

# Imunoterapija

---

Crnjac, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, University of Split, Faculty of science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:821388>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-27**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za biologiju

Iva Crnjac

# **Imunoterapija**

Završni rad

Split, 2020.

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za biologiju

Iva Crnjac

# **Imunoterapija**

Završni rad

Split, 2020.

Ovaj rad, izrađen u Splitu pod vodstvom prof. dr. sc. Ivane Bočina, predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnica biologije i kemije.

*Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Ivani Bočina na strpljivosti, savjetima i vodstvu pri pisanju ovog završnog rada.*

*Posebno hvala mojoj obitelji i prijateljima na podršci pruženoj tijekom cijelog studiranja.*

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. RAZRADA TEME</b> .....	4
2.1. Počeci imunoterapije .....	4
2.2. Metode imunoterapije .....	4
2.2.1. Monoklonalna protutijela .....	5
2.2.2. Citokini.....	6
2.2.3. Inhibicija kontrolnih točaka.....	9
2.3. Imunoterapija u liječenju tumora.....	9
2.3.1. Imunologija tumora.....	10
2.3.2. Aktivna imunoterapija.....	11
2.3.2.1. Cijepljenje tumorskim antigenima .....	11
2.3.2.2. Blokiranje inhibitornih molekula .....	12
2.3.2.3. Primjena citokina .....	12
2.3.2.4. Nespecifična stimulacija.....	13
2.3.3. Pasivna imunoterapija .....	13
2.3.3.1. Adaptivni prijenos stanica .....	13
2.3.3.2. Učinak presatka protiv leukemije.....	14
2.3.3.3. Monoklonalna protutumorska protutijela .....	15
2.4. Alergenska imunoterapija .....	15
2.5. Imunoterapija u liječenju imunskih bolesti .....	17
2.5.1. Multipla skleroza .....	17
2.5.2. Reumatoidni artritis .....	18
2.5.3. Upalne bolesti crijeva.....	19
2.6. Transplantacijska imunosupresija .....	19
2.6.1. Inhibicija signalnih puteva T stanica .....	20
2.6.2. Antimetaboliti.....	20
2.6.3. Anti-limfocitna monoklonalna protutijela.....	21
2.6.4. Blokada kostimulacije.....	21
2.6.5. Protutijela na aloantitijela i aloreaktivne stanice B.....	21
2.6.6. Protuupalni lijekovi.....	22
2.6.7. Tolerancija specifična za darovatelja.....	22
<b>3. SAŽETAK</b> .....	23
<b>4. LITERATURA</b> .....	24

## 1. UVOD

Naše tijelo ima poseban, složen imunosni sustav s glavnom ulogom obrane organizma. Nadzire homeostazu i koristi razne mehanizme u zaštiti od štetnih čimbenika okoliša te je kao takav ključan u opstanku naše vrste.

Imunosni odgovor je usklađena reakcija dijelova imunosnog sustava na tvari koje se prepoznaju kao strane. Obrana organizma posredovana je reakcijama urođene i stečene imunosti. Urođena imunost uključuje rane reakcije jer njezini mehanizmi postoje i prije infekcije, no stečena se razvija kao odgovor na izlaganje stranim tvarima te ima tri važna svojstva: specifičnost, memoriju i toleranciju. To znači da je sposobna razlikovati uzročnike, pri ponovnom izlaganju brže i snažnije reagirati na njih, a da pritom ne oštećuje vlastite, autologne stanice. U ovim procesima veliku ulogu imaju limfociti i protutijela koja izlučuju. Upravo oni prepoznaju strane tvari, antigene, koje potiču stečeni imunosni odgovor. Specifični dijelovi antigena koje limfociti prepoznaju nazivaju se determinante ili epitopi.

Adaptivni se odgovori dijele na humoralnu i staničnu imunost. Humoralna imunost je posredovana protutijelima koje stvaraju limfociti B. Protutijela su specijalizirana i mogu aktivirati različite izvršne funkcije kada prepoznaju antigene izvanstaničnih mikroorganizama koje je potrebno neutralizirati i ukloniti. Stanična imunost je posredovana limfocitima T i njezina je zadaća obrana organizma od virusa i nekih bakterija unutar stanice gdje su nedostupni protutijelima.

Imunost izazvanu izlaganjem stranom antigenu nazivamo aktivnom, a onu stečenu prilagođenim prijenosom limfocita iz imunizirane jedinke, bez izlaganja antigenu, nazivamo pasivnom imunošću.

Najvažnije uloge u imunosnom sustavu imaju bijele krvne stanice (leukociti) poput makrofaga, neutrofila, limfocita i prirodno ubilačkih (NK, prema engl. *natural killer*) stanica. Važan dio čine i tvari otopljene unutar plazme kao što su protutijela, bjelančevine komplementa i citokini.

Limfociti su bijele krvne stanice i svrstavamo ih u tri glavne skupine: T i B limfocite te NK stanice. Limfociti potječu od matičnih stanica u koštanoj srži.

B limfociti ili B stanice potpuno sazrijevaju u koštanoj srži. Nakon prvog kontakta s antigenom imaju dvije moguće sudbine. Ili se diferenciraju u memorijske stanice koje će u budućnosti

odgovoriti na isti antigen, ili postaju plazma stanice i proizvode protutijela. Protutijela još nazivamo imunoglobulinima (Ig) te ih dijelimo na pet razreda: IgA, IgD, IgE, IgG i IgM.

Nasuprot njima, T limfociti ili T stanice migriraju i potpuno sazrijevaju u prsnoj žlijezdi. One se sastoje od funkcijski različitih populacija: pomagačkih (engl. *helper T cells*,  $T_H$ ), citotoksičnih (engl. *cytotoxic T lymphocytes*, CTL) i regulacijskih ( $T_{reg}$ ) stanica.

NK stanice ne izražavaju antigenski receptor pa bez sazrijevanja i učenja uništavaju ciljne stanice. Stvaraju i određene citokine koji kao glasnici reguliraju djelovanje B i T limfocita te makrofaga.

Makrofagi nastaju iz monocita te s njima reguliraju imunosni odgovor i upalu putem interleukina. Fagocitozom probavljaju stanične ostatke i ostale strane tvari. Neutrofilni za razliku od makrofaga slobodno kolaju kroz krv, a na njihov podražaj ulaze u tkiva i probavljaju strane antigene.

Molekule glavnog kompleksa tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*, MHC) pomažu u razlikovanju vlastitih stanica i tkiva od onih stranih te su jedinstvene za svaku osobu. MHC klase I izražene su na gotovo svim stanicama s jezgrom i pokazuju CTL stanicama što se događa unutar stanice, dok se MHC klase II nalaze samo na dendritičnim stanicama, B limfocitima i makrofagima te  $T_H$  stanicama javljaju što se zbiva izvan stanica.

Dendritične stanice i makrofagi integriraju strani antigen u svoju staničnu membranu te povećavaju izraženost MHC molekula na svojim membranama ukazujući ostalim leukocitima da nisu patogeni unatoč tome što na svojoj površini nose antigene. Predočivanjem antigena naivnim limfocitima T, inducira se imunosni odgovor.

