



ІМУНОЛОГІЯ

ПУХЛИН



Розвиток пухлин

1. Відбувається із залученням імунних механізмів
2. Динаміка пухлинного росту визначається рівновагою між факторами імунного нагляду (антибластомними) і пробластомними факторами

Етіологія пухлин (канцерогени)

1. Хімічні:

1. Канцерогенні хімічні речовини
2. Харчові канцерогени
3. Канцерогени-гормони (ГКС, естрогени)

2. Фізичні (УФ, рентгенівське, радіоізотопне випромінювання)

3. Вірусні (онкогенні РНК(ретровіруси) і

4. ДНК-віруси (віруси папілломи, Епштейна - Барр (EBV), гепатита В))

5. Генетичні (втрата генів супресії пухлин)

Теорії розвитку пухлин

1. **Теорія моноклонального походження** – канцероген викликає мутацію 1 клітини, з якої виростає пухлинний клон
2. **Теорія "пухлинного поля"** – канцероген викликає мутації в ряді клітин, утворюється поле потенційно пухлинних клітин, пухлина виростає з клітин усередині цього поля

Концепції розвитку пухлин

1. **Концепція генетичних мутацій** – активація протоонкогенів (мутація, транслокація в активну частину геному, ампліфікація, дерепресія)
2. **Концепція вірусних онкогенів** - вбудовування онкогенного вірусу в активну частину геному
3. **Епігенетична концепція** – порушення регуляції активності ріст-регулюючих генів, що кодують синтез білків росту
4. **Концепція відмови імунного нагляду**

Гени супресії пухлин

Найменування гену	Хромосома	Захворювання
APC (аденоматозного поліпозу кишківника)	5q21	Сімейний поліпоз кишківника
Rb1 (ретинобластоми)	13q14	Ретинобластома, остеосаркома
NF-1 (нейрофіброматозу)	17q11	Нейрофіброматоз (1 тип)
DCC(зазнає делеції при раці кишківника)	18q21	Рак кишківника
p53	17p12-13	Пухлинний синдром Лі-Фромени ²

Стадии канцерогенеза:

- **Стадия 1.** Первичная мутация гена — активизирует ростовые факторы, стимулирующие деление клетки, а также инактивирует функции антионкогенов и другие генетические структуры, отвечающие за контроль над клеткой со стороны других клеток.
- **Стадия 2.** Селективный рост клона из одной клетки, получившей ростовые преимущества и подверженность последующим мутациям.
- **Стадия 3.** Селекция клеток, получивших ростовые преимущества, способствующая переходу от доброкачественной гиперплазии тканей к автономному злокачественному росту.

- 
-
- **Стадия 4.** Появление множественных злокачественных клонов в результате дополнительных генных мутаций, обеспечивающих ещё большую автономию от контролирующего действия гормонов и ростовых факторов.
 - **Стадия 5.** Появление сверхчувствительности злокачественных клеток к дополнительным генным мутациям, которые позволяют приобретать им свойства инвазии и автономного метастазирования.

Механізми виникнення онкогенів

1. Вбудовування вірусного онкогену
2. Активація клітинного онкогену вбудованим вірусом
3. Транслокація генетичного матеріалу з активацією онкогенів чи утворенням нових онкогенів із фрагментів різних хромосом
4. Ампліфікація (збільшення числа копій протоонкогену)
5. Мутація протоонкогену (позбавлення його від регулюючих впливів)
6. Інактивація гена-супресора пухлинного росту

Фактори розвитку пухлини

1. Антибластомні імунні фактори:

○ Клітинні:

- ▣ Т-кілери
- ▣ ПК- і К-лімфоцити
- ▣ Активовані макрофаги

○ Гуморальні:

- ▣ Специфічні антитіла
- ▣ ІЛ-1
- ▣ ІЛ-2
- ▣ ФНП
- ▣ інтерферони

Фактори розвитку пухлини

2. Фактори імунорезистентності пухлин:

- Слабка імуногенність пухлинних антигенів
- Постійна модифікація антигенів
- Селекція імунологічно стійких клітин
- Втрата експресії антигенів HLA-I
- Виділення розчинних пухлинних антигенів
- Експресія на поверхні пухлинних клітин рецепторів до різних факторів росту
- Набуття резистентності до апоптозу: втрата рецептора до ФНП, поява на мембрані FasL
- Продукція пухлинними клітинами ІЛ-6, ІЛ-10, ФНП

Фактори розвитку пухлини

3. Пробластомні фактори, що пригнічують імунітет:

- Супресивні речовини, продуковані лімфоцитами і макрофагами
- Блокуючі антитіла
- Циркуючі імунні комплекси
- Простагландини (E2)
- ІЛ-10
- ТФР- β , який пригнічує:
 - Продукцію цитокінів (ІЛ-12)
 - Дозрівання Т-кілерів
 - Експресію рецепторів до цитокінів

Фактори розвитку пухлини

4. Пробластомні фактори, що посилюють ріст пухлини:

- Фактор росту пухлини (продукують макрофаги)
- ІЛ-6
- Фактор росту судинного ендотелію
- Імунодефіцитний стан:
 - Порушення дозрівання Т-кілерів
 - Порушення функції АПК

Особливості поверхневих структур пухлинних клітин

1. **Онкофетальні антигени:**

- ***α-фетопротеїн*** – первинний рак печінки, пухлини яєчок, рак простати, цироз печінки
- ***раково-ембріональний антиген*** – рак товстої кишки, підшлункової залози, шлунку, молочної залози, легенів, матки, яєчників
- ***β-хоріонічний гонадотропін*** – трофобластні пухлини матки, яєчників, яєчок

