-85 w celu zmniejszenia nasilenia nawracających zakażeń dróg oddechowych (średnia różnica MD, -1,16; 95% CI, -1,66 do -0,65, P < 0,001).

Ponadto udowodniono krótszy czas trwania infekcji dróg oddechowych (MD, -19,51; P < 0,001), mniejszą częstość występowania infekcji dróg oddechowych (OR, 0,40; P = 0,006), mniejszą liczbę kursów antybiotyków (MD, -1,40; P = 0,03) oraz mniejsze zużycie antybiotyków (OR, 0,38; P < 0,001), przy braku istotnych działań niepożądanych (ryc. 5).

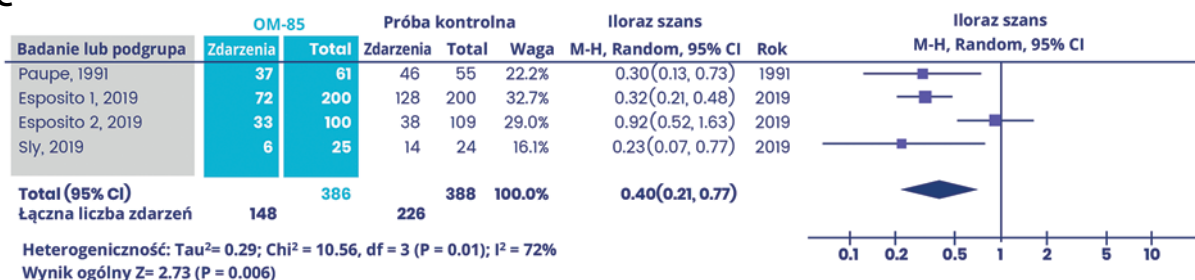
A



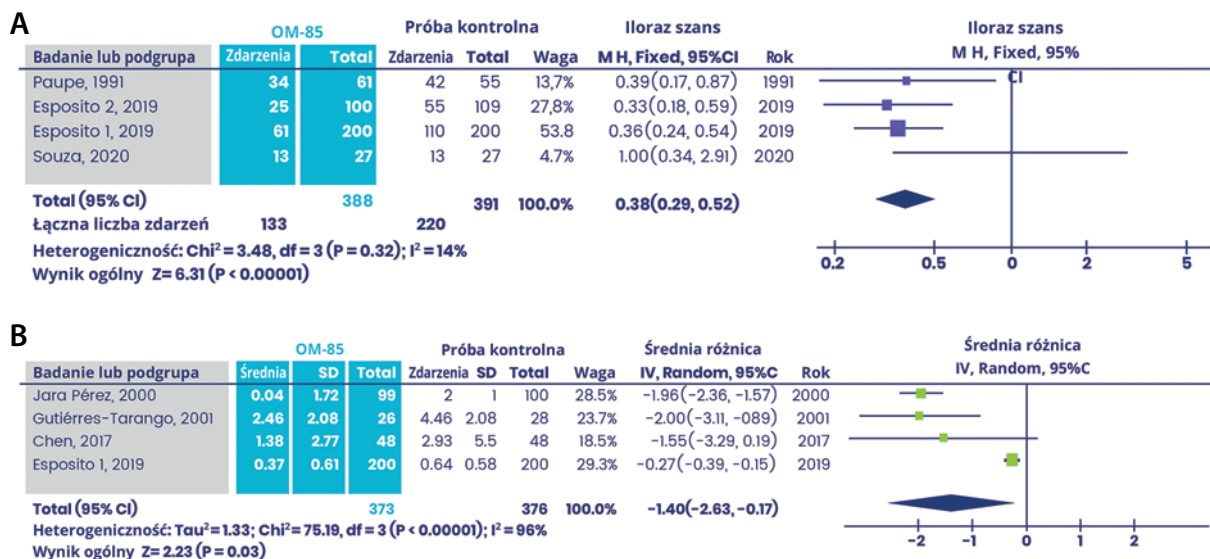
B



C



Rycina 4. Metaanaliza 14 badań oceniających konieczność podjęcia antybiotykoterapii u dzieci z nawracającymi zakażeniami dróg oddechowych, które przyjmowały lizat bakteryjny OM-85, w porównaniu z placebo. Wykres drzewkowy pokazuje wynik porównania stosowania OM-85 z kontrolą w nawracających zakażeniach dróg oddechowych u dzieci w odniesieniu do (A) częstości zakażeń dróg oddechowych, (B) całkowitego czasu trwania zakażeń dróg oddechowych, (C) częstości występowania zakażeń. Badanie wykazało korzystny wpływ przyjmowania OM-85 w celu zmniejszenia nasilenia nawracających zakażeń dróg oddechowych (średnia różnica MD, -1,16; 95% CI, -1,66 do -0,65, P < 0,001) [13]



Rycina 5. Metaanaliza 14 badań oceniających konieczność podjęcia antybiotykoterapii u dzieci z nawracającymi zakażeniami dróg oddechowych, które przyjmowały lizat bakteryjny OM-85, w porównaniu z placebo. Wykres drzewkowy przedstawia stosowanie OM-85 w porównaniu z kontrolą w nawracających zakażeniach układu oddechowego u dzieci w zależności od (A) liczby stosowanych antybiotyków, (B) liczby kursów antybiotykowych. Korzystny efekt końcowy pokazany jest w postaci rombu

Badacze podsumowują, że przyjmowanie OM-85 w celu zapobiegania nawracającym zakażeniom dróg oddechowych może mieć duże znaczenie jako narzędzie zwiększające odporność dzieci, co może być pomocne w sytuacjach kryzysowych, np. podczas pandemii.

