MAX WELL

Maximum Wellness

Интерферон Гамма (ИНФ-γ, IFN-γ): молекулярная биология, биотехнология, производство лекарственных форм, клинические испытания и клиническая практика

Dr. Ken Alibek

Иммунная система

- Согласно современным представлениям иммунная система является одной из наиболее интегрированных систем в организме и, наряду с нервной и эндокринной системами, обеспечивает функционирование в организме человека единой

НЕЙРО-ИММУНО-ГУМОРАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

- Главной функцией иммунной системы является выявление и обезвреживание «чужого». При этом иммунная система обеспечивает связывание и разрушение как инфекционных, так и неинфекционных антигенов.

Химические факторы коммуникации в нейро-иммуно-гуморальной системе человека

- **Гормоны:** выделяются определенными органами в кровоток и оказывают «прицельное» действие на определенные ткани и органы

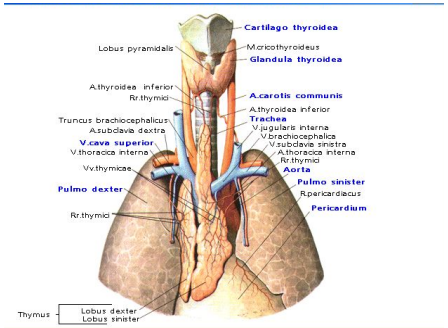
- **Нейротрансмиттеры/нейромедиаторы:** химические «передатчики» нервных импульсов (действуют в синапсах нервных клеток)

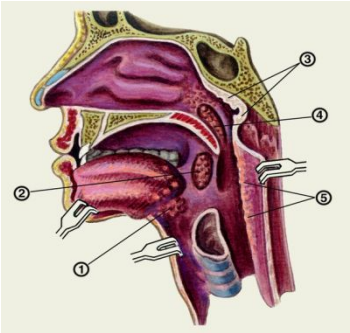
- **Цитокины:** сигнальные молекулы, обеспечивающие коммуникацию между клетками и модуляцию иммунокомпетентных клеток

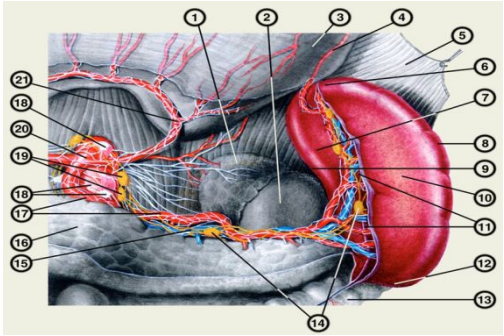
Уровни организации иммунной системы (условное разделение)

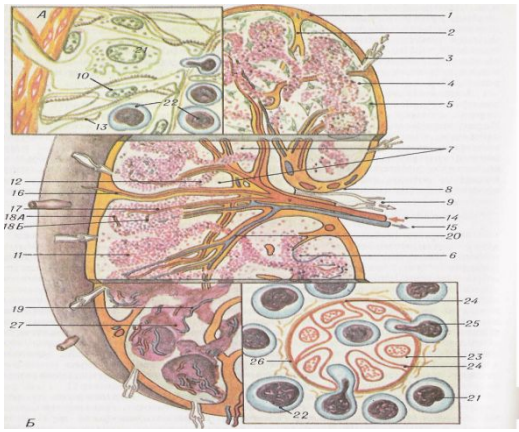
- Органный
- Клеточный
- Молекулярный

Иммунная система: органный уровень







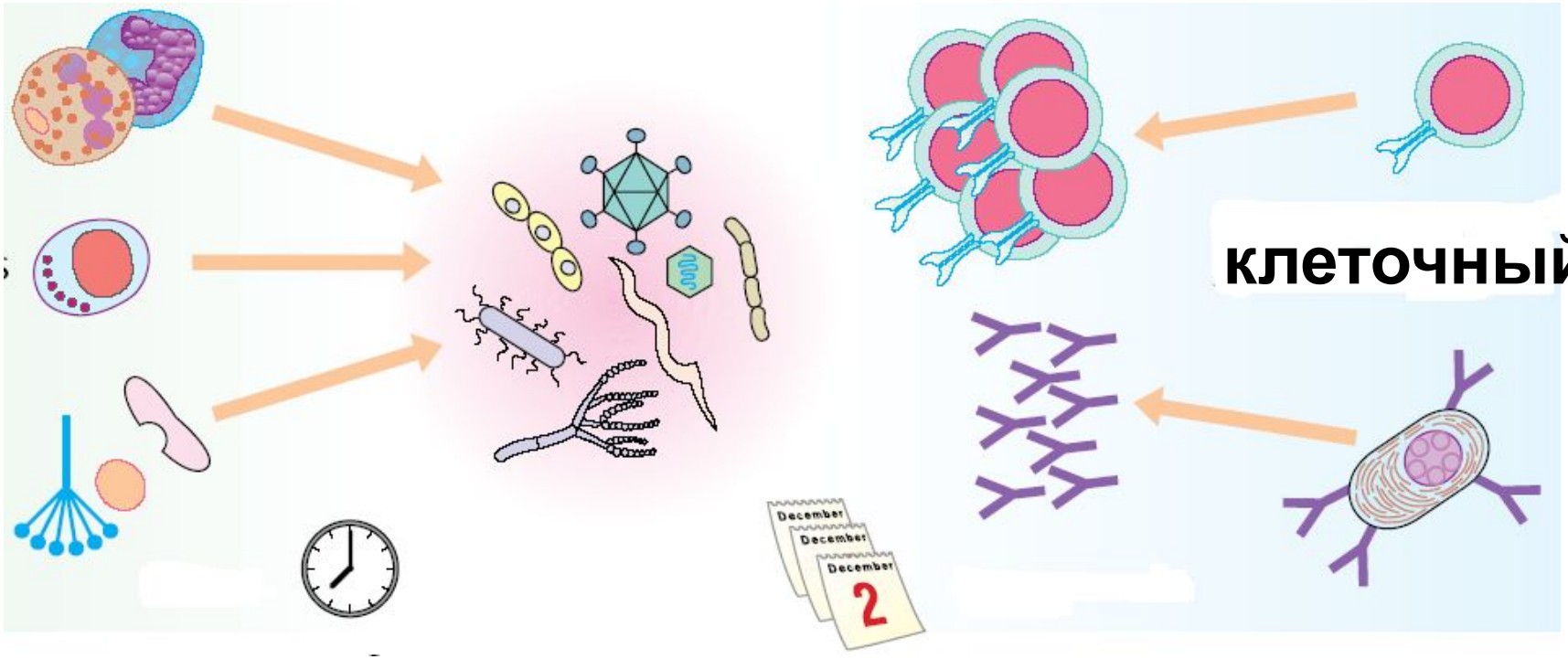


Иммунная система состоит из центральных (костный мозг, вилочковая железа, сумка Фабриция у птиц и ее аналог у человека) и периферических (селезенка, лимфатические узлы, лимфоидная ткань пищеварительной системы, миндалины) органов.

Иммунная система: клеточный уровень

Неспецифический иммунитет

Специфический иммунитет



клеточный

гуморальный

часы

дни, недели

Иммунная система: молекулярный уровень
Цитокины

- **Цитокины — это белковые молекулы (протеины, или пептиды, в т.ч. гликозилированные), с помощью которых клетки иммунной системы могут обмениваться друг с другом информацией и осуществлять координацию действий.**

- **К настоящему времени открыты около 200 разнообразных цитокинов.**
  Примеры:
  - **Интерфероны (IFN, ИФН)**
  - **Интерлейкины (IL, ИЛ)**
  - **Хемокины**
  - **Колониестимулирующие факторы (CSF, КСФ)**
  - **Факторы некроза опухоли (TNF, ФНО)**
  - **Трансформирующие факторы роста (TGF, ТФР)**

Интерферон: семейство молекул

- **В организме человека существует около 20 видов интерферонов.**
- **Для удобства изучения интерфероны разделили на 3 группы по их молекулярному действию в зависимости от того, на какие рецепторы воздействует и какие механизмы запускает данный интерферон.**

Тип	Название	Главный естественный источник синтеза
I	Интерферон Альфа (α)	Лейкоциты
	Интерферон Бета (β)	Фибробласты
	Интерферон Омега (ω)	Лейкоциты
II	**Интерферон Гамма (γ)**	Т-клетки, NK-клетки
III	Интерферон Лямбда (λ)	Лейкоциты