Особливості поверхневих структур пухлинних клітин

2. *Специфічні пухлинні антигени:*

- **ПСА** – рак простати
- **P-53** – рак сечового міхура
- **SCC** – плоскоклітинний рак легень, стравоходу, прямої кишки
- **CA-19-9** – рак підшлункової залози
- **CA-125** – рак яєчників
- **CA-15-3** – рак молочної залози

Особливості поверхневих структур пухлинних клітин

3. **Розчинні пухлинні антигени** – відволікають імунну систему, виснажуючи її резерви
4. **Токсинвивідний глікопротеїн Р** – видаляє із клітини метаболічні токсини, збільшення його експресії на мембранах веде до множинної медикаментної стійкості пухлин
5. **Вуглеводмісні клітинні адгезивні молекули** – сприяють метастазуванню
6. **Лектини** – маскують пухлинну клітину від імунної системи
7. **Зростання кількості рецепторів до факторів росту**

Клітинні механізми протипухлинного імунного захисту

1. **Цитотоксичні Т-кілери:**

- **Індукція апоптозу пухлинної клітини**
- **Осмотичний лізис пухлинної клітини**

2. **T1-хелпери:**

- **Синтез ФНП-а і $-\beta$, γ -ІФН**

3. **Природні кілери:**

- **Апоптоз і осмотичний лізис пухлинних клітин, позбавлених HLA-I молекул**

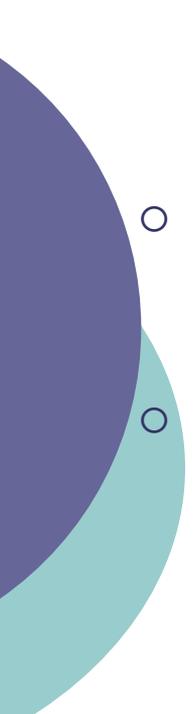
4. **Макрофаги:**

- **Синтез NO із аргініну**

Гуморальні механізми протипухлинного імунного захисту

1. Специфічні антитіла:

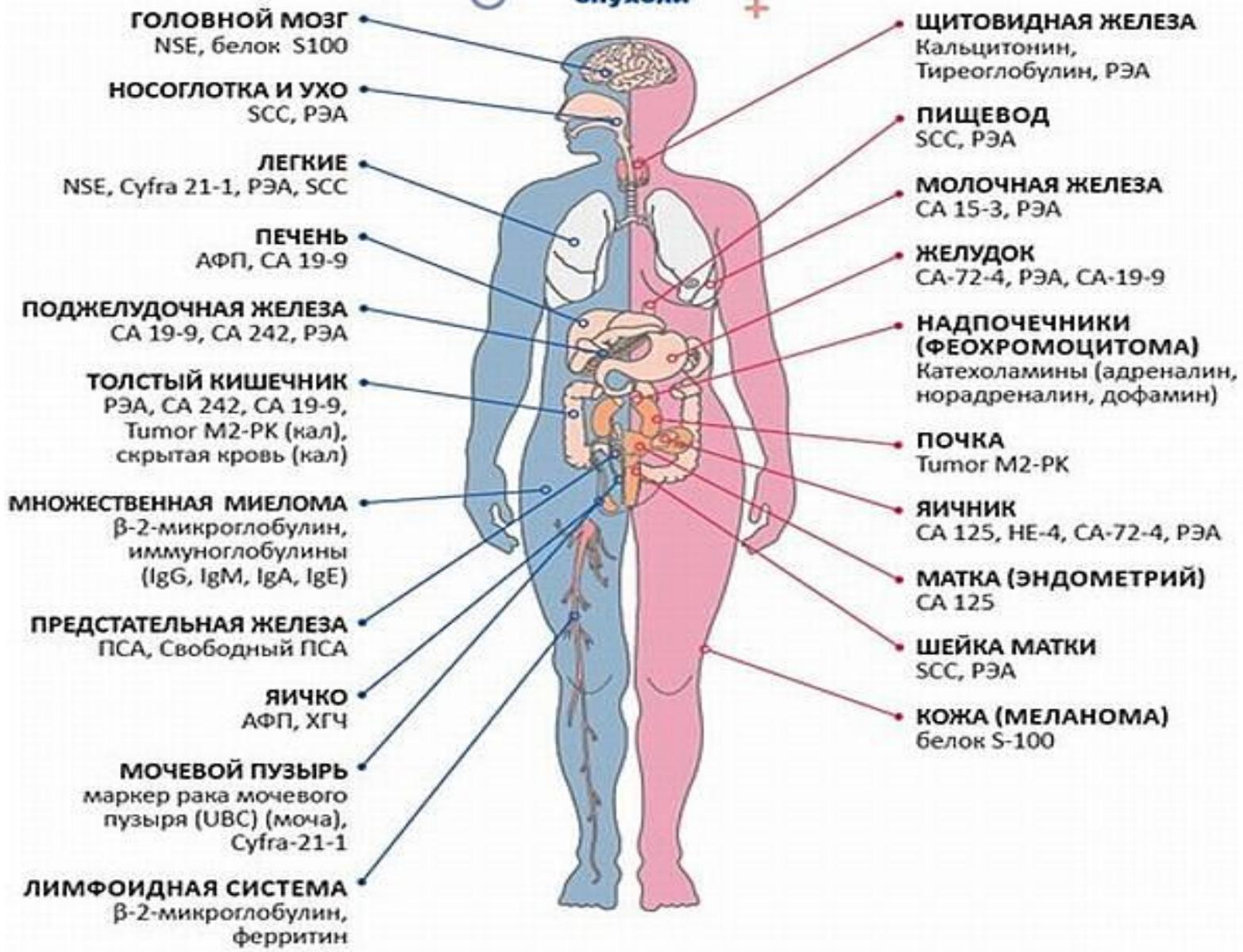
- **Формування імунних комплексів на поверхні пухлинної клітини з активацією системи комплементу і лізисом пухлинної клітини:**
 - **Слабо виражена**
 - **Їй протидіє феномен "хвоста ящірки"**
 - **Їй протидіє синтез протективних мембранних молекул**
 - **ЦІК блокують рецептори антигенного розпізнавання імунокомпетентних клітин**