Zakazivanje imunosnog odgovora dovodi do niza oboljenja što dokazuje njegovu važnost u održavanju snažnog i zdravog organizma.

Evolucija imunologije kao eksperimentalne znanosti temelji se na mogućnosti manipulacije funkcijom imunosnog sustava u kontroliranim uvjetima što je uvelike uvjetovano tehnološkim napretkom. Današnja su se istraživanja usmjerila ka imunoterapiji koja se pokazala učinkovita u liječenju mnogih zdravstvenih stanja uzrokovanih kompromitacijom imunosnog sustava, ali i bolesti koje se ranije nisu s njime povezivale. Imunoterapija je otvorila vrata liječenju tumora, alergija te autoimunskih bolesti, kao i nekih kardiovaskularnih, neurodegenerativnih i metaboličkih bolesti (Abbas i sur., 2018).



O važnosti ove vrste liječenja dovoljno govori da je znanstveni časopis Science upravo imunoterapiju proglasio najznačajnijom prekretnicom 2013. godine.

## 2. RAZRADA TEME

### 2.1. Počeci imunoterapije

Krajem 19. stoljeća, američki doktor William B. Coley istraživanjem starijih slučajeva dolazi do spoznaje da kod pacijenata oboljelih od tumora kod kojih se javio erizipel dolazi do remisije raka. Erizipel je akutna bakterijska infekcija kože i potkožnog limfnog tkiva i žila najčešće uzrokovana bakterijom *Streptococcus pyogenes* koja se očituje oštrim crvenilom i otokom lica i potkoljenica. Coley stoga odlučuje inducirati erizipel u pacijenta s terminalnim stadijem raka. Nakon dvije doze uspijeva ubrizgati dovoljno virulentan soj, pacijent razvija infekciju te se nakon nekoliko tjedana tumor smanjuje i potpuno nestaje. Coley je razvio mješavinu topline ubijenih bakterija *Streptococcus pyogenes* i *Serratia marcescens* koju je tijekom idućih četrdeset godina ubrizgao u više od tisuću pacijenata. Ti su proizvodi postali poznati pod nazivom Coleyevi toksini i primjer su prve imunoterapije raka. Uspjeh ovakve terapije bio je djelomičan. Kod nekih se pacijenata tumor smanjio, posebice onih sa sarkomom kostiju i mekih tkiva, dok su drugi umirali od erizipela. Zbog mnogih kontroverzi u načinu liječenja Coley se našao na meti kritika, no ostao je zapamćen kao “otac imunoterapije raka” (McCarthy, 2006).

### 2.2. Metode imunoterapije

Imunoterapiju još nazivamo i biološkom terapijom iz razloga što se za obranu organizma, direktno ili indirektno, koristi imunosni sustav. Postojanje antigena na površini stanica kojega mogu prepoznati i uništiti stanice domaćina, osnova su imunoterapije. Pod ovim pojmom podrazumijevamo liječenje bolesti različitim utjecajem na imunosni odgovor. Aktivacijske imunoterapije induciraju ili pojačavaju imunosni odgovor i koriste se u cjepivima te kao imunoterapije protiv raka. Supresivske imunoterapije smanjuju ili suzbijaju imunosni odgovor i koriste se za sprječavanje odbacivanja transplantata te liječenje autoimunosti i alergija. Imunosupresija se može razviti kao rezultat primjene imunosupresivnih sredstava ili namjernog iscrpljivanja imunoloških stanica, pothranjenosti, tumora i određenih kroničnih infekcija poput HIV-a, no može dovesti do nuspojava poput imunodeficijencije. U ovom poglavlju obradit ću neke od najvažnijih metoda u imunoterapiji, njihovu primjenu, prednosti i ograničenja.

### 2.2.1. Monoklonalna protutijela

Tumori mnogih vrsta stanica su monoklonalni što znači da tumor proizvodi protutijela istoga tipa određene specifičnosti. No najčešće ta specifičnost nije poznata i ta se protutijela ne mogu koristiti za otkrivanje i vezanje ciljnih molekula. Ipak, ovo je saznanje dovelo do razvoja ideje o sintezi sličnih monoklonalnih protutijela bilo koje specifičnosti ako bi se stanice koje ih luče, a koje su dobivene iz životinje imunizirane poznatim antigenom, mogle učiniti besmrtnima.

Metodu su razvili Kohler i Milstein 1975. godine, a temelji se na fuziji limfocita B dobivenih od imunizirane životinje, najčešće miša, s besmrtnim, mutiranim stanicama mijelomske linije. Miš se imunizira poznatim antigenom ili smjesom antigena, a zatim se njegovi B limfociti spajaju s mijelomskom staničnom linijom koja ne izlučuje vlastite imunoglobuline.

Dobivene se stanice dalje uzgajaju u selekcijskom mediju u kojemu nefuzionirane normalne i tumorske stanice ne mogu preživjeti. To osigurava isključivo rast fuzioniranih stanica, to jest besmrtnih hibridoma koji zadržavaju kromosome obje izvorne stanice. Svaki hibridom proizvodi samo jednu vrstu imunoglobulina koji je dobiven od jednog B limfocita imunizirane životinje. Oni se potom uzgajaju kao klonovi pojedinačnih stanica, a dobivena protutijela se testiraju na vezanje za antigen od interesa. Odabire se samo jedan klon sa željenim svojstvom te se on nastavlja uzgajati. Proizvode takvih pojedinih klonova nazivamo monoklonalnim protutijelima.

Monoklonalna protutijela su specifična za jedan epitop antigena te imaju mnogobrojne praktične primjene u eksperimentalnim istraživanjima, medicinskoj dijagnostici i terapiji. Koriste se u otkrivanju fenotipskih biljega jedinstvenih za pojedine vrste stanica što je važno za suvremenu klasifikaciju leukocita. Uporaba protutijela u određenim imunološkim testovima pomaže otkrivanju specifičnih antigena u krvi i postavljanju dijagnoze mnogih zaraznih i sistematskih bolesti.

Obilježena monoklonalna protutijela specifična za različite stanične bjelančevine služe za određivanje vrste tumora bojenjem histoloških rezova tumorskog tkiva. Zbog svoje izražene specifičnosti, monoklonalna protutijela koriste se za obilježavanje stanica i molekula uključenih u patogenezu brojnih bolesti. Upotrebljavaju se za dokazivanje funkcija staničnih površinskih i izlučenih molekula te izolaciju odabrane stanične populacije kako bi se istražila njena svojstva. Monoklonalna se protutijela također koriste i u liječenju. Protutijela su različitih funkcija,

usmjerena na citokin čimbenik tumorske nekroze (TNF) za liječenje reumatoidnog artritisa, na receptor za epidermalni čimbenik rasta za ciljanje stanica tumora, na vaskularni endotelni čimbenik rasta za liječenje raka debelog crijeva te protutijela protiv molekule CD20 za liječenje B-staničnih leukemija i nekih autoimunskih bolesti.

