

**Тематичний план семінарських занять з навчальної дисципліни  
«Нове в розвитку імунопатології, її діагностиці та лікуванні»  
для аспірантів очної (денна, вечірня) форми навчання  
за спеціальністю 222 Медицина**

№	Назва теми	Годин
1	2	
1.	Мембранні та цитоплазматичні сигнальні системи. Основні механізми регуляції імунної відповіді людини	2
2.	Антигени головного комплексу гістосумісності та хвороби	2
3.	Імунна система та онкогенез, імунотропні препарати в онкології	2
4.	Рекомбінантні технології в імунології та алергології	2
	<b>Разом:</b>	<b>8 год</b>

**Тема семінарського заняття №1  
«Мембранні та цитоплазматичні сигнальні системи. Основні  
механізми регуляції імунної відповіді людини»**

**Навчальна мета заняття:** дати аспірантам сучасні знання про сигнальні системи в передачі активаційних сигналів та механізми регуляції імунної відповіді.

**Професійно-орієнтована мета заняття:** навчити аспірантів призначати імунологічні дослідження мембранних та цитоплазматичних факторів, асоційованих із активацією імунної відповіді і вміти їх інтерпретувати.

**Теми реферативних повідомлень:**

1. Основні мембранні учасники процесу активації Т-лімфоцитів.
2. Основні цитоплазматичні регулятори імунної відповіді.
3. Синергічна взаємодія сигнальних факторів неспецифічної та специфічної імунної відповіді.
4. Застосування імунотропних препаратів-інгібіторів мембранасоційованих ферментів у протизапальній терапії.
5. Основні типи регуляції імунної відповіді.

**Короткий зміст заняття:**

Процес активації лімфоцитів є одним із прикладів співпраці і взаємодоповнення специфічних і неспецифічних механізмів імунної відповіді. З однієї сторони, неспецифічна імунна відповідь закінчується сама по собі по причині відсутності збуджуючих сигналів після елімінації мікроорганізмів, з другої сторони – по причині дії механізмів, які активно приймають участь в негативному контролі запальних процесів (гальмуюча дія цитокінів, синтез ліпоксинів, резольвінів і протектинів). Дія цитокінів є регульованою на багатьох рівнях. Крім прозапальних медіаторів, синтезуються фактори або цитокіни, які

гальмують запальні процеси, такі як IL-10, TGF- $\beta$ , простагландини. Вони відповідають за стимуляцію синтезу IL-1 Ra, цитокіну, який, зв'язуючись з IL-1 R, гальмує передачу сигналів через цей рецептор.

Цитокіни можуть здійснювати свій вплив тільки завдяки присутності на клітинах зовнішніх рецепторів, які відповідають за специфічне зв'язування лігандів і впливають на спосіб передачі сигналу після зв'язування цитокіну. Внутрішньоклітинні фрагменти рецепторів містять домени, які безпосередньо відповідають за ініціацію сигналів у клітині.

Дозрілі Т-лімфоцити, які покидають тимус, називаються наївними лімфоцитами. Причиною активації наївного лімфоцита є його безпосередній контакт з антигенпрезентуючою клітиною, яка презентує в асоціації з молекулами МНС специфічний антиген. У процесі цього контакту лімфоцит повинен отримати щонайменше два сигнали для активації: 1) розпізнавання антигену та участі у цьому *клітинного рецептора TCR*; 2) взаємодії між собою *костимулюючих молекул* Т-лімфоцита та антигенпрезентуючої клітини: найважливішу роль в костимуляції відіграють взаємодії рецепторів CD28, ICOS1, CD2 на поверхні Т-лімфоцита з молекулами CD80, CD86, ICOS-L, LFA-3 (CD58) та CD48, які знаходяться на поверхні антигенпрезентуючих клітин.

Якщо наївний лімфоцит, який розпізнав антиген, не отримає другого сигналу, то не відбудеться його активація і він ввійде в стан анергії. Безпосереднє сусідство конгломератів рецепторів та костимулюючих молекул дозволяє клітині швидко і точну реакцію навіть при малій концентрації антигена в середовищі.

Передача активізаційного сигналу всередину Т-клітини відбувається за такими кроками: 1) *ранній етап передачі сигналу Т-клітинним рецептором* - у активації Т-лімфоцитів беруть участь 4 типи нерепторних тирозинових кіназ, які здійснюють фосфорилування; 2) *участь адаптуючих білків* (внаслідок активації тирозинових кіназ запускається каскад білків LAT та SLP-76, відповідальних за подальшу передачу сигналу до клітини, тобто адаптуючих). Вони не мають ферментативних властивостей і працюють як молекули-з'єднувачі поверхневих рецепторів з каскадом сериново-треонінових кіназ, які передають сигнал всередину клітини; 3) *два внутрішньоклітинні шляхи передачі сигналу до активації* Т-лімфоцитам – перший – це метаболізм фосфатидилінозитулу в клітинній мембрані (залежний від Ca<sup>2+</sup> кіназ і фосфатаз), другий - запуск активності білків GTP-аз (найбільш важливі Ras та Rho (RAS-1 та Cdc42) та наступною передачею сигналу за допомогою каскаду мітоген-активованих протеїнових кіназ (mitogen-activated protein kinases – MARK); 4) *шлях, зв'язаний з метаболізмом фосфатидилінозитулу* – завдяки ньому утворюються месенджери другого порядку 1,4,5-трифосфоран інозитулу (IP3) та діацилгліцерол (DAG). IP3 вивільнює іони кальцію з внутрішньоклітинних депозитів, потім активується серинова фосфатаза (кальційневрин). Молекулами-мішенями для кальційневрину є транскрипційні фактори з родини NF-AT (нуклеарні фактори активованих Т-лімфоцитів). Відбувається дефосфорилування цих факторів і вони переміщуються всередину клітинного ядра і утворюють комплекс з фактором AP-1. Цей комплекс відіграє важливу

роль в транскрипції генів, які експресуються в активованому Т-лімфоциті. Цей процес стосується генів для IL-2, IL-4, IFN-гамма, GM-CSF, IL-3, IL-13, TNF і поверхневих молекул CD25, FasL, CD154, CD69. Дигліцерол безпосередньо активує сериново-треонінові кінази, протеїнкінази С; 5) GTP-ази та каскад кіназ MAP (завершальним пунктом в активації є мітоген-активована протеїнкіназа MAP).

Кінцевими елементами цих шляхів є екстрацелюлярні сигнальні регуляторні кінази та кінази, активовані стресом. Кінцева мета шляху MAP-кінази – активація транскрипційних факторів групи NF-AT. Експресія генів, індукованих в активованому Т-лімфоциті впродовж перших 24 години, забезпечує механізм ядро – цитоплазма – клітинна мембрана та секрецію ряду речовин.

Для проліферації, диференціювання та міграції двох *субпопуляцій Т-лімфоцитів-хелперів (Th1, Th2)* важливими є сигнали, які передаються через присутні на них молекули CD 28 OX40(CD134). Лігандами цих молекул, відповідно, є молекули CD80/CD86 та OX40L, які знаходяться на антигенпрезентуючих клітинах. У диференціюванні Th1 важливу роль відіграють транскрипційні фактори STAT1, STAT4 та T-bet, а в диференціюванні Th2 – транскрипційні фактори STAT6 та GATA-3.

**Будова В-клітинного рецептора** є подібною до будови Т-клітинного рецептора, тому активація В-лімфоцитів відбувається у подібний спосіб. Відрізняються між собою тільки коstimуляційні молекули – для Т-лімфоцита це CD28 та ICOS з їх лігандами CD80/CD86 та B7h, а для В-лімфоцита – це CD40, CD19/CD21/CD81, молекула CD22 та Fc-гамма RIIb (CD32).

Крім шляху CD28-CD80/86, описано ще ряд пар коstimуляційних молекул. Ці молекули у більшій мірі впливають на подовження стану активації чи диференціювання лімфоцитів у клітини пам'яті. На особливу увагу заслуговують молекули 4-1BB (CD137), OX-40 (CD134), ICOS (CD278) та CD27. Варто пригадати і стимулюючу роль адгезивних молекул, таких як CD2, LFA-1 чи ICAM-1. Гальмуючі молекули: CTLA-4 (CD152) людини має склад, на 30% гомологічний до CD28. Лігандами до CTLA-4 є також CD80 та CD86, однак CTLA-4 демонструє у 40-100 разів вище афінність до тих лігандів, ніж CD28. **Базовою функцією CTLA-4 є пригнічення процесу активації у фазі індукції Т-лімфоцитів** в периферичних лімфатичних органах. **Друга важлива молекула, яка гальмує активацію лімфоцитів – це PD-1.** Експресія PD-1 є сильною на активованих лімфоцитах Т-, В- і моноцитах. У цитоплазматичній частині ланцюга PD-1 містить мотив ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif). Головною функцією молекули PD-1 є гальмування проліферації Т-лімфоцитів і продукції цитокінів. У протилежність до CTLA-4, PD-1 грає важливішу роль у гальмуванні ефекторних механізмів Т-лімфоцитів щодо клітин-мішеней, але може також діяти на етапі індукції, охороняючи антигенпрезентуючі клітини перед атакою за сторони Т-лімфоцитів.

