

Interferony v kaskádě cytokinů: historické a moderní aspekty

V.P. Kuznetsov

Ústav epidemiologie a mikrobiologie. N.F. Gamalei RAMS, Moskva

Interferon byl objeven v Anglii v roce 1957 A. Isaacs a S. Lindenmann při studiu fenoménu rušení virů. Ukázalo se, že virus chřipky, reprodukováný v kultuře kuřecích embryonálních tkání - kusů chorionaleantoické membrány, stimuluje vývoj faktoru v buňkách, který se uvolňuje do živného roztoku a je schopen vytvořit (v případě nových kusů) imunitu vůči virové infekci v nové tkáni. Za předpokladu, že vývoj tohoto faktoru je základem zásahu virů, autoři jej nazvali interferonem. Později se S. Lindenmannová již neúčastnila práce a všechny následné kroky provedl A. Isaacs, který založil tři hlavní vlastnosti vztahu k IFN: protein, druhovou specifickou a schopnost tvořit téměř všechny nukleární buňky.

V následujících letech IFN vždy přitahovala pozornost kvůli zcela jedinečné schopnosti potlačit reprodukci virů v imunokompetentních i somatických buňkách bez nežádoucího účinku (ve fyziologických dávkách) na metabolismus. Vzhledem k široké škále spektra účinku, vysoké selektivitě pro procesy specifické pro viry, absence cytotoxických účinků, IFN není mezi dalšími antivirovými látkami stejná.

Nyní existují názory na vícesložkový systém IFN, který funguje v těle jako nedílná součást imunitního systému (tabulka).

Tabulka. Charakteristika IFN							
Typ	Zobrazit	Výrobní klece	Induktory	Počet součástí	Fyzikálně-chemické vlastnosti	Lokalizace v genomu	
						IFN	receptory
I	$\alpha 1$	Různé nukleární buňky: granulocyty, lymfocyty, monocyty, malodiferencované buňky	Viry, bakteriální polysacharidy, dsRNA a jejich analogy	> 15	Polypeptidy 165-166 aminokyselin, které nejsou glykosylovány, mol. hmotnost 16-26 kD. Neexistují introny.	N 9	N 21

	ω	-	-	1	Polypeptid ze 172 aminokyselin, glykosylovaný	N 9	?
	β	Kožní a svalové buňky a pojivová tkáň	Virusy, dsRNA a jejich analogy	1	Polypeptid o 166 aminokyselinách, silně glykosylovaný, mol. hmotnost 205 kD. Neexistují introny.	N 9	N 21
II	γ	T-lymfocyty ve spolupráci s makrofágy, přírodními zabijáky	Mitogeny T-lymfocytů, nádorové buňky, antigeny pro senzitivované lymfocyty	1	Polypeptid ze 143-146 aminokyselin, glykosylovaný, mol. hmotnost 22-53 kD. Jeden intron.	N 12	N 6

System IFN se skládá z IFN a receptorových genů, stejně jako efektorových molekul tří typů, které patří do dvou typů: I-IFN- α a IFN- β a II-IFN- γ . Geny typu I a II jsou umístěny na různých chromozomech a mají různé receptory. Radikálně se liší a mechanismy indukce a produkce.

Z [tabulky](#) je patrné, že IFN typu I je produkován všemi nukleárními buňkami (včetně malodiferencovaných) v reakci na cizí genetickou informaci. Nejsilnějšími induktory jsou viry nebo dvojvláknové RNA, které jsou jedním ze stupňů replikace virového genomu. Jeho chemické analogy (polyI: C, atd.) jsou také vysoce účinné. Z antivirové aktivity produkované leukocyty je více než 90% způsobeno infekcí IFN- α a méně než 10% - IFN- β . V kultuře fibroblastů, stejný induktor naopak způsobuje syntézu pouze IFN- β .

Na rozdíl od IFN I IFN- γ je produkován pouze dvěma typy jaderných buněk: T-lymfocyty v procesu aktivace - ve vzájemném působení s antigenem prezentující makrofág; přirozené zabíječské buňky (EK) - při interakci s cílovými buňkami [8, 9]. Aktivní induktory IFN- γ jsou také mitogeny T-lymfocytů (PHA, ConA). V tomto případě není potřeba spolupráce s makrofágy.

Funkční rozdíl v indukci IFN typů I a II by měl být zvažován v klinické praxi. Pro tělo není daleko od lhostejnosti, jaký typ IFN se produkuje v určitém okamžiku.

Je známo, že viru chřipky indukuje v izolovaných leukocytech syntézu IFN- α . Avšak po imunizaci živou vakcínou proti chřipce, jejich leukocyty po dobu 6

měsíců v reakci na indukci viru chřipky zvyšují úroveň produkce více než 10krát, přičemž 60-80% syntetizovaného IFN je typu II. To znamená, že zavedení klasického virového induktoru do senzibilizovaného organismu obsahujícího paměťové buňky vede ke změně syntézy na IFN- γ [10].

