КОНТРОЛЬНА РОБОТА

з дисципліни: Імунологія

На тему: «Імунітет та вакцини проти пухлин»

Донецьк 2009

План

1. Теоретичні основи імунопатології пухлин

2. Сучасні данні по використанню протипухлинних вакцин

3. Протипухлинні вакцини на Україні

1. Теоретичні основи імунопатології пухлин

Протипухлинний імунітет представляє собою систему, яка включає в себе дві лінії захисту з різними характеристиками і функціями. Перша з них – природний (неспецифічний) імунітет – реагує на присутність в організмі чужорідного початку, у тому числі змінних (мутованих) клітин, які могуть бути потенціальними джерелами розвитку пухлин. Друга – адоптивний (специфічний) імунітет – служить для реалізації імунної відповіді шляхом формування популяції (клона) лимфоїдних клітин, призваних вести боротьбу з пухлиною, яка розвивається. Для цього адоптивний імунітет, на відміну від природного, має характерні якості – імунологічну пам'ять по відношенню до конкретного пухлинного фактора (антигену) і здатністю розпізнавати цей фактор (специфічністю), в результаті чого формується і підтримується імунна відповідь, а наприкінці руйнуються ати пічні для організму пухлинні клітини. Саме на основі специфічності і імунологічної пам’яті створюються різні вакцини.

Природний імунітет реалізується за рахунок деяких типів клітин:

великих гранулярних лімфоцитів – NK-клітин (natural killers), природних кіллерів;

мононуклеарних клітин (моноцитів циркулюючої крові і тканинних макрофагів);

нейтрофільних гранулоцитів.

Функція природного імунітету складається, по-перше, у розпізнаванні і руйнуванні мікробних, інфікованих вірусом, злоякісних клітин шляхом фагоцитозу (лейкоцити, мононуклеари) або цитотоксичного ефекту (NK-лимфоцити) і, по-друге, в представленні (презентації) чужорідного матеріалу системі адоптивного імунітету. Для презентації формується структура, яка складається з фрагментованого при фагоцитозі антигену і елементів моноцитарно-макрофагальної клітини – головного комплексу гистосумісності (МНС – major histocompatibility complex). Міжклітинна взаємодія за участю МНС визначає подальший розвиток відповіді в системі адоптивного імунітету: формування цитотоксичної клітинної реакції і продукцію специфічних протипухлинних антитіл. Лімфоцити, які беруть участь в реакціях адоптованого імунітету, мають різні функції: так, хелпери виробляють фактори, які стимулюють функцію кіллерів; кіллери продукують токсичні фактори, які руйнують пухлинні клітини. Різні типи клітин, які беруть участь в імунологічних реакціях, взаємодіють між собою за допомогою секреції відповідних факторів (тканинних медіаторів) – цитокінів (лимфокінів – для лімфоцитів, монокінів – для моноцитів і макрофагів). Природний і адоптивний імунітет – це, як вже вказувалося, ланки єдиного механізму імунологічного захисту, реалізація якого направлена на підтримку постійності внутрішньої середи організму і знешкодження чужорідних субстанцій, у тому числі і трансформованих клітин.

Сучасна наука має у своєму розпорядженні данні о природі комплексу, який розпізнає пухлинний антиген і може викликати розвиток ефективної імунної реакції. Цей комплекс об’єднує декілька факторів. Пухлинний антиген, який може бути фагоцитований і перероблений клітками природного імунітету, представляє собою пептидну молекулу, яка зв’язана з різними молекулами гістосумісності, представленими на моноцитах або тканинних макрофагах класи молекул носять назву МНС-1 або МНС-2). В такому вигляді (пухлинний пептид + молекули гістосумісності + допоміжні фактори) антиген взаємодіє з відповідними рецепторами лімфоцитів – Т-хелперів і Т-клітин, які є попередниками цитотоксичних клітин. Для кожного типа клітин необхідний зв'язок пухлинного антигену зі своєю молекулою гістосумісності: ля Т-цитотоксичних клітин – з МНС-1, для хелперів – з МНС-2.

Всі необхідні фактори протипухлинного захисту закладені в природі імунітету здорової людини і однак пухлині, яка розвивається, вдається перейти цей бар’єр. Чому так відбувається? Проблема замикається на природі самої пухлини і закономірностях злоякісного зросту.

По-перше, пухлина виникає з тканин організму її відмінність (ступінь чужорідністі, антигенність) від здорових клітин не на стільки значна, щоб визвати розвиток вираженої імунної відповіді. Антигени пухлини (ПАА – пухлиноасоційовани антигени) – це слабі антигени на відміну віл антигенів бактерій або вірусів, які виявляють більш виражені відмінності, більш сильні антигенні якості, які використовують при створюванні ефективних (антибактеріальних, противірусних) вакцин.