Правильне розуміння дії активуючих та інгібуючих молекул призвело до перелому у імунотерапії пухлин, бо стало відомо, що такі молекули, як CTLA-4 та PD-1 є відповідальними за гальмування імунної відповіді проти пухлинних

клітин. З іншої сторони, похідні від молекули CTLA-4 – абатацепт та белатацепт – пробують використовувати у лікуванні аутоімунних хвороб та трансплантології. Знання механізмів активації дозволяє застосувати низку імуноотропних препаратів. Так, відомості про значення кальційневрину в активації Т-лімфоцитів використовуються в призначенні деяких імуносупресивних ліків, які блокують цей фермент (такролімус і циклоспорин А). Загальну протиактиваційну дію проявляють також глюкокортикостероїдні гормони. Загалом, процеси передачі активаційних сигналів, які активують імунну систему, на сьогоднішній день перебувають в центрі уваги вчених. Подальше їх вивчення є необхідним для розробки і застосування нових медикаментозних чи немедикаментозних лікувальних технологій.

Функціонування імунної системи людини залежить від злагодженої співпраці багатьох клітинних та гуморальних факторів, але у найбільшій мірі у: 1) дотриманні рівноваги між активацією та супресією імунологічних процесів; 2) підтримці імунологічної толерантності та запобіганні аутоагресії. Найбільш відомими є такі типи регуляції імунної відповіді: 1) клітинна; 2) цитокінова; 3) ідіотип-антиідіотипічна; 4) нейроімунно-ендокринна; 5) генетична; 6) регуляція імунної відповіді із залученням механізмів апоптозу.

Суть *клітинної регуляції імунної відповіді* – збереження хелперно-супресорної рівноваги. У клітинній регуляції беруть участь: 1) Т-хелпери першого порядку (Тх-1) та синтезовані ними цитокіни; 2) дендритні клітини; 3) макрофаги; 4) Т-лімфоцити цитотоксичні. При потрапленні антигену в організм людини Тх-1 інфільтрують місце його проникнення, потім відбувається: 1) синтез IFN- $\gamma$  та активація макрофагів, особливо їх фагоцитарної функції; 2) синтез IL-2 та активація Т-лімфоцитів-цитотоксичних. Важливу роль в клітинній регуляції відіграють дендритні клітини, які презентують антигени і активують Т-лімфоцити через: 1) Т-клітинний рецептор TCR; 2) CD28 – костимуляційну молекулу Т-лімфоцитів; 3) цитокіни IL-12, -15, -18, -21.

Так як в нашому організмі існують аутореактивні лімфоцити, існує багато механізмів охорони перед аутоагресією: 1) усунення (делеція) аутореактивних Т- і В-лімфоцитів, резидентних у тимусі та кістковому мозку; 2) анергія – відсутність реактивності у циркулюючих аутореактивних Т- і В-лімфоцитів. Це – пасивні механізми. Активну охорону перед аутоагресією реалізують Т-лімфоцити-регуляторні (Treg CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>), які ще називають Т-супресори (Ts). Регуляторні лімфоцити мають такі субпопуляції: 1) натуральні або тимус-похідні tTreg (thymus-derived Treg) та Т-регуляторні, активовані на периферії pTreg (peripheral Treg). Важливими стимуляторами pTreg є TGF- $\beta$  та IL-10, а IFN- $\gamma$  є їхнім інгібітором.

*Антиімуноглобуліни та ідіотипічна регуляція імунної відповіді* також беруть участь у захисті організму від аутоагресії. Імуноглобуліни (антитіла) володіють імуногенністю, тому, введені в інший організм, викликають продукцію анти-імуноглобулінів, але можуть формуватися і в тому ж самому

організмі. Так як вони синтезуються проти різних фрагментів молекули імуноглобуліну, то поділяються на алотипові, ізотипові та ідіотипові. Найбільше значення мають ревмофактори та антиідіотипові антитіла.

*Цитокінова регуляція імунної відповіді* відбувається завдяки їх здатності здійснювати: 1) автокринну 2) паракринну 3) ендокринну дії. Регуляторна функція цитокінів полягає у впливі на проліферацію, диференціацію та функціонування не тільки імунних, але в всіх клітин організму людини. Для здійснення цієї функції цитокіни зв'язуються із специфічними рецепторами на клітинних мембранах. За функцією цитокіни поділяються на: 1) прозапальні, які підвищують рівень експресії молекул адгезії та головного комплексу гістосумісності (МНС), активують Т і В-клітини, пригнічують супресорні механізми (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-11, IL-12, ФНП- $\alpha$ , ІФН- $\gamma$ ); 2) протизапальні, обмежуючі розвиток запалення (IL-4, IL-10, ТФР- $\beta$ ); 3) регулятори клітинного і гуморального імунітету - природженого або набутого, володіючи власними ефекторними функціями (протівірусними, цитотоксичними тощо).

*Генетична регуляція імунної відповіді* відноситься до найважливіших. Цей тип регуляції здійснюється молекулами головного комплексу гістосумісності МНС (major histocompatibility complex), або ГКС (головний комплекс гістосумісності). HLA-система – це I-й та II-й класи комплексу МНС. Суть генетичної регуляції: трансплантаційні антигени детермінують міжклітинну кооперацію і забезпечують реалізацію імунної відповіді. HLA-регіон визначає в цілому імунологічну реактивність організму та схильність до низки хвороб.

*Нейро-ендокринний тип регуляції імунної відповіді* стосується як активації, так і супресії імунної відповіді. Активація імунної відповіді відбувається при участі: соматотропного гормону, вазопресину, окситоцину, мелатоніну, тимозину, тироксину, інсуліну, альдостерону, пролактину. Пригнічення імунної відповіді відбувається при участі: адренкортикотропного гормону,  $\alpha$ -меланоцитостимулюючого гормону, кортикостероїдів, катехоламінів, гестагенів, андрогенів. Основним способом передачі сигналів при такому типі регуляції є рецепторний. Лімфатичні органи багаті нервовими закінченнями (норадренергічними, холінергічними та пептидергічними). Найчастіше це норадренергічні закінчення. Лімфоцити, як і макрофаги, мають адренергічні рецептори ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  і  $\beta 2$ ), пептидергічні та опіоїдні. Норадреналін, зв'язуючись з цими рецепторами, призводить до росту рівня циклічного АМР (цАМР) у клітині з наступною активацією каскаду кіназ. Безпосереднім ефектом впливу норадреналіну на Т-лімфоцити є гальмування їх проліферації в відповідь на мітогени з пригніченням синтезу IL-2 та IFN- $\gamma$ .

*Регуляція імунної відповіді із залученням механізмів апоптозу* створена для: 1) елімінації клітин, які вичерпали ліміт поділу і завершили виконання своїх функцій; 2) підтримки тканинного гомеостазу шляхом усунення надлишкових і/або аномально функціонуючих клітин (інфікованих внутрішньоклітинними

збудниками, пухлинних, генетично чужорідних); 3) контролю над формуванням імунопатологічних синдромів. Апоптоз має такі фази: сигнальна, ефекторна та фаза деградації. Для входження клітини в першу фазу апоптозу необхідна відсутність зв'язку з молекулами HLA I і II класів. Так як лімфоцити є єдиними клітинами, які проліферують в кістковому мозку та тимусі, а також діляться на периферії, їм необхідна регуляція за допомогою апоптозу. Одним із варіантів гальмування активності імунокomпетентних клітин є запуск апоптозу, для чого необхідний зовнішній сигнал Fas/APO-1 (CD95). Апоптоз здійснюється за багатьма механізмами, але найвідомішими є: мітохондріальний, ядерний, мембранний (рецепторно-опосередкований). При мітохондріальному механізмі задіяні: 1) цитохром С; 2) цитоплазматична ендонуклеаза G; 3) система білків родини Bcl-2 (антиапоптичних - bcl-2, bcl-X1, bcl-w та проапоптичних - bax, bak, bid, bim, bnip3). При реалізації ядерного механізму ведучу роль відіграє білок p53, який активується у відповідь на пошкодження ДНК. Рецепторно-опосередкований механізм апоптозу відіграє вирішальне значення в регуляції імунної відповіді. Існують спеціальні рецептори апоптозу (рецептор TNF, Fas/APO-1 - CD95), які зв'язуються з відповідним лігандом FasL, у результаті чого активуються специфічні протеїнази (каспази), які запускають апоптоз.

