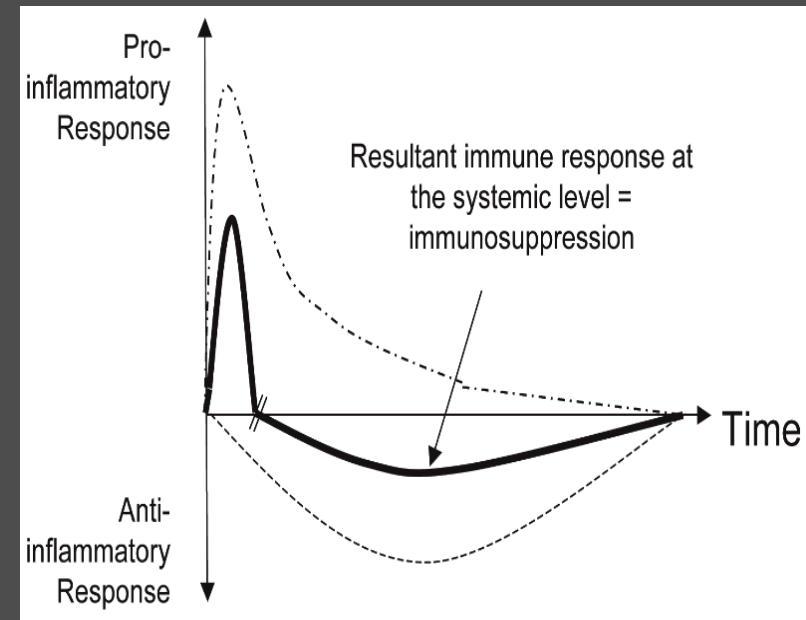
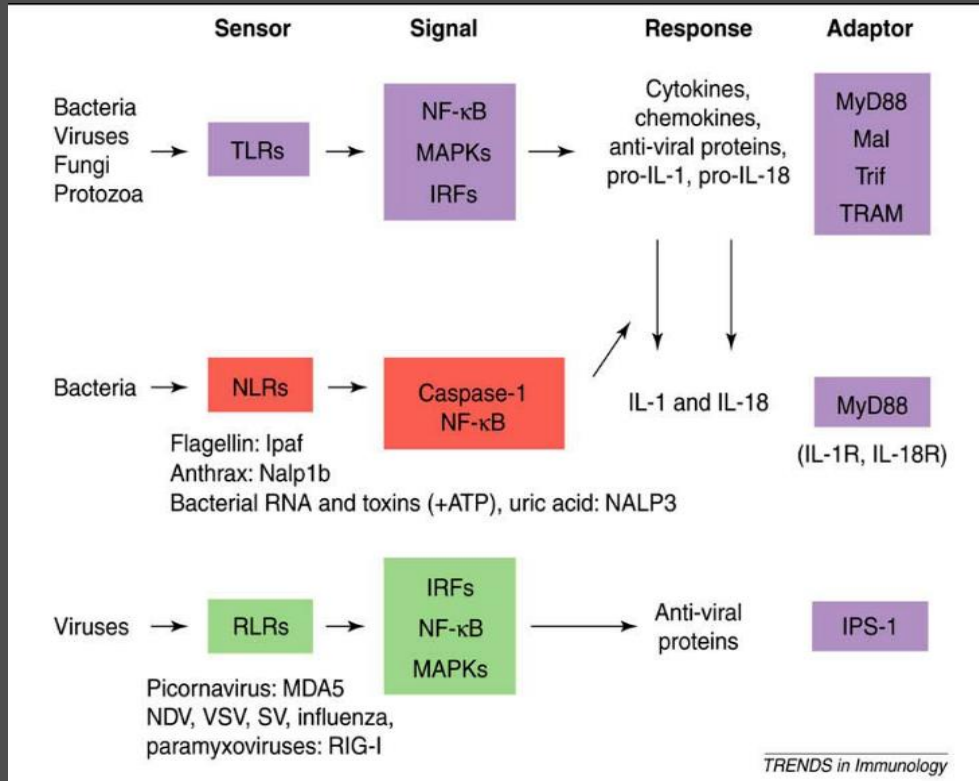
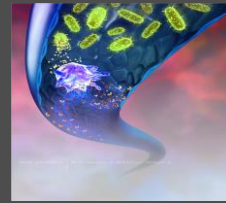