[Tabulka](#) poprvé ukazuje další typ IFN typu I - IFN- ω (omega). Omezení informací o této formě IFN je příležitostí k různým diskusím na toto téma. V současnosti je gen izolován a je studován rekombinantní IFN-I ω .

Během posledních 10 let se v literatuře uvádí, že rodina genů IFN typu I zahrnuje dvě podskupiny I a II, které se liší strukturou bílkovin a antigenními vlastnostmi [11, 12]. Podskupina (nebo podtřída α I) je reprezentován přibližně 15 geny kódujícími efektorové molekuly sestávající ze 166 aminokyselin (pouze v jednom případě 165), vysoce homologní (přes 80%) v kompozici. Podskupina α II (nebo podtřída II), také volal α (ω) nebo α^* je reprezentován pouze jedním genem kódujícím jednu molekulu 172 aminokyselin. Z C-konce je navíc 7 aminokyselin, takže stupeň homologie s INF- α nepřekračují 60%. Stejně jako všechny typy IFN typu I, IFN- ω nemá žádné introny. Protilátky proti rekombinantnímu IFN- α I a IFN- α IIc není neutralizován IFN- ω , a protilátky proti rekombinantnímu IFN- ω nereagují s IFN- α , což naznačuje jejich hluboký antigenní rozdíl [13]. To dělá legitimní rozdělení těchto molekul do podskupin (nebo podtříd). Současně IFN- ω je umístěn na chromozomu N9 a je dereprimován v kulturách donorových leukocytů nebo B-lymfocytů [Burkittova lymfomu](#). Při virové indukci je její syntéza předmětem obecných zákonů. Z dobrého důvodu proto IFN- ω označuje IFN typu I.

Interakce IFN s buňkou se provádí pouze přes specifický receptor, který proniká cytoplazmatickou membránou. Jeho extracelulární část obsahuje rozpoznávací doménu a intracelulární část, která je poměrně významná, přibližně 500 aminokyselinových zbytků, provádí přenos signálu do kontrolních prvků, které předcházejí genu.

Receptor pro IFN- α a IFN- β jeden. Má vysokou afinitu k těmto molekulám (Kd 10^{-9} - 10^{-11} M). Počet receptorů na buňce se pohybuje od stovek do desítek tisíc, v závislosti na jejich původu. Jejich maximální hladina se nachází na buňkách placenty. Molekulová hmotnost komplexu je 120-140 kD.

IFN- γ má svůj vlastní receptor na buňce s podobnou velmi vysokou afinitou. Ve stejném rozsahu se také mění počet receptorů na buňce. Ve velikosti je extracelulární část molekuly mnohem menší (231 aminokyselinových zbytků místo 403), menší a molekulová hmotnost je 115-130 kDa. I když IFN- γ je kódován v chromozomu N 9, při přenosu aktivačního signálu do buňky se také podílejí na jeho zavedení geny chromozomu N 21.

Po interakci s receptorem se komplex internalizuje, případně následuje transport IFN nebo jeho fragmentů do jádra a další degradace.

Úroveň receptorů na buněčné membráně je dynamická hodnota: pod vlivem vysokých dávek IFN se jejich počet na buňkách snižuje několikrát. Tato data slouží jako argument pro praktického lékaře proti dennímu podávání vysokých dávek IFN v klinice. Exprese receptorů se obnoví pouze 2-3 dny, takže je výhodnější používat IFN 2-3krát týdně.

Pod vlivem IFN se rozvíjí celá řada reakcí, které se projevují na úrovni buněčných, systémových a organizačních. Jejich celý soubor je rozdělen na tři efekty: antivirové, antiproliferační a imunomodulační.

Antivirová účinnost

V buňce pod vlivem IFN se aktivují tzv. IFN-dependentní geny. Hlavními jsou geny 2', 5'-oligo-adenylát syntetázy, protein kinázy, iniciátorový faktor syntézy proteinů (eIF2), hlavní histokompatibilní komplexní antigeny (MHC třídy 1, jeden z genů MHC třídy 2) β 2-mikroglobulinu a některých T lymfocytových antigenů.

Ukázalo se, že u všech těchto genů je charakteristická homologická sekvence dlouhá 28 nukleotidů [14] s různými počátečními 5 sekvencemi. Zvýšení hladiny proteinů závislých na IFN v cytoplazmě (20krát v rakovinových buňkách Ehrlichova ascitu) bylo způsobeno zvýšením rychlosti transkripce [15]. V některých případech (buňky Hela-8 proteinů závislých na IFN) bylo pozorováno více než 100násobné zvýšení jejich mRNA [16]. V přítomnosti IFN- α a IFN- γ jejich hladina byla udržována v cytoplazmě více než 40 hodin.