Існують ще й інші механізми регуляції імунної відповіді, зокрема за допомогою медіаторів, які сприяють передачі регулюючих сигналів всередину клітини. Найбільш активними є простагландини, лейкотрієни та ліпоксини, а також медіатори, які походять з ліпідів клітинних мембран – ейкозаноїди та тромбоцит-активуючий фактор. Активацію цих мембранних регуляторних механізмів відбувається внаслідок порушення цілісності мембрани клітини (травма, запалення тощо).

### ***Темати для дискусії:***

1. Активізаційні та гальмівні процеси в реалізації основних функцій Т-залежного імунітету.
2. Терапевтичні агенти, регулюючі ефекти активуючих та гальмуючих молекул.
3. Цитокінові сигнальні системи.
  4. Які типи регуляції імунної відповіді підтримують хелперно-супресорну рівновагу.
  5. Яким чином підтримується імунологічна толерантність щодо аутоантигенів.
  6. Які Ви знаєте головні месенджери передачі сигналів між нервовою, ендокринною та імунною системами.

### **Тема семінарського заняття №2 «Антигени головного комплексу гістосумісності та хвороби»**

**Навчальна мета заняття:** дати аспірантам основні знання про будову та функції антигенів I-го та II-го класів головного комплексу гістосумісності людини.

**Професійно орієнтована мета заняття:** навчити аспірантів лікарів-слухачів інтерпретувати результати визначення HLA-фенотипу людини, використовуючи їх для діагностики різних імунopatологічних порушень.

**Теми реферативних повідомлень:**

1. Будова HLA-системи людини.
2. HLA-антигени та невиношування у жінки.
3. HLA-антигени, асоційовані з порушеннями сперматогенезу в чоловіка.
4. HLA-антигени, асоційовані з схильністю до інфекцій сечостатевої системи.
5. HLA-антигени, пов'язані з формуванням алергічного та аутоімунного синдромів.

**Короткий зміст теми заняття:**

*HLA-система* – це частина головного комплексу гістосумісності (MHC), що об'єднує його 1-й та 2-й класи. Людські лейкоцитарні антигени (HLA) є високополіморфними. На підставі вже вивчених генів кількість можливих комбінацій є астрономічно великою, у зв'язку з чим у світі практично не існує двох людей, однакових за особистими наборами HLA-антигенів. Таке генетичне розмаїття повністю унеможливорює підбір пари «донор-реципієнт» з ідентичними антигенами. Лейкоцитарні антигени містяться на всіх соматичних та імунотетентних клітинах людини. На гаметах розміщуються особливі лейкоцитарні антигени «некласичних» локусів 1-го класу (E, F, H, G). Визначення лейкоцитарних антигенів людини необхідно для створення її генетичного імунологічного «паспорту».

Розрізняють *два типи методів для HLA-типуювання: серологічний* (клітинний, біохімічний), спрямований на виявлення продуктів HLA-антигенів, експресованих на мембранах клітин. Моделлю для вивчення генерації та активності цитотоксичних клітин служить міксткультура лімфоцитів (MLC), коли разом культивуються алогенні лімфоцити, що розрізняються за генетичними маркерами всередині HLA-локусу. Для того, щоб вивчити кілерну активність одного з учасників реакції, клітини іншого індивідуума перед культивуванням опромінують або обробляють аутоміцином C та мітять радіоактивним хромом. Оброблені таким чином лімфоцити виконують роль клітин-мішеней. Інтенсивність вивільнення хрому із клітин, які загинли, прямо пропорційна кілерній активності респондентів. Інший з цієї групи методів – *лімфоцитотоксичний тест* призначений для ідентифікації HLA-антигенів 1-го та 2-го класів. Недоліком цього методу є залежність від експресії антигенів, що, в свою чергу, залежить від індивідуальних особливостей або лікування імуносупресантами. Найбільш сучасними є *ампліфікаційні методи*, а саме ланцюгова полімеразна реакція, яка дає змогу ідентифікувати всі відомі алелі кожного з локусів HLA-системи.

Наявність певних антигенів HLA може бути пов'язано з більшим або меншим ризиком розвитку певних хвороб (близько 500). Приклади кореляцій між системою HLA та хворобами: анкілозуючий спондилоартрит асоціює з антигеном B27; целіакія – з DR3; вроджена гіперплазія наднирників - з B47; хронічний активний гепатит – з B8; хвороба Аддісона – з DR3; псоріаз – з B13; міастенія – з B8 і т.д. Коли відсутні клінічні прояви хвороби, типування HLA-антигенів може допомогти в диференційній діагностиці.

*Класичні та неklasичні HLA антигени класу I.* Молекули MHC класу I людини беруть участь у презентації антигенів Т-лімфоцитам. Їх можна поділити на *класичні*, які належать до класу Ia (**HLA-A, -B, -C**) та *неklasичні*, які належать до класу Ib (**HLA-E, -F, -H, -G** та MICA і MICB). *Експресія класичних HLA-C антигенів класу I на трофобласті.* На клітинах трофобласту відсутні інші класичні молекули MHC класів 1 та 2, крім HLA-C. Крім вище вказаних молекул, на клітинах трофобласту присутні неklasичні молекули MHC класу Ib - HLA-G та HLA-E. Антигени HLA-C належать до найменш імуногенних молекул MHC і навіть не приймаються до уваги при підборі пари донор-реципієнт при трансплантації.

*Молекули HLA-C є єдиними поліморфними молекулами MHC в клітинах трофобласту. Вказані молекули відносяться до найважливіших лігандів рецепторів KIR, які залежно від впливу на кілінг NK-клітин, поділяються на активуючі (KIR2DS) або гальмуючі (KIR2DL).*

Гени людини, які кодують KIR, є поліморфними і проявляються у двох гаплотипах: А та В. У гаплотипі В знаходиться більше активуючих рецепторів. У процесі вагітності матковий фенотип KIR може бути AA, АВ чи ВВ. Аналогічно й молекули HLA-C містяться в двох головних групах: HLA-C1 та HLA-C2. HLA-C2 сильніше стимулюють рецептори, які гальмують кілінг. Помічено, що стани, які передують еклампсії, частіше розвиваються у жінок з фенотипом молекул KIR AA, особливо в тих випадках, коли плід має молекули HLA-C2. Неочікувано та парадоксально виявилось те, що патологія вагітності розвивається частіше тоді, коли активність маткових NK-клітини (uNK) гальмується. Таким чином, стимуляція, а не гальмування uNK виявляється необхідною для правильного перебігу вагітності. Молекули MHC 1 і 2 класів мають незаперечне значення у фізіологічному виношуванні вагітності. Імунопатогенез спонтанних викиднів, розвитку ендометріозу, хронічних урогенітальних інфекцій у жінок є HLA-асоційованим. HLA-асоційована аутоімунна патологія як у жінок, так і чоловіків приводить до розвитку непліддя.

Експресія *неklasичних HLA-E та HLA-G* присутня на позазародкових тканинах і може бути вирішальною у визначенні імунологічних стосунків між матір'ю та плодом. Молекули (антигени) HLA-G можуть оберігати тканини плода від NK-клітин і Т-цитотоксичних лімфоцитів, гальмуючи активність цих клітин.

*Неklasичні HLA антигени класу I (HLA-E, -F, -G), представлені тільки на клітинах статевої системи чоловіків та жінок. Антигени HLA класу I (HLA-E, -F, -H) експресуються на статевій системі чоловіка, а антигени HLA сублокусу G - на яйцеклітині. Відомо, що ген HLA-G антигену локалізований на короткому*



плечі 6 хромосоми і кодує дві форми білка: один з яких зв'язаний із клітинною мембраною, а другий - розчинний. Протягом вагітності спостерігається зростання його рівня в першому та другому триместрах вагітності та зниження в третьому. У жінок з високим ризиком переривання вагітності (патологія каріотипу, гормональні порушення, анатомічні зміни в матці, інфекції та аутоімунні хвороби) підвищені рівні розчинних форм білка sHLA класу 1 мали позитивну кореляцію з рівнем IFN- $\gamma$ . Ризик ідіопатичних звичних викиднів після IVF (in vitro fertilization, екстракорпоральне запліднення) виявився вищим у жінок, які в периферичній крові мали низьку концентрацію sHLA-G порівняно з жінками, які мали високу його концентрацію. Окрім цього, наявність HLA-G-гену асоційована з підвищеним ризиком відторгнення ембріона через наявну експерію цього антигену на клітинах ембріональної тканини.