# Naše první zkušenosti s $\gamma$ interferonem u kriticky nemocných



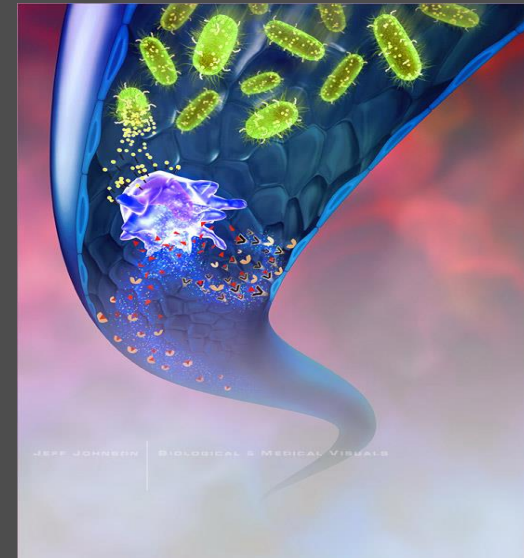
**aneb cesta k personalizované medicíně**

# Proč imunoterapie?



# Co víme o imunitním systému v sepsi?

- Zvýšená apoptóza buněk vrozeného a adaptivního systému imunity
- Vyčerpání T buněčného fenotypu
- Deaktivace monocytů se snížením HLA-DR exprese
- Zvýšení T regulačních buněk
- Zvýšení negativních a snížení pozitivních kostimulačních molekul
- Přesmyk Th 1 do Th2 odpovědi
- Regulační vliv CNS na imunitní systém

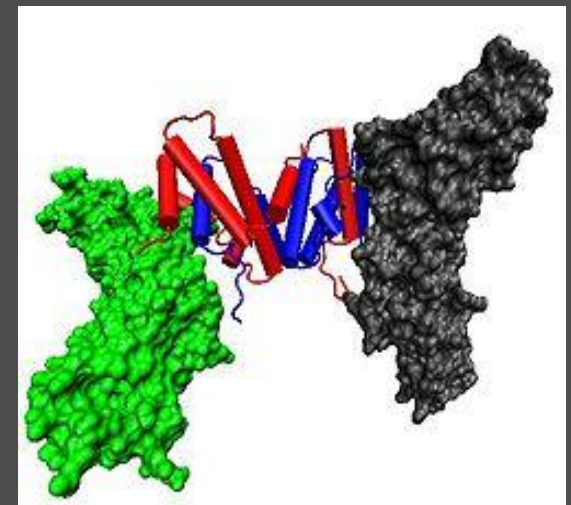
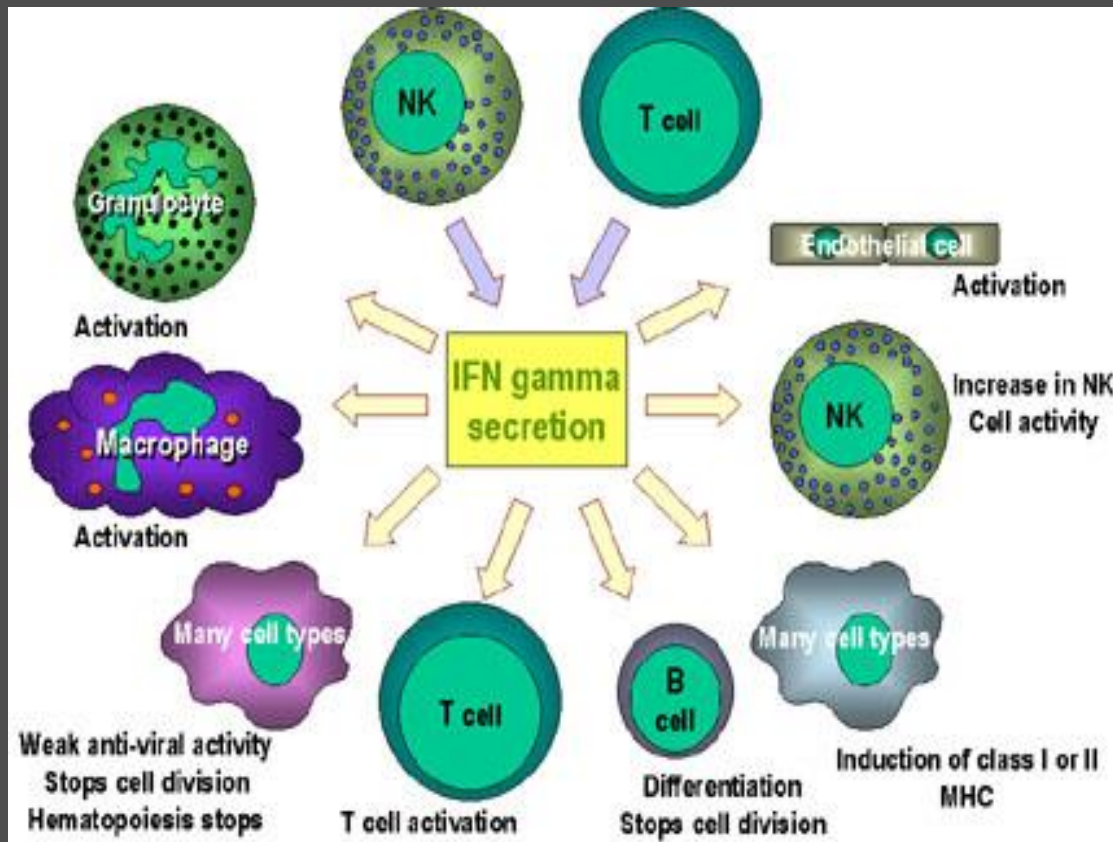