- 
- Онкомаркеры – вещества, содержание которых в крови коррелирует с наличием или прогрессирующим ростом злокачественной опухоли.
 - Критерии, предъявляемые к онкомаркерам :
 - продуцироваться только злокачественными клетками
 - быть органоспецифичным
 - выявляться в высоких концентрациях
 - его концентрация должна коррелировать с размером опухоли, со стадией заболевания, с прогнозом и эффективностью лечения.
 - P.S. Известно более 200 опухолевых маркеров, однако « идеального маркера », который бы соответствовал всем критериям, еще не выявлено. В клинической практике используют около 20 маркеров

Классификация онкомаркеров

- I. По химической структуре : гликопротеиды, липопротеиды, полипептиды, гликолипиды и т. д.
- II. По биологической функции :
 - 1. Онкофетальные антигены - РЭА, АФП, ХГЧ, СА -125, СА -15-3, СА -19-9, СА -72-4.
 - 2. Ферменты - НСЕ, ПСА, ЦОГ -2
 - 3. Гормоны – кальцитонин, АКТГ
 - 4. Другие - CYFRA21 -1, β -2- м
- III. По значению для диагностики
 - Главный маркер – обладает максимальной чувствительностью и специфичностью для определенного типа опухоли
 - Вторичный маркер – имеет более низкую чувств / специфичность, но в комбинации с главным повышает точность диагностики.
 - Дополнительный – может быть органоспецифичным
- P.S. Специфичность – не обнаруживается у здоровых.
Чувствительность – обязательное выявление у всех онкобольных, даже в начальной стадии рака.

♂ Локализация опухолей ♀



ГОЛОВНОЙ МОЗГ
NSE, белок S100

НОСОГЛОТКА И УХО
SCC, РЭА

ЛЕГКИЕ
NSE, Cyfra 21-1, РЭА, SCC

ПЕЧЕНЬ
АФП, СА 19-9

ПОДЖЕЛУДОЧНАЯ ЖЕЛЕЗА
СА 19-9, СА 242, РЭА

ТОЛСТЫЙ КИШЕЧНИК
РЭА, СА 242, СА 19-9,
Tumor M2-PK (кал),
скрытая кровь (кал)

МНОЖЕСТВЕННАЯ МИЕЛОМА
β-2-микроглобулин,
иммуноглобулины
(IgG, IgM, IgA, IgE)

ПРЕДСТАТЕЛЬНАЯ ЖЕЛЕЗА
ПСА, Свободный ПСА

ЯИЧКО
АФП, ХГЧ

МОЧЕВОЙ ПУЗЫРЬ
маркер рака мочевого
пузыря (UVC) (моча),
Cyfra-21-1

ЛИМФОИДНАЯ СИСТЕМА
β-2-микроглобулин,
ферритин

ЩИТОВИДНАЯ ЖЕЛЕЗА
Кальцитонин,
Тиреоглобулин, РЭА

ПИЩЕВОД
SCC, РЭА

МОЛОЧНАЯ ЖЕЛЕЗА
СА 15-3, РЭА

ЖЕЛУДОК
СА-72-4, РЭА, СА-19-9

**НАДПОЧЕЧНИКИ
(ФЕОХРОМОЦИТОМА)**
Катехоламины (адреналин,
норадреналин, дофамин)

ПОЧКА
Tumor M2-PK

ЯИЧНИК
СА 125, HE-4, СА-72-4, РЭА

МАТКА (ЭНДОМЕТРИЙ)
СА 125

ШЕЙКА МАТКИ
SCC, РЭА

КОЖА (МЕЛАНОМА)
белок S-100

Імуноterapia пухлин

1. **Моноклональні антитіла**
2. **Цитокіноterapia:**
 1. Інтерферони
 2. Інтерлейкін-2
 3. Фактор некрозу пухлин-а
3. **Генна терапия (протиракові вакцини).
У клітини пухлини вводять гени:**
 1. протипухлинних цитокінів та їх рецепторів
 2. пухлинасоційованих антигенів
 3. суїцидних генів
 4. чужорідних антигенів
 5. вірусів
4. **АПК із заданими властивостями**

Моноклональные антитела

- Это антитела, вырабатываемые иммунными клетками, принадлежащими к одному клеточному клону, то есть произошедшими из одной плазматической клетки-предшественницы.
- Моноклональные антитела могут быть выработаны против почти любого природного антигена (в основном белки и полисахариды), который антитело будет специфически связывать. Они могут быть далее использованы для детекции (обнаружения) этого вещества или его очистки.
- В случае их использования в качестве лекарства его название оканчивается на **-mab** (от английского «**m**onoclonal **a**ntib**o**dy»). Примерами лекарственных средств на основе моноклональных антител являются ипилиумаб (Ервой), использующийся для лечения меланомы, трастузумаб (Герцептин), применяющийся в лечении рака молочной железы и ритуксимаб, показавший свою эффективность против хронического лимфолейкоза.

Области применения моноклональных антител:

- идентификация субпопуляций лимфоцитов человека
- истощение клеточных популяций
- выделение клеток
- установление функций молекул клеточной поверхности
- определение группы крови
- диагностика опухолей и локализация опухолей
- иммунорадиометрический анализ
- анализ сложных смесей антигенов
- анализ эмбрионального развития
- анализ иммунного ответа
- искусственные ферменты.