Upotrebu monoklonalnih protutijela ograničava stvaranje protutijela na mišji imunoglobulin kod liječenih osoba. Ljudska antimišja protutijela (engl. *human anti-mouse antibody*, HAMA) stvaraju se kao odgovor na imunizaciju velikom količinom stranog antigena. Ona koče funkciju ili pospješuju uklanjanje injiciranih monoklonalnih protutijela. Uz to, mogu dovesti i do serumske bolesti, poremećaja kod kojega dolazi do stvaranja manjih kompleksa antigena i protutijela. Njih otklanjaju makrofagi jetre i slezene, no kada se nakupe u većim količinama dio ih odlazi u krvožilni sustav te se odlažu u male arterije, glomerule bubrega i sinovije zglobova uzrokujući simptome poput vaskulitisa, nefritisa i artritisa.

Kako bi se spriječilo stvaranje HAMA, danas se koristi genetički inženjering. Iz hibridoma se izolira komplementarna DNA (cDNA) te se u *in vitro* uvjetima tim genima može manipulirati. Odsječci DNA koji kodiraju vezno mjesto za antigen u mišjem monoklonalnom protutijelu se umetnu u cDNA koja kodira ljudsku mijelomsku bjelančevinu pri čemu se stvara hibridni gen. Tako proizvedeno protutijelo nazivamo humaniziranim protutijelom. U praksi se često koriste i potpuno humana monoklonalna protutijela koja se proizvode metodom genske manipulacije bakteriofaga. Iako humanizirana protutijela uvelike smanjuju vjerojatnost stvaranja anti-imunoglobulin protutijela, ona se kod nekih pojedinaca ipak razvijaju.

Monoklonalna se protutijela često upotrebljavaju u liječenju tumora poput akutne mijeloične leukemije, melanoma, karcinoma dojke, bubrega, debelog crijeva i pluća. Kod upalnih, imunskih bolesti primjenu nalazi u terapiji reumatoidnog artritisa, Crohnove bolesti, psorijaze, sistemskog eritemskog lupusa, multiple skleroze te kod presadbe tkiva i organa. Može se koristiti i u liječenju ostalih bolesti kao što su neke kardiovaskularne bolesti, postmenopauzalna osteoporoza, koštane metastaze solidnih tumora i drugih (Abbas i sur., 2018).

### 2.2.2. Citokini

Citokini su velika skupina bjelančevina izlučenih od strane svih imunskih, ali i nekih drugih stanica, koji djeluju kao glasnici imunskog sustava. Nomenklatura nije dosljedna pa se neki

od njih nazivaju interferonima (IFN) ili interleukinima (IL) s odgovarajućim rednim brojem, dok su drugi nazvani prema biološkom djelovanju poput čimbenika tumorske nekroze, čimbenika rasta te čimbenika stimulacije hematopoetskih kolonija. Interferoni se stvaraju tijekom rane faze urođenog imunskog odgovora na mnoge viruse. Veliku podskupinu citokina čine kemokini koji reguliraju migraciju B i T limfocita, odnosno određuju koja će područja limfnoga čvora naseliti te stanice. Kemokini su odgovorni i za održavanje tkivne arhitekture i tijekom imunskog odgovora. Citokine koji u koštanoj srži potiču proliferaciju i sazrijevanje stanica koje prethode B i T limfocitima te urođenim limfoidnim stanicama nazivamo čimbenicima rasta kolonija. Određeni interferoni i interleukini pojačavaju citotoksičnu aktivnost NK stanica koje izlučuju IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  je glavni citokin uključen u poticanje izražaja molekula MHC-II u antigen-predočnim stanicama, odnosno aktivaciju makrofaga kako bi ingestirali i uništili mikroorganizme. Neki od najučinkovitijih nedavno sintetiziranih lijekova ciljaju citokine što ukazuje na njihovu važnost u imunskim odgovorima (Abbas i sur., 2018).

Citokini sami po sebi nisu specifični za antigene, već predstavljaju vezu između prirodne i stečene imunosti. Neke dijelove imunskog sustava potpomažu i pojačavaju, dok druge utišavaju pa govorimo da djeluju sekvencijski, sinergistički ili antagonistički (<http://www.msdpriurucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/imunologija-i-alergije/biologija-imunosustava/komponente-imunosustava>).

Kao odgovor na strane antigene, urođena imunost signalizira da je potrebna proliferacija i diferencijacija limfocita B i T specifičnih za antigen. Ovaj odgovor priprema i pokretanje stečenog imunskog odgovora. Naime, dva su signala potrebna za aktiviranje limfocita. Prvi je započet antigenom, a drugi molekulama imunskog odgovora na mikroorganizme ili oštećene stanice. Citokini su, uz kostimulatore i razgradne produkte komplementa, dio djelovanja drugog signala te potiču proliferaciju i diferencijaciju limfocita. Uz pojačavanje opsega posljedičnog imunskog odgovora, oni utječu i na svojstva stečenog odgovora.

Iako je upalni odgovor od ključne važnosti za zaštitu organizma, njegov raspon i dugo trajanje mogu uzrokovati oštećenja tkiva. Stoga postoji više različitih inhibitornih mehanizma koji nadziru i ograničavaju upalni proces, kao što su interleukin 10, antagonist receptora za interleukin 1 te upalni citokini. Ti signalni putovi negativnom povratnom spregom koč aktivacijske signale koje pokreću određeni receptori i upalni citokini.

IL-10 je citokin koji stvaraju makrofagi i dendritične stanice, a koji koči njihovu aktivaciju, odnosno stvaranje upalnih citokina iz tih aktiviranih stanica. S obzirom na podrijetlo i ulogu, IL-10 je tipičan regulator koji djeluje negativnom povratnom spregom.

Antagonist receptora za IL-1 (engl. *IL-1 receptor antagonist*, IL-1RA) je produkt mononuklearnih fagocita, strukturno homologan citokinu IL-1. Djeluje kao njegov kompetitivni inhibitor zato što se veže za isti receptor, no biološki je neaktivan.

Izlučivanje upalnih citokina regulirano je produktima gena odgovornih za autofagiju. Procesom autofagije stanice se rješavaju vlastitih otpadnih i nepotrebnih komponenata. Ciljana mutacija tih gena uključenih u autofagiju pojačava izlučivanje IL-1 i IL-18 te rezultira razvojem upalne bolesti crijeva (Abbas i sur., 2018).

U imunoterapiji se kao metode koje djeluju na citokine koriste topljivi receptori citokina te rekombinantni citokini.

Topljivi oblik citokinskih receptora koristi se za blokiranje aktivnosti citokina. Etanercept (ETN) je fuzijski protein koji se danas koristi za liječenje reumatoidnog artritisa nakon otpornosti na prethodne dvije terapije te u terapiji ankiloznog spondilitisa i psorijatičnog artritisa. Topljivi interleukinski receptori sintetizirani su za liječenje upalnih i alergijskih bolesti te karcinoma.

Rekombinantni citokini koriste se u bolesnika koji se podvrgavaju kemoterapiji ili transplantaciji zbog hematoloških bolesti i tumora. IFN- $\alpha$  i IFN- $\gamma$  rabe se u terapiji karcinoma, imunodeficijencija te virusnih infekcija, a IFN- $\beta$  kod relapsa multiple skleroze (<http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/imunologija-i-alergije/biologija-imunosustava/imunoterapija>).