# Imunosuprese – důvod?

- Imunosuprese – fyziologická odpověď - eliminace prozánětlivé aktivity způsobené infekcí
- Patologická odpověď způsobená interakcí makroorganismu a infekčního agens

# IFN $\gamma$

## SPC-chronická granulomatózní choroba



# Interferon $\gamma$

- **Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )** is an integral and critical molecule of the immune system, with multiple functions, mostly related to the T helper type 1(Th1) response to infection. It is critical for defence **against mycobacterial infection** and is of increasing interest in defence **against fungi**.
- Over 347 IFN- $\gamma$  gene variants have been described, in multiple ethnic populations.
- Recombinant IFN- $\gamma$  administration is licensed for the prophylaxis of infection (bacterial and fungal) in patients with the **phagocyte functional deficiency syndrome chronic granulomatous disease**

# Interferon $\gamma$

- Interferon- $\gamma$  therapy is given to patients with profound defects in IFN- $\gamma$  and interleukin-12 production and appears to be beneficial for patients with **invasive aspergillosis and cryptococcal meningitis**
- A high proportion of patients with chronic pulmonary aspergillosis are poor producers of IFN- $\gamma$  in response to multiple stimuli and could also benefit from IFN- $\gamma$  administration.

# Endotoxinová tolerance

- Experimentální modely na myších a následně pokusy in vitro demonstrovaly, že monocyty a makrofágy, které byly vystaveny primární dávce endotoxinu, nereagují na dávku následnou. Důsledkem je zásadní snížení schopnosti produkovat TNF- $\alpha$  po sekundární stimulaci endotoxinem (Dobrovolskaia 2002, Biswas 2007, del Fresno 2009, Foster 2007).
- Stav endotoxinové tolerance není ovšem charakteristický pouze pro pacienty se sepsí. Podobně je tomu u pacientů s traumatem, u stavů spojených s ischemií jater a ledvin, akutních koronárních sy, cystické fibrózy.



# Endotoxinová tolerance

- Endotoxinová tolerance představuje obecný mechanismus imunosuprese napříč spektrem různých onemocnění s výrazným vlivem na konečný klinický výsledek.