*Асоціація між HLA-антигенами та спонтанними викиднями.* Результати проведених досліджень показали, що гени, розміщені в різних частинах 2 класу МНС (HLA B – HLA DR –HLADQ), пов'язані з різними аспектами репродукції. Однак, набір HLA-антигенів не є єдиним механізмом, що задіяний у дефектах репродукції. Сегмент МНС, який впливає на репродукцію - це набір генів, асоційованих з аутоімунними хворобами, а їх співставлення наводить на думку про асоціацію аутоімунних хвороб та дефектів репродукції. У жінок із спонтанними викиднями найчастіше виявляють антигени B44, DR5 та DQ в регіоні HLA-DR.

*Генетична схильність до хламідійної інфекції у жінок.* Імунна система більшості жінок здатна пригнічувати інфекцію завдяки наявності сильної клітинної ланки імунітету. У меншій кількості жінок, імунна система нездатна до адекватної протиінфекційної відповіді. Саме в цих жінок часто розвиваються хронічні інфекції. При дослідженні встановлено, що серед 280 дорослих жінок, в яких виявлені антитіла до білків теплового шоку sHSP60, був у 2-3 рази підвищений ризик інфікування *Chlamydia trachomatis*. Встановлена сильна асоціація між алеллю HLA-A\*6802 (МНС клас 1) та схильністю до інфікування *Chlamydia trachomatis*. Жінки із клінічними симптомами запальних захворювань органів малого тазу інфекційного генезу (хламідіоз, гонококовий цервіцит, ендометрит) мали підвищену експресію таких HLA-антигенів, як DQA \*0301, DQA\*0501, DQB\*0402. Генетичний моніторинг (контроль) жінок, інфікованих *Chlamydia trachomatis*, показав дисбаланс співвідношення T $\alpha$ -1 та T $\alpha$ -2 на першій стадії інфекції.

*Головний комплекс гістосумісності та сперматогенез.* На ранніх стадіях сперматогенезу на сперматоцитах та сперматидях експресуються неklasичні HLA-антигени класу Ib (HLA-E, -F, -G, -H). Присутність на мембранах сперматозоїдів класичних HLA-антигенів класу 1 асоційована з непліддям. Гени, розташовані в регіоні HLA класу 2, контролюють сперматогенез та регулюють взаємодію між гаметами через механізми клітинної адгезії. Чоловіки із непліддям мають порушення в трьох локусах HLA класу 2: HLA-DQA1, HLA-DQB1 та HLA-DRB1. Присутність на сперматозоїдах молекул HLA класу 2 корелює із непліддям. У японських чоловіків з необструктивною азооспермією

виявлена асоціація між HLA-DRB1\*1302 – DQB1 \*0604 алелями в HLA класу 2 та делецією фактору азооспермії (AZF) в Y-хромосомі.

Типування HLA-антигенів у деяких країнах вже стало рутинною процедурою. Тому віддавна відомі асоціації між імунопатологією та певними HLA-антигенами (таблиці 1, 2)..

<b>Хвороба</b>	<b>Антигени-маркери</b>
Поліноз	HLA-B7, DR2, B8, DR3 HLA-B12
Астма пилкова	HLA-B7, DR5
Астма інфекційно-алергічна	HLA-B8, DR3, B7, B12
Астматична тріада (бронхіальна астма, поліпоз, непереносимість аспірину)	HLA-B35, DR3, DQ2
Атопічна астма середньої важкості	B7, B12, DR5
Атопічна астма середньої важкості	A9, B13
Ефективність специфічної імунотерапії (СІТ) при полінозі	DR5
Відсутність ефекту СІТ	B12
Контактний дерматит	DR4, B13, DQ1, B12

**Таблиця 1.**

HLA-маркери деяких алергічних хвороб (Чопяк В.В., Потьомкіна Г.О., Гаврилюк А.М., 2017)

<b>РА</b>	<b>DR1,DR2,DR4, Dw4, Dw14, Dw15, DQw2, B27</b>
<b>СЧВ</b>	<b>DR2,DR3,DQw1,2, B35</b>
<b>Анкілозуючий спондиліт</b>	<b>B27</b>
<b>ССД</b>	<b>DR5</b>
<b>Синдром Чардж-Стросса</b>	<b>Dw4, DQ</b>
<b>Хвороба Такаюсу</b>	<b>B3, B52, DR3,DR4</b>
<b>Вузликівий поліартеріїт</b>	<b>DR2,DR3</b>
<b>Гранульоматоз Вегенера</b>	<b>DR13,DR6</b>

**Таблиця 2.**

HLA-маркери деяких автоімунних хвороб (Чопяк В.В., Потьомкіна Г.О., Гаврилюк А.М., 2017).

*Теми для дискусій:*

1. Будова I-го та II-го класів HLA-системи людини.
2. HLA-антигени та порушення репродуктивної функції жінок.
3. Роль HLA-антигенів у формування імунозалежного чоловічого непліддя.
4. KIR-рецептори та невиношування у жінки.
5. Асоціації між HLA-антигенами та алергічними, аутоімунними хворобами.

### **Тема семінарського заняття №3 «Імунна система та онкогенез, імуноотропні препарати в онкології» - 2 год.**

**Навчальна мета заняття:** дати аспірантам сучасні знання про участь імунної системи людини у онкогенезі та основних принципах імунотерапевтичного лікування онкохворих.

**Професійно орієнтована мета заняття:** навчити аспірантів сучасним знанням про участь імунної системи людини у онкогенезі, виділяти покази до імунотерапевтичного лікування онкохворих.

#### **Теми реферативних повідомлень:**

1. Визначення пухлини. Імунозалежні фактори, пов'язані з підвищенням ризику формування пухлини.
2. Види пухлинних антигенів
3. Класифікація імуноотропних препаратів, які застосовуються в онкології.
4. Покази до застосування моноклональних антитіл в онкології.

#### **Короткий зміст теми заняття:**

**Пухлину** визначають як патологічний процес, який характеризується безперервним розмноженням клітин, що не підлягає регуляторному впливу організму. Злоякісні пухлини, на відміну від доброякісних, характеризуються також й аплазією (втратою ознак диференціювання), інвазивним ростом та метастатичним поширенням. Причини формування пухлини: 1) тютюнопаління (30%); 2) неправильне харчування (35%); 3) зловживання алкоголем (2-3%); 4) негативний вплив на організм шкідливих професійних факторів (4-5%); 5) інфекційні агенти (10%) – віруси гепатитів В і С, вірус папілом людини 16 і 18 типів, вірус Епштейна-Барра, віруси герпесу людини 6 і 7 типів, вірус Т-клітинного лейкозу, *Helicobacter pylori* тощо; 6) ультрафіолетове проміння (2-3%); 7) іонізуюча радіація (4-5%); 8) забруднення ксенобіотиками атмосфери, води, харчових продуктів (1-2%).

Фактори, які вказують на **роль імунної системи в розвитку пухлин**: 1) спонтанна ремісія пухлини чи тривала відсутність росту пухлини; 2) у дітей з вродженими імунодефіцитом частота формування пухлин збільшується 100-1000 разів; 3) інфільтрація пухлини лімфоцитами і макрофагами; 4) після оперативного видалення пухлини, атипові клітини в крові виявляються в кожного хворого, однак метастази формуються не у всіх; 5) виявлення

специфічних антитіл до пухлинних антигенів; 6) зниження активності імунної системи в онкохворих; 7) висока частота формування пухлини на тлі зниженої активності імунної системи, наприклад у хворих на ВІЛ-інфекцію/СНІД – саркома Капоші, лімфоми ШКК і нервової системи; на системні хвороби сполучної тканини – лімфоми, рак легень і бронхів, поліцитемія, хронічний мієлолейкоз, мієлома.

**Критичні вікові періоди розвитку пухлин:** 1) дитячий вік (період становлення імунної системи); 2) юнацький вік (перебудова гормональної регуляції імунної системи); 3) похилий вік (період зниження активності імунної системи). За даними ВООЗ 60%-70% пухлин виникають власне в ці періоди життя. На формування пухлин впливають шкідливих факторів довкілля, соціально-економічна ситуація в країні та генетична схильність щодо формування пухлин.

