**Az immunterápiás eljárások során** az immunrendszer működését mesterségesen módosítjuk.

Immunszupresszióval elérhető:

- az autoimmun folyamatok gátlása (pl. methotrexát RA-ban gátolja a szinoviális sejtek szaporodását, a sejtciklus S-fázisának gátlásával)

- az allergiás folyamatok gátlása (pl. glükokortikoidok allergiás reakcióban gátolják a gyulladásos citokinek termelődését)

- a transzplantációs tolerancia létrehozása (pl. ciklosporin gátolja az IL-2 termelést, ezzel a T-sejt proliferációt)

Immunmodulációval:

- a TH1 / TH2 egyensúly eltolása autoimmun vagy allergiás kórképekben (pl. anti-TNF kezelés RA-ban)

- az ellenanyagválasz izotípus megoszlásának megváltoztatása allergiás kórképekben (pl. allergén specifikus deszenzitizálás)

Immunstimulációval:

- tumorsejtek elleni válasz elősegítése (pl. melanómában IL-2 terápia segíti a tumor ellenes T-sejt szaporodást)

- kórokozók elleni válasz elősegítése, azaz

**VAKCINÁCIÓ – IMMUNIZÁCIÓ**

Az immunstimuláció célja

TERÁPIA:

🡪 **fertőzést követően**:

- **hagyományos gyógyszeres** (PL. antibiotikumok, vírus anyagcsere gátlók)

- **passzív immunizálás**

**ellenanyaggal:** hiperimmunizált állatból vagy emberből származó kész antigénspecifikus IgG

előnye: gyors, de átmeneti

hátránya: nincs memória válasz, az ellenanyag eliminációja, neutralizáció, allergia, fajspecifikus immunválaszt válthat ki

  alkalmazás: pl. Kígyómarás esetén,

pl. bizonyos esetekben járványos májgyulladásos beteg környezetében élőknél,

pl. bizonyos esetekben tetanusz ellen

**🡪 megbetegedést követően:**

**- sejtekkel - adoptív immunitás:**

- gyermekkori immundeficienciák esetén (Kongenitális sejtes immundefficiencia) immunkompetens sejtekkel történő terápia a csontvelö (MHC kompatibilis), vagy fötális máj, timusz immunkompetens sejtjeivel

-enzimhiányos betegségek esetén: (PL. adenozin deamináz, nukleozid foszforiláz) szomatikus génterápiával: a csontvelői őssejtbe bejuttatott virális vektor, mely a kívánt hiány-gént tartalmazza.

**- Vakcinációval:** Pl. tumorvakcinák, dendritikus sejt vakcináció

**a fertőzést megelőzően**: PREVENCIÓ:

🡪 **aktív vakcinálás:**

- a specifikus felismerő készlet arányának növelés: mind e - specifikus immunológiai memória létrehozása

|  |  |
| --- | --- |
| A hatékony oltóanyag tulajdonságai | |
| biztonságos | Nem okozhat betegséget v. halált |
| protektív | Élő kórokozó által előidézett betegséggel szemben véd |
| Hosszú távú védelem | Évekig tartó védettséget ad |
| Serkenti a neutralizáló antitesteket | Bizonyos kórokozók (pl. poliovírus) olyan sejteket fertőz (pl. neuronok), amelyek nem pótolhatók. Neutralizáló antitest megelőzi ezeknek a sejteknek a megfertőződését |
| Serkenti a protektív T-sejteket | Bizonyos kórokozók (pl. intracellulárisok) sejt-mediálta immunválasszal hatékonyabban eliminálódnak |
| Gyakorlati szempontok | Biológiai stabilitás, könnyű bevitel, kevés mellékhatás, olcsó előállítás |

**A. AZ AKTÍV VAKCINÁCIÓ JELENTŐS RÉSZÉBEN ELSŐDLEGES ANTITEST VÁLASZT VÁLT KI AZ OLTÓANYAG.**

Az aktív vakcinációkor használt molekulák ugyanúgy antigének a szervezet számára, mint a valódi fertőző ágensek. A vakcinációkor használt molekulák epitópjai közül az u.n. **protektív epitóp** azonosítása/felhasználása a cél, mivel ez az a nagyon specifikus egyedi molekuláris felszín, amihez a kötődő antitest kapcsolódik, és ezzel meggátolja a patogén elterjedését a szervezetben. Ezt az antitestet hívjuk **neutralizáló antitest**nek. A vakcinációkor használt antigének lehetnek T-dependens vagy T-independens antigének. A T-dependens antigének miatt szükség van nemcsak az ellenanyagokat gyártó B-, hanem a specifikus effektor T-sejt repertoir létrehozására is. (lsd. előadás) Mind a két **esetben speciális memória** jön létre, ami az aktív vakcináció alapvető célja. (lsd. elsődleges-másodlagos immunválasz)