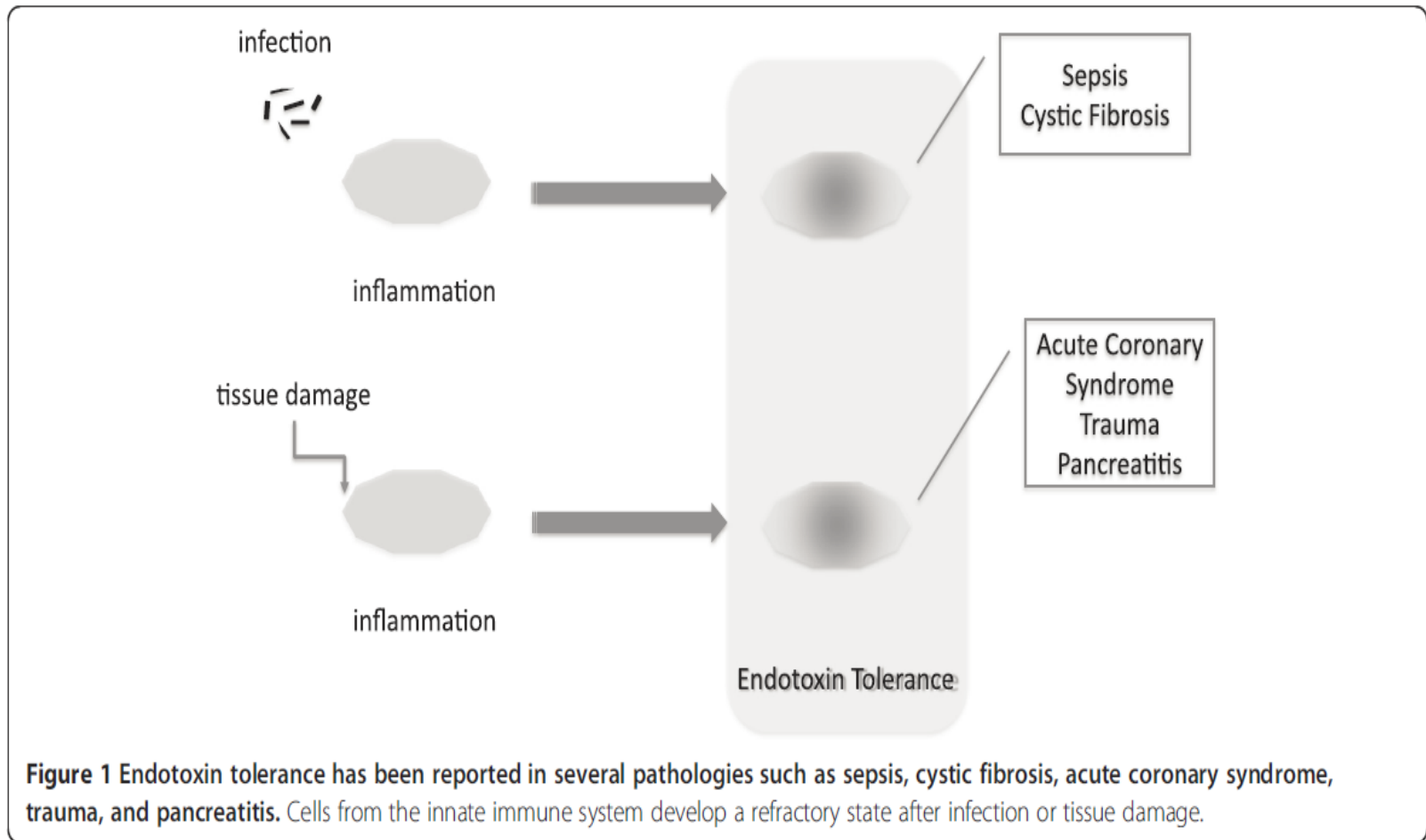
López-Collazo and del Fresno *Critical Care* 2013, 17:242  
<http://ccforum.com/content/17/6/242>



## REVIEW

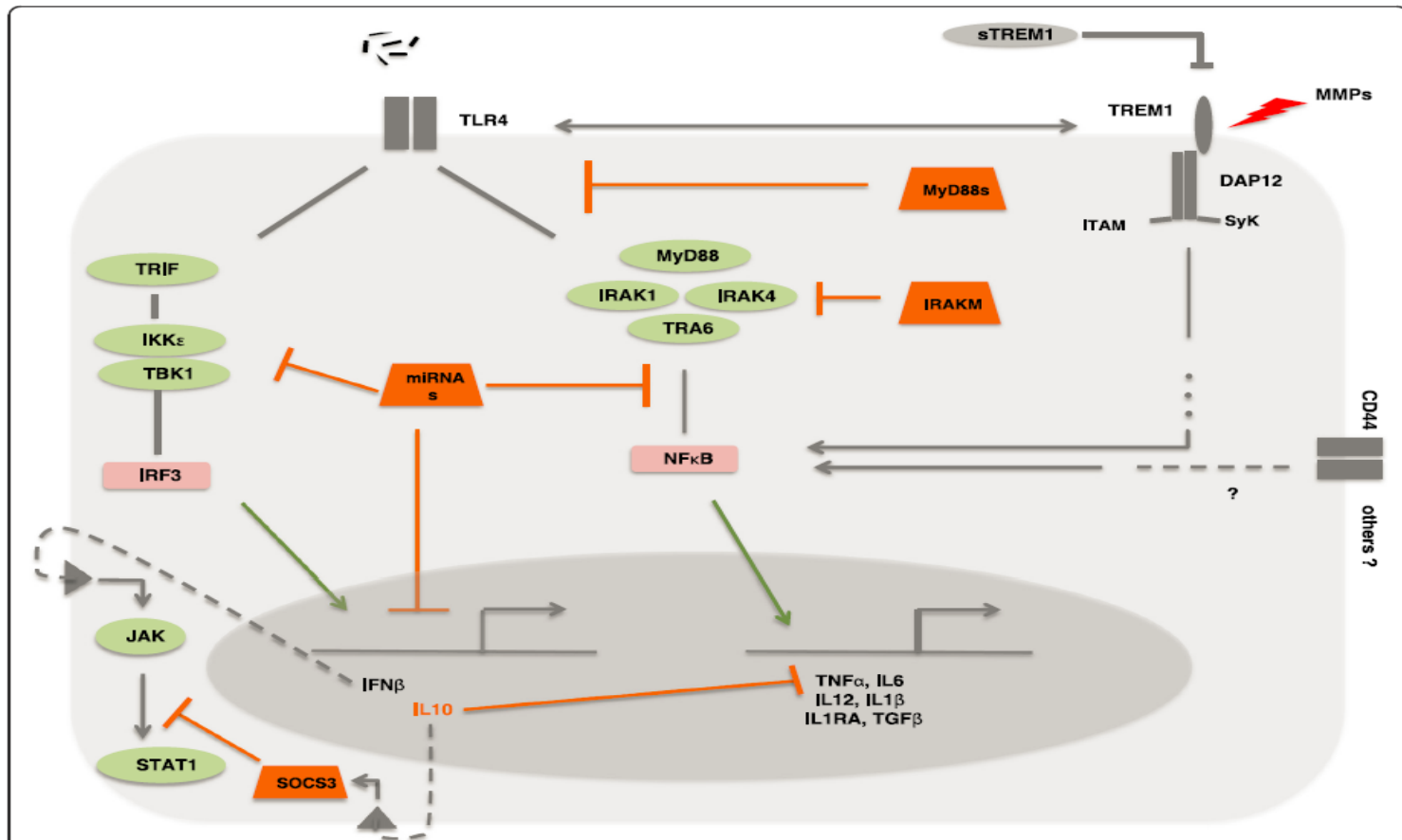
# Pathophysiology of endotoxin tolerance: mechanisms and clinical consequences