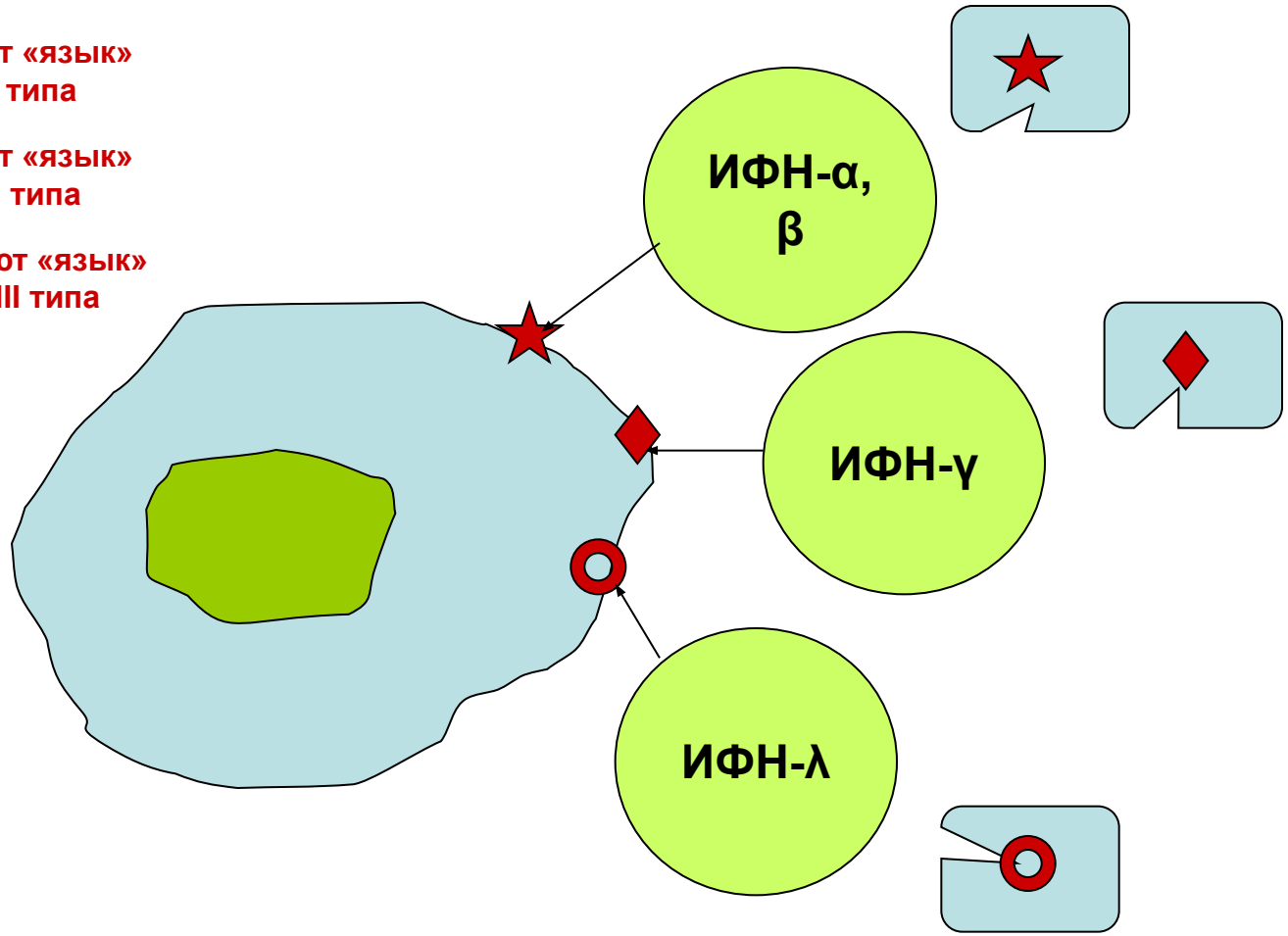
Воздействие ИФН-γ на иммунокомпетентные клетки опосредовано особым классом рецепторов

Различные рецепторы на поверхности клетки

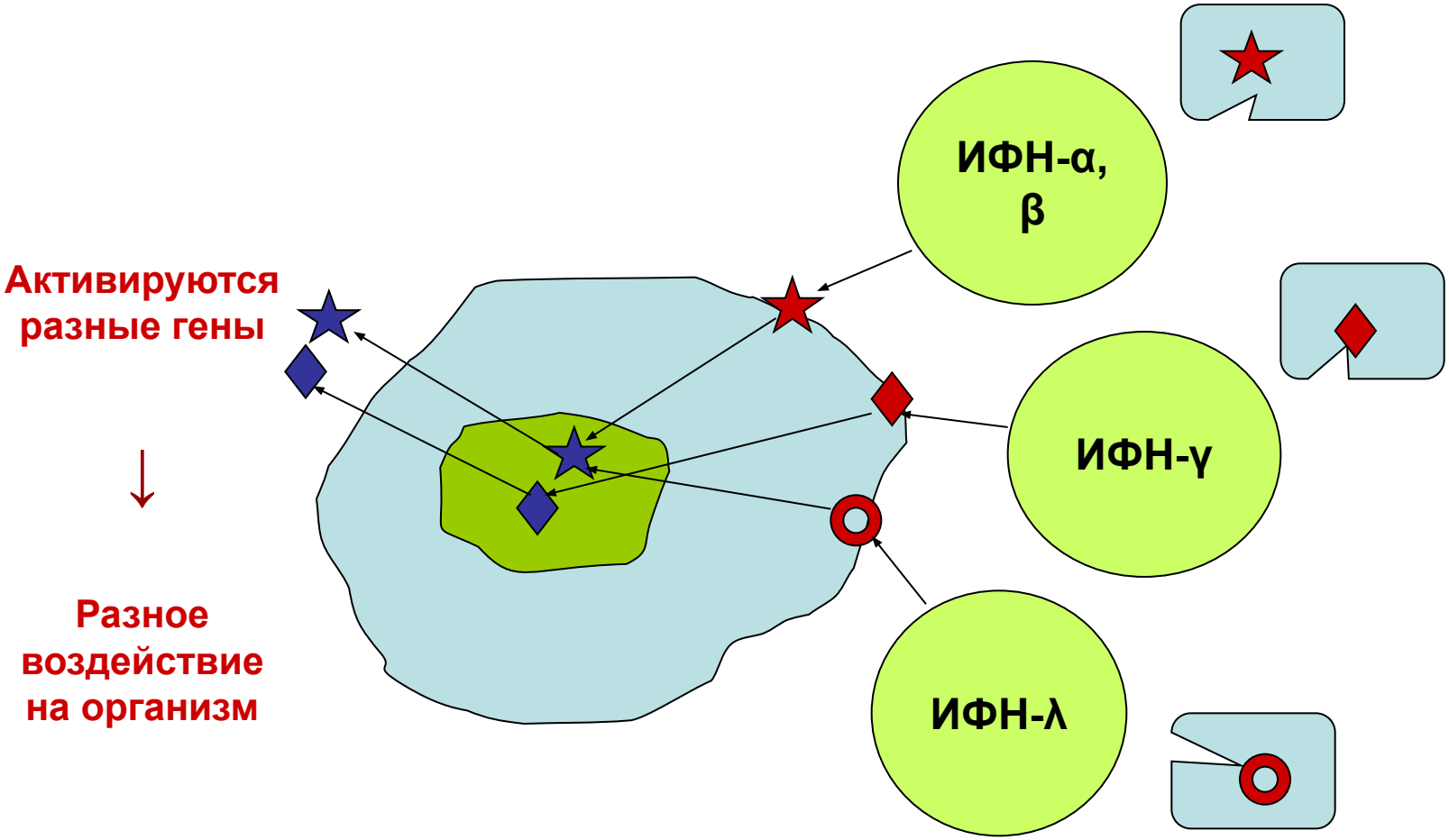
★ Понимают «язык» ИФН I типа

◆ Понимают «язык» ИФН II типа

○ Понимают «язык» ИФН III типа



Разница в молекулярном действии между ИФН-α и ИФН-γ



Биологическая активность интерферонов разных типов

**Для всех интерферонов, в т. ч.
для ИФН-α и ИФН-γ,
характерны
общие виды активности**

По существующим представлениям, ИФН-α обладает преимущественно противовирусным действием (хотя используются также его иммуно-модулирующие свойства), а ИФН-γ имеет выраженную противоопухолевую и иммуномодулирующую активность (наряду с противовирусным действием).