A neutralizáló antitestek a kórokozók hatásait semlegesítik, pl. egy vírus gazdasejten való megtapadását előzik meg. A neutralizáló antitestek között is vannak olyanok, ill. olyan nem-neutralizáló antitestek is vannak, amelyek a vírusfertőzött sejthez tapadva azok

- eltávolítását teszik hatékonyabbá (pl. az FcR mediálta fagocitózis fokozásával.)

- meggátolják a vírus sejtben való replikációját (pl. a jelátviteli folyamatok gátlásával)

- meggátolják a vírusrészecskék gazdasejtből való kiszabadulását és sejtről-sejtre való terjedését: pl. az expresszálódó vírusfehérjék sztérikus összekapcsolásával.

**B. AZ ANTITESTES VÁLASZT KIVÁLTÓ VAKCINÁCIÓ MELLETT BIZONYOS ESETEKBEN A SEJT-MEDIÁLTA IMMUNVÁLASZ KIALAKÍTÁSA A CÉL.**

**A T-sejtes válasz három fázisa**:

- klonális expanzió az antigén jelenlétében

- az antigén eltávolítása utáni kontrakció (apoptózissal)

- fennmaradó memória

A CD4+ sejtek és CD8+ sejtek némiképp eltérően viselkednek. (lsd. Előadás)

CD8+ sejtek esetében a három, időben egymást követő fázis a következőképpen alakul:

1. A vakcinációt (vagy fertőzést) követően a DC közreműködésével megtörténik az aktiváció
2. expanzió: elsődleges immunválasz kialakul: funkcionálisan különböző elsődleges Tc effektorsejtek alakulnak ki: legtöbbje IFNgamma termelő sejt, vagy TNF-termelő citolitikus sejt
3. A kontrakció során az elsődleges CD8+ T-sejtek 90-95 %-a apoptózissal elpusztul.
4. Az apoptózist elkerülő sejtek adják a korai elsődleges memória-CD8+ repertoirt: sejtfelszínükön a naív CD8+ sejtekre jellemző molekulák expresszálódnak, és IFNgamma mellett (ugyanazon sejtek) TNFalfát termelnek.
5. Az IFNgamma és TNFalfa mellett IL-2-t termelő memória T-sejtek önmegújulásra képesek, a hosszú távú memória CD8+ sejtek nagyobb részét ezek teszik ki.
6. Az ismételt – emlékeztető vakcinációkor (a másodlagos immunválasz után kialakuló) a kontrakciós fázis elhúzódik, a másodlagos memóriasejtek nagyobb számban alakulnak ki, mint az elsődleges immunválaszkor, de csökkent önmegújuló képességgel (IL-2 termelő) rendelkeznek.
7. A másodlagos immunválaszt követően évek alatt kialakuló hosszú távú memóriasejtek között jóval nagyobb arányban vannak önmegújuló képességű CD8+ késői memória T-sejtek.

**Az oltási naptárban az egy oltásra vonatkozó megadott intervallumokat** minimumként kell felfogni, amelyek nem csökkenthetők, de meghosszabbításuk általában nem zavarja az immunválasz kialakulását. Ez egyben azt is jelenti, hogy ha az immunizálási program bármely okból hosszabb időre megszakad, az oltást nem kell újra kezdeni, hanem folytatni kell.

**ÉLETKORFÜGGŐ OLTÁSI STRATÉGIÁK A B-SEJT REPERTOIR ÉLETKOR FÜGGŐ KÜLÖNBÖZÉSE MIATT**

Különböző okok miatt, mind a csecsemő szervezete, mind az idős( 65 év feletti) szervezet gyenge immunválaszt alakít ki az új, idegen antigénekre, tehát a vakcinákra is. Ezért mindkét korcsoportban olyan vakcinákat kell fejleszteni, ami növeli a neutralizáló antitestmennyiség növelését.