Eduardo López-Collazo<sup>1\*</sup> and Carlos del Fresno<sup>2</sup>



**Figure 1** Endotoxin tolerance has been reported in several pathologies such as sepsis, cystic fibrosis, acute coronary syndrome, trauma, and pancreatitis. Cells from the innate immune system develop a refractory state after infection or tissue damage.

# Molekulární mechanismy zúčastnění v procesu navození endotoxinové tolerance



**Figure 3 Molecular mechanisms implicated in endotoxin tolerance.** DAP12, DNAX activation protein of 12 kDa; IFNβ, interferon-beta; IL, interleukin; IKK, IκB kinase; IRAK, interleukin-1 receptor-associated kinase; IRF3, interferon regulatory transcription factor 3; ITAM, immunoreceptor tyrosine-based activation motif; JAK, Janus kinase; miRNA, microRNA; MMP, matrix metalloproteinase; MyD88, myeloid differentiation primary response gene 88; NF-κB, nuclear factor-kappa-B; SOCS3, suppressor of cytokine signaling proteins 3; STAT1, signal transducer and activator of transcription 1; sTREM1, soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1; SyK, Spleen tyrosine kinase; TBK1, TANK-binding kinase 1; TGFβ, transforming growth factor-beta; TLR4, Toll-like receptor 4; TNF-α, tumor necrosis factor-alpha; TRAF6, TNF receptor associated factor (TRAF) protein family 6; TREM1, triggering receptor expressed on myeloid cells 1; TRIF, TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β.

# Cílená aplikace γ interferonu – vytypování vhodných pacientů

PLoS One. 2013 Jul 11;8(7):e68218. doi: 10.1371/journal.pone.0068218. Print 2013.

## Identification of biomarkers of response to IFN $\gamma$ during endotoxin tolerance: application to septic shock.

Allantaz-Frager F<sup>1</sup>, Turrel-Davin E, Venet E, Monnin C, De Saint Jean A, Barbalat V, Cerrato E, Pachot A, Lepape A, Monneret G.

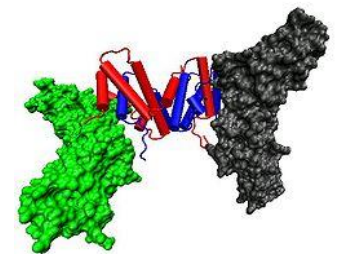
### ⊕ Author information

### Erratum in

PLoS One. 2013;8(12). doi:10.1371/annotation/5cdfb251-b4ab-4346-b64d-589a3344ef78.