Механизмы, обеспечивающие клинически важные функции интерферона

Иммуномодулирующая функция

1. Активация макрофагов и NK клеток
2. Активация Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов
3. Усиление экспрессии рецепторов(FeR, ConAR, цитокинов, гормонов)
4. Усиление экспрессии антигенов(HLA 1, 2, B2 микроглобулин, раковый эмбриональный антиген)
5. Индукция иммуннорегуляторных белков в Т-лимфоцитах

Противовирусная функция

1. Блокирование проникновения вируса
2. Блокирование «раздевания» вируса
3. Подавление синтеза мРНК
4. Подавление синтеза белков
5. Активация апоптоза инфицированных клеток

Противоопухолевая функция

1. Антипролиферативная
2. Прямой цитолиз
3. Подавление ангиогенеза в опухолевой ткани
4. Подавление подвижности клеток (фибронектин-цитоскелет)
5. Антитоксическая (цитохром р450)
6. Регуляция дифференцировки
7. Подавление экспрессии онкогенов
8. Активация генов-супрессоров опухолевого роста
9. Антимутагенная
10. Усиление индукции апоптоза

Биологические особенности ИФН-γ — уникальная ниша клинического применения

- **ИФН типа I (α, β): применяется преимущественно в антивирусной терапии, реже — в качестве иммуномодуляторов**
- **ИФН типа II (γ): применяется преимущественно в качестве иммуномодулятора и реже— как антивирусный препарат.**
- **Наиболее эффективна комбинированная терапия:**

***Пример.* Цитомегаловирус (CMV)**

Sainz B Jr, LaMarca HL, Garry RF, Morris CA. Virol J. 2005 Feb 23;2:14

Synergistic inhibition of human cytomegalovirus replication by interferon-alpha/beta and interferon-gamma

Данные in vitro (культуры клеток человеческих фибробластов)

Выводы исследования:

- Каждый из интерферонов в отдельности (IFN-α, -β, -γ) замедляли рост ЦМВ в 30-40 раз;
- Комбинация IFN-α + IFN-γ замедляла рост ЦМВ в 163 раза
- Комбинация IFN- β + IFN-γ − в 662 раза

***Пример.* Chlamydia trachomatis**

Ishihara T, Aga M, Hino K, Ushio C, Taniguchi M, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. Biomed Res. 2005 Aug;26(4):179-85.

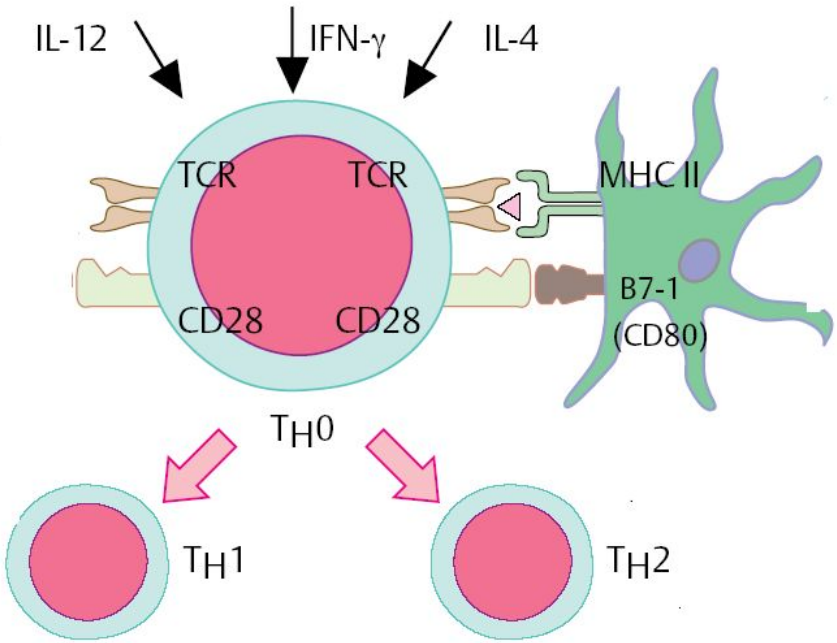
Inhibition of Chlamydia trachomatis growth by human interferon-alpha: mechanisms and synergistic effect with interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha

Выводы исследования:

- Комбинация IFN-α с IFN-γ или TNF-α имела более выраженную антихламидийную активность, чем каждый из цитокинов в отдельности
- Ярко выраженный синергизм IFN-α + IFN-γ

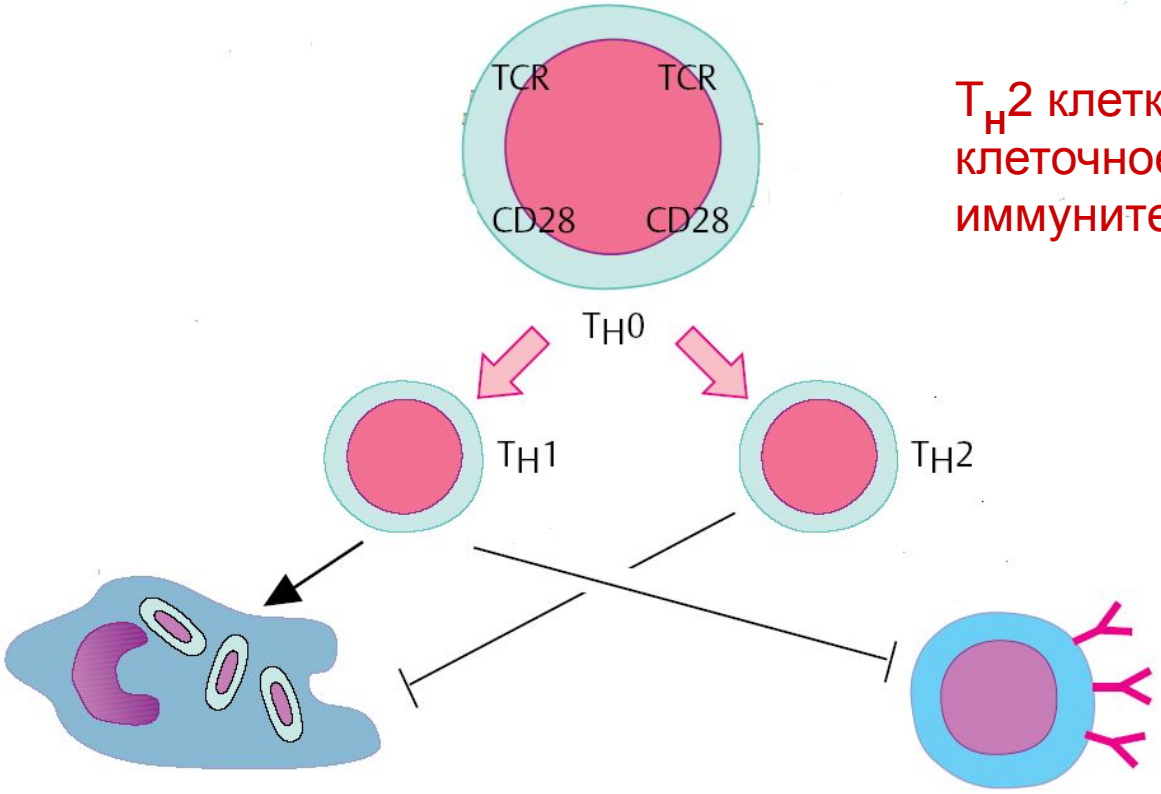
✔ **ИФН-γ обеспечивает конфигурацию иммунного профиля по типу T_H1**

Т-хелперы: T_H1 и T_H2



Под влиянием цитокинового микроокружения или антигенов (в т.ч. презентированных MHC II) Т-хелперы (T-helpers, TH) дифферинциируются в T_H1 T_H2.

T_H1 профиль обеспечивает уничтожение раковых клеток



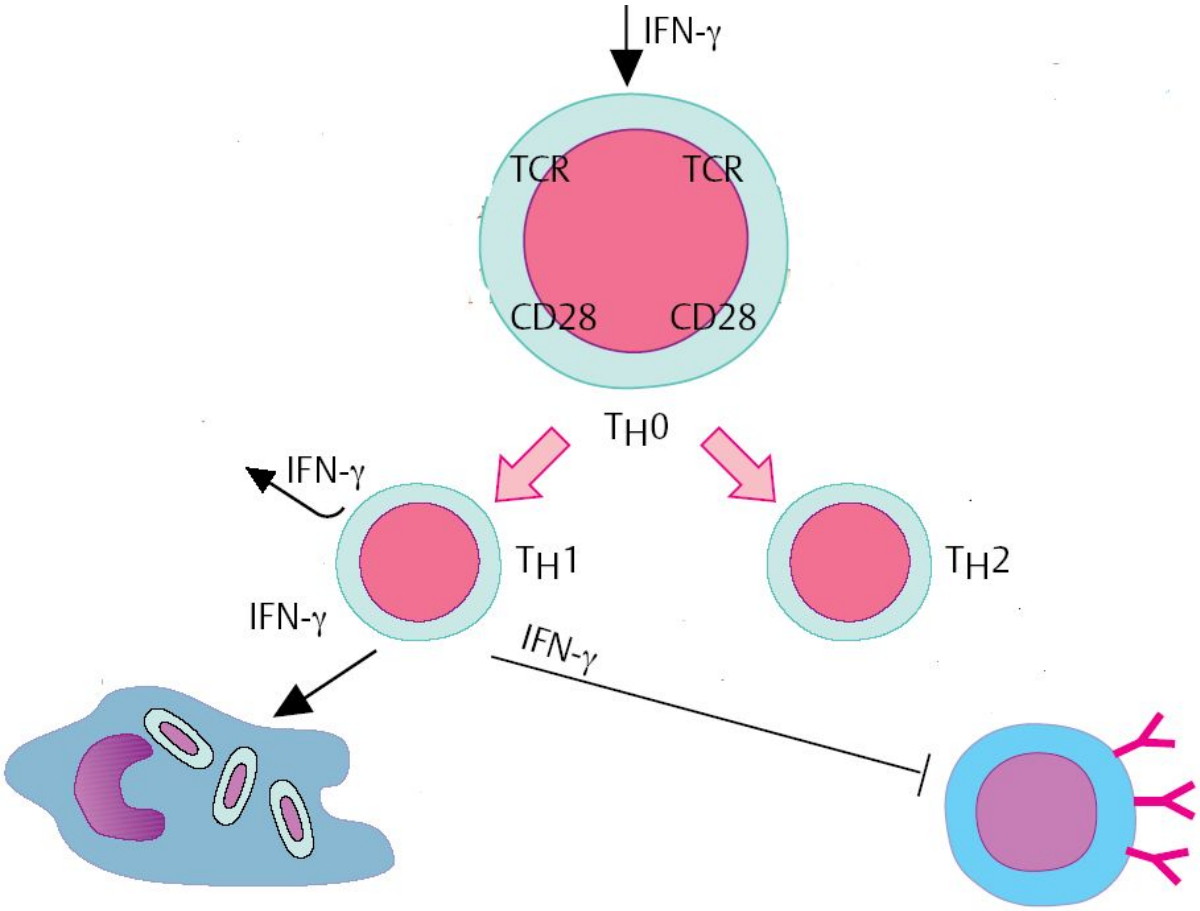
T_H2 клетки подавляют клеточное звено иммунитета