Csecsemőkorban a csontvelő nagy számban hoz létre eltérő specificitású naív B-sejteket. Az életkor előrehaladtával a B-sejt képződés sebessége csökken, a csontvelőben zsírlerakódások jönnek létre, kevesebb teret hagyva a B-sejt képződésnek. A tér funkcionálisan is csökken, a nagyobb számban előforduló memóriasejtek, és a monoklonális IgG-t termelő plazmasejtek miatt. Ezért a kor előrehaladtával az új antigénekre bekövetkező B-sejt válaszképesség is csökken.

Mivel az IgG féléletideje 21-30 nap, a csecsemők anyai eredetű védettsége (anyai IgG) a születés után gyorsan csökken, saját B-sejt repertoiruk fejletlensége miatt gyengébb immunválaszt adnak a fertőzésekre. Jellemzően csecsemőkori fertőzés a Hib, a rotavirus, Salmonella, ami ha későbbi életkorban éri az embert, nem okoz (csak extrém esetekben) halált.

Időskorban az új antigének mellett olyan fertőzések is problémát okoznak, amiken már átesett a szervezet, időskorban a tünetek mégis sokkal súlyosabbak, számos olyan fertőzés okoz halált, amely a fiatalabb felnőtt szervezet számára nemj veszélyes. Pl. influenza

Oltási stratégiák csecsemők és idősek esetén

→ A naív B-sejt aktivációt serkentő stratégia: a hatékonyság érdekében növelni kell a vakcina elérhetőségét pl. új adjuvánsok alkalmazásával; az immunmoduláció serkentésével: pl Hib vakcinációnál ma már nem a tiszta poliszacharid vakcinát alkalmazzák, hanem diftéria fehérjéhez mint carrierhez kovalensen kapcsolt Hib kapszuláris poliszacharid tartalmú, un. konjugált vakcinát.

→ A naív B-sejtek másodlagos nyirokszervekbe vándorlását, a germinális centrumok kialakulásának esélyét serkentő stratégia: nagyobb antigéndózissal, vagy vakcinadepot-val (pl. a Fluval-P vakcinában az alumínium foszfát gél olyan adjuváns, ami a vakcina fehérjéit lassan szabadítja fel,) , vagy az alapimmunizációkor többszöri oltással biztosítani a folyamatos antigénstimulust

→ A B-sejt aktivációját serkentő stratégia: mind a nagyobb antigéndózis, mind a hatékonyabb adjuváns alkalmazása előnyös

→ A plazmasejtté differenciálódást serkentése szintén a hatékonyabb adjuvánsok alkalmazásával érhető el.

→ Hogy a memóriasejtek válasza időskorban is előhívható legyen, azt felnőttkori ismétlőoltásokkal, ismételt alacsony dózisú antigénnel kell biztosítani: pl. a tetanuszoltást ajánlatos 10 évente ismételni.

**A VAKCINÁK TÍPUSAI**

Egész (teljes) vakcinák:

* élő, attenuált
* Inaktivált
* élő, rekombináns

Alegység vakcina:

* protein
* szintetikus peptid
* DNS (RNS)

**VAKCINAFEJLESZTÉS IRÁNYAI**

1. Jelenlegi vakcinák tökéletesítése

2. Új vakcinák fejlesztése

3. Empirikus módszerek → biotechnológiai vakcinafejlesztés

**Fő cél az immunogenitás növelése**

**A tervezéskor nemcsak a megfelelő epitópot, hanem a megfelelő adjuvánst és a célbajutás módját is megfelelően kell kiválasztani**

1. **Jelenlegi vakcinák tökéletesítése:**

**Élő, attenuált vakcinával** élő, csökkentett virulenciájú kórokozóval szemben alakítunk ki védelmet. Ez lehet a kórokozó, aminek csökkentik a virulenciáját, vagy olyan közeli rokonságot mutató mikroorganizmus, ami keresztreakció révén ad védettséget.

Pl. influenzaoltáshoz a vírusok legyengítését nem emberi sejtekben való tenyésztés során érik el – ami eredetileg nem gazdaszervezet a vírusnak (pl. majomsejtek). A vírus mutációk sorával adaptálódik a másik gazdaszervezetben való szaporodáshoz, így elérhető olyan élő vírusváltozat, ami emberi sejtekben nem szaporodik. Ez lesz az oltóanyagban használt élő, attenuált kórokozó. (Ez a vírus is fertőzi a gazdaszervezetet, de nem tud elszaporodni benne. Azzal azonban, hogy bekerült a szervezetbe az antigén, az immunrendszert mozgósítja.)