IFN byl objeven jako faktor s výrazným antivirovým účinkem. Tato aktivita byla velmi vysoká: suprese virové reprodukce byla pozorována při koncentraci IFN 3×10^{-14} M [17], což je docela srovnatelné s aktivitou feromonů. A. Isaacs, autor objevu IFN, prokázal, že účinky IFN jsou spojeny se specifickými změnami v metabolismu buňky: pod vlivem kteréhokoliv z 3 druhů IFN přechází buňka do zvláštního stavu "imunity proti virové infekci" (stav AV), který je charakterizován aktivací IFN závislé enzymové systémy a výskyt až 20 nových proteinů v cytoplazmě.

Nejvíce studovaný enzym závislý na IFN je 2', 5'-oligo (A) syntetáza, která je aktivována všemi třemi typy IFN. Katalyzuje syntézu řady krátkých mono-, di-, tri- a tetrapolyadenylátů založených na ATP. Jejich charakteristickým znakem je tvorba neobvyklé 2', 5'-fosfodiesterové vazby. Aktivita tohoto enzymu se projevuje pouze v přítomnosti dvojvláknové RNA (dsRNA), sestávající z ne méně než 30 nukleotidů. 2', 5'-oligo-adenylates slouží jako silný aktivátor buněčných endonukleáz, zejména RNázy L. Aktivace RNázy brání čtení cizí genetické

informace, protože účinně ničí monospíry nově syntetizované RNA (ale není schopna štěpení dsRNA). Aktivace IFN-dependentního enzymového systému 2', 5'-oligo (A) syntetázy-RNáza L je hlavním mechanismem antivirového účinku IFN.

Dalším mechanismem, zcela nezávislým, je aktivace proteinové kinázy, což je jeden z faktorů iniciujících syntézu eIF2 proteinu, který se také provádí pouze v přítomnosti dsRNA. Fosforylace eIF2 za účasti ATP zcela zastaví syntézu nového proteinu, a zejména virionových proteinů. Kombinace těchto dvou mechanismů zajišťuje spolehlivost antivirové ochrany.

Existují další mechanismy antivirového účinku IFN:

- potlačení methylace syntetizované mRNA, která vylučuje jejich účast na syntéze proteinů. Tento mechanismus pracuje na nejběžnějším indikátoru [viru vezikulární stomatitidy](#), který se používá k určení IFN a reovirů;
- Aktivace fosfodiesterázy vedoucí k inhibici účasti tRNA na shromáždění proteinového polypeptidu na ribozómech;
- specifická suprese translace virové tRNA bez ovlivnění syntézy proteinů;
- potlačení sestavy virionů a rozmnožování částic obsahujících virus (virus myši [leukémie](#)).

Čtyři výše popsané reakce se projevují s ohledem na omezený počet virů. Pro jejich vývoj není vyžadována žádná dsRNA.

Vzhledem k tomu, že IFN blokuje základní procesy reprodukce replikační formy RNA a nukleokapsidového proteinu, prakticky všechny viry obsahující RNA nebo DNA: cytolytické, integrační, pomalé jsou citlivé na jeho působení. Je citlivá na IFN a virus lidské imunodeficiency ([HIV](#)).

Obvykle je citlivost na působení IFN určena receptorovým systémem kódovaným v chromozómu 21 pro IFN typu I a chromozómem 6 pro IFN- γ . Odolnost buněk vůči působení IFN může být způsobena ztrátou těchto specifických receptorů. Takže myšičky řady L-1210R, které zcela nemají citlivost na IFN, nemají receptory [18].

Lidské MES-1 buňky, také plně rezistentní, vykazují sníženou schopnost vázat IFN typu I. Nicméně mají vysokou hladinu 2', 5'-oligo (A) syntetázy a proteinové kinázy i v nepřítomnosti IFN. Mechanismus deprese AV-stavu v těchto buňkách není jasný. Existují mutanty, které jsou rezistentní vůči IFN, ale zcela zadrženy receptory. Jejich vady jsou vzdálené. Často se objevují na úrovni 2', 5'-oligo (A) nebo dokonce později. Nicméně slabá reakce na působení IFN nebo dokonce její úplná nepřítomnost se vyskytuje pouze u uměle získaných mutantů. V klinické praxi se lékař obvykle zabývá organismy citlivými na IFN.