T_H1 клетки подавляют гуморальное звено и стимулируют макрофаги и натуральные киллеры (элиминация раковых клеток)

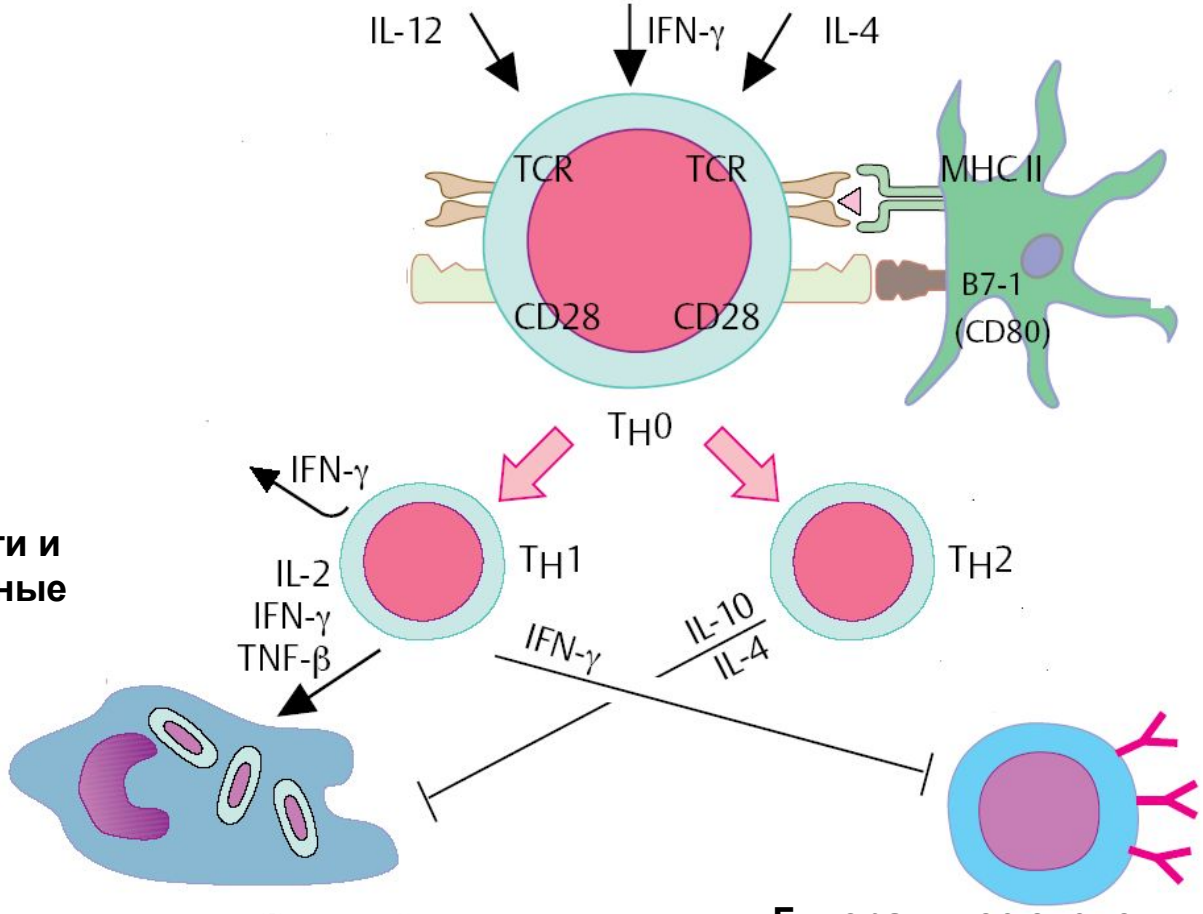
Гуморальное звено иммунитета: В-лимфоциты,

вырабатывающие антитела

ИФН-γ играет важную роль в конфигурации иммунного ответа по типу T_H1…



…наряду с другими факторами



Макрофаги и натуральные киллеры

Гуморальное звено иммунитета:

В-лимфоциты, вырабатывающие антитела

Баланс T_H1/T_H2

Профили	T_H1	T_H2
Тип иммунитета	Клеточный (стимуляция макрофагов и NK-клеток)	Гуморальный (выработка антител для борьбы с внеклеточными патогенами)
Индуцирующие агенты	Вирусы и внутриклеточные патогены	Бактерии и другие внеклеточные патогены
Другие функции/состояния	Уничтожение раковых клеток, Гиперчувствительность замедленного типа (кожные реакции)	Толерантность к трансплантантам Толерантность к плоду (беременность)
Цитокины, формирующие профиль	IL-12, ИФН-γ	IL-4, (IL-6)
Маркеры цитокинов	IL-12, ИФН-γ (аутокринная петля)	IL-10 (IL-5)
Заболевания, обусловленные нарушением профиля	• Туберкулез (дефицит Th1) • СПИД (дефицит Th1) • Рак	Аллергии, сенная лихорадка Астма Экзема
Заболевания, обусловленные дисбалансом Th1/Th2	• Ревматоидный артрит (гиперреакция по Th1 пути, поздние стадии) • Рассеянный склероз • Диабет 1-го типа	• Ревматоидный артрит (раннее начало) • Хроническая гомологичная болезнь, реакция "трансплантат против хозяина • Системная склеродермия • Системная красная волчанка

Роль баланса про- и противо-воспалительных цитокинов (на примере туберкулеза)

- Тн1-механизм играет ключевую роль в устранении инфекции Mycobacterium tuberculosis
- **“Ключевые игроки” Тн1-механизма: IFN-γ, IL-12, IL-18**:
  - ускоряют образование гранулемы и устранение инфекции;
  - НО: вызывают местный некроз тканей и системные эффекты (жар, истощение), посредством усиления выброса TNF-α.
- **Противовоспалительные цитокины IL-10, TGF-β и IL-4**:
  - подавляют нежелательный избыточно-активный воспалительный процесс и тем самым предотвращают избыточное повреждение тканей;
  - НО: избыток противовоспалительных цитокинов может вести к потере контроля над инфекцией и развитию диссеминированных форм туберкулеза.
- **Баланс между про- и противовоспалительными цитокинами определяет исход инфекции.**
- В данном случае, благоприятным является повышение уровня IFN-γ и одновременно снижение уровня TNF-α.

Дисфункция ИФН-γ: проявления у людей

Дисфункция ИФН-γ

Аутоиммунная патология

Системная красная волчанка
Рассеянный склероз
Сахарный диабет 1-го типа (инсулинзависимый)
и др.