По-друге, зі сторони формуючої пухлини діє свій захисний механізм відбору клітин, який може найбільш ефективно протидіяти системі імунного надзору. Цей механізм включає в себе активну антиоксидантну систему і синтез простагландина Е2. Вказані фактори протистоять механізмам антиканцерогенозу (у тому числі імунітету), підтримують виживання транформуючихся клітин і таким чином сприяють формуванню їх клону, який створює пухлину.

По-третє, пухлина, яка росте, пригноблюючи діє на імунітет масою своїх клітин і продуктами їх життєдіяльності, включаючи ті, які пригнічують імунітет і роблять загальний токсичний вплив на організм хворого.

В-четвертих, добавляється імунодепресивний ефект протипухлинної хіміотерапії і опромінювання.

Таким чином, причинами недостатньої ефективності імунологічних механізмів захисту в ході розвитку пухлинної хвороби являються:

слабка антигенність ПАА;

відбір пухлинних клітин по мірі підсилення злоякісності;

продукція пухлиною імунодепресивних факторів;

загальний токсичний вплив пухлинного процесу на організм хворого;

побічний імунодепресивний ефект терапії.

Перераховані фактори, які проявляють свою дію на різних стадіях онкологічного процесу, вказують на особливості, які визначають недостатність протипухлинного імунітету: вислизання злоякісних клітин від імунного надзору і підвищення їх стійкості до дії механізмів імунітету по мірі збільшення пухлини. Як показують розрахунки, при кількості пухлинних клітин на рівні 109 імунологічні захисні механізми оказуються недостатніми. Між тім ця кількість являється близьким до мінімуму для прояву перших симптомів пухлини. При масі клітин 108 пухлина клінічно себе ще не виявляє, хоча і доступна для діагностики за допомогою відповідних маркерів – ракового ембріонального антигену (РЕА), СА-125 (при раці яєчників) та ін. Зрозуміння цих закономірностей дозволяє зробити важливий висновок про те, що принципіально можливо використовувати імунотерапію як метод проти рецидивного і анти метастатичного лікування, коли головна маса пухлини віддалена і прогноз захворювання залежить від ефективного пригноблювання збережених злоякісних пухлин. Звідси логічно слід заключити о можливостях використання протипухлинних вакцин.

Система протипухлинного імунітету працює по типу замка і ключа, при цьому механізм розпізнавання від макрофагів до лімфоцитів пов'язаний з ізоантигенами (клітинними факторами одного генотипу). Це означає, що всі клітини, які беруть участь в реалізації адоптивного імунітету, повинні належати одному організму (або одно яйцевим близнюкам). В результаті взаємодії Т-хелпери звільняють фактор IL-2, який стимулює диференціацію і розмноження Т-цитотоксичних клітин-попередників і трансформацію їх у зрілі клітини, які атакують пухлину.

Дійсність цього механізму доказана у багатьох експериментах, які можна получити відповідними методами молекулярної біології і генної інженерії. Здається, що відкрито шлях до цілонаправленого підсилення антигенності пухлинних клітин, стимуляції адоптивного імунітету і, як результат, розвитку цитотоксичної протипухлинної реакції. Саме цим вимогам повинні відповідати ефективні протипухлинні вакцини. Однак підсилення антигенності являється лише частиною рішення; існують і інші проблеми. Пухлина характеризується не тільки множинністю своїх (пухлино асоційованих) антигенів, але і підвищеною мутаційною активністю (нестабільністю геному) в напрямку подальшого підсилення якостей злоякісності. Цей процес супроводжується постійною зміною антигенного спектру, і можна зробити припущення появи в цьому спектрі нових, недостатньо вивчених антигенів. Наприклад, підраховано, що при злоякісної пухлині кишечнику спостерігається приблизно 11 тис. порушень геному, які можуть служити причиною експресії аномальних або зверхекспресії індивідуальних клітинних антигенів.

У таких умовах остається відкритим важливе питання – оптимального відбору антигену (або групи антигенів), які призначені для утворення штучної вакцини. Чи можливо це взагалі, або протипухлинний імунітет індивідуальний, як індивідуальна ДНК? Надзвичайна варіабельність антигенного набору пухлини, яка росте, призводить до невдачі сам процес створення протипухлинної вакцини по типу антиінфекційних вакцин, які розраховані на усі випадки, які пов’язані з тим чи іншим збудником хвороби. Створення ідеальної вакцини на прикладі вакцин проти поліомієліту, туберкульозу та багатьох інших хвороб у випадках онкологічних захворювань є малоефективним.