Množství dosud nahromaděných experimentů ukazuje, že IFN geny jsou normálně potlačeny a jejich čtení začíná teprve po vyvolání účinku (viz [tabulka](#)), což lze považovat za pozitivně regulující signál. Použitím příkladu typu I IFN se ukazuje, že induktor nereaguje přímo s IFN geny, ale nejprve zahrnuje systém nukleárních interferon-regulujících faktorů (IGF), zejména IGF-I, který je již schopen číst IFN geny. Je zajímavé, že nejen induktor (virové RNA a jeho chemické analogy), ale i IFN (to vysvětluje primární podání), interleukin (IL) -1 a tumor necrosis factor (TNF) ovlivňují odečtení IGF genů [19]. Zdá se, že existuje blízký funkční vztah IFN s jinými cytokiny v imunitní odpovědi, který má objektivní základ ve formě IGF v genomu aktivovaném různými signály.

Vývoj AV stavu se synergicky posiluje (s faktorem 5-20) kombinovaným použitím IFN typů I a II [20], což rozhodně signalizuje rozdíl v mechanismu jejich působení. Účinek synergie je také zaznamenán ve studii protinádorového účinku těchto léčiv. Zvýšení teploty z 37 na 40 ° C také mělo pozitivní účinek: stav AB v kultuře lidských plicních buněk se zvýšil 3-násobně. Antivirová léčiva s mechanismem účinku, který se liší od IFN, například [acyklovir](#) [21], také synergicky zvyšují vývoj stavu AB se současným podáváním.

Reverzní regulace systému IFN se provádí několika způsoby. Z nich by měl hlavně rozpoznat aktivaci 2'-fosfodiesterázy, která je schopna rozdělit nejdůležitější faktor stavu imunity na virovou infekci - 2', 5'-oligo (A). Pod vlivem IFN v cytoplasmě se hladina tohoto enzymu zvyšuje přibližně pětikrát, čímž se zabrání akumulaci 2', 5'-oligo (A). Vzhledem k souvislé interakci pozitivních a negativních faktorů je hladina tohoto oligoadenylátu v cytoplasmě dynamická. To umožňuje chránit buněčnou RNA před degradací RNázou L, která se aktivuje, když se akumuluje 2', 5'-oligo (A). Dalším negativním faktorem v regulaci IFN v buňce je specifický inhibitor IFN. U zdravého organismu se tento inhibitor nachází u přibližně 60% populace, ale její hladina je poměrně nízká [22]. V případě patologických stavů, jako je [AIDS](#), komplikovaný [Kaposiho sarkom](#), byl inhibitor také detekován u 50% pacientů, ale u 30% z nich bylo dostatečné inaktivovat velmi vysokou hladinu infekčního faktoru INF- α a ještě více [23]. To je však výjimečný případ. Klinicky se při léčbě virových infekcí obvykle nezobrazuje inhibitor. Inhibitor IFN u myši byl izolován a čištěn. Jednalo se o polypeptid o molekulové hmotnosti 8-10 kDa. Inhibitor lidského IFN může být podle některých údajů strukturní analog IFN- γ [24].

Klinicky exprimované potlačení vývoje stavu AB může způsobit inhibitory cyklooxygenasových mastných kyselin (např. Kyselina acetylsalicylová), které hrají důležitou roli v rané fázi syntézy prostaglandinů [25]. Inhibitory jsou samotné prostaglandiny, zejména PG E2. [Indometacin](#) inhibitor prostaglandinu pozitivně ovlivňuje účinek IFN a může být doporučen pro klinické použití, například k prevenci příliš velkých pyrogenních reakcí.

Podle některých údajů je IFN v antagonismu s růstovými hormony, zejména s růstovým faktorem trombocytů. To by mělo být také vzato v úvahu při klinické aplikaci IFN. Doporučuje se také vyhnout se použití IFN ve spojení s hormony kortikosteroidů, které snižují aktivaci imunitních efektorů, primárně makrofágů způsobených IFN [26]. Není-li možnost tyto hormony zrušit, měly by být aplikovány v různých časových intervalech s IFN.

(Pokračování)

Antiproliferativní účinek

Schopnost IFN inhibovat množení buněk se stala známou brzy po objevu - již v roce 1962 [27]. K antiproliferačnímu účinku (AP) byly všechny buňky normální, normální i nádorové; Nejrychleji rostoucí buňky měly nejvyšší citlivost.

Vysoce citlivá na nádorové buňky s účinkem AP charakterizované nepřetržitým nekontrolovaným růstem, a proto účinnost AP dala naději pro protinádorovou aktivitu IFN. Mnoho stovek výzkumníků se zabývalo tímto problémem, často spojením těchto dvou pojmů, což je klinicky nesprávné.