Kod liječenja tumora, citokinima se pokušava povećati aktivnost dendritičnih stanica i T limfocita specifičnih za sam tumor. Najviše istraživanja usmjereno je na intravensku primjenu velikih doza interleukina 2. IL-2 je čimbenik rasta, preživljavanja i diferencijacije limfocita T s glavnom ulogom u poticanju odgovora stanica T i nadzoru imunskih odgovora (Abbas i sur., 2018).

### 2.2.3. Inhibicija kontrolnih točaka

Metoda koja vjerojatno ima najveće izgleda za uspješan razvoj i primjenu je blokiranje kontrolnih točaka (engl. *check-point blockade*). Proteini nazvani kontrolnim točkama, koje stvaraju neke vrste stanica imunskog sustava, potiču ili inhibiraju aktivaciju T-stanica.

Dvije inhibitorne molekule, citotoksični antigen T-limfocita 4 (CTLA-4) i programirani protein stanične smrti 1 (PD-1, prema engl. *programmed death 1*) zadobile su veliku pozornost. Naime, kako su kontrolne točke imunskog odgovora regulirane inhibitorima, poticanje i pospješivanje imunskog odgovora ostvaruje se uklanjanjem tih inhibitora, odnosno inhibicijom njihove signalizacije. Takav pristup pružio je prvu imunološku terapiju koja značajno povećava stopu preživljavanja osoba koje boluju od metastaziranih solidnih tumora. Danas se ovaj pristup koristi i u liječenju drugih bolesti.

Imunosni odgovor sastoji se od inicijacijske i aktivacijske faze. U prethodno spomenutim metodama terapijski su se pristupi oslanjali na aktiviranje imunskog odgovora i povećanje učinkovitosti CTL stanica. Suprotno tomu, blokada kontrolnih točaka usredotočuje se na prekid imunskog odgovora inhibicijom imunskih supresora. Blokiranje negativno regulirajućih kontrolnih točaka potiče buđenje CTL stanica koje uništavaju tumorske stanice.

Nedostaci ove terapije su razvoj autoimunskih bolesti te iznimno visoka cijena lijeka (Wieder T. i sur., 2018).

### 2.3. Imunoterapija u liječenju tumora

Dosadašnje liječenje raka uglavnom uključuje primjenu lijekova koji uništavaju stanice koje se dijele, no to ima štetno djelovanje i na normalne stanice u diobi. Zbog toga se razvija interes za imunoterapiju koja ima potencijal vrlo specifičnog protutumorskog liječenja. Njezin cilj može biti jačanje slabog imunskog odgovora i tada govorimo o aktivnoj imunosti, ili se može primijeniti neki oblik pasivne imunosti kao što su protutijela ili T stanice specifične za tumor.

### 2.3.1. Imunologija tumora

Kancerogene stanice na svojoj površini nose specifične tumorske antigene, u početku nepoznate imunom sustavu. Iako je njihovo pronalaženje i uništavanje primarni zadatak imunog sustava, on sam nikada ne može suzbiti sve stanice raka. Tumorske stanice nastale su od normalnih stanica domaćina, stoga su im često slične pa tako i slabo imunogenične. Kod oboljelih osoba dolazi do stvaranja protutijela, no upravo zbog slabe imunogeničnosti tumori najčešće neće izazvati dovoljno jak imunski odgovor za kontrolu raka.

Antigene izražene isključivo na tumorskim stanicama nazivamo tumorski specifičnim antigenima, a mogu biti specifični za pojedine tumore ili skupine tumora iste vrste. Tumorski antigeni koji su izraženi i na površini normalnih stanica jesu antigeni pridruženi tumoru. Oni su uglavnom uobičajeni dio stanice, ali kod tumora promijenjeni i atipični. Danas se tumorski antigeni klasificiraju po svojoj molekularnoj građi i podrijetlu.

Tumori potiču specifične stečene imunski odgovore. Prvi pokus koji je potvrdio da imunski sustav reagira na tumore bio je pokus presađivanja tumora na singeničnim miševima. Singenični ili visokosrodni sojevi miševa su genetički istovjetne jedinice pogodne za istraživanja. Miševima se u eksperimentu u organizam unio metilkolantren (MCA), kemijski karcinogen koji je izazvao nastanak sarkoma. Tumor se zatim kirurški uklonio i ponovno presađio u iste, ali i u netretirane, zdrave miševima. Izliječeni miševi odbacili su ovaj presadak, dok je kod normalnih miševa tumor nastavio rasti. Pokazalo se da različiti tumori, iako su izazvani istim karcinogenom izražavaju različite antigene, pa miš koji je imun na svoj tumor, nije imun na tumor nastao u drugim miševima. Nasuprot tome, T limfociti iz miša s tumorom mogu prenijeti imunost na životinje koje tumor nisu imale. Ovaj pokus je eksperimentalni dokaz imunskog odgovora na tumor koji pokazuje značajke stečene imunosti te ključnu ulogu limfocita T u tom odgovoru (Abbas i sur., 2018).



## 2.3.2. Aktivna imunoterapija

### 2.3.2.1. Cijepljenje tumorskim antigenima

Cijepljenje i imunizacija osoba oboljelih od tumora koristeći tumorske antigene može dovesti do pojačanog imunosnog odgovora na tumor. Mogućnost određivanja peptida koje prepoznaju citotoksične T stanice te kloniranje gena koji kodiraju tumorske antigene omogućilo je pripremu tumorskih cjepiva. Pri njihovoj izradi koriste se razne metode i brojni adjuvansi, sastojci cjepiva koji jačaju imunosti odgovor u cijepljenih osoba.

Jednostavna metoda koristi protuupalne molekule kako bi na mjestu primjene cjepiva došlo do povećanja broja aktiviranih dendritičnih stanica.

Malo drugačiji pristup uključuje inkubiranje dendritičnih stanica s izdvojenim tumorskim antigenima bolesnika te njihovo injiciranje natrag u njega. Ovo je cjepivo odobreno u liječenju uznapredovalog raka prostate. Ono sadržava pripravak leukocita periferne krvi bolesnika s dendritičnim stanicama. Te dendritične stanice ranije su bile izložene rekombinantnoj bjelančevini dobivenoj fuzijom čimbenika stimulacije kolonije granulocita i makrofaga (GM-CSF) s prostatičnom kiselom fosfatazom kao antigena pridruženog tumoru. GM-CSF će potaknuti sazrijevanje dendritičnih stanica koje predočuju tumorski antigen uz poticanje T limfocita na protutumorski odgovor.

Postoje cjepiva koja se već koriste u kliničkim istraživanjima, a to su DNA-cjepiva i virusni vektori koji kodiraju tumorske antigene. Kodirani antigeni se sintetiziraju u citosolu stanica koje te antigene, plazmide i vektore hvataju, a njihovi ih peptidi predočuju molekulama MHC-I. Ona su vjerojatno i najbolji pristup kada govorimo o poticanju odgovora citotoksičnih T stanica.