Види пухлинних антигенів: 1) **антигени, які присутні і на пухлинних, і на нормальних незмінених клітинах** (наприклад, антиген, який кодується геном *SAMEL* і презентується молекулами *HLA-A2*, має епітоп *MLMAQEALAFI*, присутній на пухлинних клітинах меланоми та нормальних клітинах яєчка, плаценти, серця, скелетної м'язової тканини, підшлункової залози); 2) **диференційовані антигени, які присутні на пухлинних клітинах і на нормальних клітинах, з яких походить пухлина** (в основному, це пухлинно-асоційовані антигени-протеїни – меланоцитні антигени, простатичний антиген, тирозиназа тощо); 3) **«спільні» антигени, які присутні на пухлинах кількох типів** (наприклад, антиген, який кодується геном *MAGE-A1* і презентується молекулами *HLA-A1*, має епітоп *EADPTGHSY*, присутній на клітинах меланоми, пухлин молочної залози, пухлин легень); 4) **онкофетальні або пухлинно-ембріональні антигени** - присутні на ембріональних тканинах; в нормі зникають після народження в процесі диференціації клітин ( $\alpha$ -фетопротеїн, раково-ембріональний антиген); 5) **пухлинно-специфічні трансплантаційні антигени** - відіграють значну роль у процесах відторгнення пухлини завдяки формуванню клітинної імунної відповіді; в пухлинах вони є різними, коли виникають під впливом канцерогенів та ідентичні, коли виникають під впливом онковірусів; 6) **вірус-специфічні антигени** – характерні виключно для вірус-специфічних пухлин (наприклад, онкобілки *E6* і *E7* папіломавірусного раку шийки матки). 7) **антигени, які зв'язані з клональною перебудовою генів імуноглобулінів і асоційовані з індивідуальним імунологічним портретом мієломи, В-клітинної лімфоми;**

**Пухлинно-асоційовані антигени** - антигени, які специфічні до пухлин і присутні тільки на пухлинних клітинах (як правило, пухлини людини не мають специфічних пухлинних антигенів, але є винятки, наприклад, бета-катенін, змінений через точкові мутації, який презентується молекулами *HLA-A24*, має епітоп *SYLDSGIHF*, присутній тільки на клітинах деяких видів меланоми).

До пухлинно-асоційованих антигенів відносяться наступні антигени:

- антигени з мутаціями (*мутовані*) – епітопи антигенів, які кодуються в результаті пухлинно-специфічних мутацій в онкогенах або в супресорних генах, або з'являються в результаті збільшення експресії того чи іншого

генетичного елементу (мутації гена *ras*, перебудова в гені *bcr/abl*, суперекспресія гена *Her-2/neu*, мутація в гені *p53*);

- *немутовані* антигени – антигени, які присутні на пухлинних клітинах різного гістогенезу (*MAGE*, *BAGE*, *RAGE* і *NY-ESO*).

Найбільш імуногенними є пухлини, які формуються під впливом УФО і вірусів. Найменш імуногенними виявились пухлини, які формуються під впливом хімічних речовин.

Природні протипухлинні механізми можна згрупувати за двома напрямками їх дії: 1) *активізація функцій моноцитів/макрофагів* (моноцити/макрофаги активують Т-хелпери; сприяють синтезу ІЛ-12, який активізує Th1 та NK; секретії прозапальних цитокінів ІЛ-1, ІЛ-6, TNF- $\alpha$ , посилюють процеси запалення та інтеграції захисних сил); 2) *активізація Т-хелперів* (підвищення синтезу ІЛ-2, який стимулює проліферацію Т-хелперів, Т-ЦТЛ, моноцитів/макрофагів, NK; синтезу IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  для посилення протипухлинного впливу моноцитів-макрофагів; синтезу ІЛ-3 та колонієстимулюючих факторів для стимуляції кровотворення). **Цитокіни в пухлинному процесі:** 1) *гальмуюча протипухлинна дія цитокінів:* ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6 - сприяють синтезу В-лімфоцитами специфічних протипухлинних антитіл; ІЛ-2 - активізує протипухлинну функцію макрофагів; сприяє диференціації та активації Т-цитотоксичних лімфоцитів; IFN- $\gamma$  - активізує NK клітини; TNF- $\alpha$ , - $\beta$  - безпосередньо знищують пухлинні клітини або гальмують їх проліферацію; хемокіни IP-10, MIG і PF-4 - притягують до пухлини нейтрофіли, моноцити, лімфоцити, які інфільтрують пухлинну тканину; гальмують ангіогенез в пухлині. *Стимулююча протипухлинна дія цитокінів:* хемотактичні фактори для моноцитів і макрофагів (MCP) сприяють виділенню ними ростових факторів M-CSF, MG-CSF, EGF, PDGF, які пришвидшують ріст пухлини; трансформуючий фактор росту бета (TGF- $\beta$ ) стимулює ріст пухлини, знижує активність імунної системи.

Імуноterapia пухлин відбувається за основним принципом - це підтримка традиційних методів лікування (хірургічного видалення пухлин, хіміотерапії та радіотерапії). Тільки в окремих випадках імуноterapia може стати першим етапом лікування. **Пухлини, в лікуванні яких можна використовувати імуноterapia на першому етапі лікування:** меланома, рак нирки, неходжкінська лімфома, волохатоклітинний лейкоз, рак прямої кишки, рак яйників, гліома, саркома м'яких тканин.

На теперішній час існують такі форми імунотерапии пухлин: 1) **Активна імуноterapia** (специфічна та неспецифічна): а) активна специфічна - базується на використанні протипухлинних вакцин у вигляді пухлинно-асоційованих антигенів; дендритних клітин, навантажених пухлинно-асоційованими антигенами; пухлинних клітин або їх гібридом з дендритними клітинами; ізольовані ДНК пухлинних клітин; б) активна неспецифічна - базується на використанні цитокінів та бактеріальних ад'ювантів; 2) **Пасивна імуноterapia** - використанням моноклональних антитіл (МАТ); 3) **Адаптивна імуноterapia** (специфічна та неспецифічна): а) адаптивна неспецифічна імуноterapia базується на використанні антиген-специфічних Т-

цитотоксичних лімфоцитів; в) адаптивна неспецифічна - скерована на посилення ефекторної ланки протипухлинної відповіді за рахунок цитотоксичних клітин – лімфокін-активованих кілерів.

Найсучаснішим методом імунотерапії є застосування **МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ (МАТ)** скерованих проти пухлинних антигенів. Визначені наступні класи цитотоксичних МАТ: 1) некон'юговані (зв'язані з рецептором або з лігандом); 2) кон'юговані (з'язані з ізотопом, токсинами бактерійними чи рослинними, цитостатиками, IFN- $\alpha$ , лейкотріеном А); 3) анти-ідіотипічні МАТ; 4) антитіла з подвійною специфічністю (наприклад, до ефекторної та пухлинної клітини; токсину і пухлинної клітини).

*Механізми протипухлинної дії МАТ:* 1) комплемент-залежна цитотоксичність; 2) антитілозалежна клітинно-опосередкована цитотоксичність; 3) індукція апоптозу; 4) пригнічення сигнальної трансдукції; 5) активація фагоцитозу макрофагами; 6) блокада рецепторного апарату пухлинних клітин.

*Напрямки використання МАТ:* 1) МАТ, кон'юговані з ізотопами – використовують  $P^{32}$  і  $I^{131}$ , які мають велику довжину хвилі й можуть руйнувати пухлинні клітини навіть у центрі пухлинної маси. Однак, ці ізотопи ушкоджують нормальні клітини і концентруються в життєво важливих органах (серце, печінка), призводячи до порушення їх функції. Планується використовувати  $\alpha$ -проміння, яке має меншу довжину хвилі, однак більш інтенсивне. Такі МАТ більш ефективні при гемобластозах, менш ефективні – при солідних пухлинах. 2) МАТ, кон'юговані з токсинами: ядом кобри чи мураміловим дипептидом, бактерійними токсинами (ендотоксином стафілококу, синьогнійної палички, дифтерійної палички), рослинними токсинами (рицин, салонін, гелонін), протипухлинними препаратами (даунорубіцин, адріоміцин, метотрексат, хлорамбуцил, мітоміцин С тощо); ці МАТ апробовані, в основному, на тваринах в експерименті; клінічні випробування проведені на незначній кількості хворих; рекомендують використовувати у хворих на гострий лейкоз та дрібноклітинний рак легень; **недоліки:** важкість розриву кон'югованих МАТ з протипухлинними препаратами на кінцевому етапі (при їх контакті з пухлинною клітиною), а також утворення антитіл до цих МАТ. 3) Анти-ідіотипічні МАТ - Ав2 вакцина, ефект якої реалізується при використанні МАТ, які містять чужий (мишиний) білок, на який в організмі хворого утворюються анти-ідіотипічні антитіла (АТ-до Ig/АТ), які запускають механізми цитотоксичності щодо пухлинних клітин.