Při použití IFN ve vysokých dávkách (> 1 milion IU) je účinek AP exprimován primárně v cypopeniích. Buňky hematopoetického systému jsou vysoce citlivé na IFN. Současně je potlačen růst i schopnost kolonie v kostní dřeni a slezině. Potlačení a reprodukci mitogenem stimulovaných lymfocytů. Lymfoidní série jsou zpravidla citlivější na IFN než myeloid. Nejméně postižená IFN erytropoéza.

Současně IFN užívaná při vysokých denních dávkách (3 až 15 milionů IU) způsobila v průměru u pacientů cytoredukcí (snížení počtu cirkulujících nádorových buněk) z $97,4 \times 10^9$ na $4,2 \times 10^9$ / l s poklesem velikosti sleziny [28] [chronická myelogenní leukémie](#). Účinky závisejí na aplikovaných dávkách léčiva (to bylo dosaženo díky účinkům AP), ale pro dosažení protinádorového účinku a léčby byly nezbytné další opatření až po transplantaci kostní dřeni.

Efekt AP je reverzibilní. Po ukončení IFN se hematopoéza plně obnoví. Růst nádorových buněk se obnovuje. K udržení účinku AP v těle je nutné neustále podávat vysoké dávky IFN.

Účinek AP je určitě spojen s aktivací 2', 5'-oligo (A) syntetázy, protože v různých kulturách existuje paralela mezi hladinou 2', 5'-oligoadenylátu v cytoplazmě a stupněm inhibice proliferace. Tento vztah je stále nejasný. Nevytváří se pochybnosti o tom, že molekulární mechanismy vývoje stavů AB a AP v dalších fázích se zdají být odlišné. Například toxin cholery, změna fyzikálně-chemického stavu cytoplazmatické membrány a hladina cAMP potlačuje vývoj AV stavu, ale ne

účinek AP [29]. Podobný účinek má v určitých koncentracích také oubain, puromycin a [cykloheximid](#).

Buňky muskulokutánních, mezenchymálních a epiteliálních tkání v těle jsou obvykle rezistentní vůči AP-působení IFN. Nejcitlivějším modelem, který byl použit k měření účinku AP, jsou transformované B-lymfocyty linie Daudi izolované od pacientů s Burkittovým lymfomem. V retrospektivní analýze lze konstatovat, že neaktivnější antiproliferativní potenciál je IFN- γ . To je často 10-20krát účinnější než IFN- α . Aktivita IFN- α a IFN- β závisí na typu buněk, ale častěji IFN- β má výhody pro buňky tkáně svalové pokožky. Na antiproliferativní potenciál jsou platné následující řady IFN: IFN- γ > IFN- β > IFN- α . V tomto případě je třeba si uvědomit, že účinek AP je společný všem IFN a vždy se klinicky projevuje při použití ve vysokých dávkách. Vzhledem k tomu, že klinický syndrom je obvykle reverzibilní cytopenie, je vhodné aplikovat IFN v denních dávkách > 1 milion IU s hematopoetickými aktivátory, například s [leukinferonem](#).

AP-účinek se projevuje pouze tehdy, když IFN interaguje se specifickými receptory, následované hlubokým porušením syntézy makromolekul. Mutanty buněk, které ztratily receptor, získávají rezistenci jak na antivirové, tak na antiproliferační účinky. Mělo by se také vzít v úvahu, že antiproliferativní účinek při nízkých dávkách je cytostatik: růst buněk je zcela obnoven po odstranění IFN, i když to vyžaduje čas - nejméně 24 hodin [30, 31].

Z přehledu četných pozorování [32] bylo možno dospět k závěru, že antiproliferativní účinek IFN je zvláště výrazný v přípravné mezery (fáze G₀, G₁, G₂), proto buňky, ve kterých je toto období krátké a syntéza DNA (perioda S) intenzivně nebo jsou ve fázi mitózy (fáze M), jsou méně citlivé.

Je známo, že v cytoplazmě potřebné pro proliferaci existuje nějaká výchozí hladina 2', 5'-oligoadenylátu. Avšak pokud je IFN podáván ve většině tkání, jejich hladina se může zvýšit o 10-15krát. U myši, které dostaly IFN- α/β , po 2 až 5 hodinách začne hladina 2', 5'-oligoadenylates v slezině, plicích, játrech růst a v menším rozsahu v thymusu a mozku [33]. Například v buňkách Daudi se v cytoplazmě objevují nové proteiny s molekulovou hmotností 15, 16, 20, 53, 79, 87 a 105 kDa a sníží se pouze jeden protein o 23 kDa. V mutantních buňkách rezistentních vůči působení AP stejné linie není jasně indukován žádný protein - 15 kDa. Úroveň dalších proteinů je významně snížena, ale stále se vyskytují. Současně byla také exprese buněčného proto-onkogenního c-myc inhibována IFN [34].

