



# Prehľad problematiky COVID-19 z hľadiska imunológa

MUDr. Luděk Hochmuth

II. interná klinika, FNŠP F. D. Roosevelta v Banskej Bystrici

Pojem imunita sa v súvisi s pandémiou COVID-19 dostal na vrchol rebríčka najvyhľadávanejších výrazov. Je to pochopiteľné, imunitný systém patrí medzi hlavné regulačné systémy ľudského organizmu s dosahom na všetky životné pochody v zdraví aj v chorobe. Široké zapojenie imunitných mechanizmov pri interakcii s mikrobiálnymi podnetmi a pri infekcii je zásadné. Imunitný systém nie je oddelený od iných telesných funkcií, nie je to akýsi policajt čakajúci v zálohe na mimoriadnu príhodu, pri ktorej zasahuje. Je integrálnou súčasťou všetkých pochodov v organizme, je súčasťou samotnej podstaty života. Pri regulácii telesných funkcií sa uplatňuje rozsiahly systém spätných väzieb. Každý podnet vyvoláva odozvu, ktorej rozsah a charakter závisí od množstva vonkajších aj vnútorných okolností. Kontakt s mikroorganizmami je prirodzenou súčasťou environmentálnych interakcií a je jedným z hnacích motorov evolučného aj ontogenetického vývoja. Charakter a priebeh infekcie vírusom SARS-CoV-2 má viaceré špecifiká, ktoré kladú otázky z hľadiska ich patomechanizmu a možnosti ich ovplyvnenia. Ochorenie COVID-19 od začiatku pandémie zaráža svojou rôznorodosťou: od asymptomatického až ľahkého priebehu s rýchlym ústupom až po komplikované multiorgánové ochorenie, v mnohých prípadoch s fatálnym vyústením.<sup>(1)</sup> Za priaznivých okolností COVID-19 prebehne ako týždňové ľahké vírusové ochorenie bez vzniku asymptomatického nosičstva vírusu. Vytvorí sa primeraná T- a B-bunková imunita so špecifickými protívirusovými neutralizačnými protilátkami a dôjde k rýchlemu odstráneniu vírusu. Priebeh však môže vyzeráť aj úplne odlišne: po úvodnej fáze charakteru nachladnutia infekcia progreduje. Stav komplikujú sekundárne bakteriálne infekcie. Pri pľúcnom postihnutí dochádza k zápalu pľúc, k respiračnej insuficiencii s rozvojom ARDS. Lokalizovaná infekcia sa diseminuje, dochádza k sepse, k deštruktívnemu zápalu tkanív a multiorgánovému zlyhávaniu.<sup>(2)</sup>

Ak sa takýto stav zvládne, zanecháva závažné poškodenia organizmu, postcovidový syndróm. Charakter (sila a trvanie) imunitnej odpovede na infekciu SARS-CoV-2 závisí od viacerých podmienok a modifikujúcich faktorov. Vnímateľnosť k nákaze a následný priebeh infekcie sú u rôznych jedincov veľmi odlišné. Predpokladá sa, že zásadnú úlohu má „stav imunity“, kondícia imunitného systému osoby. Je to veľmi široký pojem s množstvom mechanizmov prirodzenej a adaptívnej imunity a ich vzájomných interakcií. Samotný terén genetických daností jedinca podlieha silne modifikujúcim externým vplyvom. Uvažuje sa napríklad o protektívnom vplyve prekonaných infekcií inými druhmi betakoronavírusov, ktoré spôsobujú bežné infekcie dýchacích ciest. Predpokladá sa, že ich skrížene reagujúce pamäťové CD4+ a CD8+ lymfocyty by mohli rozpoznať epitopy a proteíny vírusu SARS-CoV-2 a podieľať sa na ľahšom priebehu infekcie.<sup>(3)</sup>