Az attenuációt mesterséges mutagenezissel, géndelécióval is el lehet érni. Mivel az influenzatörzsek évről évre mások, tervezett mutagenezissel – a várható leggyakoribb antigénepitóp-változat létrehozásával változtatják az oltóanyagban található vírust. Folyamatosan ellenőrizni kell, hogy egy újabb mutációval, rekombinációval nem nyeri-e vissza a virulenciáját.

Jó példa az attenuált kórokozóval való védőoltásra, és az új vakcinafejlesztésekre való törekvésre a BCG vakcina (Bacillus Calmette-Guérin/tuberculosis elleni oltóanyag, deléciókkal módosított M. bovis törzset tartalmaz, ami a közös epitópok miatt kiváltja az M. tuberculosis elleni immunválaszt is). A (pl. magyar) lakosság teljes oltottsága, elvileg teljes védettsége mellett a tuberkulózis egyre terjed. Összehasonlító genetikai vizsgálatokat végeztek a különböző BCG vakcinatörzsek és a M. tuberculosis törzsek közt. Azt az eredményt kapták, hogy valószínűleg a laboratóriumi tenyésztés során kialakult adaptáció miatt olyan változások jöttek létre BCG törzsekben, amelyek a gazdaszervezetben való szaporodási képesség csökkenésével jártak, emiatt az oltáshoz használt attenuált kórokozó nem alakít ki megfelelő védelmet.

**Subunit, alegység vakcina** esetén a patogénnek csak egy specifikus komponensét tartalmazza az oltóanyag, ez olyan molekula, vagy mkaromolekuláris fragmentum, ami a protektív epitópot tartalmazza. Influenza elleni oltóanyagok közt van, ami tisztított hemagglutinint és neuraminidázt tartalmaz (felszíni antigén) a többi vírus komponenst eltávolították.

Hatékonyságuk növelésére jó példa a csecsemőkorban adott Hib (Haemophilus influenzae B okozta csecsemőkori meningitis, epiglottitis elleni oltóanyag) vakcinák új generációja. Az eleinte előállított a H. influenza kapszuláris tisztított poliszacharidját tartalmazó oltóanyag nem bizonyult elég immunogénnek (lsd. Immunrendsezr életkori sajátosságai). A jelenlegi anti-Hib vakcinában a poliszacharid kovalensen egy hordozófehérjére van kötve. Ez a **konjugátum vakcina** egyesíti a TD és TI immunválaszt kiváltó követelményeket. A carrier fehérje PRP-D (poliribozilribitol-diftéria) **toxoid** mozgósítja a specifikus T-sejteket, amelyek citokintermelésükkel olyan mikrokörnyezetet teremtenek a Hib- poliszacharidot felismerő B-sejtek számára, hogy az immunválasz hatékony lesz.

(A PRP-D toxoidegy exotoxin, aminek a toxicitását formaldehiddel megszűntették, az immunogenitása azonban megmaradt.)

1. **Biotechnológiai vakcinafejlesztés:**

Az új generációs vakcinák fejlesztésénél megcélzott **fokozott immunogenitás alapja a megfelelő epitóp kiválasztása, és a megfelelő adjuváns kiválasztása** is (lsd. előző gyak).

A kísérleti stádiumban lévő **szintetikus peptid vakcinák**nála megfelelő T és B-sejt epitópok képezik a vakcina alapját.

A vakcinák előállítása, a protektív T-sejt epitóp kiválasztása zajlhat hagyományos, vagy in silico módon.

Hagyományos módon:

* Laboratóriumban szaporítják, majd egyenként izolálják azokat az antigén komponenseket, melyek a vakcina fejlesztés alapjául szolgálnak
* szisztematikusan megszintetizálják az átfedő peptiddarabokat
* tesztelik immunogenitásukat.

**Reverz – in silico vakcinológia** segítségével:

* A patogén ismertté vált genomjából indul ki.
* A genomiális szekvencia bioinformatikai elemzése után kerül sor a kiválasztott szekvencia megklónozására és expresszáltatására,
* amit immunogenitási tesztek követnek.