Dosud je známo, že v lidském genomu je přibližně 40 buněčných proto-onkogenů exprimovaných pouze v embryonálních buňkách, ale neaktivní v zralých buňkách. Podle zveřejněných údajů se například v žábích žábkách v procesu zrání vajíček v každém vejci akumuluje až 8 milionů kopií genu c-myc, ve stádiu zralého kaviáru zůstává i jejich úroveň velmi vysoká - 5 milionů kopií, ale po oplodnění

jsou distribuovány v divizi a každá buňka buňky obsahuje pouze 20-50 kopií c-myc, tj. přibližně stejně jako pro osobu.

V lidském genomu je c-myc v zralých buňkách málo exprimován. Při embryogenezi, stejně jako při chirurgických operacích, opravách a regeneračních procesech jiné geneze dochází k aktivaci c-myc a dalších růstových onkogenů c-ras a c-abl. Tyto protoonkogeny jsou naprosto nezbytné pro zahájení proliferace. Aktivace růstových proto-onkogenů stimuluje buňky k přechodu od fáze G0 / G1 k následným stádiím buněčného cyklu - S, G2 a mitózy (M). Tkáňový růst je však geneticky stanoven a přísně kontrolován za účasti [růstových faktorů](#) , [inhibice kontaktu](#) , [faktorů apoptózy](#) [22]. Hlavním regulátorem růstu proto-onkogenů je protein p53, jehož gen je široce zastoupen v genomu savců.

V buňkách hematopoetického systému vede exprese genu p53 k fyziologickému jevu - programované smrti - apoptóze. Zabraňuje tomuto proteinu z genu bcl-2. Zvýšení exprese růstových proto-onkogenů tedy vytváří podmínky pro nekontrolovaný růst a malignitu (zejména pro bodové mutace, které transformují proto-onkogen na onkogen nebo když jsou zahrnuty do virového genomu a účinek virového zesilovače). Snížení jejich exprese pod vlivem IFN nebo p53 (účastní se i proteinu Rb, který zde není považován) potlačuje růst a proliferaci. Samozřejmě, tyto procesy se neomezují, ve skutečnosti jsou mnohem složitější.

Při transformaci nádoru by měla dojít k aktivaci c-myc a dalších růstových onkogenů. Je zajímavé, že pro udržení transformovaného fenotypu je nutná konstantní exprese onkogenů a výsledná přítomnost onkoproteinů v cytoplazmě. Úvod do normální buňky onkoproteinů vede ke vzniku fenotypových příznaků transformace, které začínají zmizet, když se onkoproteiny degradují. Zavedení transformovaných buněk protilátky proti onkoproteinům do cytoplazmy také vede k dočasnému zotavení fenotypicky normálních buněk. Transformovaná buňka, která ztratila specifické funkce (diferenciace) a je charakterizována nekontrolovaným růstem, může být při potlačení exprese růstových onkogenů pod působením IFN vrácena k fenotypové rychlosti. Je nesmírně důležité znát každého lékaře.

Existuje několik způsobů, jak aktivovat buněčné proto-onkogenní bodové mutace, genomovou amplifikaci, akumulaci transkripce nebo nakonec genovou translokaci popsanou pro chronickou myeloidní leukémii (gen 9:22 c-abl) nebo Burkittův lymfom (c-myc 8:14) . Translokovaný gen je ovlivněn novým promotorem a může být aktivován. Důležitou roli mohou také hrát [onkogenní viry](#) nesoucí tyto onkogeny (obvykle s malými změnami) a schopny je integrovat do genomu. Nicméně není pochyb o tom, že bodové mutace v genu p53, které se nacházejí v nejméně 50% nádorových buněk charakteristických pro USA a Anglii, jsou nejpravděpodobnější pro lidské nádory [36]. Předpokládá se, že fakt mutace genu p53, který snižuje kontrolu nad aktivitou růstových onkogenů, vytváří pouze podmínky pro růst nádoru. Jejich klinické projevy by měly být očekávány v

intervalu až 30 let, kdy jsou zahrnuty jiné signály nebo jsou oslabeny mechanismy protinádorové imunity.

Možnosti IFN k prevenci protinádorových procesů jsou nepochybné, přinejmenším díky vlivu na expresi růstových onkogenů. Ale vůbec nebyly studovány.

Použití c-myc genu v buňkách Daudi poprvé v roce 1984 ukázalo, že IFN typu I může být považován za negativní regulátor růstové onkogenní exprese, který alespoň částečně vysvětlí účinek AP v normálních tkáních [37]. Později byl tento účinek pozorován při dalším růstu c-Ha-ras onkogenu. Účinek se častěji projevuje na úrovni translace onkogenu (úroveň bílkovin). Použití c-myc jako příkladu ukazuje, že DNA-vazebný protein p62 kDa, který je produktem c-myc, je nezbytný pro ligaci Okazaki DNA fragmentů do jediné šroubovice. Jeho suprese po zavedení IFN zasahuje do syntézy nové DNA, následované inhibicí proliferace.