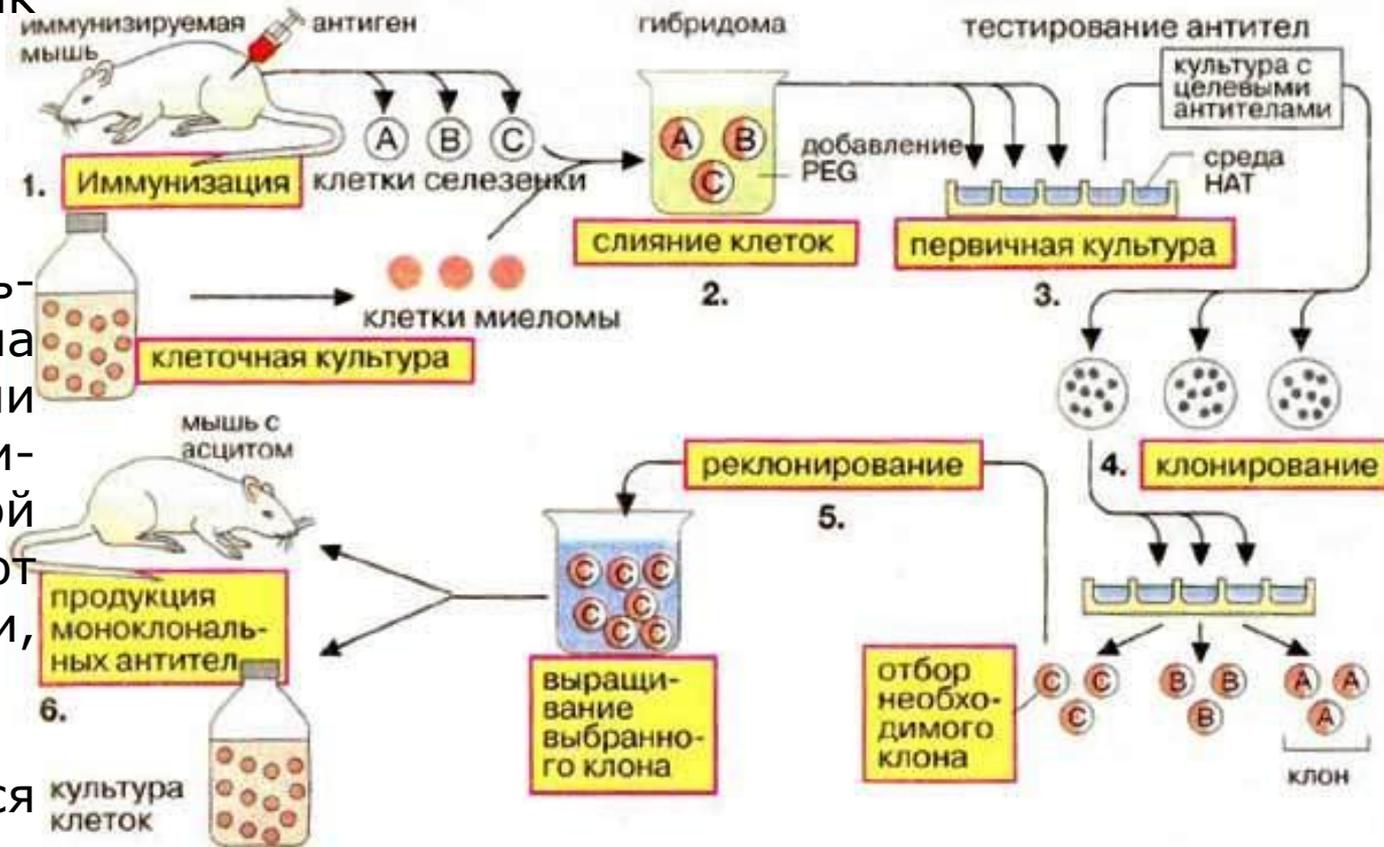




**Как же получают
моноклональные антитела???**

Моноклональные антитела (МАТ) секретируются иммунными клетками, происходящими от единственной антителообразующей клетки. Поэтому МАТ направлены только против определенного эпитопа иммуногенного вещества, так называемой "антигенной детерминанты". Для получения МАТ изолируют лимфоциты из селезенки иммунизированной мыши (1) и производят их слияние с опухолевыми клетками мыши (клетками миеломы) (2).