Az epitóp predikció az utolsó gyakorlat anyaga, most csak a malária elleni védőoltás kifejlesztésének egyik stratégiájával szemléltetjük röviden. Populációs vizsgálatok alapján bizonyos, hogy a HLA-B53 asszociál a malária elleni védettséggel. A HLA-B53 olyan nonapeptidet köt ,amelynél a 2. helyen prolin van. A malária kórokozójának peptidkönyvtárából számtalan peptidet lehet választani, amelyeknél a második helyen prolin van. Megszintetizálják a lehetséges peptideket, amelyeket aztán tesztelnek, hogy kötnek-e a HLA-B53-hoz. Ha igen, tesztelik, hogy maláriával fertőzött emberek T-sejtjein kiváltja-e a proliferációt. Ha igen, a peptid alkalmas oltóanyagnak. Mivel azonban csak a HLA-B53-hoz köt, ezért azoknál, akiknek nincs ilyen MHC-jük, hatástalan. Ezért nem elég egy, hanem több különböző, a populációban nagy gyakorisággal előforduló MHC-hoz kötő protektív T-sejt epitópot kell azonosítani és szintetizálni, majd ezek elegyéből készíteni oltóanyagot.

Másik megoldás az **epitóp affinitás növelés** (epitóp-enhancement).

MHC affinitás növelés: A populációban nagy gyakorisággal előforduló MHC molekulákról tudható, hogy az általuk kötött peptid melyik/milyen aminósavát kötik leginkább (horgonyzó aminósav). A vakcinációra alkamas peptidet lehet úgy szintetizálni, hogy a fő horgonyzó aminosavat kicserélik (a leggyakoribb MHC-knak megfelelően), míg a TCR felé néző aminosav az eredetinek megfelelően immunogén marad. A bemutatás hatékonysága ezzel nő, többféle MHC többféle TCR-nek is be tudja mutatni (kettős felismerés).

TCR affinitás növelés: pl. Tumorvakcinák kifejlesztésénél cél a tumor epitópot felismerő T-sejtek számának növelése. A peptid TCR felé eső aminósavjainak módosításával elérhető, hogy egy speciális tumorspecifikus T-sejt populáció aktiválódjon. Az epitópok TCR felé néző aminosavjainak különböző módosításaival az is elérhető, hogy több, kis és nagy affiinitású T-sejt is aktiválódjon.

A vírus vakcina fejlesztés egyik kísérleti stratégiája szerint többféle törzsre is jellemző aminósavmintázatot szintetizálnak egy peptiden belül (peptidkiméra), ezzel elérhető, hogy eltérő vírustörzseket ugyanaz a speciális T-sejt-populáció ismerjen fel.

A szintetikus peptid(ek) a szervezetbe kerülve önmagában nem eléggé immunogén - csak MHC-n bemutatva vált ki T-sejt választ, ehhez be kell juttatni a sejtekbe. A probléma egyik megoldása pl. az un. ISCOM *(*immune stimulatory complex) alkalmazása. Ez egy, a liposzómához hasonló képződmény, itt azonban a lipid carrierként egy rétegben zárja közre a peptideket, amelyek sejtekbe jutása így membránfúzióval történik. A citoplazmába jutott peptidek aztán az endogén antigénfeldolgozásnak megfelelően fejeződnek ki az MHC-n.

1. **Új vakcinák fejlesztése:**

A vakcináció során az antigén megfelelő célbajuttatása mindig kritikus pont.

**Immunizálás dendritikus sejtekkel**: A dendritikus sejtek felhasználása vakcinációra az egyik legbiztosabb módja az antigén célbajuttatásának (lsd. előadás dendritikus sejtek szerepe)

A saját szervezetből származó monociták in vitro dendritikus sejtté való differenciáltatása után (lsd. szövettenyésztés gyakorlat) az antigénpeptidekkel ex vivo feltöltött autológ dendritikus sejteket a szervezetbe oltják. Az antigénpeptiddel feltöltött dendritikus sejtek valós immunválaszt váltanak ki, viszont patogén hiányában nincs gyulladásos citokinkörnyezet az aktiválódó T-sejtek körül. Ennek következtében az effektorok gyorsan eltűnnek, a memóriasejtek kialakulása erőteljesebb. A dendritikus sejtekkel való immunizálást főleg tumorvakcinák esetében fejlesztik, mivel a tumor ellen a hatékony celluláris immunválasz indukálása szükséges.