Jsou však známy i další příklady potlačování replikace bez výrazného vlivu na expresi růstových proto-onkogenů (buňky monocytů řady I-937, HL-60, FRENÉ erythroleukemie, Balb c / 3T3). Systém 2', 5'-oligo- (A) syntetasy-RNáza L může hrát důležitou roli v tomto procesu, což poskytuje rychlou degradaci nově syntetizovaných mRNA potřebných pro proliferaci [38].

Imunomodulační účinek

Po dlouhou dobu byly IFNs považovány za faktory, které ovlivňují funkce somatických buněk bez zapojení imunitního systému. Ve skutečnosti mohou být v tkáňové kultuře pozorovány účinky AB a AP.

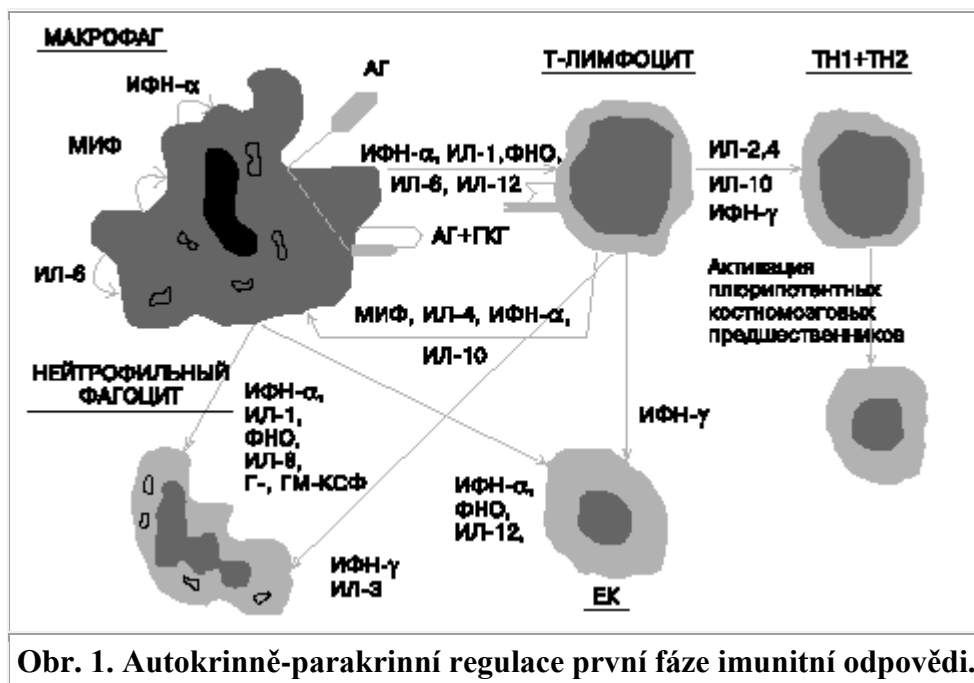
Po téměř deset let se léčiva IFN používají jako antivirové činidla, která mohou chránit buňky před virovou infekcí bez účasti imunitních efektorů. Ačkoli i v tomto případě nebylo do obecné schémy zapotřebí řady klinických pozorování, například stimulace reparativních procesů v ranách, včetně těch, kteří byli silně infikováni [39, 40] a rozsáhlé popáleniny [41], potřeboval nový výklad [2].

Velkým zájmem byla studie provedená v centru primátů v Holandsku, která ukázala, že u opic infikovaných vysoce citlivým kmenem viru vakcínie nebo jeho mutantu rezistentní na dávku IFN je prakticky nepřístupný v těle (> 10 000 IU) léčby IFN nebyly zjištěny žádné významné rozdíly v klinické dynamice a napětí vyvinuté imunity. V obou případech IFN zabránila virovému poškození. To naznačuje převládající úlohu imunitních efektorů aktivovaných IFN v procesech eliminace viru a následné klinické zotavení.

