

Москалёв А. В.

**Общая иммунология с  
основами клинической  
иммунологии**

Год издания 2015

Библиография Общая иммунология с основами клинической иммунологии [Электронный ресурс] : учеб. пособие / А. В. Москалёв, В. Б. Сбойчаков, А. С. Рудой. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970433829.html>

Авторы Москалёв А. В.

Издательство ГЭОТАР-Медиа

Год издания 2015

Прототип Электронное издание на основе: Общая иммунология с основами клинической иммунологии : учеб. пособие / А. В. Москалёв, В. Б. Сбойчаков, А. С. Рудой. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 352 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3382-9.

## Оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	7
Глава 1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О КЛЕТОЧНЫХ И ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРАХ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА .....	9
1.1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.....	9
1.2. ЭВОЛЮЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.....	12
1.3. МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ. ПЕНТРАКСИНЫ.....	22
1.4. ЦИТОКИНЫ.....	33
1.5. ХЕМОКИНЫ .....	47
1.6. ФАКТОРЫ РОСТА .....	54
1.7. СИСТЕМА ИНТЕРФЕРОНОВ .....	60
1.8. СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА .....	62
1.9. КЛЕТОЧНЫЕ АНТИГЕННЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ .....	69
1.10. РЕЦЕПТОРЫ, ВХОДЯЩИЕ В СИСТЕМУ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА....	78
Глава 2. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О КЛЕТОЧНЫХ И ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРАХ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА .....	81
2.1. БИОЛОГИЯ В-ЛИМФОЦИТОВ.....	83
2.2. БИОЛОГИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ.....	86
2.4. СТРУКТУРА АНТИТЕЛ И ИХ ФУНКЦИИ .....	93
Глава 3. АНТИГЕНЫ.....	107
3.1. АНТИГЕНЫ И ИММУНОГЕННОСТЬ .....	108
3.2. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИГЕНОВ С АНТИТЕЛАМИ.....	115
Глава 4. ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОГО ИММУНИТЕТА .....	129
4.1. ИММУНИТЕТ К БАКТЕРИЯМ .....	135
4.2. ИММУНИТЕТ К ВИРУСАМ.....	141
4.3. ИММУНИТЕТ К ПАРАЗИТАМ.....	146
4.4. ИММУНИТЕТ К ГРИБАМ .....	149
4.5. ХРОНИЗАЦИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА .....	155
4.6. ФАГОЦИТОЗ.....	156
Глава 5. ПОНЯТИЕ НОРМЫ И НЕДОСТАТОЧНОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.....	162

5.1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ИХ ДИНАМИКА У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА .....	162
5.2. ВТОРИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ СОСТОЯНИЯ.....	168
5.3. ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА ИНТЕРПРЕТАЦИИ ИММУНОГРАММ.....	171
Глава 6. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ .....	183
6.1. ВАКЦИННЫЕ ПРЕПАРАТЫ.....	183
6.2. СОВРЕМЕННЫЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ, ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ .....	196
Глава 7. РЕАКЦИИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ.....	200
Глава 8. АУТОИММУННЫЕ РЕАКЦИИ. ТОЛЕРАНТНОСТЬ. АНЕРГИЯ ИСТОЩЕНИЯ .....	217
8.1. ЦЕНТРАЛЬНАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ .....	217
8.2. АНЕРГИЯ, РЕДАКТИРОВАНИЕ РЕЦЕПТОРОВ, ДЕЛЕЦИЯ И КЛОНАЛЬНОЕ ИГНОРИРОВАНИЕ .....	217
8.3. ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ.....	219
8.4. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ Fas - FasL .....	220
8.5. РЕГУЛЯТОРНЫЕ/СУПРЕССОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ.....	220
8.6. ИММУНОПРИВИЛЕГИРОВАННЫЕ ОБЛАСТИ.....	222
8.7. АУТОИММУНИТЕТ И ЗАБОЛЕВАНИЯ.....	223
8.8. ПУСКОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ АУТОИММУНИТЕТА.....	227
8.9. ПРИМЕРЫ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ .....	227
8.10. ДИАГНОСТИКА АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ .....	234
Глава 9. МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ИММУНОПАТОЛОГИИ.....	240
9.1. МЕТОД ФЛЮОРЕСЦИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ .....	241
9.2. ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ .....	243
9.3. МЕТОД ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ .....	246
9.4. ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ .....	247
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	250

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

♣ - торговое название лекарственного средства

АКДС - адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина

АПК - антигенпрезентирующая клетка

АЯА - антиядерные антитела

БОФ - белки острой фазы

БЦЖ - бацилла Кальметта-Герена (*Bacterium Calmette-Guerin*)

ГЗТ - гиперчувствительность замедленного типа

ГМИ - генетически модифицированные источники пищи

ГНТ - гиперчувствительность немедленного типа

ДК - дендритные клетки

ЕК - естественный киллер

ИС - иммунная система

ИФА - иммуноферментный анализ

ЛПС - липополисахарид

МАК - мембраноатакующий комплекс

ОПВ - оральная полиовакцина

ПСС - прогрессирующий системный склероз

СЗСТ - смешанные заболевания соединительной ткани

СОЭ - скорость оседания эритроцитов

СШ - синдром Шегрена

ФГА - фитогемагглютинин

ФИТЦ - флюоресцинизоцианат

ФНО - фактор некроза опухоли

ФЭ - R-фикоэритрин

ЦИК - циркулирующие иммунные комплексы

ЭАЭ - экспериментальный аллергический энцефаломиелит

ВР1 - бактерицидный белок, повышающий проницаемость клеток

CD - кластеры дифференцировки лимфоцитов

CCR - рецепторы СС-хемокинов

CR - рецептор комплемента

CRP - С-реактивный белок

CSF - колониестимулирующий фактор

CXCL - хемокиновый лиганд СХС

CXCR - рецепторы СХС-хемокинов

Fc - постоянный фрагмент иммуноглобулинов

FcR - рецептор для Fc-фрагмента молекулы иммуноглобулина

HLA - главный комплекс гистосовместимости человека

HSP - белки теплового шока  
ICAM - молекула межклеточной адгезии  
IFN - интерферон  
Ig - иммуноглобулины  
IL - интерлейкин  
Ir-гены - гены иммунного ответа  
LFA-1 - лимфоцитарный функционально-ассоциированный антиген  
MALT - лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми  
MCP - макрофагальный хемотаксический фактор  
MIP-1 $\alpha$  - макрофагальный белок воспаления  
RANTES/SIS - цитокины  
SAA - сывороточный белок амилоида A  
SLPI - секреторный ингибитор протеиназы лейкоцитов  
TCR - T-клеточный рецептор  
TGF $\beta$  - трансформирующий ростовой фактор  $\beta$   
TNF - туморнекротизирующий фактор

## ВВЕДЕНИЕ

Филогенетически иммунная система развивалась для защиты организма от инфекций. В основе этой защиты лежат механизмы врожденного иммунитета (фагоцитоз, система комплемента, а также НК-клетки и др.). Другой формой иммунитета является развитие специфических иммунных реакций вследствие взаимодействия лимфоцитов и конкретных возбудителей (антигенов).

В течение всей жизни человека иммунная система обеспечивает поддержание антигенного гомеостаза каждого индивидуума, и при этом защищает внутреннюю среду организма от разнообразных чужеродных антигенов, попадающих в организм извне (бактерии, грибы, вирусы, различные высокомолекулярные соединения и т. д.), или от собственных антигенов, приобретающих в силу различных обстоятельств признаки чужеродности. Способность поддерживать неизменными собственные антигены жидкостей, клеток и тканей позволяет каждому человеку сохранять в течение жизни свою антигенную (иммунохимическую) индивидуальность.

В настоящее время установлено, что роль иммунологических факторов в защите макроорганизма от различных патогенов вариабельна. При различных видах и при различных формах патологических процессов (острое, затяжное, рецидивирующее течение) отмечаются количественные изменения в субпопуляционном составе лимфоцитов, уровнях иммуноглобулинов, состоянии механизмов фагоцитоза. В большинстве случаев гладкое, неосложненное течение инфекции коррелирует с активацией Т-лимфоцитов-хелперов (CD4<sup>+</sup>) и дифференцировкой их по первому типу, что проявляется в увеличении продукции IFN $\gamma$  и IL-2 - активатора-регулятора Т-клеточного ответа. Осложненное, затяжное течение инфекции сопровождается пониженной продукцией IFN $\gamma$ , IL-2 и повышением уровня IL-4, поэтому как для прогноза течения инфекции, так и для проведения специфических профилактических мероприятий очень важно в первую очередь выявить функциональное состояние этих факторов.

Принципиальная схема работы иммунитета может быть представлена следующим образом. Чужеродный микроорганизм действует на антигенпредставляющую клетку (дендритная клетка, макрофаг), которая затем передает этот обработанный сигнал Т-клетке. Одновременно антиген действует на В-лимфоциты. Т-хелперы (Т-помощники) передают «нечто» В-клетке, которая также уже вступила в контакт с антигеном. Только после этого В-клетка начинает делиться, превращаясь в антителопродуцирующую клетку или клетку памяти. В основе взаимодействия антигенпредставляющей клетки с Т-лимфоцитом лежит явление «двойного распознавания». Оказалось, что антигенпредставляющая клетка может передать сигнал об антигене не любому Т-лимфоциту, а только «своему», тождественному по генам главного комплекса гистосовместимости. Специальный рецептор CD4 на Т-лимфоците узнает, кто передает антиген, при этом клетки обмениваются рядом различных цитокинов, среди которых интерлейкины: факторы некроза опухоли, колониестимулирующий фактор и другие гуморальные факторы. Не менее сложно взаимодействуют Т- и В-лимфоциты. Эти процессы контролируются серией генов, которые относятся к главному комплексу гистосовместимости, и гуморальными факторами. Среди них есть специальные Ig-гены - гены иммунного ответа. Большое значение в регуляции реакций иммунитета имеют цитокины, регулирующие развитие адаптивного иммунного ответа.

В настоящее время установлено, что иммунная система реагирует тропно на факторы, имеющие различную природу. Многочисленные и разнообразные реакции, развивающиеся в ходе специфического иммунного ответа, имеют адаптационный характер. Сила этой реакции зависит от природы антигена, состояния иммунной системы и наследственности. В связи с этим особую остроту приобретает вопрос о пределах динамики показателей защитных систем, позволяющих трактовать их отклонения от «нормы» или «исходного

функционального состояния» как нормальный ответ на внедрение возбудителя, и о степени превышения этих пределов, свидетельствующей о развитии вторичной иммунологической недостаточности. И поэтому представляется очень важным использовать накопленные данные о динамике различных факторов иммунной системы в разные периоды развития специфического иммунного ответа с целью прогноза течения заболевания, мониторинга лечения, предотвращения осложнений со стороны других органов и систем.

Таким образом, иммунитет - это комплекс наследственных и индивидуально приобретаемых механизмов, обеспечивающих постоянство антигенных свойств и жидкостей индивидуума (антигенный гомеостаз); он препятствует внедрению и распространению чужеродных веществ в организме, нейтрализует и разрушает их, удаляя из организма, а также обеспечивает их запоминание.



## Глава 1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О КЛЕТОЧНЫХ И ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРАХ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

### 1.1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

#### Строение иммунной системы

Иммунная система представляет собой совокупность всех лимфоидных органов и скоплений лимфоидных клеток тела, объединенных морфологически и функционально: лимфатические узлы, миндалины, селезенка, лимфоидные образования кожи и кишечника (аппендикс, пейеровы бляшки), лимфоциты костного мозга и крови. Все вместе они составляют единый «диффузный орган», объединенный общей функцией. Масса этого органа 1,5-2 кг (1% массы тела). Все клетки, осуществляющие иммунные реакции, называются иммуноцитами. Они составляют 25-30% общего количества клеток крови у взрослых. Различают центральные и периферические органы иммунной системы. Центральным органом иммунопоэза является костный мозг. Здесь на первоначальных стадиях дифференцировки из полипотентных стволовых клеток образуются лимфоидные стволовые клетки, из которых впоследствии возникают две клеточные популяции: Т-лимфоциты и В-лимфоциты. Тимус регулирует главным образом работу системы клеточного иммунитета (Т-системы). И в тимусе, и вне его Т-лимфоциты подвергаются регулирующему влиянию вилочковой железы.

Периферические органы иммунной системы представлены лимфоидными образованиями селезенки, лимфатических узлов кожи, MALT-системы и другими образованиями.

#### Инкапсулированные органы:

- тимус (вилочковая железа);
- селезенка;
- лимфатические узлы.

#### Неинкапсулированная лимфоидная ткань слизистых оболочек:

- лимфоидная ткань, ассоциированная с желудочно-кишечным трактом (GALT - gut-associated lymphoid tissue), - это миндалины, аденоиды, аппендикс, пейеровы бляшки; особой субпопуляцией являются внутриэпителиальные лимфоциты слизистой оболочки кишки (IEL - intra-epithelial lymphocytes);
- лимфоидная ткань, ассоциированная с бронхами/бронхиолами (BALT - bronchial-associated lymphoid tissues), IEL слизистой оболочки дыхательной системы;
- лимфоидная ткань других слизистых оболочек (MALT-mucosal-associated lymphoid tissue);
- особые субпопуляции лимфоцитов в печени, которые в качестве лимфоидного барьера «обслуживают» кровь воротной вены, несущей все внешние, всосавшиеся в кишечнике вещества;
- лимфоидная подсистема кожи, включающая в себя субпопуляцию особых диссеминированных внутриэпителиальных лимфоцитов кожи (IEL) и регионарные лимфатические узлы и сосуды лимфодренажа;
- периферическая кровь - транспортно-коммуникационный компонент иммунной системы.

## Центральные органы иммунитета

Костный мозг. В настоящее время считается, что аналогом фабрициевой сумки у млекопитающих является костный мозг. Это - поставщик самоподдерживающейся популяции полипотентных стволовых клеток для всех ростков кроветворения, из которых развиваются лимфоциты, моноциты, гранулоциты, эритроциты, тромбоциты, макрофаги тканей. Подавляющее большинство костномозговых лимфоцитов - это В-лимфоциты, они могут выполнять функции предшественников плазматических клеток, т. е. антителопродуцентов.

Лимфоидная стволовая клетка генерирует два типа клеток-предшественников Т- и В-лимфоцитов, из которых и развиваются обе популяции лимфоцитов. Предшественники Т-лимфоцитов проходят через тимус, затем мигрируют в периферические лимфоидные органы, где под влиянием вилочковой железы достигают окончательной степени зрелости, превращаясь в сенсibilизированные лимфоциты. Другая часть лимфоцитов созревает в аналоге фабрициевой сумки, превращаясь в В-лимфоциты, ответственные за синтез иммуноглобулинов.

Тимус (вилочковая железа) - центральный орган Т-системы иммунитета. Опыты, проведенные иммунологами в университете штата Огайо (США) на цыплятах по удалению лимфоидных органов, показали, что у тимэктомированных животных пересаженная чужеродная ткань приживается, а способность продуцировать антитела хотя и снижена, но сохранена. При удалении сумки Фабрициуса (выроста, отходящего от кишечника в области клоаки, который есть только у птиц), наоборот, сохраняется способность отторгать трансплантат и отсутствует способность вырабатывать антитела. Последующие исследования показали, что тимус, несомненно, представляет собой центральный орган иммунной системы, ответственный за различные проявления клеточного иммунитета, осуществляемого не антителами, а лимфоцитами (противодействие патогенным грибам, вирусам, отторжение опухолей, чужеродных тканей, например пересаженных органов). Предполагают, что часть тимоцитов, находясь в вилочковой железе, взаимодействует с некоторыми тимусными эпителиальными клетками, избирательно экспрессирующими антигены II класса главного комплекса гистосовместимости, в результате чего «выживающие» Т-лимфоциты приобретают способность узнавать «свои» маркеры. Установлено, что в тимусе происходят элиминация клеток, способных реагировать против собственных антигенов (Т-клеточная толерантность), а также отбор Т-клеток, способных к одновременному распознаванию продуктов собственных МНС-генов вместе с чужеродными антигенами. Установлено, что сами тимоциты отличаются относительно низкой иммунологической активностью. Гормоны вилочковой железы индуцируют процессы созревания Т-лимфоцитов из Т-клеток-предшественников, способствуют превращению незрелых лимфоидных клеток и часто 0-лимфоцитов в Т-клетки; активируют или депрессируют клетки, генетически запрограммированные для дифференцировки в Т-лимфоциты. Периферические органы иммунитета

Лимфатические узлы. Основная структурная единица лимфатического узла - лимфатический фолликул. Лимфатические узлы, как и тимус, содержат корковое и мозговое вещество. В корковом веществе находятся фолликулы, содержащие лимфоциты, макрофаги, плазматические, делящиеся клетки. В мозговом веществе фолликулов значительно меньше.

Лимфатические узлы выполняют целый ряд функций: это место образования лимфоцитов, здесь осуществляется синтез антител, происходит задержка различных чужеродных частиц и опухолевых клеток, а главное - здесь синтезируется значительное количество антител.

Селезенка. Построена аналогично тимусу и лимфатическим узлам. Основной структурный элемент - селезеночная долька. Лимфоидная ткань селезенки - белая пульпа, в ней есть тимуснезависимые и тимусзависимые зоны. В результате антигенной стимуляции в

тимусзависимых зонах образуются лимфобласты, а в тимуснезависимых происходит пролиферация лимфоцитов и образование плазматических клеток.

Лимфоидная ткань селезенки играет важную роль в резистентности организма к инфекциям и поддержании гомеостаза, так как в ней могут синтезироваться антитела .

Миндалины глоточного кольца. Находясь в начале дыхательного и пищеварительного трактов, они первыми соприкасаются со всевозможными антигенами, поступающими с пищей, водой и воздухом.

Ткань миндалин содержит Т- и В-лимфоциты, макрофаги. Благодаря значительной поверхности миндалин (200 см), макрофаги интенсивно взаимодействуют с антигенами, и через кровь и лимфу «информация» поступает в центральные органы иммунной системы. На поверхности миндалин кроме Т- и В-лимфоцитов находятся иммуноглобулины различных классов, макрофаги, лизоцим, интерфероны, простагландины. Все это способствует осуществлению миндалинами местной защитной функции.

Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками. Данная лимфоидная ткань сокращенно обозначается как MALT (mucosal association lymphoid tissue). MALT является субэпителиальным скоплением лимфоидной ткани, не ограниченной соединительнотканной капсулой и расположенной в слизистой оболочке различных органов и систем (дыхательная, пищеварительная, мочевыделительная). В зависимости от этого выделяют BALT (bronchial associated lymphoid tissue), GALT (gastrointestinal associated lymphoid tissue) и другие подразделения системы MALT. Наиболее изучены ткани GALT-системы. Подавляющее большинство (95%) неагрегированных лимфоидных клеток диффузно расположены между эпителиальными клетками в слизистой оболочке пищеварительного тракта, причем в эпителиальном слое преобладают Т-цитотоксические лимфоциты, а в собственной пластинке - Т-хелперы. Плазматические клетки имеют тенденцию к скоплению в собственной пластинке слизистой оболочки. Примерно 85% их продуцирует иммуноглобулины А, 6-7% - иммуноглобулины М, 3-4% - иммуноглобулины G и менее 1% - иммуноглобулины D и иммуноглобулины E. В этом выражается основная роль лимфоидных образований слизистых оболочек - продукция димерного, секреторного иммуноглобулина А (SIgA).

Кровь относится также к периферическим органам иммунной системы. В ней циркулируют различные популяции лимфоцитов, моноциты, нейтрофилы .

Перечисленные органы, расположенные в различных частях тела, представляют собой единый диффузный органи связаны между собой в цельную систему иммунитета сетью кровеносных и лимфатических сосудов с помощью медиаторов иммунитета, а также нервной и эндокринной систем (рис. 1.1).

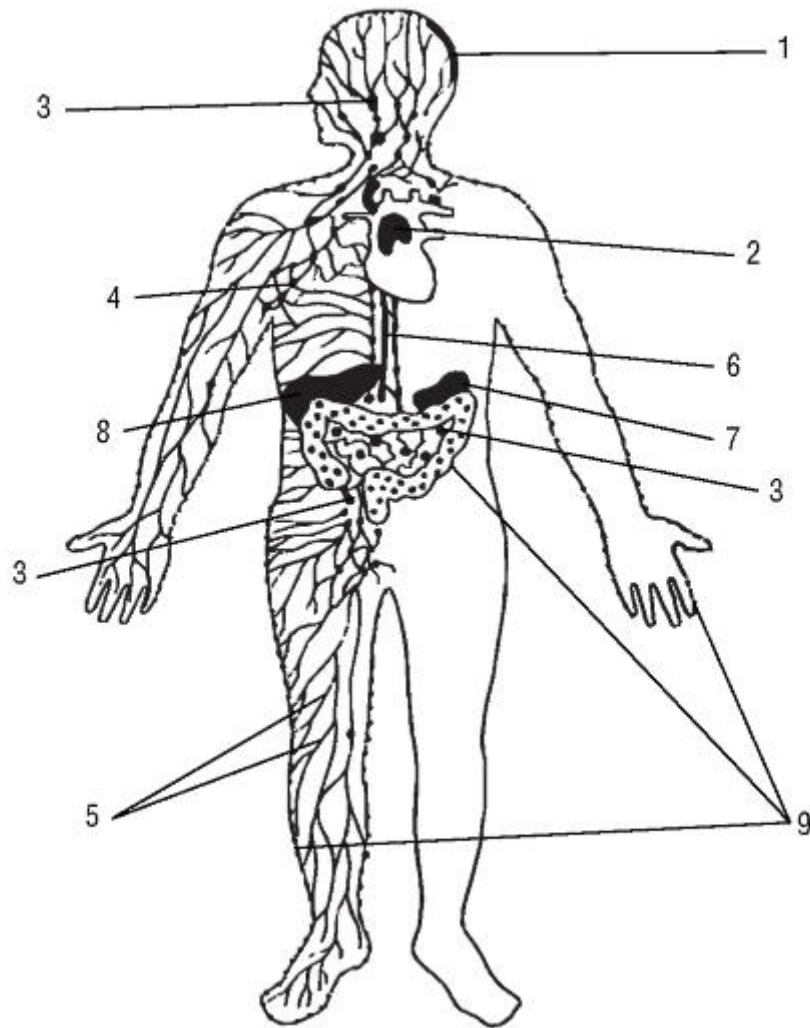


Рис. 1.1. Локализация иммунной (лимфоидной) системы в организме человека (по Хаитову Р. М. и др., 2000): 1 - кроветворный костный мозг; 2 - тимус; 3 - неинкапсулированная лимфоидная ткань слизистых оболочек; 4 - лимфатические узлы; 5 - сосуды лимфодренажа покровных тканей (афферентные лимфатические сосуды); 6 - грудной лимфатический проток (впадает в системную циркуляцию - кровь - через верхнюю полую вену); 7 - селезенка; 8 - печень; 9 - внутриэпителиальные лимфоциты

## 1.2. ЭВОЛЮЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Среди проблем современной эволюционной иммунологии наиболее существенными являются филогенетические отношения между неспецифическим (врожденным) и специфическим (адаптационным) иммунитетом и соответственно компонентами, обеспечивающими развитие врожденного и приобретенного иммунитета.

Молекулярные и клеточные механизмы, обеспечивающие неспецифическую защиту у позвоночных животных, фактически не отличаются от проявления такой защиты у беспозвоночных. Основной формой защиты является фагоцитоз - наиболее древний и общий клеточный механизм, который совместно с естественными гуморальными факторами обеспечивает мощную линию неспецифической защиты от патогенных микроорганизмов.

Естественная клеточная цитотоксичность как неспецифическая форма защиты от трансформированных собственных или трансплантированных чужеродных клеток хорошо охарактеризована у млекопитающих. Клетками-эффекторами, наряду с Т-лимфоцитами и активированными макрофагами, разрушающими мишени, являются натуральные киллеры.

Естественная цитотоксичность, реализуемая, главным образом, лейкоцитами, обнаружена и у беспозвоночных. Она описана у губок, кишечнорастворных, кольчатых червей, моллюсков, членистоногих, оболочников.

Функциональная идентичность между целомочитами беспозвоночных и НК-клетками млекопитающих, их филогенетическая преемственность подтверждаются наличием рецепторов, свойственных НК-клеткам млекопитающих: CD56 (NKH-1) и CD158b (KIR), относящихся к суперсемейству иммуноглобулинов. При этом отмечено отсутствие главных рецепторов субпопуляций Т-клеток: CD4, CD8, CD3.

Цитокины, обеспечивающие развитие межклеточных контактов, обнаружены у различных классов животных: у губок - TNF $\alpha$ , у иглокожих, морских звезд - IL-1, -2, -6, IFN $\gamma$ , у костных рыб - IL-1, -2, -6, у птиц - IL-1, -2, -6, IFN $\gamma$ , IFN $\alpha$ , MIF, TGF $\beta$ , у млекопитающих - IL-1, -2, -6, IFN $\gamma$ , IFN $\alpha$ , MIF, TGF $\beta$ , TNF $\alpha$ .

У беспозвоночных элементы системы комплемента активируются по альтернативному пути, так как у них отсутствуют секретируемые антитела. Независимо от того, по какому пути пошла активация системы комплемента (имеются в виду позвоночные животные), результатом такой активации на заключительной стадии является образование одних и тех же эффекторных молекул. Белки системы комплемента способны выполнять три основные функции: выступать в качестве медиаторов воспаления (C4a, C3a, C5a), выполнять функцию опсонин, взаимодействующих с патогеном (C3b), образовывать на поверхности чужеродной клетки литический комплекс (C5b, C6, C7, C8, C9).

В настоящее время известно около 400 антимикробных факторов, которые представлены не только у беспозвоночных, но также у позвоночных животных и у растений. Основные из них: диптерицин, аттацин, дрозозин, цекропин, дефензин и другие - обладают бактерицидной активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов. Белки появляются в гемолимфе уже через 3-10 ч после заражения и сохраняются в организме около 60 дней.

Защитные механизмы у дрозозилы активируются двумя различными сигнальными путями. Один из них, получивший название толл-активирующий путь, контролирует резистентность к грамположительным бактериям и грибам. Второй, обозначаемый как Imd, - обеспечивает защиту от грамотрицательных бактерий.

Путь активации антимикробных пептидов представлен рядом последовательных событий: поглощением патогена фагоцитирующими клетками, отсутствием прямого взаимодействия патогенов или их компонентов с толл-рецептором. В сравнительно-эволюционном плане существенной является информация о том, что клетки млекопитающих имеют толл-подобные рецепторы (англ. toll like receptors - TLRs). Всего к настоящему времени обнаружено десять таких гомологичных рецепторов. Известно селективное взаимодействие TLRs с определенными продуктами патогенов: TLR2 распознает пептидогликаны и бактериальные липополисахариды, TLR3 - двойную спираль РНК, TLR4 - липополисахарид и липотейхоевую кислоту, TLR5 - флагеллин, TLR6 - липопептиды микоплазмы. Если активация толл-рецептора не связана с прямым взаимодействием с патогеном или его компонентами, то TLR, напротив, получает прямой сигнал от патогена через ассоциированный с TLR комплекс.

Т-система иммунитета. Тимус как центральный орган иммунной системы представляет собой эволюционное приобретение позвоночных животных. У всех беспозвоночных он отсутствует даже в зачаточной форме. Возникновение данного органа у примитивных позвоночных животных было бесспорно ключевым событием в эволюции иммунитета. Появление специальной органной структуры, основное назначение которой - генерализация в онтогенезе Т-клеточного пути развития, значительно повысило эффективность работы всей системы специфической иммунной защиты. В вилочковой

железе происходит формирование основных функционально самостоятельных субпопуляций Т-клеток, именно здесь медиаторы иммунитета находят свое наиболее эффективное выражение в регуляции созревания Т-клеточного пула и, наконец, именно от вилочковой железы зависит заселение периферии дифференцированными эффекторными и регуляторными клетками, принимающими непосредственное участие в иммунном реагировании. Тимус выявлен у миног, хрящевых и костных рыб, амфибий и рептилий. У них же развивается ответ на Т-клеточные митогены.

Определяющим признаком Т-клеток у млекопитающих является наличие мембранного Т-клеточного антигенраспознающего рецептора (ТКР) двух типов: ТКР $\alpha\beta$  и ТКР $\gamma\delta$ .

Претимические Т-клетки направляются в закладку тимуса и проникают в нее через кортикотимическое соединение. В субкапсулярном слое они пролиферируют, превращаясь в лимфобласты. Многие из этих клеток тесно контактируют с эпителиальными клетками-«нянями» тимуса. В этом слое клетки тимуса впервые экспрессируют CD8, а затем CD4 на низком уровне. В них происходит также перестройка (реаранжировка) TCR-генов и начинается экспрессия небольшого количества продуктов этих генов на клеточной поверхности. Созревающие клетки перемещаются в более глубокие слои корковой зоны и контактируют здесь с эпителиальными клетками. Последние удлиняются и ветвятся, создавая большую поверхность для контакта с тимоцитами. В результате контакта TCR тимоцитов взаимодействует с молекулами МНС эпителиальных клеток, и происходит позитивная селекция. Клетки, которые не подверглись селекции, погибают через апоптоз и фагоцитируются макрофагами. Во время миграции тимоцитов из субкапсулярного слоя в более глубокую корковую зону в них повышается экспрессия CD3, TCR, CD4 и CD8. В кортикотимическом соединении происходит делеция аутореактивных тимоцитов, т. е. клеток, TCR которых распознают аутоантигены, презентруемые медуллярными эпителиальными клетками тимуса и макрофагами (негативная селекция). После этой стадии формируются клетки, экспрессирующие либо CD4, либо CD8. Они покидают тимус, мигрируя на периферию через специальные сосуды кортикотимического соединения (рис. 1.2).

В-система иммунитета. В отличие от Т-системы, первые признаки которой обнаруживаются у первично- и вторичноротых беспозвоночных и даже у некоторых видов простейших многоклеточных - губок и кишечнополостных (данные по аллотрансплантационному отторжению), В-система исторически развивалась скорее всего только в пределах подтипа позвоночных животных.

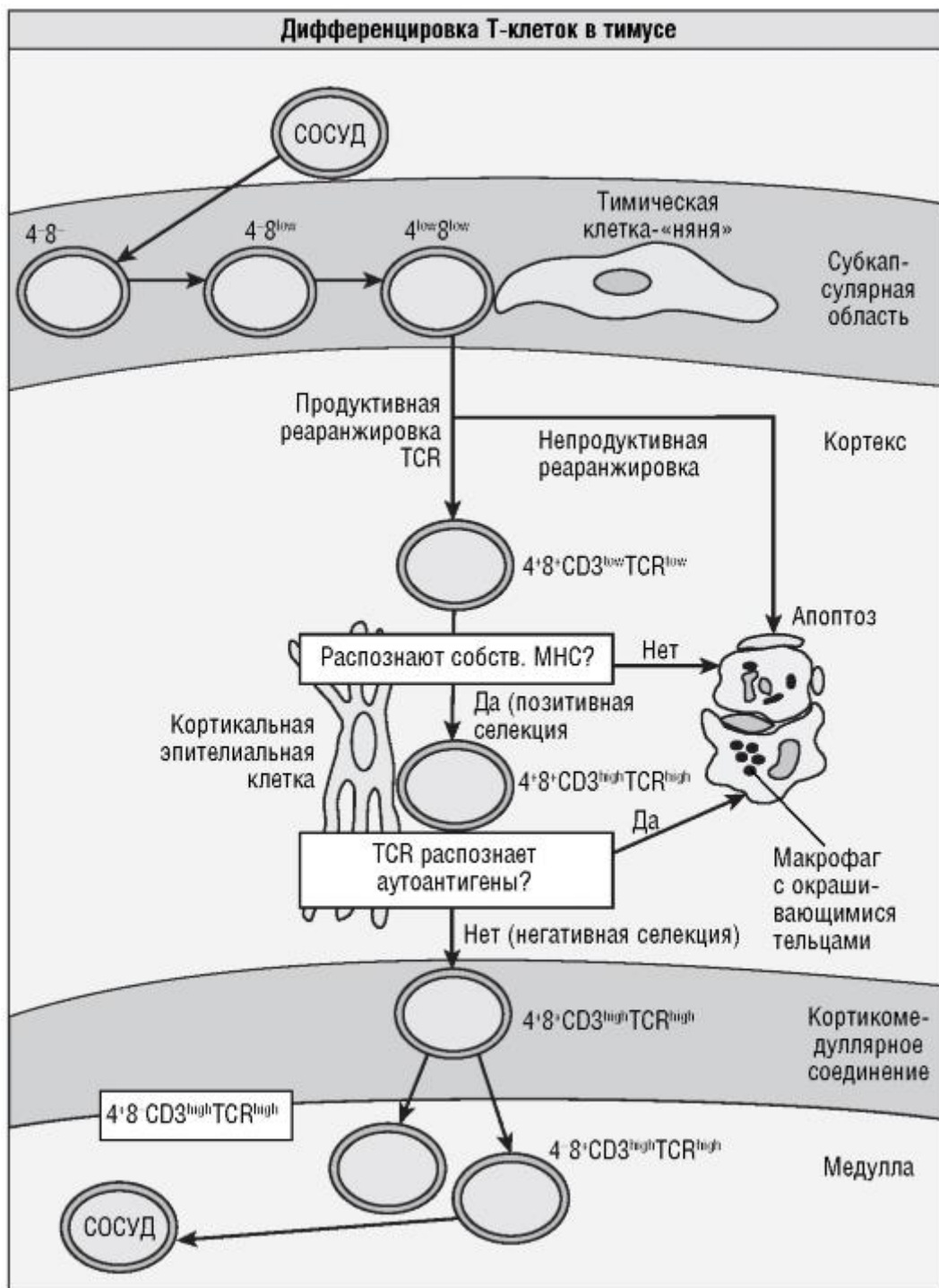


Рис. 1.2. Дифференцировка, созревание и миграция Т-лимфоцитов в периферические лимфоидные органы (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Анализ способности к продукции антител в филогенетическом ряду ясно указывает на постепенное усиление этой иммунологической функции от менее организованных позвоночных животных к более совершенным их формам. Так, антителопродуцирующая функция возрастает от минимальной у костных рыб, рептилий до выраженной у птиц и млекопитающих.

В современной иммунологии IgG млекопитающих рассматривается как полифункциональная адаптерная молекула, которая, с одной стороны, взаимодействует с антигеном с помощью специфических антигенсвязывающих центров, а с другой - запускает эффекторные функции, такие как активация системы комплемента и связывание с рядом Fсурецепторов, приводящие к опсонизации чужеродных клеточных элементов.

Антигенсвязывающий центр рассматривается как основной идиотип (уникальный участок) антитела, который может взаимодействовать и с антигеном, и со специфическими антиидиотипическими антителами.

Филогенез клеток иммунной системы. В настоящее время достаточно хорошо изучен клеточный состав представителей основных, крупных таксонов: губок, кишечнорастворимых, моллюсков, иглокожих и др. Однако функциональная активность клеток упомянутых таксонов по отношению к работе иммунной системы и их рецепторная характеристика оставляют желать лучшего. Так, установлено, что макрофагальные и лимфоцитоподобные клетки (возможно, НК) иглокожих имеют рецепторы, гомологичные CD56 (NKH-1) и CD158b (KIR), известные как маркеры НК-клеток млекопитающих. Относительно недавно была описана субпопуляция Т-клеток, представляющая собой промежуточную форму между НК-клетками и Т-лимфоцитами. Клетки этой субпопуляции имеют Т-клеточные антигенраспознающие рецепторы и в то же время маркер НК-клеток - CD56. Следующий этап - это формирование Т-клеток, имеющих ТКР $\gamma\delta$ -тип. В отличие от ТКР $\alpha\beta$  данный тип рецептора не способен к распознаванию классических молекул I и II классов МНС, процесс рекомбинации генов ТКР $\gamma\delta$  происходит вне тимуса, такой рецептор обладает лишь ограниченной способностью к распознаванию антигена, он часто включен в аутоиммунный процесс. Все эти факты говорят о более древнем происхождении ТКР $\gamma\delta$  по сравнению с ТКР $\alpha\beta$ -типом. Дальнейшее эволюционное развитие - это возникновение Т $\alpha\beta$ -клеток, зависящих от тимуса и обладающих механизмом рекомбинации при образовании ТКР. Начальной стадией эволюционного развития данного типа следует, вероятно, считать хрящевых рыб, которые имеют как ТКР $\gamma\delta$ , так и ТКР $\alpha\beta$ .

На эволюционном пути от НК-клеток к Т-лимфоцитам сохранилось несколько общих рецепторов, указывающих на филогенетическую связь между этими клетками. Среди них CD2 - рецептор для молекулы адгезии LFA-3, упоминавшийся CD56, CD94 - рецептор, взаимодействующий с молекулами класса I МНС.

Начальные этапы филогенетического развития В-клеток не определены. Очевидно, однако, что CD5<sup>+</sup>В-клетки предшествовали классическим В-клеткам. CD5<sup>+</sup>В-клетки характеризуются низкой антигенраспознающей специфичностью, направленной главным образом против углеводных компонентов бактериальных клеток, ранним появлением в онтогенезе, доминирующей продукцией эволюционно наиболее раннего изотипа иммуноглобулинов - IgM.



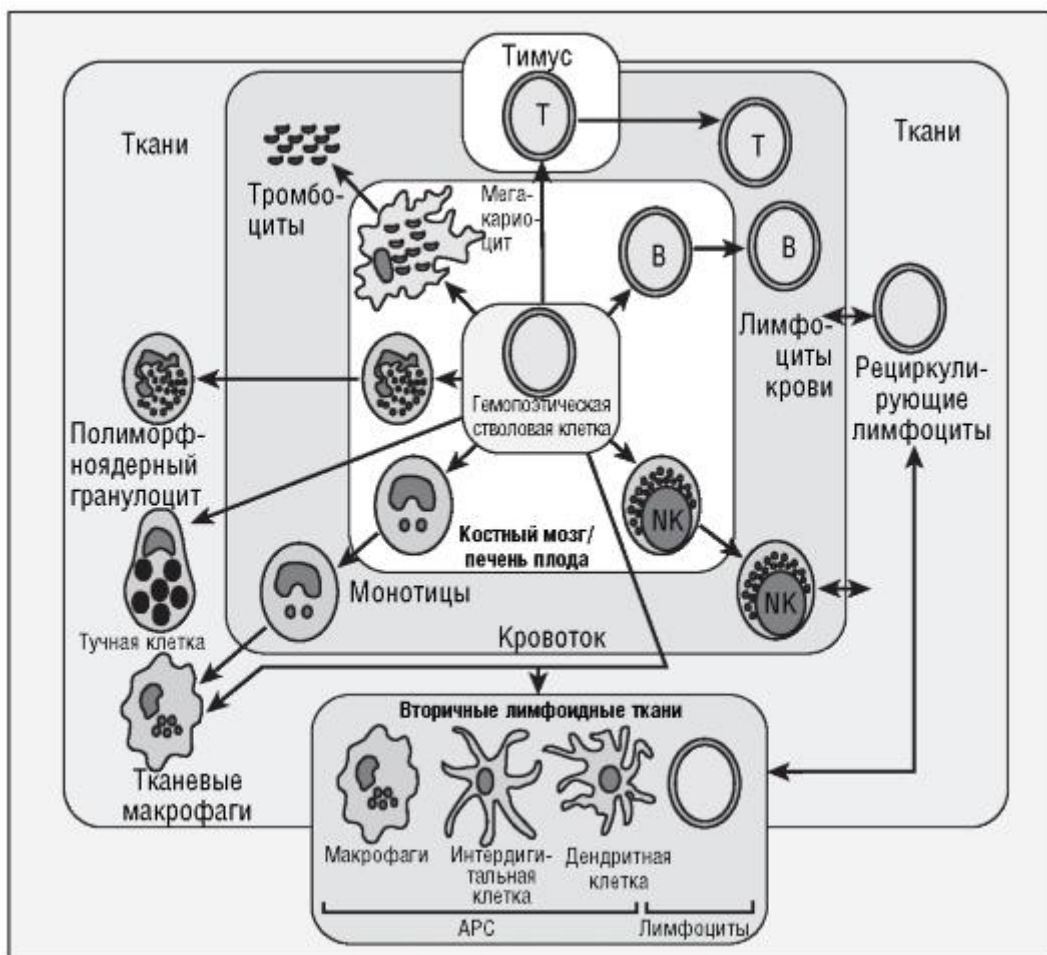


Рис. 1.3. Гемопоэз клеток иммунной системы, происходящих от плюрипотентной стволовой клетки (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Одним из завершающих этапов в эволюционном развитии клеток иммунной системы является возникновение полноценных В-клеток, клонально организованных и обладающих высокоаффинными антигенраспознающими рецепторами - sIg (рис. 1.3).

Становление и развитие иммунной системы в онтогенезе

В онтогенезе иммунной системы человека отчетливо различаются несколько периодов (табл. 1.1).

Таблица 1.1. Основные периоды онтогенеза иммунной системы

Период	Характеристика	Сроки
I	Закладка первичных органов и начальная дифференцировка клеток иммунной системы	6 нед - 9 мес (эмбрион - плод)
II	Совершенствование и формирование зрелой иммунной системы	С момента рождения до 16-18 лет
III	Зрелость, максимальная функциональная активность иммунной системы	От 16-18 до 55-60 лет
IV	Старение, снижение функции иммунной системы	После 55-60 лет

vАнтигены HLA появляются между 8-й и 9-й неделями внутриутробного развития. Закладка селезенки начинается с 5-й недели. Начало функционирования костного мозга

относят к 11-12-й неделе. В этот период он, так же как селезенка и лимфоузлы, активно заселяется лимфоцитами.

Однако в промежутке между 10-й и 16-й неделями самым значительным источником этих клеток продолжает оставаться печень плода, где их число превышает суммарное количество лимфоцитов, содержащихся в вилочковой железе, селезенке и костном мозге.

Закладка лимфоузлов начинается на 4-м месяце фетального периода, а формирование стромы и синусов лимфоцитов завершается лишь в постнатальном периоде. К 12-й неделе лимфоциты составляют 50% всех клеток.

T-лимфоциты выявляются в тканях плода примерно на 40-й день внутриутробного развития - сначала в печени и костном мозге, затем в вилочковой железе и селезенке. Антигены тканевой гистосовместимости выявляются на тимоцитах плода на 14-й неделе внутриутробного развития.

Естественные киллеры (ЕК), не имеющие маркеров T- или B-клеток, появляются у плода на 9-й неделе гестации. Однако имеются основания считать, что их функция во внутриутробном развитии низка и недостаточна для элиминации инфицированных клеток организма.

B-клетки и степень их зрелости определяются по наличию на мембране иммуноглобулинов и рецепторов к их Fc-фрагментам, к комплементу (CR), а также к поликлональным B-активаторам (липополисахариду, липопротеину и др.). На ранних стадиях онтогенеза первым на мембране B-лимфоцитов появляется IgM, далее его плотность уменьшается и начинают появляться IgD, затем IgG, IgA, IgE. Человеческие эмбрионы уже на 15-й неделе обнаруживают зрелый характер экспрессии IgG на B-клетках. Рецепторы Fc и CR (комплементарные) появляются несколько позднее.

К 19-й неделе внутриутробной жизни кровь плода содержит все компоненты комплемента. Содержание компонентов C3 и C4 в крови плода к моменту родов достигает 50-75% уровня, определяемого у матери. Примерно к 3-му месяцу постнатального периода жизни содержание основных компонентов классического пути активации комплемента достигает величин, определяемых у взрослых.

У новорожденных низка цитотоксическая активность T-лимфоцитов и ЕК. Кожные пробы при постановке тестов гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) ослаблены или отрицательны. Особенности регуляции связаны с ограниченной продукцией интерлейкинов и интерферонов. Также ослаблены процессы активации системы комплемента по альтернативному пути. Физиологический дефицит IFN $\gamma$  определяет слабую противовирусную защиту в первые недели жизни и недостаточную активность ЕК.

Число B-лимфоцитов в крови новорожденных выше, чем у взрослых, в 4-5 раз. Однако их функциональная активность ограничена. Гуморальный иммунитет новорожденных обеспечивается материнскими IgG, которые защищают организм от полиовирусов, вирусов краснухи, вирусов кори, менингококков, стрептококков, возбудителей коклюша, столбняка, дифтерии.

В лимфатических узлах детей могут длительно сохраняться микроорганизмы. При персистирующих вирусных или паразитарных инфекциях (цитомегаловирусы, вирусы Эпштейна-Барр, вирусы простого герпеса, токсоплазмы, микобактерии и др.) наряду с лимфоузлами нередко увеличена селезенка. Дети, родившиеся с внутриутробными вирусными инфекциями, становятся резервуаром заболеваний, поражающих чувствительных к ним сверстников и взрослых.

Активность Th низка у новорожденных и детей 1-го года жизни, но возрастает на 2-м году жизни. К этому времени окончательно созревает и продукция компонентов системы комплемента.

Воздействие различных антигенов на 1-м году жизни проявляется как первичный гуморальный иммунный ответ, характеризующийся повышением синтеза антител класса IgM. Клетки, несущие иммунологическую память, в этом случае не появляются. С возрастом происходит переключение гуморальных реакций иммунного ответа на синтез IgG-антител, что обеспечивается генами переключения, или switchгенами. Способность к синтезу собственных IgG появляется на втором месяце жизни. К концу 1-го года жизни в крови ребенка количество IgG составляет 50-60%, а - 30% от содержания аналогичных иммуноглобулинов у взрослых. К концу 2-го года жизни содержание и IgG составляет уже около 80% показателей взрослых, а IgA - около 40%. Секреторный IgA и секреторный фрагмент S полностью отсутствуют у новорожденных и появляются в секретах после 3-го месяца жизни, что позволяет говорить о недостаточности системы местного иммунитета у детей раннего возраста. При грудном вскармливании эта недостаточность частично компенсируется sIgA материнского молока.

Содержание в крови субклассов IgG достигает уровня взрослых в различные сроки: IgG<sub>1</sub> и IgG<sub>4</sub> в возрасте 8 лет, а IgG<sub>3</sub> - в 10 лет, IgG<sub>2</sub> - в 12 лет. Дефицит IgG<sub>2</sub> и IgG<sub>4</sub> в раннем возрасте определяет низкую резистентность организма ребенка к таким агентам, как пневмококки, менингококки и др.

Формирование и становление иммунной системы проходит ряд критических периодов.

I. Во внутриутробном развитии критическим следует считать возраст 8-12 нед, когда происходит дифференцировка органов и клеток иммунной системы. Иммунный аппарат эмбриона и плода весьма чувствителен к повреждающим воздействиям химической (лекарственные препараты, наркотики и др.), биологической (инфекции), физической (радиация, механические воздействия) природы. Последствия этих повреждений могут проявиться уже после рождения в форме врожденной иммунопатологии (иммунодефицит, аллергия, аутоиммунитет). Иммунная система беременной проявляет терпимость к чужеродным антигенам в составе развивающегося плода. Толерантность в этот период обусловлена следующими обстоятельствами.

1. Трофобласт, как плацентарный барьер, изолирует кровоток плода от кровотока матери. Концентрация антигенов гистосовместимости плода на трофобласте очень мала. Таким образом, малоантигенные клетки трофобласта изолируют иммуногенные клетки плода.

2. Плацента и плод синтезируют группу иммуносупрессивных веществ, которые активно подавляют реакции отторжения.

3. В организме беременной происходит перестройка цитокиновой регуляции иммунных процессов, в результате запускается избирательная супрессия реакций против чужеродных антигенов плода. При этом сохраняется иммунореактивность против всех других антигенов, в том числе бактериальных и вирусных.

4. Плацента ограждает плод от проникновения Т- и В-лимфоцитов на ранних этапах развития эмбриона. Вместе с тем материнские антитела класса IgG свободно проникают через плаценту. Особенно активный трансплацентарный транспорт материнских иммуноглобулинов происходит в конце срока беременности. Именно этим обстоятельством объясняется очень высокий уровень IgG в крови доношенных новорожденных, часто превышающий их концентрацию в организме матери. У недоношенных новорожденных этот показатель существенно ниже. Продукция собственных антител иммунной системой плода при нормальной беременности, без антигенного раздражения, происходит, но с очень низкой интенсивностью. Уже с 10-й недели начинается синтез молекул IgM, с 12-й - IgG, с 30-й - IgA, но концентрация их невелика.

Таким образом, к моменту рождения здорового ребенка основную массу антител в его организме составляют материнские IgG, которые направлены против разнообразных инфекционных агентов. Вместе с тем еще на внутриутробной стадии развития организма иммунная система реагирует на бактериальные, вирусные и иные чужеродные антигены усиленным синтезом преимущественно IgM-антител. Такова особенность иммунной реакции плода на инфекционную, а также иную патологию, поэтому повышенный уровень IgM в пуповинной крови новорожденного - индикатор внутриутробной антигенной стимуляции, чаще всего результат перенесенной внутриутробной инфекции.