Medzi najdôležitejšie okolnosti rozhodujúce o závažnosti infekcie SARS-CoV-2 patrí charakter prenosu vírusu.<sup>(1)</sup> Okrem dĺžky expozície je pre nasledujúci priebeh zásadnou veľkosť vírusovej nálože (Obr. 1). Prevažnou cestou vstupu nákazy sú dýchacie cesty, ktorých stav sa podieľa na vnímavosti organizmu k nákaze. Poškodené sliznice dýchacích ciest, ktoré tvoria prvú bariéru vstupu, zvyšujú riziko infekcie. Epitel poškodený chronickým zápalom, spomalená samočistiaca schopnosť sliznice napríklad u fajčiarov, narušená mukociliálna funkcia sliznice, dysmikrobiá a ďalšie okolnosti zvyšujú riziko prieniku vírusu do organizmu. Priebežne sa meniace vlastnosti vírusu, aktuálne zachytené mutácie vírusu, zvyšujú jeho virulenciu. Vytipovali sa rizikové skupiny jedincov s vyšším rizikom nepriaznivého priebehu. Patria medzi ne staršie vekové skupiny, obézni ľudia, pacienti s komorbiditami, ako cukrovka, hypertenzia, polymorbídni oslabení ľudia, liečba komorbidít (napríklad imunosupresívne lieky) a niektoré ďalšie.<sup>(9)</sup> Neraz je však priebeh a závažnosť priebehu infekcie nepredvídateľný. Práve tak, ako vysoko rizikový jedinec môže mať ľahký priebeh choroby, alebo sa vyhnúť infekcii vôbec, tak paradoxne u jedinca bez zjavných rizík a v dobrej fyzickej kondícii môže choroba prebiehať závažným až fatálnym spôsobom. V súčasnosti sa začína presúvať

aj do mladších vekových skupín, objavuje sa aj v detskej populácii.<sup>(4)</sup> Prenos vírusu SARS-CoV-2. Najvýznamnejšou cestou prenosu vírusu je respiračný systém, je však možná aj iné cesta vstupu (očné spojivky, sliznice gastrointestinálneho traktu, koža).<sup>(5)</sup> Vírus vstupuje do bunky prostredníctvom špecifického vírusového proteínu (S-proteín, Spike-proteín), ktorý sa viaže na receptor ACE2 (angiotenzín konvertujúci enzým 2). ACE2 receptor je hojne zastúpený na bunkách viacerých orgánov – najmä respiračného traktu, tenkého čreva, v obličkách, pečeni, myokarde a ďalších. Mimoriadne dôležitú úlohu pri nákuze a jej priebehu hrá expresia ACE2 na povrchu epitelových buniek.<sup>(2)</sup> ACE2 receptor je súčasťou renín-angiotenzín-aldosterónového systému (RAAS). Angiotenzinogén tvorený v pečeni sa prostredníctvom renínu štiepi na angiotenzín, z ktorého pôsobením angiotenzín konvertujúceho enzýmu (ACE – ide o odlišný enzým ako ACE2) vzniká angiotenzín II. Tento má kľúčovú úlohu pri tubulárnej reabsorpcii NaCl, exkrécii K a tekutín, pri vzostupe krvného tlaku, vazokonstrikcii, pri aktivácii sympatiky a iných dejoch. Môže sa však podieľať aj na udržiavaní zápalu, vzniku fibrózy, poškodenia pľúc, zvýšenej cievnnej permeability s tvorbou edémov. Práve ACE2 sa podieľa na regulácii týchto dejov. Jeho pôsobením z angiotenzínu I a angiotenzínu II vzniká angiotenzín 1-7 a angiotenzín 1-9, ktoré pôsobia protektívne na epitelové bunky. Pôsobia vazodilatačne, protizápalovo, majú antitrombotické a antifibrinolytické účinky, podieľajú sa na protizápalovej ochrane pľúc. Pri infekcii vírusom SARS-CoV-2 dochádza k „down-regulácii“ ACE2 receptorov či už ich obsadenia vírusom, alebo priamym poškodením bunky. Dôsledkom je dominancia cesty sprostredkovanej ACE a angiotenzínom II s uvedenými dôsledkami<sup>(6,7)</sup> (Obr. 2). Infekcia SARS-CoV-2 pôsobením na ACE2 ovplyvňuje aj kinínový-kalikreínový systém (KKS) a potencuje pôsobenie bradykinínu (vazodilatácia, priepustnosť ciev, proinflatívne pôsobenie).<sup>(8)</sup>