Ipak, rak je vrlo sposoban u izbjegavanju imunonadzora domaćina i potiskivanju imunosti odgovora, stoga ne čudi da su rezultati mnogih istraživanja tumorskih cjepiva nedosljedni. Većina tumorskih cjepiva su terapijska, a ne preventivna, što otežava njihovu zadaću. Kako bi bili djelotvorni, oni moraju nadjačati postojeću tumorsku imunoregulaciju u organizmu (Abbas i sur., 2018).

### 2.3.2.2. Blokiranje inhibitornih molekula

U liječenju uznapredovalog melanoma, ali i drugih vrsta raka, pokazala se vrlo učinkovita upotreba protutijela za CTLA-4. Ovaj receptor ima sposobnost inhibicije odgovora T limfocita pa njegovo blokiranje rezultira pojačanim imunskim odgovorom na tumore.

Odgovor T stanica protiv tumora može se pojačati i blokadom PD-1 receptora ili njegova liganda. PD-1 je inhibitorni receptor koji pripada porodici CD28, isto kao i CTLA-4. On prepoznaje dva liganda, PD-L1 i PD-L2, a vezanje za njih dovodi do inaktivacije limfocita T. Inhibicija PD-1 ili PD-L1, jer se PD-L2 nalazi samo na antigen prezentirajućim stanicama, učinkovito jača protutumorske aktivnosti T stanica u životinja. Klinička istraživanja pokazuju da ova metoda i u ljudi može ograničiti rast ili čak smanjiti masu tumora.

Kombinirana inhibicija CTLA-4 i PD-1 također pokazuje zadovoljavajuće učinke. Nažalost, uobičajene su komplikacije poput autoimunskih i upalnih reakcija jer ovi receptori imaju važnu ulogu u održavanju tolerancije, to jest nereaktivnosti na vlastito i regulacije T-staničnih odgovora. Upotrebom kortikosteroida i protuupalnih lijekova, ove se nuspojave ipak mogu držati pod kontrolom.

Integriranje terapije blokade kontrolnih točaka s tumorskim cjepivima ima potencijal biti vrlo učinkovito zbog jačanja protutumorskih odgovora uz istovremeno ciljano djelovanje na putove koji pridonose rastu tumora (Abbas i sur., 2018).

### 2.3.2.3. Primjena citokina

Terapija s IL-2 potiče regresiju tumora u 10% bolesnika s uznapredovalim melanomom i karcinomom bubrega te je u ovim slučajevima i odobrena. No i ona ima svoja ograničenja. Upotreba velikih doza IL-2 uzrokuje sintezu i oslobađanje proupalnih citokina u toksičnim razinama što može dovesti do oštećenja stijenki krvnih žila.

IFN- $\alpha$  koristi se u kombinaciji s kemoterapijom za liječenje zloćudnog melanoma te u terapiji karcinoidnih tumora, to jest tumora koji proizlaze iz stanica koje proizvode hormone, a oblažu tanko crijevo. Koristi se i za određene vrste limfoma i leukemija. IFN- $\alpha$  koči umnažanje tumorskih stanica, a povećava citotoksičnu aktivnost NK stanica. Također pojačava izražaj

MHC-I na površini tumorskih stanica što citotoksičnim T limfocitima olakšava njihovo uočavanje i razaranje.

Proupalni citokini poput TNF i IFN- $\gamma$  su kao protutumorski pripravci testirani na životinjskim modelima, ali u ljudi im je uporaba ograničena zbog toksičnosti (Abbas i sur., 2018).

#### 2.3.2.4. Nespecifična stimulacija

Primjena protuupalnih tvari kao što su umrtnjene bakterije *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) na mjestu tumorskog rasta potiču nespecifičan imunski odgovor. BCG aktivacijom makrofaga pospješuju uništavanje tumorskih stanica, a potiču i odgovor T limfocita na tumorske antigene. Danas se BCG primjenjuje u terapiji raka mokraćnog mjehura. Citokini također mogu na nespecifičan način pojačati imunski odgovor (Abbas i sur., 2018).

#### 2.3.3. Pasivna imunoterapija

Pasivna imunoterapija uključuje prijenos imunskih izvršnih stanica poput T limfocita i protutijela u organizam oboljele osobe. Ovakva imunizacija je brza, no ne i dugotrajna (Abbas i sur., 2018).

##### 2.3.3.1. Adaptivni prijenos stanica

Ovaj postupak podrazumijeva izoliranje imunskih stanica iz krvi ili tumora bolesnika i njihovu obradu u svrhu povećanja broja ili jačanja protutumorske aktivnosti. One se tako uzgajaju u *in vitro* staničnoj kulturi i potom vraćaju u bolesnika.

Najpoznatija metoda adaptivne terapije stanicama T je terapija CAR-T stanicama. Kimerični receptori specifični za tumorski antigen (engl. *chimeric antigen receptors*, CARs) proizvode se genetičkim inženjerstvom. Izolirane T stanice pacijenta prvo se aktiviraju određenim protutijelima, a zatim genski transduciraju vektorima s kodom za CAR. One T stanice koje

izražavaju CAR umnažaju se *in vitro* i intravenski vraćaju u tijelo pacijenta. U tijelu dolazi do njihove snažne proliferacije i posljedično do ubijanja tumorskih stanica izravnim citotoksičnim mehanizmima (Abbas i sur., 2018).

Terapija CAR-T stanicama uspješna je u liječenju zloćudnih tumora stanica B poput limfoblastične leukemije i ne-Hodgkinovih limfoma, dok se u kliničkim istraživanjima razmatraju akutna mijeloična leukemija, multipli mijelom i slični tumori.

Najčešća nuspojava ove terapije je takozvana citokinska oluja. Simptomi slični jačoj gripici javljaju se kod preko 70% pacijenata, no traju samo pet do sedam dana. Ovo se događa zbog umnožavanja CAR-T stanica i napadanja tumora što uzrokuje imunosni odgovor u tijelu.

Druga nuspojava je poznata kao "CRES" (engl. CAR-T cell-related encephalopathy syndrome). Očituje se dezorijentacijom i zbunjenošću, a ponekad i jačim neurološkim smetnjama. Na sreću, i ovi simptomi se potpuno povuku kroz nekoliko dana (<https://www.mdanderson.org/cancerwise/car-t-cell-therapy--9-things-to-know.h00-159221778.html>).

#### 2.3.3.2. Učinak presatka protiv leukemije

Primjena NK i T stanica u kombinaciji s krvotvornim matičnim stanicama darovatelja može pridonijeti iskorjenjivanju tumora u ljudi oboljelih od leukemije. Alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica od zdravog, tkivno podudarnog darovatelja usmjerena je na MHC molekule izražene na krvotvornim stanicama primatelja što uključuje i leukemijske stanice (Abbas i sur., 2018).

Fenomen koji se javlja je GVL efekt (engl. *graft-versus-leukemia effect*) kod kojega imunosne stanice darovatelja prepoznaju tumorske stanice primatelja kao strane i nastoje ih eliminirati. Upravo je to glavna prednost alogenične transplantacije jer se postiže dugotrajna kontrola bolesti

([https://www.cybermed.hr/centri\\_a\\_z/transplantacija/transplantacija\\_krvotvornih\\_maticnih\\_stanica](https://www.cybermed.hr/centri_a_z/transplantacija/transplantacija_krvotvornih_maticnih_stanica)).