Альтернативний погляд на проблему вважає закидання великої сітки, яка включає використання всього антигенного набору пухлини. Але здійснити це можливо лише використовуючи матеріал пухлини самого хворого. Тут є одна особливість: комплекс гістосумісності, який представляє пухлинний антиген Т-лимфоцитам, взаємодіє лише з рецепторами власних (аутологічних) клітин. Теоретично все це можна подолати – так, сумісність між деякими елементами комплексу можна перемогти культуруванням пухлинних антигенів разом з дендритними клітинами хворого. За допомогою нових технологій це можливо зробити, але створення єдиної вакцини ще неможливо (їх називають ще вакцинами майбутнього).

Тому продовжується вивчення і вдосконалення вакцин, які створюють традиційними методами біотехнології з використанням реальних на цей день можливостей. Це включає в себе виділення антигенного пухлинного матеріалу і підвищення його імуногенності шляхом сполучення з індукторами (стимуляторами) і ад’ювантами (підтримуючими факторами) імунної відповіді. Тут очевидна перевага збере гається за аутовакцинами, які містять весь спектр антигенів, проти яких припускається виробити імунну відповідь, у тому числі індивідуальні і ступенево-специфічні антигени, які мають відмінності розвитку протипухлинного процесу у кожного конкретного хворого.

Безумовно, аутовакцини мають свої слабкі сторони, і в першу чергу то, що їх використання не дає задовільного ефекту для усіх випадків захворювання. Тому доля хворого значно залежить від індивідуальних особливостей протипухлинного імунітету, а вони можуть значно різниться, тому результат використання вакцин не завжди можна припустити з достатньою точністю.

Пошук найбільш виграшного рішення ведеться по багатьом напрямкам. В частості, велика увага приділяється створенню і використанню для цілей імунотерапії рекомбінантного IL-2. Однак доки можливості використання цього фактора є ще звуженими – з-за трудомісткості і недостатності технології методу, обмеженості спектру пухлин, в відношенні яких відмічається клінічний ефект від використання інтерлейкину.

Як би то ні було, аутовакцина являється сьогодні найбільш дійсним засобом специфічної імунотерапії пухлинної хвороби. А недостатній ефект такої терапії пов’язано ще з тим, що вона часто проводиться на пізніх ступенях процесу, коли пухлина озброєна вже власними факторами захисту, які пригноблюють імунітет. Звідси головне показання до використання вакцини – для проти рецидивної і анти метастатичної профілактики після хірургічного видалення пухлини. Але стратегія комплексної терапії припускає використання і інших методів – хіміо- і променевої терапії, які мають власний імунодепресивний ефект, який сприяє не тільки пригніченню, але і відбору збережених протипухлинних клітин. І проблема складається у тому, щоб підвисити потенціал тих вакцин, які вже є, на базі стандартних вимог, які включають в себе небезпеку їх використання і відсутність побічних ефектів, а також з урахуванням статистично значимих результатів, які підтверджують клінічну ефективність вакцинотерапії

2. Сучасні данні по використанню протипухлинних вакцин

Мета використання протипухлинної аутовакцини в тому, щоб визвати у хворого довготермінову імунну реакцію, яка подавляє або стримує розвиток пухлинного процесу. Головна проблема, яка пов’язана з використанням цієї мети, заклечається в тому, як підвисити антигенність пухлинного матеріалу, щоб стимулювати направлену проти нього імунну відповідь.

В цієї області є визначений досвід, а саме об’єднання специфічного антигенного матеріалу з факторами штучного або природного походження, які підсилюють імунну відповідь. Це могуть бути низькомолекулярні хімічні речовини (гаптени), які модифікують молекулу білка-антигена, або поєднання з високою молекулярною масою. До таких речовин частіше всього відносять компоненти мікробних клітин. Їх використання достатньо логічно: об’єднання такого типу беруть участь у формуванні протимікробного імунітету і стимулюють цитотоксичну реакцію клітин. Клінічна онкологія має великий досвід використання мікробних факторів для стимуляції неспецифічного протипухлинного імунітету, в першу чергу це вакцина БЦЖ.

Данні, які має медицина, переконують в ефективності аутовакцин, які отримані таким шліхом. В СЩА розроблена і успішно використовується вакцина, яка зроблена на основі модифікації аутологічних пухлинних клітин гаптеном (динитрофенилом, ДНФ). Її виготовляють з клітин меланоми хворого (ДНФ-модифікований антиген меланоми + БЦЖ) і три рази вводять внутришкірно. Вакцина ініциює унікальну реакцію – розвиток запалення і розсмоктування окремих вогнищ меланоми. Виживаємість хворих значно вище, ніж при інших методах лікування (в частості, терапії інтерферонами – найбільш ефективний при меланомі).

Існують данні, де продемонстровані позитивні результати використання вакцини, яку виготовлено з операційного матеріалу хворих на недоброякісну пухлину товстого кишечнику у сполученні з БЦЖ. Таке лікування скорочує ризик розвитку рецидиву на 42-61%.

Отримані результати свідкують про очевидну протипухлинну вакцин, які використовували, і дозволяють зробити деякі загальні висновки.

