

Міністерство охорони здоров'я України
Полтавський державний медичний університет

Затверджено»
на засіданні кафедри
Внутрішньої медицини №3 фтизіатрією
“ ” 20__
р.
Протокол № від
Завідувач кафедри
Доцент _____ к.мед.н. Борзих
О.А.

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТА ПІДГОТОВКИ ДО
ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

Навчальна дисципліна	Клінічна імунологія та алергологія
Модуль 4	Клінічна імунологія та алергологія
Змістовний модуль	Клінічна імунологія та алергологія
Тема заняття №8	Імунологія пухлин. Основні поняття про імунологію репродукції. Псевдоалергія.
Курс	П'ятий
Години	2

Методичні рекомендації до практичного заняття для самостійної роботи студентів під час підготовки до практичного заняття та на занятті підготувала: асистент кафедри внутрішньої медицини №3 з фтизіатрією Білько В.В.

Методичні рекомендації перезатверджені на засіданні кафедри внутрішньої медицини №3 з фтизіатрією_____

1. Актуальність теми.

Одна з найважливіших проблем імунології-імуноонкологія. Добре відомо, що у випадку пригнічення імунної системи вірогідність виникнення раку зростає в сотні і тисячі разів. Успіхи експериментальної онкології та імунології, багатий клінічний досвід дозволили досягти значних успіхів у вирішенні багатьох питань практичної онкології. Підтвердженням цього є зростання з кожним роком кількості хворих, практично вилікуваних від раку.

Успіх та результати лікування онкологічних хворих безпосередньо залежать від методів лікування, а головне-від своєчасного діагностування злоякісних пухлин. Отже, вивчення імунозалежних механізмів розвитку пухлин, знання ролі пробластомних та антибластомних факторів у виникненні і рості пухлини дає можливості для своєчасного виявлення та вибору методу лікування онкопатології.

Питання боротьби із злоякісними новоутвореннями є одним із основних в сучасній медицині і становить загальнодержавну задачу. Саме тому розробка і впровадження в клінічну практику нових сучасних методів імунодіагностики, імунотерапії та імунопрофілактики онкопатології є одним з найактуальніших питань сучасної медицини.

Загальна мета: вивчити основні аспекти імунопатогенезу онкологічних захворювань, ознайомитись з сучасними підходами до діагностики, імунотерапії та імунопрофілактики пухлин.

Конкретні цілі:

1. Інтерпретувати показники імунограм у онкологічних хворих з оцінкою антибластомних факторів захисту.
2. Оцінювати результати визначення пухлинасоційованих антигенів в імунодіагностиці пухлин та ранньому виявленні рецидивів.
3. Призначати імунотропну терапію в комплексній терапії пухлин.

Теоретичні питання до практичного заняття:

1. Етіологія та теорії розвитку пухлин.
2. Уявлення про протипухлинний імунітет.

3. Сучасні підходи до імунодіагностики онкологічних захворювань.
4. Поняття про пухлинасоційовані антигени.
5. Антибластомні та пробластомні механізми взаємодії імунної системи „хазяїна” та пухлини.
6. Фактори імунологічної резистентності пухлини.
7. Сучасні підходи до застосування імуноотропних препаратів у лікуванні онкологічних хворих.

Орієнтовна основа дії

Загальні положення

Підраховано, що за відносного благополуччя щодоби в організмі утворюється близько 10 мільйонів мутантних клітин. Мутагенез значно зростає під впливом багатьох несприятливих факторів. Так, цитостатики пригнічують активність природних кілерів (ПК), а іонізуюче випромінювання і токсичні хімічні речовини збільшують кількість мутантних клітин.

Перш за все слід відзначити, що імунна система завжди певним чином реагує на появу пухлинної тканини.

Доказом цього є такі факти:

- мононуклеарна клітинна інфільтрація пухлин;
- продукція антитіл і поява цитотоксичних Т-лімфоцитів;
- позитивні шкірні тести ГНТ (гіперчутливості негайного типу) і ГСТ (гіперчутливості сповільненого типу) на введення екстрактів із пухлинних клітин у онкохворих;
- тривалий розвиток пухлин (пухлини-свідки);
- випадки спонтанної регресії пухлин;
- активація ПК і макрофагів.

На тлі “позитивної” імунної відповіді, яка спрямована проти пухлини, на певному етапі розвитку пухлинними клітинами починають реалізовуватися механізми захисту. Малігнізовані клітини виділяють речовини, які сприяють індукції в організмі “негативної” імунної відповіді, що порушує роботу імунної системи хазяїна.

Всі пухлини можна умовно поділити на 3 групи:

1. Високоімуночутливі пухлини (наприклад, меланома, рак нирки і сечового міхура).
2. Середньоімуночутливі пухлини (зокрема, рак товстої кишки і лімфоми).
3. Низькоімуночутливі пухлини (наприклад, рак молочної залози і рак легень).

Пухлина формується і росте в умовах одночасного розгортання протилежно спрямованих реакцій. Динаміка пухлинного росту визначається рівновагою між факторами імунного нагляду і пробластомними факторами, які сприяють росту пухлини.

Етіологія пухлин

Агенти, що викликають утворення будь-яких пухлин, називаються **онкогенами**. Ті онкогени, що сприяють злоякісній трансформації, отримали назву **канцерогенів**.

Сьогодні прийнято виділяти 4 групи онкогенів:

I. Хімічні:

I.1. **Канцерогенні речовини** - сполуки, що вірогідно викликають утворення злоякісної пухлини або, принаймні, викликають збільшення частоти виникнення раку.

I.1.1. Викликають або зміни в ДНК - ушкодження пуринових і піримідинових основ, розриви полінуклеотидних ланцюгів і утворення перехресних зв'язків між ними, - або індукують хромосомні аберації (зокрема, делеції хромосом).

I.1.2. Діють епігенетично, викликаючи зміни в білках, що регулюють ріст клітини.

I.1.3. Діють синергічно з вірусами (дерепресія онкогенів) або слугують промоторами для канцерогенних речовин.

- I.2. Харчові онкогени.
- I.3. Онкогени-гормони:
 - I.3.1. естрогени;
 - I.3.2. глюкокортикоїди.

II. Фізичні: (різні види випромінювання, що призводять до розвитку пухлин, найбільше ймовірно, в результаті прямого впливу на ДНК або посередництвом активації клітинних онкогенів):

- I.4. Ультрафіолетове випромінювання.
- I.5. Рентгенівське випромінювання.
- I.6. Випромінювання радіоізотопів.
- I.7. Радіоактивне забруднення місцевості, що призводить до внутрішнього опромінення.

III. Вірусні:

- I.8. Онкогенні РНК-віруси: ретровіруси (онкорнавіруси).
- I.9. Онкогенні ДНК-віруси (віруси папіломи, Епштейна-Барр (EBV), гепатиту В).

IV. Генетичні: (здебільшого генетична схильність до розвитку новоутворень виникає у зв'язку з успадкованою втратою одного чи декількох генів супресії пухлини (табл.1).

Таблиця 1

Гени супресії пухлин у людини¹

Найменування гена	Хромосома	Захворювання
APC (аденоматозного	5q21	Сімейний поліпоз

поліпозу кишківника)		кишківника
Rb1 (ретинобластоми)	13q14	Ретинобластома, остеосаркома
WT-1 (пухлини Вільмса)	11p13	Пухлина Вільмса
p53	17p12-13	Пухлинний синдром Лі-Фромени ²
NF-1 (нейрофіброматозу) ³	17q11	Нейрофіброматоз (1 тип)
DCC (зазнає делеції при раці кишківника)	18q21	Рак кишківника

¹Гени супресії пухлин кодують синтез речовин, що регулюють ріст тканин. Як правило, втрата обох алелей гена призводить до розвитку пухлин, окрім p53 гена, для якого втрата навіть однієї алелі призведе до неоплазії

²При цьому синдромі спостерігається висока сімейна схильність до виникнення раку молочної залози, сарком і пухлин мозку як у дітей, так і в дорослих

³Існує також аналогічний ген (NF-2) і для II типу нейрофіброматозу, який локалізується в 22 хромосомі

Теорії розвитку пухлин

Сьогодні існують дві основні теорії, що пояснюють виникнення новоутворень - теорія моноклонального походження і теорія “пухлинного поля”.

I. Теорія моноклонального походження

Згідно з цією теорією первинний канцерогенний агент викликає мутацію лише однієї клітини. При її поділі утворюється пухлинний клон, який і є новоутворенням. Доведено, що при прогресуванні пухлини з початкового клону можуть розвиватися субклони з дещо відмінними властивостями. Це відбувається в результаті додаткових генетичних змін, які виникають на будь-яких етапах розвитку пухлини (так звані "багаторазові поштовхи").