### 2.3.3.3. Monoklonalna protutumorska protutijela

Monoklonalna su protutijela od velikog interesa znanstvenicima i trenutno ih je više od sto uključeno u ispitivanja, a neki od njih su odobreni i u kliničkoj uporabi. U liječenju raka koriste se gola i konjugirana monoklonalna protutijela. Gola su ona na koje nije vezan nikakav lijek ili radioaktivna tvar, dok su konjugirana antitijela vezana s kemoterapijskim lijekom, radioaktivnom tvari ili toksinom (<https://novosti.tumori.me/monoklonalna-antitijela>).

Primjena anti-CD20 protutijela je najuspješnija takva metoda, a koristi se u liječenju B-staničnih limfoma. Danas su u uporabi lijekovi rituksimab i ofatumumab kao antitijela protiv CD20 antigena. Anti-CD30 protutijela izravno aktiviraju unutarnje apoptotske mehanizme tumorskih stanica te su trenutno u fazi kliničkih istraživanja.

Za liječenje karcinoma dojke odobreno je protutijelo anti-HER2/Neu za proizvode odgovarajućeg onkogeno. To protutijelo utječe i na prijenos signala za stanični rast posredovan molekulom HER2/Neu. FDA (Food and Drug Administration) je odobrila trastuzumab kao antitijelo usmjereno protiv HER2 proteina.

Problem u terapiji monoklonalnim protutijelima je sve manje izražavanje antigena od strane tumorskih stanica. To se može izbjeći uporabom mješavine protutijela koja su specifična za različite antigene istoga tumora. Veća učinkovitost protutijela može se postići vezanjem na toksične molekule, radioizotope te protutumorske lijekove, no zbog njihova cirkuliranja u normalnim tkivima, tvari vezane za protutijelo mogu oštetiti stijenke krvnih žila. Primjena imunotoksina također može rezultirati odgovorom protutijela na same toksine, kao i na ubrizgana protutijela. Stoga klinička istraživanja s imunotoksinima imaju neujednačene rezultate (Abbas i sur., 2018).

## 2.4. Alergenska imunoterapija

Pod pojmom alergija ili atopija podrazumijevamo imunoreakcije na nemikrobne antigene iz okoliša, alergene, koje se vrlo često manifestiraju u populaciji. U njima sudjeluju mastociti, eozinofili, imunoglobulin E i pomagačke stanice T koje stvaraju određene interleukine. Nakon izlaganja antigenu, aktiviraju se specifični limfociti te kod atopičnih jedinki dolazi do

proizvodnje protutijela IgE, dok kod zdravih osoba te količine budu neznatne, a stvaraju se drugi izotipovi imunoglobulina poput IgM i IgG. IgE se vežu na specifične Fc-receptore (engl. *fragment, crystallizable*) na mastocitima koji se aktiviraju prilikom idućeg izlaganja alergenu. Aktivacija mastocita znači stvaranje i otpuštanje medijatora ili posrednika, no oni se mogu osloboditi čak i bez izlaganja antigenu tako što će neimunski podražaji poput jače tjelesne aktivnosti uzrokovati degranulaciju mastocita i atopijsku reakciju.

Oslobodeni medijatori poput histamina povećavaju propusnost krvnih žila, uzrokuju vazodilataciju, osip na koži, kontrakciju glatkih mišića bronha. Kako se ova reakcija zbiva brzo nakon izlaganja antigenu, nazivamo ju neposrednom preosjetljivošću, a na nju se nastavlja sporija reakcija kasne faze.

Kod alergija se najčešće liječe posljedice reakcije neposredne preosjetljivosti, no osim toga aktivno se pokušava ograničiti i početak tih reakcija mijenjanjem imunskog odgovora bolesnika za određeni alergen. Razvijeno je nekoliko imunoterapijskih protokola kojima je cilj sprječavanje ili smanjenje odgovora pomoćnih stanica T na specifične alergene i stvaranja IgE.

Postupak koji se naziva desenzibilizacija podrazumijeva višekratno unošenje male količine antigena pod kožu što uzrokuje smanjenje razine protutijela IgE. IgE proizvode limfociti B, a glavne izvršne uloge su mu obrana od parazita, senzibilizacija i degranulacija mastocita te omogućavanje prepoznavanja antigena u reakcijama neposredne preosjetljivosti. Smanjenjem koncentracije IgE, raste koncentracija IgG što sprječava sintezu IgE na dva moguća načina. Prvi je neutralizacija antigena, a drugi djelovanje na povratnu spregu protutijelima.

Desenzibilizacija se primjenjuje u sprječavanju akutne anafilaktičke reakcije na bjelančevinske antigene koje pronalazimo u otrovu kukaca te na reakcije na lijekove poput vrlo učestale alergije na penicilin. Kod osoba s uobičajenim alergijama kao što su one na pelud ili astma, ovaj postupak ima različitu učinkovitost i još se istražuje.

Istražuje se i utjecaj humanih monoklonalnih protutijela anti-IgE te primjena protutijela na zajedničku podjedinicu receptora za određene interleukine. Klinička ispitivanja pokazuju pozitivan utjecaj na bolesnike s astmom i atopijskim dermatitisom (Abbas i sur., 2018).

## 2.5. Imunoterapija u liječenju imunskih bolesti

Jedno od najvažnijih svojstava imunskog sustava jest tolerancija. Toleranciju definiramo kao nereaktivnost na vlastito, odnosno kao sposobnost da imunski sustav razlikuje strane od autolognih stanica. Strane je potrebno prepoznati, uništiti i ukloniti, a da pritom ne bude štetnih posljedica za vlastite stanice. Abnormalnosti u održavanju tolerancije mogu dovesti do pojave autoimunskih bolesti pri kojima dolazi do imunskih odgovora protiv autolognih antigena (Abbas i sur., 2018).

### 2.5.1. Multipla skleroza

Multipla skleroza je autoimunska bolest središnjeg živčanog sustava te je najčešća neurološka bolest mladih odraslih osoba. Pomoćne T stanice, točnije podskupine  $T_H1$  i  $T_H17$ , reagiraju protiv vlastitih mijelinskih antigena što rezultira upalom u središnjem živčanom sustavu, aktivacijom makrofaga u blizini živaca u mozgu te razaranjem mijelina i neurološkim simptomima. Danas, kada se bolje poznaje znanstvena osnova ove bolesti, razvijaju se novi imunomodulacijski terapijski pristupi.

Jedan od njih je primjena protutijela na integrin VLA-4. Integrini su porodica adhezijskih molekula izraženih na leukocitima i endotelu krvnih žila, a VLA-4 je integrin koji posreduje u važnom koraku migracije leukocita iz krvi u tkiva. Protutijela za VLA-4 sprječavaju migraciju leukocita u središnji živčani sustav i imaju pozitivne učinke u bolesnika. Rijetka, ali vrlo ozbiljna nuspojava je reaktivacija latentne zaraze virusom koji uzrokuje teške, a ponekad i smrtonosne bolesti središnjeg živčanog sustava.