Риск возникновения опухолей

Подверженность инфекционным заболеваниям

Например, повышенная опасность инфицирования микобактерией (развитие туберкулеза в раннем возрасте сопряжено с высокой летальностью)

Промышленное производство препаратов интерферона

- Лейкоцитарный (получают из клеток донорской крови)
- Рекомбинантный (получают из генетически модифицированных организмов)

Производство ИФН-γ

1978-79 гг. Первые очистки до гомогенности, выделение интерферонов α, β и γ из лейкоцитов человека

Rubinstein M, Rubinstein S, Familletti PC, Miller RS, Waldman AA, Pestka S. Human leukocyte interferon: production, purification to homogeneity, and initial characterization. Proc Natl Acad Sci U S A. 1979 Feb;76(2):640-4

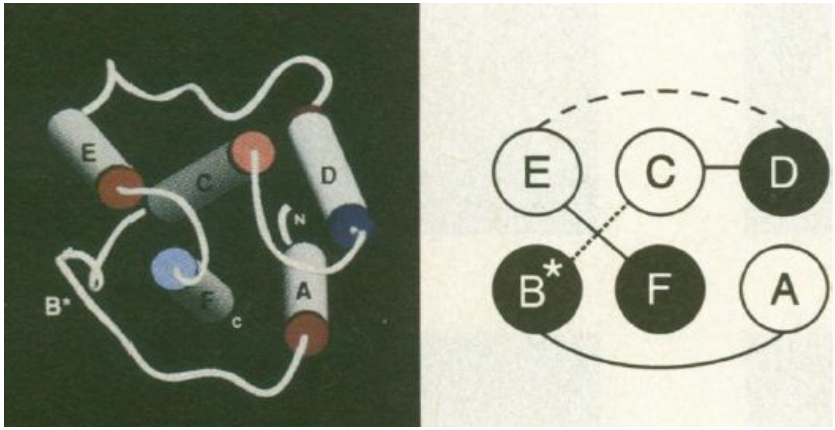
1984 г Начало эры рекомбинантного интерферона γ

Tessier LH, Sondermeyer P, Faure T, Dreyer D, Benavente A, Villeval D, Courtney M, Lecocq JP. The influence of mRNA primary and secondary structure on human IFN-gamma gene expression in E. coli. Nucleic Acids Res. 1984 Oct 25;12(20):7663-75

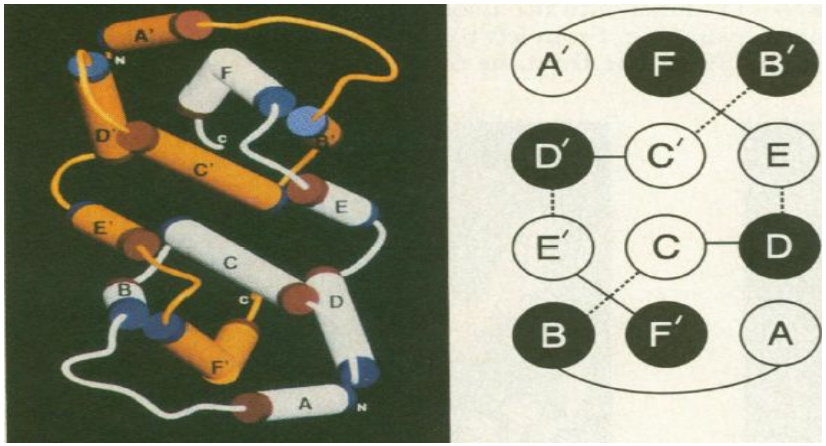
Для рекомбинантного ИФН-γ особенно важна проверка на биологическую активность, так как из-за структурных особенностей молекулы проверки на чистоту и гомогенность недостаточно

Различия в структуре ИФН I и II типов

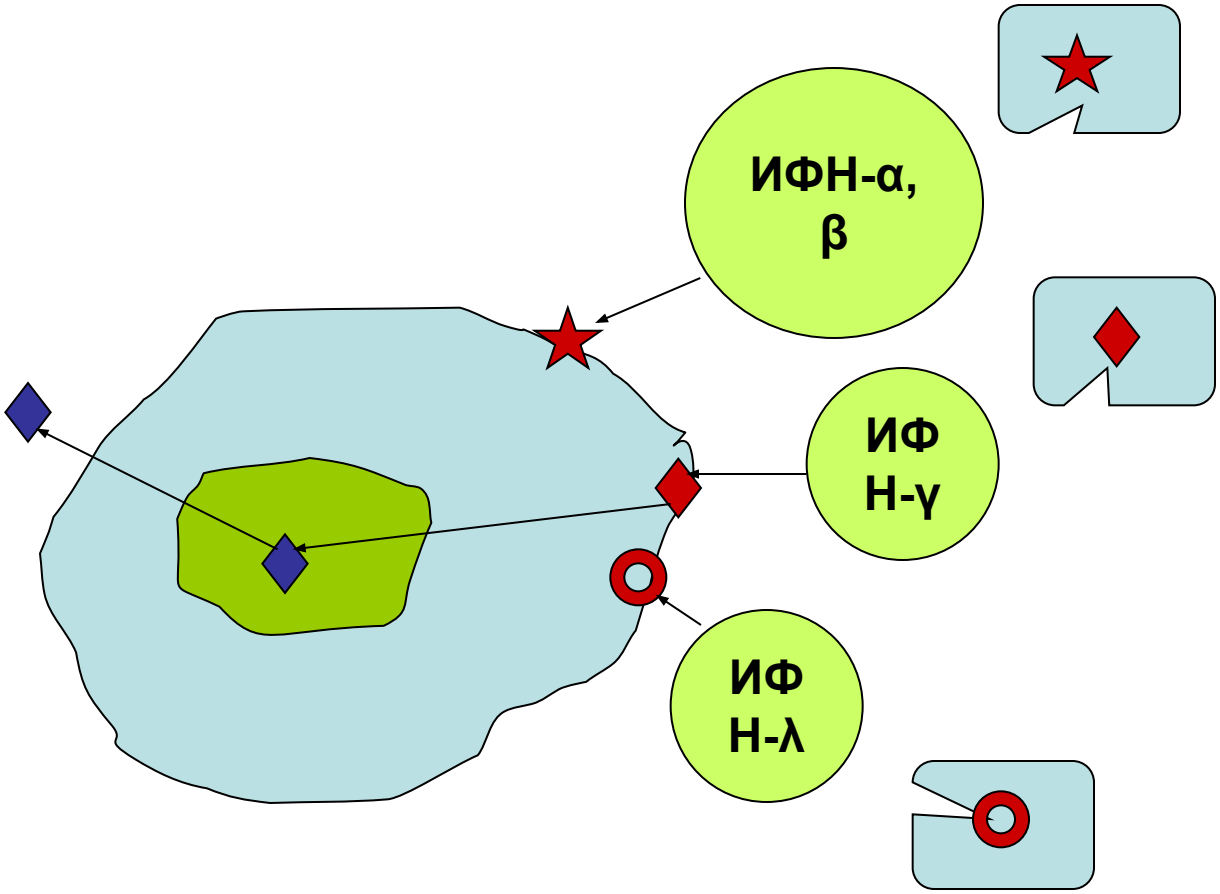
ИФН 1-го типа (α, β, ω) – мономеры



ИФН 2-го типа (γ) – димер! Это его состояние («правильный фолдинг»):



ИФН-γ активизирует специфический набор генов, в т.ч. гены главного комплекса гистосовместимости (MHC II)



Главный комплекс гистосовместимости (MHC, HLA)

- Белки главного комплекса гистосовместимости презентируют на поверхности клетки молекулы, которые сигнализируют иммунной системе: «свой» или «чужой».

- MHC-I презентируют молекулы полностью чужеродного происхождения (фрагменты вирусов, бактерий, корпускулярных антигенов).

- MHC-II презентируют молекулы, которые происходят из видоизмененных собственных клеток (зараженных вирусами, бактериями или раковых).

Ингарон

- **Производитель** – ООО «НПП «Фармаклон», Россия
- **Показания к применению**:

- профилактика и лечение (в составе комплексной терапии) гриппа;
- профилактика и лечение (в составе комплексной терапии) гриппа «птичьего» происхождения;
- лечение хронического вирусного гепатита В и С, ВИЧ/СПИД инфекции и туберкулеза легких в комплексной терапии;
- профилактика инфекционных осложнений у больных с хронической гранулематозной болезнью;
- лечение онкологических заболеваний в комплексной терапии в качестве иммуномодулятора, в том числе в комбинации с химиотерапией;
- лечение генитальной герпесвирусной инфекции и опоясывающего лишая (*Herpes zoster*) в монотерапии;
- лечение урогенитального хламидиоза в комплексной терапии.

Ингарон
(по рецепту)

- **Форма выпуска, состав и упаковка:**

  Лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения, флаконы по 100 000 МЕ, 500 000 МЕ, 1 000 000 МЕ или 2 000 000 МЕ; 1, 5, 10 или 20 флаконов в пачке.

  Состав: интерферон гамма - 100 000 МЕ, 500 000 МЕ, 1 000 000 МЕ, 2 000 000 МЕ; маннит.

- **Показания к применению**:

- Лечение хронического вирусного гепатита В и С, ВИЧ/СПИД инфекции и туберкулеза легких в комплексной терапии;
- Профилактика инфекционных осложнений у больных с хронической гранулематозной болезнью;
- Лечение онкологических заболеваний в комплексной терапии в качестве иммуномодулятора, в том числе в комбинации с химиотерапией.

Ингарон
(без рецепта)

- **Форма выпуска, состав и упаковка:**

Лиофилизат для приготовления раствора для интраназального введения, флакон 5 мл; вода для инъекций, ампула 5 мл; пипетка; весь комплект – в картонной коробке.

Состав: интерферон гамма - 100 000 МЕ, вспомогательные вещества.

- **Показания к применению**:

- Профилактика и лечение ОРВИ и гриппа, в том числе «птичьего» происхождения.

Ингарон

- ИНГАРОН®- рекомбинантный интерферон гамма человека, состоит из 144 аминокислотных остатков (а. о.), лишен первых трех а. о. Cys-Tyr-Cys, замененных на Met.
- Молекулярная масса 16,9 кДа.
- Получен микробиологическим синтезом в рекомбинантном штамме *E. coli* и очищен колоночной хроматографией.
- Удельная противовирусная активность на клетках (фибробласты человека), инфицированных вирусом везикулярного стоматита, составляет $2 \cdot 10^{7}$ ЕД на мг белка.