### Abstract

The rapid development in septic patients of features of marked immunosuppression associated with increased risk of nosocomial infections and mortality represents the rationale for the initiation of immune targeted treatments in sepsis. However, as there is no clinical sign of immune dysfunctions, the current challenge is to develop biomarkers that will help clinicians identify the patients that would benefit from immunotherapy and monitor its efficacy. Using an *in vitro* model of endotoxin tolerance (ET), a pivotal feature of sepsis-induced immunosuppression in monocytes, we identified using gene expression profiling by microarray a panel of transcripts associated with the development of ET which expression was restored after immunostimulation with interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ). These results were confirmed by qRT-PCR. Importantly, this short-list of markers was further evaluated in patients. Of these transcripts, six (TNFAIP6, FCN1, CXCL10, GBP1, CXCL5 and PID1) were differentially expressed in septic patients' blood compared to healthy blood upon *ex vivo* LPS stimulation and were restored by IFN- $\gamma$ . In this study, by combining a microarray approach in an *in vitro* model and a validation in clinical samples, we identified a panel of six new transcripts that could be used for the identification of septic patients eligible for IFN $\gamma$  therapy. Along with the previously identified markers TNF $\alpha$ , IL10 and HLA-DRA, the potential value of these markers should now be evaluated in a larger cohort of patients. Upon favorable results, they could serve as stratification tools prior to immunostimulatory treatment and to monitor drug efficacy.



# Deficit $\gamma$ interferonu u mykotických infekcí

[BMC Infect Dis](#). 2014 Mar 26;14:166. doi: 10.1186/1471-2334-14-166.

## Interferon-gamma as adjunctive immunotherapy for invasive fungal infections: a case series.

[Delsing CE](#), [Gresnigt MS](#), [Leentjens J](#), [Preijers F](#), [Frager FA](#), [Kox M](#), [Monneret G](#), [Venet F](#), [Bleeker-Rovers CP](#), [van de Veerdonk FL](#), [Pickkers P](#), [Pachot A](#), [Kullberg BJ](#), [Netea MG](#)<sup>1</sup>.

### Author information

#### Abstract

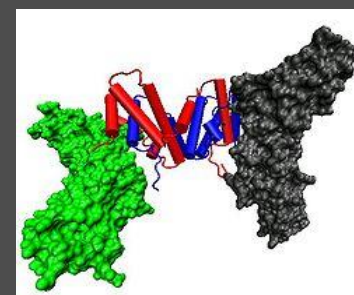
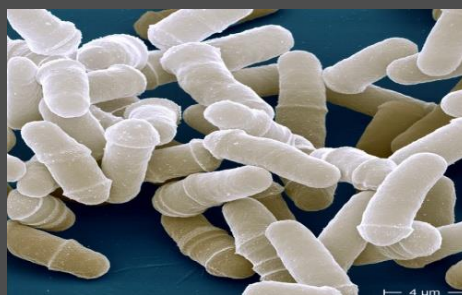
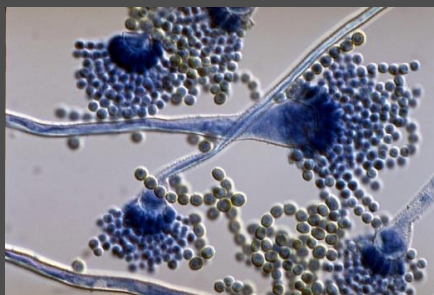
**BACKGROUND:** Invasive fungal infections are very severe infections associated with high mortality rates, despite the availability of new classes of antifungal agents. Based on pathophysiological mechanisms and limited pre-clinical and clinical data, adjunctive immune-stimulatory therapy with interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) may represent a promising candidate to improve outcome of invasive fungal infections by enhancing host defence mechanisms.

**METHODS:** In this open-label, prospective case series, we describe eight patients with invasive *Candida* and/or *Aspergillus* infections who were treated with recombinant IFN- $\gamma$  (rIFN- $\gamma$ , 100  $\mu$ g s.c., thrice a week) for 2 weeks in addition to standard antifungal therapy.

**RESULTS:** Recombinant IFN- $\gamma$  treatment in patients with invasive *Candida* and/or *Aspergillus* infections partially restored immune function, as characterized by an increased HLA-DR expression in those patients with a baseline expression below 50%, and an enhanced capacity of leukocytes from treated patients to produce proinflammatory cytokines involved in antifungal defence.

**CONCLUSIONS:** The present study provides evidence that adjunctive immunotherapy with IFN- $\gamma$  can restore immune function in fungal sepsis patients, warranting future clinical studies to assess its potential clinical benefit.

**TRIAL REGISTRATION:** [ClinicalTrials.gov--NCT01270490](#).



*Am J Transplant*. 2010 Aug;10(8):1796-803. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03094.x. Epub 2010 Mar 26.