II. Первым критическим периодом после рождения является период новорожденности, когда организм внезапно встречается с огромным количеством антигенов. Иммунная система подвержена сильным супрессорным влияниям. Отмечаются функциональный дисбаланс Т-лимфоцитов, несоответствие эпитопов CD или ОКТ супрессорной или хелперной функциями клеток. Определяется расхождение фенотипа и функций Т-лимфоцитов, которое можно объяснить тем, что супрессорную функцию выполняют не только CD8-лимфоциты, но и другие клетки (незрелые тимоциты, CD4 - индукторы супрессии, нулевые супрессоры и др.). При этом все Т-лимфоциты новорожденных несут маркер незрелости CD1a (ОКТ6), исчезающий в зрелых клетках. На В-лимфоцитах экспрессированы типичные антигены CD19, CD20, CD23, CD25, но лишь ограниченное их число способно к синтезу и секреции иммуноглобулинов, и только класса IgM. Процессинг антигенов снижен и по причине функциональной слабости фагоцитов. Низкая активность естественных киллеров сочетается с ограниченным синтезом IFN $\gamma$ . Для этого периода характерна низкая резистентность по отношению к условно-патогенной гноеродной грамотрицательной микрофлоре, некоторым вирусам (вирусы простого герпеса, цитомегаловирусы, Коксаки В). Отмечается склонность к генерализации микробно-воспалительных процессов (септические состояния).

III. Второй критический период (3-6 мес) характеризуется ослаблением пассивного гуморального иммунитета в связи с катаболизмом материнских антител. В этот период сохраняется супрессорная направленность иммунных реакций при выраженном лимфоцитозе. На большинство инфекционных антигенов развивается первичный иммунный ответ с преимущественным синтезом IgM-антител, не оставляющим иммунологической памяти. Дети сохраняют очень высокую чувствительность к РС-вирусу, вирусам парагриппа, аденовирусам. Проявляются недостаточность местного иммунитета (повторные ОРВИ), многие наследственные иммунодефициты, нарастает частота пищевой аллергии.

IV. Третий критический период - второй год жизни. В этом периоде сохраняется первичный характер иммунного ответа на многие антигены, однако синтез IgM-антител переключается на образование антител класса IgG. В этот период дифференцируются клоны В-лимфоцитов, синтезирующие субклассы IgG<sub>1</sub> и IgG<sub>3</sub>. Однако синтез субклассов IgG<sub>2</sub> и IgG<sub>4</sub> запаздывает. Супрессорная направленность иммунной системы сменяется преобладанием хелперной функции по отношению к В-лимфоцитам, синтезирующим IgM, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>3</sub>. Система местного иммунитета остается неразвитой, дети чувствительны к респираторным вирусам. В этот период начинают проявляться многие минорные аномалии иммунитета, иммунокомплексные, аутоиммунные болезни. Проявления иммунологического диатеза (атопия, аутоиммунный диатез) четко не дифференцируются. Дети особенно склонны к повторным вирусным и бактериальным заболеваниям органов дыхания.

V. Четвертый критический период - 4-6-й год жизни. В этом возрасте отмечается второй перекрест в содержании форменных элементов крови. Средняя концентрация IgG и в крови соответствует уровню взрослых, уровень IgA в плазме крови еще не достигает окончательных значений, содержание IgE в крови достигает максимальных величин. Система местного иммунитета у большинства детей завершает свое развитие. Данный период характеризуется высокой частотой atopических, паразитарных иммунокомплексных

заболеваний, проявлением поздних иммунодефицитов. Формируются многие хронические заболевания полигенной природы.

VI. Пятый критический период - подростковый возраст (у девочек с 12-13 лет, у мальчиков с 14-15 лет). Пубертатный скачок роста сочетается с уменьшением массы лимфоидных органов. Повышение секреции половых гормонов (прежде всего андрогенов) ведет к подавлению клеточного звена иммунитета и стимуляции его гуморального звена.

Половые гормоны у мальчиков-подростков оказывают более выраженное влияние на количество клеток, экспрессирующих HLA-DR<sup>+</sup>, и на число циркулирующих CD19 (В-лимфоциты), а у девушек - на более высокое соотношение клеток CD4 : CD8. Тяжесть atopических заболеваний у многих подростков ослабевает. Окончательно формируются сильный и слабый типы иммунного ответа. Усиливается воздействие экзогенных факторов на иммунную систему. Отмечается новое повышение частоты хронических воспалительных, аутоиммунных, лимфопролиферативных и некоторых вирусных заболеваний.

Процессы становления иммунной системы могут замедляться или вести к иммунодефициту под влиянием многих факторов. Такими факторами могут быть воздействие ксенобиотиков на иммунную систему в период закладки и дифференцировки ее органов и клеток; внутриутробные инфекции лимфотропными ДНК-содержащими вирусами (цитомегаловирусы, вирусы простого герпеса тип 1-6), а также вирусом краснухи. В этом же ряду стоят РНК-содержащие вирусы, вызывающие инфекции органов дыхания или пищеварительного тракта; полигенно наследуемые иммунодиатезы; малые (компенсированные) аномалии иммунной системы; классические иммунодефициты; ятрогенные и экопатогенные влияния на иммунную систему в критические периоды развития.

В это время устанавливается тот фенотипический вариант иммунного статуса, который впоследствии будет определять сильный или слабый тип иммунного ответа организма взрослого человека на различные антигенные стимулы. Вместе с тем у большинства подростков аллергические заболевания протекают уже легче, чем раньше.

В течение нескольких лет происходит постепенное выравнивание всех систем иммунорегуляции с выходом на «взрослый» фенотип иммунного статуса.

Согласно данным литературы увеличение продолжительности жизни населения сопровождается ростом иммунопатологии, включая аллергические и аутоиммунные заболевания. Дисфункции иммунных механизмов, развивающиеся с возрастом, играют существенную роль в увеличении числа онкологических заболеваний. В связи с этим анализ возрастных изменений параметров, характеризующих функцию иммунной системы, представляет непосредственный практический интерес, а изучение нормальных показателей работы иммунной системы позволяет определить границы оптимальной деятельности системы иммунитета в разных возрастных периодах.

Снижение процентного содержания лимфоцитов в кровотоке может быть связано с изменением миграции клеток из центральных органов иммунной системы. Действительно, относительное содержание клеток «наивного фенотипа» (CD45RA) изменяется с возрастом, достигает максимума в периоде 31-50 лет, а затем постепенно снижается. Различия относительного содержания этих клеток в кровотоке между младшими и старшими возрастными группами (61-80 лет) достоверны. Возрастной минимум процентного содержания CD45RA-клеток «наивного фенотипа» установлен в самой старшей из изученных групп (71-80 лет). Полученные данные в целом соответствуют сложившимся представлениям о возрастной инволюции центральных органов иммунной системы, что, вероятно, сопровождается уменьшением продукции и выхода лимфоцитов в циркуляцию.

В субпопуляционном спектре лимфоцитов отмечено также снижение с возрастом абсолютного и относительного содержания клеток, экспрессирующих маркер готовности к

Fas-зависимому апоптозу (CD95). Известно, что апоптоз в периферических органах иммунной системы является ведущим механизмом элиминации аутореактивных клонов лимфоцитов. Снижение количества лимфоцитов с готовностью к апоптозу может лежать в основе увеличения частоты аутоиммунной возрастной патологии.

Вместе с тем индекс реализации апоптоза, т. е. процент лимфоцитов с апоптотически измененным ядром по отношению к общему количеству клеток с готовностью к апоптозу (CD95), постепенно, от десятилетия к десятилетию жизни, нарастает, достигая максимума в самой старшей возрастной группе.

Характерное изменение со стороны IgA, IgG - закономерное нарастание их уровней от десятилетия к десятилетию жизни у обследованных с возрастным максимумом их содержания в самой старшей из изучаемых групп. Достоверных изменений уровня IgM у обследованных разного возраста не установлено.

При изучении системы комплемента достоверно значимых изменений общей активности системы и активности отдельных ее показателей не выявлено.

Таким образом, при анализе динамики показателей иммунной системы у обследованных без клинических признаков иммунопатологии по десятилетиям жизни в возрастном периоде от 30 до 80 лет выявлены закономерное снижение с возрастом процентного содержания лимфоцитов «наивного фенотипа» (CD45RA), нарастание индекса реализации апоптоза этих клеток, сопровождающееся постепенным снижением относительного и абсолютного содержания лимфоцитов, экспрессирующих маркер готовности к Fas-зависимому апоптозу, увеличение уровня иммуноглобулинов вторичного иммунного ответа.

Иммунная система при старении. У большинства людей старше 55-60 лет наблюдается постепенное, все более глубокое угнетение иммунитета. Скорость этого процесса имеет сугубо индивидуальный характер.

Доказано, что абсолютное количество Т- и В-клеток при этом не снижается, однако изменяется их функциональная активность. У лиц старческого возраста (после 80 лет) особенно страдают функции Т-системы иммунитета, в частности способность распознавания аллоантигенов макрофагами и лимфоцитами, угнетена активность хелперных Т-клеток (как Th2, так и Th1), извращена супрессорная функция иммунной системы. Весьма вероятен дисбаланс в системе цитокиновой регуляции иммунных реакций.

В связи с разбалансировкой системы физиологической иммунорегуляции при старении возрастает частота злокачественных образований и аутоиммунных нарушений.

Ко всему прочему, из-за снижения активности метаболических процессов в фагоцитах и других клетках, ответственных за функцию неспецифической антиинфекционной реактивности, у пожилых лиц увеличивается частота хронических и вялотекущих бактериальных, вирусных и грибковых инфекций.

Таким образом, типичные болезни старческого возраста непосредственно связаны с подавлением иммунореактивности вследствие глубоких изменений в популяционной структуре Т-клеток и их функций, а также из-за снижения активности клеток, участвующих в реализации неспецифических клеточных и гуморальных реакций.

### 1.3. МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ. ПЕНТРАКСИНЫ

Воспаление - это реакция организма на внедрение инфекционного антигена. Помимо усиления клеточной миграции, воспаление вызывает приток различных молекул из плазмы крови. В противоположность лейкоцитам, которые мигрируют через эндотелий венул, молекулы плазмы крови попадают в воспалительный экссудат главным образом из капилляров, где кровяное давление выше. Этот процесс обеспечивается двумя механизмами:

усилением кровенаполнения капилляров в области воспаления и увеличением их проницаемости. Проницаемость капилляров повышается вследствие втягивания клеток эндотелия и, возможно, также усиления транспорта везикул сквозь эндотелий. Это обеспечивает поступление в очаг воспаления более крупных молекул, чем те, которые обычно могут проникать сквозь эпителий. Таким образом, в очаг воспаления поступают антитела, компоненты комплемента и другие ферментные системы плазмы крови. Развитие воспалительного процесса происходит при участии хемокинов, продуктов активации ферментных систем плазмы, вазоактивных медиаторов, выделяемых лейкоцитами.

Достигая очага инфекции, лейкоциты ранней волны миграции выделяют медиаторы, которые обеспечивают дальнейшее накопление и активацию клеток. Однако роль главного регулятора воспалительных реакций, инициированных иммунной системой, играет сам антиген, поэтому очаг хронической инфекции или аутоиммунных реакций (где антиген не удается устранить окончательно) существенно отличается по клеточному составу инфильтрата от очагов воспаления, быстро освобождаемых от антигена.

Острофазные белки - это белки коагуляции (фибриноген, протромбин), транспортные белки (церулоплазмин, ферритин, трансферрин, гаптоглобин, С-реактивный белок и др.), которые сами выполняют функции медиаторов иммунной системы.

Издревле известны классические признаки воспаления: *tumor, rubor, color, dolor*. У человека, как и у других млекопитающих, острая фаза воспалительного ответа характеризуется повышением температуры, изменением проницаемости сосудов, изменением биосинтетического и метаболического профиля многих органов. В развитии ОФ участвуют системы всего организма: иммунная, центральная нервная, эндокринная, сердечно-сосудистая. Важнейший аспект ОФ - радикальное изменение биосинтеза белков в печени. Понятие «белки острой фазы» объединяет до 30 белков плазмы крови, так или иначе участвующих в совокупности реакции воспалительного ответа организма на повреждение. Белки ОФ синтезируются в печени, их концентрация существенно изменяется и зависит от стадии, течения заболевания и массивности повреждения, что и обуславливает ценность их определения.

Для острой фазы воспаления характерны:

- неспецифичность и универсальность; сходный комплекс реакций может развиваться как при инфекции, так и после физической травмы;
- направленность на ограничение очага повреждения, осуществление репаративных процессов.

Развитие острой фазы воспалительного ответа инициируется и регулируется целым рядом медиаторов, среди которых цитокины, анафилотоксины и глюкокортикостероидные гормоны. Некоторые из них выделяются непосредственно в очаге воспаления активированными макрофагами, лимфоцитами и другими клетками и могут оказывать как местное, так и общее воздействие. Наиболее важные растворимые факторы, регулирующие синтез белков ОФ в печени, условно можно разделить на четыре группы:

- 1) ИЛ-6 и сходные с ним по действию (ИЛ-1 $\beta$ , онкостатин М и др.);
- 2) ИЛ-1 и сходные с ним по действию (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , факторы некроза опухолей ФНО- $\alpha$  и ФНО- $\beta$ );
- 3) глюкокортикоидные гормоны;
- 4) факторы роста, к числу которых относятся инсулин, факторы роста гепатоцитов, фибробластов, тромбоцитов. Регуляция синтеза белков ОФ не является универсальной. Это сложный многофакторный механизм, отдельный для каждого белка. Каждый из цитокинов выполняет уникальную, независимую функцию. В общих чертах можно представить, что цитокины действуют как первичные стимуляторы генной экспрессии, глюкокортикоидные

гормоны и факторы роста являются модуляторами действия цитокинов. Как правило, концентрация белков ОФ увеличивается в течение первых 24-48 ч. Классически ОФ длится несколько дней, что указывает на защитную, гомеостатическую природу этого важного ответа. Однако нормальный цикл может быть пролонгирован при продолжении действия повреждающих факторов или при нарушении механизмов контроля и регуляции. Окончательно неизвестно, какое контрольное звено является критическим для конверсии острофазного ответа в хроническую фазу воспаления. Но, безусловно, ясно, что при нарушении механизмов регуляции ОФ повреждение тканей может продолжаться и привести к развитию последующих осложнений, например сердечно-сосудистых заболеваний, болезней накопления, таких как реактивный амилоидоз.

Характеристика и классификация белков острой фазы. Особенностью большинства белков ОФ является их неспецифичность и высокая корреляция концентраций в крови с активностью заболевания, стадией процесса. Это выгодно отличает белки ОФ от других широко используемых маркеров воспаления, таких как скорость оседания эритроцитов (СОЭ), подсчет количества лейкоцитов и сдвиг лейкоцитарной формулы. В связи с этим ценность тестов на белки ОФ для мониторинга течения заболеваний и контроля эффективности лечения трудно переоценить. В то же время диагностическая значимость этих тестов, в силу их неспецифичности, может быть весьма ограниченной.

Изменение концентрации различных белков в условиях повреждения и воспаления варьирует в широких пределах. Далее представлена классификация белков ОФ в зависимости от степени увеличения их концентрации при физической травме.

1. К «главным» белкам ОФ у человека относят С-реактивный белок (СРБ) и белок амилоида А сыворотки крови. Уровень этих белков возрастает при повреждении очень быстро (в первые 6-8 ч) и значительно (в 20-100 раз, в отдельных случаях - в 1000 раз).

С-реактивный белок. С-реактивный белок определяется в сыворотке крови при различных воспалительных и некротических процессах и является показателем острой фазы их течения. Свое название он получил из-за способности преципитировать С-полисахарид клеточной стенки пневмококка. СРБ усиливает подвижность лейкоцитов. Связываясь с Т-лимфоцитами, СРБ влияет на их функциональную активность, инициируя реакции преципитации, агглютинации, фагоцитоза и связывания комплемента. Повышение уровня СРБ в крови начинается через 14-24 ч с момента начала воспаления и исчезает при выздоровлении. СРБ синтезируется в печени и состоит из пяти кольцевых субъединиц. Большое клиническое значение имеет количественное определение СРБ. Повышение концентрации СРБ служит самым ранним признаком инфекции, а показателем эффективности терапии является снижение его концентрации. Его уровень отражает интенсивность воспалительного процесса. Контроль содержания СРБ важен для мониторинга инфекционных заболеваний. Повышение уровня С-реактивного белка характерно для ревматизма, острых бактериальных, грибковых, вирусных и паразитарных инвазий, эндокардита, ревматоидного артрита, туберкулеза, перитонита, инфаркта миокарда, состояний после тяжелых операций, злокачественных новообразований с метастазами.

Белок амилоида А, сывороточный (SAA). SAA - маркер острой фазы воспаления, предшественник фибриллярного тканевого белка АА. Усиленный синтез SAA гепатоцитами при их воспалении стимулируется макрофагальным медиатором - ИЛ-1, что приводит к резкому увеличению содержания SAA в крови (на 2-3 порядка по сравнению с нормой). Если воспалительный процесс завершается, SAA разрушается макрофагами. Однако в случае длительно существующего воспалительного процесса макрофаги не в состоянии осуществить полную деградацию SAA, и из его фрагментов происходит сборка фибрилл амилоида. Амилоид представляет собой гликопротеид, основным компонентом которого являются фибриллярные белки. Высокая концентрация SAA в сыворотке крови является маркером АА-амилоидоза, который может быть первичным (периодическая болезнь, болезнь



Маккла и Уэллса) и вторичным. Вторичный амилоидоз развивается как осложнение ряда заболеваний: хронических инфекций (особенно туберкулеза), злокачественных заболеваний (парапротеинемии, лимфогранулематоз, рак), ревматических болезней (особенно ревматоидного артрита). Концентрация SAA повышается через несколько часов после инсульта аналогично С-реактивному белку. Возможно, SAA ассоциирован с сывороточными фракциями липопротеидов высокой плотности.

2. Вторую группу составляют белки, концентрация которых может увеличиваться существенно (в 2-5 раз). Тесты на кислый  $\alpha_1$ -гликопротеид (орозомукоид),  $\alpha_1$ -антитрипсин ( $\alpha_1$ -ингибитор протеиназ), фибриноген, гаптоглобин имеют очевидную информативность при многих заболеваниях.

3. Индивидуальной оценки требует интерпретация результатов измерения концентраций церулоплазмينا, С3-компонента комплемента, уровень которых увеличивается на 20-60% исходного, и в ряде случаев может не превышать пределов диапазона вариаций нормальных концентраций этих белков в плазме крови здорового человека.

4. К так называемым нейтральным реактантам ОФ относят белки, концентрация которых может оставаться в пределах нормальных значений, однако они принимают участие в реакциях острой фазы воспаления. Это  $\alpha_1$ -макроглобулин, гемопексин, амилоидный Р-белок сыворотки крови, иммуноглобулины.

5. Содержание «негативных» реактантов ОФ может снижаться на 30-60%. Наиболее диагностически значимые из этой группы белков - альбумин, трансферрин,  $\alpha$ -липопротеид, преальбумин. Уменьшение концентрации отдельных белков в острой фазе воспаления может быть обусловлено снижением синтеза, увеличением потребления либо изменением их распределения в организме.

Таким образом, к острофазным относят белки с различной биологической функцией. Все они играют важную роль в месте повреждения или на уровне организма и непосредственно участвуют в осуществлении комплекса реакций, направленных на удаление повреждающего фактора, локализацию очага повреждения, восстановление нарушенной структуры и функции.

Например, С-реактивный белок способен связывать широкий спектр лигандов - компонентов микроорганизмов, токсинов, частиц поврежденных тканей, препятствуя тем самым их распространению. Кроме того, продукты такого взаимодействия активируют комплемент по классическому пути, стимулируя процессы фагоцитоза и элиминации вредных продуктов. С-реактивный белок может взаимодействовать с Т-лимфоцитами, фагоцитами и тромбоцитами, регулируя их функции в условиях воспаления. Орозомукоид (кислый  $\alpha_1$ -гликопротеид) обладает антигепариновой активностью, при повышении концентрации этого белка в сыворотке ингибируется агрегация тромбоцитов.

Фибриноген является не только важнейшим из белков свертывания крови, но также источником образования фибринопептидов, обладающих противовоспалительной активностью.

Церулоплазмин является поливалентным окислителем (оксидазой), он инактивирует супероксидные анионные радикалы, образующиеся при воспалении, защищая тем самым биологические мембраны.

Гаптоглобин не только способен связывать гемоглобин с образованием комплекса, обладающего пероксидазной активностью, но достаточно эффективно ингибирует катепсины С, В и L. Гаптоглобин может участвовать в утилизации некоторых патогенных бактерий, и в будущем предполагается его использование для лечения некоторых инфекций.

Целый ряд белков острой фазы обладает антипротеазной активностью. Это  $\alpha_1$ -ингибитор протеиназ ( $\alpha_1$ -антитрипсин), антихимотрипсин,  $\alpha_2$ -макроглобулин. Их важная функция состоит в ингибировании активности эластазоподобных и химотрипсиноподобных протеиназ, поступающих из гранулоцитов в воспалительные экссудаты и вызывающих вторичное повреждение тканей. Для начальных стадий острого воспаления обычно характерно снижение уровней ингибиторов, вслед за этим происходит повышение концентрации, связанное с увеличением синтеза этих белков. Снижение уровней ингибиторов протеиназ при септическом шоке или остром панкреатите является плохим прогностическим признаком. Специфические ингибиторы протеолитических каскадных систем, комплемента, коагуляции и фибринолиза регулируют изменение активности этих важнейших биохимических путей в условиях воспаления.

#### Определение белков острой фазы

В первую очередь, необходим количественный анализ концентрации белка. Диагностическая значимость белков ОФ состоит именно в возможности уловить изменение их концентраций в зависимости от стадии заболевания, эффективности (или, напротив, неэффективности) лечения, массивности поражения, что возможно только при условии количественного измерения.

Также очевидно, если требуется измерение динамики концентраций белков в процессе заболевания, то метод должен тиражироваться и хорошо воспроизводиться, чтобы позволять получать сравнимые результаты.

Безусловно, по этой же причине тесты на белки ОФ должны быть доступны и экономичны в плане трудоемкости и стоимости.

Чувствительность метода должна быть адекватной для исследования белков ОФ. Из таблицы видно, что диапазон диагностически значимых концентраций большинства белков ОФ измеряется десятками-сотнями мг/л, поэтому для их определения должны использоваться не высокочувствительные, но высокоспецифичные количественные методы.

Основные методы, отвечающие всем перечисленным условиям, которые следует использовать для определения белков ОФ, представлены ниже.

1. Инструментальные: нефелометрия, иммунотурбидиметрия. Эти два метода примерно равноценны по чувствительности, специфичности, трудоемкости и стоимости, поэтому выбор между ними, как правило, определяется обеспеченностью соответствующими приборами и высокоспецифичными наборами реагентов. Серийность и автоматизация исследований делают данные методы оптимальными для больших и средних лабораторий, выполняющих десятки и сотни анализов в день.

2. Методы, не требующие оборудования. *Радиальная иммунодиффузия*: полностью готовые к употреблению иммунодиффузионные планшеты позволяют проводить количественный анализ С-реактивного белка и других белков ОФ без приборов и дополнительных реагентов. Они рекомендованы для небольших лабораторий, выполняющих ограниченное число исследований (от одного до 20 анализов) в день.

*Латекс-агглютинация* может использоваться как быстрый полуколичественный метод определения С-реактивного белка. Его назначение - скрининг повышенных концентраций, после чего следует перейти к мониторингу с использованием количественных методов.

1. *Белки ОФ при остром заболевании*. Во всех случаях следует определять С-реактивный белок, концентрация которого повышается уже спустя 6-8 ч после начала заболевания и при отсутствии лечения достигает максимума на 2-3-и сутки. Наиболее высокие уровни СРБ наблюдаются при бактериальной инфекции (100 мг/л и выше). При эффективной терапии концентрация СРБ снижается уже на следующий день, если же этого

не происходит, то с учетом изменений уровней СРБ решается вопрос о выборе необходимого антибактериального лечения.

При вирусной инфекции концентрация СРБ может повышаться лишь незначительно (меньше 20 мг/л), что используется для дифференцирования вирусной инфекции от бактериальной. Это имеет решающее значение у детей с менингитом: обнаружение СРБ в концентрации выше 20 мг/л является безусловным основанием для начала антибиотикотерапии.

При нейтропении у взрослого пациента обнаружение СРБ более 10 мг/л может оказаться единственным объективным указанием на наличие бактериальной инфекции и необходимость применения антибиотиков.

Если в последующие 4-5 дней после хирургической операции концентрация СРБ продолжает оставаться высокой (или увеличивается), это указывает на развитие осложнений (пневмонии, тромбоза, раневого абсцесса).

*2. Белки ОФ при сопутствующей бактериальной инфекции.* При любых заболеваниях либо после операции присоединение бактериальной инфекции, будь то местный процесс или сепсис, сопровождается повышением уровней белков ОФ.

*3. Белки ОФ при некрозе тканей.* Некроз тканей вызывает острофазный ответ, аналогичный таковому при бактериальной инфекции. Это возможно при инфаркте миокарда, опухолевом некрозе тканей почки, легкого, толстого кишечника. Если обнаруживается повышение концентрации белков ОФ, но не удается выявить явных признаков воспаления, то нужно обследовать больного на наличие злокачественного заболевания.

*4. Применение белков ОФ для контроля эффективности лечения хронических заболеваний.* Существует корреляция между активностью воспаления, массивностью повреждения тканей и концентрацией белков ОФ. При этом следует измерять в динамике концентрацию нескольких белков ОФ, что позволит быстро улавливать ответ на лечение.

*Системные ревматические заболевания.* Резко увеличиваются концентрации целого спектра белков ОФ при ревматоидном артрите, очень чувствительны эти тесты при уменьшении активности и эффективном лечении. При системном васкулите контроль уровня СРБ используется как объективный тест, позволяющий минимизировать дозы стероидов.

*Воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта.* Болезнь Крона сопровождается сильным острофазным ответом, при неспецифическом язвенном колите он незначителен. При функциональных расстройствах обычно концентрация белков ОФ не увеличена.

При *злокачественных опухолях* возможны различные изменения концентраций белков ОФ, так как это зависит от присоединения инфекции, некроза тканей, нарушения функций органов вследствие возникновения непроходимости респираторных путей или желудочно-кишечного тракта, влияния иммуносупрессии и химиотерапии. Массивный острофазный ответ наблюдается при некрозе солидных опухолей. Лимфомы, напротив, редко сопровождаются тканевым некрозом и изменением спектра белков плазмы. При миеломе возможен очень сильный острофазный ответ, индуцированный повышенным синтезом ИЛ-6 опухолевыми клетками, что является плохим прогностическим признаком.

*Вторичный амилоидоз.* Повышение концентрации СРБ коррелирует с развитием почечных осложнений.

*Отторжение трансплантата.* При отторжении сердечного аллотрансплантата концентрация СРБ не является хорошим тестом, но коррелирует с развитием инфекционных осложнений. А вот при отторжении почечного трансплантата острофазный ответ является одним из ранних индикаторов отторжения.

Неоптерин. Неоптерин является промежуточным продуктом в синтезе биоптерина, участвующего в активации лимфоцитов. Неоптерин впервые был обнаружен в личинках пчел, в рабочих пчелах и в маточном молочке пчел.

Иммунная реакция сопровождается значительным увеличением концентрации неоптерина. Это предшествует появлению клинических симптомов и выработке антител при ряде инфекционных заболеваний, что важно для ранней диагностики ВИЧ-инфекции, латентно протекающих вирусных гепатитов. Определение неоптерина используют для клинической оценки иммуномодуляторов (интерферонов, интерлейкинов, фактора некроза опухоли), особенно в онкологии, а также при трансплантациях, так как повышенный уровень неоптерина наблюдается за 1-2 дня до обострения инфекций и отторжения трансплантата.

Определение концентрации отдельных цитокинов не позволяет оценить состояние клеточного иммунитета. Это связано с коротким периодом полужизни цитокинов, которые связываются со специфическими рецепторами, представленными на клетках-мишенях или циркулирующими в растворимой форме. Кроме того, биологический эффект одного цитокина, как правило, реализуется совместно с действием других, поэтому концентрация отдельных цитокинов свидетельствует только о взаимодействии между ними и иммунокомпетентными клетками. В связи с этим для оценки клеточного звена иммунного ответа наибольший интерес представляет определение биологически инертного продукта - неоптерина. Его концентрация в крови отражает совместное действие различных цитокинов на популяцию моноцитов/ макрофагов, стимулированных IFN $\gamma$ .

Определение уровня неоптерина может оказаться полезным для скрининга донорской крови с целью повышения ее инфекционной безопасности, а также играет важную роль для диагностики многих патологических состояний:

- при обследовании в отделениях интенсивной терапии пациентов с травмами;
- для прогноза течения ВИЧ-инфекции;
- для раннего выявления осложнений у реципиентов после трансплантации различных органов;
- для изучения активности аутоиммунной патологии;
- для диагностики вирусных инфекций;
- при дифференциальной диагностике острых вирусных и бактериальных инфекций;
- для прогнозирования и мониторинга течения злокачественных заболеваний;
- при контрольных обследованиях пациентов с хроническими заболеваниями;
- для оценки эффективности иммуностимулирующей терапии.

MRP8/14 (кальпротектин; родственный MIF белок). MRP8 и

MRP14 - белки, продуцируемые нейтрофилами в стадии покоя, кератиноцитами, инфильтрированной тканью, макрофагами, эпителиальными клетками при активном воспалительном процессе. Фагоциты экспрессируют как MRP8-, так и MRP14-антигены. Два белка формируют кальцийзависимые гомоили гетерокомплексы, разные по составу. Гетерокомплекс MRP8/14 также называют кальпротектином или L1-протеином. Помимо антибактериальной активности и участия в транспорте жирных кислот, MRP8/14 является сильным хемоаттрактантом для нейтрофилов и моноцитов. Кальпротектин - это повсеместно встречающийся воспалительный маркер. Возможно изучение его уровня как в дифференциальной диагностике (например, при воспалительных заболеваниях кишечника), так и при мониторинге эффективности терапии (множественный склероз).

Кателицидины - семейство антимикробных белков, главным образом обнаружены в пероксидаза-отрицательных гранулах нейтрофилов. Эти соединения синтезируются в виде препробелков. Человеческий катионный антимикробный белок (hCAP)18 является на

сегодняшний день единственным идентифицированным человеческим кателицидином. Он также присутствует в субпопуляциях лимфоцитов и моноцитов, в сквамозном эпителии (рта, языка, пищевода, шейки матки и влагалища), пульмонарном эпителии, кератиноцитах во время воспалительных кожных заболеваний и при эпидидимите. Показано, что антибактериальный С-концевой hCAP18, LL37 (37 аминокислот) проявляет антимикробную активность, как против грамотрицательных, так и против грамположительных бактерий.

Этот кателицидин оказывает синергический антибактериальный эффект с дефензинами. Например, установлено, что нормальное содержание LL37 в плазме крови составляет 1,2-1,8 пг/мл. Во время инфекционных заболеваний концентрация этого белка повышается.

Циркулирующие иммунные комплексы C1q (ЦИК-C1q) и C3 (ЦИКС3). Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) - комплексы, состоящие из антигена, антител и связанных с ними компонентов комплемента C3, C4, C1q. В норме иммунные комплексы образуются в кровотоке, фагоцитируются и разрушаются как фагоцитами, так и печенью. Однако при увеличении их размера (при избытке антигена и наличии в их структуре IgM, C1q-компонента комплемента) комплексы могут откладываться в периваскулярном пространстве и корковом слое почек, вызывая активацию комплемента и воспалительные процессы. Формирование циркулирующих иммунных комплексов представляет собой физиологический механизм защиты, приводящий к быстрому устранению либо эндогенных, либо экзогенных антигенов (например, микроорганизмы, вирусы, паразиты, растительные антигены, антигены грибов, пыльцы или пищевых продуктов) через ретикулоэндотелиальную систему. Патологические реакции на иммунные комплексы могут быть обусловлены повышением скорости их образования над скоростью элиминации, дефицитом одного или нескольких компонентов комплемента или функциональными дефектами фагоцитарной системы.

При многих воспалительных и злокачественных заболеваниях ЦИК найдены в повышенной концентрации в сыворотке и/или в других биологических жидкостях, что может стать причиной развития патологии. Определение ЦИК в сыворотке крови - важный маркер для оценки активности заболевания, а также основной показатель для изменения терапии, особенно при аутоиммунных болезнях.

Этот кателицидин оказывает синергический антибактериальный эффект с дефензинами. Например, установлено, что нормальное содержание LL37 в плазме крови составляет 1,2-1,8 пг/мл. Во время инфекционных заболеваний концентрация этого белка повышается.

Циркулирующие иммунные комплексы C1q (ЦИК-C1q) и C3 (ЦИКС3). Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) - комплексы, состоящие из антигена, антител и связанных с ними компонентов комплемента C3, C4, C1q. В норме иммунные комплексы образуются в кровотоке, фагоцитируются и разрушаются как фагоцитами, так и печенью. Однако при увеличении их размера (при избытке антигена и наличии в их структуре IgM, C1q-компонента комплемента) комплексы могут откладываться в периваскулярном пространстве и корковом слое почек, вызывая активацию комплемента и воспалительные процессы. Формирование циркулирующих иммунных комплексов представляет собой физиологический механизм защиты, приводящий к быстрому устранению либо эндогенных, либо экзогенных антигенов (например, микроорганизмы, вирусы, паразиты, растительные антигены, антигены грибов, пыльцы или пищевых продуктов) через ретикулоэндотелиальную систему. Патологические реакции на иммунные комплексы могут быть обусловлены повышением скорости их образования над скоростью элиминации, дефицитом одного или нескольких компонентов комплемента или функциональными дефектами фагоцитарной системы.

При многих воспалительных и злокачественных заболеваниях ЦИК найдены в повышенной концентрации в сыворотке и/или в других биологических жидкостях, что может стать причиной развития патологии. Определение ЦИК в сыворотке крови - важный маркер для оценки активности заболевания, а также основной показатель для изменения терапии, особенно при аутоиммунных болезнях.

В течение последних нескольких лет был описан ряд различных методов для определения ЦИК. Эти методы показывают существенную вариабельность в специфичности, чувствительности, достоверности за счет гетерогенности циркулирующих иммунных комплексов. Определение количества ЦИК основано на их способности связываться с C1q-компонентом комплемента, сорбированным в ячейках микропланшета. В дальнейшем комплексы ЦИК-C1q, связанные с твердой фазой, детектируются специфически с помощью ферментного конъюгата, взаимодействующего с Fc-фрагментом IgG в составе иммунных комплексов.

Пероксиды. Свободные радикалы участвуют в патогенезе более чем 100 заболеваний человека - от ревматоидного артрита, гепатита, инфаркта миокарда и других до СПИДа. Свободным радикалом является молекула, содержащая один или более неспаренных электронов, например супероксид, гидроксил. Свободные радикалы - крайне активные молекулы, способные вызвать повреждение и гибель клеток. К типичным клеточным компонентам, повреждаемым свободными радикалами, относятся полиненасыщенные жирные кислоты клеточных мембран, ферменты, белки мембраны клетки, транспортирующие ионы, ДНК. Каждый свободный радикал, образовавшийся в организме, может инициировать серию цепных реакций, которые идут до тех пор, пока не будут удалены свободные радикалы. Свободные радикалы исчезают из организма при реакциях с другими радикалами, или, что наиболее важно, под действием антиоксидантной системы. Супероксиддисмутаза, каталаза, восстановленный глутатион, глутатионпероксидаза, витамины С и Е и другие входят в антиоксидантную систему. При развитии недостаточности одного или нескольких звеньев антиоксидантной системы ткани утрачивают защиту от действия свободных радикалов, что приводит к повреждению тканей и органов и развитию заболевания. Для оценки состояния антиоксидантной системы определяют общую антиоксидантную активность, что позволяет выявлять лиц с повышенным риском развития таких заболеваний, как рак, болезни сердца, сахарный диабет, ретинопатия и другие, проводить мониторинг течения заболевания и эффективности применяемой терапии, обосновывать применение в комплексном лечении большого антиоксидантов, оценивать эффективность лечебного диетического, парентерального и зондового питания для выяснения того, какая пища наиболее полезна для повышения антиоксидантного статуса больного.

Хемокины. Это группа хемотаксических гепаринсвязывающих молекул, в которую входят не менее 25 низкомолекулярных цитокинов, в частности ИЛ-8, RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MCP-1 и др. Хемокины высвобождаются в очаге воспаления и могут связываться на поверхности эндотелия, взаимодействуя с сульфатными группами присутствующего на нем гепарина. Связанные с поверхностью эндотелия хемокины могут вызывать повышение адгезии интегринов на лейкоцитах в фазе «краевого стояния», остановленных при участии селектинов. Большинство хемокинов синтезируется лейкоцитами, однако ИЛ-8 и MCP-1 продуцирует, например, клетки эндотелия, причем активация этих клеток цитокинами, способствующими развитию воспаления, усиливает синтез. Хемокины воздействуют на клетки посредством рецепторов, обладающих семью трансмембранными сегментами. Рецепторы разной специфичности избирательно распределены среди отдельных популяций лейкоцитов, чем отчасти можно объяснить избирательность действия различных хемокинов, например тот факт, что MIP-1 $\beta$  стимулирует исключительно Т-клетки CD8<sup>+</sup>. Некоторые хемокины только активируют клетки, другие проявляют в первую очередь хемотаксические свойства, третьи сочетают обе функции.

Цитокины. Подобно другим медиаторам, цитокины служат для межклеточной сигнализации при развитии воспалительного процесса. На его начальных стадиях местные тканевые клетки могут выделять такие цитокины, как IL-1 и IL-6. Как только в очаге воспаления появляются лимфоциты и мононуклеарные фагоциты, они могут, активируясь под действием антигена, выделять свои собственные цитокины (IL-1, TNF $\alpha$ , IL-4, INF $\gamma$ ), которые, воздействуя на эндотелий местных сосудов, дополнительно усиливают клеточную миграцию. Другие цитокины, например IL-8, могут оказывать хемотаксическое или активирующее действие на прибывающие клетки. На кинетику острофазного ответа при обострении различных заболеваний оказывают влияние тяжесть и длительность заболевания, наличие осложнений. Длительная циркуляция и гиперпродукция цитокинов в крови имеют неблагоприятное прогностическое значение. Отмечается прямая корреляционная зависимость между повышением острофазных белков и цитокинов. Более подробно роль цитокинов в противоинфекционной защите макроорганизма рассматривается в подразделе 1.4.

Эндогенные антимикробные пептиды являются важной составляющей защитной системы эукариотического организма, которая обеспечивает неиммунную защиту против патогенов. Антимикробные пептиды - эффекторные молекулы врожденного иммунитета, которые вызывают лизис микроорганизмов. Они эффективны против широкого спектра бактерий, грибов и вирусов. Действие небольших антимикробных пептидов главным образом приводит к нарушению структуры и функций цитоплазматической мембраны микроорганизмов, что, в свою очередь, ведет к гибели последних. Антимикробные пептиды функционируют не только в качестве эндогенных антибиотиков, они также играют важную роль в развитии процессов воспаления, поддержании и регуляции адаптивной иммунной системы. У человека обнаружено три семейства пептидов-антибиотиков - дефензины, кателицидины и гистатины.

Определение антимикробных пептидов может быть полезно в клинической лабораторной практике как маркер системной активации нейтрофилов, при мониторинге течения инфекционных и воспалительных заболеваний. Область применения - клиническая иммунология, лабораторная диагностика, научные исследования.

Дефензины представляют собой небольшие катионные пептиды, которые воздействуют на микроорганизмы путем нарушения проницаемости мембран, образуя ионные каналы. Среди дефензинов млекопитающих выделяют две основные группы: альфа- и бета-дефензины.

*Альфа-дефензины* (HNP1-4) синтезируют и содержат в азурофильных гранулах нейтрофилы. Три основных человеческих дефензина, HNP1-3, составляют приблизительно 99% общего содержания дефензинов в клетках нейтрофилов. HNP1-3 отсутствуют в других субпопуляциях лейкоцитов, что позволяет их считать специфическими клеточными маркерами нейтрофилов. Активация нейтрофилов приводит к быстрому высвобождению из них дефензинов, которые затем могут быть обнаружены в плазме и других жидкостях организма во время инфекционных и воспалительных процессов. В нормальной плазме наблюдается очень низкий уровень HNP (от неопределяемых величин до 50-100 нг/мл), однако в условиях сепсиса содержание HNP может возрасти до 10 мг/мл и даже выше. При определении HNP очень важна осторожность в отборе проб плазмы, потому что активация нейтрофилов во время свертывания крови, как и долгое хранение антикоагулированной крови, приводит к высвобождению HNP. Дефензины нейтрофилов ( $\alpha$ -дефензины) в дополнение к микробицидному действию проявляют также хемотаксическую, иммуномодулирующую и цитотоксическую активность, вносят вклад в общую защиту организма и развитие процессов воспаления. Совсем недавно была открыта антивирусная активность некоторых дефензинов. Считается, что  $\alpha$ -дефензины (HNP 1-3) вносят серьезный вклад в антиВИЧ-1 активность антивирусного фактора CD8-лимфоцитов. Это обстоятельство открывает новые возможности в исследовании ВИЧ.

*Бета-дефензины* изначально были открыты в эпителиальных клетках дыхательного тракта. У человека конститутивно экспрессируется  $\beta$ -дефензин 1 (hBD-1), в то время как человеческий  $\beta$ -дефензин 2 (hBD-2) является индуцибельным продуктом. Таким образом, hBD-2 принадлежит к локальной системе защиты эпителия; hBD-2 и hBD-3 также индуцируются кожным эпителием в течение воспаления.

Бактерицидный белок, повышающий проницаемость клеток (BPI), синтезируется полиморфонуклеарными лейкоцитами (PMN). BPI способен связываться с бактериальными липополисахаридами (ЛПС) и быстро высвобождается из полиморфонуклеарных лейкоцитов в ответ на появление ЛПС.

Секреторный ингибитор протеиназы лейкоцитов (SLPI), также известный как антилейкопротеаза (ALP), представляет собой катионный ингибитор эластазы нейтрофилов и в меньшей степени катепсина G. Молекулярная масса SLPI составляет 11,7 кДа. Этот белок синтезируется эпителиальными клетками легких, кожи и других органов, а также полиморфонуклеарными лейкоцитами и макрофагами. В дополнение к своим ингибиторным свойствам SLPI может участвовать в защите от протеолитических повреждений. Не так давно было показано, что SLPI может проявлять антимикробную и противовоспалительную активность, что, скорее всего, не связано с его способностью ингибировать PMN сериновые протеиназы. Установлено, что SLPI обнаруживает антибактериальную и антигрибковую активность в тех концентрациях, в которых это соединение присутствует в мукозных секретах, синтезируемых, в частности, легкими. Предполагается, что SLPI играет важную роль в ингибировании протеин-дисульфидной изомеразы, что очень существенно при инфицировании клеток вирусом ВИЧ.

Элафин относится к эпителиальным ингибиторам протеиназ. Это соединение также известно под рядом других названий, таких как SKALP и эластаза-специфический ингибитор (ESI). Предполагается, что он играет важную роль в регуляции процессов воспаления и в защите от тканевых повреждений в многослойном эпителии. Элафин ингибирует лейкоцитарную эластазу и протеиназу-3 и в дополнение к этому служит субстратом для трансглутаминаз. SKALP конститутивно синтезируется в различных видах эпителия, включая волосяные фолликулы, эпителий пищевода, влагалища и полости рта. У человека в нормальных клетках кожи элафин отсутствует, однако он быстро индуцируется во время воспалительных процессов, таких как псориаз и заживление ран. Пре-элафин или Trappin-2 представляет собой белок с молекулярной массой 12,3 кДа, содержащий 117 аминокислот. Расщепление сигнального пептида приводит к образованию зрелого белка с молекулярной массой 9,9 кДа. Секретируемый белок с молекулярной массой 9,9 кДа является основной формой, обнаруживаемой в культуральной среде. В экстрактах кожи присутствует форма с молекулярной массой 6 кДа, которая включает в себя 57 большей частью C-концевых аминокислот.

В сыворотке представлены обе формы (9,9 и 6 кДа). В моче обнаружена только короткая форма с молекулярной массой 6 кДа. Пре-элафин может использоваться в качестве маркера при мониторинге лечения псориаза циклоспорином. В сыворотке/плазме здоровых индивидуумов содержится около 10-50 нг/мл элафина. При псориазе наблюдается 10-кратное увеличение концентрации пре-элафина. Совсем недавно было показано, что элафин также обладает антимикробной активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Эластаза нейтрофилов - основная сериновая протеиназа человека, главным образом присутствует в азурофильных гранулах нейтрофилов. Этот фермент способен расщеплять широкий спектр субстратов экстрацеллюлярного матрикса, включая эластин, протеогликаны, коллаген и фибронектин. Действие эластазы контролируется ингибиторами сериновых протеиназ, в том числе элафином/SKALP и SLPI, которые присутствуют в экстрацеллюлярных жидкостях. Как только эластаза высвобождается из клеток во время



воспалительных процессов, она быстро связывается с двумя своими основными ингибиторами,  $\alpha_1$ -Р1и  $\alpha_1$ -макроглобулинами, формируя при этом комплексы эластаза-ингибитор. В дополнение к указанному, выделения слизистых могут содержать локально секретируемые ингибиторы эластазы (элафин/SKALP и SLPI). В то же время эластаза, секретируемая в очагах воспаления, может вызывать серьезные повреждения тканей. Считается, что эта протеиназа играет важную роль в развитии разнообразных воспалительных нарушений, включая эмфизему легких, сепсис, артриты, нефриты и некоторые заболевания кожи. В человеческом бронхоэпителии эластаза индуцирует синтез интерлейкина IL-8, причем этот процесс отчасти происходит через TLR4. В плазме крови здоровых индивидуумов обычно содержится приблизительно 55 нг/мл (29-86 нг/мл) эластазы.

Эндотоксины, как и другие микробные токсины, участвуют не только в развитии инфекционных заболеваний, но и в ряде других патологических процессов, таких как, например, атеросклероз. Недавнее открытие роли толл-подобных рецепторов в иммунном ответе дало мощный толчок к усиленному изучению механизмов врожденного иммунного ответа на бактериальные токсины. Этому также способствовало и выявление участия в острой фазе отклика LPS-связывающих белков, таких как LBP и SAA. Другими важными белками, вовлеченными во взаимодействие с эндотоксинами, общепризнанно считаются BPI, CD14 и антимикробные пептиды.

Липополисахариды (LPS), также называемые эндотоксинами, относятся к высокотоксичным компонентам клеточной стенки патогенных грамотрицательных бактерий. Большинство животных, включая человека, реагируют на присутствие LPS в крови возникновением острых лихорадочных состояний и воспалений. Вследствие того, что организм реагирует на присутствие LPS так же, как и на сами бактерии, значительное число исследователей заняты изучением патологий, вызываемых липополисахаридами. Так, например, инъекция липополисахаридов мышам или обезьянам вызывает состояния, сопоставимые с острым септическим шоком, наблюдаемым у пациентов.

К настоящему времени известен целый ряд нативных LPS-связывающих белков, которые способны взаимодействовать с LPS и нейтрализовать их токсическое воздействие. Эти соединения имеют большую клиническую значимость.

Белок, связывающий липополисахариды (LBP), представляет собой белок острой фазы с молекулярной массой приблизительно 60 кДа, который продуцируют гепатоциты и энтероциты. Этот белок прочно связывается с LPS и, как было показано, играет важную роль в отношениях между LPS и организмом. Известно, что LBP выполняет целый ряд функций. Так, LBP переносит LPS на CD14 мононуклеарных фагоцитов, что, в свою очередь, приводит к увеличению чувствительности клеток к LPS в 100-1000 раз. Более того, LBP способен усиливать отклик CD14-негативных клеток путем акселерации связывания LPS с растворимым CD14. Образующийся при этом комплекс стимулирует клетки. И, наконец, LBP катализирует взаимодействие LPS и липопротеидов, что позволяет эффективно нейтрализовать их биологическую эффективность. Так, показано, что LBP предотвращает развитие у мышей септического шока, вызванного LPS грамотрицательных бактерий.

#### 1.4. ЦИТОКИНЫ

Цитокины - это продуцируемые клетками белково-пептидные факторы, осуществляющие короткодистантную регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий. Цитокины определяют выживаемость клеток, стимуляцию или ингибирование их роста, дифференцировку, функциональную активацию и апоптоз клеток. Способность регулировать перечисленные функции обусловлена тем, что после взаимодействия цитокинов с комплементарными рецепторами на поверхности клеток сигнал

через элементы внутриклеточной трансдукции передается в ядро, где активируются соответствующие гены. Белки, продукты активированных цитокинами генов, продуцируются клетками и регулируют перечисленные выше процессы.