Actimmune

- **Производитель** – InterMune Pharmaceuticals, Inc. (USA)
- **Показания к применению**:

- хроническая грануломатозная болезнь,

- острый злокачественный остеопетроз.

Actimmune

- Actimmune (Интерферон гамма-1b), модификатор биологического ответа, является одноцепочным полипептидом, состоящим из 140 аминокислот.
- Производство Actimmune достигается ферментацией бактерии *Escherichia coli,* содержащей внедренную ДНК, отвечающую за генетический код человеческого белка.
- Очистка продукта достигается путем стандартной колоночной хроматографии.
- Actimmune является высокоочищенным стерильным раствором, содержащим нековалентные димеры двух идентичных мономеров по 16 465 дальтон; с удельной активностью 20 млн МЕ/мг (2 x 10^6МЕ per 0.5 мл), что эквивалентно 30 млн единиц/мг.

Actimmune

- *ACTIMMUNE* представляет собой стерильный, прозрачный и бесцветный раствор во флаконе одноразового применения для подкожных инъекций.

- Каждые 0.5 мл *ACTIMMUNE* содержат: **100 мкг (2 млн МЕ)** интерферона гамма-1b, 20 мг маннитола, 0.36 мг сукцината натрия, 0.05 мг полисорбата 20 и стерильную воду для инъекций.

Imukin

- **Производитель** – Boehringer Ingelheim International GmbH, Germany
- **Показания к применению**:

  - IMUKIN применяется для снижения частоты появления серьезных инфекций в комплексной терапии хронической грануломатозной инфекции (ХГИ).

  - Преимущества IMUKIN лучше всего проявляются при лечении детей с ХГИ, хотя препарат может применятся и для лечения взрослых.

Imukin

- IMUKIN (интерферон гамма-1b [rbe]), модификатор биологического ответа, является одноцепочечным полипептидом, состоящим из 140 аминоксилот.
- Производство IMUKIN достигается ферментацией бактерии *Escherichia coli,* содержащей внедренную ДНК, отвечающую за генетический код человеческого белка.
- Очистка продукта достигается путем стандартной колоночной хроматографии.
- IMUKIN является высокоочищенным стерильным раствором, содержащим нековалентные димеры двух идентичных мономеров по 16,465 дальтон, с удельной активностью 20 млн МЕ/мг.

Imukin

- IMUKIN представляет собой раствор во флаконе.
- Каждые 0.5 мл IMUKIN содержат: 2 x 10^6 IU (100 мкг) интерферона гамма-1b (rbe).

«Off-label» использование ИНФ-γ

- Цирроз печени
- Гепатит D
- Саркома Капоши
- Гриппозный менингоэнцефалит
- Системная эритематозная волчанка
- Рассеянный склероз
- Острый лимфобластный лейкоз (стадия ремиссии)
- Папилломатоз гортани

IFN-γ в лечении инфекционных заболеваний

- Детский хронический гранулематоз (снижение количества угрожающих жизни инфекций)
- Лечение инфекций, внутриклеточно инфицирующих макрофаги и персистирующих в них:
  - токсоплазмоз;
  - лейшманиоз;
  - микобактериоз (туберкулез, комплекс *Mycobacterium avium*);
  - Риккеттсия;
  - Хламидия, и др.

Цитомегаловирус (ЦМВ) и старение иммунной системы (ИС)

Персистирующая инфекция ЦМВ*

Один из герпетических вирусов, эндемичный для человека, широкая распространенность (до 90-98% в некоторых регионах, возраст >40 лет);

↓

Постоянная борьба с инфекцией => «заполнение иммунного пространства» (накопление цитомегаловирус-специфических Т-клеток)

↓

Истощение ИС, формирование фенотипа иммунного риска

↓

Иммуностарение (*immunosenescence*), иммуносупрессия

↓

Развитие заболеваний (в т.ч. онкологических)

↓

Ускоренное старение организма и смерть

** Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) оказывает сходное действие на ИС, хотя и в меньшей степени*

- *Vasto S, Colonna-Romano G, Larbi A, Wikby A, Caruso C, Pawelec G.Role of persistent CMV infection in configuring T cell immunity in the elderly. Immun Ageing. 2007 Mar 21;4:2.*
- *Koch S, Solana R, Dela Rosa O, Pawelec G. Human cytomegalovirus infection and T cell immunosenescence: a mini review. Mech Ageing Dev. 2006 Jun;127(6):538-43. Epub 2006 Mar 2.*

Научные центры, в которых была подтверждена роль инфекции CMV в формировании «фенотипа иммунного риска»

- Department of Natural Science and Biomedicine, School of Health Sciences, Jonkoping University**, Sweden**
- Department of Molecular and Clinical Immunology, University Hospital, Linkoping, Sweden
- Department of Infectious Diseases, Ryhov Hospital, Jonkoping, Sweden
- Department of Psychology, Goteborg University, Sweden
- Unilever Corporate Research, Colworth House, Sharnbrook **UK**
- LCG Bioscience, Bourn Hall, Bourn, Cambridge, UK
- Mologic Ltd., Colworth Park, Sharnbrook, UK
- University of Tubingen Medical School, Center for Medical Research, Tubingen, **Germany**
- Department of Virology, Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of the Saarland, Homburg, Germany
- Department of Veterinary Science, College of Agricultural Sciences, The Pennsylvania State University, **USA**
- Department of Immunology, Hospital Reina Sofia, University of Cordoba, **Spain**
- Department of Experimental Pathology, University of Bologna, Bologna, **Italy**
- Department of Experimental Oncology and Pathology, University of Florence, Italy
- INRCA, National Institute for Research on Aging, Ancona, Italy

Цитомегаловирус (CMV)

Sainz B Jr, LaMarca HL, Garry RF, Morris CA.
Virol J. 2005 Feb 23;2:14

Synergistic inhibition of human cytomegalovirus replication by interferon-alpha/beta and interferon-gamma

Данные in vitro [культуры клеток человеческих фибробластов]

Выводы исследования:

- Каждый из интерферонов в отдельности (IFN-α, -β, -γ) замедляли рост ЦМВ в 30-40 раз.
- Комбинация IFN-α + IFN-γ замедляла рост ЦМВ в 163 раза.
- Комбинация IFN- β + IFN-γ − в 662 раза.
- **Ярко выраженный синергизм действия комбинаций IFN-α + IFN-γ и IFN- β + IFN-γ**

Гепатит С

Clin Ter. 2006 Sep-Oct;157(5):457-68.
Gattoni A, Parlato A, Vangieri B, Bresciani M, Derna R. F, Napoli, Italy.

Interferon-gamma: biologic functions and HCV therapy

- Недостаточный Тн1-ответ и слабый HCV-специфический Т-клеточный иммунный ответ в месте воспаления считаются причинами неспособности организма элиминировать вирус и переходом болезни в хроническую форму.
- Введение IFN-γ существенно увеличивает микробицидную (и в меньшей степени цитотоксическую) активность макрофагов.
- Недавние клинические исследования по лечению хронического HCV путем последовательной терапии IFN-α 2a и IFN-γ показали существенно лучшие результаты, чем монотерапия IFN.
- Этот подход может привести к существенному усовершенствованию арсенала терапевтических средств лечения хронической инфекции гепатита С.

Herpes simplex тип 1 (HSV-1)

Sainz B Jr, Halford WP.
J Virol. 2002 Nov;76(22):11541-50

Alpha/Beta interferon and gamma interferon synergize to inhibit the replication of herpes simplex virus type 1

Данные in vitro [культуры клеток: Vero, SK-N-SH, PMK (мышиные)]

Выводы исследования:

- Каждый из интерферонов в отдельности (IFN-α, -β, -γ) клинически неэффективны для лечения герпетической инфекции. Но:
- комбинация IFN-α + IFN-γ уменьшала количество бляшек HSV в 17 раз, а
- комбинация IFN- β + IFN-γ − в 66 раз;
- **Ярко выраженный синергизм действия комбинаций IFN-α + IFN-γ и IFN- β + IFN-γ.**

IFN-γ и туберкулез

- При туберкулезной инфекции наблюдается существенное снижение уровня клеточного IFN-γ, что является:

  a. Основанием для нового клинического теста на туберкулез;
  b. Патофизиологическим обоснованием применения IFN-γ при лечении туберкулеза (особенно мульти-лекарственно-устойчивого).

- Данные клинических исследований противоречивы
- Перспективу видят в комбинированной терапии IFN-γ с другими цитокинами (IL-12, GM-CSF и др.)

IFN-γ для лечения лекарственно-устойчивой формы туберкулеза

Interferon Gamma for Drug Resistant Tuberculosis

Клиническое испытание, фаза II

Дата окончания: май 2003 г.