*МАТ, які дозволені для використання в клініці:* 1) Ритуксімаб (мантера) – анти-CD20 хімерні МАТ, які рекомендовані при рецидивуючих і рефрактерних В-клітинних лімфомах. Найкращий ефект отримано при комбінованому застосуванні цих МАТ з хіміотерапією (у 75% хворих досягнутий повний регрес пухлини); 2) Трастузумаб (герцептин) – використовуються в хворих на рак молочної залози; гуманізовані МАТ проти білкових трансмембранних рецепторів факторів росту Her/neu або C-erbB2, які експресуються на 25-30% пухлин, є маркером високоагресивного перебігу пухлинного процесу. Найкращий ефект отримано при комбінованому застосуванні цих МАТ з хіміотерапевтичними препаратами (таксол або доксорубіцин, циклофосфамід); 3) Адреколомаб

(панорекс) - мишинні МАТ до глікопротеїну нормальних клітин і клітин аденокарциноми, застосовують у хворих на колоректальний рак; особливо ефективні в комбінації з 5-фторурацилом; 4) *Ібритумомаб (зевалін)* – анти-CD20 мишачі радіоімунокон'юговані з ітрієм<sup>90</sup> МАТ, рекомендовані для застосування хворим на В-клітинну лімфому; 5) *Тозитумомаб (бексар)* – анти-CD20 мишачі радіоімунокон'юговані з йодом<sup>131</sup> МАТ (β-проміння), рекомендовані для застосування хворим на В-клітинну лімфому; повна ремісія пухлини наступає у 38% хворих; володіють високим нирковим кліренсом, не нагромаджуються в кістках, нагромаджуються в щитоподібній залозі.

Онкоімунологія відноситься до одного з найбільш перспективних напрямків клінічної імунології. У зв'язку з цим знання та розуміння механізмів впливу антибластних та пробластних факторів імунної системи на ріст пухлини виявляється необхідним не тільки лікарям клінічним імунологам, а й науковцям.

### **Теми для дискусії:**

1. Існвні причини малігнізації клітин.
2. Імунна система та пухлини: основні про- та антибластомні фактори.
3. Види імунотерпевтичних препаратів, які найчастіше застосовуються в онкології.
4. Моноклональні антитіла проти пухлинних антигенів – нова таргетна терапія раку.

## **Тема семінарського заняття №4 «Рекомбінантні технології в алергології та імунології»**

**Навчальна мета заняття:** сформувати у аспірантів сучасне уявлення про рекомбінантні молекули в імунології та алергології.

**Професійно-орієнтована мета заняття:** навчити аспірантів основним механізмам створення рекомбінантних молекул та встановлювати покази для лікування та профілактики такими препаратами.

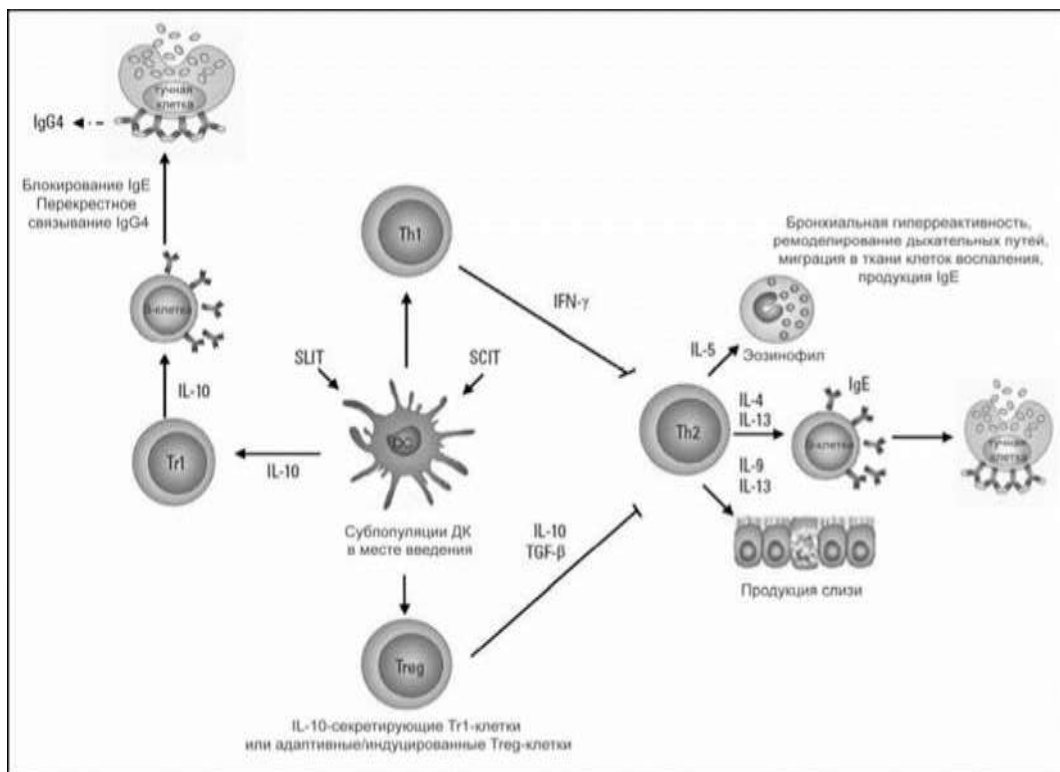
### **Напрямки дискусії:**

1. Основні принципи лікування алергічних хвороб.
2. Алергенімунотерапія – як метод впливу на етіологічні і патогенетичні ланки формування алергічних хвороб .
3. Механізм дії алерговакцинації.
4. Вимоги до алерговакцини, пособи введення алерговакцини.
5. Суть гібридомної технології отримання рекомбінантних молекул.

### **Короткий зміст теми заняття:**

Ефективність алергоімунотерапії (АІТ) безпосередньо залежить від грамотної діагностики АХ (підтвердженого зв'язку між експозицією алергену,

симптомами хвороби і IgE-залежним механізмом розвитку захворювання), дотримання показань і протипоказань до введення АІТ, якості комерційної стандартизованої вакцини і прихильності пацієнта щодо проведення тривалої терапії під контролем лікаря-алерголога. Імунологічні зміни, пов'язані з АІТ, складні, і точний механізм, або механізми, відповідальні за її клінічну ефективність, безперервно оновлюються. У першу чергу імунологічна реакція на проведення АІТ характеризується зменшенням чутливості ефektorних органів і зміною в гуморальних і клітинних реакціях імунної системи на застосовані алергени. Пригнічення реакції ефektorних органів при АІТ включає зменшення вираженості ранніх і пізніх реакцій шкіри, кон'юнктиви, слизової верхніх і нижніх дихальних шляхів у відповідь на алерген; зменшення інфільтрації цих тканин еозинофілами, базофілами і тучними клітинами; пригнічення набряку слизових оболонок і скорочення неспецифічної бронхіальної чутливості до гістаміну (рисунк 1). Імунотерапія завершується формуванням імунологічної толерантності, яка визначається відносним зменшенням специфічної до антигену реактивності і може бути пов'язана з імунним відхиленням, Т-лімфоцитарною анергією і/або Т-лімфоцитарним апоптозом.



**Рисунок 1.**

Схема механізмів алергенімунотерапії.

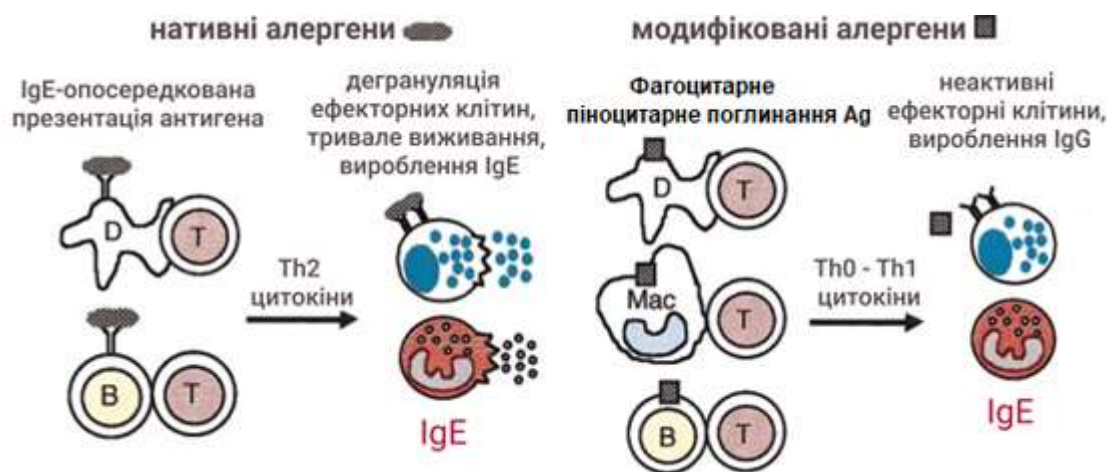
*Примітка:* SLIT – сублінгвальна імунотерапія; SCIT - підшкірна імунотерапія; Treg - Т-регуляторні клітини; TGF-β - трансформуючий фактор росту-β; IFN-γ - інтерферон-γ; DC (дендритна клітина) (Аккос Т. et al., 2011)