Цитокины - гормоноподобные молекулы, действие которых на клетку-мишень опосредуется высокоспецифичными высокоаффинными мембранными рецепторами. Все рецепторы цитокинов представляют собой трансмембранные гликопротеины, у которых внеклеточная часть отвечает за связывание цитокина. Как правило, эти рецепторы состоят более чем из одной субъединицы, причем высокоаффинное связывание является следствием взаимодействия с разными субъединицами, каждая из которых сама способна связывать соответствующий цитокин, но с более низкой аффинностью. Нередко на клетках-мишенях цитокинов обнаруживаются несколько типов центров связывания, различающихся аффинностью к цитокину. Все рецепторы цитокинов представляют собой трансмембранные гликопротеины, у которых внеклеточная часть отвечает за связывание цитокина. В составе клеточных мембран одни цепи реагируют только с определенным цитокином, в то время как другие способны формировать общие рецепторы для разных цитокинов. Наличие общих структур в рецепторах может обуславливать функциональное сходство ряда цитокинов. Кроме того, существуют общие групповые рецепторы, способствующие устранению избытка цитокинов в очаге поражения. Синтез рецепторов протекает более интенсивно и длительно, чем синтез соответствующих цитокинов, что обуславливает их более полную и быструю элиминацию из сосудистого русла и реализацию биологического эффекта в очаге поражения. Растворимый рецептор, связывающийся с цитокином, - это отщепленный ферментом внеклеточный домен мембранного рецептора. Растворимые рецепторы сохраняют высокую аффинность в отношении своих лигандов и благодаря этому способны нейтрализовать цитокины, препятствуя их доступу к интактным мембранным рецепторам; их можно обнаружить в сыворотке крови и моче. Растворимые рецепторы могут выполнять функции конкурирующих антагонистов, а также участвовать в транспорте, доставке цитокинов в очаг поражения и выведении их из организма.

В отличие от классических гормонов, большинство цитокинов является молекулами локального (паракринного) действия. Они продуцируются и утилизируются клетками, находящимися в тесной близости.

Возможно и аутокринное действие цитокинов, т. е. действие на ту же клетку, которая секретировала данный цитокин. После выделения клетками-продуцентами цитокины имеют короткий период полувыведения из кровотока. До 50% циркулирующих цитокинов интернализуется в течение 30 мин. Выведение катаболизированных цитокинов из организма осуществляется печенью и почками. Несмотря на короткий период жизни цитокинов, в сыворотках крови даже здоровых доноров иногда определяются низкие уровни цитокинов. Секреция цитокинов - краткосрочный процесс. Кодирующая цитокины мРНК нестабильна, что в сочетании с краткосрочностью транскрипции генов цитокинов приводит к краткосрочности их биосинтеза.

К системе цитокинов в настоящее время относят около 200 индивидуальных полипептидных веществ. К цитокинам относятся интерфероны, колониестимулирующие факторы, интерлейкины, хемокины, трансформирующие ростовые факторы, группа фактора некроза опухолей и некоторые другие. К общим главным свойствам цитокинов, объединяющим их в самостоятельную систему регуляции, относятся плейотропизм и взаимозаменяемость биологического действия, индуцибельный (в основном) характер синтеза, отсутствие антигенной специфичности действия, саморегуляция продукции и формирование цитокиновой сети. Биологические эффекты цитокинов опосредуются через специфические клеточные рецепторные комплексы. Цитокины в первую очередь регулируют развитие местных защитных реакций в тканях с участием различных типов клеток крови, эндотелия, соединительной ткани и эпителиев. В рамках иммунной системы цитокины осуществляют взаимосвязь между неспецифическими защитными реакциями и

специфическим иммунитетом, действуя в обоих направлениях. На уровне организма цитокины осуществляют связь между иммунной, нервной, эндокринной, кроветворной и другими системами и служат для их вовлечения в организацию и регуляцию защитных реакций.

Цитокины могут быть выделены в новую самостоятельную систему регуляции основных функций организма, существующую наряду с нервной и эндокринной системами регуляции и связанную, в первую очередь, с поддержанием гомеостаза при внедрении патогенов и развитием инфекционного процесса.

Среди всех известных к настоящему времени секретируемых клетками регуляторных факторов две группы цитокинов являются наиболее хорошо изученными и, в связи с этим, наиболее часто используемыми в диагностических целях. Это факторы роста и цитокины иммунной системы (ИС). Цитокины ИС характеризуются следующими общими свойствами.

- Являются полипептидами или белками, часто гликозилированными, с молекулярной массой от 5 до 50 кДа. Для сравнения: молекулярная масса IgG составляет 160 кДа.

- Не имеют антигенной специфичности биологического действия. Они влияют на функциональную активность клеток, принимающих участие в реакциях врожденного и приобретенного иммунитета. Тем не менее, воздействуя на Т- и В-лимфоциты, цитокины способны стимулировать антигензависимые процессы в иммунной системе.

- Синтез цитокинов является индуцибельным процессом. Большинство цитокинов не синтезируется клетками вне воспалительной реакции и иммунного ответа. Экспрессия генов цитокинов начинается в ответ на проникновение в организм патогенов, антигенное раздражение или повреждение тканей. Одними из наиболее сильных индукторов синтеза цитокинов служат компоненты клеточных стенок бактерий: липополисахариды, пептидогликаны и мурамилдипептиды.

- Один и тот же цитокин может продуцироваться различными по гистогенетическому происхождению типами клеток организма в разных органах.

- Биологические эффекты цитокинов опосредуются через специфические клеточные рецепторные комплексы, связывающие цитокины с очень высокой аффинностью. Каждый цитокин связывается со своим специфическим рецепторным комплексом.

Помимо этого, цитокины:

- могут влиять на пролиферацию, дифференцировку и функциональную активность клеток-мишеней;

- определяют выживаемость клеток, стимуляцию или ингибирование их роста, дифференцировку, функциональную активацию и апоптоз клеток;

- синтезируются в процессе реализации механизмов естественного или специфического иммунитета;

- проявляют свою активность при очень низких концентрациях (порядка  $10^{-11}$  моль/л);

- служат медиаторами иммунной и воспалительной реакций и обладают аутокринной, паракринной и эндокринной активностью;

- действуют как факторы роста и факторы дифференцировки клеток (при этом вызывают преимущественно медленные клеточные реакции, требующие синтеза новых белков);

- образуют регуляторную сеть, в которой отдельные элементы оказывают синергическое или антагонистическое действие;

- обладают плейотропной (полифункциональной) активностью. Эффекторные свойства цитокинов можно представить на примере TNF $\alpha$  (рис. 1.4).

Классификация цитокинов может проводиться по их биохимическим и биологическим свойствам, а также по типам рецепторов, посредством которых цитокины осуществляют свои биологические функции. В зависимости от того, какие клетки ИС преимущественно синтезируют тот или иной цитокин, различают интерлейкины, монокины и лимфокины. В настоящее время 37 интерлейкинов имеют цифровые обозначения (IL-1-IL-37), остальные цитокины - буквенные: CSF (колониестимулирующие факторы), OSM (онкостатин М), LIF (фактор, ингибирующий лейкозные клетки), NGF (фактор роста нервов), CNTF (цилиарный нейротрофический фактор), TNF (фактор некроза опухолей), INF (интерфероны) и т. д. Цитокины ИС можно условно подразделить на четыре группы.

1. Гемопоэтические факторы (CSF-G, -M, -GM, IL-3 и IL-7, эритропоэтин) - стимуляторы роста и созревания незрелых кроветворных клеток.

2. Регуляторы естественного иммунитета - провоспалительные цитокины (IFN $\alpha$ ,  $\beta$ , IL-1 и IL-6, TNF $\alpha$ , хемокины - IL-8, MCP-1, RANTES и др.). Они участвуют в неспецифической защите организма от бактериальных и вирусных инфекций. Их основными мишенями являются клетки-фагоциты - макрофаги и гранулоциты.

3. Цитокины, регулирующие специфические иммунные реакции (IL-2 и IL-4, трансформирующий фактор роста - TGF $\beta$ , и др.). Эти белки участвуют в активации, росте и дифференцировке зрелых лимфоцитов.

4. Цитокины, регулирующие воспалительные реакции, развивающиеся в процессе специфического иммунного ответа (INF $\gamma$ , IL-5, IL-10 и др.). Их основная функция - активация неспецифических эффекторных клеток. Спектры биологической активности цитокинов ИС в значительной степени перекрываются: один и тот же процесс может стимулироваться в клетке более чем одним цитокином. Во многих случаях в действиях цитокинов наблюдается синергизм.

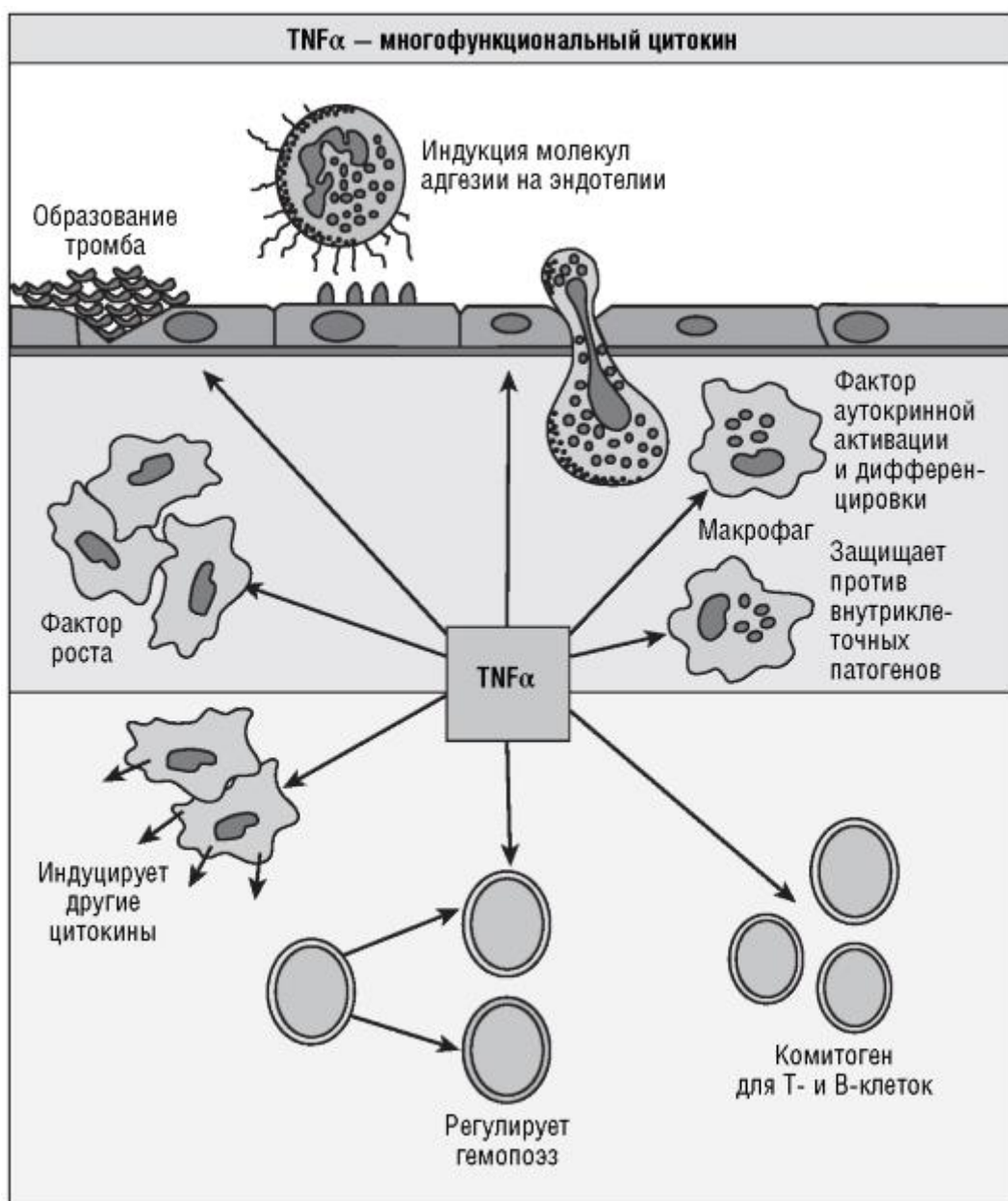


Рис. 1.4. Многофункциональные свойства TNF $\alpha$  в индукции воспаления, продукции других цитокинов и активации иммунокомпетентных клеток (по

Антигенная стимуляция Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007) приводит к секреции цитокинов «первого поколения» - IL-1 и IL-6, TNF $\alpha$ , которые индуцируют биосинтез центрального регуляторного цитокина IL-2, а также IL-3, 4, 5, INF $\gamma$  и др. В свою очередь, цитокины «второго поколения» влияют на биосинтез ранних цитокинов. Такой принцип действия позволяет не только регулировать иммунный ответ, но и амплифицировать его, вовлекая в реакцию все возрастающее число клеток. IL-2 появляется в цитоплазме Т-клеток через 2 ч после стимуляции; IL-4 через 4 ч, IL-10 через 6 ч, IL-9 через 24 ч. Пик выработки различных лимфокинов варьируется: 12 ч для IL-2, 48 ч для IL-4 и IL-5, 72 ч для IL-9 и INF $\gamma$ .

Основными клетками-продуцентами цитокинов ИС являются Тхелперы и макрофаги, которые выполняют главные функции в поддержке приобретенного и врожденного иммунитета. Т-хелперы 1-го типа (Th1) продуцируют IL-2 и INF $\gamma$ , тогда как Т-хелперы 2-го типа (Th2) - IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 и IL-13. Th1 осуществляют хелперную функцию в формировании клеточного иммунитета, а Th2 - гуморального. Считается, что оба типа Т-хелперов образуются из ТН0, синтезирующих цитокины как Th1, так и Th2. Переход Th0 в Th1 опосредуется INF $\gamma$  и IL-12. Th2 образуются под воздействием IL-4, 5, 10, 13. Th1 и Th2

участвуют в различных ответных реакциях на патогенное воздействие инфекционных агентов. Это зависит от типа патогена и его локализации в клетке. Нарушение баланса цитокинпродуцирующей активности Th1 и Th2 играет значительную роль в развитии аутоиммунных состояний, хронизации, прогрессировании заболеваний. Если при инфекциях, вызванных внутриклеточными вирусами и микробами, произойдет переключение защитного клеточного иммунитета на гуморальный, то будет наблюдаться осложнение течения заболевания.

На поверхности лимфоцитов локализуются структурные молекулы, служащие маркерами клеток с определенными функциональными свойствами. В настоящее время разработана систематизированная номенклатура, включающая более 160 маркерных молекул, обозначаемых CD (кластер дифференцировки), реагирующих со специфическими моноклональными антителами. Субпопуляции лимфоидных клеток, их фенотип, обозначают: зрелые Т-лимфоциты - CD3, Th-CD4<sup>+</sup>, Т-цитотоксические - CD8<sup>+</sup>, клетки с рецептором к IL-2 (маркер активации) - CD25, клетки с признаками апоптоза - CD69, 95 и т. д.

Действие цитокинов тесно связано с физиологическими и патофизиологическими реакциями организма. При этом происходит модуляция как локальных, так и системных механизмов защиты. Одна из важнейших функций системы цитокинов - обеспечение согласованного действия иммунной, эндокринной и нервной систем в ответ на стресс. Усиление продукции определенных цитокинов воспаления или факторов, стимулирующих рост лимфоцитов, может лежать в основе некоторых заболеваний. В то же время снижение уровня ряда цитокинов также способно провоцировать заболевание.

Так, CSF играет ведущую роль в нормальном гемопоэзе, и уменьшение его продукции нарушает механизмы защиты против инфекций. Особенно большое значение цитокины имеют в формировании патогенеза опухолевых заболеваний иммунной системы. Эти заболевания развиваются из клеток основных продуцентов и/или потребителей цитокинов. Гены цитокинов сопряженно активируются с онкогенами при хромосомных абберациях и при ретровирусных инфекциях. Вследствие этого опухолевые клетки продуцируют цитокины, стимулирующие пролиферацию неопластических иммунокомпетентных клеток.

Поскольку цитокины являются локальными медиаторами, более целесообразно измерять их уровни в соответствующих тканях после экстракции тканевых протеинов или в естественных жидкостях, например в слезе, смывах из полостей, моче, спинномозговой жидкости и т. д. Уровни цитокинов в сыворотке или других биологических жидкостях отражают текущее состояние работы иммунной системы, т. е. синтез цитокинов клетками организма *in vivo*. Определение уровней продукции цитокинов мононуклеарами периферической крови (МПК) *in vitro* показывает функциональное состояние клеток. Спонтанная продукция цитокинов МПК в культуре свидетельствует, что клетки уже инактивированы *in vivo*. Индуцированный (различными стимуляторами, митогенами) синтез цитокинов отражает потенциальную, резервную способность клеток отвечать на антигенный стимул (в частности, на действие лекарственных препаратов). Сниженная индуцированная продукция цитокинов *in vitro* может служить одним из признаков иммунодефицитного состояния.

При оценке уровней цитокинов необходимо помнить, что цитокины являются антигеннеспецифическими факторами, поэтому специфическая диагностика инфекционных, аутоиммунных и аллергических заболеваний с помощью определения уровня тех или иных цитокинов невозможна. Тем не менее, изучение уровней цитокинов позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток; о тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и прогнозе; о соотношении процессов активации Т-хелперов 1-го и 2-го типов, что очень важно при дифференциальной диагностике ряда инфекционных и иммунопатологических процессов; о стадии развития ряда аллергических и аутоиммунных заболеваний.

Кроме того, определение уровней цитокинов используется при применении новых иммуномодулирующих препаратов на основе рекомбинантных цитокинов и их антагонистов для изучения фармакокинетики этих препаратов, а также их способности индуцировать синтез других цитокинов.

Интерлейкин 1 (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ). IL-1 представляет собой систему из трех молекул: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1R $\alpha$  (антагонист рецептора IL-1) и двух рецепторов IL-1R1 и IL-1RII. IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  кодируются разными (хотя и тесно сцепленными) генами и различаются по структуре. Гомология их белковой структуры составляет лишь 26%. Несмотря на незначительную гомологию, IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  конкурируют за один и тот же рецептор. Преобладающей формой IL-1 является IL-1 $\beta$ . Биологические свойства IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  очень сходны либо идентичны. IL-1 $\alpha$  активирует преимущественно Т-лимфоциты, оказывает аутокринное и паракринное действие, в то время как IL-1 $\beta$  - многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играет ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета, один из первых включается в ответную защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. Основные продуценты IL-1 $\beta$  - макрофаги и моноциты. В синтезе данного цитокина также могут принимать участие лимфоциты, фибробласты. Клетки-мишени - иммунокомпетентные, эндотелиальные, эпителиальные клетки, фибробласты и др. IL-1 $\beta$  инициирует и регулирует воспалительные, иммунные процессы, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, цитокинов (IL-2, -3, -6, TNF $\alpha$ ), молекул адгезии (Е-селектинов), прокоагулянтов, простагландинов. IL-1 $\beta$  повышает хемотаксис, фагоцитоз, гемопоэз, проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическую и бактерицидную активность, вызывает пирогенный эффект и др. IL-1 участвует в регуляции температуры тела, а его повышенная продукция приводит к развитию лихорадки. Известны факторы, снижающие биологическую активность IL-1. К ним, прежде всего, относят глюкокортикоиды и простагландины. Из экзогенных факторов следует указать на циклоsporин А. В сыворотке крови лиц, которым был введен эндотоксин, в моче лихорадящих больных, а также в культуральной жидкости моноцитов, активированных *in vitro*, может быть обнаружен полипептид, специфически снижающий активность IL-1. Повышение уровня IL-1 наблюдается при различных воспалительных и аутоиммунных заболеваниях, включая септический шок, воспалительное поражение кишечника, ревматоидный артрит, сахарный диабет 1-го типа. Сильное повышение уровня IL-1 приводит к гипотензии, анорексии, разрушению хрящей в суставах.

Кроме того, определение уровней цитокинов используется при применении новых иммуномодулирующих препаратов на основе рекомбинантных цитокинов и их антагонистов для изучения фармакокинетики этих препаратов, а также их способности индуцировать синтез других цитокинов.

Интерлейкин 1 (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ). IL-1 представляет собой систему из трех молекул: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1R $\alpha$  (антагонист рецептора IL-1) и двух рецепторов IL-1R1 и IL-1RII. IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  кодируются разными (хотя и тесно сцепленными) генами и различаются по структуре. Гомология их белковой структуры составляет лишь 26%. Несмотря на незначительную гомологию, IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  конкурируют за один и тот же рецептор. Преобладающей формой IL-1 является IL-1 $\beta$ . Биологические свойства IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  очень сходны либо идентичны. IL-1 $\alpha$  активирует преимущественно Т-лимфоциты, оказывает аутокринное и паракринное действие, в то время как IL-1 $\beta$  - многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играет ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета, один из первых включается в ответную защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. Основные продуценты IL-1 $\beta$  - макрофаги и моноциты. В синтезе данного цитокина также могут принимать участие лимфоциты, фибробласты. Клетки-мишени - иммунокомпетентные, эндотелиальные, эпителиальные клетки, фибробласты и др. IL-1 $\beta$  инициирует и регулирует воспалительные, иммунные процессы, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой

фазы, цитокинов (IL-2, -3, -6, TNF $\alpha$ ), молекул адгезии (E-селектинов), прокоагулянтов, простагландинов. IL-1 $\beta$  повышает хемотаксис, фагоцитоз, гемопоэз, проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическую и бактерицидную активность, вызывает пирогенный эффект и др. IL-1 участвует в регуляции температуры тела, а его повышенная продукция приводит к развитию лихорадки. Известны факторы, снижающие биологическую активность IL-1. К ним, прежде всего, относят глюкокортикоиды и простагландины. Из экзогенных факторов следует указать на циклоспорин А. В сыворотке крови лиц, которым был введен эндотоксин, в моче лихорадящих больных, а также в культуральной жидкости моноцитов, активированных *in vitro*, может быть обнаружен полипептид, специфически снижающий активность IL-1. Повышение уровня IL-1 наблюдается при различных воспалительных и аутоиммунных заболеваниях, включая септический шок, воспалительное поражение кишечника, ревматоидный артрит, сахарный диабет 1-го типа. Сильное повышение уровня IL-1 приводит к гипотензии, анорексии, разрушению хрящей в суставах.

Существует антагонист IL-1 - IL-1Ra, который выступает в качестве ингибитора и, видимо, является важным физиологическим регулятором экспрессии IL-1. IL-1Ra является мономерным гликозилированным белком с молекулярной массой 25 кДа, который продуцируется моноцитами и другими клетками. Он связывается с рецепторами IL-1 $\alpha$  с той же аффинностью, что IL-1, но не вызывает дальнейшего проведения внутриклеточного сигнала. *In vivo* баланс между IL-1 и IL-1Ra играет важную роль в защите организма от инфекции и ограничении дальнейшего повреждения пораженных тканей. Для инфекционных заболеваний максимальное повышение уровня IL-1Ra наблюдается при сепсисе. При этом повышенные концентрации IL-1Ra коррелируют с благоприятным прогнозом. Недостаточная продукция IL-1Ra значительно ухудшает тяжесть поражения тканей при болезни Лайма, туберкулезе, саркоидозе.

Предшественник интерлейкина-1 $\beta$  (пре-IL-1 $\beta$ ). IL-1 синтезируется в форме предшественников макрофагами, эндотелиальными и мезенхимальными клетками, В-лимфоцитами, а также клетками других тканей. IL-1 $\beta$  приобретает способность связываться с рецептором для IL-1 только после ферментативного расщепления, в результате которого образуется конечный продукт с молекулярной массой 17,5 кДа. Этот процесс катализируется определенным ферментом - IL-1 $\beta$ -конвертирующим энзимом, совсем недавно переименованным в каспазу-1. Показано, что в эндотелиальных клетках и клетках артерий стимуляция с помощью лиганда CD40 ведет к процессингу предшественника IL-1 $\beta$  и высвобождению биологически активного IL-1 $\beta$ , тем самым указывая как на механизм ICE-активации в воспалительном процессе при атерогенезе и других патологических состояниях, так и на новый механизм активации IL-1 $\beta$  в клетках сосудов.

Рецепторы интерлейкина 1 (IL-1RI). Рецепторы IL-1 I типа (IL-1RI) экспрессируются на многих клетках: Т-лимфоцитах, тимоцитах, фибробластах, эндотелиальных клетках, гепатоцитах и др. Тип II рецепторов (IL-1RII) характерен для В-лимфоцитов, макрофагов и моноцитов. Эти два рецептора имеют различные характеристики связывания с IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ . Обычно IL-1 $\alpha$  лучше связывается с RI, а IL-1 $\beta$  - лучше с RII. В сыворотке крови выявлены растворимые формы обоих рецепторов. Кроме того, обнаружен дополнительный белок-рецептор (IL-1R-АсР). Этот дополнительный белок образует комплексы с IL-1RI, после чего связывается либо с IL-1 $\alpha$ , либо с IL-1 $\beta$  и увеличивает аффинность этого рецептора к IL-1. Число рецепторов на клетках невелико и составляет, как правило, несколько десятков или сотен. Оба типа рецепторов представляют собой трансмембранные гликопротеины с Ig-подобной структурой внеклеточного участка молекулы. Между ними имеется 28% гомологии.

Антагонист рецептора IL-1 (IL-1R $\alpha$ ). IL-1R $\alpha$  является мономерным гликозилированным белком с молекулярной массой 25 кДа, который продуцируется моноцитами и другими клетками. Он связывается с рецепторами IL-1 $\alpha$  с той же аффинностью, что IL-1, но не вызывает дальнейшего проведения внутриклеточного сигнала.



Таким образом, IL-IR $\alpha$  выступает в качестве ингибитора и, по-видимому, является важным физиологическим регулятором экспрессии IL-1. Недавно проведенные исследования показали, что *in vivo* баланс между IL-1 и IL-IR $\alpha$  играет важную роль в защите организма от инфекции и ограничении дальнейшего повреждения пораженных тканей. Для инфекционных заболеваний максимальное повышение уровня IL-IR $\alpha$  наблюдается при сепсисе. При этом повышенные концентрации IL-IR $\alpha$  коррелируют с благоприятным прогнозом. Недостаточная продукция IL-IR $\alpha$  значительно ухудшает тяжесть поражения тканей при болезни Лайма, туберкулезе, саркоидозе. Другие исследования показали значимость IL-IR $\alpha$  как эндогенного противовоспалительного агента при ишемических поражениях головного мозга, воспалительных заболеваниях кишечника, респираторном дистресс-синдроме, бронхиальной астме, пиелонефрите. IL-IR $\alpha$  присутствует в высоких концентрациях в амниотической жидкости в III триместре беременности, в моче больных с лихорадкой, в синовиальной жидкости при ревматоидном артрите. В настоящее время проводятся клинические испытания фармакологических препаратов на основе рекомбинантного IL-IR $\alpha$ . Интерлейкин 2 (IL-2). Этот цитокин с молекулярной массой 15 кДа играет исключительно важную роль в реализации механизмов иммунного ответа. Продуцентами IL-2 являются Th-клетки. Помимо участия IL-2 в дифференцировке и пролиферации T-лимфоцитов, этот лимфокин принимает непосредственное участие в реализации механизмов противоопухолевой защиты. Так, IL-2 повышает литическую активность NK-клеток, а также индуцирует клетки системы ЛАК (лимфокинактивированные киллеры). Кроме того, IL-2 усиливает секрецию IFN $\gamma$  T-лимфоцитами. Определение IL-2 является наилучшим показателем активации T-клеток в тестах *in vitro*. Установлено, что IL-2 и IFN $\gamma$  формируют эффекторные иммунологические механизмы, направленные на предотвращение пролиферации неотрансформированных клеток. У больных острым вирусным гепатитом в репликативный период регистрируется высокая спонтанная продукция IL-2.

Растворимый рецептор IL-2 (sIL-2R). IL-2 связывается с высокоаффинным рецептором IL-2R, который состоит из трех субъединиц, включая IL-2R $\alpha$  (p55) и IL-2R $\beta$  (p70). Субъединица IL-2R $\beta$  является постоянным компонентом мембран лимфоцитов, а субъединица IL-2R $\alpha$  образуется при связывании IL-2. Эта субъединица соответствует низкоаффинному рецептору IL-2, и увеличение ее количества указывает на активацию клеток. После активации часть субъединицы высвобождается из мембраны, превращаясь в растворимый рецептор IL-2 (sIL-2R), циркулирующий маркер клеточной активации. Определение уровня sIL-2R позволяет детектировать и контролировать активацию T-клеток после трансплантации органов (пересадки почек и др.). Измерение концентрации sIL-2R в сыворотке крови может быть использовано для постановки точного диагноза. Увеличение уровня растворимого рецептора IL-2 - диагностический признак гиперпролиферации лимфоцитов (лейкозы, аутоиммунные заболевания).

Интерлейкин 3 (IL-3). Этот белок относится к семейству гемопоэтических ростовых факторов (молекулярная масса 15,0-28,0 кДа). Клетками-продуцентами IL-3 являются Th1 и Th2, а также ряд других клеток (B-лимфоциты, миелоидные клетки, стромальные клетки костного мозга, кератиноциты). Активация гена *IL-3* наблюдается через 4 ч после стимуляции клетки и поддерживается несколько суток. Секреция IL-3 подавляется циклоспорином А и глюкокортикоидами. IL-3 вместе с эритропоэтином поддерживает рост и дифференцировку клеток эритроидного ростка. В то же время IL-3 способен регулировать раннюю стадию дифференцировки B-лимфоцитов, поддерживает рост пре-B-клеток, а также усиливает секрецию IgG. IL-3, IL-4 и GM-CSF являются ростовыми факторами для тучных клеток. IL-3 усиливает продукцию гистамина клетками гемопоэтической системы, но не влияет на активность гистамина в культуре клеток периферической крови взрослых доноров. IL-3 и GM-CSF вызывают формирование гранул эозинофилов.

Интерлейкин 4 (IL-4). Этот лимфокин (молекулярная масса 15-20 кДа) продуцируется T-клетками (Th2) и является фактором дифференцировки для T- и B-лимфоцитов. Наиболее

сильный эффект ИЛ-4 оказывает на регуляцию образования других цитокинов посредством участия в многочисленных биологических процессах, таких как иммунный ответ и воспалительные реакции. ИЛ-4 ограничивает синтез макрофагами провоспалительных ИЛ-1 $\beta$ , -6, -8, -12, TNF $\alpha$ , образование высокоактивных метаболитов кислорода, азота. Кроме того, ИЛ-4 служит кофактором пролиферации покоящихся В-лимфоцитов, а также индуцирует в этих клетках синтез IgE и IgG<sub>4</sub>. Известна способность ИЛ-4 генерировать активность лимфокинактированных клеток (ЛИАК) и усиливать противоопухолевую активность макрофагов. Дисрегуляция секреции ИЛ-4 является ключевой в развитии аллергопатологии. Показано, что мононуклеары периферической крови больных атопическими заболеваниями имеют усиленный ответ на рекомбинантный ИЛ-4 по сравнению с ответом мононуклеаров здоровых доноров.

Увеличение синтеза IgE в ответ на стимуляцию ИЛ-4 приводит к усилению IgE-стимулированного синтеза цитокинов тучными клетками, способными вырабатывать ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6. Уровень ИЛ-4 также заметно повышается у больных хроническим вирусным гепатитом С: в периоды обострения его количество увеличивается почти в 3 раза по сравнению с нормой, а во время ремиссии уровень ИЛ-4 снижается, особенно на фоне проводимого лечения рекомбинантным ИЛ-2.

Растворимый рецептор ИЛ-4 (sIL-4R). Высокоаффинный рецептор ИЛ-4 представляет собой комплекс, состоящий, по крайней мере, из двух субъединиц:  $\alpha$ -субъединицы, связывающей ИЛ-4 с высоким сродством, и  $\gamma$ -субъединицы, вносящей дополнительный вклад в связывание.  $\alpha$ -Цепь ИЛ-4R входит в семейство цитокиновых рецепторов. ИЛ-4R экспрессируется в незначительном количестве на пре-В-клетках, неактивированных зрелых Т- и В-лимфоцитах. Активация клеток приводит к увеличению числа ИЛ-4R.

Интерлейкин 5 (ИЛ-5). Этот димерный белок с молекулярной массой 50-60 кДа продуцируется Т-клетками (Th2). ИЛ-5 усиливает пролиферацию активированных В-лимфоцитов, а также экспрессию на них рецептора для ИЛ-2 и синтез IgA. В нестимулированных В-клетках ИЛ-5 индуцирует секрецию IgM и IgG. ИЛ-5 является хемоаттрактантом для эозинофилов, вызывает их дегрануляцию при паразитарных инвазиях, играет роль в патогенезе аллергического воспаления, атопии. Противоопухолевая активность ИЛ-5 связана со способностью участвовать в апоптозе.

Интерлейкин 6 (ИЛ-6). Этот мономер с молекулярной массой 19-34 кДа является фактором дифференцировки В-клеток, способствуя созреванию В-лимфоцитов в антителопродуцирующие клетки. ИЛ-6 индуцирует синтез белков острой фазы, в связи с чем (как и ИЛ-1 и TNF) может быть отнесен к цитокинам воспаления. Показано, что ИЛ-6 вызывает значительное повышение уровня мРНК в культивируемых эндотелиальных клетках человека, что может опосредовать воспалительные сосудистые эффекты. Повышение уровня ИЛ-6 наблюдается при многих патологических состояниях, в том числе при аутоиммунных заболеваниях, сердечной микседеме, ревматоидном артрите, псориазе, мезангиопролиферативном гломерулонефрите, саркоме Капоши, алкогольном циррозе, лимфоме, миеломе и карциноме почек. У ВИЧ-инфицированных лиц В-лимфоциты продуцируют увеличенное количество TNF $\alpha$  и ИЛ-6.

Есть данные об обнаружении повышенного уровня TNF $\alpha$  и ИЛ-6 в плазме крови при различных атопических реакциях, таких как аллергия и астма. Данный цитокин регулирует пролиферацию эпителиальных клеток желчных протоков, клеток печени, образование гранулем, формирование фиброза при циррозе печени. Повышение концентрации ИЛ-6 отмечено при обострениях язвенной болезни, панкреатита, глютенной энтеропатии, болезни Крона, неспецифического язвенного колита, вирусного гепатита, первичного билиарного цирроза.

Растворимый рецептор ИЛ-6 (sIL-6R). Мембранный рецептор ИЛ-6 содержит две цепи: ИЛ-6Ra, гликопротеин с молекулярной массой 80 кДа и ИЛ-6R $\beta$ , гликопротеин с молекулярной

массой 130 кДа. Мембранный рецептор IL-6 расщепляется с образованием циркулирующей формы с молекулярной массой 55 кДа, обозначенной как sIL-6R. IL-6 первоначально связывается с IL-6R (IL-6Ra и IL-6R $\beta$ ) с образованием бинарного комплекса. Этот комплекс затем ассоциируется с двумя молекулами IL-6R $\beta$ , и образовавшиеся молекулы фосфорилируются. Ответственным за сигнальную трансдукцию является гомодимер IL6R $\beta$ , который активируется также LIF, CNTF, онкостатином M и IL-11. sIL-6R принимает участие в процессах, происходящих в печени при остром и хроническом воспалительном процессе. Высокие уровни наблюдаются у ВИЧ-инфицированных лиц и у пациентов с множественными миеломами и В-лимфоцитарными лейкозами.

Интерлейкин 7 (IL-7). Цитокин, стимулирующий гемопоэз. Является полипептидом с молекулярной массой 20-40 кДа. При этом продуцируется фибробластами и стромальными костномозговыми клетками. IL-7 стимулирует пролиферацию, но не дифференциацию пре- и про-В-клеток и не обладает активностью в отношении дифференцированных В-клеток. Также IL-7 стимулирует пролиферацию незрелых и дифференцированных активированных Т-клеток. Он эффективен и в иммунотерапевтическом разрушении опухолевых клеток CD4-позитивными Т-лимфоцитами. Совместно с IL-2 он может применяться в консолидационной иммунотерапии злокачественных новообразований у пациентов после трансплантации костного мозга. IL-7 может индуцировать апоптоз опухолевых клеток, вызывает дифференцировку клеток подгруппы острого миелобластного лейкоза.

Интерлейкин 8 (IL-8). Низкомолекулярный цитокин воспаления, принадлежит к семейству хемокинов. Продуцируется под воздействием бактериальных эндотоксинов и цитокинов, главным образом TNF и IL-1. Образуюсь из общего для различных хемокинов предшественника, состоящего из 99 аминокислотных остатков, IL-8 содержит 72 аминокислотных остатка и существует в растворе в виде димера. Он известен как NAP-1 (активирующий нейтрофилы пептид-1), NAF (фактор активации нейтрофилов), GCF (хемотактильный фактор гранулоцитов) и NCF (хемотактильный фактор нейтрофилов). Активирует нейтрофилы, в меньшей мере другие гранулярные лейкоциты, вызывает их хемотаксис в очаг воспаления. Точно такой же эффект оказывает IL-8 на моноциты. Повышенный уровень IL-8 ассоциируется с хроническими и острыми воспалительными состояниями и коррелирует с тканевой инфильтрацией нейтрофилов при ревматоидном артрите, с язвенным колитом.

Интерлейкин 10 (IL-10). Этот лимфокин с молекулярной массой 17-21 кДа, продуцируемый Т-клетками (Th2), может рассматриваться как антагонист ряда цитокинов. Так, IL-10 подавляет продукцию IFN $\gamma$  Th1-клетками. Кроме того, он тормозит пролиферативный ответ Т-клеток на антигены и митогены, а также подавляет секрецию активированными моноцитами IL-1 $\beta$ , TNF и IL-6. В то же время IL-10 стимулирует секрецию иммуноглобулинов В-клетками. IL-10 может стимулировать синтез IgE. В своем ингибирующем действии на клеточный иммунитет IL-10 синергичен с IL-4. При различных опухолях отмечено повышение уровня IL-10, при этом считается, что повышение уровня продукции IL-10 является плохим прогностическим признаком и сочетается с выраженной прогрессией опухолевого роста.

Интерлейкин 11 (IL-11). IL-11 синтезируется стромальными клетками костного мозга. Клетки-мишени - гемопоэтические предшественники остеокластов. Функциональные свойства: образование остеокластов, снижение продукции провоспалительных цитокинов. IL-11 усиливает антителообразование как *in vitro*, так и *in vivo*, причем его действие опосредуется Т-хелперами. IL-11 стимулирует мегакариоцитоз, влияет на развитие и других клеток крови, в частности, макрофагов. Источником IL-11 помимо клеток стромы костного мозга служат фибробласты, стимулированные IL-1. Подобно IL-1, IL-6 принимает участие в индукции синтеза белков острой фазы.

Интерлейкин 12 (IL-12). IL-12 является гликопротеином с молекулярной массой 70 кДа, который состоит из двух гликозилированных субъединиц: p40 и p35, связанных между собой дисульфидными мостиками. Дисульфидные связи играют важную роль в биологической активности IL-12. Субъединицы кодируются двумя различными, независимыми друг от друга генами. Помимо обладающего биологической активностью p70-гетеродимера, клетки, продуцирующие IL-12, секретируют в большом количестве субъединицу p40, которая не является биологически активной. По сравнению с биологически активным гетеродимером p40 секретируется с большим избытком; p40 участвует в связывании с рецептором. IL-12 секретируется, прежде всего, активированными макрофагами и влияет на иммунные клеточные реакции. IL-12 повышает литическую активность клеток системы ЛАК. IL-12 действует как ростовой фактор при активации Т- и НК-клеток. При этом он действует в качестве индуктора секреции IFN $\gamma$  и ингибитора синтеза IgE, индуцированного IL-4. IL-12 активирует и цитотоксичность макрофагов, а дефицит его продукции макрофагами может значительно снижать противоопухолевую активность. IL-12 вызывает противоопухолевый эффект при раке легкого. Усиление роста опухоли, в частности рака прямой кишки, ассоциируется со снижением продукции IL-12 и усилением продукции IL-10. Важное свойство IL-12 - усиление экспрессии FasL и индукция апоптоза. IL-12 ингибирует ангиогенез. Антиангиогенное действие IL-12 реализуется на уровне рецепторов протеинкиназ, адгезивных молекул, интегринов и других поверхностных структур, усиления продукции INF $\gamma$ . В последние годы установлено, что IL-12 является ключевым цитокином в развитии лимфоцитов Th1. Показано, что Th1 способствуют патогенезу различных органоспецифических заболеваний (аллергический энцефаломиелит, инсулинзависимый диабет). IL-12 играет основную роль при аутоиммунных заболеваниях, резистентности к бактериальной или паразитической инфекции, антивирусном ответе, включая ВИЧ. Показано, что IL-12 является мощным адьювантом при вакцинации. IL-12 - ключевой цитокин для усиления клеточно-опосредованного иммунного ответа и инициации эффективной противoinфекционной защиты против вирусов, бактерий, грибов и простейших. У обследуемых с пониженной продукцией IL-12 отмечаются повышенная частота вторичных пневмоний, сниженная резистентность к *Klebsiella pneumoniae*. Протективные эффекты IL-12 при инфекциях обусловлены IFN $\gamma$ -зависимыми механизмами: усиленной продукцией оксида азота, Т-клеточной инфильтрацией, стимуляцией цитотоксической активности, поэтому тяжесть течения и прогноз многих инфекционных заболеваний зависят от способности возбудителей или его токсинов индуцировать синтез IL-12 и IFN $\gamma$ . Селективная ингибция синтеза IL-12, даже при сохранении продукции других провоспалительных цитокинов (IL-1, TNF $\alpha$ ), позволяет возбудителям длительно персистировать в организме хозяина. Но и неконтролируемый синтез IL-12 может вызвать чрезмерную активацию клеточно-опосредованного иммунного ответа.

Основными клетками-мишенями IL-12 являются естественные киллеры и Т-лимфоциты. Цитокин активирует дифференцировку Т-лимфоцитов, повышает их цитотоксическую активность, усиливает пролиферацию ЕК и Т-лимфоцитов и продукцию других цитокинов. Главный эффект - индукция синтеза IFN $\gamma$ . Синтезированный при этом IFN $\gamma$  начинает потенцировать индукцию синтеза IL-12 макрофагами. Покоящиеся ЕК экспрессируют рецепторы для IL-12 и являются его мишенями, которые отвечают на действие IL-12 продукцией IFN $\gamma$ , стимулирующего эффекторные функции макрофагов. *Один из важнейших эффектов IL-12 - способность направлять дифференцировку Th0 в сторону Th1. В этом эффекте IL-12 является синергистом IFN $\gamma$ , который к тому же способен селективно ингибировать Th2 и секрецию или цитокинов. Последние могли бы ингибировать Th1.* Таким образом, создаются оптимальные условия для экспансии и дифференцировки Th1. После дифференцировки Th перестают нуждаться в IL-12 в качестве ко-стимулирующей молекулы.

*Неконтролируемый синтез IL-12 может вызвать чрезмерную активацию клеточно-опосредованного иммунного ответа с развитием аутоиммунной патологии.* Физиологическим ингибитором синтеза IL-12 является IL-10 - продукт Th2, который является типичным противовоспалительным цитокином, ингибирующим продукцию и IFN $\gamma$  и вообще Th1-ответ. Различные патогенные агенты могут индуцировать иммунный ответ с доминированием Th1 или Th2 в зависимости от их влияния на баланс цитокинов: IL-12/IFN $\gamma$  против IL-10/IL-4.

Интерлейкин 13 (IL-13). IL-13 является белком, который продуцируется преимущественно в негликозилированной форме (10 кДа) активированными Т-лимфоцитами и мастоцитами. Функции IL-13 подобны биологической активности IL-4. Он является мощным модулятором активности моноцитов и В-клеток, но, в отличие от IL-4, не имеет прямого биологического влияния на Т-клетки. IL-13 оказывает ингибирующее действие на продукцию других цитокинов, стимулирующих начало воспалительного процесса при сепсисе или ревматоидном артрите, причем, в отличие от IL-4, его концентрация не снижается. IL-13 совместно с IL-4 и IL-10 принимает участие в иммунных реакциях Th2 типа. В В-клетках он стимулирует секрецию IgG<sub>4</sub> и IgE.

Интерлейкин 15 (IL-15). IL-15 продуцируется макрофагами, моноцитами, эпителиальными, гладкомышечными клетками. Рецептор для IL-15 имеет общие  $\beta$ - и  $\gamma$ -цепи с рецептором для IL-2. По своему действию он близок IL-2: активирует макрофаги, повышает синтез ими TNF $\alpha$ , потенцируя действие последнего. IL-15 участвует в активации Т-лимфоцитов антигенпрезентирующими клетками, стимулирует пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов в клетки-эффекторы, синтез цитокинов, иммуноглобулинов, защищает гепатоциты от апоптоза. Антагонистами IL-15 могут служить его мутантные формы, связывающиеся с соответствующими рецепторами. Содержание IL-15 увеличивается при воспалительных заболеваниях желудка, тонкой и толстой кишки.

Интерлейкин 16 (IL-16). IL-16 - гомотетрамер, содержащий полипептидные цепи с молекулярной массой 14-17 кДа. IL-16 продуцируется Т-лимфоцитами, главным образом, CD8<sup>+</sup>-клетками. Рецептор для IL-16 относится к семейству CD4, поэтому IL-16 способен взаимодействовать с CD4-лимфоцитами. CD4<sup>+</sup>-клетки являются его основными мишенями. IL-16 служит для них хемоаттрактантом, повышает адгезивность этих клеток, обычно подавляет (в некоторых ситуациях индуцирует) их пролиферацию. В то же время интерлейкин усиливает экспрессию CD25 и синтез цитокинов. У пациентов с III и IV стадией рака молочной железы, кишечника, почки, мочевого пузыря, матки, яичника в сыворотке крови обнаруживают повышенный уровень IL-16.

Интерлейкин 17 (IL-17). IL-17 синтезируется в основном Т-хелперами. Клетки-мишени - эпителиальные, эндотелиальные клетки, фибробласты. По своим функциональным свойствам близок противовоспалительным IL-4, IL-10, регулирует выделение клетками-продуцентами IL-6, 8, G-CSF, стимулирует фибробласты. IL-17 может приводить к усилению антителозависимой гибели опухолевых клеток. Гистамин и серотонин усиливают продукцию IL-17.

Интерлейкин 18 (IL-18). IL-18 - негликозилированный полипептид, у которого нет классической сигнальной последовательности. IL-18 синтезируется в виде неактивного пропептида с массой 24 кДа. После протеолитического расщепления под воздействием ICE (интерлейкин-1 $\rho$  преобразующего энзима) или другой каспазы образуется зрелый активный пептид с молекулярной массой 18 кДа. IL-18, также известный как IFN $\gamma$ -индуцирующий фактор (IGIF), первично был охарактеризован как потенциальный индуктор синтеза IFN $\gamma$  Т- и НК-клетками. Независимо от IL-12, IL-18, влияя на секрецию IFN $\gamma$ , быстро активирует клетки моноцитарно-макрофагальной системы, что ведет к активации множества антибактериальных, антиопухолевых и противовирусных ответных реакций.

Сам IL-18 индуцируется стрессовыми сигналами (нейрогенными или бактериального происхождения). Считается, что индуцированное стрессом высвобождение IL-18 может вести к усилению цикла IFN $\gamma$ /IL-18: вслед за первой волной образования IFN $\gamma$  лимфоцитами, индуцированного IL-18, вновь синтезированный IFN $\gamma$ , в свою очередь, стимулирует моноциты (макрофаги), что ведет к увеличению их ICE-активности. Увеличение ICE-активности, в частности, приводит к образованию IL-18. IL-18 не только стимулирует синтез IFN $\gamma$ , но и модулирует его функциональную активность. Показано, что экспрессия Fas-лиганда CD4<sup>+</sup>-Th1 и NK-клетками также происходит под влиянием IL-18. С другой стороны, показано, что IFN $\gamma$  участвует в активации экспрессии самого Fas. Таким образом, можно сделать вывод, что IL-18 самостоятельно (FasL) или посредством IFN $\gamma$  (Fas) стимулирует инициализацию процессов апоптоза.

Колонистимулирующие факторы (CSF). Цитокинов, стимулирующих гемопоэз, три: G-CSF (гранулоцитарный), GM-CSF (гранулоцитарномacroфагальный) и M-CSF (моноцитарно-макрофагальный). Полипептиды с молекулярной массой 20-40 кДа. GM-CSF, M-CSF, G-CSF продуцируются мононуклеарными фагоцитами, эндотелиальными клетками и фибробластами соответственно. GM-CSF индуцирует рост и дифференциацию незрелых костномозговых клеток в разные типы клеток миелоидного ряда, при этом ускоряет процесс созревания предшественников гранулоцитов и мононуклеарных макрофагов. Высокий уровень GM-CSF, секретируемого опухолевыми клетками, обуславливает нейтрофилию у больных со злокачественным процессом. M-CSF вызывает дифференциацию гемопоэтических клеток-предшественников в мононуклеарные фагоциты, G-CSF - в нейтрофилы. CSF относятся к провоспалительным цитокинам, их уровни в плазме крови увеличиваются при воспалении различной этиологии.