Спонсор: National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)

Пациенты с легочной или диссеминированной мульти-лекарственно-устойчивой формой туберкулеза

Одна из трех доз IFN-γ (0.025, 0.05 или 0.1 мг на м ^{2} поверхности тела) подкожно 3 раза в неделю

Цели исследования:

- Определение переносимости, токсичности и клинического эффекта IFN-γ
- Оценка иммунной функции у пациентов с мульти-лекарственно-устойчивой формой туберкулеза

Рекомбинантный IFN-γ для лечения ВИЧ-инфицированных детей

Recombinant Human Interferon-Gamma (rIFN-Gamma) in HIV-Infected Children

Клиническое испытание, фаза I/II
Спонсор: National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)
20 ВИЧ-инфицированных детей, возраст 1-17 лет

Цели исследования:

- Определение переносимости, токсичности и клинического эффекта IFN-γ у ВИЧ-инфицированных детей, проходящих терапию зидовудином или диданозином (ddI)
- Оценка улучшения функций нейтрофилов и моноцитов (нарушенных вследствие ВИЧ-инфекции)
- Оценка изменения вирологического статуса, фармакокинетики АЗТ и ddI, а также изменения количества CD-4-клеток

Артриты

- **Реактивный артрит** – воспалительное заболевание суставов, возникшее в результате инфекции в других частях тела или органах

Table 1 The principal detectable microbes in reactive arthritis and undifferentiated arthritis: analysis of the different methods of identification

	Antigens	DNA	RNA	Culture
C trachomatis	+	+	+	+/–
Y enterocolitica	+	+*[21]	ND	–
Y pseudotuberculosis	+	–	+†[22]	–
S flexneri and *sonnei*	+	+*[18]	ND	–
S typhimurium and *enteritidis*	+	+*[108]	ND	–
C jejuni	–	+*[18]	ND	–
U urealyticum	+	+	–	+
C pneumoniae	+	+	+	–
B burgdorferi	+	+	ND	+
T whippelii	+	+	ND	+

ND, not done.
*The detection of nucleic acid of enterobacteria in the synovium is subject to caution for reasons related to the different techniques employed and the very small numbers of patients studied; †RNA has only been detected in one case.

Реактивный артрит: «классические» и «новые» этиологические факторы

Table 2 List of the "classical" and "new" arthritogenic agents implicated in reactive arthritis

"Classical" candidates	"New" candidates
• *Chlamydia trachomatis*	• *Chlamydia pneumoniae*
• *Ureaplasma urealyticum*	• *Mycoplasma hominis* and *fermentans*
• *Yersinia enterocolitica* and *pseudotuberculosis*	• *Neisseria gonorrhoeae*
• *Shigella flexneri* and *sonnei*	• *Borrelia burgdorferi*
• *Salmonella typhimurium, enteritidis* and others	• *Clostridium difficile*
• *Campylobacter jejuni*	• *β-Haemolytic streptococci*
	• *Propionibacterium acnes*
	• *Escherichia coli*
	• *Helicobacter pylori*
	• *Brucella abortus*
	• Calmette – Guerin Bacillus
	• *Leptospira*
	• *Bartonella*
	• *Trophyrema whippelii*
	• *Gardnerella vaginalis*
	• *Giardia lamblia*

Иммудомодуляторная терапия в лечении хронического реактивного артрита

New Immunomodulatory Therapy Strategies in Chronic Reactive Arthritis

Клиническое испытание

Спонсор: Charite University, Berlin, Germany
40 больных

Цели исследования:

- Определить, какой из видов терапии является более эффективным (антибиотик +иммуностимуляция (IFN-γ) против антибиотик+иммуносуппрессия (анти-IFN-γ антитело, infliximab), или стандартная терапия)
- Какой из видов терапии вызывает изменение уровня ДНК инфекции в кишечнике или суставах
- Исследование иммунного ответа (в основном, Т-клеточного) и его сравнение с клиническим течением болезни

Протозойные инфекции: внутриклеточные паразиты

- Токсоплазмоз и лейшманиоз вызываются облигатными внутриклеточными паразитами
- Для обеих инфекций, IFN-γ критически важен для удаления паразита
- Лимфоциты больных не в состоянии производить IL-2 или IFN-γ

=> Патофизиологическое обоснование применения IFN-γ при лечении токсоплазмоза и лейшманиоза

- Добавление IFN-γ к стандартной химиотерапии препаратами сурьмы привело к снижению продолжительности курса лечения (20 и 10 дней, соответственно)
- В животных моделях острого токсоплазмоза, введение IFN-γ или IL-12 (цитокина-индуктора IFN-γ) существенно увеличивало выживаемость

Применение системной терапии IFN-γ в комбинации с препаратами пятивалентной сурьмы для лечения лейшманиоза у человека

Condition	Patients, *n*	Patients Having Remission, *n*(%)	Reference
Refractory visceral leishmaniasis	35	23 (66)	41–43
Previously untreated visceral leishmaniasis	39	37 (95)	40–43, 45
Refractory diffuse cutaneous leishmaniasis	6	6 (100)	42; Neva FA. Unpublished data
Refractory mucocutaneous leishmaniasis	1	1 (100)	44
Refractory cutaneous leishmaniasis	1	1 (100)	46
Cutaneous leishmaniasis	22	22 (100)	47

Gallin, J. I. et. al. Ann Intern Med 1995;123:216-224

Избыточный уровень IgE

- Атопический дерматит, the Job syndrome – экстремально повышенный уровень IgE в крови.
- Применение IFN-γ при этих состояниях основано на способности IFN-γ регулировать продукцию IgE B-лимфоцитами.
- IFN-γ действует на нескольких уровнях (B-клетки и T-клетки), снижая продукцию IgE.

Применение IFN-γ при состояниях, связанных с избыточным уровнем IgE

Condition	Patients	Duration of Interferon-γ Therapy	Serum IgE Decrease	In Vitro IgE Decrease	Clinical Improvement	Study (Reference)
	n	*wk*	*n (%)*	*n/n (%)*	*n (%)*	
Atopic dermatitis	14	6	None	6/10 (60)	8 (57)	Reinhold et al. (58)
	40	12	None	ND	18 (45)	Hanifin et al. (59)
	2	6–12	None	ND	2 (100)	Pung et al. (60)
	22	3–6	None	10/14 (71)	22 (100)	Boguniewicz et al. (61)
	3	4	3 (100)	3/3 (100)	3 (100)	Reinhold et al. (62)
The hyper-IgE recurrent infection (Job) syndrome	5	2–6	2 (40)	5/5 (100)	None	King et al. (63)
	1	20	1 (100)	ND	1 (100)	Pung et al. (60)

ND = not determined.

Gallin, J. I. et. al. Ann Intern Med 1995;123:216-224

Причины возникновения опухоли

Нормальное функционирование иммунитета:

- Ежедневно в организме под воздействием различных факторов (физических, химических, биологических) образуются тысячи раковых клеток, которые иммунная система человека элиминирует.
- Лимфоциты распознают раковые клетки, макрофаги их уничтожают.
- Полная самопроизвольная регрессия опухоли: 0.25-0.3%.

Нарушения функций иммунитета:

- На определенном этапе иммунная система не срабатывает и возникает «самостоятельная форма жизни» - опухоль, которая не может быть распознана и удалена иммунитетом.

Противоопухолевый эффект интерферонов

ИФН замедляют или подавляют рост культуры клеток и активируют противоопухолевые механизмы иммунной системы. Это свойство интерферонов широко используется в терапевтических целях.

Противоопухолевые эффекты интерферонов

ПРЯМЫЕ

- Непосредственное действие на опухолевые клетки, их рост и дифференцировку.
- Нейтрализация онковирусов.

НЕПРЯМЫЕ – стимуляция активности клеток иммунной системы (макрофагов, NK-клеток, Т-цитотоксических лимфоцитов).

Усиление способности иммунокомпетентных клеток обнаруживать и уничтожать атипичные клетки организма.

Механизмы иммунологической защиты организма от опухоли

Существует 3 вида клеток противоопухолевой иммунной защиты

Т-лимфоциты ⟷ NK-клетки (клетки- «киллеры»)

Распознают опухолевые антигены

Убивают опухолевые клетки

Дендритные клетки

Транспортируют опухолевый антиген в периферические лимфоидные органы

Механизм иммуносупрессии у онкологических больных

1997

T.Boon описал опухолеассоциированные невирусные антигены, вызывающие специфический ответ цитотоксических Т-лимфоцитов.