Успішна алергоімунотерапія призводить до формування клону регуляторних Т-лімфоцитів, які експресують маркери CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, що відбувається протягом днів або тижнів. Регуляторні Т-лімфоцити виробляють



цитокини IL-10, TGF- $\beta$  із супресивною активністю. У дослідженнях низки авторів власне синтез таких регулюючих цитокинів був описаний при імунотерапії отрутою *Hymenoptera*, пилковими екстрактами трави, екстрактами кліщами домашнього пилу. IL-10 зменшує продукцію В-лімфоцитами специфічних до алергену IgE і підвищує рівень IgG4; знижує вивільнення прозапальних цитокинів тучними клітинами, еозинофілами і Т-лімфоцитами; сприяє індукції толерантності Т-лімфоцитів шляхом вибіркового гальмування CD28-опосередкованого костимулюючого шляху. Як наслідок, лімфопроліферативна реакція на алерген після початку імунотерапії зменшувалась.

На сучасному етапі розвитку імунотерапії широкого застосування набули модифіковані алергени – алергоїди, полімеризовані з глютеральдегідом. Їхні переваги над нативними алергенами полягають (рисунок 2): 1) нативні алергени: дегрануляція тучних клітин і базофілів; презентація антигена, опосередкована IgE, спричиняє збільшення виробництва Th2 і IgE; 2) модифіковані алергени: менша кількість епітопів IgE. Вони використовують фагоцитарну / піноцитарну систему презентації антигену (поглинання антигену) дендритними клітинами та моноцитами / макрофагами: генерація збалансованої структури цитокинів Th0 / Th1 типу, синтез В клітинами пам'яті імуноглобулінів IgG.



**Рисунок 2.**

Різниця в презентації антигена між нативними та модифікованими алергенами (Akdis CA, Blaser K., 2000)

Таким чином, алергоїди мають більшу молекулярну масу, що забезпечує зменшення їх алергенності, дозволяє використовувати вищі дози та прискорені схеми введення алерговакцин; меншу здатність зв'язувати IgE, однакове (порівняно з нативними алергенами) зв'язування IgG і розпізнавання клітин, що підтримує їхню імуногенність; зменшення активності ферментів, що дає можливість використовувати суміші.

Існують різні методи введення алерговакцини. Донедавна для АІТ використовували оральний чи субкутанний (СКІТ) метод введення алерговакцини. В останні роки експерти WAO відзначають підвищений інтерес до альтернативних неінвазивних методів введення алергену під язик – СЛІТ (сублінгвальний), при якому алерген дається або у вигляді розчинної таблетки або у вигляді рідкого екстракту і всмоктується через багату судинами лімфатичну мережу рота. Науковці та клініцисти вважають, що значною перевагою СЛІТ є набагато нижчий ризик анафілактичної реакції порівняно зі СКІТ. Поява сублінгвальної імунотерапії поставила низку проблем із відпрацювання доз і схем лікування. Загалом, клінічна ефективність СКІТ і СЛІТ методів лікування, схожа, але потенційні відмінності в задіяних імунологічних механізмах до кінця не вивчені.

У більшості наукових досліджень було продемонстровано високу ефективність і безпеку на тлі незначних побічних ефектів більшою мірою локального характеру, причому, незалежно від способу введення вакцини. Визначено також, що кожен зі способів введення алерговакцини мав низку недоліків і переваг, тому вибір способу є персоніфікованим. Доведено, що АІТ була і на сьогодні залишається єдиним етіологічним методом лікування пацієнтів з АХ як серед дорослих, так і серед дитячої популяції. Однак, незважаючи на позитивні клінічні ефекти, автори висказали, що загальним недоліком для алерговакцинації є тривалість, вартість та доступність ліків для пацієнтів, а також прихильність пацієнта до даного виду терапії.

В Україні для проведення АІТ використовують також вакцини для СКІТ - АЛКСОЇД (суміш полімеризованих екстрактів алергенів) і для СЛІТ - ОРАЛТЕК (Суміш алергенів). Механізм їх дії: ОРАЛТЕК (Суміш алергенів), АЛКСОЇД (суміш полімеризованих екстрактів алергенів) застосовується для лікування пацієнтів зі специфічною ІgЕ-опосередкованою алергічною реакцією на різні алергени із такими симптомами, як риніт та ринокон'юнктивіт. Мішенню фармакодинамічного впливу є імунна система. Завданням є модифікація імунної реакції на алергени, якими лікують пацієнта. Лікування препаратами сумішшю алергенів чи сумішшю полімеризованих екстрактів алергенів спричиняє системну конкурентну відповідь антитіл на різні алергени, що супроводжується поступовим зростанням продукування специфічних ІgG впродовж 2 років лікування і більше. Перспективами АІТ є: 1) алергоїдна вакцинація (Інструкції з прискореної та кластерної імунотерапії); 2) Т-клітинні епітопні вакцини; 3) рекомбінантні алергенні вакцини; 4) вакцини на основі комбінації ад'юванта та алергену; 5) наночастинні вакцини; 6) комбіноване лікування імуномодуляторами; 7) нові способи введення алерговакцин.

**Гібридомна технологія в імунології. Гібридома** (лат. Hybridoma, грец. Hybridas, суміш + -oma — пухлина) — клітинний гібрид, що отримують шляхом злиттям нормальної клітини (напр. лімфоцита) з пухлинною. Має здатність до синтезу специфічного білка, напр. антитіл (властивість нормальної клітини), і до безмежного росту (властивість пухлинної клітини). Спосіб одержання гібридом розроблено вченими Г. Келером і Ц. Мільстейном у Великій Британії в 1975 р. Вченим удалося одержати *in vitro* гібридому шляхом злиття клітин мієломи і антитілоутворюючих клітин (АУК) (похідних від В-лімфоцитів) селезінки миші, імунізованої еритроцитами барана. Клітини мієломи постачають гібридомі багато рибосом та розвинутий апарат Гольджі, необхідних для синтезу великої кількості білка. Заслугою вчених стало те, що вони «примусили» гібридомі синтезувати антитіла поза організмом. Такі антитіла одержали назву моноклональних, бо вони синтезуються нащадками АУК тварини, імунізованої одним антигеном епітопом та стала «безсмертною» завдяки гібридизації з пухлинною мієломною клітиною.

Клітини мієломної лінії є адаптованими до росту в культурі і не можуть засвоювати гіпоксантин із поживного середовища через відсутність ферменту пуринового обміну гіпоксантин-гуанін-фосфорибозилтрансферази (ГГФРТ). Це було використано як селективний фактор при відокремленні пухлинних клітин, які не злилися з лімфоцитами-АУК, від утворених гібридом. Самі мієломні клітини гинуть, а гібридомі, які одержали здатність засвоювати гіпоксантин від лімфоцитів-АУК, виживають. Гібридизація (злиття) клітин здійснюється за допомогою поліетиленгліколю, який розчиняє мембрани клітин. Утворена гібридна клітина має два ядра та успадковує від обидвох «батьківських» клітин їх функції, але є недовговічною. Антитілоутворюючі клітини селезінки, що не брали участі в утворенні гібридом, живуть в культурі всього декілька днів і теж гинуть. В культурі залишаються гібридомі, і ті, які вижили, перевіряються на здатність синтезувати антитіла певної специфічності, а потім настає найбільш відповідальний етап роботи — клонування. Необхідно виростити з однієї клітини життєздатну популяцію гібридом (клон), які синтезують антитіла заданої специфічності. Для гібридизації використовуються в основному мієломні клітини миші і щура, а останнім часом - мієломні клітини людини. Вчені звернули увагу на те, що клітини злоякісної пухлини кісткового мозку (мієломи) продукують величезну кількість аномальних імуноглобулінів (антитіл). Продуковані ними імуноглобуліни ідентичні за структурою, по суті це моноклональні антитіла. Загалом термін «моноклональні антитіла» (МА) означає, що антитіла, які виробляються ідентичними імуноними клітинами, які клоновані з однієї клітини-попередника (АУК), є специфічними до одного антигену (епітопу або антигенної детермінанти).