Матеріалом для створення аутовакцини служить зразок пухлинної тканини, який отримано безпосередньо від хворого під час операції і оброблений відповідним образом з метою підвищити його імуногенність (антигенність)

Аутовакцтнація входить до складу комплексної проти рецидивної і анти метастатичної профілактики і терапії, підвищує її ефективність (підвищується число без рецидивних випадків, віддаляється термін появи рецидивів і метастазів).

3. Протипухлинні вакцини на Україні

В НДІ України, в першу чергу в ІЕПОР, дослідження, які направлені на створення аутовакцин, проводяться вже більше 20 років, а перші данні о результатах використання таких вакцин в клінічній практиці отримані ще на початку 80-х років. Дія аутовакцини пов’язана з вибором ад’юванта, який підсилює імунну відповідь. В результаті вивчення якостей різних мікроорганізмів таким ад’ювантом був вибраний Bacillus mesentericus АВ-56. Роботи дозволили встановити наявність у цього мікроорганізму якостей протипухлинного антибіотику. Цей мікроорганізм успішно культивували на субстратах, які у своєму складі мають пухлинну тканину, а ад’ювантний фактор, який предназначено для обробки пухлинного матеріалу, виділяли з культуральної середи. Цей фактор представляє білок (лектин) з наявністю вираженої імуногенної активності: він визиває аглютинацію і гибель пухлинних клітин, а також підвищує імуногенність асоційованих з пухлиною антигенів.

В результаті використання створеної таким чином вакцини стимулюється активність механізмів протипухлинного імунітету: зростає активність натуральних киллерів і специфічних Т-лимфоцитів, а також рівень комплемент-залежних цитотоксичних антитіл, відмічається загальна активація імунної системи – підвищується пролиферативний індекс центральних (вілочкова залоза) і периферичних (лімфовузли, селезінка) органів імунітету, що вказує на втягнення в імунний процес мононуклеарних фагоцитів (дендритних клітин) з послідовною стимуляцією лимфоідної тканини. Вакцинація в післяопераційний період пригнічує життєздатність пухлинних клітин, що залишилися, і таким шляхом запобігає або заповільнює розвиток метастазів і рецидивів. Всі ці факти доказані в ході значних експериментів на тваринах, а сумарний результат був такий: після 3-кратної імунізації вакциною стійкість експериментальних мишей до послідовного розвитку пухлинного процесу (перевівці пухлинного матеріалу того ж походження, що і матеріал вакцини) зростала на 80-100%.

Було створено і пропоновано для клінічних досліджень протипухлинна вакцина першого покоління. Основна частина її клінічних випробувань проводилась в клініках онкології АМН України, а детальне вивчення параметрів вакцинації і незалежна оцінка отриманих даних - на базі Російського онкологічного центра (м. Москва). Результати повністю підтвердили високу ефективність вакцини.

В наступний час паралельно проводяться експериментальні випробування вакцин ІІ і ІІІ–го покоління, які мають ще більш високий імуногенний потенціал і безпечних у використанні, значно зросли кількість випадків такого лікування і строки спостереження за хворими, що дозволяє більш детально і надійно оцінити ефективність імунотерапії.

Імунотерапія недоброякісних пухлин стоїть на порозі важливих відкриттів зі створенням нових вакцин з використанням інфекційних (бактеріальних і вірусних) факторів, які мають зрідство до деяких видів тканин або загальність з етіологічними факторами розвитку передпухлинних захворювань (вірус папіломатоза людини – для новоутворень шийки матки, вірус Епштейна-Барра – для лімфом, віруси гепатитів С і В – для новоутворень печінки, антигени Helicobacter pylori – для новоутворень шлунку).

Література

1. Авгеенко А. И. Молекулярная биология и иммунология канцерогенеза. – М.: Медицина. – 1974. – 328 с.
2. Затула Д. Г. Микроорганизмы, рак и противоопухолевый иммунитет. – К.: Наук. думка, 1985. – 213 с.
3. Новий етап у створенні протиракових вакцин / Потебня Г. П., Семерніков В. А., Лісовенко Г. С. та ін. // Шляхи та перспективи розвитку експериментальної онкології в Україні. – Київ, 2001. – С. 104 – 114.
4. Потебня Г., Лисовенко Г., Ялкут С. Противоопухолевые аутовакцини: перспективы применения. –К.: Doctor, № 2, 2002, С. 52 – 58.
5. Радзиховская Р. М. некоторые закономерности противоопухолевого иммунитета. – М.: Медицина. – 1971. – 222 с.
6. Салямон Л. С. Рак и дисфункция клетки. – Под ред. Л. М. Шабада. – Л.: Наука. – 1974. – 318 с.
7. Хунданова Л. Л., Хунданов Л. Л. Иммунология канцерогенеза. – М.: Наука. – 1978. – 206 с.