Mimoriadne dôležitú úlohu v obrane organizmu proti vírusom majú interferóny, ktoré patria medzi najúčinnšie zložky vrodenej protivírusovej odpovede. Majú aj ďalšie mnohopočetné funkcie pri indukcii, vykonávaní a regulácii imunitných funkcií. Nedostatočná či nesprávna činnosť interferónového systému sa môže významne podieľať na nepriaznivom priebehu obranných reakcií voči vírusom.

<sup>(9)</sup> Ukazuje sa, že osobitne nedostatočná funkcia IFN- $\alpha$  sa významne zúčastňuje pri nepriaznivom priebehu infekcie SARS-CoV-2. Pri napadnutí bunky vírusom SARS-CoV-2 sa uplatňujú viaceré mechanizmy rozpoznania vírusu, ktoré vedú k produkcii interferónov I. a III. typu a prozápalových cytokínov. Pôsobia na viacerých stupňoch životného cyklu vírusu (blokovanie prichytenia vírusu na bunku, vstup vírusu do bunky, jeho presun v bunke, produkcia proteínov, amplifikácia genómu, kompletizácia vírusu a jeho opustenie bunky). Súčasne interferóny aktivujú ďalšie mechanizmy prirodzenej a adaptívnej imunity. Zdá sa, že pri COVID-19 sú tieto reakcie oslabené alebo dysregulované.

<sup>(10)</sup> Popisujú sa aj autoprotiilátky proti interferómom, ktoré blokujú ich funkciu.<sup>(11)</sup> Osobitnú úlohu hrá porucha regulá-

cie sprostredkovanej interferómom  $\gamma$ , podieľajúca sa na fenoméne neriadenej prozápalovej cytokínovej reaktivity.<sup>(12)</sup> Pri závažnejšom priebehu COVID-19 sa objavuje lymfopénia, aktivácia lymfocytov sprevádzaná ich dysfunkciou, abnormality v počte a funkcií granulocytov, neriadená nadprodukcia cytokínov a protilátková odpoveď, ktorá môže paradoxne urýchľovať vstup vírusov do bunky (Obr. 3). Lymfopénia predstavuje prognostický ukazovateľ priebehu choroby: pri ich poklese pod 20% v periférnej krvi je riziko ťažkého priebehu, pri hodnotách pod 5% ide o kritické štádium infekcie<sup>(1)</sup> (Tab. 1). Jedná sa prevažne o bunky T-lymfocytového radu, hlavne CD8+ lymfocyty a NK bunky, pamäťové T pomocné lymfocyty (CD3+CD4+CD45RO+). Vo zvýšenej miere sa exprimujú markery aktivácie T-lymfocytov (CD69, CD38, CD44 a i.), expresia OX44 a 4-1BB poukazuje na klonálnu expanziu T-lymfocytov. Na dysfunkciu a vyčerpanie T-lymfocytov a NK buniek poukazuje expresia a up-regulácia PD1 (proteín 1 programovanej smrti), NKG2A (killer cell lectin-like receptor subfamily C member1) a TIM3 (T cell immunoglobulin domain and mucin domain-3) (exhaustion phenotype).<sup>(3)</sup> Osobitnú úlohu má deficit T regulačných lymfocytov (Treg), ktoré sa za fyziologických podmienok zúčastňujú supresie excesívnej zápalovej odpovede. Ich deficit pri infekcii SARS-CoV-2 sa podieľa na excesívnej neriadenej zápalovej reakcii. Mechanizmus vzniku lymfopénie pri COVID-19 je v mnohom nejasný. Predpokladá sa kombinácia viacerých mechanizmov, ako je priame cytotoxické pôsobenie vírusu na infikované T-bunky, pôsobenie exogénnych a vnútorných faktorov modulujúcich pro- a antiapoptotické molekuly, supresia kostnej drene počas deštruktívneho zápalu pri cytokínovej búrke, sekvestrácia lymfocytov v pľúcach pri pneumónii a ďalšie.<sup>(1)</sup> Dochádza k vzostupu počtu neutrofilov, ktorých vysoké hodnoty, prípadne vysoký pomer neutrofilov oproti lymfocytom patria medzi indikátory ťažkého priebehu a zlej prognózy. Naproti tomu dochádza k poklesu eozinofilov, bazofilov a monocytov.<sup>(3)</sup> Pri vírusovej infekcii dochádza k vzostupu hladiny vírus špecifických protilátok. V priebehu 5–7 dní sa zaznamenáva vzostup IgM a IgA s ich poklesom počas ďalších dní. Protilátky triedy IgG stúpajú zhruba po 10–14 dňoch a ich hladina môže pretrvávajúť dlhšie.<sup>(2)</sup> Sú však rozdiely medzi špecifitou jednotlivých tried protilátok (IgA okolo 78,9%, IgM 95,8%, pri IgG sa blíži 100%). Sú dáta, že pri vyšších hodnotách IgG (spolu s vyššími hodnotami B-lymfocytov) býva prognóza pacienta horšia. Protilátková odpoveď za určitých okolností môže paradoxne uľahčiť prienik vírusu SARS-CoV-2 do buniek prostredníctvom fenoménu ADE (antibody-dependent enhancement). Vírus viažuce „ne-neutralizujúce“ protilátky alebo protilátky s nedostatočnou hladinou prostredníctvom väzby ich Fc fragmentu na Fc-receptor bunky uľahčujú vstup vírusu do bunky s jeho následnou zvýšenou replikáciou. Tento fenomén je známy aj pri iných vírusových infekciách.<sup>(3,4)</sup>