Novoodobreni lijek za multiplu sklerozu naziva se Fingolimod. Njegova je uloga ometanje migracije leukocita, odnosno sprječavanje izlaska limfocita T iz limfnoga tkiva.

Često je kod pacijenata korisno uklanjanje B limfocita protutijelom anti-CD20 zbog djelovanja tih stanica kao antigen-prezentirajućih pri aktivaciji patogeničnih T limfocita.

Ciljna molekula imunoreakcije u multiploj sklerozu je mijelinska bazična bjelančevina. Ona je važan autoantigen, protein kojega imunski sustav prepoznaje kod pacijenata s autoimunskim

bolestima, stoga se smatra da bi davanje peptida mijelinske bazične bjelančevine moglo potaknuti antigen-specifičnu toleranciju ili stvaranje specifičnih regulacijskih T stanica.

Važno je naglasiti da su liječenja uglavnom uspješna u ranim fazama razvoja bolesti, no ne i u progresivnoj fazi kada već nastupi neurodegeneracija (Abbas i sur., 2018).

### 2.5.2. Reumatoidni artritis

Reumatoidni artritis je upalna autoimunosna bolest zglobova udova što uključuje zglobove prstiju na rukama i nogama, zapešća, ramena, koljene i gležnjeve. Karakterizira ju upala zglobne ovojnice te razaranje zglobne hrskavice. Na mjestu upale nalaze se pomoćne T stanice  $T_{H1}$  i  $T_{H17}$ , aktivirane B i plazma-stanice te makrofagi. U zglobnoj tekućini nalaze se mnogi citokini poput nekih interleukina,  $INF-\gamma$  i TNF. Smatra se da citokini regrutiraju leukocite, a njihovi proizvodi oštećuju tkiva i potiču stvaranje kolagenaze. Također, citokini iz porodice čimbenika tumorske nekroze (TNF) povećavaju aktivnost osteoklasta te je zbirni učinak osteoklasta i kolagenaze progresivno uništavanje i erozija kosti, hrskavice, tetiva i ligamenata (Abbas i sur., 2018).

Novi lijekovi za reumatoidni artritis su antagonisti TNF-a, oni će se vezati na receptore za TNF i tako onemogućiti njegovu funkciju. Neki od tih lijekova su infliksimab (IFX), etanercept (ETN), adalimumab (ADA), golimumab (GOLI) i certolizumab pegol (CZP). IFX, ADA i GOLI su rekombinantna monoklonalna protutijela, CZP je humanizirano protutijelo, a ETN genetski modificiran protein. ETN će u kombiniranoj terapiji s antireumatskim lijekom metotreksatom smanjiti aktivnost bolesti, usporiti uništavanje zglobova i poboljšati njihovu funkciju. Tijelo dobro podnosi ovu terapiju te ona ne izaziva jače nuspojave. Štoviše, najučinkovitiji je oblik liječenja reumatoidnog artritisa u usporedbi s bilo kojom monoterapijom (Ma i Xu, 2013).

Neka istraživanja na miševima s nedostatkom IL-1RA pokazuju da je on potreban za sprječavanje upalnih bolesti zglobova i drugih tkiva. Rekombinantni IL-1RA upotrebljava se kao terapija za liječenje reumatoidnog artritisa u kojem je poremećeno stvaranje IL-1. Zbog abnormalnih IL-1 ili njihovog potpunog nedostatka, neće postojati mehanizmi koji ograničavaju urođene imunosne odgovore te će se razviti bolest kao posljedica pretjeranog djelovanja upalnog odgovora i oštećenja stanica i tkiva domaćina (Abbas i sur., 2018).



### 2.5.3. Upalne bolesti crijeva

Ovoj skupini bolesti pripadaju dva poremećaja, ulcerozni kolitis i Crohnova bolest. Kod upalnih bolesti crijeva, oštećenje crijeva nastaje kao rezultat upale posredovane stanicama T.

Postoje protutijela odobrena za liječenje upalnih bolesti uzrokovanih citokinima koje luče podvrste pomagačkih T stanica  $T_H1$  i/ili  $T_H17$ . Naime, dendritične stanice i makrofagi izlučuju IL-12 koji potiče stvaranje IFN- $\gamma$  u NK i T stanicama. Time potiče diferencijaciju stanica  $T_H1$  koje su nužne za obranu od zaraze unutarstaničnim uzročnicima. IL-12 čine dvije podjedinice, p35 i p40 međusobno povezane disulfidnim mostovima. Podjedinica p40 je istovremeno i dio citokina IL-23 koji je uključen u diferencijaciju stanica  $T_H17$ . Iz tog će razloga protutijela specifična za p40 blokirati razvoj  $T_H1$  stanica ovisan o IL-12, i  $T_H17$  stanica ovisan o IL-23. Ovakva su protutijela odobrena u terapiji upalnih bolesti poput ulceroznog kolitisa, Crohnove bolesti te psorijaze, sve uzrokovane citokinima.

Istraživanja na miševima kojima je ugašen gen za IL-12 potvrđuju zaključak da je IL-12 važan za stvaranje IFN- $\gamma$  u NK i T stanicama, kao i za otpornost domaćina prema unutarstaničnim bakterijama, osobito *Salmonelli* te nekim virusima (Abbas i sur., 2018).

### 2.6. Transplantacijska imunosupresija

Nakon što su se prevladali tehnički izazovi kirurškog presađivanja, nova najveća zapreka postala je imunosni odgovor primatelja protiv tkiva presatka. Kontrola imunosnog odgovora osnova je uspješnosti transplantacije, a glavna strategija jest smanjivanje razlike u aloantigenima između darovatelja i primatelja.

Aloantigeni su molekule koje se na alogeničnom presatku, onome između dvije genski različite jedinice iste vrste, prepoznaju kao strane (Abbas i sur., 2018).

### 2.6.1. Inhibicija signalnih puteva T stanica

Kalcineurin je serin/treoninska fosfataza koja ovisi o kalciju i kalmodulinu, a aktivirana pojačava ekspresiju IL-2 što rezultira rastom i diferencijacijom T stanica. Neki lijekovi poput ciklosporina i takrolimusa inhibiraju kalcineurin kako bi se umanjio imunski odgovor primatelja na presađeno tkivo darovatelja. Ciklosporin, gljivični peptid, veže se za sveprisutnu staničnu bjelančevinu ciklofilin te se ovaj kompleks veže za kalcineurin i koči njegovu enzimatsku aktivnost. Ovi su lijekovi zaslužni za prekretnicu u presađivanju srca i jetre te su od prvotnog odbacivanja presadaka povećali njihovo preživljavanje na više od pet godina. Unatoč tomu, ciklosporin u količinama potrebnim za optimalnu imunosupresiju oštećuje bubrege, a postoje i odbacivanja imuna na terapiju ciklosporinom. Takrolimus se danas često koristi za imunosupresiju primatelja alogeničnog presatka bubrega, čak i onda kada ciklosporin ne funkcioniра.