Найчастіше тими антигенами є білки, полісахариди, білкова оболонка вірусу, пухлинні або пошкоджені клітини, токсини. МА - це антитіла, високоспецифічні до однієї антигенної детермінанти та одержані з одного клону клітин-продуцентів *in vitro*. Культивування виділеного клону проводиться наступними методами: 1) у культурі клітин - найкращий спосіб, тому що виділені імуноглобуліни є дуже чистими; 2) в організмі сингенних тварин (мишей, щурів)

- у вигляді асцитної пухлини після введення гібридомної клітинної зависі в черевну порожнину; 3) у ферментерах (суспензійна культура). Технологія одержання моноклональних антитіл включає такі етапи: I - імунізація тварин (мишей, щурів, кроликів, хом'яків) певним епітопом антигену; видалення селезінки тварини; виділення із суспензії клітин селезінки антитілоутворюючих клітин (АУК); окремо проводиться підготовка мієломних клітин; II - гібридизація, підготовка клітин до злиття (фузії) та злиття; III - селекція - відбір гібридом, які синтезують антитіла потрібної специфічності; IV - клонування гібридомних клітин; V - культивування гібридомних клітин, одержання культуральної рідини або асциту, які містять антитіла, ліофільна сушка та виділення антитіл. Вся процедура від початку імунізації тварин до виділення антитіл триває в середньому 3-4 місяці.

Використання тваринних МА в медицині з терапевтичною метою пов'язане з певними обмеженнями. Найсуттєвішим ускладненням стала здатність імунної системи хворого індукувати проти них імунну відповідь. Тому за допомогою генної інженерії було сконструйовано такі імуноглобулінові гени, у яких фрагмент V залишався мишачого походження, а фрагмент С – людського, чи такі, у яких послідовності нуклеотидів, кодуючі гіперзмінні регіони, були мишачого походження, а решту залишали людською. МА, у яких варіабельні фрагменти важких та легких ланцюгів мають тваринне походження, а стабільні фрагменти – людське, називають химерними, і на 75% складаються з людських послідовностей нуклеотидів. МА, у яких тільки гіперзмінні регіони мають тваринне походження, а решта послідовностей нуклеотидів мають людське походження, називають гуманізованими. На сьогоднішній день існують новіші технології – метод “phage display” та використання трансгенних тварин, які дозволяють синтезувати «цілком» людські МА. Метод фагового дисплею полягає у вбудовуванні гену, який кодує необхідний білок (у тому числі необхідні антитіла), у генотип бактеріофага, внаслідок чого він починає відтворювати цей білок на своїй оболонці, що дає можливість пізніше методом так званої білкової інженерії отримувати цей білок у необхідних кількостях (рисунок 3).

Найбільш широко моноклональні антитіла застосовуються в медицині у лабораторній діагностиці для виявлення специфічного антигену (епітопу) (мають величезні переваги, оскільки забезпечують унікальну специфічність, стандартність і високу точність досліджень, підвищують їх дозвільну спроможність та інформативність), та для лікування різноманітних онкологічних, ревматологічних, неврологічних та пульмонологічних захворювань. Моноклональні антитіла використовують у таких терапевтичних цілях: 1) радіоімуноterapia - використання радіоактивно-кон'югованих мишачих антитіл проти антигенів на клітинах, найчастіше В-клітинних лімфом, оскільки це високочутливі злоякісні утворення; 2) антитіло-спрямована (таргетна) ферментна лікувальна терапия, тобто застосування асоційованих з пухлиною моноклональних антитіл, кон'югованих з ферментом, активованим лікарським препаратом. Системне введення нетоксичного агента призводить до перетворення антитіл в токсичні ліки, що призводить до цитотоксичного ефекту,

який може бути згубним для злоякісних клітин; 3) кон'югати антитіло-лікарський препарат - це антитіла, пов'язані з однією або декількома молекулами препарату. Коли кон'югати антитіло-лікарський препарат зустрічається з раковими клітинами), лікарський засіб звільняється антитілом та знищує їх; 4) імуноліпосомна терапія – це терапія кон'югованими з ліпосомами антитілами. Ліпосоми можуть переносити лікарські препарати або нуклеотиди з терапевтичною дією, коли вони кон'югуються з моноклональними антитілами. Можуть використовуватися у лікуванні злоякісних пухлин; 5) чек-поінт терапія, яка використовує моноклональні антитіла для обходу захисних механізмів, якими пухлини пригнічують протипухлинний імунний захист.



**Рисунок 3.**

Схема створення гібридомних клітинних ліній. ГАТ-середовище – містить гіпоксантин, аміноптерин, тимидин. Клітини цієї лінії, на відміну від нормальних лімфоцитів, не могли засвоювати гіпоксантин із поживного середовища через

відсутність ферменту пуринового обміну гіпоксантин-гуанін-фосфорибозилтрансферази (ГГФРТ) (Golab J. et al., 2017).

Розширити репертуар антигенів, які можна визначати за допомогою МА у лабораторних методах, а також створити нові моноклональні антитіла для лікування – ось першочергові завдання для лікарів-імунологів та вчених-імунологів майбутнього.

### ***Темати для дискусії:***

1. Алергенімуноterapia – як єдиний метод впливу на етіологічні і патогенетичні ланки формування алергічних хвороб.
2. Недоліки і переваги різних способів введення алерговакцини
3. Оцінка ефективності алергенімуноterapiї з використанням різних рекомбінантних алерговакцин.
4. Основні технології отримання рекомбінантних молекул.
5. Нові сфери застосування моноклоніальних антитіл.

### **Використана література:**

#### **Підручники, посібники:**

1. Аббас А.К., Ліхтман Е.Г., Піллай Ш. Основи імунології (функції та розлади імунної системи) (переклад з англ., наук. ред. проф. Чоп'як В.В.). – К.: ВСВ Медицина, 2020. – 327 с.
2. Путинцева Г.Й. Медична генетика. К.: Медицина. – 2008. – 391 с.
3. Чоп'як В.В., Потьомкіна Г.О., Гаврилюк А.М., Ліщук-Якимович Х.О., Головин Р.Р., Толох О.С. Клінічна імунологія та алергологія (посібник для практичних занять). – К.: ВСВ «Медицина», 2017. – 224 с.
4. Чоп'як В.В., Костюченко Л.В., Бойко Я.Є та ін. Клінічна імунологія та алергологія для лікарів-інтернів різних спеціальностей. Львів: в-во «НеоДрук», 2019. – 204 с.
5. Якобісяк М. Імунологія (переклад з польської під редакцією професора В.В.Чоп'як).- Вінниця: в-во «Нова книга», 2004. – 672 с.
6. Golab J., Jakobisiak M., Lasek W., Stoklosa T. Immunologia (nowe wydanie). Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN SA, 2017, 497 s.
7. Lydyard P.M., Whelan A., Fanger M.W. Instant Notes in Immunology (Immunologia: krotkie wykłady). Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2006, 362 s.
8. Jorde L.B., Carey J.C., Bamshad M.J., White R.L. Medical Genetics. Mosby: A

#### **Статті:**

e  
s

M  
i  
r

1. Akdis CA, Blaser K. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Allergy* 2000;55(6):522-30
2. Althaf M, Kosi M, Jim J, Sharma A, Halawa A Human leukocyte antigen typing and crossmatch: A comprehensive review *World J Transplant* 2017 December 24; 7(6): 339-348.
3. Chari M, Kosi M, Jim J, Sharma A, Halawa A Crossmatching in Renal Transplantation by Non-Immunologists for Non-Immunologists *Urol Nephrol Open Access J* 5(2): 00166. DOI: 10.15406/unoaj.2017.05.00166
4. Mohammad Asaduzzaman Chowdhurya, Nayem Hossainb, Mohammod Abul Kashemc, Abdus Shahidd, Ashraful Alam Immune response in COVID-19. *Journal of Infection and Public Health*13(2020)1619–1629
5. Mohanka R, Kosi M, Jin J, Sharma A and Halawa A Careful Interpretation of HLA Typing and CrossMatch Tests in Kidney Transplant *JOJ uro & nephron* 3(5): JOJUN.MS.ID.5555625 (2017)

### **Методична література:**

1. Методична розробка циклу тематичного удосконалення «Імунологія репродукції та непліддя». Чопяк В.В., Гаврилюк А.М., Потьомкіна Г.О. Львів: «НеоДрук». – 2018. – 152 с.
2. Методична розробка циклу тематичного удосконалення «Молекулярна імунологія та алергологія». Чопяк В.В., Зубченко С.О., Пшенична І.В. та ін. Львів: «НеоДрук». – 2018. – 134 с.