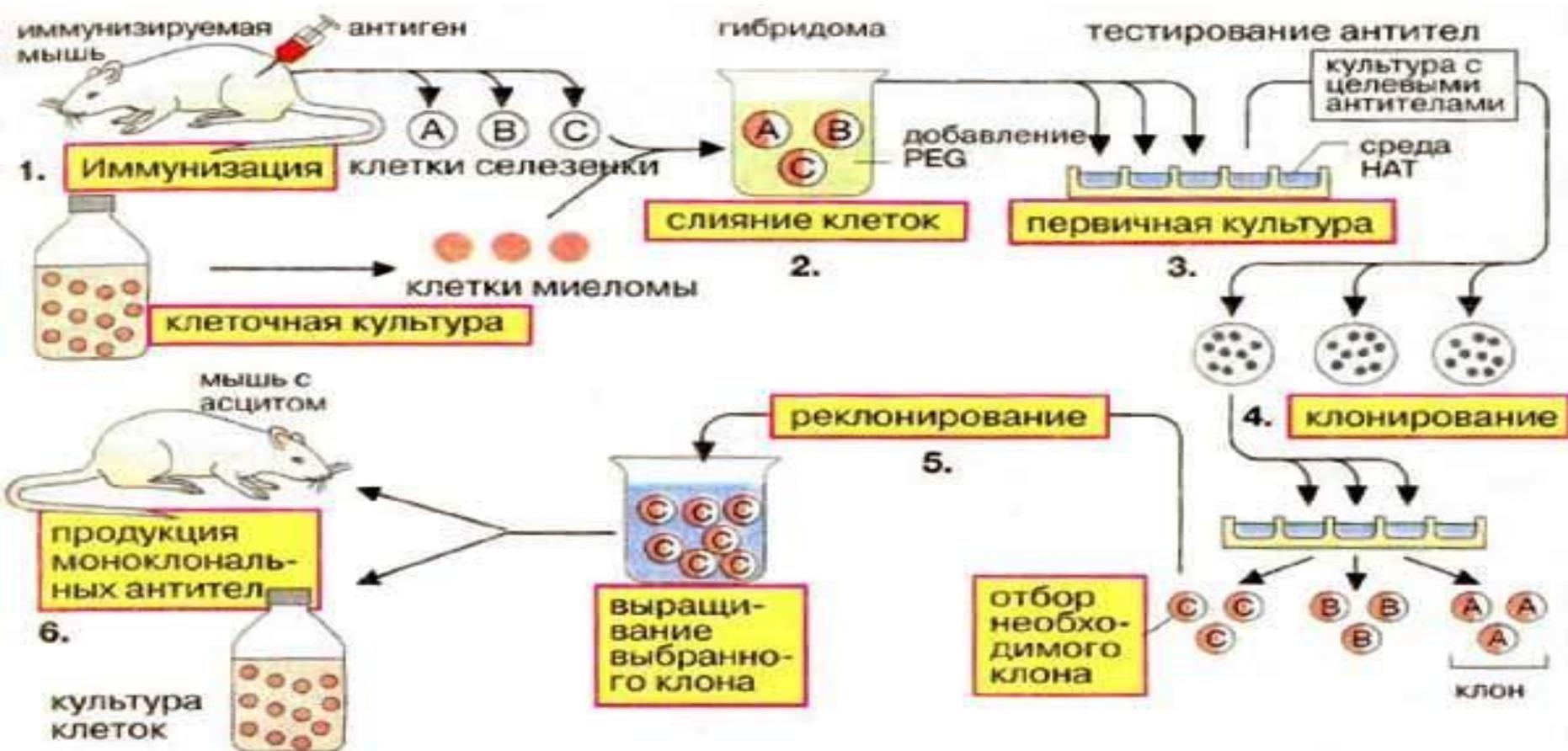
Это необходимо, так как жизнеспособность антителопродуцирующих лимфоцитов в культуре ограничена лишь несколькими неделями. При слиянии с опухолевой клеткой возникают гибридные клетки, так называемые **гибридомы**, которые являются потенциально бессмертными.



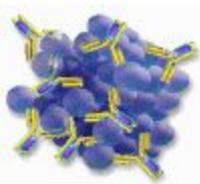
○ **Гибридо́ма** — гибридная клеточная линия, полученная в результате слияния клеток двух видов: способных к образованию антител В-лимфоцитов, полученных из селезёнки иммунизированного животного (чаще всего мыши), и раковых клеток миеломы. Слияние клеток производится с помощью нарушающего мембраны агента, такого, как полиэтиленгликоль или вирус Сёндай. Поскольку раковые клетки миеломы «бессмертны», то есть способны делиться большое количество раз, после слияния и соответствующей селекции гибридома, производящая моноклональные антитела против антигена может поддерживаться долгое время.

○ В 1984 г. за открытие принципа и Erne получили антител Мильштейн, Кёлер Нобелевскую премию по физиологии и медицине.





В действительности продуцировать антитела способны только единичные гибридомные клетки. Такие клетки необходимо выделить и размножить **клонированием (4)**. После тестирования клонов на способность образовывать антитела отбираются положительные культуры, которые снова клонируются и подвергаются **последующей селекции (5)**. В результате получают гибридому, продуцирующую *моноклональные антитела*. Производство моноклональных антител этими клетками осуществляют *in vitro* в биореакторе или *in vivo* в асцитной жидкости мыши (6).



Минусы и плюсы МАТ

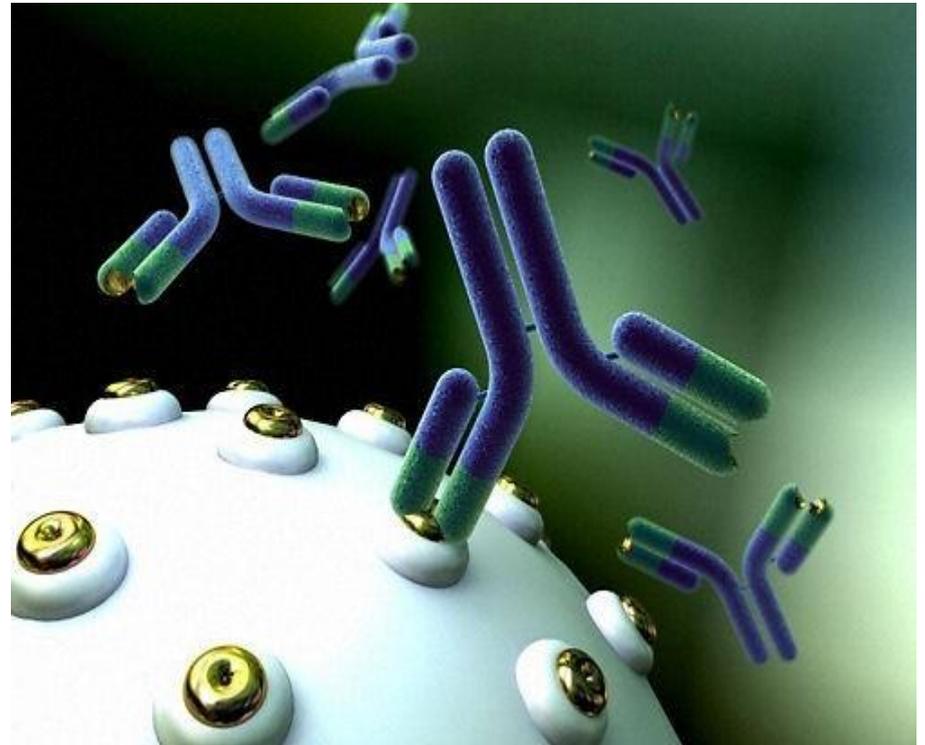
- ✓ МАТ — слишком крупные молекулы, неспособные проникать внутрь клетки или глубоко в ткани.
- ✓ Их нельзя применять перорально.
- ✓ Технологии производства МАТ по-прежнему очень дороги, что сказывается на стоимости лекарственных препаратов.
- ✓ И все же +++ МАТ:
 - высокая избирательность действия при низкой токсичности
 - способность активировать иммунную систему на борьбу с опухолевыми клетками.