II. Теорія “пухлинного поля”

Канцерогенний агент, впливаючи на велику кількість подібних клітин, може викликати утворення поля потенційно неопластичних клітин. В подальшому новоутворення розвивається в результаті розмноження тієї чи іншої кількості клітин усередині цього поля. В результаті виникає декілька відокремлених новоутворень, кожне з яких походить від певного клонального попередника. Утворення пухлинного поля може бути розцінене як перший із кількох послідовних етапів, які призводять до розвитку пухлини ("багаторазові поштовхи").

Для пояснення механізмів виникнення як пухлинного моноклону, так і “пухлинного поля” у даний час запропонована низка інших концепцій.

1. Концепція генетичних мутацій

Порушення в геномі, обумовлені спадковістю, спонтанною дією зовнішніх агентів або мутаціями, можуть викликати неоплазію, якщо ушкоджуються гени, що регулюють ріст і розмноження клітини. Пухлинна трансформація відбувається в результаті активації (або дерепресії) специфічних послідовностей ДНК, які відомі як ріст-регулюючі гени, або **протоонкогени**. Ці гени кодують низку факторів росту і рецепторів до них. Активація відбувається кількома способами:

а) **мутація** власне протоонкогена;

б) **транслокація** протоонкогена в більш активну частину генома, де регулюючі впливи активують його;

в) **вбудовування ДНК онкогенного вірусу** в активну частину геному;

г) **ампліфікація** (продукування багаторазово повторюваних копій протоонкогена);

д) **дерепресія** (втрата супресорного контролю над наявним протоонкогеном).

Постійно функціонально активний протоонкоген, що утворюється в результаті наведених механізмів, називається **клітинним онкогеном** (c-onc). Збільшення продукції стимулюючих факторів росту і їхніх рецепторів, зменшення інгібуючих (супресорних) факторів росту, продукція функціонально ненормальних факторів призводить до некерованого поділу клітин. Таким чином, на молекулярному рівні неоплазія є порушенням функції регулюючих ріст генів (протоонкогенів і супресорних генів, що керують їх активністю).

2. Концепція вірусних онкогенів

Деякі РНК-віруси (ретровіруси) містять послідовності нуклеотидів, що є комплементарними до протоонкогенів людини. При активації зворотної транскриптази на вірусній РНК синтезується ДНК, де вже містяться ідентичні протоонкогенам послідовності. Ці послідовності названі **вірусними онкогенами** (v-onc). Припускають, що онкогенні РНК-віруси здобувають v-onc за рахунок вбудовування протоонкогену клітини попереднього хазяїна у вірусну нуклеїнову кислоту шляхом рекомбінації. Такий механізм відбувається під час перебування вірусної ДНК у складі геному клітини хазяїна (етап інтеграції).

Онкогенні ДНК-віруси також містять послідовності, що функціонують як онкогени і вбудовуються безпосередньо в геном клітини.

3. Епігенетична концепція

Згідно з епігенетичною теорією, основне клітинне ушкодження відбувається не в генетичному апараті клітини, а в механізмах регуляції активності генів - в білках росту, які кодуються ріст-регулюючими генами. Різні рівні активності генів, що відповідальні за диференціювання тканин, визначаються спадковими епігенетичними механізмами. Основний доказ ролі епігенетичних механізмів у процесах онкогенезу виявляється при утворенні пухлин під впливом хімічних речовин, які не діють на генетичний апарат клітини. Ефект деяких з цих речовин полягає у зв'язуванні цитоплазматичних білків, зміни яких і сприяють виникненню деяких новоутворень.

4. Концепція відмови імунного нагляду

За цією теорією неопластичні зміни досить часто відбуваються в клітинах організму. У результаті ушкодження ДНК трансформовані клітини синтезують нові молекули (неоантигени, або пухлинні антигени). Імунна система організму розпізнає ці неоантигени як “чужі”, що призводить до реалізації цитотоксичної імунної відповіді, за рахунок чого знищуються неопластичні клітини. Новоутворення, що клінічно виявляються, виникають тільки в тому випадку, якщо вони не розпізнаються і вчасно не руйнуються імунною системою. Доказом цієї теорії є те, що висока частота виникнення пухлин спостерігається при імунodefіцитах і у пацієнтів, що отримують імуносупресивну терапію після трансплантації органів. Поясненням виникнення раку переважно в похилому віці є те, що в старості спостерігається прогресуюче зниження імунної реактивності на тлі виникнення чисельних дефектів репарації ДНК.

Проти даної теорії свідчать наступні факти. У мишей з недостатністю Т-клітинної ланки імунітету частота новоутворень не підвищується. У людей з імунodefіцитами розвиваються головним чином лімфоми, а не повний спектр різних пухлин. У людей після тимектомії не відмічено збільшення частоти виникнення новоутворень.

Онкогени і антионкогени

Важливо розуміти, що достатньо активації лише одного протоонкогену, щоб забезпечити можливість автономного росту, притаманного пухлинним клітинам. Сьогодні виділяють такі основні механізми виникнення онкогенів:

I. Вбудовування **вірусного онкогену** (Хр-хромосома; онк-онкоген), наприклад, ретровіруси містять онкогени *src*, *myc*, *ras* і *erb*.

II. Активація клітинного онкогена вбудованим вірусом, який сам не містить онкогенів. Пухлинна трансформація пов'язана з **виключенням супресорних впливів** на протоонкоген у зв'язку зі зміною просторового розміщення генів.

III. **Транслокація** генетичного матеріалу, що призводить до активації онкогена або утворення нового онкогена із фрагментів різних хромосом. В першому випадку транслокований онкоген виходить з-під контролю супресорного гена і підпадає під вплив постійно працюючого регуляторного гена в новому локусі. В другому випадку у місці розриву-з'єднання утворюється

новий химерний ген, що призводить до синтезу химерного білка (наприклад, білок bcr-abl при хронічному мієлолейкозі).

IV. Ампліфікація – збільшення числа копій протоонкогена. При цьому супресорні гени не в змозі контролювати всі наявні копії (зокрема, збільшення кількості копій гена тус при пухлинах нервової системи).

V. Мутація протоонкогену, що призводить до синтезу мутантного онкобілка. Утворений внаслідок мутації новий онкоген позбавлений регулюючих впливів.

VI. Інактивація гена-супресору пухлинного росту, що обумовлює постійну активність нормального протоонкогену.

Останніми роками відкрито важливу ланку канцерогенезу - порушення в системі генів-супресорів пухлин, які пригнічують активність протонкогенів. Головний їх представник - ген, що контролює синтез **білку p53** (літера **p** в назві походить від англійського слова protein, а цифра 53 – від молекулярної маси білка, яка складає 53 000 дальтон). Синтезований білок p53 контролює активність протоонкогенів, дозволяючи їй прояв тільки у суворо визначені періоди життя клітини, зокрема, за необхідності її поділу. p53 також контролює апоптоз, спрямовуючи клітину на “самогубство” у випадку ушкодження її генетичного апарату. За рахунок цього p53 стабілізує генетичну структуру клітини, запобігаючи появі шкідливих мутацій, у тому числі - пухлинонебезпечних. Онкогени деяких вірусів зв'язують p53 і інактивують його, що призводить до активації підзвітних протоонкогенів і відміни апоптозу, а, значить, до нагромадження мутацій у клітині, що створює субстрат не тільки для виникнення неоплазії, але й для пухлинної прогресії. Типи онкогенів і антионкогенів наведені в таблиці.

Таблиця 2.

Онкогени та антионкогени

Протоонкогени	Онкогени	Функції онкобілку

ген PDGF – фактору росту тромбоцитів ген EGF-R – рецептору епідермального фактора росту ген c-RAS – ген білку, що входить у систему передачі сигналу до клітини ген c-SRC – ген тирозинкінази, ключо-вої ланки в системі передачі сигналу до клітини ген c-MYC – ген ядерного фактору транскрипції	sis – онкоген вірусу саркоми мавп erb B – онкоген вірусу еритробластозу птахів ras - онкоген вірусу саркоми і багатьох пухлин тварин і людини src - онкоген вірусу саркоми птахів і ссавців myc - онкоген вірусу лейкозу птахів і багатьох пухлин людини і тварин	Ростовий фактор, аналог ростового фактору тромбоцитів “Божевільний” рецептор фактора росту, що безупинно надсилає сигнали до проліферації Цитоплазматичний пос-тійно активний передавач сигналів до клітини, які призводять до її про-ліферації Активований передавач сигналів, які викликають проліферацію клітини Ядерний фактор, активність якого призводить до безупинного поділу клітин
Антионкогени	Трансформуючий фактор	Функція білка
RB	Мутація або втрата	Ядерний білок. Мутації призводять до

p53	Мутація інактивація	звільнення онкогенів і клітинного поділу Ядерний білок. Мутація призводить до безсмертя клітини, збереження мутацій у геномі і до клітинної проліферації
-----	------------------------	--

Морфогенез пухлин

Багаторазові поштовхи і чисельні фактори. Knudson запропонував теорію, згідно з якою для розвитку пухлини необхідно принаймні два поштовхи. Перший викликає пухлинну трансформацію і пов'язаний з дією канцерогенного агента. Цей момент називається **ініціюванням**, а канцерогенна речовина, що викликає цю зміну, — **ініціатором**. Другий вплив стимулює ріст неоплазії і називається **промоцією**, а агент — **промотором**.