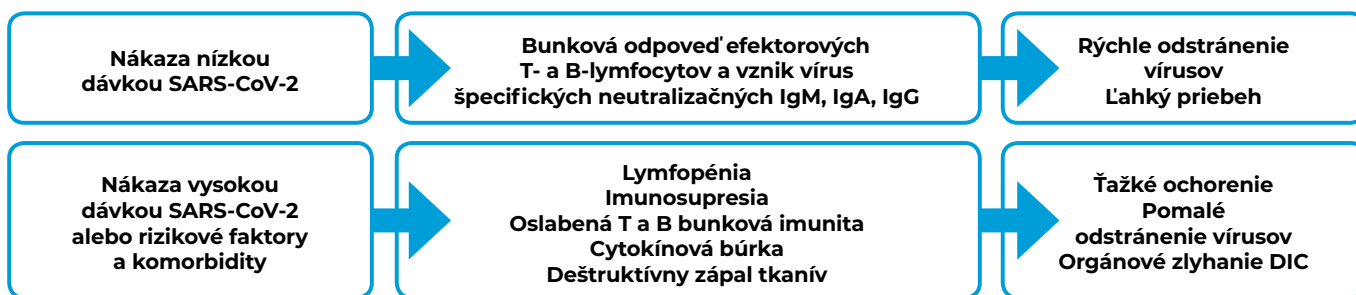
Cytokínová búrka (CSS – Cytokine storm syndrome, CRS – Cytokine release syndrome) predstavuje charakteristický prejav imunitnej dysregulácie pri závažnom priebehu COVID-19. Cytokínová búrka nie je špecifická len pre