Wnioski końcowe

W minionym roku odnotowaliśmy ogromną aktywność naukową w zakresie możliwych strategii immunomodulacyjnych w odniesieniu do wirusów oddechowych. Wynikało to głównie z zainteresowania możliwymi drogami pokonania wirusa SARS-CoV-2. W świetle pokazanych powyżej badań widzimy, jak wielką rolę w początkowej fazie zakażenia odgrywa sprawna odporność nieswoista, zdolna do wczesnej eliminacji koronawirusa. Jednocześnie wykazano, że odporność nieswoista może być stymulowana przy użyciu antygenów bakteryjnych przyjmowanych drogą doustną, na przykład zawartych w lizacie bakteryjnym. Lekii z tej grupy wykazywały aktywność przeciwwirusową, także wobec wirusa SARS-CoV-2, w kilku różnych układach eksperymentalnych. Niestety, na chwilę obecną brakuje stosownych badań klinicznych. Niemniej przeciwwirusowy efekt immunostymulujący przekłada się na kliniczną skuteczność lizatów bakteryjnych w innych badaniach, w szczególności takich, które oceniają użycie antybiotyków w infekcjach dróg oddechowych.

Piśmiennictwo

- Zhang Q, Bastard P, Liu Z i wsp. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science* 2020; 370: 6515.
- Stambas J, Lu C, Tripp RA. Innate and adaptive immune responses in respiratory virus infection: implications for the clinic. *Expert Rev Respir Med* 2020; 14(11): 1141-1147.
- Kumar V. Pulmonary Innate Immune Response Determines the Outcome of Inflammation During Pneumonia and Sepsis-Associated Acute Lung Injury. *Front Immunol* 2020; 11: 1722.
- Schenten D, Medzhitov R. The control of adaptive immune responses by the innate immune system. *Adv Immunol* 2011; 109: 87-124.
- In: Anaya JM, Shoenfeld Y, Rojas-Villarraga A, Levy RA, Cervera R, editors. *Autoimmunity: From Bench to Bedside*. Bogota (Colombia) 2013.
- Netea MG, Dominguez-Andres J, Barreiro LB i wsp. Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2020; 20(6): 375-388.
- Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Dominguez-Andres J i wsp. Trained Immunity: a Tool for Reducing Susceptibility to and the Severity of SARS-CoV-2 Infection. *Cell* 2020; 181(5): 969-977.
- Salzmann M, Haider P, Kaun C i wsp. Innate Immune Training with Bacterial Extracts Enhances Lung Macrophage Recruitment to Protect from Betacoronavirus Infection. *J Innate Immun* 2021: 1-13.
- Brandi P, Conejero L, Cueto FJ i wsp. Trained immunity induction by the inactivated mucosal vaccine MV130 protects against experimental viral respiratory infections. *Cell Rep* 2022; 38(1): 110184.
- Roth M, Pasquali C, Stolz D i wsp. Broncho Vaxom (OM-85) modulates rhinovirus docking proteins on human airway epithelial cells via Erk1/2 mitogen activated protein kinase and cAMP. *PLoS One* 2017; 12(11): e0188010.

11. Fang L, Zhou L, Tamm M i wsp. OM-85 Broncho-Vaxom®, a Bacterial Lysate, Reduces SARS-CoV-2 Binding Proteins on Human Bronchial Epithelial Cells. *Biomedicines* 2021; 9(11).
12. Pivniouk V, Pivniouk O, DeVries A i wsp. The OM-85 bacterial lysate inhibits SARS-CoV-2 infection of epithelial cells by downregulating SARS-CoV-2 receptor expression. *J Allergy Clin Immunol* 2022; 149(3): 923-933 e6.
13. Cao C, Wang J, Li Y i wsp. Efficacy and safety of OM-85 in paediatric recurrent respiratory tract infections which could have a possible protective effect on

COVID-19 pandemic: A meta-analysis. *Int J Clin Pract* 2021; 75(5): e13981.

Adres do korespondencji:

dr hab. n. med. Wojciech Feleszko
Klinika Pneumonologii i Alergologii Wieku Dziecięcego
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Żwirki i Wigury 63A
02-091 Warszawa
e-mail: wojciech.feleszko@wum.edu.pl