## **Exogenous interferon-gamma immunotherapy for invasive fungal infections in kidney transplant patients.**

Armstrong-James D<sup>1</sup>, Teo IA, Shrivastava S, Petrou MA, Taube D, Dorling A, Shaunak S.

### **⊕ Author information**

#### **Abstract**

The incidence of invasive fungal infections (IFIs) in nonneutropenic solid organ transplant patients is increasing. We report our clinical experience with the use of interferon-gamma (IFN-gamma) immunotherapy in seven renal transplant patients who developed life threatening, disseminated IFIs refractory to conventional antifungal drug therapy. The infections were all microbiologically and histologically proven. The rapid cure of these disseminated infections with exogenous IFN-gamma injections was not associated with impaired kidney allograft function despite the use of liposomal amphotericin B in all cases. No clinical toxicity from the IFN-gamma immunotherapy was seen and no IFI relapsed during long-term follow-up. Our experience is both uncontrolled and in patients with unpredictable fungal infection-related outcomes. However, compared to standard approaches, the accelerated cure of life threatening, disseminated IFIs with 6 weeks of combination antifungal drug therapy and IFN-gamma immunotherapy saved lives, retained allograft function and led to substantial cost savings in this small patient group.

#### **Comment in**

Immunotherapy for invasive fungal infections in transplant patients: back to the future? [*Am J Transplant*. 2010]

# SNPs γ interferonu jsou asociovány s protekcí nebo progresí sepse navozenou pneumonií – čínská studie

PLoS One. 2014 Jan 24;9(1):e87049. doi: 10.1371/journal.pone.0087049. eCollection 2014.

## Functional polymorphisms of interferon-gamma affect pneumonia-induced sepsis.

Wang D<sup>1</sup>, Zhong X<sup>2</sup>, Huang D<sup>2</sup>, Chen R<sup>3</sup>, Bai G<sup>2</sup>, Li Q<sup>1</sup>, Yu B<sup>1</sup>, Fan Y<sup>1</sup>, Sun X<sup>1</sup>.

### ⊕ Author information

#### Abstract

**OBJECTIVE:** Sepsis is an inflammatory syndrome caused by infection, and both its incidence and mortality are high. Because interferon-gamma (IFN-γ) plays an important role in inflammation, this work assessed IFN-γ single nucleotide polymorphism (SNPs) that may be associated with sepsis.

**METHODS:** A total of 196 patients with pneumonia-induced sepsis and 213 age- and sex-matched healthy volunteers participated in our study from July 2012 to July 2013 in Guangzhou, China. Patient clinical information was collected. Clinical pathology was assessed in subgroups defined based on clinical criteria, APACHE II (acute physiology and chronic health evaluation) and SOFA (sepsis-related organ failure assessment) scores and discharge rate. Four functional SNPs, -1616T/C (rs2069705), -764G/C (rs2069707), +874A/T (rs2430561) and +3234C/T (rs2069718), were genotyped by Snapshot in both sepsis patients and healthy controls. Pearson's chi-square test or Fisher's exact test were used to analyze the distribution of the SNPs, and the probability values (P values), odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated.

**RESULTS:** No mutations in the IFN-γ -764G/C SNP were detected among the participants in our study. The +874A/T and +3234C/T SNPs were in strong linkage disequilibrium (LD) ( $r^2=0.894$ ). The -1616 TC+TT, +874 AT+AA genotype and the TAC haplotype were significantly associated with sepsis susceptibility, while the CTT haplotype was associated with protection against sepsis incidence. Genotype of -1616 TT wasn't only protective against severity of sepsis, but also against higher APACHE II and SOFA scores as +874 AA and +3234 CC. The TAC haplotype was protective against progression to severe sepsis either.

**CONCLUSION:** Our results suggest that functional IFN-γ SNPs and their haplotypes are associated with pneumonia-induced sepsis.



# Kazuistika 1

- 63-letý pacient, DM 2. typu na PAD, od 25.12. silné bolesti v celém rozsahu páteře, poté během dnů, posléze zhoršování hybnosti HKK i DKK do obrazu quadruplegie včetně dysartrie, dysfagie . Na statim MR C páteře těžká komprese míchy charakteru epidurálního empyemu ve výši C1 a C2.
- Negoval teploty, třesavky, CRP 390, leukocytosa 25 s neutrofilii
- Pac. aplikovány antivirotika, ATB, kortikoidy. Před transportem zaintubován
- Přijat na NCH JIP. Operační výkon **1.1.2016:** dekomprese C páteře ze zadního přístupu, evakuace tekuté složky abscesu za tělem C1 a C2; v perioperačním materiálu potvrzen St. aureus, který i v odebraném likvoru