Фактор некроза опухолей (TNF). В группу факторов некроза опухолей включают TNF $\alpha$  и TNF $\beta$  (лимфотоксин). TNF $\alpha$  и TNF $\beta$  представляют собой полипептиды с молекулярной массой около 17 кДа. TNF $\alpha$  является продуктом моноцитов/макрофагов, эндотелиальных, тучных и миелоидных клеток, ЛАК-клеток, клеток нейроглии, в особых случаях - активированных Т-лимфоцитов. Последние являются основными продуцентами TNF $\beta$ . TNF $\beta$  образуется при действии на Т-клетки антигенов и митогенов значительно позже, чем TNF $\alpha$  (2-3-и сутки после активации). Противоопухолевое действие, связанное с геморрагическим некрозом и давшее ему название, однако не ограничивает спектр действий данного фактора. Существуют три основных направления действия TNF:

- 1) цитотоксическое, направленное на клетки опухоли либо клетки, пораженные вирусами;
- 2) иммуномодулирующее и противовоспалительное, вызываемое активацией макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов и эндотелиальных клеток;
- 3) влияние на метаболизм, способный привести к гипергликемии, резорбции кости и увеличению мышечного гликогенолиза, т. е. кахексии, наблюдаемой при некоторых паразитарных инфекциях.

В результате высвобождения TNF повышается проницаемость капилляров, повреждаются эндотелий сосудов, возникает внутрисосудистый тромбоз. Концентрация циркулирующего TNF $\alpha$  обычно очень низка (<5 пг/мл), однако она резко возрастает (максимум за 90 мин) после введения липополисахаридов и возвращается к норме в течение 4 ч. Высокие уровни TNF $\alpha$  (>300 пг/мл) обнаруживают во время септического шока. Сохранение высоких уровней указывает на возможность возникновения нежелательных последствий. Показано, что у ВИЧ-инфицированных лиц в начальный период заболевания значительно увеличиваются концентрации TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ . Повышенный уровень TNF $\alpha$  при СПИДе индуцирует репликацию вируса в инфицированных клетках по аутокринному или паракринному пути. Кроме того, TNF, осуществляя киллинг клеток, пораженных вирусом, вызывает вирусемию и заражение новых лимфоцитов. Оппортунистические инфекции у

ВИЧинфицированных лиц приводят к дополнительной продукции TNF $\alpha$  и IL-1, и это тоже вызывает увеличение количества клеток, содержащих вирус иммунодефицита.

Растворимый рецептор к фактору некроза опухолей I (sTNF-RI). TNF проявляет свою биологическую активность при связывании со специфическими высокоаффинными мембранными рецепторами. TNF-RI, известный также как CD120a, является белком с молекулярной массой 55-60 кДа (p55). Он экспрессируется клетками большинства типов тканей. Активация различных типов клеток приводит к протеолитическому расщеплению мембранных рецепторов и образованию их растворимых форм. sTNF-RI стабилизирует циркулирующий TNF и увеличивает период полураспада данного цитокина. Он принимает участие в апоптозе и образовании герминативного центра, а также обладает антивирусной активностью. Уровень sTNF-RI повышен в сыворотке пациентов с онкологическими заболеваниями, хронической почечной недостаточностью и в бронхоальвеолярном лаваже пациентов, страдающих ARDS (респираторный дистресс-синдром взрослых). Уровень sTNF-RI также коррелирует со степенью тяжести паразитемии и малярии у человека.

Растворимый рецептор к фактору некроза опухолей II (sTNF-RII).

TNF-RII (известен также как CD120b) является белком с молекулярной массой 75-80 кДа (p75). Он экспрессируется клетками большинства типов тканей. При активации клеток происходит протеолиз мембранных рецепторов, в результате чего образуются растворимые формы. sTNF-RII стабилизирует циркулирующий TNF и увеличивает период полураспада данного цитокина в сыворотке крови. Определение sTNFRII позволяет оценить состояние ИС.

## 1.5. ХЕМОКИНЫ

Наряду с традиционными иммунными цитокинами, такими как TNF $\alpha$ , интерфероны и интерлейкины, описан новый класс цитокинов. Это семейство секретируемых факторов с малой молекулярной массой отнесено к суперсемейству белков тромбоцитарного фактора 4 и, наряду с традиционными иммунными цитокинами, регулирует иммунновоспалительные реакции. Хемокины представляют собой белки, которые можно разделить на семейства исходя из структурных особенностей. Названия хемокинов могут быть связаны с функцией (MCP-1), клетками-продуцентами (PF-4), относиться к интерлейкинам (IL-8), а также иметь произвольный характер. В некоторых случаях название хемокина столь громоздко, что используется только аббревиатура - RANTES. Перекрывающиеся эффекты хемокинов затрудняют в ряде случаев трактовку некоторых экспериментальных наблюдений. Хемотаксические молекулы, которых насчитывается более 60, подразделяются на ряд групп: CX $X$ , CC, CX $3$ C, где X - изменяемый аминокислотный остаток. В основном это малые цитокины, полипептиды с молекулярной массой 8-10 кДа. Все полипептиды суперсемейства имеют четыре цистеиновых остатка. Ветвь C-X-C, в которой два первых цистеиновых остатка разделены между собой, включает такие молекулы, как PF4, IL-8, IP-10, MIG, SDF-1, GRO- $\alpha$ , GCP-2, I-TAC. Эти хемокины, как правило, служат хемоаттрактантами для нейтрофилов, иногда для других клеток. Кроме того, многие CX $X$ -хемокины способны активировать клетки эндотелия и тем самым влияют на ангиогенез. Такой способностью обладают белки с последовательностью аминокислотных остатков Glu-Leu-Arg (IL-8, GRO- $\alpha$ ,  $\beta$ , MIP-2), если же вышеуказанные аминокислотные остатки отсутствуют (IP-10), то такие хемокины обладают ангиостатической активностью.

Ветвь C-C, где первые два остатка находятся рядом, включает полипептиды, объединенные названием «RANTES/SIS». К ним относятся: RANTES, I-309, моноцитарный хемотаксический фактор 1 (MCP-1), MCP-2, MCP-3, MCP-4, MCP-5, макрофагальные белки воспаления - MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MIP-3 $\alpha$ , MIP-3 $\beta$ , а также Eotaxin, Eotaxin-2, Eotaxin-3, TARC, MDC, LARC, PARC, TECK, MIPF, STACK, 6CKine, SCL. Хемокины этой группы служат

хемоаттрактантами преимущественно для моноцитов и макрофагов, а также Т-лимфоцитов. Использование рекомбинантных цитокинов RANTES/SIS позволило получить данные о важной роли цитокинов С-С, выделяемых моноцитами, в хроническом воспалении.

Отличительной чертой этих молекул является их «индуцибельность», т. е. они практически не экспрессируются в нестимулированных клетках. Это свойство и малая молекулярная масса секретируемого продукта обусловили использование термина «small inducible secreted» (SIS).

В настоящее время известно более 25 рецепторов к хемокинам с различной степенью аффинности. Рецепторами хемокинов служат белки, 7 раз пронизывающие мембрану (аналогично другим членам семейства родопсинов, к которому они относятся). Согласно современной номенклатуре рецепторы СХС-хемокинов обозначаются как CXCR, СС-хемокинов - CCR, CX<sub>3</sub>C-CX<sub>3</sub>CR. Кроме того, на поверхности эритроцитов, клеток эндотелия, глии головного мозга обнаружен DARC-рецептор, специфически связывающийся с некоторыми хемокинами. Следует также отметить, что некоторые вирусы способны продуцировать белки, специфически связывающиеся с молекулами хемокинов. Все эти рецепторы связаны с белком G, который служит передаточным фактором для запуска сигнала в клетку и для ее активации. При этом существенно изменяется метаболизм фагоцитов, усиливается секреторный процесс, повышается восприимчивость клеток к действию других активирующих агентов (рис. 1.5).

RANTES/SIS. Цитокины RANTES/SIS играют важную роль в регуляции движения лимфоцитов, в частности, миграции различных популяций лейкоцитов в место повреждения или внедрения инфекционного агента. Кроме того, эти цитокины вовлечены в регуляцию развития различных гемопоэтических клеток-предшественников. Синтез RANTES осуществляется, главным образом, циркулирующими Т-клетками, активированными IL-1 и TNF $\alpha$ .

Хемокиновые рецепторы и их основные лиганды						
	Моноцит		Эозинофил			Нейтрофил
	Th1	MO	Th2			
	(CCR1) CCR2 CCR5 CXCR3	CCR1 CCR2 CCR5	CCR2 CCR3	(CCR1) CCR2 CCR3	CCR1 CCR2 CCR3	(CCR1) CXCR1 CXCR2
CCL3	+	+		+	+	+
CCL4	+	+				
CCL5	+	+	+	+	+	+
CCL2	+	+	+	+	+	
CCL7, 8	+	+	+	+	+	+
CCL13	+	+	+	+	+	
CCL11			+	+	+	
CXCL8						+
CXL1, 2, 3						+
CXL9, 10, 11	+					



Рис. 1.5. Хемокиновые рецепторы, экспрессируемые клетками моноцитарнофагоцитарной системы и Т-лимфоцитами к их лигандам, что обеспечивает избирательное участие клеток на различных этапах иммунного воспаления, сопровождаемое возможными перекрестными эффектами (по Мейл Д., Бростофф Дж., 2007)

Он также связан с процессом высвобождения гистамина и с адгезией моноцитов на клетках эндотелия. RANTES принадлежит к главным ВИЧ-супрессивным факторам.

Моноцитарный хемоаттрактивный белок-1 (MCP-1). MCP-1 является хемокином, известным также как моноцитарный хемотактический и активирующий фактор, или лимфоцитарный хемотактический фактор. Играет важную роль в процессах тканевой инфильтрации моноцитов, а также при большинстве хронических воспалительных процессов. MCP-1 принадлежит к главным ВИЧ-супрессивным факторам.

Макрофагальный белок воспаления-1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ). MIP-1 $\alpha$  (но не MIP-1 $\beta$ ) является специфическим ингибитором пролиферации стволовой гемопоэтической клетки. MIP-1 вместе с GM-CSF усиливают образование гранулоцитарно-макрофагальных колоний.

IFN $\gamma$ -индуцибельный белок (IP-10). IFN $\gamma$ -индуцибельный белок (IP-10) - белок, гомологичный тромбоцитарному фактору-4 (PF-4), также принадлежит к семейству хемотаксичных цитокинов - хемокинов. IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  индуцируют экспрессию IP-10 различными типами клеток - моноцитами, эндотелиальными клетками, кератиноцитами, фибробластами. Индукция синтеза IP-10 может быть использована как тест на активность IFN $\gamma$ . IP-10 определяется при различных реакциях иммунной системы и при активации кератиноцитов. В норме кератиноциты эпидермиса не продуцируют IP-10. В опытах *in vivo* у мышей показано, что основной синтез IP-10 происходит в печени и почках после внутривенной инъекции воспалительного агента или IFN $\gamma$ . Следовательно, IP-10 может играть важную роль в реакции печени и почек на системные воспаления. Показано, что IP-10 принимает участие в механизме развития гиперчувствительности замедленного типа. Уровень белка повышен при псориазе, характеризующемся инфильтрацией нейтрофилов. Однако IP-10 не влияет на активацию нейтрофилов. Возможно, IP-10 принимает участие в регуляции роста гемопоэтических клеток-предшественников. *In vitro*, в присутствии фактора роста стволовых клеток (SCF), SCF+эритропоэтин и GM-CSF, этот фактор подавляет образование колоний CD34<sup>+</sup>-клеток. IP-10 можно рассматривать и как потенциальный эндогенный ингибитор ангиогенеза.

Основные хемокины и их функции отражены в табл. 1.3.

Лиганд-рецепторные системы

Межклеточные контактные взаимодействия при иммунном ответе можно объединить в три группы:

- 1) взаимодействия, связанные с презентацией антигена; в них участвуют вспомогательные клетки (дендритные, макрофаги, В-лимфоциты) и Th;
- 2) кооперация лимфоцитов, т. е. взаимодействие Th с В-лимфоцитами и предшественниками Т-киллеров;
- 3) взаимодействие киллеров с клетками-мишенями в процессе их распознавания и разрушения.

Таблица 1.3. Основные хемокины и их функции

Хемокин	Клетки-продуценты	Объекты воздействия хемокинов	Основные функции
IL-8	Моноциты, макрофаги, фибробласты, кератиноциты, эндотелиальные клетки	Нейтрофилы, неактивированные Т-лимфоциты	Мобилизация и активация нейтрофилов, способствует ангиогенезу
RANTES	Т-клетки, эндотелиальные клетки, тромбоциты	Моноциты, НК-клетки, Т-клетки, базофилы, эозинофилы	Вызывают дегрануляцию базофилов, активируют Т-клетки
MCP-1	Моноциты, макрофаги, фибробласты, кератиноциты	Моноциты, НК-клетки, Т-клетки, базофилы, дендритные клетки	Активируют макрофаги, стимулируют высвобождение гистамина из базофилов, активируют Th2-иммунный ответ
MIP-1 $\alpha$	Моноциты, макрофаги, Т-клетки, тучные клетки, фибробласты	Моноциты, НК-клетки, Т-клетки, базофилы, дендритные клетки	Активируют Th1-иммунный ответ
MIP-1 $\beta$	Моноциты, макрофаги, нейтрофилы, эндотелиальные клетки	Моноциты, НК-клетки, Т-клетки, дендритные клетки	

В осуществлении кооперации Т-В основную роль играет взаимодействие двух пар молекул: CD80/CD86 В-клеток и CD28 Т-клеток, а также CD40 В-клеток и CD40L Т-клеток.

sCD28, sCD80, sCD86. Основную роль в осуществлении ко-стимуляции отводят взаимодействию ко-рецептора CD28 Т-клетки с молекулами CD80 (B7-1) и CD86 (B7-2) антигенпрезентирующих клеток (АПК). Молекула CD28 присутствует на поверхности всех покоящихся CD4<sup>+</sup>-клеток и 70% CD8<sup>+</sup>-клеток. После активации на Т-клетках появляется другая молекула со сходной структурой - CTLA-4. Стимулирующий эффект CD28 состоит в продлении и усилении продукции IL-2 и других цитокинов; эта стимуляция, по-видимому, имеет также существенное значение для предотвращения индукции толерантности. Несмотря на то, что взаимодействие CD28-B7 крайне важно, нокаутные мыши, лишённые генСледовательно, стимуляция CD28 не обязательна для активации даже непримированных Т-клеток. Возможно, у лишённых CD28 мышей роль CD28-B7 в качестве ко-стимулирующего сигнала играют другие сигнальные молекулы.

CTLA-4 - ингибирующий рецептор, который ограничивает Т-клеточную активацию. Таким образом, вначале молекула CD28, экспрессируемая конститутивно, взаимодействует с B7, что ведет к активации Т-клеток, однако вызванная активацией экспрессия молекулы CTLA-4, обладающей более высокой аффинностью, лимитирует степень активации, так как имеющийся антиген B7 взаимодействует теперь с CTLA-4. О значении этой молекулы свидетельствует то, что у лишённых CTLA-4 мышей развивается лимфопролиферативное расстройство, обусловленное отсутствием эффективной инактивации делящихся Т-клеток.

sCD40, sCD40L (CD154). Молекула CD40 представляет собой фосфопротеин с молекулярной массой 48 кДа. Она экспрессируется не только на В-лимфоцитах, но и на клетках эндотелия, макрофагах, дендритных (в основном на фолликулярных) клетках. Ее лиганд CD154 экспрессируется на активированных Т-клетках, тучных клетках и базофилах.

По своей структуре молекула CD40 гомологична рецепторам для TNF $\alpha$ , CD30, FAS-рецептору и др. В отличие от рецептора TNF $\alpha$  I типа, в цитоплазматическом участке CD40 отсутствует «домен смерти», определяющий передачу сигнала к апоптозу. Сигнал, передаваемый в В-лимфоцит через молекулу CD40, обуславливает основные события Т-В-взаимодействия. Такой сигнал в конечном итоге обеспечивает включение в В-лимфоцитах ряда событий первостепенной важности: переключение классов иммуноглобулинов, индукцию пролиферации и дифференцировки при гуморальном иммунном ответе. Этот сигнал важен также для развития В-клеток памяти, формирования зародышевых центров, защиты В-лимфоцитов от апоптоза. Аналогичный сигнал, генерируемый в макрофагах, эндотелиальных клетках и фибробластах, включает активационные события, важные для осуществления воспалительной реакции. Обсуждается потенциальная вспомогательная роль CD40L при В-клеточных опухолях; кроме того, обнаружено, что молекулярный дефект при X-связанном гипер-IgM синдроме относится к гCD27 - член суперсемейства TNF-рецепторов, экспрессируется на большинстве Т-клеток и на всех NK-клетках. Проводя ко-стимуляторный сигнал в Т-клетки, CD27 индуцирует продукцию INF $\gamma$ . Его лиганд, молекула CD70, экспрессируется на лимфомных клетках и Т-клетках, инфицированных вирусом иммунодефицита человека. Эктопическая экспрессия CD70 на лимфомных Т-клетках приводит к отбраковке этих клеток, опосредованной NK-клетками и/или Т-клетками в зависимости от типа опухолевых клеток. Иммунизация CD70-экспрессирующими опухолевыми клетками приводит к индукции Т-клеточной памяти. Повышенная концентрация sCD27 в сыворотке крови обнаружена у пациентов при В-клеточных лимфомах, уровень sCD27 строго коррелирует со степенью тяжести развития заболевания. Показано, что уровень маркера повышен у пациентов при хронических вирусных инфекциях, например при ВИЧ-инфекции, инфекции HTLV-I, синдроме Шегрена, заболеваниях щитовидной железы.

sCD30, sCD30L. При определении антигена CD30 показано, что его зрелая форма представляет собой трансмембранный белок 120 кДа, преобразованный из цитоплазматического предшественника с молекулярной массой 84 кДа в основном путем гликозилирования. Идентифицированный лиганд CD30 (CD30L) выявил значительную гомологию с TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ , FasL, CD40L, CD27L. CD30L экспрессируется на активированных Т-клетках. Взаимодействие цитокинового рецептора CD30 со своим лигандом имеет плейотропные биологические эффекты, такие как, например, дифференцировка, активация, пролиферация и клеточная гибель. В CD30<sup>+</sup>-клеточных линиях связывание CD30L индуцирует гибель клеток в процессе апоптоза. Более того, CD30 вполне может быть вовлечен в контролирование CD40/CD40L-сигнала, пролиферацию Т-клеток, созревание В-клеток, индуцированное Т-клеточными цитокинами. Таким образом, CD30 передает информацию, необходимую для иммунного ответа. Экспрессия CD30 строго зависит от активации и пролиферации Т- и В-клеток.

ену CD40L, его функции затрагиваются в В-клеточных гибридах, при хроническом лимфоцитарном лейкозе, а также при различных аутоиммунных заболеваниях. Предполагается, что sCD40L является потенциальным индикатором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, его уровень повышен при сердечно-сосудистых заболеваниях: инфаркте миокарда, сердечной недостаточности, инсульте.

а CD28, все же реагируют на антиген, хотя для этого требуется большее его количество.

Появляется все больше данных о клиническом использовании молекулы CD30, ее потенциальной роли в терапии. Показано *in vitro* и *in vivo*, что 85 кДа растворимая форма предшественника CD30 (sCD30) обнаруживается в CD30<sup>+</sup>-клетках. Концентрация sCD30 в сыворотке крови может быть использована как маркер CD30<sup>+</sup>-клеток, присутствующих в организме. Определение растворимых ко-стимулирующих молекул при различных заболеваниях представлено в табл. 1.4.

Таблица 1.4. Определение растворимых ко-стимулирующих молекул при различных заболеваниях

Ко-стимулирующие молекулы	Заболевания
sCD27	Неходжкинская лимфома, синдром Шегрена, СПИД, дисфункция почек
sCD30	Прогноз отторжения трансплантата, атопические дерматиты, хронические гепатиты, эмбриональная карцинома, ходжкинская лимфома, СКВ, ревматоидный артрит, малярия
sCD28	Артриты
sCD40	Почечная недостаточность
sCD40L	Сердечно-сосудистые заболевания, инсульт, диабет, метастазы в кость
sCD137	Рассеянный склероз, лейкозы
sCD80	Артриты
sCD134 (OX40)	Т-клеточная лимфома, ревматоидный артрит, СПИД, миокардиты
sCD152 (CTLA-4)	Аутоиммунные заболевания щитовидной железы

Матриксные металлопротеиназы. Семейство матриксразрушающих протеиназ (MMPs), состоящее из 20 энзимов, обладает деградирующей способностью в отношении почти всех компонентов внеклеточного матрикса, встречающихся в соединительных тканях. По их отношению к субстратам данную группу ферментов можно разделить на коллагеназы (MMP-1, -8 и -13), желатиназы (MMP-2 и -9) и стромелизины (MMP-3 и -10). Коллагеназы расщепляют коллаген типов 1, 2, 3, 7 и 10. Желатиназы расщепляют коллаген 4-го типа и денатурированный коллаген. Стромелизины разрушают фибронектин, ламинин, коллаген 4, 5 и 7-го типа, а также протеогликаны. Помимо сходства на уровне аминокислотной последовательности, все MMP образуются из неактивных предшественников, которые превращаются в активные субстрат-деградирующие протеиназы под воздействием внеклеточных факторов. Источниками образования MMPs являются многие клетки, включая фибробласты, макрофаги, гладкомышечные клетки сосудистой стенки, нейтрофилы, их продукция увеличивается под влиянием цитокинов.

Выделены тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP), которые блокируют активность протеаз и, таким образом, участвуют в регуляции производимого ими эффекта. Учитывая, что данные ферменты активно образуются при воздействии воспалительных

цитокинов, определение уровней предшественника MMP-1 может использоваться для оценки активности цитокинов.

Предшественник матричной металлопротеиназы-1 (проMMP-1). MMP-1 (также известна как интестинальная коллагеназа, коллагеназа позвоночника, фибробластов и коллагеназа I) синтезируется фибробластами, хондроцитами, макрофагами, кератиноцитами, эндотелиальными клетками и остеобластами. Синтез MMP-1 стимулируется разными агентами, включая цитокины, например эпидермальным фактором роста, интерлейкинами и TNF $\alpha$ , химические соединения, такие как цАМФ и эфиры фторбола. MMP-1 ингибируется TIMP-1 и TIMP-2, а также  $\alpha_2$ -макроглобулином. MMP-1 принимает участие в деградации коллагеновых нитей в процессе ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса. Уровень MMP-1 определяют при ревматоидном артрите, остеоартрите, инвазии опухоли, изъязвлении роговицы, тканевом ремоделировании, воспалительных заболеваниях кишечника, атеросклерозе, аневризме и рестенозе. К тому же MMP-1 может также расщеплять другие субстраты: казеин, желатин, энтактин и линк-протеин хряща.

Матричная металлопротеиназа-2 (MMP-2). MMP-2 (желатиназа) прежде всего экспрессируется в мезенхимальных клетках (главным образом, в фибробластах) в период развития и регенерации ткани. Также синтезируется нейтрофилами, макрофагами и моноцитами. MMP-2 необходима для ингибирования процесса ангиогенеза в опухолях, и ее уровень повышен в эндотелии сосудов опухоли и в моче пациентов с различными опухолевыми образованиями. Вместе с MMP-9 она участвует в деградации коллагена IV типа, главного компонента базальных мембран и желатина (денатурированного коллагена). MMP-2 может также разрушать другие типы коллагенов (V, VII и X), эластин и фибронектин. Она участвует в процессинге многих других молекул, модулируя их функции различными способами. Например, она расщепляет моноцитарный хемотаксический белок-3, что приводит к уменьшению воспаления и обеспечивает вазоконстрикцию соответственно.

Матричная металлопротеиназа-3 (MMP-3). MMP-3, также называемая стромелизином-1, является членом семейства матричных металлопротеиназ. MMP-3 катализирует деградацию многих компонентов соединительной ткани, включая протеогликаны, линк-белок, коллаген типов II, IV, IX и XI, ламинин и фибронектин. MMP-3 может также влиять на деградацию экстрацеллюлярного матрикса через активацию проколлагеназы-1.

MMP-3 секретируется как профермент массой 57 кДа и активируется *in vivo* путем ограниченного протеолиза тканевыми и плазматическими эндопептидазами. Активность MMP-3 ингибируется TIMP, который взаимодействует с активной MMP-3 в стехиометрическом соотношении 1 : 1. Полагают, что равновесие между MMP-3 и TIMP - определяющий фактор в разрушении межклеточного матрикса. Активность MMP-3 также может ингибироваться  $\alpha_2$ -макроглобулином. Считают, что MMP3 играет важную роль в естественных процессах тканевого ремоделирования и патологических процессах: остеоартритах и ревматоидных артритах.

Матричная металлопротеиназа-7 (MMP-7). Структурно MMP-7 - одна из самых маленьких MMPs, состоящая из двух доменов: про-домена и каталитического домена. MMP-7 экспрессируется в эпителиальных клетках нормальных и патологически измененных тканей. MMP-7 синтезируется различными опухолями: молочной железы, толстого кишечника, предстательной железы, желудка, верхних дыхательных путей и пищевода, легких и кожи. MMP-7 способна к утилизации большого ряда белков экстрацеллюлярного матрикса: коллагена IV типа, желатинов, ламинина, агрекана, энтактина, эластина и верзикана. Она активирует другие протеиназы типа активатора плазминогена урокиназного типа и про-MMP-1, -2, -9, а также разрушает субстраты типа остеопонтина. MMP-7-опосредованное разрушение Fas-лиганда защищает клетки опухоли от цитотоксичности химиотерапевтических препаратов и усиливает апоптоз эпителиальных клеток.

Матриксная металлопротеиназа-8 (ММР-8). ММР-8 (также известна как нейтрофильная коллагеназа и коллагеназа-2) накапливается внутри клеток полиморфноядерных лейкоцитов (PMNs) в виде неактивного профермента в специфических гранулах. PMNs играют существенную роль в фагоцитозе и обладают высокой способностью к инфильтрации соединительной ткани. Различные агенты, такие как IL-1 и IL-8, TNF $\alpha$ , и GM-CSF, стимулируют высвобождение ММР-8 из нейтрофилов - ключевого фермента, начинающего разрушение экстрацеллюлярного матрикса, особенно при патологических воспалительных процессах, ревматоидном артрите и остеоартрите. ММР-8 может расщеплять белки, такие как фибронектин, хрящевой агрекан и серпины, а также пептиды типа ангиотензина и субстанции P.

Матриксная металлопротеиназа-9 (ММР-9). ММР-9 (также известна как желатиназа В) секретируется как зимоген массой 92 кДа. Субстраты для ММР-9 включают денатурированный коллаген I типа (желатин), нативные коллагены типов IV, V, VII, X и XI, фибриноген, витронектин, IL-1 и энтактин, который соединяет ламинин и коллаген IV типа. ММР-9 принимает участие в процессах воспаления, ремоделирования ткани, заживления раны, мобилизации матрикс-связанных факторов роста и процессинга цитокинов. Ее экспрессия коррелирует с десмоплазией (неправильная ориентация коллагена), которая сопровождает рак поджелудочной железы с метастазированием в лимфатические узлы карциномы молочной железы. Уровень ММР-9 может повышаться в жидкости зубодесневых карманов и слюне пациентов с гингивитами и болезнями пародонта.

Матриксная металлопротеиназа-10 (ММР-10). ММР-10 (также известна как стромелизин-2 и транзин-2) экспрессируется остеокластами, клетками карциномы головы, шеи и легких человека. Сверхэкспрессия ММР-10 в роговичном эпителии у больных диабетом может быть главной причиной наблюдаемых изменений при диабетической ретинопатии. Активная ММР-10 способна расщеплять несколько белков, участвующих в заживлении ран: коллаген типов III и IV, желатин, нидоген, ламинин-1, эластин и протеогликаны. Активный фермент также активизирует про-ММР-1, -7, -8 и -9.

Тканевой ингибитор металлопротеиназы-1 (ТИМР-1). Активность MMPs строго контролируется и ингибируется так называемыми ингибиторами тканевых металлопротеиназ (ТИМРs), которые могут блокировать разрушение экстрацеллюлярного матрикса. Имеются четыре известных ТИМРs (ТИМРs 1-4). Все ТИМРs состоят из двух доменов, фиксируемых шестью дисульфидными связями. Один домен в основном ответственен за ингибирование, в то время как другой домен может связываться с прожелатиназами, а также стимулировать клеточную пролиферацию. Все соединительные ткани содержат ТИМРs. Основные места экспрессии ТИМР-1 находятся в яичниках и костной ткани. ТИМРs ингибируют развитие опухоли, метастазирование и ангиогенез. ТИМР-1 стимулирует синтез ММР-1 в фибробластах.

Тканевой ингибитор металлопротеиназы-2 (ТИМР-2). Экспрессия ТИМР-2 наблюдается и в нормальных, и в опухолевых тканях. Концентрация ТИМР-2 в сыворотке коррелирует как с длительностью ремиссии, так и с выживаемостью у пациентов с раком молочной железы.

Уровень ТИМР-2 в сыворотке крови повышен у пациентов с системным склерозом. Предполагается использовать этот тест для оценки степени малигнизации опухоли.

## 1.6. ФАКТОРЫ РОСТА

Факторы роста - полипептиды с молекулярной массой 5-50 кДа, объединенные в группу трофических регуляторных субстанций. Подобно гормонам, эти факторы обладают широким спектром биологического воздействия на многие клетки - стимулируют или ингибируют митогенез, хемотаксис, дифференцировку. В отличие от гормонов, факторы роста, как правило, продуцируются неспециализированными клетками, находящимися во

всех тканях, и оказывают эндокринное, паракринное и аутокринное действие. Эндокринные факторы вырабатываются и транспортируются к удаленным клеткам-мишеням через кровоток. Достигая своей «цели», они взаимодействуют со специализированными высокоаффинными рецепторами клеток-мишеней. Паракринные факторы отличаются тем, что распространяются путем диффузии. Рецепторы клеток-мишеней обычно расположены вблизи клеток-продуцентов. Аутокринные факторы оказывают воздействие на клетки, являющиеся непосредственным источником этих факторов. Большинство полипептидных факторов роста действует по паракринному или аутокринному типу. Однако отдельные факторы, такие как инсулиноподобный фактор роста (IGF), способны оказывать эндокринное действие.

Регуляция неоангиогенеза. Неоангиогенез - рост новых сосудов. Новообразование сосудов происходит в условиях повреждения клеток и тканей и нередко сопровождается воспалением. Примером могут служить процесс заживления раны, развитие коллатералей при инфаркте миокарда, васкуляризация, связанная с диабетической ретинопатией.

Выделяют следующие стадии неоангиогенеза:

- 1) увеличение проницаемости эндотелия и разрушение базальной мембраны;
- 2) миграция эндотелиальных клеток;
- 3) пролиферация эндотелиальных клеток;
- 4) «созревание» эндотелиальных клеток и ремоделирование сосудов.

Главным механизмом регуляции процессов неоангиогенеза является высвобождение ангиогенных факторов, источниками которых могут быть эндотелиальные клетки, тучные клетки, макрофаги и другие клетки.

Под действием ангиогенных факторов происходит активация эндотелиоцитов (преимущественно в посткапиллярных венулах) и миграция их за пределы базальной мембраны с формированием ответвлений основных сосудов. Предполагается, что в механизме миграции эндотелиоцитов большое значение имеет и активация экспрессии эндотелиальных молекул адгезии, например E-селектина, что наблюдается при неоангиогенезе. В стабильном состоянии эндотелиоциты не пролиферируют и лишь изредка (один раз в 7-10 лет) делятся. Под действием ангиогенных факторов роста и цитокинов происходит активация пролиферации эндотелиоцитов, которая завершается ремоделированием сосуда, после чего вновь сформированный сосуд приобретает стабильное состояние.

Рост новых сосудов детерминирован балансом между его стимуляторами и ингибиторами. При низком значении соотношения стимуляторов к ингибиторам образования сосудов неоангиогенез блокируется или малоинтенсивен; напротив, при высоких значениях соотношения происходит активный запуск неоангиогенеза.

*Стимуляторами неоангиогенеза* являются васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), ангиогенин, эпидермальный фактор роста (EGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста  $\alpha$  (TGF $\alpha$ ), трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ), NO, интерлейкин-8 и неспецифические факторы, такие как матрикс металлопротеиназы (MMPs).

Ингибиторами неоангиогенеза являются эндостатин, растворимые рецепторы VEGF (sVEGFR), тромбоспондин, ангиостатин (фрагмент плазминогена), вазостатин, рестин, ингибиторы MMP (TIMP-1, TIMP-2).

Для раковых клеток характерно увеличение уровня стимуляторов неоангиогенеза. Предполагается, что блокирование опухолевого роста возможно путем подавления образования и активности ростовых факторов ангиогенеза или непосредственным воздействием на вновь образованные, незрелые кровеносные сосуды. Такой способ

воздействия на опухоль не вызывает ее эрадикацию, а всего лишь ограничивает ее рост, переводя заболевание в вялотекущий хронический процесс.

Процесс неоангиогенеза необходим для длительной адаптации тканей в условиях повреждения. При этом происходит частичное поступление факторов роста в кровь, что имеет диагностическое значение.

Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF). Васкулоэндотелиальный фактор - гетеродимерный гликопротеиновый ростовой фактор, продуцируемый различными типами клеток. Идентифицированы, по крайней мере, пять вариантов VEGF-A: VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>183</sub>, VEGF<sub>189</sub>, VEGF<sub>206</sub>. Другие варианты VEGF обозначаются как VEGF-B, -C, -D. VEGF<sub>165</sub> является преобладающей формой для большинства тканей. Саркома Капоши экспрессирует VEGF<sub>121</sub> и VEGF<sub>165</sub>. VEGF<sub>121</sub> и VEGF<sub>165</sub> являются растворимыми формами, тогда как VEGF<sub>189</sub> и VEGF<sub>206</sub> находятся в связанной форме с гепаринсодержащими протеогликанами мембраны. В отличие от других митогенов для эндотелиальных клеток, таких как bFGF (фактор роста фибробластов, основная форма) и PDGF, васкулоэндотелиальный фактор роста синтезируется как предшественник, содержащий 226 аминокислот.

VEGF - потенциальный митоген для эпителиальных клеток сосудов. VEGF оказывает сильное влияние на проницаемость сосудов, является мощным ангиогенным белком в различных биологических экспериментах и, возможно, принимает участие в процессах неоваскуляризации в патологических ситуациях. Наблюдается синергизм действия между VEGF и bFGF на индукцию ангиогенеза. Из способности VEGF воздействовать на проницаемость сосудов следует возможность вовлечения этого ростового фактора в изменение функций гематоэнцефалического барьера в субнормальных и патологических условиях.

Рецепторы васкулоэндотелиального фактора роста (sVEGFR-1, sVEGFR-2). Многие рецепторы цитокинов существуют в растворимой форме, возникающей после протеолитического расщепления рецепторов и отделения с клеточной поверхности. Эти растворимые рецепторы способны связывать и нейтрализовать цитокины в циркуляции. Эндотелиальные клетки вновь образованных сосудов экспрессируют тирозинкиназные рецепторы к VEGF и активно соединяются с ним. Существуют три разных рецептора VEGF-A: VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR), VEGFR-3 (Flt-4). sVEGFR-1 является ингибитором ангиогенеза. Связываясь с VEGF, он препятствует взаимодействию VEGF с клетками-мишенями.

Фактор роста фибробластов (FGF). В настоящее время семейство FGF включает 19 различных белков. Первоначально были охарактеризованы две формы: кислая форма FGFI (aFGF) и основная форма FGF 2 (bFGF).

Формы aFGF и bFGF являются продуктами различных генов и имеют до 53% аминокислотных гомологий. Молекула кислой формы FGF представлена простой полипептидной цепью с молекулярной массой 16 800 Да. Молекулярная масса различных форм bFGF колеблется от 16 800 до 25 000 Да, хотя функциональных различий между молекулярными формами не найдено.

Биологическая активность FGF разнообразна. Они являются митогенами для различных клеток нейроэктодермального и мезенхимального происхождения, потенциальными митогенами и стимуляторами ангиогенеза, поддерживают и стимулируют дифференцировку клеток различных нейрональных типов *in vivo* и *in vitro*. Помимо основной и кислой форм FGF, семейство включает онкобелки int-2 (FGF-3) и hst (FGF-4), FGF-5, фактор роста кератиноцитов и фактор роста эндотелия сосудов. FGF-3 и FGF-4 тесно взаимосвязаны с bFGF, который сам, вероятно, может быть потенциальным онкогеном. Клинические данные подтверждают роль bFGF в опухолевом неоангиогенезе. Так,



повышение уровня этого фактора коррелирует со степенью агрессивности процесса при многих солидных опухолях, лейкозах, лимфомах у детей и у взрослых и может служить прогностическим фактором агрессивности опухолевого процесса.

Эпидермальный фактор роста (EGF). Эпидермальный фактор роста - глобулярный белок с молекулярной массой 6,4 кДа, состоящий из 53 аминокислотных остатков, который действует как сильный митоген на различные клетки эндодермального, эктодермального и мезодермального происхождения. EGF найден в крови, цереброспинальной жидкости, молоке, слюне, желудочном и панкреатическом соках. Фактор роста в моче, известный как урогастрон, также идентичен EGF. Основным местом синтеза EGF являются слюнные железы. EGF контролирует и стимулирует пролиферацию эпидермальных и эпителиальных клеток, включая фибробласты, почечный эпителий, глиальные клетки, клетки гранулы яичников и тиреоидные клетки *in vitro*.

EGF также стимулирует пролиферацию эмбриональных клеток и увеличение высвобождения кальция из костной ткани. Он способствует резорбции кости и является сильным хемоаттрактантом для фибробластов и эпителиальных клеток. EGF сам и в комбинации с другими цитокинами является важнейшим фактором, опосредующим процессы заживления ран и ангиогенеза.

EGF играет важную роль в канцерогенезе. В определенных условиях он может вызывать малигнизацию клеток. EGF индуцирует протоонкогены *c-fos* и *c-myc*. Биологические эффекты иммунореактивного EGF близки к таковым у TGF $\alpha$ . Важно отметить, что оба фактора связываются с одними и теми же клеточными рецепторами. Однако эффективность действия EGF на 50% выше, чем TGF $\alpha$ .

Трансформирующий фактор роста  $\alpha$  (TGF $\alpha$ ). Основной источник TGF $\alpha$  - карциномы. Макрофаги и кератиноциты (возможно, другие эпителиальные клетки) также секретируют этот фактор роста. TGF $\alpha$  стимулирует фибробласты, развитие эндотелия. Является ангиогенным фактором. Как и EGF, TGF $\alpha$  участвует в регуляции пролиферации клеток, а также в регуляции роста опухолевых клеток.

Трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ). Семейство TGF $\beta$  включает группу гомологичных гетеродимерных белков TGF $\beta$ -1, -2, -3 и -4. Основная изоформа, секретируемая клетками иммунной системы, - TGF $\beta$ 1. Все TGF $\beta$  состоят из 112 аминокислотных остатков. Структура TGF $\beta$ 2 имеет гомологию 50% с TGF $\beta$ 1 на протяжении первых 20 аминокислотных остатков и 85% - для фрагмента 21-36. Различий в функциональной активности между TGF $\beta$ 1 и TGF $\beta$ 2 не обнаружено. TGF $\beta$  продуцируется многими типами клеток и тканей: активированными Т-лимфоцитами и макрофагами, тромбоцитами, почками, плацентой.

Фактор продуцируется в неактивной форме, содержащей наряду с основным димером фрагменты дополнительных цепей молекулы-предшественницы. Активация происходит в форме отщепления этих фрагментов с помощью протеиназ (плазмина, катепсина и др.). Мишенями фактора служат также разнообразные клетки, поскольку экспрессия его высокоаффинного рецептора широко распространена. При действии TGF $\beta$  на иммунную систему преобладают ингибирующие эффекты. Фактор подавляет гемопоэз, синтез воспалительных цитокинов, ответ лимфоцитов на IL-2, -4 и -7, формирование цитотоксических NK- и Т-клеток. В то же время он усиливает синтез белков межклеточного матрикса, способствует заживлению ран, оказывает анаболическое действие.

В отношении полиморфноядерных лейкоцитов TGF $\beta$  выступает как антагонист воспалительных цитокинов. Выключение гена TGF $\beta$  приводит к развитию фатальной генерализованной воспалительной патологии, в основе которой лежит аутоиммунный процесс. Таким образом, он является элементом обратной регуляции иммунного ответа и, прежде всего, воспалительной реакции. В то же время TGF $\beta$  важен и для развития

гуморального ответа: он переключает биосинтез иммуноглобулинов на IgA-изотип. Стимулирует ангиогенез. Уровень TGF $\beta$  в плазме крови положительно коррелирует с васкуляризацией опухоли.

Тромбоцитарный фактор роста (PDGF). PDGF - один из потенциальных митогенных полипептидов, содержащихся в крови человека. Состоит из двух цепей - А и В, связанных в AA-, BB- и AB-изоформы. Эти три изоформы отличаются как по функциональным свойствам, так и по способу секреции. Если AA- и AB-формы быстро секретируются из клетки продуцента, то BB-форма остается в основном ассоциированной с продуцирующей клеткой. Только димерные формы PDGF могут связываться с рецепторами. Выделены два различных типа рецепторов, один специфичный для AA-гомодимера, другой связывает BB- и AB-димеры. Источником PDGF в сыворотке крови являются  $\alpha$ -гранулы тромбоцитов, хотя макрофаги и клетки эндотелия также могут продуцировать этот фактор. На определенных стадиях клетки плаценты и клетки гладких мышц аорты новорожденного тоже служат источником PDGF.

Структурная идентичность В-цепи и протоонкогена *c-sis* свидетельствует о том, что PDGF может играть определенную роль в вирусиндуцированной злокачественной трансформации инфицированных клеток. PDGF участвует в регуляции процессов острого воспаления, заживления ран и образования рубца. PDGF, выделяющийся из альвеолярных макрофагов, участвует в развитии легочного фиброза. Установлено также, что с PDGF связано развитие атеросклероза, гломерулонефрита, миелофиброза и образование келоида. Как и EGF, PDGF индуцирует экспрессию протоонкогенов, таких как *fos*, *myc* и *jun*.

Плацентарный фактор роста (PLGF). Гликопротеин с молекулярной массой 46-50 кДа. Принадлежит к семейству эпидермального фактора роста. Существуют две изоформы PLGF: PLGF-1 и PLGF-2, различающиеся наличием у PLGF-2 гепаринсвязывающегося домена. PLGF обеспечивает пролиферацию вневорсинчатого трофобласта. Концентрация возрастает в 4 раза от конца I к концу II триместра физиологически протекающей беременности. Подобно EGF, PLGF обладает выраженными ангиогенными свойствами.

Фактор роста гепатоцитов (HGF). Фактор роста гепатоцитов, также называемый рассеивающим фактором (SF), состоит из двух субъединиц, связанных дисульфидной связью:  $\alpha$ -субъединицы (69 кДа) и  $\beta$ -субъединицы (34 кДа). HGF - мультифункциональный цитокин, действующий как митоген, что связано с его функцией в органогенезе и тканевой репарации. Он обладает способностью стимулировать формирование сосудов крови и клеточную пролиферацию, что предполагает его вовлеченность в злокачественный рост и метастазирование в легких, груди, поджелудочной железе, аденокарциномы, множественной миеломы и гепатоцеллюлярной карциномы. В опухолевых клетках рака груди HGF сильно индуцирует экспрессию белка bcl-x и, таким образом, ингибирует апоптоз. HGF постоянно продуцируется стромальными клетками костного мозга и стимулирует гемопоэз.

Оксид азота (NO). Является важнейшим регулятором гомеостаза. Это неорганический газообразный свободный радикал, продуцируемый в низких дозах постоянно и в высоких дозах индуцибельно различными типами клеток. Многие клетки осуществляют свою функцию через продукцию NO. Например, макрофаги в некоторых состояниях ингибируют пролиферацию лимфоцитов NO-зависимым механизмом. NO характеризуют как сильный медиатор натуральных супрессорных клеток в костном мозге. Установлено, что интерферон- $\gamma$  является индуктором NO-синтеза.

Оксид азота отвечает за вазодилататорный эффект релаксирующего фактора, выделяемого эндотелием. В ответ на повреждение эндотелий сосудов вырабатывает семейство аминокислотных пептидов, называемых эндотелинами. Полагают, что вазодилататорное действие NO направлено против вазоконстрикторного эффекта эндотелинов.

Матрикс металлопротеиназы (MMPs). MMPs человека представляют собою семейство матриксразрушающих протеиназ. MMPs обладают деградирующей способностью в отношении почти всех компонентов внеклеточного матрикса, встречающихся в соединительных тканях (коллаген, фибронектин, ламинин, протеогликаны и др.). Помимо сходства на уровне аминокислотной последовательности, все MMPs образуются из неактивных предшественников, которые превращаются в активные субстрат-деградирующие протеиназы под воздействием внеклеточных факторов. Источниками образования MMPs являются фибробласты, макрофаги, гладкомышечные клетки сосудистой стенки, нейтрофилы. Любая опухоль является мощным индуктором образования MMPs в клетках стромы. Способствуя инвазии опухолевого роста и метастазированию, MMPs в то же время являются мощными стимуляторами неоангиогенеза. Эндогенные и синтетические ингибиторы MMPs используются в качестве потенциальных противоопухолевых агентов, основное назначение которых - подавление неоангиогенеза.

Эндостатин . Биологически активный С-терминальный фрагмент коллагена VIII с молекулярной массой 20 кДа. Относится к семейству коллагеноподобных белков. Для того чтобы избежать избыточного роста сосудов в нормальных условиях, процессы образования новых сосудов и ремоделирования исходных сосудов находятся под контролем соответствующих факторов роста. В течение опухолевого ангиогенеза наблюдается проникновение сосудов внутрь растущей опухолевой массы. Эндостатин специфически ингибирует пролиферацию эндотелиальных клеток.

Соответственно ингибирует ангиогенез и рост опухоли. В настоящее время проведение терапии с помощью эндостатина проходит первую фазу клинических испытаний.

Другие диагностически значимые факторы роста

Фактор стволовых клеток (SCF). Продуцентами SCF являются костномозговые стромальные клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки, клетки Сертоли. Его основные клетки-мишени - стволовые кроветворные клетки, ранние коммитированные предшественники клеток различных кроветворных рядов и тучные клетки. Фактор стволовых клеток активирует дифференцировку мультипотентных клеток-предшественников синергично с IL-3, GM-CSF и IL-7 и эритропоэтином. Он участвует в поддержании пролиферации наиболее юных форм предшественников Т-лимфоцитов в тимусе. В отношении тучных клеток он является основным фактором роста и хемотаксическим агентом.

SCF играет важную клиническую роль, являясь индуктором дифференциации предшественников лимфоцитов и эритроцитов. Определение SCF представляет значительный интерес при лечении миелодиспластического синдрома и после трансплантации костного мозга.

Фактор, ингибирующий лейкозные клетки (LIF). LIF усиливает пролиферацию предшественников гемопоэтических клеток. Показано, что LIF вызывает развитие синдрома кахексии у раковых больных. Компонент рецептора LIFgp130 (CD 130) входит в состав рецепторов для IL-6 и IL-11.

Нейротропный фактор головного мозга (BDNF). Вместе с этим фактором в семейство входят фактор роста нервов, нейротропин-3 и нейротропин-4. BDNF стимулирует рост нервной ткани, главным образом холинергических нейронов головного мозга. Показано, что BDNF воздействует на рост, метаболизм и внутреннюю структуру этих клеток. Главное предназначение нейротропных факторов - защита нейронов от апоптоза.

## 1.7. СИСТЕМА ИНТЕРФЕРОНОВ

Эти белки обладают противовирусной и иммуномодулирующей активностью. Молекулы интерферонов человека делятся на три основных типа, продуцентами которых преимущественно являются макрофаги и В-клетки:  $IFN\beta$  и  $IFN\alpha$ , продуцируемые фибробластами, и  $IFN\gamma$ , который синтезируют главным образом активированные Т-хелперы, относящиеся к субпопуляции Th1. Т-клетки продуцируют  $IFN\gamma$  в результате стимуляции Т-клеточными митогенами, антителами против CD3, специфическими вирусными антигенами.

Различают три класса человеческого интерферона (IFN):

- 1)  $\alpha$ -интерферон, продуцируется лейкоцитами, известно 20 субтипов;
- 2)  $\beta$ -интерферон, продуцируется фибробластами, известно 9 субтипов;
- 3)  $\gamma$ -интерферон, продуцируется лимфоцитами, ЕК, известен один субтип.

В общем виде свойства интерферонов представлены в табл. 1.5.