Моноклональные антитела в лечении онкологических заболеваний

В терапии опухолей используют два типа МАТ:

- простые, или неконъюгированные — МАТ, не связанные ни с какими цитотоксическими веществами;
- конъюгированные — МАТ, лечебный эффект которых обусловлен присоединенными к антителу веществами (радиоактивными частицами, цитостатиками или токсинами).



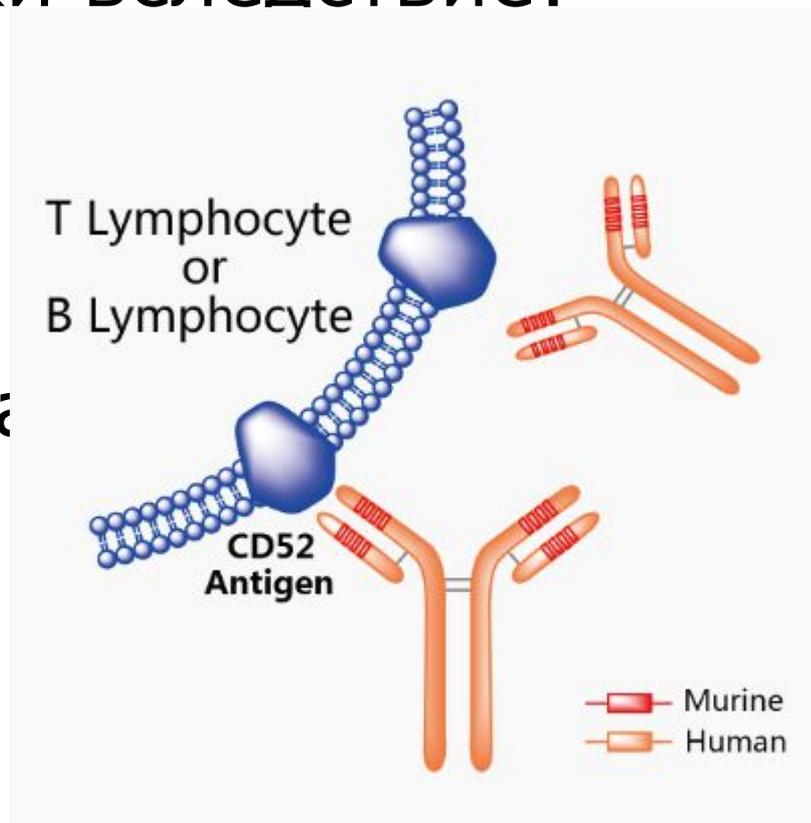
ПРОСТЫЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

- ▣ **Алемтузумаб (Мабкэмпас, Кэмпас)**
- ▣ Антитела к CD52 были разработаны в Англии. После многочисленных исследований, алемтузумаб был одобрен в 2001 г. для лечения хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) — наиболее частого вида лейкоза у взрослых.
- ▣ Антиген CD52 экспрессируется на мембране большинства зрелых нормальных и опухолевых Т- и В-лимфоцитов с очень высокой плотностью — примерно 500 000 молекул на клетку (по сравнению с антигеном CD20, плотность экспрессии которого составляет около 8000 молекул на клетку). Молекулы антигена CD52 покрывают около 5% всей клеточной поверхности лимфоцита и присутствуют на всех клетках ХЛЛ у пациентов с данным заболеванием. Этим объясняется чрезвычайно высокая активность алемтузумаба в отношении ХЛЛ и Т-клеточных лимфом, а также отсутствие необходимости определять уровень экспрессии CD52 перед началом терапии.

Механизм действия

Связывание алемтузумаба с CD52 антигенами на поверхности лимфоцитов вызывает гибель клетки вследствие:

- - активации системы комплимента
- - антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности
- - индукции апоптоза



Простые моноклональные антитела

Ритуксимаб (Ритуксан, Мабтера) стал первым МАТ, одобренным для применения в онкологии. Изначально разработанный компанией Ides (сейчас Biogen Ides), ритуксимаб был зарегистрирован в США в 1997 г. для лечения В-клеточных вялотекущих неходжкинских лимфом.

Механизм антинеопластического действия: Fab-фрагмент ритуксимаба связывается с CD20-антигеном на лимфоцитах и при участии Fc-домена инициирует иммунологические реакции, опосредующие лизис В-клеток (показано *in vitro*). Возможные механизмы клеточного лизиса включают комплементзависимую цитотоксичность (КЗЦТ) и антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (АЗЦТ). Показано также, что ритуксимаб индуцирует апоптоз в клетках линии DHL-4 человеческой В-клеточной лимфомы.



ПРОСТЫЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

- **Трастузумаб (Герцептин)** стал первым гуманизированным антителом, зарегистрированным для лечения солидных опухолей в 1998 г.
- Трастузумаб — рекомбинантные гуманизированные МАТ против HER2/neu-рецепторов, принадлежащих к рецепторам эпидермального фактора роста. Гиперэкспрессия HER2/neu в ткани рака молочной железы обнаруживается у 20–30% больных и сопровождается резким снижением апоптоза, усилением пролиферации, уменьшением числа рецепторов эстрогенов в опухоли, снижением химио- и эндокринотерапии.