Сьогодні доведено факт існування не двох, а багатьох етапів становлення пухлини, які образно називаються "**багаторазовими поштовхами**" (їх може бути 5 і більше). Дуже багато факторів можуть викликати ці поштовхи, і кожний поштовх обумовлює появу певних змін в геномі пухлинної клітини, які передаються потомству (неопластичному клону). Період між першим поштовхом і виникненням клінічно маніфестної пухлини називаються **прихованим**. У тих жителів Хіросіми і Нагасакі, що залишилися живими після атомного бомбардування, найбільше число випадків лейкемії зареєстровано не одразу після вибухів, а тільки через 10 років, а випадки раку виникали ще на 20 років пізніше.

Як було відзначено, прихований період охоплює проміжок часу між ініціюванням канцерогенного процесу і клінічним виявленням пухлини. Послідовні "багаторазові поштовхи", які є необхідною частиною канцерогенезу, відбуваються протягом першої частини цього періоду, що триває від декількох років до кількох десятиліть. У результаті цього утвориться перша неопластична клітина. При наступному поділі цієї клітини і її потомства (злоякісного клону) утвориться новоутворення, що проявиться клінічно (в середньому - 109 клітин). Період безсимптомної пухлинної проліферації триває

ще декілька місяців (років), складаючи останній етап прихованого періоду. У більшості випадків на цих етапах не виявляється жодного клінічного або морфологічного порушення. Однак, у деяких випадках визначаються проміжні стани, що характеризуються особливим типом росту, який відрізняється від неопластичного. Такі зміни називаються **передпухлинними** (табл.3).

Таблиця 3

Передпухлинні стани

Передпухлинні стани	Пухлина
Гіперплазія ендометрія	Рак ендометрія
Часточкова і протокова гіперплазії	Рак молочної залози
Цироз печінки	Гепатоцелюлярний рак
Дисплазія: ¹ • шийки матки; • шкіри; • сечового міхура; • епітелія бронхів;	Плоскоклітинний рак. Плоскоклітинний рак. Перехідноклітинний рак. Рак легені.
Метаплазія: ²	
Залозиста метаплазія стравоходу;	Аденокарцинома.
Запальні процеси: - виразковий коліт; - атрофічний гастрит; - аутоімунний тиреоїдит (Хашимото)	Рак кишечника Рак шлунку Рак щитовидної залози

¹Первинна дисплазія - дисплазія звичайно передуює малігнізації у всіх наведених випадках.

²*Власне метаблазія не є передпухлинним станом, але може переходити в дисплазію, яка таким станом є.*

Особливості поверхневих структур пухлинних клітин

Онкофетальні антигени. На поверхні всіх клітин знаходяться антигени, що виконують різноманітні функції, необхідні для забезпечення життєдіяльності. Кілька антигенів, пов'язаних з людськими пухлинами, присутні у фетальних тканинах, але відсутні у відповідних тканинах дорослого. Це **онкофетальні** антигени. Їм належить надзвичайно важлива роль у пухлинному рості. У фетальних тканинах ці антигени присутні у вигляді поліпептидів, які забезпечують клітинам особливо ефективний метаболізм. Після народження гени, що кодують ці поліпептиди, втрачають свою активність і синтез фетальних антигенів припиняється.

У пухлинних клітинах повторно активуються гени, що функціонують тільки у фетальних тканинах. Але, на відміну від фетальних, онкофетальні антигени є глікопротеїнами. Вуглеводний залишок з'являється в результаті посттрансляційного глікозилювання фетальних білків. Онкофетальні антигени присутні в спонтанних, індукованих хімічними канцерогенами і вірусіндукованих пухлинах. Вони забезпечують підвищений метаболізм пухлинних клітин. Класичними онкофетальними антигенами є **α -фетопротейн** при гепатоцелюлярній карциномі і **раково-ембріональний антиген** при злоякісних пухлинах товстої кишки, лабораторне визначення яких у плазмі крові може використовуватися у якості скринінгового методу.

Специфічні пухлинні антигени. Поки що відомо зовсім небагато таких антигенів, які були б присутні на пухлинних клітинах і ніколи не з'являлися на нормальних. Такі антигени називаються **специфічними**. Саме вони сприяють найбільш ефективній імунній відповіді. Найбільш вивченими є пухлинні антигени генетичних родин MAGE і BAGE.

Розчинні пухлинні антигени. Деякі антигени пухлини здатні залишати цитолему її клітин і циркулювати у внутрішньому середовищі у вигляді розчинних форм. Такі антигени “відволікають” імунну систему, сприяючи невиправданому використанню імунних факторів.

Токсинвивідний глікопротеїн. Глікопротеїн Р (від англ. permeability - проникність) знаходиться у плазматичній мембрані і слугує для видалення з клітин метаболічних токсинів. Завдяки інтенсивному синтезу цього

глікопротеїну в пухлинних клітинах розвивається феномен множинної лікарської стійкості. Клітини злоякісних новоутворень швидко й ефективно виводять хіміотерапевтичні засоби, що застосовуються для їхнього знищення.

Вуглеводи. У структурі вуглеводів, як і в структурі нуклеїнових кислот та білків, закладена важлива біологічна інформація. Вуглеводи мають найвищу інформаційну ємність, оскільки для них характерна найбільша структурна різноманітність. З двох ідентичних моноцукрів можуть утворитися одинадцять різних дицукрів, тоді як дві амінокислоти дають лише один дипептид. Зчитування вуглеводних “слів” засновано на варіабельності цукрових субодиниць, розходженнях у зв'язках між ними, наявності крапок розгалуження. Так, набір вуглеводів ракових клітин різко відрізняється від такого у нормальних клітин і є маркером пухлини. Поверхневі вуглеводи неопластичних клітин сприяють ефективному метастазуванню. Проникнувши в кровоносне русло, пухлинна клітина певний час циркулює у крові. Залишити кровоносне русло пухлинна клітина може тільки через стінку вени. Тут вони зв'язуються з Е-селектинами ендотеліальних клітин, і через міжклітинні проміжки у ендотелії залишають кровоносну судину. Таким шляхом пухлинна клітина потрапляє в інші органи і тканини, утворюючи метастази. Лише 1 з 10000 клітин, що залишили первинну пухлину, виживає і дає початок новій колонії. На своїй поверхні пухлинні клітини мають клітинні адгезивні молекули, що містять вуглеводний компонент (скорочено **CAM**, від англ. cell-adhesion molecules), які при метастазуванні прикріплюються до CAM тих органів і тканин, з якими вони мають найбільшу подібність. Чим краще в таких органах розвинута капілярна мережа, тим частіше там бувають метастази. Цими особливостями і визначається типове метастазування певних пухлин у визначені органи і тканини. CAM і імуноглобуліни мають структурну гомологію, тому вважають, що імуноглобуліни походять від CAM.

Лектини також відіграють певну роль у рості пухлини. Вони зв'язуються з поверхневими вуглеводами ракових клітин і маскують пухлину від імунної системи. З іншого боку, блокада поверхневих структур унеможливорює взаємодію з тканинним матриксом, а тому погіршує умови для метастазування.

Вторинні пухлини швидше метастазують, тому що їхня судинна мережа розвивається в результаті самоіндукованого ангіогенезу і тому є легко проникливою.

Інші чинники. Пухлинні клітини виділяють **фактор стимулювання ангіогенезу** і тому мають добре розвинуту капілярну мережу. За рахунок цього забезпечується достатнє для швидко проліферуючих клітин надходження

поживних речовин і факторів росту. Окрім того, пухлинні клітини містять більше **рецепторів до факторів росту**. У зв'язку з цим вони стають надзвичайно чутливими до проліферативних сигналів, які виникають в організмі для забезпечення процесів самооновлення та репарації. Це дозволяє пухлині підтримувати інтенсивний клітинний поділ.