COVID-19, vyskytuje sa aj pri rôznych iných infekciách a chorobách.<sup>(2)</sup> Príkladom môžu byť iné infekcie koronavírusmi ako je SARS-CoV, MERS-CoV, môže byť prítomná pri hemoragických horúčkach, Ebrole, pri ťažšom priebehu influenzy, RSV infekcie, pri bakteriálnej sepe, pri tupej traume). Spúšťa sa komplexná kaskáda mnohobunkových pochodov aktivácie, ktoré vedú k nahromadeniu zápalových buniek, monocytov, makrofágov, k excesívnemu nekontrolovanému uvoľneniu prozápalových cytokínov a chemokínov, k poškodeniu endotelu s jeho presakováním a k oslabeniu vírusovej špecifickej T-bunkovej odpovede. Pochody začínajú lokálne, systémovou cirkuláciou sa rozširujú do celého organizmu s disemináciou zápalu a vo svojich dôsledkoch môžu viesť k multiorgánovému zlyhávaniu (pľúca, pečeň, obličky, srdce, CNS).<sup>(13,5)</sup>

Medzi významné mechanizmy poškodenia organizmu pri COVID-19 u časti pacientov (36–43% postihnutých) patrí porucha koagulácie. Zaznamenáva sa trombocytopenia, predĺženie protrombínového času, zvýšenie D-diméru, dochádza k DIC. Aktivácia endotelu, trombocytov a leukocytov iniciovaná prostredníctvom molekulových vzorov alarmínov (PAMPs a DAMPs) podporuje lokálnu aj sys-

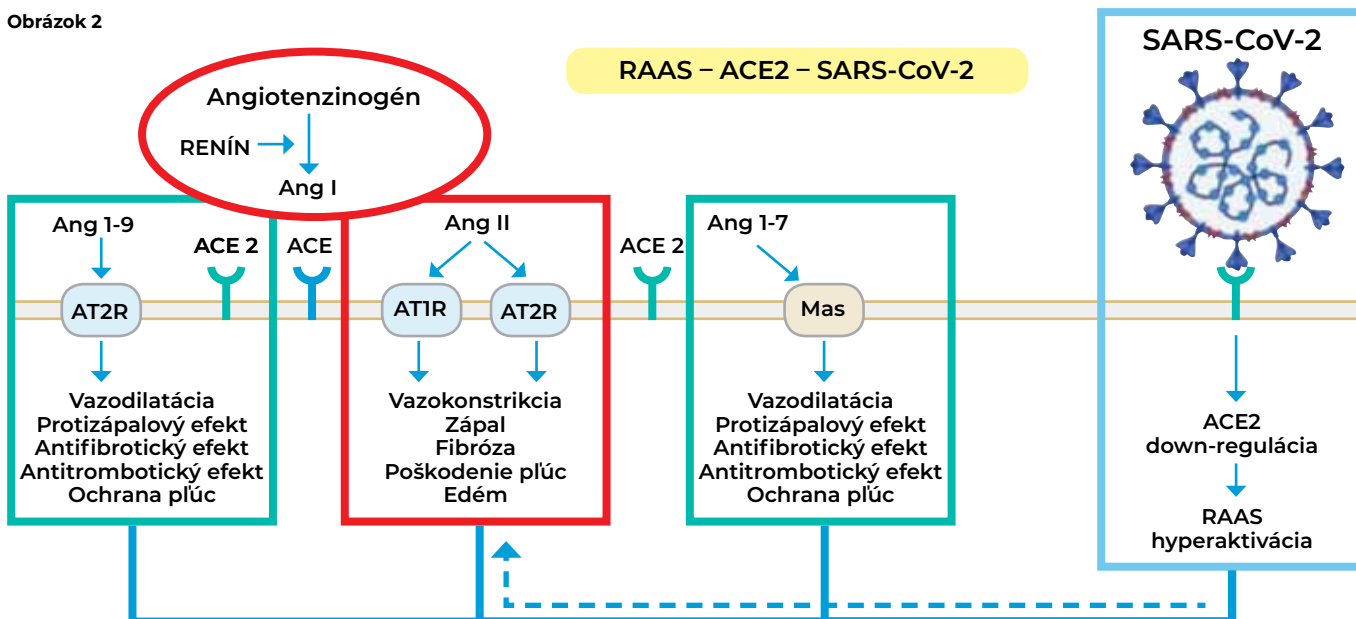
témovú tvorbu trombnínu. Hyperkoagulačný stav vytvára podmienky pre tromboembolizačné príhody. Dochádza k depozícii fibrínu, mikroangiopatii a orgánovému poškodeniu.<sup>(14,15)</sup> Charakter a priebeh ochorenia COVID-19 sa odráža na vzniku postinfekčnej imunity. Ukazuje sa, že tak ako imunitná odpoveď organizmu, aj rozvoj imunitnej pamäte je výrazne odlišný u rôznych jedincov. Zbierajú sa skúsenosti s reinfekciami po prekonanom COVID-19, pozoruje sa rôzna hladina detekovateľných neutralizačných protilátok s rôznym časovým odstupom od infekcie.<sup>(16)</sup> Vytvorenie postinfekčnej imunity ovplyvňuje závažnosť priebehu, komplikácie choroby (bakteriálne superinfekcie s ich liečbou, orgánové postihnutie). Možno len supponovať vplyv samotnej liečby COVID-19 na rozvoj dlhodobej imunitnej odpovede (imunosupresívne pôsobenie systémových kortikosteroidov, použitie hyperimúnnej plazmy, iná liečba s imunomodulačným pôsobením). Vzhľadom k rôznej úrovni postinfekčnej imunity sa nedá vylúčiť možnosť reinfekcie. Doterajšie skúsenosti zďaleka nie sú jednoznačné a len väčší časový odstup umožní vyvodit presnejšie závery a na nich založené odporúčania z hľadiska vakcinácie či globálneho manažmentu pandémie.<sup>(2)</sup>