Таблица 1.5. Свойства интерферонов

Показатель	Интерфероны		
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
Клетки-продуценты	Лейкоциты	Фибробласты	Т-лимфоциты
Количество изоформ	>20	>9	1
Индукторы	Вирусы, бактериальные продукты, полимеры	Синтетические митогены	Т-лимфоциты, лектины, антигены
Антигенная специфичность	+	+	+
Устойчивость при pH 9,0	+	+	-
При 56 °C - 1 ч	Устойчив	Устойчив	Устойчив
Молекулярная масса, кДа	17,5-22	20	38-68
Биологическая активность	Противовирусная		Иммуномодулирующая
Локализация генов	Хромосома 9 Хромосома 2,5		Хромосома 11

У ВИЧ-инфицированных лиц в большей степени нарушена функция Th1 (продуцирующих IL-2 и  $IFN\gamma$  и, следовательно, снижена функциональная активность НК-клеток), чем Th2 (продуцирующих IL-4 и IL-5, усиливающих антителообразование). Показано, что у больных СПИДом в начальный период заболевания значительно увеличивается концентрация  $IFN\gamma$ .  $IFN\gamma$  повышается в плазме при тяжелой цитомегаловирусной инфекции.  $IFN\alpha$  существует, как минимум, в 20 вариантах с молекулярной массой от 19 до 26 кДа.  $IFN\alpha$  обладает выраженной антивирусной,

антипаразитарной и антипролиферативной активностью. IFN $\alpha$  продуцируется макрофагами, моноцитами, лимфобластами и фибробластами, а также различными типами вирус-активированных клеток.

Он используется при лечении карциномы почки и саркомы Капоши. Уровень IFN $\alpha$  повышается в плазме при аутоиммунных заболеваниях, при СПИДе, миастении (см. табл. 1.5).

Интерферон действует только тогда, когда клетки имеют рецепторы к нему, поэтому в организме имеются клетки, чувствительные и нечувствительные к IFN. Комплекс рецептор-IFN путем эндоцитоза попадает внутрь клетки. Если комплекс попадает в клетку без рецептора, то антивирусная активность отсутствует. Комплекс рецептор-IFN активирует фермент нуклеазу, которая разрушает ДНК-генома вируса. Активация протеинкиназы приводит к блоку иницирующих белков вируса, т. е. не происходит синтеза вирусных белков. Таким образом, IFN оказывает опосредованное антивирусное действие.

*Интерферон-гамма (IFN $\gamma$ )* продуцируется активированными Т-лимфоцитами и активированными естественными киллерами (ЕК). Продукция IFN $\gamma$  Т-лимфоцитами запускается при распознавании комплекса антигенного пептида с собственными молекулами гистосовместимости (МНС 1-го или 2-го класса), соответствующим ТКР, и регулируется другими цитокинами: типичным стимулятором - IL-2 и типичным ингибитором - IL-10. Уровень продукции IFN $\gamma$  при иммунном ответе в значительной степени определяется доминированием определенной субпопуляции: Th1 или Th2. Продукция IFN $\gamma$  естественными киллерами запускается при их взаимодействии с клетками-мишенями (опухолевыми, зараженными вирусами) и усиливается некоторыми цитокинами, в частности IL-12, который является продуктом активированных макрофагов или Т-лимфоцитов.

IFN $\gamma$  является плейотропным цитокином, эффекты которого можно суммировать следующим образом:

- обладает широким спектром противовирусного, противопаразитарного и противоопухолевого действия; имеет многочисленные иммуномодуляторные эффекты, включая стимуляцию экспрессии антигенов тканевой совместимости классов I и II;
- оказывает необратимое цитотоксическое действие на трансформированные клетки, тогда как его цитостатическое влияние на нормальные клетки обратимо;
- усиливает цитотоксические реакции, опосредованные Т-лимфоцитами и НК-клетками;
- одновременно селективно повышает резистентность нормальных клеток к цитопатическим эффектам НК-клеток.

Кроме того, IFN $\gamma$  оказывает необратимое цитотоксическое действие на трансформированные клетки, тогда как его цитостатическое влияние на нормальные клетки обратимо. IFN $\gamma$  усиливает цитотоксические реакции, опосредованные Т-лимфоцитами и НК-клетками. Одновременно IFN $\gamma$  селективно повышает резистентность нормальных клеток к цитопатическим эффектам НК-клеток.

Одной из важнейших функций IFN $\gamma$  является активация эффекторных функций макрофагов: их микробицидности и цитотоксичности, продукции ими цитокинов, супероксидных и нитроксидных радикалов, простагландинов.

IFN $\gamma$  участвует в обеспечении прочной адгезии лимфоцитов к эндотелиальным клеткам в посткапиллярных венах перед их выходом из сосудов, повышает проницаемость эндотелия для макромолекул. В сочетании с TNF $\alpha$  он индуцирует продукцию хемокинов RANTES.

Таким образом,  $IFN\gamma$  играет важную роль в функционировании иммунной системы, повышая эффективность презентации антигенов и способствуя их распознаванию Т-лимфоцитами (рис. 1.6).

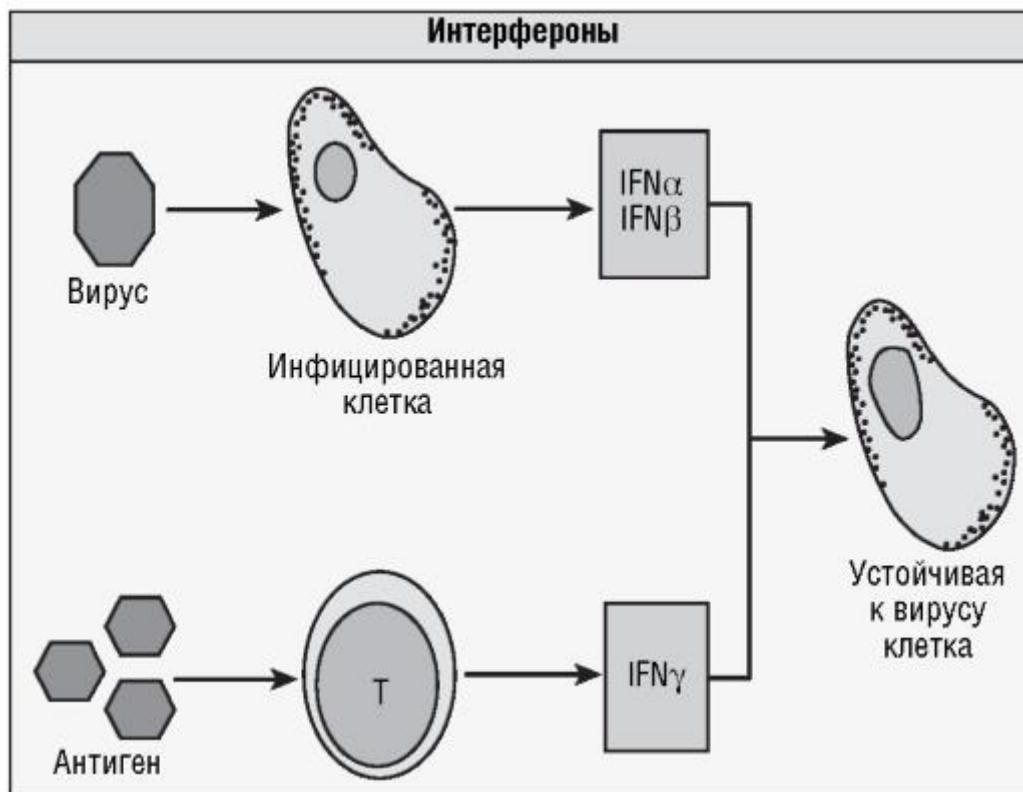


Рис. 1.6. Опосредованная индукция интерферонов- $\alpha$  или - $\gamma$  инфицированными клетками и Th1

## 1.8. СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА

Среди гуморальных антигеннеспецифических факторов иммунной защиты важнейшее место занимают белки системы комплемента, которые сами обладают антимикробными свойствами и способны активировать другие гуморальные и клеточные факторы механизмов иммунной защиты организма. Эти белки являются нормальными компонентами сыворотки крови человека и животных и в обычных условиях недееспособны, но приобретают иммунобиологическую активность в результате последовательной активации компонентов системы. Система комплемента обеспечивает:

- 1) опсонизацию микробов для поглощения их фагоцитами;
- 2) непосредственное уничтожение микроорганизмов путем лизиса;
- 3) активацию и хемотаксическое привлечение лейкоцитов в очаг воспаления;
- 4) процессинг (специфическое расщепление) иммунных комплексов;
- 5) снижение порога активации В-лимфоцитов (рис. 1.7).

Активация системы комплемента происходит в результате воздействия агентов (вирусы иммунодефицита человека и парагриппа, кишечная палочка, сальмонеллы, микробные липополисахариды, основной белок миеллина, денатурированная ДНК, яд змей, холод и др.) на циркулирующие в крови белки системы комплемента, которые, в свою очередь, активируют последующие компоненты системы по «каскадному» типу (рис. 1.8).

Наиболее часто уровень комплемента снижается при туберкулезе, пневмониях у детей, тонзиллите, доброкачественных и злокачественных образованиях,

аутогемолитической анемии, системной красной волчанке, при остром гломерулонефрите (уровень С3-компонента комплемента в острой фазе может составлять 25% нормы), подостром бактериальном эндокардите, остром суставном ревматизме, первичном билиарном циррозе печени (табл. 1.6).

При дефиците отдельных компонентов наблюдается ослабление активности системы комплемента (СК) в целом, что служит причиной склонности к повторяющимся или внезапным тяжелым инфекциям. Дефицит компонента С3 или фактора В приводит к повышению чувствительности организма к гнойным инфекциям. Недостаточность терминальных компонентов С5, С6, С7 и С8, а также компонентов альтернативного пути - фактора D и пропердина - создает особую предрасположенность к инфекциям, вызываемым двумя видами *Neisseria* - *N. gonorrhoeae* и *N. meningitidis*.

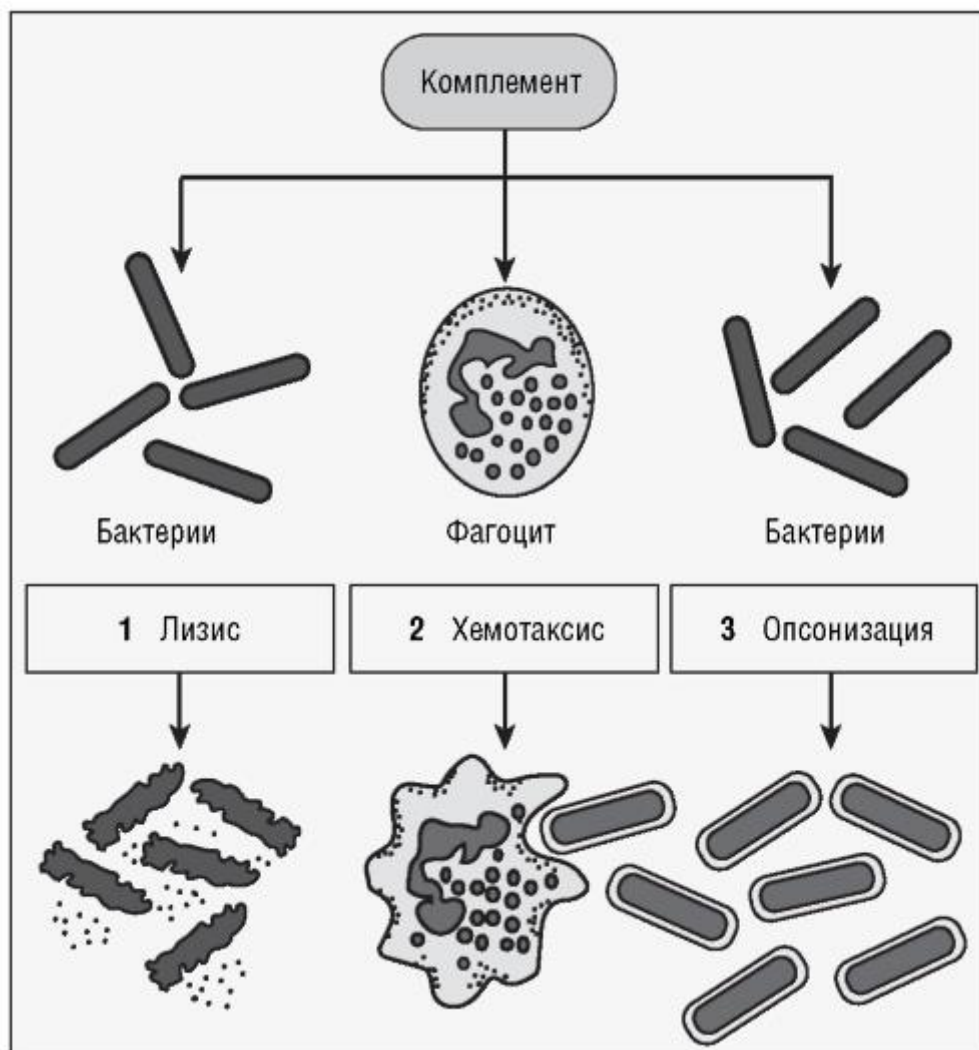


Рис. 1.7. Свойства системы комплемента (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Дефицит некоторых компонентов классического пути (C1q, C1г и C1s, C4 или C2) ассоциирован с предрасположенностью к заболеваниям, которые обусловлены нарушениями в формировании и клиренсе иммунных комплексов, например с возникновением системной красной волчанки (СКВ). Причиной аутоиммунного повреждения тканей и хронического воспаления может также стать неспецифическая, спонтанная активация комплемента. Особенность диагностики нарушений СК состоит в том, что сывороточный уровень отдельных компонентов часто плохо коррелирует с клиническим состоянием пациента. Важную дополнительную информацию о состоянии системы комплемента и иммунного гомеостаза в целом дает определение ингибитора C1 (рис. 1.9).

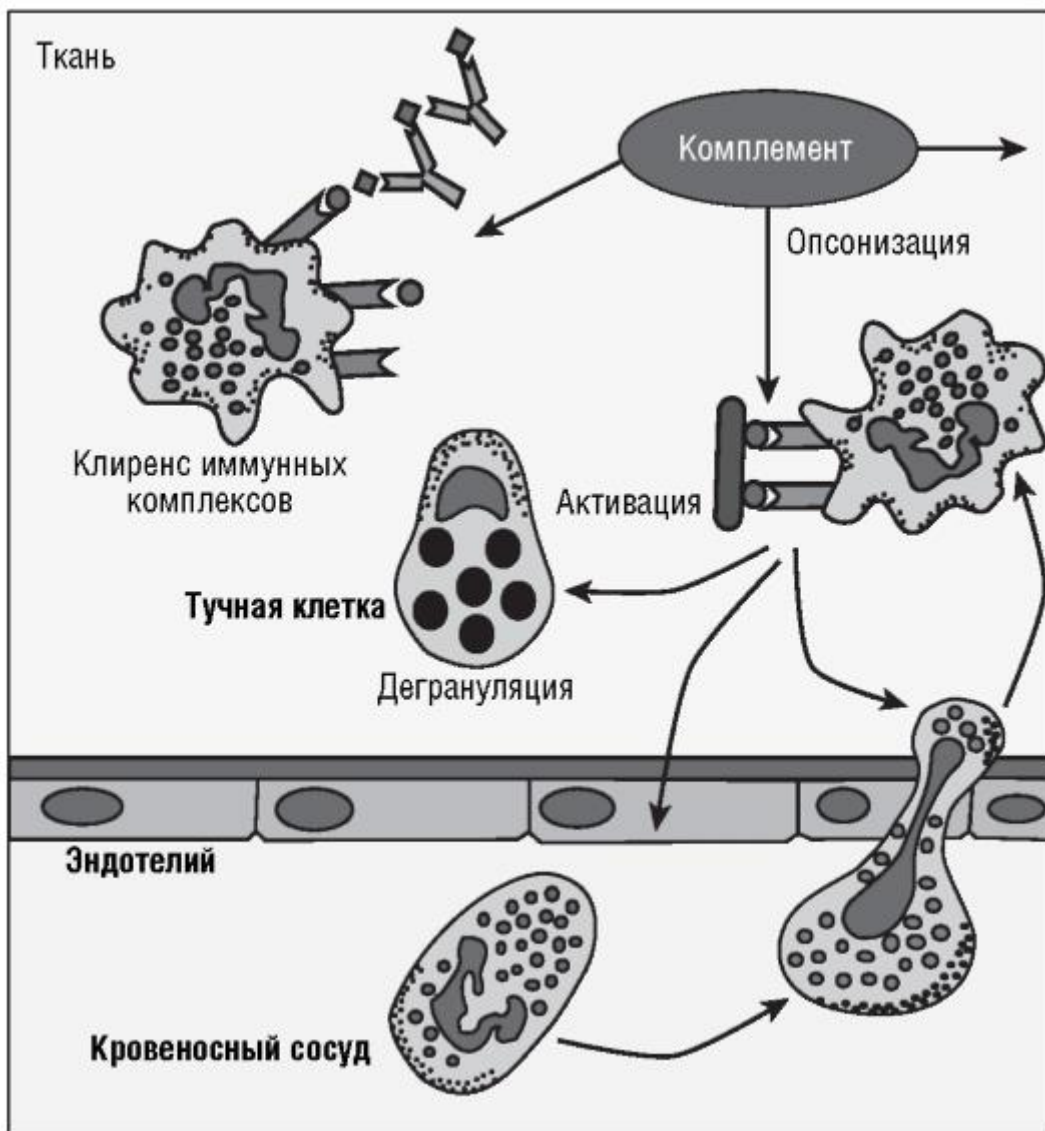


Рис. 1.8. Роль комплемента в воспалении (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Непосредственные эффекторные функции системы комплемента связаны с активацией. Существуют три пути активации системы комплемента.

1. *Классический путь* - инициируется антителами, связанными с поверхностью клеток-мишеней. Для его запуска необходим контакт с инфекционными агентами и образованием специфических антител. являются наиболее эффективными активаторами, но свободный плазмы крови не активирует систему комплемента. Выраженными активаторами являются и IgG1, IgG3. IgG2 обладает слабой активирующей активностью. IgG4 не способен связываться с C1. Соединение с C1 иммуноглобулинов зависит от присутствия ионов  $Ca^{2+}$ . Если ионы  $Ca^{2+}$  отсутствуют, то активации не происходит. После связывания C1 с комплексом антиген-антитело субкомпонент C1s приобретает ферментативную активность и способен расщеплять следующий компонент - C4 на C4a и C4b. C4a остается в растворенном состоянии, C4b ковалентно связывается с поверхностью комплекса антиген-антитело (или с рецепторами инфекционного агента, или с другой активирующей субстанцией), затем присоединяет C2 с последующим образованием комплекса C4b2a, который называется C3-конвертазой классического пути, и последующим образованием мембраноатакующего комплекса C5-C9.



Таблица 1.6. Заболевания, наиболее часто ассоциирующиеся с недостаточностью белков системы комплемента и их рецепторов

Белки	Клинические проявления
C1q	Системная красная волчанка (СКВ) и сходные синдромы, уртикарные васкулиты
C1r/C1s	СКВ и сходные синдромы, васкулиты
C2	СКВ и сходные синдромы, гломерулонефриты, дерматиты, васкулиты
C4	СКВ и сходные васкулиты
C3	Аутоиммунные гломерулонефриты, коллагенозы, рецидивирующие пиогенные инфекции
C5	Частые нейссерияльные инфекции, СКВ и сходные синдромы
C6, C7, C8, C9	Рецидивирующие нейссерияльные инфекции
Пропердин	Рецидивирующие пиогенные инфекции, молниеносное течение менингококкового сепсиса
Фактор D	Рецидивирующие пиогенные инфекции
C1ing	Псевдоаллергический ангионевротический отек, склонность к аутоиммунным заболеваниям
Фактор H	СКВ и сходные синдромы, гломерулонефриты
Фактор I	Рецидивирующие пиогенные инфекции и СКВ-подобные синдромы
CR-1	СКВ и сходные синдромы
CR-3	Позднее отпадение пупочного канатика, рецидивирующие пиогенные инфекции, лейкоцитоз

2. *Альтернативный путь* - в активации альтернативного пути участвуют шесть белковых факторов - В, D, Р, Н, I, а также общий для всех путей компонент С3. Ключевая стадия альтернативного пути СК - формирование С3/С5-конвертазы альтернативного пути - С3bnBb.

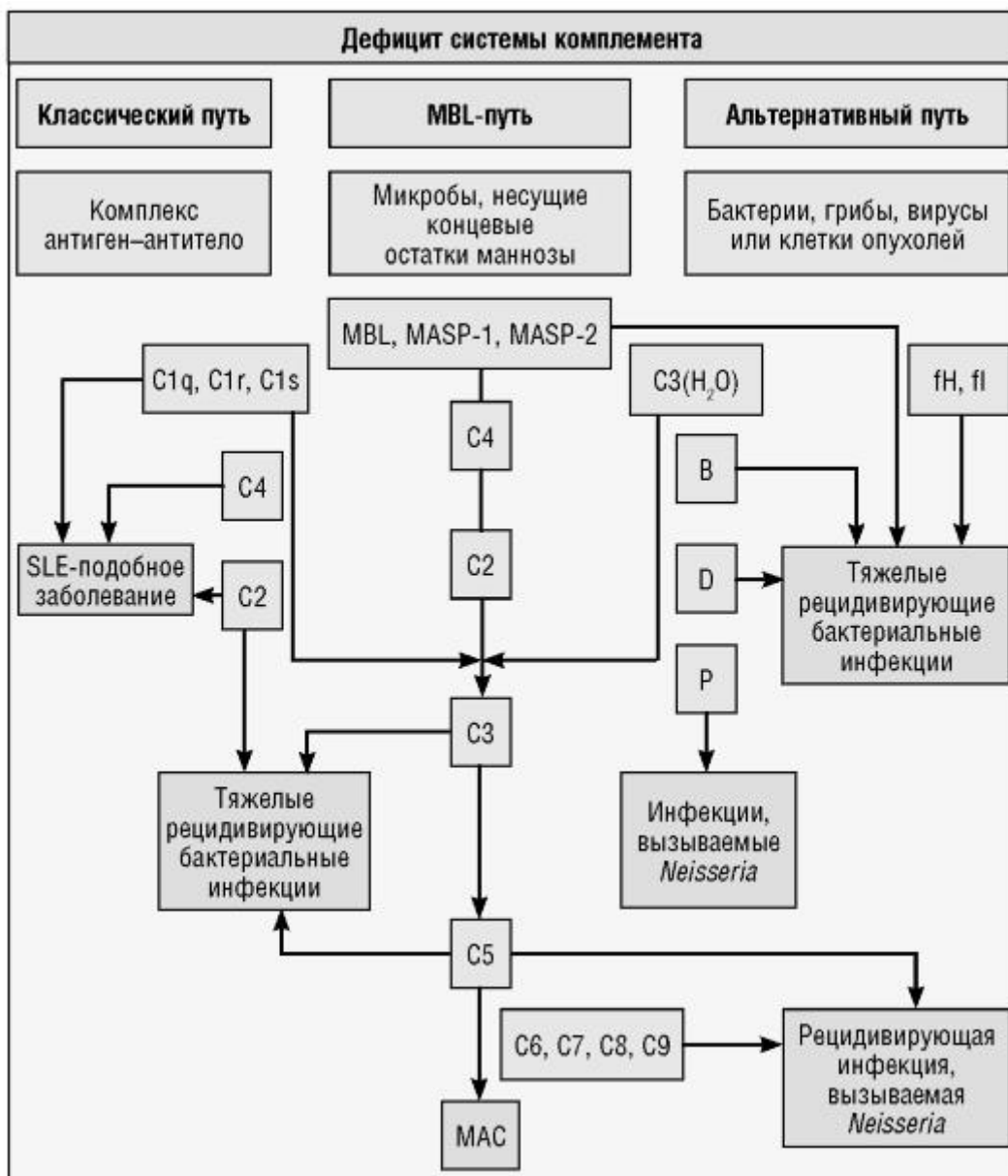


Рис. 1.9. Дефицит и дисфункции системы комплемента, приводящие к различным вариантам патологии (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Дефицит любого белка альтернативного пути СК проявляется повышенной чувствительностью к инфекционным заболеваниям. Из дефицитов компонентов альтернативного пути описаны дефицит фактора D у пациентов с повторными инфекциями, вызванными нейссериями, а также дефицит пропердина. Около 45% пациентов с дефицитами пропердина перенесли менингококковую инфекцию, при этом летальность составила более 25%.

*Фактор D (адипсин)* - сериновая протеаза, необходимая для формирования C3/C5-конвертазы альтернативного пути. Фактор D - специфичный фермент, его единственным естественным субстратом служит фактор В, причем для расщепления фактора В необходимо, чтобы он был связан с фрагментом C3b, тогда при участии фактора D происходит отщепление фрагмента Ba и формирование C3/C5-конвертазы - C3bBb. Фактор D экспрессируется различными типами клеток: моноцитами, макрофагами, миоцитами, клетками эндометрия, почек, тонкой кишки, а в особенности адипоцитами. Катаболизм фактора D непосредственно связан и с функцией почек. В случае почечной недостаточности уровень циркулирующего фактора D значительно возрастает. Напротив, практически все

случаи дефицитов фактора D являются врожденными, а не приобретенными. Вероятно, при ускоренном катаболизме факторов альтернативного пути прежде всего происходит истощение фактора B и компонента C3, а фактор D при активации практически не расходуется. Поскольку обычно дефициты фактора D являются наследуемыми, то имеет смысл проводить скрининг среди родственников пациентов. Все случаи дефицита фактора D ассоциированы с низкой сопротивляемостью организма против патогенов бактериальной природы. Особое внимание требуется обратить на пациентов, подверженных частым заболеваниям менингитом. Пациенты с врожденным гомозиготным и гетерозиготным дефицитами фактора D характеризуются повышенной чувствительностью к развитию менингита. Исследования показывают плохую опсонизацию *N. meningitidis* факторами альтернативного пути, из-за чего страдает эффективность фагоцитоза.

*Фактор P (пропердин)* играет стабилизирующую роль в сохранении активности C3/C5-конвертаз альтернативного пути, увеличивая период полураспада в 10 раз. Пропердин в крови существует в неактивной форме. Его активация происходит в результате контакта с C3bBb и, по-видимому, обусловлена конформационными изменениями молекулы. Активированный пропердин связывается с C3b или C3b-подобным белком в конвертазе и стабилизирует ее, тем самым индуцируя активацию альтернативного пути, продлевая время существования конвертаз. Нормальная концентрация пропердина в сыворотке - 20 мкг/мл, молекулярная масса 220 кДа. Пропердин, как правило, используют также как маркер повышенного риска заболевания менингококковой инфекцией.

3. *Лектиновый путь* является антителонезависимым, что важно для формирования быстрого иммунного ответа в том случае, когда организм еще не выработал антител против возбудителя. Вероятно, что лектиновый путь не является самостоятельным, а лишь вариантом классического пути, не требующего участия антител. Вместо C1 инициация сборки начинается с маннансвязывающего лектина (C1q-подобная субъединица) - MBL и несколько ассоциированных с MBL сериновых протеаз (MASP), которые обеспечивают ферментативную активность. Как и в классическом пути, образование этого иницирующего комплекса зависит от ионов  $Ca^{2+}$ . MBL связывает простые углеводы - маннозу и N-ацетилглюкозамин, присутствующие в клеточной стенке микроорганизмов (бактерии, грибы, вирусы). Это приводит к конформационным изменениям MBL, активирующим MASP. Затем эти ферменты расщепляют C2 и C4. Далее активация протекает характерно классическому пути активации комплемента. Нормальный уровень MBL находится в пределах от 10 до 5000 нг/мл. Среди европеоидов более 12% популяции имеют уровень MBL ниже 100 нг/мл. Уровень MBL ниже 100 нг/мл относят к одному из типов иммунодефицитов.

Таким образом, примерно у 10% предположительно здорового населения в действительности имеется дефицит MBL. Низкая активность MBL может приводить к различным клиническим проявлениям, таким как возвратные инфекционные заболевания, болезнь Крона. Пониженная активность MBL также ассоциирована с повышенным риском развития сепсиса, фиброза, аутоиммунных поражений (например, ревматоидный артрит, системная красная волчанка) и привычного невынашивания беременности. При диагностике необходимо учитывать, что в период инфекционного заболевания содержание MBL всегда повышается по сравнению с его базовым уровнем. Важен уровень MBL и для прогноза в трансплантологии. При концентрации MBL ниже 100 нг/мл долгосрочный прогноз приживаемости почки и сердца после пересадки значительно ухудшается. Напротив, относительно высокий уровень MBL (более 1000 нг/мл) ассоциирован с риском сердечно-сосудистых заболеваний, инфаркта миокарда, особенно на фоне развития сахарного диабета.

MASP-2 расщепляет C2 и C4, образуя C3-конвертазу - C4b2a. По своей функциональной активности MASP-2 подобна протеазе C1s. C1-ингибитор и  $\alpha_2$ -макрोगлобулин в физиологических концентрациях полностью блокируют ферментативную активность комплекса MBL- MASP-2. В отсутствие ингибитора этот комплекс опсонизирует бактерии, резко ускоряя их гибель. Нормальный уровень MASP-2 в сыворотке составляет

170-1200 нг/мл. Пониженная концентрация MASP-2 свидетельствует о высокой чувствительности к инфекционным заболеваниям. Кроме того, MASP-2 - прогностический маркер развития злокачественных опухолей пищевода и прямой кишки, повышенный уровень этой протеазы - неблагоприятный фактор при онкологических заболеваниях.

Перспектива всесторонней оценки состояния лектинового пути активации СК методом ИФА заключается в:

- 1) изучении активности MBL по связыванию с маннаном;
- 2) количественном определении MASP-2;
- 3) определении общей активности комплекса MBL-MASP-2 по способности расщеплять компонент C4.

Уровень MBL обычно коррелирует со способностью депонировать C4b, однако при одной и той же концентрации MBL величина депонирования может варьировать в 3 раза. Количество депонированного C4b - лучший количественный показатель активации лектинового пути, поскольку это одновременная оценка активности MBL и MASP-2 при функционировании в комплексе.

*Продукты активации системы комплемента (ТСС, фрагменты C3adesArg, C4a-desArg, C5a-desArg).* Заключительная фаза атаки мембраны начинается с расщепления компонента C5 на два фрагмента - C5a и C5b. Этот процесс осуществляет C5-конвертаза (одного из путей активации), которая отщепляет фрагмент C5a от N-конца  $\alpha$ -цепи молекулы C5. Образующийся фрагмент C5a обладает очень сильной анафилактической активностью, а также способностью осуществлять хемотаксис. В результате активации классического пути образуется всего три анафилотоксина (фрагменты C3a, C4a, C5a). Эти же анафилотоксины образуются и при активации СК по другим механизмам: при активации альтернативного пути - C3a, C5a, при активации лектинового пути - C4a, C5a. Фрагменты C3a и C4a несколько уступают по хемотаксическому и анафилактогенному действию фрагменту C5a. В отсутствие механизма регуляции действие анафилотоксинов может привести к анафилактическому шоку. Быстрая инактивация анафилотоксинов C3a, C4a и C5a достигается удалением аргинина с карбоксильного конца этих пептидов с помощью специального сывороточного фермента - карбоксипептидазы В. При этом образуются формы: C3a-desArg, C4a-desArg и C5adesArg. Таким образом, фрагменты C3a-desArg, C4a-desArg и C5a-desArg являются маркерами анафилактической реакции, воспаления и риска отторжения трансплантата.

Все три пути активации СК ведут к сборке терминального (ТСС), или мембраноатакующего комплекса (МАК); корректнее рассматривать, что МАК - частный случай ТСС, когда сборка произошла именно на клеточной мембране. После расщепления компонента C5 на фрагменты C5a и C5b происходит быстрый неферментативный процесс образования C5b-C6-C7-C8-C9n - цитолитического комплекса на клеточной мембране атакуемой клетки. Молекулы компонента C9 (от 12 до 21 молекул на комплекс) прошивают насквозь клеточную мембрану, формируя цилиндрический канал. Образующееся отверстие диаметром около 100 ангстрем позволяет низкомолекулярным веществам свободно проходить внутрь клетки. Образовавшийся МАК действует настолько эффективно, что для лизиса прокариотической клетки может быть достаточно одного комплекса C5b-C9n. Молекулярная масса C5b-C9n

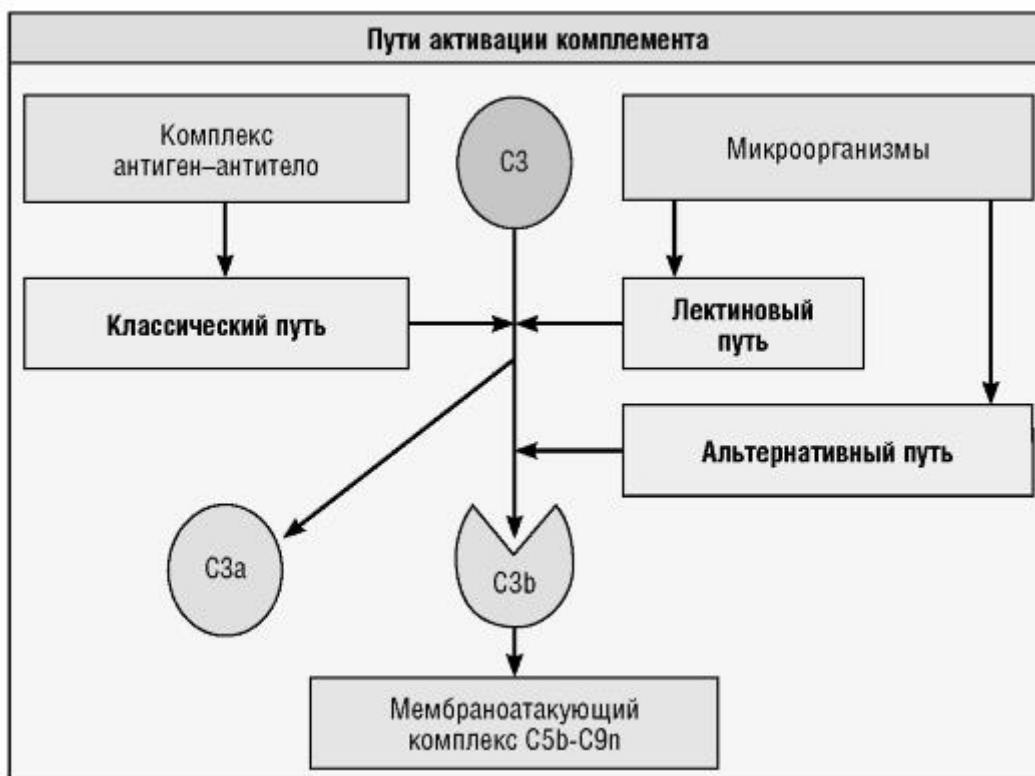


Рис. 1.10. Активация комплемента приводит к появлению C3-конвертазы, превращающей C3 в C3b, который активирует сборку мембраноатакующего комплекса. Лектиновый путь, как и альтернативный, запускается без участия антител, за счет остатков сахаров, образующих участки связывания на поверхности бактерий (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007) порядка 1700 кДа (550 кДа - масса C5b-8 и 1100 кДа - средняя масса поли-C9-структуры).

Сборка комплекса C5b-C9n может происходить и в жидкой фазе при участии S-белка (витронектина) - фактора гомологичной рестрикции, который защищает клетки организма от аутоиммунной агрессии. Некоторые клетки (например, нейтрофилы человека) способны защищаться от лизиса путем локального выпячивания мембраны, которое затем полностью отделяется от клетки в виде везикулы, унося на себе МАК. Так или иначе, даже в здоровом организме растворимые формы ТСС присутствуют, поскольку активация СК происходит постоянно. Но в случае инфекционного заболевания, воспалительного процесса мощность активации СК резко повышается, соответственно возрастает и уровень ТСС, который служит надежным маркером воспаления. Уровни ТСС можно определять методом ИФА (рис. 1.10).

### 1.9. КЛЕТОЧНЫЕ АНТИГЕННЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Стволовые клетки. В настоящее время в мире наблюдается огромный интерес к стволовым клеточным элементам. И это представляется вполне оправданным, ибо при целом ряде патологий трансплантация стволовых кроветворных клеток (СКК) является единственно возможной помощью.

Реальными источниками СКК у человека для практического применения являются костный мозг и периферическая кровь, возможно применение СКК из пупочной вены и плаценты, из печени эмбрионов человека, из желточного мешка, из парааортальной области и из циркуляции у эмбрионов. Они обладают целым рядом преимуществ по своим характеристикам перед СКК взрослого организма. Наиболее перспективным источником СКК следует считать эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), которые являются онтогенетическими предшественниками СКК.

Признанным маркером для СКК является молекула CD34, она не регистрируется на ЭСК. Обладая адгезивными свойствами, CD34 характеризует способность СКК дифференцироваться в направлении кроветворных клеток. Данные литературы свидетельствуют, что ЭСК могут дифференцироваться в клетки практически всех тканей организма, а СКК дифференцируются в кроветворные клетки.

Ряд различий, имеющих между ЭСК и СКК, скорее может свидетельствовать об изменениях, необходимых для процесса адаптации клеток к меняющимся условиям микроокружения. Так, например, показано, что протеин-4 костного морфогенеза является необходимым фактором усиления дифференцировки ЭСК обезьян в СКК. Не исключено, что и во взрослом организме существуют субпопуляции стволовых клеток, для которых этот фактор также будет выполнять роль регулятора дифференцировки, хотя он и не оказывает влияния на зрелые СКК.

Естественно, механизм (или механизмы) дифференцировки ЭСК в СКК остается невыясненным. Теоретически она возможна.

Система дендритных клеток. Впервые дендритные клетки (ДК) были открыты немецким ученым Лангергансом в 1868 г. в коже. Однако в 1973 г. R. Steinman и Z. Conn обнаружили подобные клетки в селезенке мыши и определили их как новый тип лимфоидных клеток, характеризующихся наличием многочисленных цитоплазматических отростков, низкой плотностью, высокой подвижностью и способностью индуцировать мощный иммунный ответ. В настоящее время установлено, что ДК происходят из костномозговых предшественников миелоидного и лимфоидного ряда и до встречи с АГ находятся в незрелом состоянии. Захватывая и процессируя АГ, они проходят стадию созревания и мигрируют в лимфатические узлы и селезенку, где выполняют АГ-представляющую функцию. ДК образуют функционально единую систему морфологически сходных клеток, распределенных по всему организму. Наиболее многочисленны их популяции в слизистых оболочках и коже (входные ворота поступления АГ), а также в органах иммунной системы (область наиболее активного представления АГ). Основной морфологический признак ДК - наличие многочисленных длинных (>10 мкм) и подвижных цитоплазматических отростков, что послужило основанием для названия клеток (греч. *dendron* - дерево). Отростки образуются в процессе активации и дифференцировки ДК и в зависимости от типа ткани, окружающей клетки, могут быть самой разнообразной формы - нитевидными, в виде пластин (вуали) или луковичных псевдоподий.

В настоящее время выделяют четыре иммунофенотипически и функционально отличающихся друг от друга типа ДК. Показано, что ДК образуются преимущественно в красном костном мозге из предшественников миелоидного ряда или в тимусе из лимфоидных предшественников. Предшественники ДК обнаружены также в периферической и пуповинной крови человека.

Стволовая кроветворная клетка (СКК), несущая кластер дифференцировки CD34<sup>+</sup>, дифференцируется в два независимых полипотентных предшественника миелоидного ряда - CD34<sup>+</sup>CLA<sup>+</sup> и CD34<sup>+</sup>CLA<sup>-</sup>, которые дают начало предшественникам CD14<sup>-</sup>CD1a<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>CD1a<sup>соответственно</sup>.

Предшественник CD14<sup>-</sup>CD1a<sup>+</sup> дает начало клеткам Лангерганса (КЛ, эпидермальные ДК). КЛ локализуются в коже выше базального слоя пролиферирующих кератиноцитов и ассоциированы с нервными окончаниями. В 1 мм<sup>2</sup> кожи человека содержится примерно 10<sup>3</sup> таких клеток. Кроме того, КЛ обнаружены в эпителии полости рта, пищевода, кишечника, репродуктивного тракта и дыхательных путей. Основное назначение КЛ - захват АГ и их представление Т-клеткам в Т-зависимых зонах регионарных лимфатических узлов.

*Интерстициальные ДК.* Предшественник CD14<sup>+</sup>CD1a<sup>-</sup> дифференцируется в моноциты (макрофаги) и гранулоциты, лишь 1% этих предшественников дает начало

интерстициальным ДК (ИДК). Дифференцировке в ДК, а не в гранулоциты, способствуют такие цитокины, как ГМ-КСФ, ИЛ-4, ИЛ-6. При этом ИЛ-13 и ИЛ-7 могут в 2 раза усиливать эффект ИЛ-4, а фактор некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ) и CD40L блокируют образование гранулоцитов и стимулируют окончательные этапы созревания ДК. ИДК обнаружены в интерстиции практически всех органов, где они локализуются преимущественно вблизи кровеносных сосудов и нервных окончаний. Показано наличие ИДК в интерстиции печени, сердца, легких, а также коркового вещества почек, в склере, радужной оболочке и роговице глаза. ИДК содержатся в интерстиции скелетных мышц и некоторых других тканей опорно-двигательного аппарата. ИДК присутствуют и в органах эндокринной системы - щитовидной железе, надпочечниках и островках Лангерганса поджелудочной железы, где происходит двустороннее взаимодействие эндокринных и иммунных клеток. Гормоны, синтезируемые эндокринными клетками, регулируют функции ДК. ИДК, как и все ДК миелоидного происхождения, выполняют антигенпредставляющую функцию.

*Дендритные клетки лимфоидного происхождения. Тимические (интердигитальные) дендритные клетки.* ДК лимфоидного происхождения образуются в тимусе из унипотентного предшественника Т-лимфоцитов CD38dim (CD11c<sup>-</sup>) под действием таких цитокинов, как ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$ . ИЛ-7, ИЛ-3, CD40L также увеличивают продукцию этого типа ДК. Такие ДК называются тимическими (ТДК), они локализуются в мозговом слое тимуса и экспрессируют высокий уровень молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) I и II классов.

*Фолликулярные дендритные клетки.* ФДК в отличие от остальных ДК происходят предположительно не из костномозговых предшественников, а из аутохтонных клеток ФДК, на них отсутствует общий лейкоцитарный маркер CD45, и они экспрессируют на своей поверхности все известные рецепторы комплемента. ФДК не способны ни к фагоцитозу, ни к иному способу переноса АГ внутрь клетки. Они связывают и длительное время удерживают комплексы АГ-АТ с помощью Fc-рецепторов и рецепторов компонента C3 комплемента на поверхностной мембране.

*Дендритные клетки крови.* CD34<sup>+</sup>CLA<sup>+</sup> и CD34<sup>+</sup>CLA<sup>-</sup> предшественники ДК миелоидного ряда, недавно обнаружены и в периферической крови человека. Под воздействием таких факторов, как липополисахарид (компонент стенки микроорганизмов), ИЛ-6 и ГМ-КСФ, эти предшественники распределяются по различным тканям, где они также дают начало эпидермальным и интерстициальным ДК. Незначительная часть ДК миелоидного ряда может образовываться из предшественников непосредственно в крови. ДК периферической крови составляют менее 0,1% всех клеток белой крови. Функциональная значимость ДК, циркулирующих в крови, заключается в распознавании и захвате АГ.

*Дендритные клетки в ЦНС.* Имеются данные, свидетельствующие о том, что нарушения в функционировании ДК могут способствовать развитию как иммуновоспалительных реакций в ЦНС, включая рассеянный склероз, так и неопластических процессов.

Таким образом, иммунофенотипически и функционально различающиеся типы ДК, образующиеся из разных гемопоэтических предшественников и локализующиеся в разных тканях организма, образуют единую систему клеточных популяций, распознающих и представляющих антигены В-лимфоцитам для индукции иммунного ответа на чужеродные АГ или создания толерантности к ауто-АГ.

*Функции зрелых дендритных клеток.* Зрелые ДК миелоидного происхождения не только представляют АГ наивным Т-клеткам, индуцируя сильный Т-клеточный ответ, но и отвечают за поддержание баланса между Т-хелперами 1-го и 2-го типов. Кроме того, ИДК способны стимулировать покоящиеся В-клетки к продукции АТ, а при определенных обстоятельствах могут способствовать переключению изотипа иммуноглобулинов в В-клетках. Основной функцией ФДК является поддержание жизнеспособности, роста и

дифференцировки активированных В-клеток. Тимические и интердигитальные ДК отвечают за индукцию центральной и периферической толерантности к ауто-АГ.

*Моноциты (макрофаги).* В 1969 г. была сформулирована концепция «системы мононуклеарных фагоцитов», которая объединила клетки (монобласты, промоноциты, моноциты и тканевые макрофаги), имеющие сходную морфологию, цитохимические и функциональные характеристики, общее происхождение. Мононуклеарные фагоциты обеспечивают неспецифическую антибактериальную защиту организма не только за счет своей фагоцитарной функции. Секретируемые макрофагами ранние провоспалительные, а затем противовоспалительные цитокины контролируют первую линию обороны организма от инфекций, обеспечивая рекрутирование и активацию не только макрофагов, но и других защитных клеток (гранулоцитов, естественных киллеров).

Эффективность защиты от внутриклеточно паразитирующих бактерий определяется секрецией макрофагами IL-12, который активирует продукцию естественными киллерами IFN $\gamma$ , стимулирующего микробицидность макрофагов. Макрофаги играют центральную роль в антибактериальном иммунитете: обеспечивают элиминацию внеклеточных бактерий, гибель внутриклеточных бактерий, презентацию бактериальных антигенных пептидов CD4<sup>+</sup>-Т-клеткам, преимущественную дифференцировку Th0 в Th1, ответственные за клеточный специфический иммунный ответ. Макрофаги также принимают участие в эффекторной фазе гуморального иммунного ответа, захватывая и уничтожая патогенные бактерии, опсонизированные специфическими антителами и комплементом. Для этого на мембране макрофагов экспрессированы специальные рецепторы для иммуноглобулинов и для комплемента.

Миграция моноцитов из кровотока в ткани опосредована экспрессией на моноцитах и на эндотелиальных клетках специализированных адгезионных молекул, которая стимулируется провоспалительными цитокинами: IL-1, IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$ . Эти же цитокины и хемоаттрактанты C5a, IL-8, PAF, LTB4 модулируют экспрессию адгезионных молекул и на моноцитах. Экспрессия CD11c/CD18 молекул повышается по мере дифференцировки в макрофаги. При активации повышается экспрессия CD11a/CD18. Далее следует распластывание моноцитов по поверхности эндотелиальных клеток и их проникновение между двумя соседними эндотелиальными клетками, преодоление ими базальной мембраны и выход в ткани. Этот процесс является обычной стадией их жизненного цикла. Тканевые макрофаги относятся к долгоживущим клеткам: продолжительность их жизни исчисляется месяцами и годами. Если не происходит их мобилизации в очаг инфекции или воспаления, они могут погибать, мигрируя в селезенку или лимфатические узлы. Легочные макрофаги покидают легкие через воздухоносные пути. Большое количество макрофагов находится в соединительной ткани, в лимфатических узлах и лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками. Представители мононуклеарных фагоцитов в печени - звездчатые клетки Купфера. Эти клетки участвуют в презентации антигенов и обладают выраженной секреторной активностью. В центральной нервной системе основные функции мононуклеарных фагоцитов (презентацию антигенов, фагоцитоз, секрецию цитокинов, цитотоксическое действие и др.) выполняют клетки микроглии и астроциты.

Созревание, дифференцировка и активация макрофагов зависят от ростовых факторов (GM-CSF, M-CSF) и от активирующих цитокинов (IFN $\gamma$ ). Среди функций IFN $\gamma$  одной из важнейших является активация эффекторных функций макрофагов: их микробицидности, цитотоксичности, продукции ими цитокинов, супероксидных и нитроксидных радикалов, простагландинов. IFN $\gamma$  повышает экспрессию антигенов МНС I и II классов, тем самым повышает эффективность презентации антигенов и способствует их распознаванию Т-лимфоцитами. Альтернативным регулирующим цитокином для макрофагов является IL-10, который ингибирует все свойства и функции макрофагов. Макрофаги принимают самое активное участие в неспецифической защите от патогенных микроорганизмов, в раннем воспалительном ответе на инфекцию, в «запуске» специфического иммунного ответа, в



клеточно-опосредованном иммунном ответе. В очаге острого воспаления в первые часы моноциты (макрофаги) составляют менее 5% инфильтрирующих клеток, значительно уступая по численности гранулоцитам, однако через 24-48 ч от начала воспаления макрофаги становятся доминирующими клетками инфильтрата, приходя на смену быстро погибающим нейтрофилам.