Imunosupresivni lijek rapamicin (sirolimus) ne koči kalcineurin, već se veže i sprječava aktivnost enzima mTOR, kinaze potrebne za prepisivanje bjelančevina koje potiču stanično preživljavanje i proliferaciju. mTOR aktivira više signalnih putova receptora čimbenika rasta, pa tako i onoga za IL-2 u T limfocitima. Tako rapamicin sprječava umnažanje T limfocita. Posebno je snažna inhibicija u kombiniranoj terapiji rapamicina s ciklosporinom (Abbas i sur., 2018).

### 2.6.2. Antimetaboliti

Antimetabolitima nazivamo metaboličke toksine koji koče proliferaciju prethodničkih stanica limfocita i ubijaju zrele limfocite T koji su nastali zbog podražaja aloantigenom. Prvi takav lijek bio je azatioprin koji se zbog svoje toksičnosti još rijetko koristi. Danas je najčešći lijek mikofenolat mofetil, MMF. Njegovo djelovanje je razmjerno malo toksično na ostale stanice jer MMF selektivno inhibira specifične limfocite. Uglavnom se koristi u kombinaciji s ciklosporinom ili takrolimusom (Abbas i sur., 2018).

### 2.6.3. Anti-limfocitna monoklonalna protutijela

U prošlosti se koristilo OKT3 mišje monoklonalno protutijelo te poliklonalna kunićja ili konjska protutijela nazvana anti-timocitnim globulinom.

Danas se koriste samo monoklonalna protutijela. U kliničkoj su primjeni protutijela specifična za podjedinicu receptora za IL-2 na koju se vežu i tako sprječavaju vezanje IL-2 na aktivirane T stanice te blokiraju njihov imunski odgovor.

U upotrebi je i štakorsko monoklonalno protutijelo IgM specifično za bjelančevinu koja se nalazi na površini zrelih B i T stanica. U kliničkim se istraživanjima to protutijelo daje neposredno prije i rano nakon presađivanja kako bi potaknulo dugotrajnu toleranciju na presadak (Abbas i sur., 2018).

### 2.6.4. Blokada kostimulacije

Kostimulatori su dio drugog signala urođene imunosti za poticanje diferencijacije limfocita. Lijekovi koji blokiraju kostimulaciju T stanica će spriječiti signale za njihovu aktivaciju i posljedično ublažiti odbacivanje alogeničnog presatka. Rekombinantna bjelančevina CTLA4-Ig veže se na predočne stanice i onemogućuje njihovo međudjelovanje s T stanicama. Ova bjelančevina odobrena je za uporabu, ali iako se pokazalo da može biti učinkovita kao i ciklosporin, njezina visoka cijena ograničila je širu upotrebu.

Protutijela anti-CD40L se vežu na T stanice i također sprječavaju njihovo vezanje za antigenprezentirajuće stanice. Kombinacija ovih dvaju protutijela eksperimentalno je uspješnija nego zasebne terapije, no anti-CD40L uzrokuje ozbiljne trombotske komplikacije te se zbog toga on još uvijek ne koristi (Abbas i sur., 2018).

### 2.6.5. Protutijela na aloantitijela i aloreaktivne stanice B

Aloantitijela su protutijela nastala unošenjem aloantigena alogeničnim presađivanjem. Sukladno tomu, aloreaktivne stanice B su B limfociti nastali kao odgovor na aloantigen.

U stanju akutnog odbacivanja posredovanog protutijelima, kao i kod nekih upalnih bolesti, koristi se terapija intravenskim imunoglobulinom (IVIG). Ubrizgana mješavina IgG od normalnih darovatelja smanjuje sintezu aloantitijela te koči izvršne funkcije i pojačava razgradnju vlastitih bolesnikovih protutijela.

U nekim se slučajevima stanice B uklanjaju davanjem rituksimaba, protutijela odobrenog za liječenje limfoma stanica B i autoimunskih bolesti (Abbas i sur., 2018).

#### 2.6.6. Protuupalni lijekovi

Najčešće se koriste kortikosteroidi, prirodni steroidni hormoni koje proizvodi kora nadbubrežne žlijezde te njihovi sintetski analozi. Oni koče sintezu i lučenje citokina, posebice TNF-a i IL-1, ali i drugih upalnih posrednika. Posljedica je smanjenje regrutiranja leukocita, upale i oštećenja presatka (Abbas i sur., 2018).

#### 2.6.7. Tolerancija specifična za darovatelja

Odbacivanje alogeničnog presatka može se spriječiti ako se prethodno postigne tolerancija domaćina na aloantigene presatka. Tada domaćinov imunski sustav neće uništavati presadak i bez upotrebe imunosupresiva i protuupalnih lijekova. U eksperimentu na miševima, Medawar je 1951. godine otkrio da miševi koji su u neonatalnoj dobi primili stanice slezene miševa različitog soja su kasnije prihvatili kožne presatke tih miševa bez odbacivanja. Kod ljudi se ovo primjenjuje transfuzijom krvi koja sadrži alogenične leukocite prije samog presađivanja. To je danas oblik zaštitne terapije u svrhu stjecanja tolerancije i ublažavanje odbacivanja presatka (Abbas i sur., 2018).

### 3. SAŽETAK

Nagli razvoj tehnologije omogućio je napredak imunologije i nastanak imunoterapije kao novog pristupa liječenju mnogih poremećaja i bolesti. Regresija zloćudnih tumora te usporavanje napretka progresivnih, autoimunskih bolesti mnogim su osobama dali novu šansu za život. Ublažavanje i utišavanje alergijskih reakcija povećalo je kvalitetu života. Moderna imunosupresijska terapija znatno je poboljšala presađivanje i produžila životni vijek bolesnika. Neizmjeran potencijal imunoterapije leži u širokom spektru njezina djelovanja te specifičnosti koja pruža individualan pristup svakome pojedincu. Iako relativno nova disciplina, imunoterapija se razvija strahovitom brzinom obećavajući još mnogo toga u budućnosti.

#### 4. LITERATURA

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., Pillai, S. (2018). Stanična i molekularna imunologija. Medicinska naklada, Zagreb.

McCarthy E. F. (2006). The toxins of William B. Coley and the treatment of bone and soft-tissue sarcomas. *The Iowa orthopaedic journal*, 26, 154–158.

Wieder, T., Eigentler, T., Brenner, E., & Röcken, M. (2018). Immune checkpoint blockade therapy. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 142(5), 1403–1414.

Ma, X., & Xu, S. (2013). TNF inhibitor therapy for rheumatoid arthritis. *Biomedical reports*, 1(2), 177–184.

Web stranice:

<http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/imunologija-i-alergije/biologija-imunosustava/komponente-imunosustava>

<http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/imunologija-i-alergije/biologija-imunosustava/imunoterapija>

<https://www.mdanderson.org/cancerwise/car-t-cell-therapy--9-things-to-know.h00-159221778.html>

<https://www.cybermed.hr/centri-a-z/transplantacija/transplantacija-krvotvornih-maticnih-stanica>

<https://novosti.tumori.me/monoklonalna-antitijela>