Obrázok 1 – Odpoveď na expozíciu nízkou a vysokou dávkou vírusu.



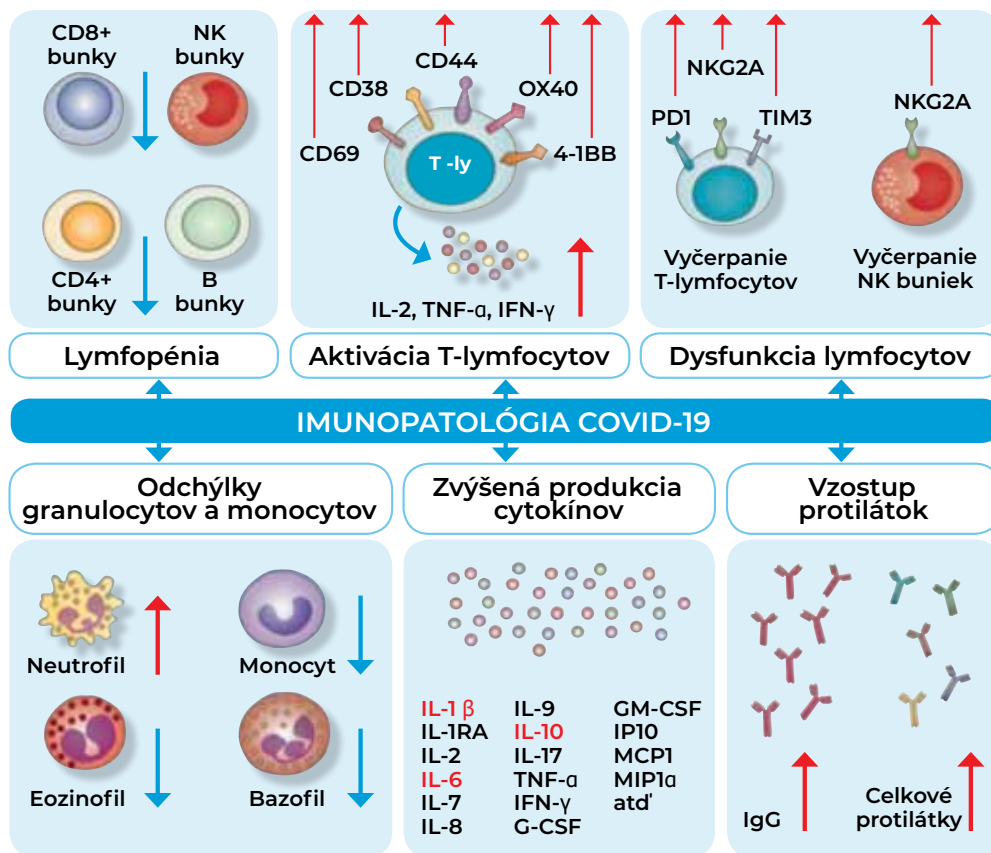
Allergy. 2020;75:1564–1581.