Клітинні механізми протипухлинного імунного захисту

Роль Т-лімфоцитів. Головним елементом активного протипухлинного захисту є **цитотоксичні Т-лімфоцити**, або Т-кілери (від англ. killer - убивця). Розпізнавання пухлини Т-кілерами визначається наявністю на пухлинних клітинах специфічних антигенів, за якими вони відрізняються від здорових клітин. Здатність Т-кілерів реагувати на пухлинні клітини також залежить від експресії молекул HLA I класу.

Механізм цитотоксичної дії Т-клітин полягає у наступному. Т-кілер, зв'язавшись своїм рецептором антигенного розпізнавання з комплексом пептид - HLA I класу пухлинної клітини, вступає з нею в щільний контакт, для чого необхідні іони Mg^{2+} . Після цього відбувається виділення пошкоджуючого білку, який названий **перфорином**. Мономери перфोरину вбудовуються в мембрану пухлинної клітини і за присутності іонів Ca^{2+} полімеризуються, утворюючи наскрізні канали (**патологічні пори**). Через перфоринові пори до клітини надходять спеціальні ферменти Т-кілерів – **гранзими**, призначені для активації каспазного каскаду самоліквідації клітини-мішені. Індукція апоптозу можлива й іншим шляхом – при взаємодії **Fas-ліганда**, що міститься на цитолемі Т-кілера, з **молекулою Fas** пухлинної клітини. Обидва описані ефекторні механізми, будучи досить ефективними, мають суттєвий недолік, оскільки вимагають збереження молекулярної системи апоптозу у пухлинній клітині. Цілком зрозуміло, що неопластичні клітини, яким характерна анаплазія, можуть втратити здатність синтезу компонентів каспазного каскаду, що унеможливорює індукцію апоптозу. Проте і в такому разі забезпечується знешкодження пухлинних клітин. Механізм знищення пов'язаний з надходженням до клітини надлишкової кількості води через утворені стабільні трансмембранні канали. Переміщення води обумовлено підвищеною осмолярністю цитоплазми, яка у порівнянні із тканинною рідиною є гіпертонічним розчином. У зв'язку з водним перенавантаженням внутрішньоклітинний тиск прогресуюче зростає і пухлинна клітина постійно збільшується у розмірах. При цьому настає момент, коли напруга мембрани досягає критичного рівня і, зрештою, цитолема розривається,

а вміст клітини надходить до тканинної рідини. Загибель за таким механізмом називається **осмотичним лізисом**. Слід зазначити, що через перфоринові пори відбувається втрата клітиною важливих метаболітів, що пригнічує її обмін речовин, а також відбувається порушення фізіологічної іонної асиметрії між цитоплазмою та тканинною рідиною, що негативно відбивається, перш за все, на функціонуванні мембранних транспортних систем. За рахунок цього пригнічується життєдіяльність пухлинної клітини, а, значить, унеможлиблюється її активна протидія цитотоксичному впливу. Слід зауважити, що Т-кілер здатний знищити лише декілька пухлинних клітин, після чого в ньому виснажуються запаси енергії і перфоринів, і він гине сам.

Останнім часом описані шляхи впливу **Т-хелперів 1 типу** на злоякісні клітини. Вони полягають у синтезі **факторів некрозу пухлини** (α і β), які при взаємодії з відповідними рецепторами пухлин (зокрема, з рецептором p55) індукують апоптоз їх клітин. У разі неефективності цього механізму спрацьовує альтернативний шлях – виділення **γ -інтерферону** і реалізація його протипухлинної активності. Зокрема, γ -інтерферон стимулює природні кілери та макрофаги, які вторинно залучаються до імунної реакції проти пухлини. Крім того, даний цитокін пригнічує ангіогенез новоутворення та посилює експресію ним тих молекул гістосумісності (HLA-A), у складі яких ефективно виявляються пухлинні пептиди цитотоксичними Т-лімфоцитами. Завдяки цьому неоплазія стає доступнішою для імунологічного розпізнавання. Реальний внесок ефекторних механізмів Т-хелперів 1 типу у протипухлинний захист з'ясовується.

Природні кілери. Важливим елементом протипухлинного захисту є **природні кілери** (ПК), або NK-клітини (від англ. - natural killer). Вони не містять рецепторів антигенного розпізнавання, а здійснюють відбір “кандидатів” на знищення згідно з експресією молекул HLA I класу. На поверхні цих клітин містяться так звані **лектинові рецептори**, які розпізнають мембранні вуглеводні залишки, що вивільняються у трансформованих клітинах внаслідок втрати екрануючих молекул. Однак цього стимулу недостатньо для активації ПК. Справа в тому, що природні кілери містять **кілінг-інгібуючий рецептор**, який здатний взаємодіяти з молекулами HLA I і відмінити активацію. Тому ПК проявляє свій ефект тільки за умови порушеної експресії молекул HLA I у клітини-мішені, що притаманно пухлинним клітинам.

Завдяки неспецифічності розпізнавання ПК здатні вбивати неопластичні клітини без попередньої сенсibilізації до пухлинних антигенів, яка включає

тривалі (4-5 днів) і складні механізми взаємодії клітин, задіяних в імунній відповіді.

Ефекторний механізм ПК полягає у вивільненні мономерів перфोरину, які вбудовуються у цитолему клітини-мішені, та введенні гранзимів до цитоплазми пухлинної клітини. ПК, на відміну від Т-кілерів, не експресують Fas-ліганда.

Відомо, що пухлинні клітини для уникнення розпізнавання Т-кілерами здатні припиняти експресію HLA I. В такому разі до протипухлинного захисту залучаються природні кілери, які здійснюють неспецифічне розпізнавання.

ЛАК-клітини. Знищувати пухлинні клітини можуть і активовані лімфоцити, так звані **лімфокіном активовані кілери (ЛАК)**, або **ЛАК-клітини** (від англ. lymphokine activated killer). ЛАК-клітини походять з "нульової" популяції лімфоцитів і цим подібні до природних кілерів. Як і ПК, вони знищують пухлинні клітини без попереднього розпізнавання специфічних антигенів. Окрім того, для них є не обов'язковою відсутність молекул HLA I на клітині-мішені. Отримуються такі клітини штучним шляхом – при обробці культури великих гранулярних лімфоцитів **інтерлейкіном 2**. Слід зазначити, великі дози інтерлейкіну 2, введені до організму, викликають виразний токсичний ефект, який проявляється набряком тканин. Роль ЛАК у природній імунній відповіді вивчається.

Макрофаги. Пухлинні клітини синтезують фактор, що пригнічує міграцію макрофагів (скорочено - МІФ, **міграцію інгібуючий фактор**). МІФ у пухлинному рості виконує одночасно дві важливі функції. Під дією цього цитокіна макрофаги, що надійшли до пухлини, втрачають свою рухливість, зберігаючи здатність синтезувати біологічно активні речовини. Отже, з одного боку МІФ позбавляє макрофагів можливості передати інформацію про виявлену пухлину імунокомпетентним клітинам (Т-хелперам), а з іншого - дозволяє пухлині використовувати нерухомий макрофаг як фабрику з виробництва активатору плазмінотена. Завдяки синтезованому активатору плазмінотена пухлинні клітини здобувають можливість проникати в кровоносне русло і поширюватися в організмі.

Гуморальні чинники протипухлинного імунного захисту

Роль специфічних антитіл. При взаємодії антигенів пухлини і В-лімфоцитів, що містять відповідні до них рецептори, відбувається відбір специфічно реагуючих В-клітин. Вони активуються і здійснюють процесинг

захоплених пухлинних антигенів. В подальшому активовані В-лімфоцити презентують імуногенний пептид, що є фрагментом антигена, на плазматичній мембрані у складі HLA II класу. Зрілий Т-хелпер, що вже пройшов антигенспецифічну активацію макрофагом, зв'язується з активованим В-лімфоцитом. Це призводить до виділення Т-хелпером інтерлейкіну-2, під дією якого В-клітина починає ділитися і диференціюватися, перетворюючись у плазматичну клітину. Зрілий плазмоцит секретує антигенспецифічні імуноглобуліни (антитіла). Пухлиноспецифічні антитіла зв'язуються з антигенами новоутворення і візуалізують їх для клітин природженої резистентності.