Антигенными мишенями для клеток иммунной системы могут быть самые разнообразные структуры опухолевых клеток:

1. *Антигены, кодируемые генами, находящимися в состоянии покоя в большинстве нормальных клеток, но активированные в различных типах раковых клеток. К таким антигенам относятся антигены, кодированные генами семейства MAGE.*

2. *Дифференцирующие антигены, которые представлены только в клетках меланомы и меланоцитах (например, тирозиназа).*

3. *Антигенные пептиды, полученные из тканеспецифических белков, которые подвержены мутациям в опухолевых клетках. В настоящее время эти белки обнаружены в ряде несвязанных друг с другом опухолях и обнаруживают эффект активированных белков. Некоторые из этих мутаций могут быть вовлечены в онкогенез.*

4. *Антигены, кодированные немутированными генами и экспрессированные в нормальных клетках, но в большинстве раковых клеток наблюдается их сверхэкспрессия.*

5. *Вирусные антигены (например, антигены, кодируемые вирусом папилломы человека).*

Почему иммунная система не элиминирует антигенные раковые клетки

Показано:

Опухоль

↓

иммуносупрессорные вещества

NK-клетки | ***Дендритные клетки*** | ***Т-лимфоциты***

Опухолевые клетки синтезируют иммуносупрессорные вещества, блокирующие активность NK-клеток и снижающие функцию дендритных клеток, что приводит к инактивации Т-клеток

Опухоль «ускользает» от системы иммунитета

Почему иммунная система не элиминирует антигенные раковые клетки (2)

Теории:

- Отсутствие стимуляции иммунной системы

(отсутствие распознавания опухольассоциированых антигенов**)**

- Нарушение проникновения лимфоцитов к опухоли

- Присутствие растворимых супрессорных факторов

- Опухолевые клетки приобретают способность избегать имунную атаку за счет экспрессии опухольассоциированных антигенов и вызывать опосредованную гибель Т-лимфоцитов

Иммуносупрессия при онкологическом лечении

Для проведения специализированного онкологического лечения используют химиотерапию и радио- (или лучевую) терапию.

Оба вида лечения вызывают ***угненетение функции костного мозга*** и ***пролиферации (развития) клеток иммунной системы.***

Иммунодефицит у онкологического больного обусловлен наличием опухоли и непосредственно противоопухолевым лечением.

Тяжесть угнетения иммунной системы у онкологического пациента сравнима с состоянием иммунитета у больных СПИДом и туберкулезом.

Иммунореабилитация

Иммуннореабилитация -

комплекс иммунологических, иммунокоррегирующих, социальных, экологических, биомедицинских мероприятий, направленных на восстановление измененной иммунологической реактивности больного

Цель иммуннореабилитации у онкологического больного -

с помощью медикаментозной иммунокоррегирующей терапии максимально снизить риск развития рецидива и метастазирования опухоли.

Сепиашвили Р.И.

Иммунореабилитация: определение и современная концепция

Int.J. on Immunoreahabil.1998,№10:5-7

Иммунореабилитация

Комплексная программа иммуннореабилитации онкологического больного включает следующие этапы:

1.Клинический (14-45 дней)

базисная иммуннореабилитация с использованием методов иммуннокоррекциии, направленных на создание условий для восстановления функций системы иммунитета

2.Амбулаторный (до 3 лет)

восстановительная иммунореабилитация, предупреждающая рецидивирование заболевания с помощью медикаментозных средств

3.Санаторно-курортный

поддерживающая иммуннореабилитация,применяемая после исчезновения признаков заболевания, использующая медикаментозные и немедикаментозные методы

Иммуннореабилитация в Украине

В Украине существует комплекс причин, которые ограничивают практическое применение иммуннореабилитации в онкологии:

- ограниченность выбора лекарственных средств с установленными показаниями для применения с целью медикаментозной реабилитации;
- организационные особенности системы здравоохранения, которые ограничивают доступ пациентов к получению реабилитационного лечения при диспансерном наблюдении.

Клинические исследования IFN-gamma в онкологии: текущая ситуация

1. **Рак яичников**

   Safety and Efficacy of Interferon Gamma-1b Plus Chemotherapy for Ovarian and Peritoneal Cancer

   Interferon Gamma-1b in Combination With Chemotherapy (Carboplatin/Paclitaxel) for First Line Therapy of Advanced Ovarian or Primary Peritoneal Carcinoma

   Tumor Vaccine and Interferon Gamma in Treating Patients With Refractory Epithelial Ovarian Cancer

   Drugs: ALVAC-hB7.1; *recombinant interferon gamma*; tumor cell derivative vaccine

   Chemoimmunotherapy Study for Patients With Epithelial Ovarian Cancer

   Drugs: Carboplatin; GM-CSF; *Interferon Gamma*

2. **Меланома**

   Interferon Gamma in Treating Patients With Recurrent or Metastatic Melanoma or Other Solid Tumors

   Drug: *recombinant interferon gamma*;

   A Randomized Phase III Trial of Hyperthermic Isolated Limb Perfusion With Melphalan, Tumor Necrosis Factor, and Interferon-Gamma in Patients With Locally Advanced Extremity Melanoma

   Drugs: melphalan; tumor necrosis factor; *interferon-gamma*;

Клинические исследования IFN-gamma в онкологии: текущая ситуация

2. **Меланома(продолжение)**

Vaccine Therapy Followed by Biological Therapy in Treating Patients With Stage III or Stage IV Melanoma

Drugs: Candida albicans skin test reagent MART-1 antigen; aldesleukin; gp100 antigen; recombinant CD40-ligand; recombinant interferon gamma; recombinant interleukin-4; sargramostim; therapeutic autologous dendritic cells; therapeutic tumor infiltrating lymphocytes; tyrosinase peptide;

Vaccine Therapy in Treating Patients With Stage III or Stage IV Melanoma

Drugs: PADRE 965.10; alpha-type1 polarized dendritic cells; keyhole limpet hemocyanin; recombinant interferon gamma

3. **Колоректальный рак**

Fluorouracil, Phenylbutyrate, Indomethacin and Interferon Gamma in Treating Patients With Advanced Colorectal Cancer

Drugs: fluorouracil; indomethacin; recombinant interferon gamma; sodium phenylbutyrate;

Fluorouracil, Phenylbutyrate, Indomethacin and Interferon Gamma in Treating Patients With Advanced Colorectal Cancer

Drugs: fluorouracil indomethacin recombinant interferon gamma;

Клинические исследования IFN-gamma в онкологии: текущая ситуация

4. **Рак простаты**

Biological Therapy in Treating Patients With Prostate Cancer

Drugs: aldesleukin; recombinant interferon gamma; tumor cell derivative vaccine

5. **Рак молочной железы**

Comparison of Biological Therapies Following Combination Chemotherapy and Bone Marrow or Peripheral Stem Cell Transplantation in Women With Stage II or Stage III Breast Cancer

Drug: aldesleukin; carboplatin; cyclophosphamide; cyclosporine; recombinant interferon gamma; thiotepa;

Procedure: autologous bone marrow transplantation; peripheral blood stem cell transplantation

6. **Рак легкого**

Vaccine Therapy in Treating Patients With Advanced Refractory or Recurrent Non-Small Cell Lung Cancer

Drug: alpha-1,3-galactosyltransferase-expressing allogenetic lung tumor cell vaccine;

7. **Мезотелиома брюшины**

Surgery, Chemotherapy and Radiation Therapy in Treating Patients With Peritoneal Cancer

Drug: cisplatin; doxorubicin hydrochloride; gemcitabine hydrochloride; mitomycin C; recombinant interferon gamma;

Клинические исследования IFN-gamma в онкологии: текущая ситуация

8. Опухоль недеффиринцированной локализации

Tumor Cell Vaccine in Treating Patients With Advanced Cancer

Drugs: filgrastim; recombinant interferon gamma;

9. Неходжкинская лимфома

Safety of Interferon Gamma-1b With Rituximab in Non-Hodgkin's Lymphoma Patients

Drugs: Interferon Gamma-1b; Rituximab;

10. Лимфогранулематоз (Болезнь Ходжкина)

Immunotherapy Using Cyclosporine, Interferon Gamma, and Interleukin-2 After High-Dose Myeloablative Chemotherapy With Autologous Stem Cell Transplantation in Treating Patients With Refractory or Relapsed Hodgkin's Lymphoma

Drug: aldesleukin; carmustine; cyclosporine; cytarabine; etoposide; filgrastim; melphalan; recombinant interferon gamma;

Procedure: autologous bone marrow transplantation;

Graft-Versus-Host Disease in Treating Patients With Recurrent or Refractory Lymphoma or Hodgkin's Disease

Drugs: aldesleukin; busulfan; cyclophosphamide; cyclosporine; recombinant interferon gamma;

11. В-клеточная кожная лимфома

Study to Evaluate the Safety and Efficacy of Adeno-IFN Gamma in Cutaneous B-Cell Lymphoma

Adenovirus Interferon gamma

Клинические исследования IFN-gamma в онкологии: текущая ситуация

12. Хронический миелолейкоз

Combination Chemotherapy Followed by Peripheral Stem Cell Transplantation in Treating Patients With Chronic Myelogenous Leukemia

Drug: busulfan; cyclophosphamide; cyclosporine; cytarabine; filgrastim; idarubicin; *recombinant interferon gamma*;

13. Миеломная болезнь

Combination Chemotherapy and Interferon Alfa With or Without Bone Marrow or Peripheral Stem Cell Transplantation in Treating Patients With Myeloma

Drug: carmustine; cyclophosphamide; doxorubicin hydrochloride; filgrastim; melphalan; methylprednisolone; prednisone; *recombinant interferon alfa*; sargramostim; vincristine;