Obrázok 2



Podľa: Rev Col Cardiol 2020; 27:129-131.

Obrázok 3



Podľa: COVID-19: Immunopathogenesis and Immunotherapeutics Yang et al. Signal Transduction and Targeted Therapy (2020); 5:128; <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00243-2>

Tabuľka 1

LYMFOCYTY V KRVI %	10–12 DNÍ OD VZNIKU PRÍZNAKOV	17–19 DNÍ OD VZNIKU PRÍZNAKOV
>20%	Lahký / stredný priebeh	Rekonvalescencia
5%–20%	Ťažký priebeh	Riziková prognóza
<5%	Ťažký priebeh	Kritické štádium

Allergy. 2020;75:1564–1581.

Použitá literatúra

- Azkar AK, Akdis M, Azkar D, Sokolowska M et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. Allergy 2020;75:1564–1581.
- Riggioni C, Comberiati P, Giovannini M et al. A compendium answering 150 questions on COVID-19 and SARS-CoV-2. Allergy 2020;75:2503–2541.
- Yang L., Liu S., Liu J. et al. COVID-19: Immunopathogenesis and Immunotherapeutics. Signal Transduction and Targeted Therapy 2020;5:128.
- Sokolowska M, Lukasik ZM, Agache I. Immunology of COVID-19: Mechanisms, clinical outcome, diagnostics, and perspectives—A report of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). Allergy 2020;75:2445–2476.
- Burmer G, Burmer M, Pabuwal V. SARS-CoV-2 and COVID-19 Pathogenesis: A Review. <https://www.lsbio.com/media/whitepapers/sars-cov-2-and-covid-19-pathogenesis-a-review>.
- González-Rayás JM, Rayás-Gómez AL, García-González JJ et al. COVID-19 and ACE-inhibitors and angiotensin receptor blockers. The need to differentiate between early infection and acute lung injury. Revista Col Cardiol 2020;27:129-31.
- Chung MK, Karnik S, Saef J et al. SARS-Cov-2 and ACE2: The biology and clinical data settling the ARB and ACEI controversy. EBioMedicine 58(2020) 102907.
- Dasgupta A. Is a Bradykinin Storm Brewing in COVID-19? The Scientist Aug 26, 2020.
- Krejsek a kol. Immunologie člověka. Garamon s.r.o. 2016.
- Meffre E, Iwasaki A. Interferon deficiency can lead to severe COVID. Nature 2020;587:374-6.
- Liao A, Salajegheh M, Morehouse C et al. Human Plasmacytoid Dendritic Cell Accumulation Amplifies Their Type 1 Interferon Production. Clin Immunol 2010;136(1):130-138.
- Schreiber G. The Role of Type I IFNs in the Pathogenesis and Treatment of COVID-19. Front Immunol 2020;11:art 595739.
- Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP et al. Into the eye of the cytokine storm. Microbiol Mol Biol Rev 2012;76(1):16-32.
- Ghia S, Bhatt H, Lazar M. Role of Tissue Plasminogen Activator for Diffuse Pulmonary Microemboli in Coronavirus Disease 2019. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2020 Aug 31.
- Mondal S, Quintili AL, Karamchandani K, Bose S. Thromboembolic disease in COVID-19 patients: A brief narrative review. J Intensive Care 2020. <https://doi.org/10.1186/s40560-020-00483-y>.
- Stephens DS, McElrath MJ. COVID-19 and the Path to Immunity. JAMA 2020;324(13):1279-1281.