- Pacient nadále tlumen, na UPV, od 31.12.2015 na ATB terapii, od 1.1. cílená protistafylokoková léčba
- 5.1. provedena tracheostomie; již na MR snímcích z referujícího pracoviště, posléze na CT krku s k.l. a při endoskopickém ORL vyšetření patrné v.s. abscesové ložisko v obl. hypofaryngu vlevo, které při odstranění prasklo, bez nálezu cizího tělesa
- 7.1. provedena MR mozku, krku a celé páteře, kde epidurální empyem v rozsahu celé hrudní i bederní páteře, kraniálně od C6/7; drobné vícečetné abscesy v paravertebrálních svalech krční i bederní oblasti i prevertebrálně v krční oblasti (C4/5)

- **20.1.2016** prezentován výsledek na NCH hlášení - není operační řešení, doporučen konzervativní postup; ventilačně změna charakteru sputa, tendence k tvorbě atelektáz, též zvýšena antidepressivní terapie
- **24.1.** s imunologem indikujeme **interferon gamma - Imukin**
- **28.1.** zhoršení poslechového nálezu vpravo, mírný pokles zánětlivých parametrů, změna ATB pro plicní infekci vpravo, **další aplikace Imukinu**
- **30.1.** zlepšení nálezu, pokles teplot; operační rána na šíji nezhojena, krvavé prosakování susp. s likvorem

- **31.1.** epistaxe, stále prosak. op. rány na krku
- **1.2.** podána další dávka Imukinu
- **3.2.** dle kontrolního panelu sepse stav bez immunoparalýzy; kontrolní SEPy s výsledkem jak centrálního, tak periferního poškození, prognosticky nepříznivé
- **8.2.** depresivní, neurologické konsilium
- **10.2.** stav bez vývoje, provedeno kontrolní MR C páteře; poškození struktur C páteře a C míchy spíše v progresi, a to i přes ATB terapii, immunomodulaci a intenzivní péči ARO

# Kazuistika 2

Stav po urgentní KCH operaci pro jinak neřešitelnou endokarditidu (enterococcus), po těžkém pooperačním průběhu. Komplikována CMP. (březen 2016)

- AVR bio s komplikovaným poop. průběhem (seps, ren. insuff.), dále na ARO NNH oběhově i ventilačně relat. stabilizovaná, pokračující CRRT, ATB terapie septického stavu (mediastinitis); etiologicky – C.albicans
- 5.4. CRRT ukončena; následující dny zlepšené vědomí, postupný weaning, zlepšující se spolupráce
- 16.4. rozpuštění sternotomie-revize, VAC systém, ATB krytí 24 hod; postupující weaning, výměny VAC systému, rehabilitace
- 8.5. nasazen Meronem pro zajištění plastiky hrudníku, **provedeno imunologické vyšetření bez přítomnosti imunoparalýzy , bez humorálního ID, rozhodnuto o aplikaci Imukinu – provedeno 2x**

# Kazuistika 2

**30.5.** hemodynamicky stabilní, afebrilní. CT hrudník, břicho, v játrech zastižena vícečetná ložiska charakteru abscesu + drobné ložisko ve slezině; výměna invazí, ATB terapie Mero + Vanco + Fluko

**Od 6.6.** postupná progrese nálezů na břicho do klinického obrazu subileu, nativ břicha a CT břicha dne 7.6. s nálezem ileu tenkého střeva a coeka. 8.6 indikována k akutnímu chirurgickému řešení. Předtím pokus o vyloučení odstranitelné příčiny ileu koloskopicky, který nebyl úspěšný.

Dne 8.6. přistoupeno k chirurgickému řešení ileozního stavu s nálezem obstrukce v oblasti colon ascendens tumorem, makroskopicky lokálního rozsahu T4, chirurg navíc hodnotil nález na játrech jako metastázy a nikoliv jako abscesy.

# Souhrn

- Interferon  $\gamma$  představuje léčebnou možnost pro podpůrnou imunomodulační terapii u pacientů se sepsí
- Přítomnost imunoparalýzy není nezbytnou podmínkou pro jeho použití
- Preferenčně jeho podání u „chronických „ sepsí“
- Jeho cílené využití u selektované skupiny nemocných (mykotické infekce, stafylokokové sepse) představuje reálnou možnost personalizované medicíny

# Immunotherapy of sepsis: blind alley or call for personalized assesment?

Prucha M, Zazula R, Russwurm S



*Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 2016, in press*