Отже, на поверхні пухлини формуються чисельні імунні комплекси, що призводить до активації **комплементу** за класичним шляхом. При цьому протипухлинний ефект здійснюється за рахунок утворення мембранатакуючих комплексів з наступним осмотичним лізисом клітини. Проте комплемент навряд чи можна вважати ключовим механізмом у боротьбі з неоплазіями. Справа в тому, що фоновий рівень комплементу людини є недостатнім для розвитку антитілозалежного лізису значної кількості клітин пухлини. Окрім того, комплекс антиген-антитіло залишає мембрану неопластичної клітини раніше, ніж відбувається активація і повна полімеризація комплементу. Справа в тому, що пухлинна клітина має цікаву особливість - вона може від'єднувати свої поверхневі антигени при атаці з боку антитіл, подібно до ящірки, яка відкидає хвіст у разі небезпеки. Ця властивість значно зменшує ефективність імунних реакцій. Слід враховувати також, що пухлинні клітини часто зберігають експресію протективних мембранних молекул, що перешкоджають активації каскаду комплементу.

Співвідношення фіксованих на пухлині антитіл і циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), що утворюються за рахунок від'єднання комплексів АГ-АТ від цитолеми ракових клітин, впливає на прогноз захворювання. За рахунок формування ЦІК не тільки нейтралізуються протипухлинні антитіла, а й забезпечується блокада рецепторів антигенного розпізнавання імунокомпетентних клітин і пухлинних антигенів, що захищає неоплазію від цитолітичного удару Т-кілерів.

Імунна реакція організму на пухлинні антигени

На антигени пухлинних клітин виникають обидва типи імунної відповіді: гуморальна з появою антитіл і клітинна з нагромадженням специфічно реагуючих

Т-кілерів. Протипухлинні антитіла не тільки захищають організм від пухлини, але і можуть сприяти її прогресуванню у зв'язку з **ефектом посилення**.

Механізм первинного розпізнавання пухлинних антигенів – найменш вивчений момент протипухлинного імунного захисту. Вважають, що первинне розпізнавання здійснюють **антигенпрезентуючі клітини (АПК)**. Як відомо, вони здатні активуватися при виявленні патоген-зв'язаних молекулярних шаблонів мікроорганізмів. Виявилося, що відповідні молекули містяться і у складі поверхневих структур клітин людського організму, але їх екрановано від розпізнавання. Вважають, що при злоякісній трансформації клітин частина таких молекул вивільняється, втрачаючи екрануючі молекули, і стають мішенями для взаємодії з рецепторами шаблонного розпізнавання макрофагів. Напевно, зміна поверхневих структур пов'язана з глибинними процесами злоякісної трансформації. Зокрема, встановлена втрата пухлинними клітинами експресії поверхневих сіалових кислот, що призводить до вивільнення залишків вуглеводів (галактози, N-ацетилглюкозаміну, маннози), які ефективно розпізнаються АПК. Активовані макрофаги або дендритні клітини завдяки процесингу захоплених антигенів та презентації імуногенних пухлинних пептидів у складі молекул HLA II класу залучають до імунної відповіді "0"-Т-лімфоцити-хелпери, які при додатковому впливові ІЛ-12 диференціюються переважно до Т-хелперів 1 типу. За рахунок презентації тих самих пептидів у складі HLA I АПК активують антигенспецифічні, але "наївні" CD8+-Т-лімфоцити, які в подальшому диференціюються до імунокомпетентних Т-кілерів. Оскільки пухлинні антигени мало відрізняються від звичайних аутоантигенів, часто не відбувається належної експресії коstimулювальних молекул на АПК, що призводить до анергії CD8+-Т-клітин. У такому разі активовані Т-хелпери 1 типу вивільняють γ -інтерферон, який сприяє посиленню експресії коstimулювальних молекул B7 (CD 80 і CD86) на АПК. В той самий час, Т-хелпери секретують інтерлейкін 2, який є індуктором проліферації CD8+Т-клітин. В результаті такого впливу CD8+-Т-лімфоцити самостійно розпочинають синтез ІЛ-2, викликаючи власний поділ за аутокринним механізмом (реакція бласттрансформації). Формується антигенспецифічний клон імунокомпетентних клітин, названих **цитотоксичними Т-лімфоцитами**. Утворені Т-кілери повторно розпізнають і руйнують відповідні пухлинні клітини. При цьому розпізнавання мішеней відбувається у спрощеному вигляді, оскільки не потребує наявності коstimуляторів. Кожен клон Т-цитотоксиків, які є специфічно реагуючими клітинами, містить рецептори антигенного розпізнавання виключно проти певного пухлинного антигену і тому має максимально прицільну дію. Кількість лімфоцитів клону зазвичай корелює зі

ступенем експресії відповідного пухлинного антигену. Все це забезпечує найбільш адекватний протипухлинний ефект.

Оскільки активовані АПК синтезують переважно ІЛ-12, імунна відповідь розгортається за клітинним типом, але не вичерпується ним. Утворені Т-хелпери 1 типу синтезують γ -інтерферон, фактори некрозу пухлини α і β , а також інтерлейкін 2, кожен з яких справляє відому протипухлинну дію. Ці клітини вторинно залучають макрофаги до імунної відповіді на пухлину (в даному випадку макрофаги функціонують як ефекторні клітини).

Відомо, що пухлинні клітини для уникнення цитотоксичної дії Т-кілерів часто припиняють експресію молекул HLA I. В такому разі вони стають мішенями для **природних кілерів**, які сприймають відсутність молекул HLA I як сигнал до реалізації кілінгового ефекту. Дія ПК полягає у запуску апоптозу у скомпроментованій клітині або руйнуванні її шляхом осмотичного лізису. Розпізнавання пухлинних клітин і ефекторна реакція при цьому неспецифічні – вони ідентичні і щодо клітин, уражених вірусом. Внаслідок роботи ПК та Т-кілерів вивільняються фрагменти загинувших пухлинних клітин, які захоплюються дендритними клітинами або фагоцитуються макрофагами, що забезпечує підтримання імунної реакції.

Морфологічно прояви імунної реакції на антигени пухлини виражаються у нагромадженні в стромі і вздовж периферії пухлини імунокомпетентних клітин: Т- і В-лімфоцитів, а також плазматичних клітин і макрофагів. Клініко-морфологічні спостереження вказують на те, що у випадках вираженої клітинної інфільтрації стромы пухлини, спостерігається порівняно повільний розвиток новоутворення. Пухлини ж з повною відсутністю в стромі імунокомпетентних клітин ростуть швидше і рано дають метастази.

На початкових стадіях розвитку пухлини (ще до виникнення метастазів) у регіонарних лімфатичних вузлах відзначаються ознаки антигенної стимуляції. Вони виявляються в гіперплазії лімфатичних фолікулів зі збільшенням розмірів центрів розмноження і гіперплазії ретикулярних і гістіоцитарних елементів за ходом синусів (так званий **синусовий гістіоцитоз**), які розглядаються як прояви протипухлинного захисту і сприятлива прогностична ознака. Клінічна маніфестація пухлини можлива у разі неспроможності імунної реакції.

Виділяють наступні причини цієї ситуації (за Р.В. Петровим):

- 1) посилююча ріст пухлини дія циркулюючих протипухлинних антитіл;

- 2) блокада специфічних “протиухлинних” рецепторів на поверхні лімфоцитів циркулюючими в крові пухлинними антигенами і імунними комплексами.

Сьогодні не виключається вплив **іmunної толерантності** на ефективність протиухлинного імунітету, оскільки клітини пухлини зазвичай зберігають більшість звичних антигенів вихідної тканини, до яких ефективно підтримується імунна толерантність. Завдяки синтезу пухлиною розчинних антигенів можлива індукція “низькодозової” толерантності. Окрім того, встановлено, що зі збільшенням розмірів новоутворення відбувається поступове згортання імунних реакцій проти нього, що також розцінюється як своєрідний прояв імунної толерантності. Певне значення надають генетично детермінованій слабкій (або відсутній) реакції на визначені пухлинні антигени, а також недостатності імунного нагляду з боку тимусу.

Фактори імунорезистентності пухлинних клітин

1. Низька імуногенність антигенів пухлини. Оскільки пухлинні клітини походять із власних клітин макроорганізму, вони зберігають більшість аутоантигенів, до яких ефективно підтримується імунна толерантність.

2. Дисбаланс між швидкістю проліферації пухлинних і імунокомпетентних клітин. Цілком реальна така ситуація, коли інтенсивність пухлинної проліферації перевищить швидкість накопичення протиухлинних імунних факторів, що неодмінно призведе до неспроможності імунної відповіді.

3. Зміна антигенів при пухлинній прогресії. В результаті пухлинної прогресії накопичуються генетичні відмінності пухлинних клітин, які перебувають у різних умовах проліферації. Це пов'язано з посиленням мутагенезом неоплазії і призводить до появи нових поверхневих антигенів, яких не в змозі розпізнати наявні Т-кліери. Час, що витрачається для імунологічного розпізнавання нових антигенів, проліферації і дозрівання антигенспецифічних цитотоксичних Т-лімфоцитів, використовується пухлиною для активної проліферації і експресії нових антигенних субстанцій.