Моноклональные антитела как носители активных веществ

- В последние годы МАТ стали применяться для доставки цитотоксических веществ непосредственно к опухолевым клеткам, что позволяет избежать повреждения здоровых тканей, решает проблему, связанную со слабым противоопухолевым эффектом некоторых антител из-за невозможности проникать глубоко в ткань солидной опухоли.
- В зависимости от активного вещества, присоединенного к антителу, конъюгированные МАТ подразделяют на следующие группы:
 - с радиоактивными частицами (этот вид терапии также получил название радиоиммунотерапии);
 - с цитостатиками;
 - с токсинами (или иммунотоксинами)



МАТ с радиоактивными частицами

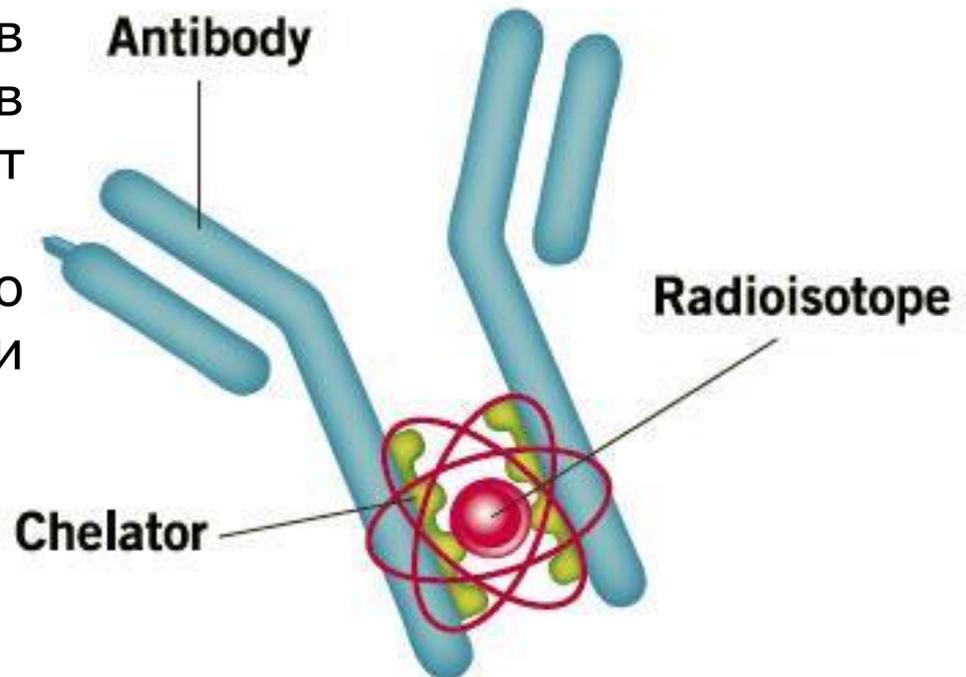
- **Ибритумаб** **тиуксетан**
(Зевалин) — МАТ против CD20, соединенное с иттрием-90. Сочетанное действие препарата обеспечивает большую эффективность по сравнению с терапией простым антителом к CD20.
- Зевалин зарегистрирован в 2002 г. для лечения рецидивов и рефрактерных форм фолликулярных лимфом.
- В настоящее время проводятся клинические исследования Зевалина в качестве консолидирующей терапии первой линии в лечении фолликулярных лимфом, а также В-крупноклеточных лимфом.



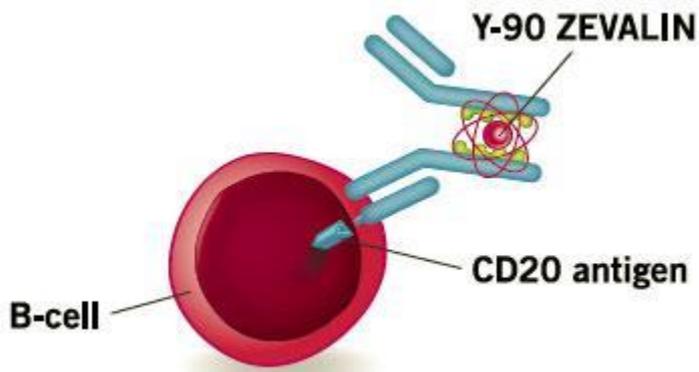
Зевалин

- Зевалин связывается как со злокачественными, так и с нормальными В-лимфоцитами, поэтому для удаления здоровых клеток, несущих антиген CD20, из системы периферической крови пациенты получают сначала дозу простых антител. После элиминации клеток-мишеней CD20 из периферической крови меченые антитела могут специфично связываться с опухолевыми клетками.