В активации и развитии макрофагальных эффектов определяющую роль играют следующие рецепторы. Маннозный рецептор (MMR), scavenger-рецептор (MSR), рецепторы для бактериального липополисахарида (CD14). Структура MMR способствует высокоаффинному связыванию пептидогликана клеточной стенки бактерий. Маннозный рецептор отсутствует на циркулирующих моноцитах, появляется на мембранах клеток через 1-3 дня культивирования, на тканевых макрофагах обнаружен очень высокий уровень его экспрессии ( $5 \times 10^5$  рецепторов на клетке). Маннозный рецептор может опосредовать как фагоцитоз, так и пиноцитоз. Через те же MSR могут фагоцитироваться большинство бактерий как грамположительных, так и грамотрицательных. Однако влияние бактериального липополисахарида (ЛПС) на макрофаги опосредовано специальным рецептором CD14. Экспрессия этого рецептора повышается на макрофагах при воспалении и иммунном ответе. Кроме того, на мембране макрофагов экспрессированы рецепторы для захвата опсонизированных микроорганизмов: FcR - для антител-иммуноглобулинов, соединившихся с соответствующими антигенами микроорганизма, и CR1, CR3 и CR4 - для фракций активированного комплемента. Важнейшими рецепторами поверхностной мембраны макрофагов являются Fc-рецепторы, способные связывать иммунные комплексы и тем самым облегчать фагоцитоз патогенных агентов. Для связывания IgG существуют три различных рецептора: FcγRI, FcγRII, FcγRIII (соответственно: CD64, CD32, CD16). FcγRI единственный из этих рецепторов характеризуется высокой аффинностью. Все три типа рецепторов опосредуют фагоцитоз бактерий и других клеток, опсонизированных IgG, участвуют в антителоопосредованной клеточной цитотоксичности естественных киллеров и фагоцитов в отношении клеток-мишеней, несущих на мембране комплексы антиген-антитело (IgG). В качестве таких клеток-мишеней могут выступать клетки, инфицированные вирусами, простейшими, или злокачественно трансформированные клетки самого организма. Через FcR опосредована индукция иммунными комплексами: окислительного взрыва, продукции супероксидных радикалов в фагоцитах, синтеза и секреции ими цитокинов, лизосомных ферментов, антителозависимая клеточная цитотоксичность. На мембранах мононуклеарных фагоцитов экспрессированы рецепторы и для других изотипов иммуноглобулинов: IgA, IgE. Рецептор для IgA - FcαR (CD89) легко слущивается с поверхности моноцитов под влиянием взаимодействия с IgA или с активирующими цитокинами (TNFα). Низкоаффинный рецептор FcεRII (CD23), экспрессирован на моноцитах и способен связывать ИК, включающие IgE.

На мембране макрофагов экспрессированы гликопротеиновые рецепторы для многих цитокинов. Связывание цитокина со своим рецептором служит первым звеном в цепи передачи сигнала активации к ядру клетки. Трансдукция сигнала связана с опосредованным киназами фосфорилированием цитоплазматических белков. Для многих цитокиновых рецепторов наиболее существенна активность тирозин-киназы. На мембране макрофагов экспрессированы рецепторы для многих регулирующих цитокинов, главным активирующим среди которых является IFNγ. На мембране моноцитов (макрофагов) экспрессированы также рецепторы для хемокинов. CC-хемокины, селективные для моноцитов (макрофагов), связавшись со своими рецепторами, посылают сигналы активации через посредство регуляторного белка G-протеина и активируют многие функции клеток: хемотаксис, экспрессию адгезионных молекул, реорганизацию цитоскелета, продукцию супероксидных радикалов и провоспалительных цитокинов, секрецию лизосомных ферментов.

На мембране моноцитов (макрофагов), в особенности активированных макрофагов, экспрессированы антигены гистосовместимости II класса (МНС II), необходимые для презентации антигена CD4<sup>+</sup>T-хелпером.

В старческом возрасте выявлены нарушения функций мононуклеарных фагоцитов. При инфекциях у стариков слабее выражен лейкоцитоз, ослаблена аккумуляция клеток в очаги воспаления и инфекции, снижен ответ на действие медиаторов воспаления, снижена способность убивать захваченные при фагоцитозе бактерии. У людей старше 65 лет частично утрачивается цитотоксическая активность моноцитов крови в отношении опухолевых клеток. Их моноциты слабее секретируют IL-1, слабее продуцируют кислородные радикалы.

*Естественные киллеры (НК-клетки, natural killers, NK-cells).* Главной функциональной особенностью этих клеток является независимость их цитотоксического эффекта от сенсibilизации к антигену, представленному на мембране клеток-мишеней. Хотя первоначально и предполагалась их гистогенетическая связь с Т-лимфоцитами, однако в дальнейшем такая точка зрения не получила распространения и в настоящее время большинство иммунологов придерживаются взгляда на НК как на самостоятельный класс иммунокомпетентных клеток.

Относительно специфичными для НК-клеток маркерами, принятыми для их идентификации, являются CD16 и CD56. Большое содержание на мембране CD16 считается признаком киллерных, а CD56 - регуляторных НК.

Естественные, или натуральные, киллеры (ЕК) представляют собой субпопуляцию лимфоцитов, происходящих из костномозговых предшественников. ЕК развиваются независимо от Т- и В-лимфоцитов и не несут характерных для Т- и В-лимфоцитов поверхностных маркеров. Их поверхностный фенотип: TKR<sup>-</sup>, CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>-</sup>, CD3<sup>-</sup>, Ig<sup>-</sup>. Поверхностный фенотип ЕК, как правило, включает следующие маркеры: CD2, CD7, CD11, CD16, CD56, CD57.

Естественные киллеры - популяция лимфоцитов, осуществляющих широкий спектр биологических потенций по регуляции цитодифференцировки и элиминации генетически дефектных клеток и клеток, пораженных патогенами, без предварительной иммунизации. Биологическая роль ЕК реализуется через их цитотоксические эффекты, с помощью секреторных продуктов этих клеток. Рецепторный аппарат ЕК, обеспечивающий эти функции, чрезвычайно разнообразен по своим функциональным характеристикам и по-разному представлен на ЕК различной субпопуляционной принадлежности. В частности, субпопуляционная структура ЕК обусловлена экспрессией определенных рецепторов межклеточных взаимодействий, получивших в свое время название линейных маркеров ЕК - CD56, CD16.

Среди группы рецепторов выделяют две категории, различающиеся по структуре. В первую категорию входят киллингибирующие рецепторы (KIR) из суперсемейства иммуноглобулинов, а во вторую - рецепторы семейства лектинов С-типа (KLR). И те, и другие способны к взаимодействию с разными детерминантами молекул МНС-1 на мембранах других клеток сингенного происхождения, обеспечивая с помощью своих цитоплазматических участков ингибирующие или активирующие сигналы трансдукции.

В случае преобладания активирующих сигналов ЕК способны осуществлять цитотоксическое повреждение клеток, несущих либо чужеродные (мутантные) МНС-1, либо МНС-дефектные мишени, возникающие в ходе нормальной цитодифференцировки или при патологических процессах (инфекции, опухолевая трансформация). Поскольку НК-клетки несут рецептор для IgG (FcγRIII; CD16), они способны уничтожать клетки-мишени, нагруженные IgG-антителами. Этот защитный механизм получил название антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦТ).

ЕК способны лизировать клетки, инфицированные внутриклеточными возбудителями, и ингибировать размножение микроорганизмов. В связи с этим ЕК в настоящее время рассматриваются как существенный компонент неспецифической защиты организма и как участники клеточно-опосредованного иммунного ответа. Наиболее существенный вклад вносят ЕК в предупреждение ранней прогрессирующей вирусной инфекции. ЕК несут рецепторы для следующих цитокинов: IL-2, IFN $\alpha/\beta$ , TGF $\beta$ , IL-1, IL-4, IL-10, IL-12. Главный ЕК-стимулирующий цитокин IL-12 продуцируется и секретируется макрофагами. IL-12 повышает цитолитическую активность ЕК, индуцирует их пролиферацию, усиливает синтез IFN $\gamma$ . Ранняя продукция IL-12 в ответ на инфекцию является ключевым процессом активации ЕК и неспецифической защиты. Одновременно стимул к продукции IFN $\gamma$ , который ЕК получают от IL-12, определяет характер последующего специфического иммунного ответа как клеточно-опосредованного. Описаны также иммунодефициты человека с селективным дефектом естественных киллеров, что проявляется чрезвычайно высокой чувствительностью к некоторым вирусным антигенам.

У больных с таким дефектом даже при нормальном уровне специфического гуморального и клеточного иммунного ответа на антигены вируса герпеса нередко развивается диссеминированная форма герпетической инфекции.

*Эозинофилы.* У практически здоровых людей доля эозинофилов в периферической крови невысока - 2-5%. Они способны поглощать и уничтожать микроорганизмы, хотя это и не является их прямой обязанностью. Одним из важнейших защитных факторов является главный основной белок (major basic protein - MBP), который локализован в ядре гранул, в то время как катионный белок и пероксидаза эозинофилов находятся в матриксе гранул. Арилсульфатаза В, фосфолипаза D, гистаминаза также включены в гранулы. Один из белков гранул может нарушать целостность мембран клеток-мишеней подобно C9 (компоненту комплемента) или перфорину натуральных киллеров. Они секретируют токсины с мощными микробицидными эффектами против гельминтов, индуцируют выделение гистамина тучными клетками, активируют нейтрофилы и тромбоциты.

*Базофилы.* Их количество в периферической крови незначительно, менее 0,2% общего количества лейкоцитов. В гранулах базофилов содержится большое количество вазоактивных аминов, играющих важную роль в развитии механизмов воспаления и аллергических реакций. За счет экспрессируемых высокоаффинных рецепторов (Fc $\epsilon$ RI) они с высокой прочностью удерживают на своей поверхности IgE.

*Тромбоциты.* Играют важную роль в развитии воспаления. Экспрессируют молекулы МНС I класса и рецепторы для IgG - Fc $\gamma$ RII (CD32), необходимые для активации тромбоцитов. Кроме того, они несут рецепторы: для факторов свертывания крови (фактор VIII), молекулы связывающие фибриноген, фибронектин, витронектин, фактор Виллебранда. В случае повреждения эндотелиальных клеток тромбоциты агрегируют к их поверхности и выбрасывают содержимое гранул, повышая проницаемость капилляров, активируя комплемент, и усиливают свертываемость крови.

*Нейтрофилы.* По сравнению с моноцитами/макрофагами, которые живут месяцы и годы, нейтрофилы - короткоживущие клетки (2-4 сут). Так же как другие гранулоциты, нейтрофилы адгезируют к эндотелиальным клеткам за счет своих рецепторов и лигандов эндотелиальных клеток и попадают в очаг воспаления. Этот процесс усиливают цитокины - IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и хемокины - IL-8. Нейтрофилы играют важную роль в остром воспалении и обычно «работают» с комплементом и антителами. Основная функция нейтрофилов - деструкция патогенных микроорганизмов (фагоцитоз), которая осуществляется за счет содержимого специфических гранул. Первичные (азурофильные) гранулы содержат кислые гидролазы, миелопероксидазу и лизоцим (мурамидазу), бактерицидные белки - дефензины, кателицидины, белок, инициирующий проницаемость клеточной стенки (BPI); вторичные гранулы - лактоферрин и лизоцим. Богатый репертуар рецепторов нейтрофилов

дифференцированно реагирует на изменения иммунного гомеостаза. Фенотип поверхностной мембраны нейтрофильных гранулоцитов включает *рецепторы адгезии*: L-селектин (CD62L), CD11b (CR3), CD18, LFA-1 (CD11a), CR4 (CD11c), VLA-4 (CD49d), ICAM-1 (CD54), ICAM-3 (CD50), PSGL-1 (CD162); *рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов*: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16), FcαR, FcεR; *молекулы главного комплекса гистосовместимости*: MHC I, MHC II (HLA-DR); *маркер миелоидной дифференцировки*: CD15; *ЛПС-распознающий рецептор*: CD14; *толл-подобные рецепторы*: TLR1, 2, 4-10; *рецепторы ко-стимуляции*: CD80, CD86; *проапоптотический рецептор*: CD95. Активированные нейтрофилы продуцируют и секретируют широкий спектр цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, TNFα, ИЛ-12, ИФН-γ, TGFβ, G-CSF, GM-CSF, MIP-1α), инициируя и регулируя воспаление и иммунный ответ. Доказано, что нейтрофилы регулируют функционирование Т- и В-лимфоцитов, участвуют в реакциях инфекционного, аллергического и аутоиммунного воспаления. Дисфункции нейтрофилов проявляются как количественным и/или качественным дефицитом, так и гиперергическим функционированием или состоянием анергии. *Адекватная активация нейтрофилов* при остром бактериальном воспалении заканчивается в большинстве случаев благоприятным исходом. *Гиперактивация нейтрофилов* сопровождается повреждающим действием при аутоиммунных процессах, тяжелой бактериальной инфекции (сепсис, перитонит, стафилококковая деструкция легких, острый гематогенный остеомиелит, острый деструктивный панкреатит и т. д.). *Дефектное функционирование нейтрофилов* сопровождается отсутствием адекватного ответа на бактериальную инфекцию с последующим развитием затяжного течения, хронических инфекционно-воспалительных процессов, в том числе вялотекущих, рецидивирующих гнойных процессов. Возможны

дефекты апоптоза с развитием острого или хронического миелолейкоза.

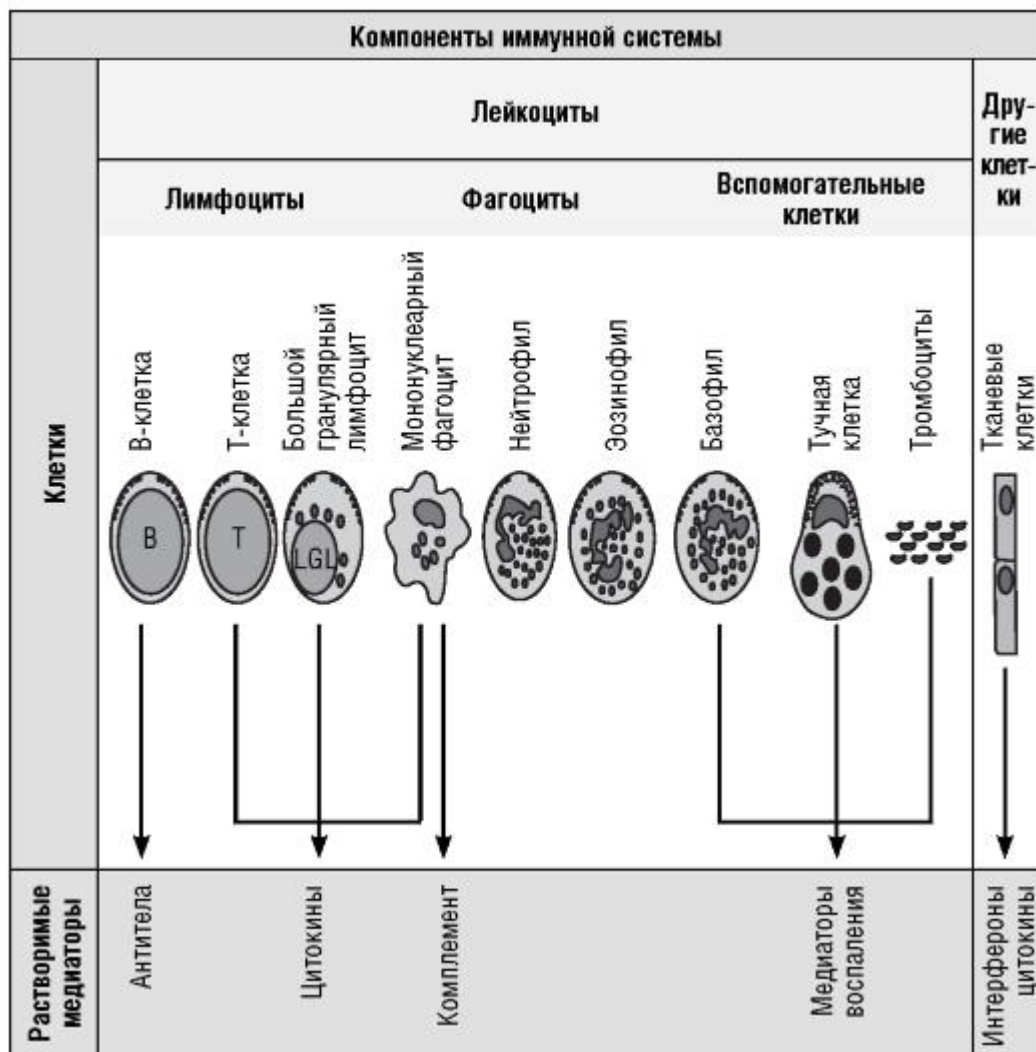


Рис. 1.11. Компоненты иммунной системы (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

В общем виде все компоненты иммунной системы представлены на рис. 1.11.

Основные функции клеток моноцитарно-фагоцитарной системы:

- 1) секреция биологически активных веществ;
- 2) защита организма от чужеродных микроорганизмов путем киллинга и переваривания их;
- 3) роль клеток-«мусорщиков», убивающих и разрушающих собственные клетки организма - поврежденные, дефектные или старые;
- 4) киллинг и разрушение собственных клеток организма, несущих на своей поверхности генетически чужеродный материал (информацию) - неопластических или зараженных вирусом;
- 5) участие в двусторонних клеточных или регуляторных взаимодействиях с лимфоцитами и презентация им чужеродного антигена.

## 1.10. РЕЦЕПТОРЫ, ВХОДЯЩИЕ В СИСТЕМУ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

Рецепторы, относящиеся к системе врожденного иммунитета, не распределяются клонально, не обладают специфичностью, могут присутствовать на всех клетках одного клеточного типа.

В иммунной системе возможно выделение, по крайней мере, двух типов рецепторов, распознающих «не свое» - pattern recognition receptor (PRR) и antigen-recognition receptor (ARR). PRR-рецепторы распознают консервативные микробные структуры, являющиеся отличительными признаками определенных классов патогенов. Одним из них является маннансвязывающий лектин, позволяющий фагоцитам распознавать экспрессируемые микробами рецепторные полисахариды; это стимулирует лектиновый путь активации комплемента. ARR-рецепторы (scavenger receptors - SR) распознают специфические анионные полимеры и ацетилированные липопротеиды низкой плотности, экспрессируемые как определенными патогенами, так и старыми поврежденными клетками, что приводит к удалению этих клеток. Наиболее существенные проблемы врожденного иммунитета связаны *склетками* (макрофагами, нейтрофилами, дендритными клетками, эозинофилами, тромбоцитами, Th1, негемопоэтическими и другими клетками), *медиаторами и эффекторами* (цитокинами, липидными медиаторами, противомикробными пептидами и др.), *рецепторами врожденного иммунитета* (PRR, TLR, NOD, RIG и др.).

К новым представлениям о природе врожденного иммунитета необходимо отнести информацию о pattern recognition receptors. Они широко представлены на гемопоэтических и негемопоэтических клетках организма. Кодированы PRR germline-генами, а их разнообразие создается за счет комбинаций на клетках (так называемый комбинаторный репертуар). PRR распознают уникальные экзогенные структуры, общие для различных микроорганизмов - бактерий, вирусов, грибов, простейших и других, а также эндогенные структуры - белки теплового шока (HSP60, 70, 22, gp96); компоненты внеклеточного матрикса (гиалуронан, бигликан, экстрадомен А фибронектина, сурфактантный белок А); минимально модифицированные ЛПНП;  $\beta$ -дефензины и др. Сигналы через эти рецепторы приводят к выработке различными типами клеток провоспалительных цитокинов, эффекторных и ко-стимулирующих молекул. Для реализации механизмов врожденного иммунитета важен, в первую очередь, рецептор, а потом клетка. Специализированные клетки не экспрессируют PRR, и нет селекции на «свое».

В эффективном функционировании механизмов врожденного иммунитета большое значение имеют рецепторы врожденного иммунитета, которые распознают молекулярные паттерны микроорганизмов, участвуют в развитии воспалительной реакции, процессах регенерации и индукции адаптивного иммунного ответа. Основные сенсоры патогенов при врожденном иммунитете следующие:

- 1) TLRs: толл-подобные рецепторы ;
- 2) NLRs: NOD-подобные рецепторы (nucleotide-binding oligomerization domain);
- 3) RLRs: RIG-подобные рецепторы (retinoic acid inducible gene-1);
- 4) LLRs: лектин-подобные рецепторы;
- 5) маннозные рецепторы макрофагов;
- 6) рецепторы комплемента типа 3;
- 7) другие.

Индивидуальные TLR распознают различный, но ограниченный репертуар консервативных продуктов микробов. Хорошо охарактеризованы пары: TLR4 и ЛПС, TLR5 и флагеллин, TLR1/TLR2/TLR6 и липопротеиды, TLR3/TLR7/TLR8/TLR9 и различные мотивы нуклеиновых кислот. В целом же семейство TLR хозяина способно определить

практически все типы патогенных микробов и многие эндогенные лиганды. Патогенные микроорганизмы, в свою очередь, экспрессируют лиганды для различных TLR.

TLR1 распознают бактериальные триацил-липopeптиды и белки паразитов; их экспрессируют большинство типов клеток, включая дендритные, В-лимфоциты, тучные клетки. TLR2 распознают бактериальные диацил-липopeптиды, липотейхоевые кислоты, грамположительные бактерии, зимозан клеточной стенки грибов, белки теплового шока,  $\beta$ -дефензины; их экспрессируют мононуклеары крови, дендритные клетки, тучные клетки. TLR3 распознают двухцепочечную РНК вирусов, эндогенную мРНК; их экспрессируют дендритные клетки, натуральные киллеры, Т-лимфоциты. TLR4 распознают ЛПС грамотрицательных бактерий, белки теплового шока - 60, 70, гиалурон, легочный сурфактантный белок А, фибронектин, фибриноген,  $\beta$ -дефензин. TLR5 распознают флагеллин жгутиковых бактерий; их экспрессируют макрофаги, дендритные клетки, Т-лимфоциты, тучные клетки. TLR6 схожи с TLR2, их много на дендритных клетках и Т-лимфоцитах, мало на моноцитах, натуральных киллерах, тучных клетках. TLR7 распознают одноцепочечную РНК вирусов; их экспрессируют В-лимфоциты, дендритные клетки, моноциты, Т-лимфоциты. TLR8, как и TLR7, распознают одноцепочечную РНК вирусов; их экспрессируют моноциты, дендритные клетки. TLR8 мало на натуральных киллерах и Т-клетках. TLR9 распознают ДНК бактерий, вирусов; экспрессируют дендритные клетки, В-лимфоциты, мононуклеары крови, макрофаги (микроглия), натуральные киллеры. TLR10 - неизвестно. Их экспрессируют В-лимфоциты, мало - дендритные клетки, тучные клетки. TLR11 распознают профилин (белок *T. gondii*), компоненты бактерий, вызывающих инфекции мочевого пузыря и почек; TLR12, TLR13 - неизвестно. Клетки, экспрессирующие TLR11-13, неизвестны (рис. 1.12).

Клетки эпителия (слизистой оболочки полости рта, миндалин, слюнных желез, глотки, пищевода, кишечника, молочных желез, цервикального канала, легких и почек) и многие другие клетки экспрессируют TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, NOD1, NOD2. Дефицит TLR-рецепторов сопровождается развитием инфекционного процесса. Избыток TLR-рецепторов приводит к усилению воспаления, повреждению ткани. Феномен хронической иммунной активации, связанный с присутствием паттернраспознающих рецепторов (PRR) на гемопоэтических и негемопоэтических клетках, широко представлен в патологии человека: аутоиммунные заболевания, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, невынашивание беременности инфекционного генеза и др. Широкий спектр лигандов TLR и представленность этих рецепторов на многих клетках способствуют вовлечению TLR в патогенез многих заболеваний. Дефекты в системе TLR, такие как нарушения распознавания лигандов, экспрессии TLR, трансдукции сигнала, выработки эффекторных молекул, а также полиморфизм генов TLR могут приводить к развитию тяжелых инфекционных заболеваний (сепсис, менингит), аутоиммунных заболеваний, атеросклероза, аллергопатологии. Дефекты молекул, участвующих в трансдукции сигнала от TLR, лежат в основе повышенной чувствительности к инфекциям. Так, лица с мутацией в гене, кодирующем IRAK-4-киназу, с раннего возраста страдают тяжелыми пиогенными инфекциями, вызванными грамположительными микроорганизмами.

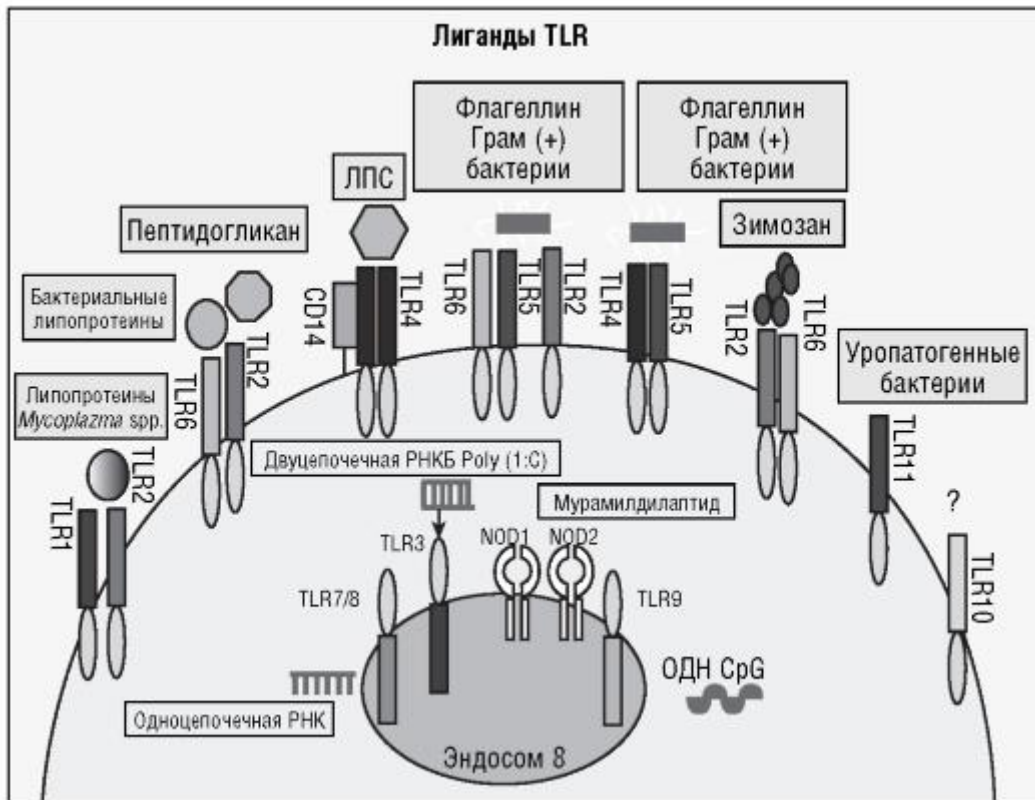


Рис. 1.12. TLRs: толл-подобные рецепторы

В то же время чрезмерная активация сигнального каскада от TLR ассоциирована с развитием сепсиса, воспалительных заболеваний кишечника, может вызывать деструкцию тканей. Количество патологий с нарушениями в системе TLR возрастает. В связи с этим необходимы адекватные и надежные методы оценки компонентов системы TLR для выявления иммунодефицитных состояний, связанных с нарушениями функциональной активности TLR.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Назовите основные этапы становления иммунной системы.
2. Перечислите особенности основных критических периодов становления иммунной системы.
3. Назовите основные белки острой фазы воспаления.
4. Что понимается под собирательным названием «эндогенные антимикробные пептиды»?
5. Перечислите основные принципы классификации цитокинов.
6. Дайте характеристику общих свойств цитокинов.
7. Каковы возможные иммунные дисфункции, связанные с цитокинами?
8. Приведите классификацию хемокинов.
9. Перечислите основные биологические эффекты, связанные с хемокинами.
10. Назовите основные биологические эффекты факторов роста.
11. Перечислите факторы роста и иммунные дисфункции.
12. Приведите классификацию интерферонов.
13. Опишите роль интерферонов в противовирусном иммунитете.



14. Опишите биологические эффекты системы комплемента.
15. Перечислите механизмы сборки системы комплемента.
16. Назовите возможные иммунные дисфункции, связанные с системой комплемента.
17. Назовите основные типы дендритных клеток и их функции.
18. Перечислите особенности активации нейтрофилов.
19. Охарактеризуйте функции клеток моноцитарно-фагоцитарной системы.
20. Перечислите основные группы рецепторов, входящих в систему врожденного иммунитета.
21. Опишите роль толл-рецепторов в развитии механизмов врожденного иммунитета

## Глава 2. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О КЛЕТОЧНЫХ И ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРАХ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА

Клетки, участвующие в иммунном ответе (врожденном и приобретенном), представляют собой неоднородную популяцию, различающуюся по генетическим и функциональным особенностям. Для их систематизации предложена классификация CD (cluster differentiation), в основу которой положены различия между кластерами клеток в поверхностных дифференцировочных маркерах (табл. 2.1).

Таблица 2.1. Основные дифференцировочные маркеры клеток, участвующих в иммунном ответе

CDмаркер	Тип клетки, несущей маркер	Функция
CD1	Т-лимфоцит	Участвует в представлении антигена
CD2	Т-лимфоцит	Осуществляет адгезию (прилипание) цитотоксических Т-лимфоцитов к клеткам-мишеням, Т-лимфоцитов к эндотелию, тимоцитов к тимическим эпителиальным клеткам
CD3	Т-лимфоцит	Проведение сигнала активации Т-клетки, маркер абсолютного большинства всех зрелых Т-лимфоцитов
CD4	Т-лимфоцит	Ко-рецептор для ТКР при МНС II распознавании, маркер Т-хелперов
CD8	Т-лимфоцит	Созревание и позитивная селекция МНС I рестриктированных Т-лимфоцитов в тимусе, маркер цитотоксических Т-лимфоцитов
CD25	Т-, В-, НК-клетки, тимоциты, макрофаги	Индукцирует активацию и пролиферацию Т-, В-лимфоцитов, естественных киллеров (НК), тимоцитов и макрофагов, $\alpha$ -субъединица рецептора для IL-2
CD28	Т-лимфоцит	Ко-стимуляторная сигнальная молекула, независимая от ТКР

Окончание табл. 2.1

CDмаркер	Тип клетки, несущей маркер	Функция
CD30	Т-лимфоцит	Проведение сигнала для запуска апоптоза Т-лимфоцитов
CD5	Т- и В-лимфоциты	Выражен при аутоиммунных заболеваниях, ко-стимуляторный сигнал активации Т-лимфоцитов и тимоцитов
CD9	В-лимфоцит	Представлен на пре-В-клетках, ответственен за агрегацию и активацию тромбоцитов
CD19, 20, 21	В-лимфоцит	Регуляция активации и пролиферации В-лимфоцитов
CD22	В-лимфоцит	Ответственен за адгезию к эритроцитам, Т-клеткам, В-лимфоцитам, моноцитам и нейтрофилам
CD40	В-лимфоцит	Участвует в В-клеточной активации, пролиферации и дифференцировке
CD16	Естественный киллер	Активация антигензависимой комплементопосредованной цитотоксичности и цитокиновой продукции
CD56	Естественный киллер	Активация цитотоксичности и цитокиновой продукции
CD94	Естественный киллер	Ингибиция/активация цитотоксичности естественных киллеров
CD11a/ CD18	Моноциты, гранулоциты	Адгезия (прилипание) лейкоцитов к эндотелию, адгезия лейкоцита к лейкоциту
CD11b/ CD18	Моноциты, гранулоциты	Адгезия моноцитов и гранулоцитов к эндотелию, при воспалении фагоцитарный рецептор
CD45	Гранулоциты	Рецептор для тирозинфосфатазы
CD64	Макрофаги	Активация макрофагов
CD34	Стволовая клетка, коммитированный колониобразующий предшественник	Прикрепление L-селектин <sup>+</sup> -лимфоцитов к эндотелию сосудов, прикрепление стволовых гемопоэтических клеток к строме костного мозга

Основная функция семейства маркерных молекул - обеспечение связи лимфоцитов с их микроокружением, а также обеспечение миграции, адгезии и активации лимфоцитов.

## 2.1. БИОЛОГИЯ В-ЛИМФОЦИТОВ

В-лимфоциты. У млекопитающих В-лимфоциты созревают в костном мозге. В-лимфоциты развиваются из стволовых клеток костного мозга (CD34). Первые этапы дифференцировки В-лимфоцитов проходят в костном мозге. Согласно современным представлениям, развитие В-лимфоцитов проходит стадийно от стволовой клетки к ранним и поздним предшественникам (про-В-лимфоцит, пре-В-лимфоцит, незрелая В-клетка) и, наконец, к зрелой клетке (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup>CD27<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>), и к В-клетке памяти. В табл. 2.2 показано развитие В-лимфоцитов по динамике изменения свойственных им клеточных маркеров.

Таблица 2.2. Динамика изменения клеточных маркеров В-лимфоцитов

Этапы дифференцировки	Про/пре-В-I клетка	Большая пре-В-II клетка	Малая пре-В-II клетка	Незрелая В-клетка	Зрелая В-клетка
1. Маркеры дифференцировки CD19 B220 CD38	CD34	CD40	CD40	CD21	CD40
	CD40	CD43		CD22	CD19
	CD43	CD19		CD80	CD20
	B220			CD86	
	CD25	CD19		CD54	
				CD79	
2. Рецептор	Пре-R	Пре-R	Пре-R	sIgM sIgD	sIgM
3. Динамика перестройки генов Ig		Реаранжировка Н-цепи Ig	Реаранжировка L-цепи	Антиген Ig-зависимая селекция	Антигензависимая клональная экспансия

Примечания: про - наиболее ранний предшественник В-клетки; пре - предшественник В-клетки; CD - кластер дифференцировки В-клетки; пре-R - предшественник В-клеточного рецептора; sIgM, sIgD - поверхностные формы иммуноглобулинов M и D; Н-цепи - тяжелые цепи иммуноглобулина; L-цепи - легкие цепи иммуноглобулина.

Представленные данные указывают на стадийный характер дифференцировки В-клеток от стволовой клетки до зрелого В-лимфоцита. Судя по экспрессии клеточных маркеров, в ходе дифференцировки происходит исчезновение одних, свойственных незрелым клеткам (CD34, CD43, B220, CD25), и появление других (CD20, CD21, CD22, CD54, CD79, CD80, CD86) на зрелых В-клетках. Фенотип зрелых В-лимфоцитов - CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>.

Для ранних предшественников характерным является появление на поверхности клеточной мембраны прообраза В-клеточного антигенного рецептора, который на этой

стадии развития представляет собой совокупность  $\mu$ -цепи IgM и легкой цепи неизвестного происхождения.

Селекция В-лимфоцитов происходит на ранних этапах их дифференцировки. Незрелые В-клетки, начинающие распознавать собственный антиген в костном мозге, гибнут, тогда как не реагирующие В-клетки остаются жизнеспособными и в дальнейшем поступают в периферические лимфоидные органы. Способность отвечать и не отвечать на «свой» антиген зависит от репертуара В-клеточного рецептора, разнообразие которого возникает во время реаранжировки генов этого рецептора.

В-лимфоциты, после распознавания антигена, начинают пролиферировать, образуя клеточные клоны к каждому эпитопу антигена. Экспансия антигензависимых клонов свойственна зрелым клеткам. В-лимфоциты распознают антигены специфическими рецепторами иммуноглобулиновой природы, которые по мере созревания экспрессируются на их мембранах. Взаимодействие антигена с такими рецепторами является сигналом активации В-лимфоцитов и их антигензависимой дифференцировки в плазматические клетки, активно продуцирующие и секретирующие специфические для данного антигена антитела-иммуноглобулины.

В-клетки составляют 5-15% всех циркулирующих лимфоцитов и характеризуются поверхностными Ig, встроенными в клеточную мембрану и выполняющими функцию специфического антигенного рецептора. В-лимфоциты экспрессируют и IgD. Их антигенсвязывающие участки идентичны. Менее 10% В-лимфоцитов в периферической крови экспрессируют IgG, IgA и IgE. Однако большинство этих лимфоцитов находится в специфичных для них областях. Например, IgA-несущие клетки в слизистой оболочке кишечника.

Имуноглобулины, ассоциированные с другими универсальными молекулами на поверхности В-лимфоцитов, образуют В-клеточный антигенспецифичный рецепторный комплекс.

В-лимфоциты несут часть поверхностных маркеров, *общих с другими клетками*: рецепторы для иммуноглобулинов (Fc $\gamma$ R), для компонентов комплемента (CR1), антигены гистосовместимости (МНС I и II классов). *Уникальными поверхностными маркерами* В-лимфоцитов являются: иммуноглобулиновые антигенраспознающие рецепторы (поверхностные иммуноглобулины), некоторые кластеры дифференцировки (CD) и рецепторы В-клеточных митогенов. В-клеточный антигенраспознающий рецептор (IgR) состоит из мембранной формы IgD или IgM и ассоциированных с ними гетеродимеров CD19 и CD20, экспрессированных на всех В-лимфоцитах. С IgR в мембране В-лимфоцитов ассоциированы две трансмембранные молекулы CD79a и CD79b, участвующие в трансдукции сигнала, в которой участвуют и другие молекулы В-клеточной поверхности: CD19, CD20. Для выполнения функции антигенпрезентирующих клеток В-лимфоциты конститутивно экспрессируют МНС II класса и ко-стимулирующие молекулы B7.1 (CD80) и B7.2 (CD86), экспрессия которых усиливается при их активации. Все зрелые В-лимфоциты экспрессируют низкоаффинные рецепторы Fc $\gamma$ RII (CD32) для связывания IgG в составе иммунных комплексов или агрегатов.

Если Fc-фрагмент IgG в составе иммунного комплекса связывается с CD32, а антиген в составе этого же комплекса связывается с IgR на той же В-клетке, то она инактивируется, т. е. CD32 может опосредовать негативную регуляцию В-лимфоцитов.

В-лимфоциты могут отвечать пролиферацией на действие ряда митогенов, в том числе на действие бактериального липополисахарида (ЛПС). Однако в качестве стандартного В-клеточного митогена, как правило, используют митоген растительного происхождения - pokeweed mitogen (PWM-митоген лаконоса), который с наибольшим постоянством индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов.

Поверхностные иммуноглобулиновые рецепторы В-лимфоцитов памяти принадлежат к различным изотипам, за исключением IgM и IgD. Они локализуются преимущественно в периферических лимфоидных органах и экспрессируют высокий уровень CD44, опосредующей хоминг лимфоцитов в ткани. Особенностью В-клеток памяти является способность быстро отвечать на встречу с причинным антигеном пролиферацией, дифференцировкой в плазматические клетки и быстрым переключением на синтез IgG, IgA или IgE, которые продуцируются в больших количествах и характеризуются высокой аффинностью. Для развития полноценного иммунного ответа (вторичного) бывает достаточно меньшей дозы антигена. В-лимфоциты памяти более чувствительны к действию активирующих цитокинов - продуктов Т-хелперов.

Нарушения дифференцировки В-лимфоцитов могут быть результатом разных генетических дефектов или злокачественной трансформации В-клеток или их предшественников. Генетические дефекты проявляются вариabельными иммунодефицитами со снижением или отсутствием синтеза антител какого-либо класса или всех классов. Злокачественная трансформация В-лимфоцитов приводит к селективной пролиферации какого-то одного клона клеток и к продукции антител одного класса и одной специфичности. Такие случаи описаны как «моноклональные гаммапатии» и проявляются также вариabельными иммунодефицитами. Примером генетического дефекта может служить агаммаглобулинемия Брутона, при которой обнаружен мутантный ген, кодирующий тирозинкиназу, необходимую для дифференцировки В-клеток. В результате предшественники В-лимфоцитов не могут дифференцироваться в зрелые В-лимфоциты. У таких больных отсутствуют зрелые В-лимфоциты, плазматические клетки и нет никаких иммуноглобулинов. Как правило, такие больные погибают в течение 1-го года жизни от сепсиса. Примером иммунодефицита - результата злокачественной трансформации В-лимфоцитов может служить множественная миелома, при которой в сыворотке больного появляется большое количество гомогенного белка - моноклонального IgG, секретируемого злокачественным клоном В-клеток. Избыток легких цепей Ig, продуцируемых теми же клетками, выводится через почки и выявляется в моче в виде белка Бенс-Джонса. Злокачественная трансформация проходит все стадии предшественника В-клеток, после чего трансформированное потомство дифференцируется в плазматические клетки, не отвечая на обычные регуляторные сигналы. Клинические проявления множественной миеломы связаны с тем, что злокачественные плазматические клетки инфильтрируют нервную систему, костный мозг, почки и кости скелета. Параллельно развивается иммунодефицит, который проявляется снижением синтеза антител на разные антигены, в том числе на бактериальные антигены. Отсюда повышенная чувствительность к бактериальным инфекциям.

Как установлено в настоящее время, в организме человека существуют как минимум четыре субпопуляции В-лимфоцитов, отличающихся по своему фенотипу, локализации, механизму дифференцировки и свойствам. Выделяют лимфоциты В-1 и В-2, лимфоциты селезенки: маргинальные (MZ) и фолликулярные (FO).

В-2 (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup>CD27<sup>-</sup>CD45<sup>+</sup>) лимфоциты являются основной субпопуляцией, продуцирующей высокоспецифичные антитела, они отвечают на различные белковые антигены, распознаваемые ими через специфические поверхностные Ig-рецепторы. Они нуждаются в помощи Th, распознающих антигенные пептиды в составе МНС II класса. Антитела, синтезируемые лимфоцитами В-2, как правило, моноспецифичны (рис. 2.1). Это основная форма развития адаптивного иммунного ответа.

В-1 (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>CD45<sup>+</sup>) и лимфоциты MZ выполняют функции немедленной защиты от патогенов. Этому способствует локализация лимфоцитов В-1 в брюшной и плевральной полостях организма, а MZ-В-лимфоцитов - в маргинальной зоне селезенки. Они совместно обеспечивают ранний иммунный ответ на Т-независимые антигены. Основным изотипом антител являются IgM, но имеет место и образование IgG3 (особенно при вирусных инфекциях) и в мукозальном слое кишечника. В-1 и лимфоциты в мукозном слое

относят к системе врожденного иммунитета. В ряде ситуаций активация В-1 клеток может способствовать образованию пула аутореактивных клеток, могущих быть индукторами аутоиммунных процессов. CD5<sup>+</sup> В-клетки играют существенную роль в образовании аутоантител.

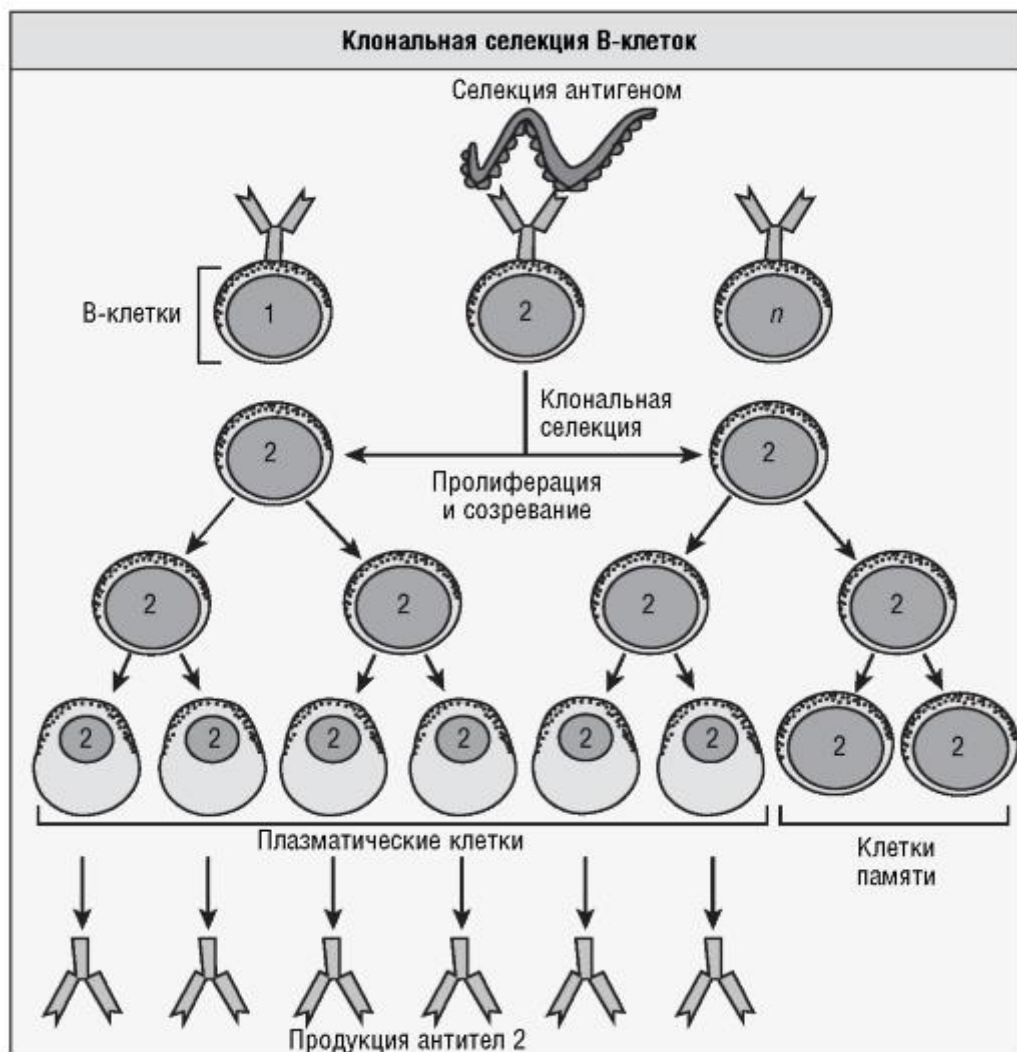


Рис. 2.1. Пролiferация В-лимфоцитов и секреция моноспецифичных антител (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Фолликулярные В-клетки (FO), в отличие от других В-лимфоцитов, способны к незначительной рециркуляции в лимфе, слабо обеспечивают развитие Т-независимого и Т-зависимого ответов, синтезируют преимущественно изотипы IgG1, обладают слабой пролиферацией в ответ на ЛПС.

В-лимфоциты активируются антигеном при участии IL-4, затем они пролиферируют в ответ на IL-5 и превращаются в плазматические клетки под действием IL-6, который дает терминальный сигнал дифференцировки В-лимфоцитов.

## 2.2. БИОЛОГИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Популяция Т-лимфоцитов получила свое название в связи с их дифференцировкой в тимусе. Маркером Т-лимфоцитов служит Т-клеточный рецептор (TCR). Существуют два типа клеточных рецепторов:

- гетеродимер из полипептидных цепей  $\alpha$  и  $\beta$ , соединенных дисульфидными связями;
- сходный гетеродимер, но образованный  $\gamma$ - и  $\delta$ -цепями.

Оба рецептора ассоциированы с полипептидами CD3-комплекса, образуя с ним рецепторный комплекс Т-клетки. Примерно 90-95% Т-лимфоцитов в периферической крови это  $\alpha\beta$ Т-лимфоциты, и только 5-10% -  $\gamma\delta$ Т-клетки.

$\alpha\beta$ Т-клетки разделяются на две основные субпопуляции:  $CD4^+$  обеспечивают развитие Т-клеточного иммунного ответа и называются Т-хелперами, а  $CD8^+$  являются преимущественно цитотоксическими.

$CD4^+$ -Т-лимфоциты распознают специфические антигены в ассоциации с молекулами МНС II класса, а  $CD8^+$  - в ассоциации с молекулами МНС I класса. Незначительная часть  $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов (3-5% периферической крови) с фенотипом  $CD4^+CD25^+$  выполняют функции регуляторных Т-лимфоцитов.

Субпопуляция  $CD4^+$ -лимфоцитов подразделяется на две субпопуляции: Th1 и Th2, различающиеся по продукции цитокинов и соответственно по особенностям развития Т-клеточного иммунного ответа. Th1 продуцируют IL-12, -2, IFN $\gamma$ , обеспечивают активацию цитотоксических лимфоцитов, и поэтому их преимущественная роль заключается в защите макроорганизма от внутриклеточно паразитирующих микроорганизмов. Они поддерживают аутоиммунитет. Th2-клетки синтезируют IL-4, -5, -10, -6, TGF $\beta$ . Т-хелперы 2-го типа способны активировать специфические В-лимфоциты к продукции соответствующих по специфичности антител-иммуноглобулинов. Антитела, в свою очередь, могут участвовать в различных способах элиминации инфекционных агентов. Th2 обеспечивают защиту хозяина от глистных инвазий, грибов, участвуют в реакциях ГНТ.

В настоящее время установлено, что IL-1 и IL-6 способствуют дифференцировке  $CD4^+$ -Т-клеток в Th17, а IL-2 и IL-23 модулируют дифференцировку Th17, которые продуцируют IL-17, -21, -22. Т-хелперы памяти продуцируют IL-17. Th17 обеспечивают защиту хозяина от внеклеточно паразитирующих микроорганизмов, поддерживают механизмы воспаления и аутоиммунитет.