4. Селекція імунорезистентних клітин пухлини. Ті пухлинні клітини, що найбільш чутливі до ефекторних механізмів імунної відповіді, знищуються ще на ранніх етапах пухлинного росту. Отже, зі збільшенням терміну існування пухлини зменшується ефективність імунних реакцій,

спрямованих проти неї, оскільки сама імунна відповідь сприяє селекції імунорезистентних неопластичних клітин.

5. Припинення експресії молекул гістосумісності I класу на поверхні клітин пухлини. Це явище найчастіше є результатом селекції імунорезистентних пухлинних клітин. Клітини, що припинили експресію наведених молекул, стають нечутливими до цитотоксичної дії Т-кілерів, оскільки не розпізнаються ними.

6. Поява розчинних антигенів, асоційованих з пухлиною. Деякі молекули пухлинних антигенів здатні залишати мембрану клітини і циркулювати у вільному стані. Вони розпізнаються імунною системою, “відволікаючи” імунну відповідь від пухлини-продуцента.

7. Швидкий катаболізм антитіл на мембрані клітин. Антитіла, фіксовані на мембрані пухлинних клітин, “візуалізують” неоплазію для факторів природженої резистентності (макрофагів, комплементу, природних кілерів). Проте завдяки продукції протеолітичних ферментів пухлинні клітини від’єднують імунні комплекси від своєї поверхні раніше, ніж антитіла встигають виконати свою біологічну функцію.

8. Продукція пухлиною супресорних речовин. Однією з таких речовин є трансформуючий фактор росту β , який пригнічує реакції клітинного імунітету.

9. Поява клітинних рецепторів до різних ростових факторів та стимулюючих ріст цитокінів. Велика кількість рецепторів до факторів росту (тромбоцитарного, епідермального, фібробластичного) та до стимулюючих поділ цитокінів (наприклад, ІЛ-1 β або ІЛ-2) дозволяють пухлинній клітині підтримувати високий темп проліферації.

10. Здатність індукувати апоптоз цитотоксичних Т-лімфоцитів. Відомо, що активовані Т-клітини експресують на своїй поверхні молекули Fas, які є рецепторами апоптозу. Загибелі Т-лімфоцитів не відбувається, оскільки при взаємодії з іншими клітинами вони отримують сигнали, що тимчасово відмінюють апоптоз. Деякі пухлини починають експресію FasL, котрий здатен індукувати апоптоз у Fas-позитивних клітинах. В такому разі пухлиноспецифічні Т-кілери не тільки не пошкоджують злоякісні клітини, але й самі гинуть при взаємодії з ними.

11. Експресія пухлинними клітинами “рецепторів-пасток”. Такі рецептори (наприклад, TRAIL-3 або TRAIL-4) за структурою відповідають молекулам, що ініціюють апоптоз в клітині. Проте їхня цитоплазматична ділянка позбавлена домена смерті. Більш того, активація цих рецепторів супроводжується синтезом білків, що стимулюють поділ клітини. Активація “рецепторів-пасток” здійснюється лімфоцитами з метою знищення пухлинних

клітин шляхом апоптозу, проте останні не тільки не гинуть, але й отримують можливість посилити темп власної проліферації.

Імунотерапія пухлин

Сучасна імунотерапія включає широкий спектр засобів, основні групи яких представлені мікроорганізмами і їх компонентами, препаратами тимусу, цитокінами (природними і рекомбінантними), полісахаридами і пептидами. Все більшого поширення набувають методи генної інженерії.

Моноклональні антитіла стрімко увійшли в імунологію наприкінці 70-х років. Припускали, що розроблена технологія отримання **імунотоксинів** (антитіл, до яких приєднані токсичні сполуки) для прямого і непрямого впливу на пухлину або для активації Т-кілерів повинна забезпечити специфічну імунотерапію пухлин. Однак є лише деякі антигени клітинної поверхні, що могли б слугувати більш-менш специфічними мішенями для антитіл. До них відносяться, наприклад, **раково-ембріональний антиген** при пухлинах товстої кишки або **ідіотипові антигенні детермінанти імуноглобулінів** при В-клітинних лімфомах. Тому застосування моноклональних антитіл й імунотоксинів у імунотерапії раку поки що дуже обмежене (табл. 4).

Таблиця 4

Застосування моноклональних антитіл в онкології

Імунофенотипування гемобластозів	++++
Імуногістохімічний діагноз	+++
Радіоімунолокалізація метастазів	++
"Очищення" кісткового мозку від мікрометастазів	++
Імунотоксини	+

Проте моноклональним антитілам належить головна роль у імунофенотипуванні гемобластозів. Настільки ж ефективно їх використовують і в імунодіагностикумах на серологічні маркери пухлин. Близьче усього до

імунотерапії наближаються роботи з виявлення локалізації пухлин і метастазів за допомогою моноклональних антитіл або їхніх активних фрагментів, мічених радіоактивними ізотопами. Цим способом можна виявити невеликі метастази в організмі, а в деяких випадках зосередити терапевтичні дози радіоізоотопу в пухлині чи метастазах. У якості мішені у цих дослідженнях використовувався раково-ембріональний антиген. Найбільш багаті ним злоякісні пухлини товстої кишки і щитовидної залози. Однак ці роботи, незважаючи на їх серйозний науковий характер, ще не отримали практичного втілення.

Т-лімфоцити, що інфільтрують пухлину. Імунотерапія пухлин на основі Т-клітинної ланки одержала могутній стимул до розвитку у роботах С. Розенберга, який довів терапевтичну ефективність ростового фактора Т-клітин (інтерлейкіну 2) при метастатичних меланомах і деяких інших пухлинах. Він використовував **Т-лімфоцити, що інфільтрують пухлину** (ЛІП, або англ. tumor infiltrating lymphocytes, TIL), активуючи їх ІЛ-2, і разом з цим цитокіном вводив хворим. ЛІП є ні чим іншим як активованими цитотоксичними Т-лімфоцитами та природними кілерами, що на момент забору матеріалу вже надійшли до пухлини і здійснюють руйнування її клітин. Підходи, запропоновані Розенбергом, використовують у клініці, хоча і в дуже обмеженому обсязі у зв'язку з високою токсичністю ростового фактору і непередбачуваністю ефекту в конкретних ситуаціях. Але ці роботи стали початком для застосування з терапевтичною метою цитокінів, а також для пошуків протиракових вакцин на основі цитокінів.

Цитокіноterapia пухлин. У сучасній онкологічній клініці провідним методом імунотерапії є **цитокіноterapia** із застосуванням препаратів інтерферонів (ІФН), інтерлейкіну-2 та фактору некрозу пухлини- α .

Препарати інтерферонів:

-лаферон – рекомбінантний ІФН- $\alpha_2\beta$ (ІМБІГ, “Біотехнолог”,

Україна);

-велферон — ІФН- α_2 ("Welcome");

-реаферон і реальдірон — обидва ІФН- $\alpha_2\beta$ (Росія);

-роферон А, - ІФН- α_2 (“Roche”);

-інтрон А – ІФН- $\alpha_2\beta$ (“Shering Plough”).

Аналіз результатів застосування ІФН у онкологічних хворих виявив його ефективність при метастатичному раці нирки, меланомі, гемобластозах та інших пухлинах. Так, при лікуванні хворих з метастатичним раком нирки препарати ІФН найчастіше застосовуються в режимі повторних 10-денних курсів по $3 \cdot 10^6$ МО у день внутрішньом'язово з інтервалом між курсами у 3-4 тижні. В середньому у 10% хворих із пухлиною нирки і множинними метастазами у легенях можливе досягнення повної ремісії. Середня частота позитивного лікувального ефекту складає більше 50%. Ефект значною мірою залежить від поширеності процесу. При дрібних (менше 2-х см у діаметрі) легеневих метастазах частота позитивного ефекту складає більше 50%, а у хворих з більшими метастазами — близько 50%.

Клінічна ефективність застосування препаратів ІФН пояснюється його імунокоригуючою дією. Так, усі використовувані для лікування препарати ІФН (нативні і рекомбінантні) підвищують цитотоксичну активність природних кілерів. У деяких випадках відзначається нормалізація співвідношення $CD4^+/CD8^+$ -Т-клітин. Деякі спостереження вказують на те, що механізм дії ІФН може включати активацію апоптозу.