Z dnešního pohledu lze argumentovat, že aktivace nešpecifických odpovědí buněčné imunity a regulace efektorů v imunitní odpovědi je zřejmě hlavní funkcí IFN v těle [4]. Při interakci s patogenem produkuje IFNy makrofágy a lymfocyty, dochází k zánětlivé reakci, která vede ke zničení patogenu v ohnisku s minimálním

poškozením normálních tkání. Je známo, že při normálním zdravotním stavu se udržuje především pomocí nespecifických buněčných imunitních reakcí prováděných známou triadou imunitních efektorů: makrofág, T helper lymfocyt a neutrofilní fagocyt. Makrofág je v tomto případě považován za univerzální buňku prezentující antigen (APC), která prezentuje zpracovaný antigen T-lymfocytu společně s aktivačními cytokiny. Úloha APC se provádí také dendritickými buňkami a Langerhansovými buňkami (kůže). Podstata tohoto jevu se však tím nezmění. APC představuje zpracovaný antigen v komplexu s hlavním komplexem histokompatibilní (MHC) třídy 2 (virové a nádorové antigeny v komplexu s třídou MHC 1), který musí být rozpoznán T-buněčným receptorem (TCR) lymfocytů CD5+. Je známo, že imunogenicitu zpracovaného antigenu se zvyšuje přibližně 10 000krát a 100 komplexů třídy antigen + GKG2 je schopno interagovat s 18 000 TCR [42]. To charakterizuje účinnost imunologického rozpoznávání.

Úloha antigenu může být provedena jakýmkoli patogenem, který je nejprve usmrcen reakcemi zabíjení peroxidem, a poté internalizován. Následné reakce nešpecifické odpovědi jsou uvedeny na [obr. 1](#). Pod působením antigenu by měl být aktivován makrofág, který produkuje autokrinní INF- α a IL-6. Antigeny MHC třídy 2 přetrvávající na makrofágu nejsou exprimovány a jejich vzhled je stimulován pomocí IFN- γ a IL-4. Tento proces je potlačován transformačním růstovým faktorem TGF- β , které mohou být také produkovány makrofágy. Zdroj IFN- γ vždy se aktivují T-lymfocyty.



Obr. 1. Autokrinně-parakrinní regulace první fáze imunitní odpovědi.

Přímý kontakt makrofágu a T-helper lymfocytu přes strukturu antigenu + MHC třídy 2 a TCR je také doplněn transmembránovým glykoproteinem ICAM. To zajišťuje omezení imunitní odpovědi, ale není dostatečné k aktivaci T-lymfocytů. Druhý signál je vyžadován ve formě komplexu cytokinů

produkovaných aktivovanými makrofágy: především IFN- α , IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , které interagují s odpovídajícím receptorem na T-pomocné buňce.

Aktivovaný T-helper lymfocyt, podporující makrofágy, sekretuje do životního prostředí takové cytokiny jako IFN- γ (stimulace exprese MHC třídy 2), stejně jako IL-4 (aktivuje třídy 1 MHC genů), MYTH a LIF, které obsahují makrofágy v zánětlivém a kolonie stimulujících faktorech (CSF) -M-CSF a GM-CSF. Vzhledem k vzájemnému vyváženému vlivu aktivovaných makrofágů a T-helper lymfocytů se udržuje stav jejich aktivace a amplifikace imunitní odpovědi se dosahuje zrychlením diferenciací makrofágů od raných monocytů / makrofágů progenitorů.

Aktivační signály z makrofágů (IFN- α , IL-1, TNF- α , IL-8, G-CSF a GM-CSF) a T-helper lymfocyty (IFN- γ , IL-3) jsou vnímány neutrofilními fagocyty, podporují jejich diferenciaci a stimulují fagocytární funkci. V tomto případě se zvyšují všechny parametry fagocytózy - počet zralých segmentových neutrofilů, tvorba peroxidů, index fagocytů a počet (a co je nejdůležitější) úplnost fagocytózy. Můžete říci, že se tento kruh zavře.

Hlavním negativním signálem pro celý systém je IL-10, který může být produkován jak makrofágy, tak T-lymfocyty. Hlavní regulační úloha v tomto procesu však zřejmě spočívá v T-lymfocytech. Specifické protilátky v těchto reakcích se nemusí účastnit.

Celá sada buněčných antigen-eliminačních reakcí zahrnujících makrofágy (nebo jiné APC), T-lymfocyty a neutrofilní fagocyty, ve kterých není potřeba proliferace a diferenciací T-lymfocytů, může být považována za první fázi imunitní odpovědi. Úzce souvisí s následujícími - druhou fází, která začíná na úrovni proliferujících T-lymfocytů a určuje hlavní směr v následných reakcích organismu na patogen, když začnou být zahrnuty buněčné (zejména HRT) nebo humorální imunogeneze.

První fáze imunitní odpovědi neustále funguje a je zřejmě hlavním okamžitým reakcí organismu s malým zatížením patogenu. Aktivuje se okamžitě po rozpoznání antigenu. Jeho účastníci jsou imunitní efekторы, diferencované do této chvíle, ale na druhé straně vytvářejí základ pro následné imunitní reakce. Ochranná úloha reakcí první fáze imunitní odpovědi je extrémně vysoká a zjevně je lékařem podceňována.