В структуре Т-лимфоцитов различают естественные регуляторные Т-лимфоциты. Они поддерживают толерантность к аутоантигенам, подавляют иммунный ответ против опухолевых клеток, трансплантационных антигенов, инфекционных патогенов. Их избыток приводит к росту опухоли, персистенции инфекции; недостаток - к аутоиммунным и аллергическим заболеваниям, развитию трансплантационных реакций, патологии беременности. Количественное содержание  $CD4^+CD25^+$  регуляторных Т-клеток в периферической крови здоровых доноров следующее:  $CD4^+CD25^+$  - 5-10%;  $CD4^+CD25^{high^+}$  - 0,5-3%;  $CD4^+Foxp3$  - 0,5-3,5%. Выявленная функциональная активность регуляторных Т-клеток *in vitro*: анергичны (не отвечают пролиферацией на стимуляцию антигенами и митогенами); обладают супрессорной активностью: ингибируют пролиферацию  $CD4^+CD25^-$  и  $CD8^+$ -Т-клеток и продукцию Th1/Th2-цитокинов; удаление этих клеток приводит к усилению пролиферативного ответа Т-лимфоцитов. Они реализуют супрессорную активность при активации через TCR.

Так, в частности, у больных с прогрессирующим течением туберкулеза легких с реактивным течением сохраняется пролиферация мононуклеаров крови на очищенный туберкулин, а с анергичным течением выявлено снижение пролиферации мононуклеаров на очищенный туберкулин в 2 и более раз.

При беременности количество  $CD4^+CD25^-$  и особенно  $CD4^+CD25^{high^+}$ -клеток адекватно отражает изменения регуляторных Т-клеток и может быть использовано в качестве иммунологического критерия благоприятного и осложненного течения беременности.

При инфекционно-воспалительных заболеваниях  $CD4^+CD25^{high^+}$ клетки могут включать активированные Т-лимфоциты, поэтому дополнительными критериями увеличения регуляторных Т-клеток служит снижение пролиферативной активности мононуклеаров

крови и наличие обратной зависимости между пролиферацией и количеством CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>,high<sup>+</sup>-клеток.

Для выявления регуляторных Т-клеток при онкологической патологии, а также в культуре *in vitro* оптимальным подходом является определение CD4<sup>+</sup>-Т-клеток с внутриклеточной экспрессией фактора транскрипции Foxp3.

В настоящее время выделяют еще один тип Treg - регуляторные Т-лимфоциты, индуцированные антигеном. Они также экспрессируют CD25, образуются из Т-клеток фенотипа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>. Свой супрессивный эффект они обеспечивают за счет продукции цитокинов TGFβ и IL-10.

Основное место локализации γδТ-клеток - эпителий слизистых оболочек. Почти все внутриэпителиальные лимфоциты экспрессируют CD8<sup>+</sup>, а большинство циркулирующих в периферической крови γδТклеток этого маркера не имеют. Они способны распознавать низкомолекулярные продукты бактериальных и вирусных агентов из-за особого репертуара Т-клеточного рецептора. γδТ-клетки играют важную роль в защите слизистых оболочек макроорганизма от инфекционных агентов любой природы. Они способны различать антигены без участия молекул МНС.

К вспомогательным Т-клеткам относятся НКТ-лимфоциты, которые инициируют Т-клеточный ответ, действуют как средство связи между врожденным и адаптивным иммунитетом. Считается, что НКТ-лимфоциты способны регулировать иммунный ответ (функции дендритных клеток) посредством продуцируемых цитокинов (в частности, IL-10). К основным характеристикам НКТ-клеток необходимо отнести то, что они совмещают маркеры и свойства Т- и НК-клеток. Они экспрессируют рецепторные молекулы Т- и НК-клеток. Мембранный фенотип НКТ-клеток выглядит следующим образом: CD3<sup>-</sup>TCRαβ<sup>+</sup>CD4<sup>+/-</sup>CD8<sup>-</sup>NK1.1(CD161c)<sup>+</sup>NKG2/CD94<sup>+</sup>NKG2D<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>. Разнообразие TCR в НКТ-клетках ограничено. НКТ-клетки развиваются в тимусе. На их долю приходится 0,5% числа тимоцитов и 5% числа эмигрантов из тимуса. В периферическом отделе иммунной системы мышей их распределение таково: кровь, лимфатические узлы - 0,5%, селезенка - 2,5%, печень - 30%. У человека все цифры ниже почти в 10 раз. Распределение НКТ-клеток обусловлено особенностями экспрессии хемокиновых рецепторов: они слабо экспрессируют CCR7 и сильно CXCR6 (его лиганд CXCL16 секретируется клетками синусоидов печени).

Функция НКТ-клеток реализуется через цитотоксический перфориновый тип и секрецию IFNγ, IL-4, IL-13. Показана эффекторная функция НКТ-клеток в антибактериальной защите. Предполагается их участие в противовирусной и противоопухолевой защите. Обосновано участие НКТ-клеток (в качестве регуляторных клеток) в ограничении иммунных, воспалительных процессов и аутоиммунной патологии.

### 2.3. АКТИВАЦИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ

Активация Т- и В-лимфоцитов завершается увеличением численности лейкоцитарного клона (пролиферация) и затем дифференцировкой в эффекторные клетки; часть клеток становится клетками памяти. Активация Т-лимфоцитов приводит к синтезу и выделению ряда цитокинов, воздействующих на самые различные типы клеток, а также к формированию пула клеток, обладающих эффекторными функциями с развитием прямых цитотоксических эффектов. Активация и дифференцировка В-лимфоцитов приводят к синтезу антител.

Активация CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов. CD4<sup>+</sup>-лимфоциты отвечают активацией и пролиферацией практически на все белковые антигены, которые представляются антигенпрезентирующими клетками (АПК). Специализированные АПК имеются во всех участках макроорганизма, через которые антигены могут попасть в организм - в дыхательных путях, ЖКТ, коже, а также в лимфоидных органах. Основными АПК являются



дендритные клетки и макрофаги, хотя функцию презентации может выполнять любая клетка, но эта функция для них является вспомогательной.

Взаимодействие антигена с ДК способствует ее созреванию. Инфекты, их компоненты (продукты жизнедеятельности, ДНК, РНК, липопротеин, липополисахарид) взаимодействуют с толл-подобными рецепторами. Белковые компоненты бактерий расщепляются до пептидов в вакуолях и попадают в сайты МНС II класса. На поверхности АПК появляется большое количество ко-стимулирующих молекул (CD80/CD86), концентрация молекул МНС II класса также возрастает. Этот процесс сопровождается продукцией большого количества провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-12) и хемокинов (IL-8). В Т-клеточной области лимфатического узла ДК презентует пептиды в сайте молекулы МНС II класса наивной (неактивированной) CD4<sup>+</sup>-клетке, экспрессирующей Т-клеточный рецептор, соответствующий комплексу МНС-пептид. Это взаимодействие называют первым сигналом Т-клеточной активации. Оно необходимо, но недостаточно для Т-клеточной активации, однако это повышает способность Т-лимфоцита отвечать на антиген. Экспрессированные ко-стимуляторные молекулы на поверхности АПК усиливают взаимодействие МНС-пептид-TCR. Наиболее важны в этом процессе молекулы семейства B7 (CD80, CD86, экспрессируются на дендритных клетках, макрофагах и активированных В-лимфоцитах) и CD28 (конститутивно экспрессируются на Т-клетках), которые взаимодействуют между собой.

CD80, CD86 также взаимодействуют с другой молекулой на поверхности Т-лимфоцита - CD152 (CTLA-4), которая индуцируется при Т-клеточной активации. Взаимодействие комплекса МНС-пептид с TCR усиливает экспрессию молекулы CD154 на Т-лимфоците. CD154 взаимодействует с CD40, которая постоянно экспрессируется АПК (на дендритных клетках, макрофагах и активированных В-лимфоцитах). Взаимодействие CD40-CD154 усиливает экспрессию молекул B7 на поверхности АПК и тем самым увеличивает аффинность взаимодействия между АПК и Т-клеткой (рис. 2.2).

Произошедшие события можно охарактеризовать как второй сигнал активации, который стабилизируют и усиливают другие адгезионные молекулы.

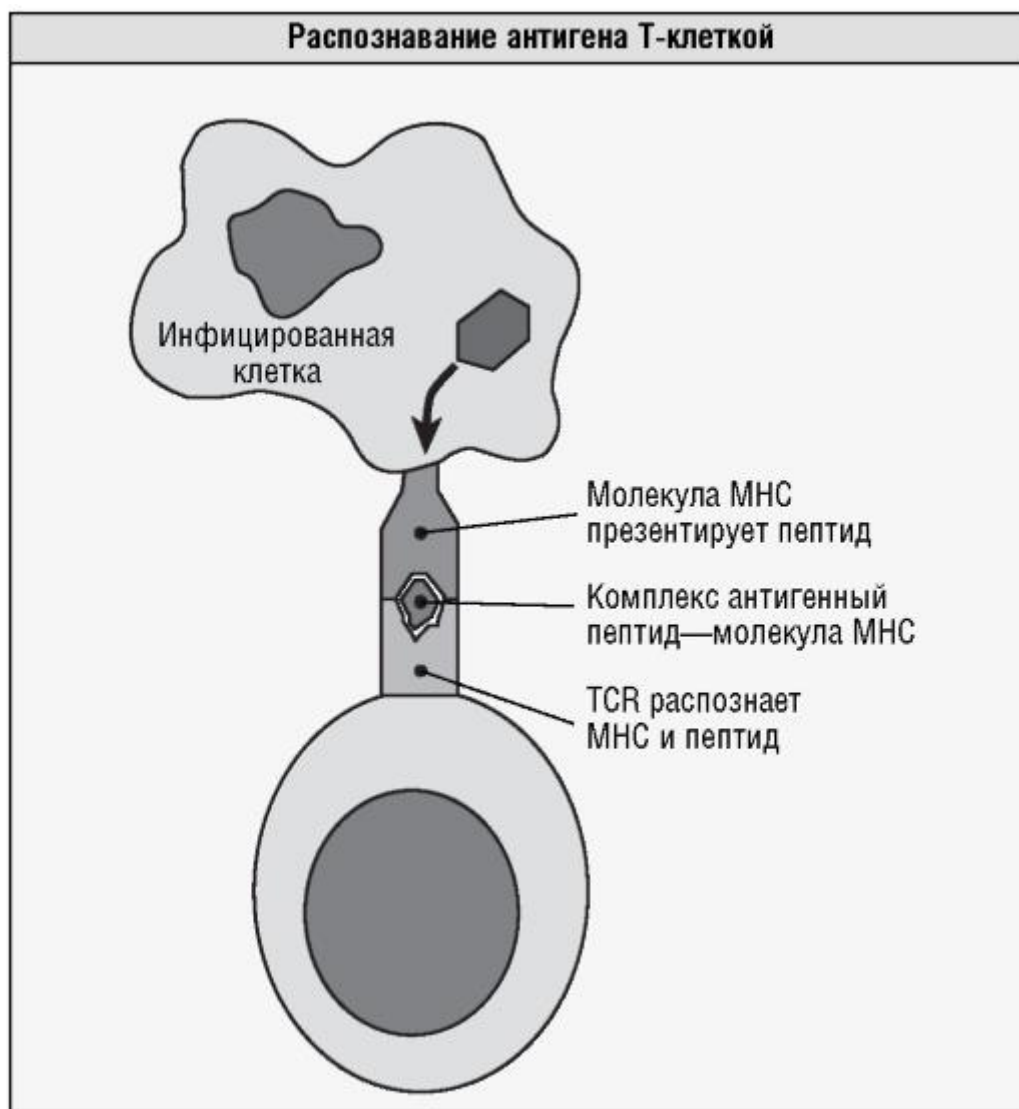


Рис. 2.2. Механизм распознавания антигена Т-лимфоцитом с участием МНС (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Так, CD54 (молекула межклеточной адгезии 1; intercellular adhesion molecule 1 - ICAM-1), экспрессируемая на АПК, взаимодействует с интегрином CD11a/CD18 (антиген, связанный с функционированием лейкоцитов 1; leukocyte function-associated antigen-1 - LFA-1) на Т-клетке. Второе взаимодействие осуществляется между CD58 (LFA-3), экспрессируемой на АПК, и CD2, экспрессируемой на Т-клетке. Считается, что это взаимодействие увеличивает время контакта между АПК и Т-лимфоцитом и, тем самым, способствует качественному сканированию TCR комплекса МНС-пептид. Взаимодействие АПК и антигена с CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитом за счет комплекса МНС-пептид и Т-клеточный рецептор и адгезионных молекул формирует иммунологический синапс. Это взаимодействие продолжается около 8 ч, причем адгезионные молекулы появляются на поверхности взаимодействующих клеток в различное время от момента первичного контакта. Важную роль играет взаимодействие B7-CD28 и B7-CD152 в активации Т-лимфоцитов. Это способствует формированию высокоаффинного рецептора для IL-2 на активированном Т-лимфоците и способствует пролиферированию Т-лимфоцитов и увеличению их количества. Некоторые из этих клеток становятся CD4<sup>+</sup>-клетками памяти. При отсутствии такого ко-стимулирующего взаимодействия наивная CD4<sup>+</sup>-Т-клетка остается анергичной. Взаимодействие B7-CD28 приводит к полной активации Т-лимфоцитов. Одним из важнейших путей этого процесса является увеличение периода жизни некоторых иРНК (иРНК IL-2). Сигнал через CD28 увеличивает и жизнеспособность Т-лимфоцитов в

результате синтеза белка Bcl-x, который угнетает апоптоз. Имеются особенности и в экспрессии адгезионных молекул. CD28 экспрессируется на покоящихся Т-клетках, а экспрессия CD152 осуществляется активированными Т-лимфоцитами.

Взаимодействие B7 и CD152 приводит к передаче негативного сигнала в активированный Т-лимфоцит и к выключению синтеза IL-2, являющегося фактором роста Т-лимфоцитов (рис. 2.3).

Активированные Т-лимфоциты и клетки памяти покидают лимфатический узел и направляются в участки воспаления или в те, которые были контаминированы патогенными микроорганизмами. Миграция сопровождается сменой экспрессии поверхностных молекул. Это, в первую очередь, касается снижения экспрессии CD64L (L-селектина), рецептора хоминга наивных Т-клеток. Активированные Т-клетки увеличивают экспрессию других молекул клеточной поверхности, в частности, интегрина - CD49dCD29 (VLA-4). Лиганды к этим молекулам экспрессируются за пределами лимфатического узла - в коже, в очагах воспаления. Также активированные Т-лимфоциты отличаются от наивных и по экспрессии хемокиновых рецепторов.

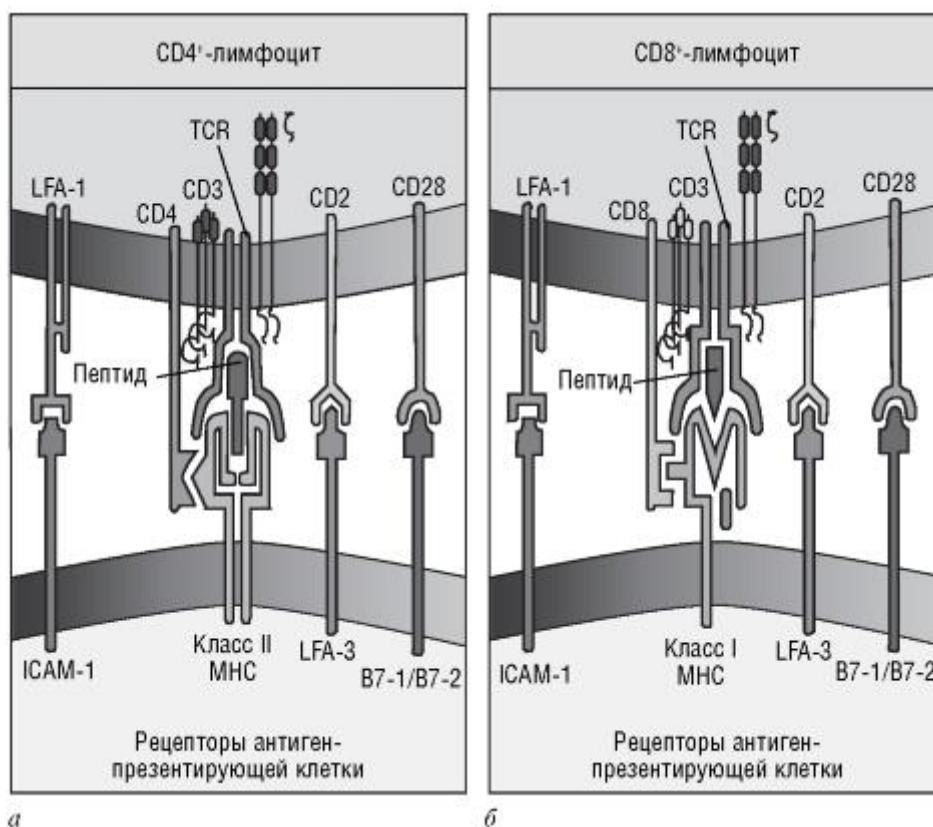


Рис. 2.3. Взаимодействие антигенпрезентирующих клеток с лимфоцитами CD4 и CD8. Экспрессия адгезионных молекул, антигенов МНС (по А. К. Abbas, 2009)

Активация В-лимфоцитов. Основной путь активации В-лимфоцитов - кооперация Т-В-клеток. Практически все белки являются тимусзависимыми антигенами, т. е. для синтеза антител необходима кооперация CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов с В-клетками. По этой причине такие лимфоциты принято называть Т-хелперами (Th). Th и В-лимфоцит обычно отвечают на разные эпитопы антигена, но для их эффективной кооперации эти эпитопы должны быть частью одной белковой последовательности.

Ключевые стадии Т-В-клеточной кооперации можно свести к следующим моментам. В-лимфоцит может играть роль АПК для CD4<sup>+</sup>-лимфоцита. Вначале В-лимфоцит экспрессирует иммуноглобулин, специфичный конкретному антигену, захватывает его в результате связывания с иммуноглобулином на мембране клетки. Затем комплекс антигена с

Ig перемещается внутрь клетки, и антиген подвергается процессингу в вакуолях. Часть пептидов, образованных при разрушении антигена, связывается в вакуолях с молекулами МНС II класса. Комплекс пептид-МНС II класса транспортируется на поверхность В-клетки, где и взаимодействует с Th. Кроме этого комплекса на поверхности Т- и В-лимфоцитов взаимодействует еще несколько пар молекул, необходимых для взаимной активации. CD11a/CD18-CD54 (LFA-1/ICAM-1) и CD2-CD58 (LFA-3) - поддерживают контакт между Т- и В-лимфоцитами. В7-CD28 и CD40-CD154 также играют одну из ключевых ролей во взаимодействии Т- и В-лимфоцитов.

Презентация В-лимфоцитом комплекса пептид-МНС II класса для Т-клеточного рецептора увеличивает экспрессию CD154 на Th. Взаимодействие CD40-CD154 усиливает экспрессию ко-стимуляторной молекулы на В-лимфоците, и В7 взаимодействует с CD28, экспрессированной на Т-лимфоците, что в итоге стимулирует синтез цитокинов Th и индуцирует пролиферацию как Th, так и В-лимфоцитов и последующий синтез иммуноглобулинов. Взаимодействие CD40 с CD154 необходимо и для переключения синтеза изотипов иммуноглобулинов на IgG, IgA. Если этого не происходит, то возможен синтез только IgM. Это возможно у индивидуумов с нефункциональным CD154. Изотип антител, которые синтезирует В-лимфоцит, зависит от цитокинов, секретируемых Т-лимфоцитом. IL-4 способствует преимущественному синтезу IgE и IgG4. IFN $\gamma$  способствует синтезу изотипов IgG.

Активация В-лимфоцитов антигенами без участия Th называется Т-независимой, а антигены - Т-независимыми антигенами. Они не приводят к образованию В-клеток памяти, а секретируемые иммуноглобулины относятся в основном к IgM. Т-независимые антигены (ТН) - это обычно крупные полимерные молекулы с множественными повторяющимися антигенными детерминантами (ЛПС). Различают ТН1, которые в больших концентрациях являются митогенами, т. е. поликлональными активаторами В-лимфоцитов и ТН2 - имеют природу бактериальных и грибковых полисахаридов. Особенности иммунного ответа на Т-независимые антигены связаны с тем, что образуются только IgM и не формируется иммунологическая память.

Поливалентные антигены с повторяющимися эпитопами составляют большинство Т-независимых антигенов и напрямую активируют В-лимфоциты. Активация начинается с перекрестного связывания рецепторов. Это активирует внутриклеточные механизмы: фосфорилирование киназ, сборку и активацию сигнальных комплексов на мембране клетки, активацию внутриклеточных сигнальных путей. В итоге активация В-лимфоцита сопровождается транскрипцией и трансляцией генов IgG и цитокиновых рецепторов, тогда как при Т-клеточной активации ключевыми являются транскрипция и трансляция генов цитокинов. Активация В-лимфоцитов начинается с активации тирозиновых киназ (семейства Src - Lyn, Blk, Lck, Fyn), связанных с BCR. Возможно, эти киназы могут активироваться CD45. Активированные киназы фосфорилируют последовательности ITAM в молекулах Ig $\alpha$  и Ig $\beta$  (CD79a и b), которые связаны с цепями Ig в мембране. Фосфорилированные ITAM привлекают к комплексу молекул киназу Syk, которая рекрутируется и активирует адаптерные молекулы, способствующие активации внутриклеточных сигнальных механизмов (NF-AT, AP-1, NF-kB). Киназа Syk относится к тому же семейству, что и ZAP-70, играющей центральную роль в активации Т-лимфоцита. Эти события приводят к активации протеинкиназы С и важнейшему событию - увеличению концентрации внутриклеточных ионов кальция и к активации большого количества цитоплазматических ферментов, активирующих белки Ras, Rac, активирующие MAP-киназный каскад. Примерно через 12 ч после развивающихся событий В-лимфоцит увеличивается в размерах и превращается в бласт-плазматическую клетку, секретирующую иммуноглобулины.

## 2.4. СТРУКТУРА АНТИТЕЛ И ИХ ФУНКЦИИ

Согласно определению, принятому ВОЗ, иммуноглобулины представляют собой группу эволюционно и структурно родственных белков, обладающих свойствами антител. Основной структурной единицей молекул иммуноглобулинов является гетеротетрамер, построенный из идентичных полумолекул, образованных тяжелыми и легкими полипептидными цепями и расположенных по обе стороны от оси симметрии (рис. 2.5). Тяжелые цепи содержат от 450 до 550 аминокислотных остатков, а легкие около 220. Каждая легкая цепь соединена с тяжелой при помощи одной дисульфидной связи. Количество таких связей между полумолекулами варьирует в зависимости от строения тяжелой цепи.

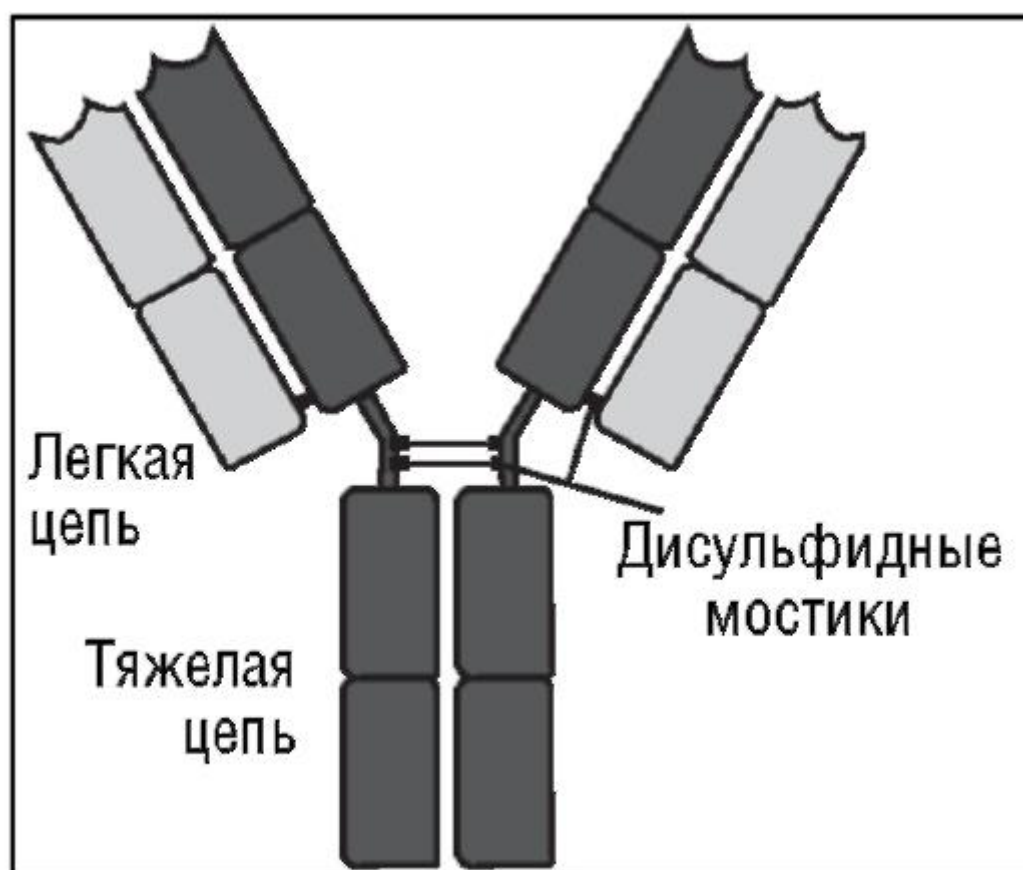


Рис. 2.5. Структура молекулы иммуноглобулинов (по А. К. Abbas, 2009)

Циркулирующие иммуноглобулины - это растворимые гликопротеины, присутствующие в сыворотке крови, тканевой жидкости или на клеточной мембране, которые распознают и связывают антигены. Они экспрессируются в виде мембранных рецепторов на поверхности В-лимфоцитов, растворимых молекул. Взаимодействие В-клеточного рецептора со специфичным антигеном способствует дифференцировке В-лимфоцитов в плазматические клетки, секретирующие антитела.

Разнообразие генов антител у различных видов возникло в результате множественных генных дупликаций и последующей дивергенции. В процессе эволюции в результате рекомбинаций и мутаций это разнообразие еще более выросло. Иммуноглобулин любого изотипа распознает и связывает антиген, способствует удалению иммунных комплексов.

Различают пять типов тяжелых цепей (H-цепей):  $\alpha$  (альфа),  $\gamma$  (гамма),  $\mu$  (мю)  $\epsilon$  (эпсилон),  $\delta$  (дельта) и два типа легких цепей (L-цепей):  $\kappa$  (каппа) и  $\lambda$  (лямбда). В соответствии с пятью типами тяжелых цепей различают пять классов (изотипов) иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD. Каждый класс Ig несет свои особые изотипические антигенные детерминанты - эпитопы, расположенные в константных

областях тяжелых и легких цепей. Благодаря этим антигенным изотипическим детерминантам можно определять с помощью соответствующих антител принадлежность иммуноглобулина к определенному классу.

Кроме того, в составе константных областей тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов могут быть выявлены *аллотипические* антигенные детерминанты, которые определяют антигенные различия внутри одного и того же изотипа антител.

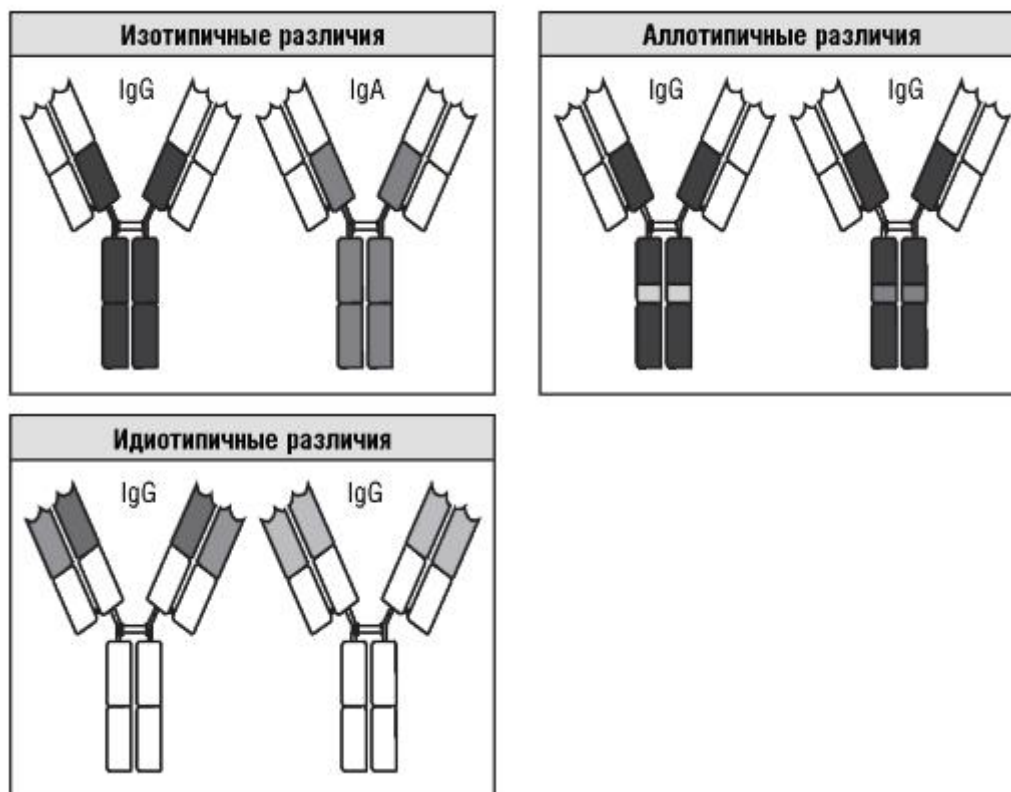


Рис. 2.6. Вариабельность структуры иммуноглобулинов. Все иммуноглобулины имеют четырехцепочечную структуру. Выделяют следующие виды вариабельности: изотипическая - обусловлена экспрессией зародышевых генов, присутствующих у всех особей вида, и кодирует все виды тяжелых и легких цепей и аминокислотные остатки вариабельных областей; аллотипическая - характеризует внутривидовую аллельную изменчивость; идиотипическая - представляет разнообразие паратопов и обусловлена разнообразием гипервариабельных участков (по А. К. Abbas, 2009)

В нормальной сыворотке крови 80% всех иммуноглобулинов составляют IgG, на долю IgM приходится 6%, на долю IgA - 13,5%, а на долю IgE и IgD - сотые или тысячные доли процента (рис. 2.6).

Особенность этих полипептидных цепей - отсутствие единого гена, кодирующего структуру всей полипептидной цепи. Всякий раз сборка такого гена происходит из отдельных сегментов. Этим обеспечивается разнообразие структур молекул антител, способность распознать любую существующую в природе структуру антигена. Иными словами, набор специфических участков связывания в популяции иммуноглобулинов организма столь широк, что на любой попадающий в организм антигенный эпитоп (участок связывания) обязательно найдется строго комплементарный участок (паратоп) в составе антигенсвязывающего фрагмента (Fab-фрагмента) какого-то иммуноглобулина.

Итак, каждая молекула иммуноглобулина содержит две идентичные легкие и две идентичные тяжелые полипептидные цепи, каждая из которых, в свою очередь, состоит из нескольких доменов (клубков). Четырехцепочечная структура и структура доменов стабилизированы бисульфидными связями между цепями и внутри цепей. На N-концах

тяжелых и легких цепей расположены те самые переменные области, которые в сочетании и образуют антигенсвязывающую структуру - *паратоп* (образуют антигенсвязывающий центр) в составе Fab-фрагмента. Отдельные полипептидные сегменты переменных областей тяжелых и легких цепей благодаря высокой изменчивости называют гиперпеременными участками, их называют еще участками, определяющими комплементарность. Три или четыре домена со стороны С-концов тяжелых цепей составляют константную часть молекулы - Fc-фрагмент. Поскольку в состав молекулы иммуноглобулина входят две легкие и две тяжелые цепи, они формируют два паратопа в составе двух Fab-фрагментов, т. е. антитело двухвалентно: может соединиться с двумя идентичными антигенными *эпитопами*. Этому способствует наличие так называемой шарнирной области между первым и вторым доменами константного фрагмента тяжелых цепей, благодаря которой обеспечивается возможность пространственной ориентации Fab-фрагментов для связывания с антигенными эпитопами.

Fab-фрагмент участвует в реакциях антиген-антитело, но не во всех, ввиду того, что обрезан Fc-фрагмент. Fc обеспечивает биологические эффекты антител: взаимодействует с комплементом, опсонинами, ревматоидным фактором, неспецифически взаимодействует с белком А *Staphylococcus aureus* и белком G стрептококков (рис. 2.7).

*Имуноглобулин G* единственный из иммуноглобулинов способен преодолевать плацентарный барьер и обеспечивать гуморальный иммунитет новорожденных первых месяцев жизни. Дополнительные порции содержащегося в молозиве IgG поступают в кровоток новорожденного через слизистую оболочку кишечника. IgG составляют основную массу антител при вторичном иммунном ответе, а также сравнительно легко выходят в тканевые жидкости, где обеспечивают антибактериальную и антитоксическую защиту.

Схематически молекула антитела класса IgG (см. рис. 2.8) может быть изображена состоящей из трех структурных единиц приблизительно равного размера. Две из них идентичны по строению и содержат антигенсвязывающие центры (Fab-области), а третья (Fc-область) ответственна за взаимодействие с молекулами, вовлеченными в процессы элиминации антигена: клеточными рецепторами, компонентами комплемента и т. д.

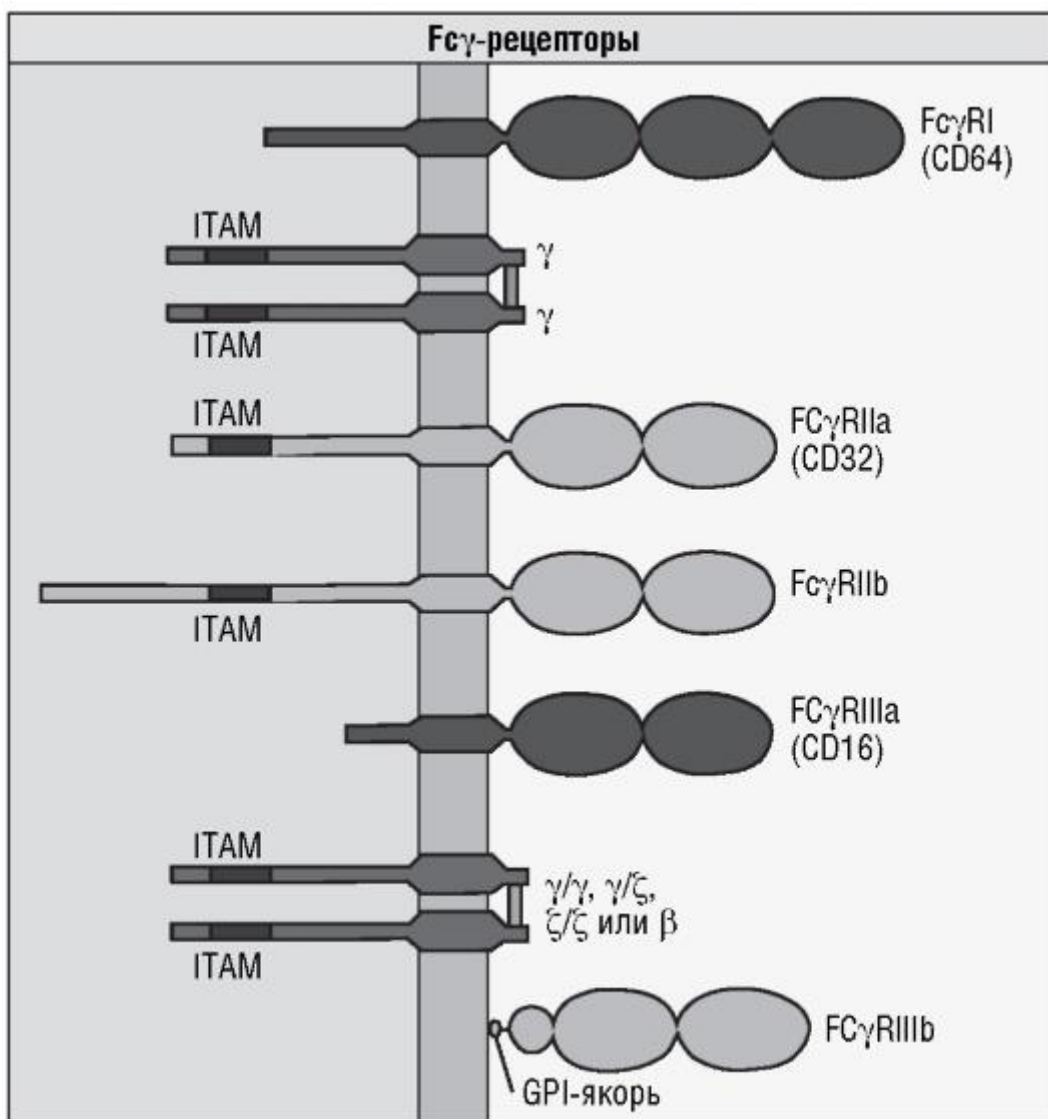


Рис. 2.7. Виды Fc $\gamma$ -рецепторов, относящиеся к суперсемейству иммуноглобулинов. Содержат один или два внеклеточных домена. Последовательности ITAM, ITAM, входящие во внутриклеточный домен, являются объектами воздействия тирозинкиназ и внутриклеточного проведения сигнала

Исходно подразделение IgG на четыре подкласса было основано на антигенных различиях. Впоследствии оно было подкреплено данными о структурных, физико-химических и функциональных особенностях каждого подкласса.

Позднее было установлено, что все субклассы IgG являются продуктами отдельных высоко гомологичных генов и что, несмотря на принадлежность к одному классу молекул антител и значительное сходство отдельных характеристик, каждый из четырех подклассов IgG обладает индивидуальным профилем биологических свойств (табл. 2.3) и занимает в общей картине явлений иммунитета свое особое место.

Первыми из подклассов IgG при вторичном иммунном ответе начинают синтезироваться IgG3, затем IgG1, IgG2 и IgG4. Последовательность появления субизотипов при иммунном ответе соответствует порядку расположения на хромосоме и очередности активации генов, кодирующих константные области тяжелых цепей.

Повышение концентрации подклассов IgG характерно для аллергических заболеваний, рассеянного склероза и ряда других заболеваний (табл. 2.4). Однако гораздо чаще имеет место снижение уровня подклассов IgG (табл. 2.5).



Доля IgG каждого подкласса среди антител, специфичных к данному антигену, может существенно отличаться от средних значений концентрации IgG и широко варьировать в зависимости от характера антигенного стимула. Одна из известных закономерностей состоит в продукции антител только двух субизотипов (IgG1 и IgG3) - в ответ на иммунизацию белковыми, в частности вирусными антигенами. Второй известный факт - преобладание продукции IgG2-антител против бактериальных полисахаридов.

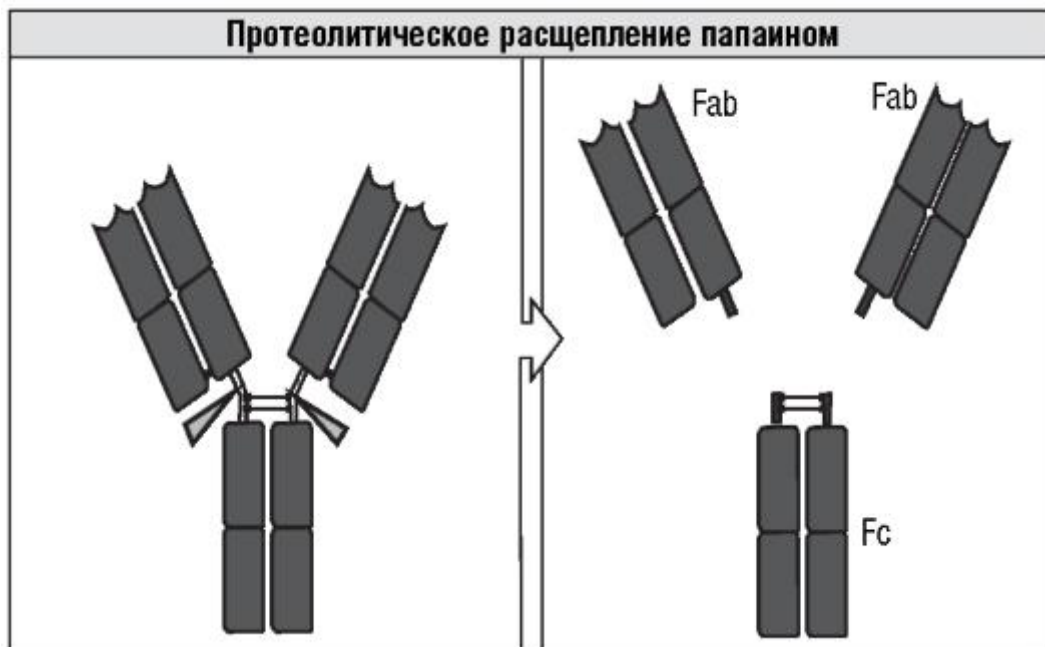


Рис. 2.8. Фрагменты молекулы иммуноглобулина (по А. К. Abbas, 2009)

Таблица 2.3. Биологические свойства подклассов IgG человека

Биологические свойства	Подклассы IgG			
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Содержание в сыворотке, мг/мл	7,1	3,0	0,80	0,40
Содержание в сыворотке, %	58-71	19-31	5-10	3-6
Экспрессия на В-лимфоцитах, %	40	48	8	1
Доля плазмочитов-продуцентов, %	64	26	8	1
Связывание C1q	++	+	+++	-
Связывание с FcR-I	+++	+	+++	+
Связывание с FcR-II	++	+	++	+
Связывание с FcR-III	++	+	++	+
Связывание с РФ	+	+	-	+
Связывание с белком А стафилококка	++	++	-	++
Связывание с белком G стрептококка	++	++	++	++
Перенос через плаценту	++	+	++	++

Время полужизни в крови, дни	12-21	12-21	7-8	11-21
Блокирующая активность при аллергии	-	-	-	+
Функциональная валентность	2	2	2	1
Активация системы комплемента	++	+	+++	+
Реактант при формировании антител против полисахаридов оболочки вирусов и капсулы бактерий	+++	+	+	+
Иммунный ответ на полисахаридные антигены	-	+++	-	-
Реакция на хроническую антигенную стимуляцию	+	+	+	+++

Примечания: «+++», «++» и «+» обозначают соответственно высокую, умеренную и низкую степень выраженности функций; «-» - отсутствие функций. РФ - ревматоидные факторы.

В последние годы, однако, при использовании высокоочищенных антигенов и более совершенных методов анализа удалось выявить в сыворотке здоровых лиц и присутствие IgG1-антител против капсулярных полисахаридов менингококков и липополисахаридов сальмонелл.

Имеются данные о прогрессивном усилении синтеза IgG4-антител в результате хронической антигенной стимуляции.

Таблица 2.4. Заболевания, сопровождающиеся повышением уровня подклассов IgG

Заболевание	Подклассы IgG
Аллергия	IgG4 (антитела появляются перед или одновременно с повышением уровня IgE)
Атопическая экзема, дерматит	IgG4
Кистозный фиброз при хронической инфекции <i>Pseudomonas aeruginosae</i>	IgG2, IgG3 (повышение IgG3 имеет прогностическое значение)
Рассеянный склероз	IgG1

Таблица 2.5. Заболевания, сопровождающиеся снижением уровня подклассов IgG

Заболевание	Подклассы IgG
<i>Аутоиммунные заболевания</i>	
Бронхиальная астма у детей	IgG2, IgG3
Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура	IgG2, IgG4
Системная красная волчанка	IgG3, IgG4
<i>Иммунодефициты</i>	

Трансплантация костного мозга	IgG2, IgG4
Высокие дозы кортикостероидов	IgG2, IgG3
ВИЧ-инфекция	IgG2, IgG4
Дефицит IgA	IgG2, IgG4
Дефицит IgM	IgG4
Облучение рентгеновскими лучами, химиотерапия	IgG2
<i>Инфекции</i>	
Средний отит (пневмококковая инфекция)	IgG2
Возвратные инфекции некапсулированными бактериями	IgG2, IgG4
Возвратные легочные инфекции, бронхоэктазы	IgG2, IgG3, IgG4
<i>Другие заболевания</i>	
Алкогольный цирроз печени	IgG2, IgG4
Телеангиоэктазия	IgG2, IgG4
Конечная стадия почечной недостаточности	IgG1
Нефротический синдром	IgG1

IgG2 является основным подклассом при иммунном ответе на углеводные антигены, подобные полисахариду пневмококка. После рождения уровень IgG2 нарастает медленно, достигая значений, свойственных взрослым, лишь к 10-12 годам. Это коррелирует с медленным формированием у детей способности синтезировать IgG2-антитела к полисахаридным антигенам и их подверженности инфекционным болезням, вызываемым такими бактериями, как *Haemophilus influenzae* (тип В). Пациенты с избирательным дефицитом IgA и IgG2 особенно подвержены рецидивирующим септическим заболеваниям, связанным с капсульными бактериями, в то время как индивиды с недостаточностью одного IgA и отсутствием аналогичных инфекций имеют нормальное содержание IgG2. С другой стороны, известно, что пациенты с дефицитом IgA с нормальным уровнем сывороточного IgG2, но слабым ответом на полисахариды пневмококков значительно сильнее подвержены риску развития пневмококкового сепсиса. Эта связь пониженного уровня сывороточного IgG2 с высокой частотой рецидивирующих заболеваний дыхательных путей, воспалениями среднего уха, поражениями функций легких и частыми инфекциями *S. pneumoniae* и *H. influenzae* подтверждена многочисленными наблюдениями.

У человека определены три класса рецепторов для IgG: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16), которые экспрессируются конститутивно клетками многих типов. Экзогенные факторы могут индуцировать или повышать их экспрессию.

FcγRI (CD64) участвует в фагоцитозе иммунных комплексов и высвобождении медиаторов. Связывается с высокой аффинностью ( $10^8$ - $10^9$ ) IgG1 и IgG3 и с низкой аффинностью ( $10^7$ - $10^8$ ) IgG4. Экспрессируется моноцитами.

FcγRII (CD32) экспрессируется в виде FcγRIIa (моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, тромбоциты), связывается только с IgG1, IgG3 и FcγRIIb (лимфоциты), при перекрестном связывании блокирует активность клеток, особенно В-лимфоцитов.

Молекула FcγRIII (нейтрофилы, эозинофилы, макрофаги, NK-клетки, Т-клетки) экспрессируется в виде FcγRIIIa и FcγRIIIb. FcγRIIIa обладает умеренной активностью к мономерному IgG, FcγRIIIb избирательно экспрессируется нейтрофилами, также обладает низкой аффинностью к мономерному IgG.

*Иммуноглобулин М* - пентамер, состоящий из пяти четырехцепочечных структур, его называют макроглобулином из-за высокой молекулярной массы. Поливалентность молекулы обеспечивает высокую суммарную avidность связывания антигенов со множественными эпитопами. IgM синтезируется раньше других классов в онтогенезе. Может продуцироваться в организме плода в ответ на внутриутробную инфекцию. Этот класс иммуноглобулинов первым появляется на самых ранних стадиях гуморального иммунного ответа на инфекцию и у взрослых, т. е. представляет собой антитела первичного ответа.