У літературі є повідомлення про успіхи застосування **інтерлейкіну-2 (ІЛ-2)** при лікуванні раку нирки, меланоми і деяких інших пухлин. При цьому препарат застосовується як окремо, так і в сполученні з **лімфокінактивованими кілерами** або із **лімфоцитами, що інфільтрують пухлину**, активованими *in vitro* інтерлейкином 2. Є повідомлення про одночасне застосування препаратів інтерлейкіну-2 і ІФН. Крім того, відкриття цитокіну ІЛ-2, здатного в присутності антигену підтримувати ріст і розмноження антигенспецифічних Т-клітинних клонів, дало дослідникам об'єктивний тест для визначення пухлинних антигенів, які здатні викликати специфічний Т-клітинний імунітет.

Для лікування меланоми використовуються регіонарні перфузії або місцеве введення препарату **фактору некрозу пухлини- α** .

Генна терапія пухлин. Останнім часом великі успіхи генної інженерії призвели до розвитку нового напрямку — **генної терапії пухлин**. В основі її лежить створення так званих **протиракових вакцин**. Вони можуть бути отримані за допомогою введення в геном пухлинної клітини нових генів: **генів протипухлинних цитокінів і їхніх рецепторів, пухлиноасоційованих антигенів, суїцидних генів, чужорідних антигенів, вірусів**.

Одним з основних напрямків генної терапії є створення вакцин, до складу яких входять пухлинні клітини, які синтезують цитокіни, що пригнічують поділ. Таким чином створюється висока концентрація протективних цитокінів у зоні пухлини і значно зменшується токсичність останніх для організму. За останні роки з'явилися десятки робіт, де приведені експериментальні дані про протипухлинну дію рекомбінантів, які продукують практично всі цитокіни.

Перспективним підходом до створення протиракових вакцин є отримання препаратів **гібридних білків**, що складаються з пухлиноасоційованих антигенів і цитокінів. Відомо, що імуногенність пухлиноасоційованих антигенів низька, тому що це в основному нормальні білки, продукція яких лише збільшується в пухлинних клітинах. Цитокіни можуть посилювати імуногенність останніх і підвищувати чутливість пухлинних клітин до цитотоксичної дії Т-кілерів.

Іншим напрямком є використання так званих **суїцидних генів**, наприклад гену тимідинкінази вірусу простого герпесу. Завдяки останньому пухлинні клітини здобувають здатність фосфорилувати ациклічний нуклеозид ганцикловір, який використовується для лікування герпесвірусних інфекцій, унаслідок чого ці клітини гинуть під дією протигерпетичного препарату, до якого в звичайних умовах нечутливі.

У випадку, коли власні антигени пухлини мають низьку імуногенність, в неоплазію можна вносити **чужорідні антигени**, які досить ефективно розпізнаються імунною системою. Є попередні дані про ефективність препарату, що містить імунодомінантний пептид меланомного антигену і цитокіни. На цей антиген може розвиватися достатньо ефективна імунна відповідь. Отже, така терапія дозволяє посилити розпізнавання тих пухлин, які продукують специфічні антигени в занадто малих кількостях. Так, показано, що застосування імунодомінантного пептиду меланомного антигену при імунізації онкологічних хворих значно збільшує кількість протипухлинних цитотоксичних клітин серед циркулюючих лімфоцитів.

Важливою є проблема способу внесення у геном пухлинної клітини бажаних генів. Відомо, що певні віруси здатні ефективно вбудовувати власну ДНК у геном клітини. Якщо до нуклеїнової кислоти такого вірусу приєднати бажану полінуклеотидну послідовність, то він внесе її до складу геному ураженої ним клітини під час інтеграції з ДНК хазяїна. Нуклеїнова кислота вірусу, за допомогою якої здійснюється внесення додаткової генетичної інформації у певну біологічну систему, називається **вектором**. Застосування вакцини, у якій за допомогою векторів аденовірусу або вірусу вітряної віспи в пухлинні клітини вводять ген меланомного антигену разом з інтерлейкіном-12,

дозволяє отримати позитивний клінічний ефект у хворих з генералізованою меланомою. Результат терапії пов'язаний із посиленням експресії специфічного пухлинного антигена, на який розвивається ефективна імунна відповідь. Цей напрямок вважається одним з найбільш перспективних в імунотерапії пухлин.

Сьогодні одним з найбільш перспективних напрямків імунотерапії пухлин є використання вакцин, що складаються із антигенпрезентуючих клітин (найчастіше дендритних), навантажених специфічним антигеном та експресуючих достатній рівень костимуляційних молекул. Такі дендритні клітини називають **АПК із заданими властивостями**. Нижче наведено теоретичне обґрунтування подібної терапії.

Т-лімфоцит має змогу отримати інформацію про антиген тільки тоді, коли останній фрагментований і представлений у комплексі з молекулою HLA I або II класу на мембрані АПК. Фрагментація антигену й утворення комплексу з наведеними молекулами відбуваються лише в живій клітині. Крім того, для індукції імунної відповіді на клітині-мішені повинні бути присутні молекули костимуляторів (наприклад, B7), без яких імунні реакції не розгортаються. З боку Т-клітини в процесі взаємодії беруть участь кілька молекул – рецептор антигенного розпізнавання, адгезивні молекули CD-8 чи CD-4, що розпізнають HLA-молекулу, комплекс молекул CD-3, що передає сигнал усередину клітини, і адгезивні молекули, необхідні для міцної взаємодії двох живих клітин.

Генетичні вакцини дають вражаючі результати на експериментальних моделях і в даний час проходять клінічні випробування (табл.5).

Таблиця 5

**Порівняльна
характеристика
цитокіноterapia та
вакциноterapia пухлин**

Фактор впливу	Фактор	Ефект	Клініка
----------------------	---------------	--------------	----------------

Цитокіни	IL-2	++ (непередбачуваний)	вивчення
Цитокіни	IL-12	+ (*)	вивчення
Цитокіни	TNF	+ (*)	вивчення
Вакцини	Молекулярно-генетичні (COA, B7, IL-2)	++ (*)	вивчення

(*) на експериментальних моделях

Імунопрофілактика

Загальний принцип імунопрофілактики пухлин заснований на посиленні імунного нагляду. Згідно з концепцією, що запропонована Ф. Беретом, контроль за пухлинами мають здійснювати фактори імунітету. Однак звичайна частота виникнення пухлин у безтимусних мишей, не здатних виробляти імунітет, навпроти, різко посилила увагу до факторів вродженої резистентності. Такий підхід отримав додаткові стимули в експериментах. Вони показали, що спонтанні пухлини, на відміну від вірусіндукованих і новоутворень, викликаних хімічними канцерогенами, є або низькоімуногенними, або зовсім не індукують імунітету. У той же час досліді на тваринах з пригніченою вродженою резистентністю показали значну роль цих факторів у контролі над малими популяціями пухлинних клітин.

Конкретні механізми порушень, що призводять до виникнення пухлин, поки що є недостатньо вивченими. Така ситуація значно ускладнює проведення цілеспрямованої імунопрофілактики новоутворень. Однак у випадку, коли розвиток пухлин включає етап вірусної інфекції, проведення прицільної імунопрофілактики є цілком реальним. Вона полягає у попередженні зараження тим чи іншим вірусом.

Сьогодні відомо кілька типів пухлин людини, виникнення яких пов'язано із вірусами (табл.6). Необхідно підкреслити, що йдеться не про стовідсоткову й однозначну залежність "вірус-рак", а про формування груп високого ризику за визначеною формою раку серед людей, заражених вірусом.

Противірусна вакцинація в групах ризику вже дає відчутні результати, наприклад, у випадку **вірусу гепатиту В (HBV)**. Цей вірус розповсюджений на величезних частинах світу (Південно-Східна Азія, Африка, Аляска), де створюється велика група осіб з високим ризиком виникнення раку печінки. Даний вірус передається від матерів немовлятам при пологах і в перші дні вигодовування. Саме вакцинація покликана перервати перехід вірусу від матері до потомства.

Таблиця 6

Імунопрофілактика вірусних пухлин людини

Пухлина	Асоційований вірус	Вакцинація	Очікуваний ефект
Первинний рак печінки	Вірус гепатиту В (HBV), вірус гепатиту С (HCV)	+++ (Південно-Східна Азія, Африка, Гамбія)	Зниження захворюваності
Рак шийки матки	Віруси папіломи людини 16 і 18 типів (HPV)	У розробці	Зниження захворюваності
Лімфома Беркіта, рак носоглотки, лімфогранульоматоз	Вірус Епштейна-Барр	У розробці.	Зниження захворюваності
Т-клітинна лімфома	Вірус HTLV-I	-	-
Саркома Капоші	Вірус KSHV	-	-

Розроблено ефективні вакцини проти вірусу гепатиту В. Уже більше 10 років ВООЗ проводить широку програму вакцинації немовлят проти HBV у Південно-Східній Азії, Гамбії і серед ескімосів Аляски. Хронічні носії гепатиту В - це група високого ризику виникнення первинного раку печінки. Крім того, якщо носійство вірусу сполучається зі споживанням **афлатоксину**, що є могутнім печінковим канцерогеном (міститься в арахісі, зараженому

цвільовим грибком *Asp. flavus*), то ризик зростає в десятки разів. Первинний рак печінки в цих районах світу займає одне з перших місць за частотою. Очікується, що програма вакцинації проти гепатиту В допоможе знизити захворюваність раком не менше, ніж програма боротьби з палінням.