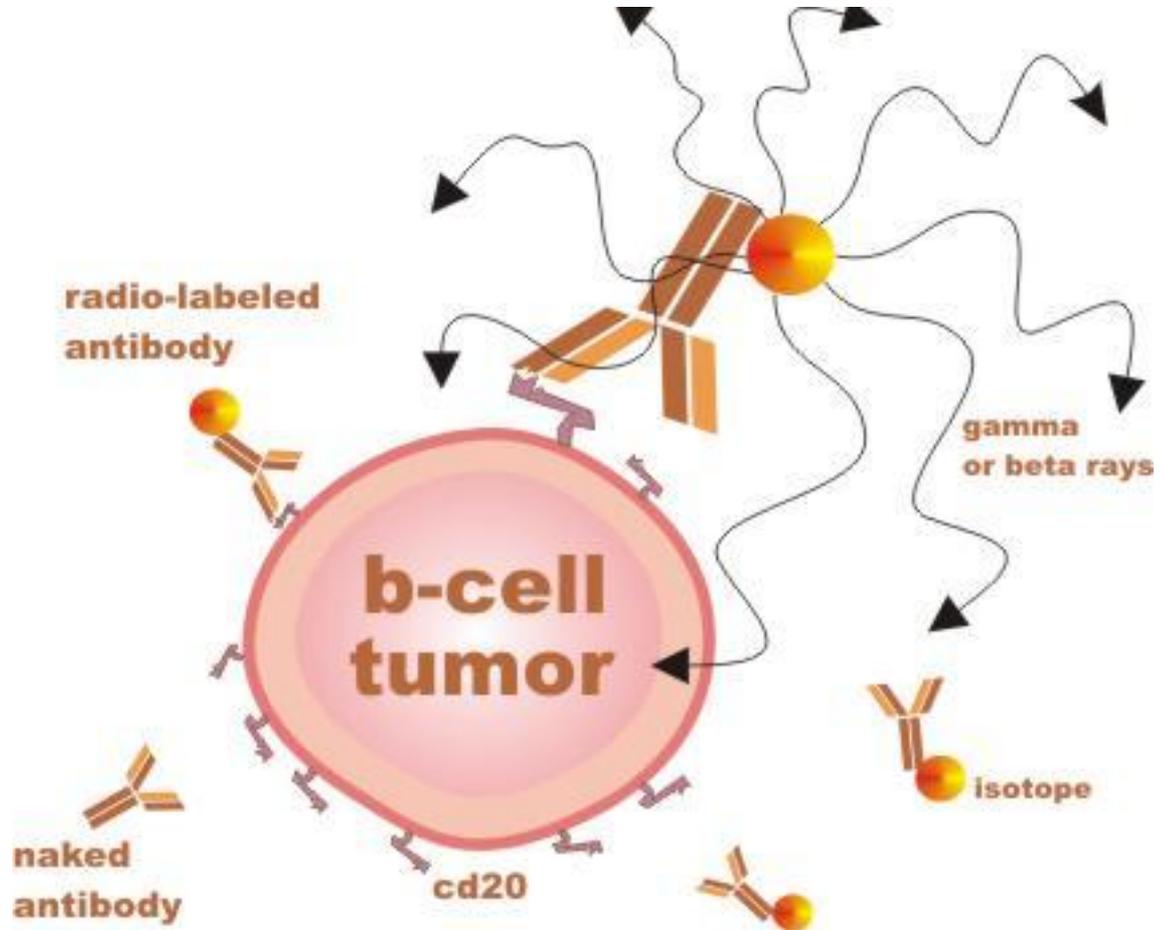
Это гарантирует высокую биодоступность препарата в местах расположения очагов опухоли и препятствует распространению радиоактивности по организму циркулирующими лимфоцитами.

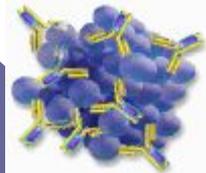


- 90% эффективной энергии иттрия-90 — в том виде, в котором он используется в препарате Зевалин — действует на глубину 5 мм, в результате чего все возможные вредные воздействия на здоровые ткани сведены к минимуму.



Иттрий-90 выделяет только β -излучение, поэтому при применении Зевалина не требуется госпитализировать или изолировать пациента. Лечение Зевалином с иттрием-90 может безопасно проводиться в амбулаторных условиях





Моноклональные антитела с носителем активного вещества

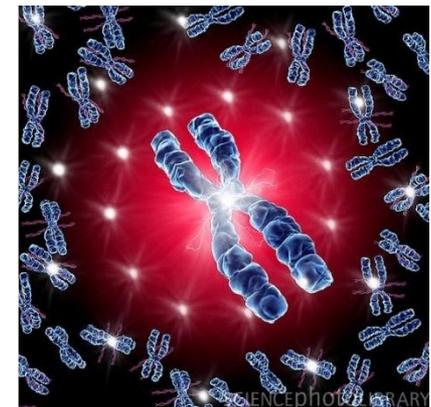
Тозитумомаб (Бексар) — мышиные МАТ к антигену CD20, к которому прикреплен радиоактивный изотоп йода-131. Препарат получил одобрение FDA в 2003 г. для лечения рецидивов фолликулярных лимфом. Режим применения Бексара включает два этапа: дозиметрический и собственно терапевтический. Йод-131 распадается, высвобождая β - и γ -излучение с периодом полураспада 8 дней. На время лечения требуется изоляция больного и особые условия его пребывания в больнице, так как радиоактивный изотоп йода-131 выводится с мочой.



Біфункціональні моноклональні антитіла



Блінатумомаб – синтетичне моноклональне АТ, одна частина якого зв'язується з CD19 (антигеном на поверхні пухлинних В-лімфоцитів), а друга – із CD3 (молекулою на Т-лімфоцитах, в т.ч. на Т-кілерах). Після фіксації антитілом атипової клітини і Т-кілера останній стимулюється для знищення пухлинної клітини. Застосовують для лікування лімфом.



Пухлиноінфільтруючі лімфоцити

Лімфоцити хворого культивують *in vitro* в присутності його атипових клітин та ІЛ-2 (фактор росту). Ці лімфоцити ще називають ЛАК-клітинами (лімфокін-активовані кілери). Через деякий час ЛАК-клітини вводять пацієнтові, де вони атакують пухлину.



Імуностимулюючі фактори

- **БЦЖ** (**Bacillus Calmette-Guérin**) (бацила Кальметта-Герена) – ослаблена жива коров'яча туберкульозна бацила. П/ш вводять при раку молочної з-зи, меланомі.

Ксеногенний трансплантат (шкірний) – при відторгненні стимулюють клітинні механізми (при меланомі).

Інтерферон-γ – посилює експресію HLA-I класу на атипових клітинах, що робить їх чутливими до Т-кілерів.

Протипухлинні вакцини

Пацієнт-специфічні вакцини.

Вакцини виготовлені за допомогою антигенів пухлини конкретного пацієнта.

Тумор-специфічні вакцини.

Вакцини масово синтезуються для використання будь-яким онкохворим з певною конкретною пухлиною.