В останнє десятиліття отримані докази зв'язку **вірусів папіломи (HPV)** 16 і 18 типів з раком шийки матки. Також, як і при гепатиті, йдеться про носіїв HPV як про групу високого ризику раку. Очевидно, що "зупинка" цього вірусу і, можливо, його ерадикація знизить захворюваність на рак шийки матки. В даний час проводяться роботи зі створення анти-HPV вакцини.

Хоча вакцинація проти **вірусу Т-клітинної лімфоми людини (HTLV-I)** в принципі можлива, але через обмежене поширення пухлин, викликаних цим вірусом, вона зараз не проводиться. Напевно, її будуть використовувати в районах, ендемічних за цим вірусом.

Останнім часом велика увага прикута до вірусів групи герпеса. Добре вивчена і твердо доведена роль **вірусу Епштейна-Барр (EBV)** у етіології африканської лімфоми Беркіта і карциноми носоглотки, яка розповсюджена в Південно-Східній Азії. Цей вірус виявився пов'язаним із широко відомою лімфомою Ходжкіна, або лімфогранулематозом. Очевидно, що вакцинація проти EBV - назріла проблема, і зараз ведуться роботи зі створення відповідної вакцини.

Нещодавно із групи вірусів герпесу виділений ще один представник, асоційований з так званою **саркомою Капоші (KSHV)**. Його специфіка полягає в тому, що він активується виключно у хворих з імунodefіцитом (зокрема, при СНІДі). Це, звичайно, значно ускладнює вакцинацію проти вірусу KSHV, оскільки в групі хворих на СНІД вона неефективна.

Резюме

Виникнення і подальший розвиток пухлини відбувається в умовах взаємодії антибластомних факторів імунної системи із факторами імунорезистентності неоплазії. Імунна система є надзвичайно багатогранною за своїми властивостями, тому імунні реакції включають чимало "підводних течій", які використовуються пухлиною для виживання. Так, встановлено наявність імунних факторів, що стимулюють ріст пухлин (пробластомні

іmunні чинники), та іmunних факторів, що послаблюють антипухлинний захист.

Іmunні фактори, які стимулюють ріст пухлини:

1. Ростові фактори (ГМ-КСФ, М-КСФ, фактор росту фібробластів, епідермальний та тромбоцитарний фактори росту)
2. Інтерлейкіни 1, 2, 6 (посилюють ріст пухлини, якщо вона починає експресувати відповідні рецептори).

Іmunні фактори, що послаблюють процеси імунологічного розпізнавання та ліквідації пухлини:

1. Супресорні фактори макрофагів
2. Циркуючі іmunні комплекси
3. Блокуючі антитіла
4. Інтерлейкіни 4 і 10
5. Трансформуючий фактор росту β
6. Імунодефіцитний стан

Фактори іmunорезистентності пухлини:

1. Низька імуногенність антигенів пухлини
2. Дисбаланс між швидкістю проліферації іmunних і пухлинних клітин
3. Зміна антигенів при пухлинній прогресії
4. Селекція іmunорезистентних клітин пухлини.
5. Втрата молекул HLA на поверхні клітин пухлини
6. Поява розчинних антигенів, асоційованих з пухлиною
7. Швидкий катаболізм антитіл на мембрані пухлинних клітин

8. Продукція пухлиною супресорних речовин
9. Поява клітинних рецепторів до різних ростових факторів та стимулюючих поділ цитокінів
10. Індукція пухлинними клітинами апоптозу специфічних Т-кілерів
11. Експресія “рецепторів-пасток”

В той самий час, імунна система має механізми, які захищають організм від виникнення і росту пухлини, розвиваючи нормальну імунну відповідь (антибластомні фактори).

Антибластомні фактори імунної системи:

- 1 Активовані макрофаги
2. Т- кілери
3. Природні кілери
4. Протипухлинні антитіла
5. Інтерферони (α , β , γ)
7. Фактори некрозу пухлини (α і β)
8. Інтерлейкіни 2 і 12

Тестові завдання:

1. Які агенти називаються “канцерогенами”?
- 1)ті, що здатні викликати утворення будь-яких пухлин;
- 2)ті, що викликають злоякісну трансформацію;
- 3)всі групи онкогенів;
- 4)група вірусних онкогенів;

5)група фізичних онкогенів.

2. Які процеси лежать в основі виникнення пухлинного процесу згідно теорії моноклонального походження?

- 1)вплив канцерогенного агента на велику кількість подібних клітин і утворення поля потенційно непластичних клітин;
- 2)механізм виникнення новоутворення остаточно не з'ясований;
- 3)первинний канцерогенний агент викликає мутацію лише однієї клітини, при поділі якої утворюється пухлинний клон;
- 4)всі перераховані вище процеси відображені у цій теорії.

3. Яку роль відіграють протоонкогени у пухлинній трансформації?

- 1)активація протоонкогену викликає пухлинний ріст;
- 2)активація протоонкогену блокує можливість пухлинного росту;
- 3)деактивація протоонкогену стимулює ріст пухлини;
- 4)протоонкогени не відіграють ролі у виникненні пухлин.

4. Які поверхневі структури пухлинних клітин присутні у зародкових тканинах, але відсутні у відповідних тканинах дорослого?

- 1)специфічні пухлинні антигени;
- 2)розчинні пухлинні антигени;
- 3)онкофетальні антигени;
- 4)клітинні адгезивні молекули, що містять вуглеводний компонент (САМ);
- 5)таких поверхневих структур не існує.

5. Які клітинні механізми здійснюють неспецифічне розпізнавання пухлинних клітин?

- 1)цитотоксичні Т-лімфоцити;
- 2)природні кілери (NK-клітини) та LAK-клітини;

- 3)система комплементу;
- 4)протипухлинні антитіла (імуноглобуліни);
- 5)всі вище перераховані.

6. Які клітинні механізми здійснюють специфічне розпізнавання пухлинних клітин?

- 1)природні кілери (NK-клітини);
- 2)антигенспецифічні імуноглобуліни (пухлиноспецифічні антитіла);
- 3)система комплементу;
- 4)цитотоксичні Т-лімфоцити;
- 5)всі, перераховані вище механізми.

7. Що з перерахованого відноситься до факторів імунорезистентності пухлин?

- 1)низька імуногенність антигенів пухлини;
- 2)зміна антигенів при пухлинній прогресії;
- 3)поява розчинних антигенів, асоційованих з пухлиною;
- 4)здатність індукувати апоптоз цитотоксичних Т-лімфоцитів;
- 5)все вищеперераховане.

8. Який з факторів імунорезистентності пухлинних клітин перешкоджає специфічному розпізнаванню пухлини Т-кілерами?

- 1)припинення експресії молекул гістосумісності I класу на поверхні клітин пухлини;
- 2)експресія пухлинними клітинами “рецепторів-пасток”;
- 3)швидкий катаболізм антитіл на мембрані клітин;
- 4)селекція імунорезистентних клітин пухлини;

5) поява клітинних рецепторів до різних ростових факторів та стимулюючих ріст цитокінів.

9. Який із сучасних методів імунотерапії пухлин здобув найбільшого практичного використання в онкології?

- 1) моноклональні антитіла;
- 2) Т-лімфоцити, що інфільтрують пухлину;
- 3) генна терапія пухлин;
- 4) цитокіноterapia пухлин;
- 5) використання АПК із заданими властивостями.

10. Імунопрофілактика пухлини, викликаної яким з перерахованих вірусів, набула широкого практичного використання?

- 1) вірусом папіломи (HPV);
- 2) вірусом Т-клітинної лімфоми;
- 3) вірусом Епштейна-Барр;
- 4) вірусом герпесу (KSHV);
- 5) вірусом гепатиту В (HBV).

Правильні відповіді:

- | | |
|----|----|
| 1. | 2) |
| 2. | 3) |
| 3. | 1) |
| 4. | 3) |
| 5. | 2) |
| 6. | 4) |

- | | |
|-----|----|
| 7. | 5) |
| 8. | 1) |
| 9. | 4) |
| 10. | 5) |