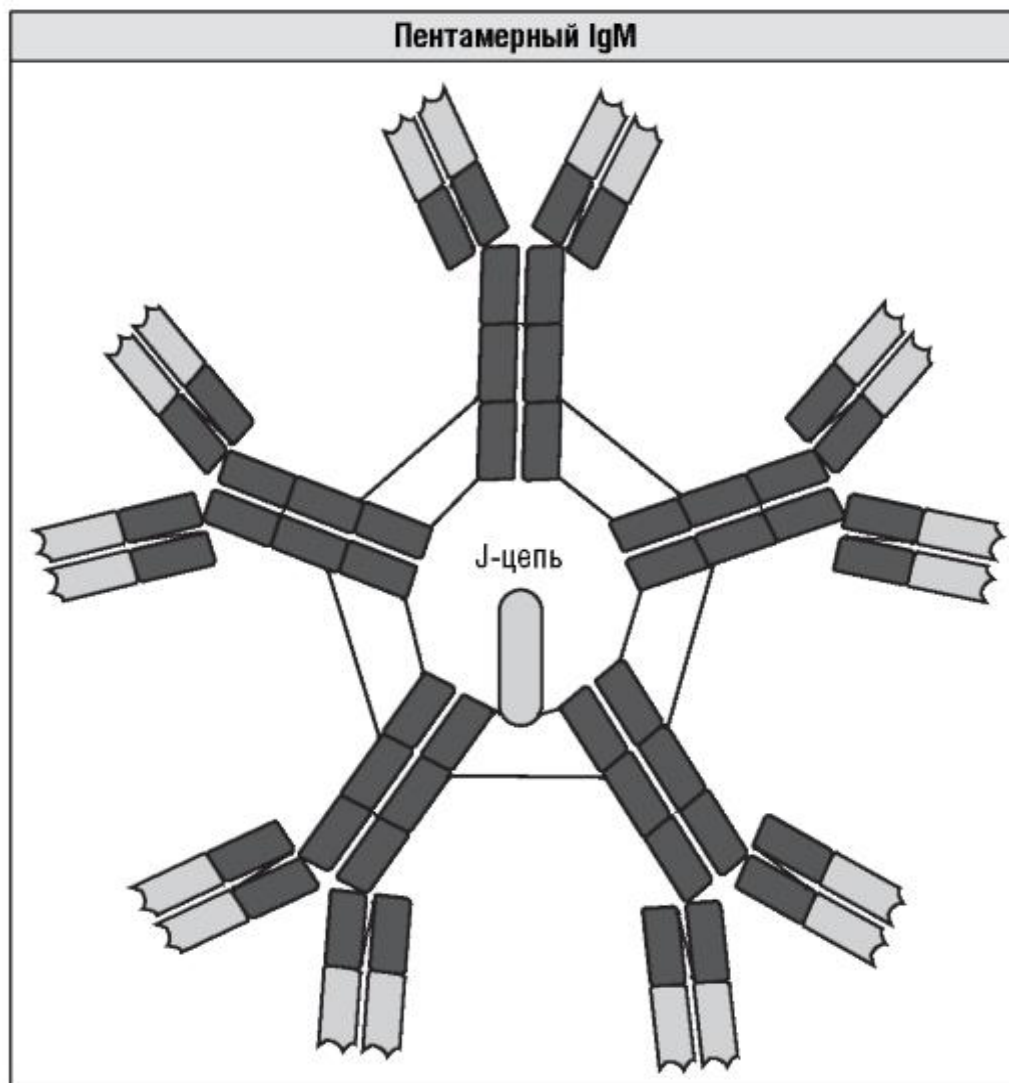


Рис. 2.9. Структура молекулы иммуноглобулина М (по А. К. Abbas, 2009)

Функционально IgM представляют собой антитела с относительно низкими константами аффинности. Наличие десяти связывающих центров может существенно увеличить их интегральную связывающую способность, однако из-за пространственных ограничений этот потенциал реализуется лишь при взаимодействии с малыми молекулами, масса которых не превышает 1,5 кДа. В реакциях с антигенами большего размера IgM ведут себя как молекулы, имеющие от двух до пяти центров связывания. Это позволяет им выступать в качестве факторов, агглютинирующих и инактивирующих вирусы и бактерии. Возможно, большой размер молекулы IgM благоприятствует связыванию и агрегации крупных частиц с малой плотностью антигенных детерминант на поверхности.

Невысокий уровень аффинитета сопряжен с полиреактивностью антител класса IgM. Аутореактивность IgM-антител служит основой развития ряда заболеваний, в которых явления аутоиммунитета играют роль ведущего патогенетического фактора. В последние годы с помощью гибридной техники получены неоспоримые доказательства присутствия в нормальном организме клеток, продуцирующих антитела, способные связывать широкий круг структурно неродственных антигенов, таких как тиреоглобулин,  $\beta_2$ -микроглобулин, инсулин, а также белки и углеводы вирусов и бактерий. Основную часть таких антител составляют IgM.

В качестве фактора противoinфекционной защиты IgM-антитела функционируют в сыворотке крови, лимфе и межклеточной среде. Они первыми появляются в крови в ходе иммунного ответа. Содержание IgM в сыворотке крови в норме колеблется от 0,5 до 3,5 г/л. Наличие в составе молекулы J-цепи делает возможным также трансэпителиальный перенос IgM с присоединением секреторного компонента, поэтому IgM функционирует и как секреторный Ig слизистых оболочек и выделений экзокринных желез.

*Имуноглобулин А* представлен двумя подклассами (IgA1 и IgA2) и существует в двух различных формах - секреторной и сывороточной. Секреторный IgA состоит из димеров и полимеров с молекулярной массой 400 кДа и выше, среди которых оба подкласса представлены в равных количествах. В сывороточном IgA доминируют мономерные молекулы IgA1 с массой 170 кДа. Подклассы IgA1 и IgA2 выражено различаются по структуре шарнирной области. У IgA1 она довольно протяженная, а у IgA2 - укорочена.

IgA является основным иммуноглобулином секретов слизистых оболочек и экзокринных желез. Его синтезируют лимфоидные ткани, связанные со слизистыми покровами кишечника, дыхательных и мочеполовых путей, а также с железистым эпителием молочных, слюнных, слезных и других желез.

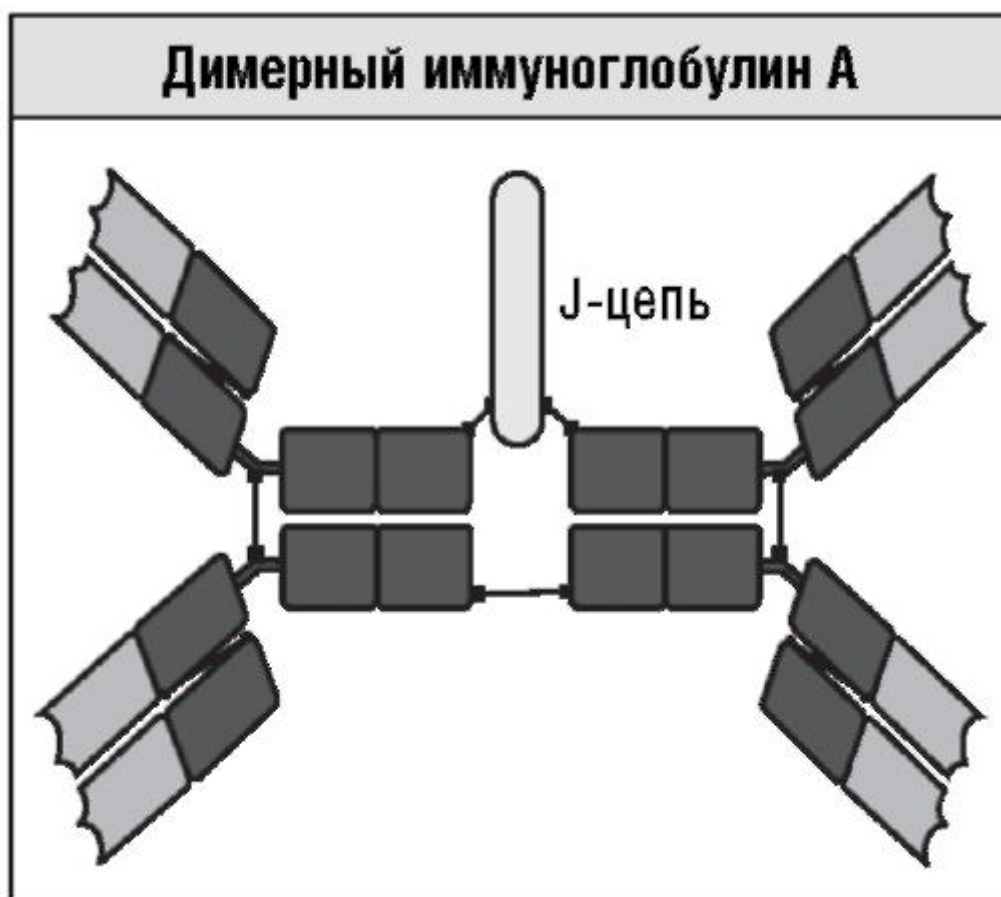


Рис. 2.10. Структура молекулы иммуноглобулина А (по А. К. Abbas, 2009)

В паренхиме этих тканей, под базальной мембраной и вокруг протоков, выводящих продукты секреции, расположены множественные лимфоидные фолликулы и одиночные клетки-продуценты IgA-антител. В тесной связи со слизистыми покровами и железами находятся скопления регионарных лимфатических узлов и особые лимфоэпителиальные образования, пейеровы бляшки и миндалины. Совокупность этих структур представляет собой отдел иммунной системы, обеспечивающий местный иммунитет. Слизистые оболочки являются основными воротами проникновения в организм инфекционных агентов и антигенных субстанций и потому развитие иммунного ответа при попадании антигенов на слизистые оболочки и последующая секреция антител являются ключевыми механизмами поддержания иммунологического гомеостаза.

Система местного иммунитета, будучи тесно связанной с остальными отделами иммунной системы, обладает в то же время известной автономностью, которая проявляется в особенностях синтеза и функционирования IgA-антител.

Формирование плазматических клеток-продуцентов IgA начинается в лимфоидной ткани кишечника. В-лимфоциты, прошедшие первую стадию антигензависимой дифференцировки, т. е. способные к распознаванию определенного антигена и синтезу IgM-антител, с кровотоком попадают в пейеровы бляшки и там подвергаются воздействию нескольких дифференцировочных стимулов. Первый из них возникает при связывании антигена с мембранными IgM- и IgD-рецепторами и индуцирует размножение клонов-продуцентов антител, специфичных к участвующему в реакции антигену. Второй сигнал исходит от локализованных в пейеровых бляшках антигенспецифичных Т-хелперов, называемых также клетками-переключателями. Их воздействие на созревание В-лимфоцитов состоит в избирательной активации генов, кодирующих  $\alpha$ -цепь. В результате В-лимфоциты превращаются в клетки, коммитированные к продукции IgA. Затем с током лимфы они покидают пейеровы бляшки, проходят через мезентериальные лимфоузлы, попадают в кровоток и мигрируют в костный мозг или печень. Находясь в этих тканях, они проходят заключительные этапы созревания и формируют пул клеток, продуцирующих сывороточный IgA и способных вторично мигрировать в лимфоидные ткани, ассоциированные со слизистыми оболочками и экзокринными железами.

Основные особенности выработки IgA плазматическими клетками состоят в том, что в ходе биосинтеза в структуру молекулы включается полипептидная J-цепь и что конечные продукты синтеза являются моноили димерными молекулами, содержащими два или четыре центра связывания антигена.

Продукция секреторного IgA имеет ряд дополнительных особенностей. Плазматические клетки системы локального иммунитета вырабатывают IgA в форме димеров или полимеров более высокого порядка. Транспорт IgA через слизистые покровы или железистый эпителий осуществляется путем взаимодействия с секреторным компонентом (СК), продуктом эпителиальных клеток, который они синтезируют и экспрессируют в виде связанного с мембраной рецептора. Функция СК состоит в присоединении полимерных Ig и транспорте их через слой эпителия в просвет железы или на поверхность слизистой. Мембраносвязанный СК обладает высоким сродством к J-цепи, находящейся в составе полимерных молекул IgA и IgM. Опосредованное J-цепью связывание димерной молекулы IgA с СК на мембране эпителиальной клетки ведет к образованию эндцитозных пузырьков, которые проходят через цитоплазму к апикальной поверхности клетки. Во время переноса через цитоплазму секреторный компонент утрачивает связь с мембраной и превращается в компонент молекулы IgA, ковалентно связанный с  $\alpha$ -цепями дисульфидными связями.

Часть локально синтезированных димерных молекул IgA, не достигшая слоя эпителиальных клеток, с током лимфы через грудной проток попадает в систему кровообращения.

На мембранах клеток паренхимы печени и эпителия желчных путей также присутствует секреторный компонент, который обеспечивает захват IgA из кровотока, превращение его в секреторную форму, перенос в желчь и далее - в просвет кишечника. Таким образом, эпителий кишечника «омывается» двумя встречными потоками секреторного IgA.

Имунохимически секреторный IgA, выделенный из молозива, желчи или иных секретов, обладает рядом особенностей, связанных с полимерной структурой молекулы и наличием четырех и более центров связывания антигена. В опытах *in vitro* он агглютинирует бактерии, нейтрализует вирусы и преципитирует растворимые антигены, не уступая по эффективности антителам класса IgM. В отличие от IgM, молекулы IgA лишены участка связывания C1q и потому не могут активировать комплемент. Секреторный IgA функционирует в средах, богатых пищеварительными ферментами, которые выделяют клетки организма. Защиту IgA от разрушения протеазами обеспечивает секреторный компонент.

С другой стороны, бактериальная микрофлора слизистых оболочек также является источником ферментов, среди которых обнаружены протеазы, способные преодолевать защитное действие секреторного компонента и, разрушая IgA, снижать эффективность механизмов иммунной защиты от инфекций.

В организме секреторный IgA выполняет несколько функций, связанных с поддержанием иммунологического гомеостаза. Связываясь с бактериями, они изменяют гидрофобность и заряд их поверхности, и этим препятствуют адгезии микроорганизмов на слизистых и реализации их патогенного потенциала. Связывание IgA-антител с вирусами, находящимися на поверхности слизистых оболочек или проникших в эпителиальные клетки, препятствует развитию и распространению вирусных инфекций.

Образуя иммунные комплексы с инфекционными агентами, IgA-антитела активируют и усиливают действие неспецифических бактерицидных факторов (лактоферрин, лизоцим). IgA-антитела участвуют в реакциях фагоцитоза и клеточно-опосредованной цитотоксичности в качестве присоединенного через Fc-рецептор компонента мембраны нейтрофилов, макрофагов или моноцитов. Связывая токсины и ферменты, они обеспечивают нейтрализацию их активности и удаление из организма.

Чрезвычайно важная функция секреторного IgA состоит в подавлении переноса антигенов через поверхность слизистой и попадания их в кровоток. Это предотвращает избыточную антигенную стимуляцию иммунной системы и сенсибилизацию в отношении микробных и пищевых антигенов. Понижение уровня IgA-антител при вскармливании младенцев заменителями материнского молока часто служит причиной аллергизации, поэтому поступление секреторного IgA с молоком матери в период новорожденности не только необходимо для защиты от инфекций, но и является фактором снижения риска развития аллергических реакций на бактериальные и пищевые антигены.

В отличие от секреторного IgA, сывороточный IgA слабо преципитирует растворимые антигены и агглютинирует бактерии. Его роль в иммунной защите организма в значительной мере определяется взаимодействием с клетками иммунной системы, несущими на своей мембране Fc $\alpha$ -рецептор и осуществляющими клеточно-опосредованные защитные реакции (цитотоксические эффекты, фагоцитоз и др.). Сывороточный IgA взаимодействует также с гуморальными факторами неспецифической защиты (комплемент, лактоферрин, лизоцим) и усиливает их антибактериальное действие. В целом функции сывороточного IgA пока определены недостаточно четко, однако некоторые из них уже известны в достаточной мере. Иммунные комплексы, формируемые сывороточным IgA, обладают высокой растворимостью, поэтому они медленно выводятся из кровотока и, как установлено, проявляют свойства толерогенных факторов, которые индуцируют неответственность на антигены, проникающие в кровоток из пищеварительного тракта. Известно также, что

сывороточные IgA-антитела могут блокировать реакции, опосредуемые антителами других классов, таких как IgM и IgE, и таким путем влиять на ход воспалительных процессов и реакций, связанных с гиперсенсibilизацией. Таким образом, согласно современным представлениям сывороточный IgA преимущественно играет роль регулятора иммунологических процессов.

Общее количество IgA, синтезируемого системой локального иммунитета, составляет до 3-5 г в сутки. В сыворотке человека IgA присутствует в количествах (0,5-4,0 г/л), превышающих уровень IgM (1-2 г/л) и уступающих только содержанию IgG (8-16 г/л). Сывороточный IgA на 90% состоит из мономерных молекул и представлен преимущественно IgA1. Около 10% составляют димеры IgA, несущие J-цепь. Молекулы, содержащие секреторный компонент, удается обнаружить в сыворотке в качестве примеси, составляющей доли процента. В то же время, согласно имеющимся оценкам, объем синтеза IgA в организме примерно вдвое превышает объем валового синтеза антител остальных изотипов, что, вероятно, связано с необходимостью обеспечить иммунную защиту слизистых, площадь которых в 200 раз превосходит поверхность кожных покровов.

Продукцию IgA могут стимулировать цитокины активированных Т-лимфоцитов и макрофагов: IL-4, -5 и -6, IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ .

Следует подчеркнуть тесную связь механизмов, регулирующих выработку IgA и IgE-антител. Гиперпродукция IgE у пациентов и у экспериментальных животных сопровождается уменьшением числа и клеточности пейеровых бляшек и увеличением количества клеток-продуцентов IgE почти исключительно в мезентериальных лимфоузлах при очень малом количестве или полном отсутствии их в других лимфоидных структурах.

Выработка секреторных IgA-антител может активизироваться при контакте антигена со слизистыми дыхательных путей или пищеварительного тракта. Этот факт послужил отправной точкой в разработке приемов вакцинации, индуцирующих формирование преимущественно секреторного иммунитета. Важно, что такая вакцинация вызывает синтез IgA-антител не только в месте аппликации антигена, но и в других органах - молочных, слюнных и слезных железах, в дыхательном и мочеполовом тракте. Примером успешной реализации этого подхода может служить широко известная практика вакцинации против полиомиелита. Однако серьезным барьером на пути реализации этого подхода является развитие иммунологической неответственности, которая сопутствует энтеральному введению антигена. Недостаточность продукции IgA является наиболее частым первичным иммунодефицитом и проявляется в стойком снижении концентрации сывороточного IgA до уровня ниже 0,5 г/л. Среди здоровых лиц (доноров крови) такое отклонение встречается с частотой от 1 : 300 до 1 : 3000. Среди пациентов, страдающих аллергическими расстройствами, частота дефицита IgA составляет у детей 1 : 20, а у взрослых 1 : 160. Высокую частоту IgA-дефицита обнаруживают у больных с аутоиммунными заболеваниями, ревматоидным артритом.

Приобретенный IgA-дефицит чаще всего возникает вследствие лечения пенициллином, сульфаниламидами. В значительной части случаев (до 50%) у пациентов с IgA-дефицитом обнаруживают аутоантитела к IgA. Большинство пациентов с IgA-дефицитом предрасположены к вирусным инфекциям, аутоиммунным и аллергическим заболеваниям, резистентность к бактериальным инфекциям у них обычно не нарушена.

Повышенная продукция поликлонального IgA может быть следствием усиленной стимуляции иммунной системы. Таковую картину наблюдают при острых инфекциях мочевых путей, при холере, колитах, цирротических поражениях печени. При ревматоидных артритах синтез IgA происходит в синовиальных оболочках суставов, пораженных воспалительным процессом.



Известен ряд заболеваний, при которых IgA-антитела играют роль ведущего патогенетического фактора. Одним из них является IgA-нефропатия (болезнь Бергера), гломерулонефрит. Заболевание ведет к прогрессирующей почечной недостаточности вследствие вначале воспалительных, а затем - склеротических изменений структуры почечных клубочков. Поражение обусловлено массивным отложением в мезангии иммунных комплексов, содержащих IgA. Природа антигена, входящего в состав комплексов, окончательно не определена, однако ряд данных указывает на важную роль пищевых белков - глиаина, казеина, лактальбумина, овальбумина, лизоцима и белков сои. С другой стороны, существуют данные о возможной связи IgA-нефропатии с вирусами цитомегалии и гепатита В. Иммунохимический анализ мезангиальных отложений выявил в них присутствие IgA1, но не IgA2. В 25-50% случаев в сыворотке пациентов обнаруживали повышенный уровень IgA1 с низким аффинитетом. Повышенная продукция низкоаффинных антител является признаком иммунной недостаточности и может быть причиной малой эффективности механизмов выведения иммунных комплексов из циркуляции.

Нарушения продукции IgA-антител к пищевым белкам лежат также в основе некоторых заболеваний пищеварительной системы. При целиакии (чревной болезни) отложения иммунных комплексов, содержащих глиадин и специфичные к нему IgA-антитела, обнаруживают на поверхности ворсинок тонкой кишки. Деструкция ворсинок нарушает процесс всасывания, развивается диарея. Для целиакии характерно повышение продукции антител к глиадину, относящихся к субклассу IgA1.

*Иммуноглобулин E.* В отличие от иммуноглобулинов других классов, IgE-антитела не могут активировать комплемент, опсонизировать или агглютинировать бактерии, нейтрализовать вирусы или преципитировать антигены. Основное свойство IgE состоит в способности сенсibilизировать в отношении определенного антигена (аллергена) мембраны тучных клеток и базофилов. Связывание молекул антигена с мембранным IgE служит сигналом для освобождения из этих клеток ряда биологически активных веществ, вызывающих спазм гладкой мускулатуры, повышение проницаемости сосудов, воспалительные реакции и другие сдвиги, лежащие в основе явлений гиперчувствительности немедленного типа. Доказано участие этого механизма в патогенезе анафилаксии и аллергии, а также в формировании и реализации иммунной защиты против паразитарных инвазий. Считают, что основная доля IgE в организме связана с рецепторами мембран тучных клеток, базофилов, лимфоцитов и других клеточных элементов, что и является одной из главных причин низкого содержания антител этого класса в сыворотке.

Паразитарные инвазии представляют собой группу заболеваний человека и животных, при которых повышенная продукция IgE-антител наиболее очевидно связана с механизмами иммунной защиты. Продемонстрирована возможность переноса устойчивости животных к заражению паразитами с помощью IgE-антител. С другой стороны, установлено, что:

- 1) формирование противопаразитарного иммунитета зависит от функций Т-клеточного звена иммунной системы;
- 2) наряду с продукцией антител в процессе ответа на паразитарную инвазию возникают цитолитические Т-лимфоциты-эффекторы, а также популяции регуляторных Т-клеток - хелперов и супрессоров;
- 3) проникшие в организм паразиты выделяют вещества, усиливающие как эффекторные, так и супрессорные звенья механизмов иммунной защиты, и потому способны двунаправленно влиять на баланс реакций организма-хозяина, индуцируя либо ликвидацию инвазии, либо устойчивый симбиоз.

Именно поэтому до сих пор биологическая роль и закономерности функционирования IgE в здоровом организме определены недостаточно ясно и требуют дальнейших исследований.

В настоящее время есть достаточные основания полагать, что биологические свойства и функции IgE-антител не ограничиваются их участием в противопаразитарном иммунитете и в реализации аллергических реакций. Возможно, взаимодействие IgE с дендритными клетками в тканях, контактирующих с внешней средой, представляет собой часть гомеостатического механизма, который в нормальном организме обеспечивает элиминацию чужеродных антигенов без существенных тканевых повреждений и потому остается до сих пор малоизученным. Вероятно, интенсивные изыскания в этой области в скором времени позволят точнее определить роль IgE как в поддержании гомеостаза нормального организма, так и в развитии аллергических заболеваний.

У человека обнаружены два вида рецепторов для IgE - высокоаффинный FcεRI, который экспрессируют тучные клетки, эозинофилы, базофилы, и низкоаффинный - FcεRII, экспрессируют лейкоциты и лимфоциты.

Структура IgD. IgD вместе с IgE составляет группу минорных классов иммуноглобулинов человека. Его содержание в сыворотке крови близко к 60 мкг/мл, а частота IgD-миелом колеблется от 1 до 3% общего числа случаев возникновения этого заболевания. Данные исследования трех миеломных IgD человека показали, что молекулярная масса этого белка составляет около 184 кДа. Масса классспецифичной тяжелой δ-цепи равна 69 кДа. Она построена из 512 аминокислотных остатков, из которых 383 входят в константную область и образуют три домена (Cδ1-Cδ3). Структура доменов Cδ1 и Cδ2 подобна структуре соответствующих областей Ig других классов, однако Cδ3-домен и шарнирный участок построены необычно.

Структура домена Cδ3 также характеризуется наличием двух глюкозаминных олигосахаридных групп и необычным составом аминокислотных остатков. Высокое содержание остатков пролина создает условия для формирования изгибов полипептидной цепи, что, вероятно, необходимо для поддержания особой конформации этого домена, которая не имеет аналогов в структуре Ig других классов.

В области шарнира имеется всего один цистеиновый остаток, формирующий межцепочечную дисульфидную связь. Шарнирный участок δ-цепи имеет наибольшую степень гомологии с Cμ2-доменом IgM (33%), что, вероятно, указывает на эволюционное родство этих структур. Шарнирная область содержит 64 аминокислотных остатка, т. е. имеет наибольшую протяженность, и может быть разделена на два структурно различных сегмента по 30 остатков в каждом. Аминоконцевой сегмент обогащен остатками аланина и треонина, содержит пять галактозаминных олигосахаридных групп и характеризуется высокой устойчивостью к протеолизу. С-концевой сегмент обогащен остатками глутаминовой кислоты и лизина и проявляет исключительно высокую чувствительность к протеолизу. Естественным фактором вызывающим спонтанный протеолиз IgD в сыворотке крови, является плазмин. Плазмин и трипсин расщепляют молекулы IgD на границе между доменами Cδ1 и Cδ2, приводя к образованию одновалентных Fab-фрагментов и Fc-фрагмента с дисульфидной связью между остатками тяжелых цепей.

Низкое содержание IgD в сыворотке крови, малая частота IgD-миелом и высокая подверженность спонтанной деградации являются причинами того, что до сих пор IgD остается одним из наименее изученных классов Ig. Общепринята точка зрения, согласно которой IgD выполняет свою основную функцию в качестве мембранного рецептора В-лимфоцитов, ответственного вместе с IgM-рецептором за активацию и кооперацию Т- и В-лимфоцитов при контакте с антигеном.

Защитный эффект антител обусловлен их непосредственным связыванием с патогеном, лишая его возможности взаимодействовать с клетками и инфицировать их. Однако антитела чаще взаимодействуют своим Fc-фрагментом с соответствующими рецепторами, которые экспрессируются мононуклеарными клетками, нейтрофилами, НК-клетками, эозинофилами, базофилами, тучными клетками.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какова роль субизотипов IgG в ингибировании инфектов различной природы?
2. Перечислите основные биологические эффекты секреторного IgA.
3. Какую роль играют IgE в защите макроорганизма от паразитарных инвазий?

## Глава 3. АНТИГЕНЫ

В 1899 г. Л. Детре-Дейтч, сотрудник лаборатории И. И. Мечникова в Институте Пастера, предложил для обозначения веществ, вызывающих образование антител, термин «антиген».

Термин «антиген» используется в двух случаях. Во-первых, так называют молекулы, которые индуцируют иммунный ответ (эти молекулы называют еще иммуногенами). Во-вторых, антигенами называют молекулы, реагирующие с антителами или примированными Т-лимфоцитами. При этом не имеет значения, способны ли эти молекулы сами по себе индуцировать образование таких антител или Т-лимфоцитов. Если мыши ввести ее собственные эритроциты, то никаких антител, естественно, образовываться не будет. Если же ей ввести эритроциты крысы, то образуются антитела не только к крысиным, но и к мышинным эритроцитам, которые начинают связываться с собственными клетками животного. В этом случае эритроциты мыши выступают как антиген, поскольку связывают антитела, хотя сами по себе вызвать их образование не могут. Другой пример - гаптены, низкомолекулярные химические вещества известного строения, такие как динитрофенил или метааминобензолсульфонат. Сами по себе гаптены не иммуногенны. В то же время они реагируют с антителами, образование которых было индуцировано гаптенем.

Кроме антигенов, способных индуцировать иммунный ответ, необходимо выделить чужеродные вещества белковой природы, не обладающие иммуногенностью, - суперантигены, которые могут связываться с  $\beta$ -цепью молекул антигенраспознающего рецептора на Т-лимфоцитах. Данная часть молекулы ТКР не участвует в презентации антигенного пептида, но является общей для достаточно большого количества Т-лимфоцитов (около 20%). В результате такого взаимодействия происходит активация большого количества Т-лимфоцитов по сравнению со стимуляцией их специфическим антигеном (менее 0,1%). Суперантигены также презентуются Т-лимфоцитам с помощью молекул МНС II класса на поверхности антигенпрезентирующей клетки. Однако суперантигены после их захвата АПК не подвергаются процессингу и действуют как целая молекула.

Важно понимать, что зоной взаимодействия является не паратоп, а боковой участок молекулы МНС II класса. Именно поэтому реакция Т-лимфоцитов на стимуляцию суперантигенами не является клоноспецифичной, а приводит к активации большого количества Т-лимфоцитов, гиперпродукции цитокинов, развитию пирогенного эффекта, синдрому токсического шока, снижению артериального давления и другим неспецифическим синдромам (рис. 3.1).

Та часть гипервариабельной области антитела, которая контактирует с антигеном, называется паратопом, а часть антигена, взаимодействующая с паратопом, обозначается как эпитоп. Если антиген - линейный пептид или полисахарид, то во взаимодействии с антителом принимают участие около 5-6 аминокислотных остатков. Если же антиген - глобулярный белок, то с антителом может контактировать до 16 аминокислотных остатков.

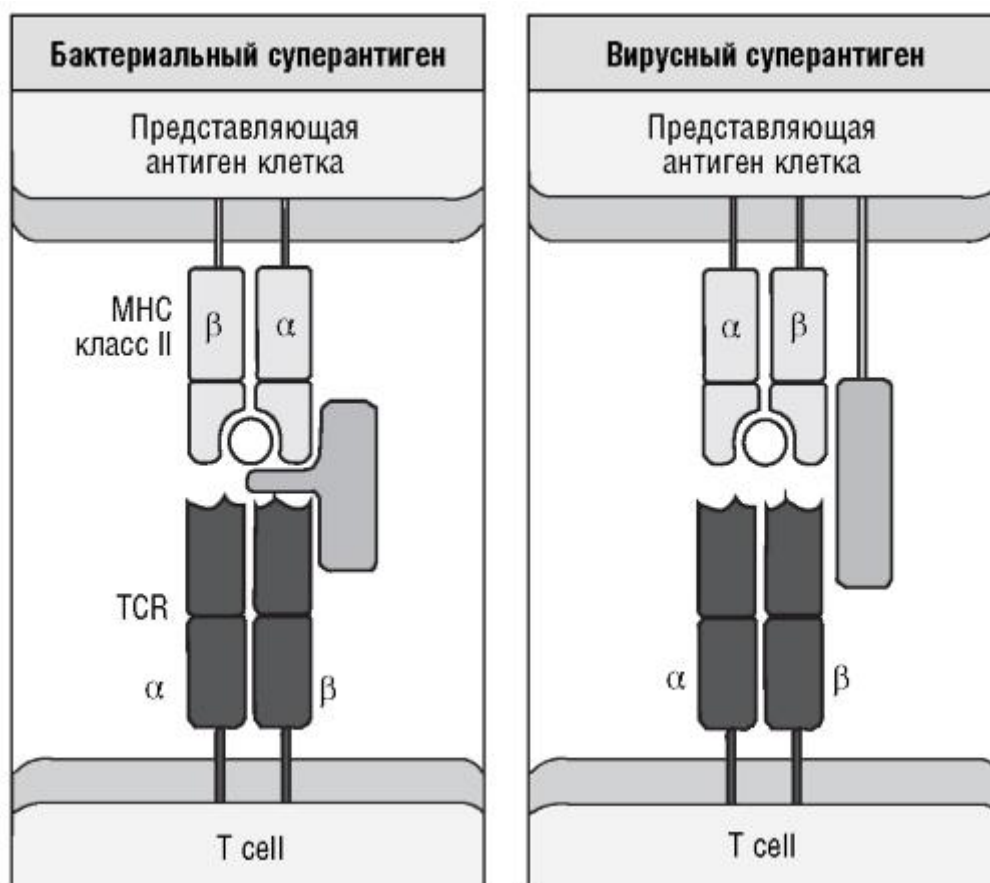


Рис. 3.1. Стимуляция Т-лимфоцитов бактериальным и вирусным суперантигенами (по А. К. Abbas, 2009)

### 3.1. АНТИГЕНЫ И ИММУНОГЕННОСТЬ

Таким образом, под термином «антигены» следует понимать чужеродные вещества или структуры, которые способны вызывать иммунный ответ и характеризуются следующими свойствами:

- антигенностью, т. е. способностью к специфическому взаимодействию с эффекторами иммунного ответа;
- иммуногенностью, т. е. свойством антигенов вызывать иммунный ответ;
- специфичностью антигена, т. е. его способностью избирательно реагировать со специфическими антителами или сенсibilизированными лимфоцитами, появляющимися после иммунизации.

Эпитопы и антигенные детерминанты. Антитела, образующиеся в ответ на введение глобулярного белка, слабо взаимодействуют с денатурированными препаратами этого же белка. Данный факт хорошо согласуется с тем представлением, что большинство антител распознает топографические структуры на поверхности белка (т. е. эпитопы), определяемые конформацией нативной молекулы, поэтому неудивительно, что антитела к нативным белкам обычно гораздо слабее взаимодействуют с пептидами, имеющими ту же первичную структуру. При картировании индивидуальных эпитопов с помощью гомогенных моноклональных антител обнаружено, что эти эпитопы часто включают аминокислотные остатки, которые находятся далеко друг от друга в первичной последовательности, но собраны в один эпитоп в результате упаковки полипептидной цепи в нативном белке. В этих

случаях принято говорить о прерывистых или комбинированных эпитопах, в отличие от непрерывных или секвенциальных.

Если схематически изобразить поверхность белкового антигена и отметить на ней центры эпитопов, выявляемых с помощью индивидуальных антител, входящих в данную антисыворотку, то на этой карте почти наверняка можно будет выявить кластеры доминантных эпитопов, т. е. участки антигена, в которых особенно часто происходит взаимодействие с антителами. Именно эти кластеры ближе всего к тому, что принято называть антигенными детерминантами. Важно иметь в виду, что на поверхности антигена может находиться несколько антигенных детерминант различной структуры. Моноклональные антитела, реагирующие с одной детерминантой данного антигена, не будут реагировать с другими, если, конечно, молекула антигена не имеет осей симметрии.

Факторы, определяющие антигенность. Крупные белки, имея большее число потенциальных детерминант, представляют собой лучшие антигены по сравнению с небольшими. Чем больше отличается антиген от собственных молекул организма, индуцирующих толерантность, тем он более эффективен при индукции иммунного ответа. Те участки пептидной цепи, которые далеко выступают за пределы компактной структуры молекулы, обычно представляют собой области большого скопления эпитопов. Наименьший вклад в антигенность вносят те участки поверхности молекулы, которые расположены вблизи ее впадин, где находятся прочно закрепленные молекулы воды. Для формирования обширной области контакта между антигеном и антителом способность антигена к изменению формы играет, по-видимому, большую роль, поскольку позволяет ему принять такую конформацию, которая обеспечивает наибольшую степень взаимодействия с антителом. Полагают, что энергия, затрачиваемая на такие конформационные изменения, с избытком окупается изменением внутренней свободной энергии, которое происходит при возникновении новых участков связывания. Этот приток энергии, обеспечивающий конформационные изменения, приводящие к прочному связыванию, видимо, позволяет гидрофобным боковым цепям аминокислот, обычно спрятанным внутри глобулы, оказываться в области контакта с антителом (рис. 3.2).

В-клетки реагируют в основном с белками, нативная структура которых не изменена, а Т-лимфоциты распознают развернутые пептидные цепи, поэтому гораздо легче синтезировать линейные пептиды, имитирующие способность исходного антигена стимулировать Т-клетки, чем пептиды, способные реагировать с антителами.

Антигены и вирулентность. По степени специфичности выделяют групповые антигены микроорганизмов, общие для рода или вида, а также типовые или подтиповые, обуславливающие индивидуальные особенности отдельных разновидностей микроорганизмов внутри одного вида или типа.

Среди микробных антигенов основными являются белки, полисахариды и липоиды. Выраженными антигенными свойствами обладают экзотоксины бактерий: дифтерийный, столбнячный, ботулинический, стрептококковый, возбудителей газовой гангрены. Это обеспечивается их способностью проникать за пределы микробной клетки при ее жизни, белковой природой, тропностью к определенным тканям, высокой токсичностью и антигенной специфичностью. Сильными антигенами являются и бактериальные ферменты: стрептогиалуронидаза, протеиназа.

Состав основных антигенов определяет его вирулентность и чувствительность к фагоцитозу. Рассмотрим это положение на примере основных антигенов чумного микроорганизма.

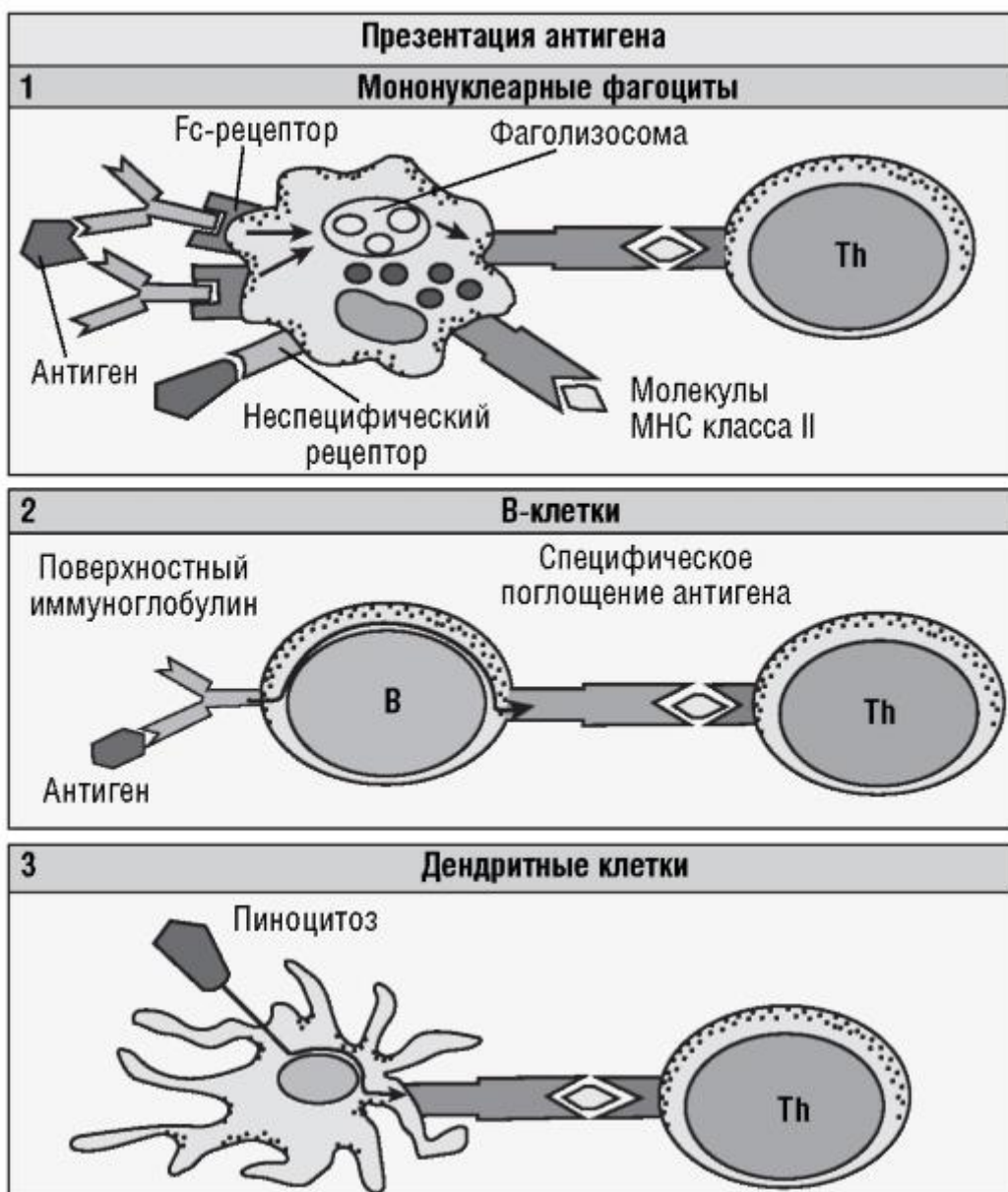


Рис. 3.2. Презентация антигена макрофагом, В-лимфоцитом, дендритными клетками Т-лимфоцитам (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Чумные микроорганизмы, дефицитные по основным антигенам вирулентности ( $F1^-VW^-$ ), чувствительны к фагоцитозу, а имеющие их ( $F1^+VW^+$ ) - устойчивы к фагоцитозу. Микроорганизмы, у которых отсутствует фракция 1, но присутствует  $VW$ -антиген ( $F1^-VW^+$ ) - устойчивы к моноцитам, но чувствительны к нейтрофилам. Как правило, микроорганизмы, имеющие в своем составе фракцию 1 ( $F1^+$ ), - вирулентные, а  $F1^-$  - авирулентные. Это же относится и к другому основному антигену:  $VW^+$  - вирулентные,  $VW^-$  - авирулентные. Наличие одних и отсутствие других антигенов чумного микроорганизма характеризует его вирулентность следующим образом:  $Ca^-VW^+$  - кальцийзависимые микроорганизмы, вирулентны;  $Ca^+VW^-$  - авирулентные;  $P^+$  (гемин) - вирулентные - образуют на синтетической среде с геминном цветные колонии;  $P^-$  - авирулентные, образуют бесцветные колонии;  $Pu^+$ -микроорганизмы (независимые от экзогенных источников пурина) вирулентны.

Таким образом, вирулентные штаммы чумного микроорганизма имеют формулу:  $F1^+VW^+Ca^+P^+Pu^+$ , а антигенный состав основных противочумных вакцин выражен следующим образом:

- вакцина EV:  $F1^+VW^+Ca^+P^+Pu^+$ ;

- вакцина К-1: P<sub>g</sub>F1<sup>+</sup>VW<sup>+</sup>Ca<sup>+</sup>P<sup>-</sup>Pu<sup>+</sup>;
- вакцина Дживайдж: P<sub>g</sub><sup>+</sup>VW<sup>-</sup>F1<sup>+</sup>Ca<sup>-</sup>P<sup>-</sup>Pu<sup>-</sup>;
- вакцина 100R-6: P<sub>g</sub><sup>+</sup>F1<sup>+</sup>VW<sup>+</sup>Ca<sup>-</sup>P<sup>-</sup>Pu<sup>+</sup>

К факторам патогенности относят и поверхностные свойства бактерий, которые являются ключевым фактором, определяющим их взаимодействие с поверхностями, в том числе и с поверхностями других клеток. Наиболее важными составляющими поверхностных свойств клетки являются ее относительная гидрофобность, наличие на поверхности клеток внеклеточных полимеров и заряд клетки. Уровень гидрофобности поверхности клеток различается в зависимости от штамма микроорганизма. К настоящему времени известно изменение свойств поверхностных структур бактериальной клетки в ответ на действие сублетальных концентраций антимикробных веществ, объясняемое изменением экспрессии внеклеточных полимеров. Полученные данные свидетельствуют, что в результате воздействия на микроорганизмы субингибиторных концентраций пероксида водорода и гидроксильного радикала происходит изменение поверхностных свойств бактериальных клеток. Эти изменения проявляются как в уменьшении гидрофобности клеток, так и в уменьшении способности бактерий сорбировать на своей поверхности такие белки, как лизоцим и гемоглобин. Изменения поверхностных свойств бактерий сопровождались увеличением числа R-форм колоний после высева на твердые питательные среды взвеси бактерий, обработанных сублетальными концентрациями активных форм кислорода. Можно предположить, что уменьшение уровня гидрофобности клеток под влиянием активных форм кислорода приведет к понижению адгезивных свойств бактерий и их способности колонизировать какой-либо биотоп. Уменьшение сорбции белков на поверхности бактериальных клеток после их контакта с активными формами кислорода может препятствовать формированию на поверхности микроорганизмов своеобразного защитного экрана, образующегося за счет неспецифического связывания белков хозяина, и тем самым облегчить доступ эффекторов специфической и неспецифической резистентности к патогену.

Отмеченная культурально-морфологическая диссоциация микроорганизмов в сторону увеличения удельного веса R-форм колоний свидетельствует о переходе вирулентных вариантов в авирулентные. Таким образом, наличие в микробных биотопах человека активных форм кислорода, продуцируемых клетками иммунной системы хозяина или представителями нормальной микрофлоры, не ограничивается прямым повреждающим действием на бактериальные клетки. Активные формы кислорода в сублетальных концентрациях, обладающие способностью модифицировать различные структуры клетки, в том числе и поверхностные, являются фактором, регулирующим взаимодействие бактерий друг с другом и хозяином, определяя колонизационную резистентность организма.

Формирование метициллинрезистентности (MR) у штаммов *S. aureus*, которое, вероятнее всего, связано с образованием дополнительного пенициллинсвязывающего белка ПСБ-2а, участвующего в синтезе клеточной стенки бактерий и кодируемого хромосомным геном *mecA*, также является одним из установленных факторов патогенности микроорганизмов. Эти изменения приводят к формированию резистентности. Другими механизмами формирования резистентности к метициллину могут быть: гиперпродукция пенициллиназ, модификация нормальных ПСБ, а у отдельных вариантов - появление ферментов, гидролизующих метициллин. Однако лишь *mecA*-обусловленная резистентность сопровождается перекрестной устойчивостью ко всем β-лактамам и множественной устойчивостью к антибиотикам других классов, за исключением гликопептидов.

Иммунопатогенез, связанный с золотистыми стафилококками, во многом определяется широким набором факторов вирулентности, присущих этому виду стафилококков, среди них такие значимые, как протеиназы, разрушающие антимикробные пептиды; токсины (TSST - 1), суперантигены (SEA-D), которые могут вызывать и поддерживать воспалительную реакцию. *S. aureus* отличаются от других стафилококков тем,

что они продуцируют пигмент желто-золотистого цвета, способны давать положительную плазмокоагуляционную реакцию, ферментируют спирт маннит и обладают дезоксирибонуклеазной активностью.

Клеточная стенка стафилококков состоит на 50% по массе из пептидогликана. Пептидогликан стафилококков обуславливает эндотоксиноподобную активность, стимулируя образование цитокинов макрофагами, активируя комплемент и агрегацию тромбоцитов. Различия в структуре пептидогликанов разных штаммов стафилококков играют важную роль в их способности вызывать развитие ДВС-синдрома.

Одним из факторов патогенности различных прокариотических и эукариотических микроорганизмов является их способность к адгезии. Компоненты клеточной стенки стафилококков активируют свертывающую и калликреин-кининовую системы; кроме того, облегчают адгезию к эпителиальным поверхностям. Белок А (агглютинин А) неспецифически связывается с Fc-фрагментом молекул IgG, что активирует компоненты комплемента по классическому и альтернативному пути и усиливает активность естественных киллеров.

Однако не все так однозначно, в частности, кандиды используют механизмы ко-адгезии с бактериями нормальной микрофлоры для колонизации слизистых оболочек. В литературе встречаются данные о непосредственном влиянии продуктов бактериального метаболизма на процесс прикрепления микробных клеток к эпителиоцитам через модификацию адгезивных молекул. Обычно адгезивный потенциал стафилококков связывают со специфическими адгезинами, которые сгруппированы в так называемое семейство адгезивных матриксных молекул (MSCRAMMs) - это фибронектинсвязывающие протеины (Fnbr А и В), рецепторы для фибриногена на поверхности клетки Clf А и Clf В и фибриногенсвязывающие протеин (Fib), а также ламинин, коллаген и эластинсвязывающие белки. Наличие железа в среде также является важным фактором, определяющим способность *S. aureus* к адгезии. Это лишнее раз доказывает, что выработка факторов патогенности является не конститутивным свойством патогенного организма, а лишь одной из его экологических стратегий в изменчивых условиях окружающей среды, которой для условно-патогенных организмов является внутренняя среда организма-хозяина. Многие штаммы способны к образованию одного или нескольких экзопротеинов, среди которых, в первую очередь, следует отметить эксфолиатины А и В (ETA и ETB), обуславливающие развитие синдрома «ошпаренной кожи»; токсин синдрома токсического шока (TSST-1), ответственный за развитие специфического симптомокомплекса; d-токсин (лейкоцидин), ингибирующий всасывание воды и активирующий образование цАМФ, а также оказывающий цитотоксическое действие на полиморфноядерные лейкоциты; энтеротоксины А-1 (SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SHE и SEI), участвующие в развитии пищевых интоксикаций. Стафилококковые энтеротоксины и TSST - 1 также известны как пирогенные суперантигены (PTSAgs), поскольку стимулируют пролиферацию Т-лимфоцитов без антигенной специфичности.

Каждый из этих экзотоксинов проявляет, по крайней мере, три биологические активности: пирогенность, суперантигенность и способность повышать токсичность эндотоксина для кролика в 100 000 раз. Некоторые PTSAgs обладают дополнительными свойствами. Например, стафилококковые энтеротоксины могут вызывать рвотный рефлекс. TSST - 1 способен легко проникать через слизистые оболочки, а также повышает токсичность эндотоксина для клеток почек.

В настоящее время различают два типа болезней у человека, вызываемые PTSAgs. Это стафилококковые пищевые отравления и стафилококковый синдром токсического шока.

Вырабатываемый стафилококками TSST - 1 является мощнейшим антигеном, активизирующим Т-хелперы. Активации подвергается до 20% и более общего количества



лимфоцитов организма, которые начинают продуцировать IL-2, а затем цитокины, вызывающие выраженные воспалительные реакции.

Эксфолиатины А и В обуславливают развитие токсического шока за счет стимуляции выделения ФНО- $\alpha$  и выраженного цитотоксического действия на полиморфноядерные лейкоциты. Данные токсины вызывают интраэпидермальные нарушения через гранулярный слой благодаря специфическому расщеплению десмоглеина, протеина, который вовлечен в межклеточную адгезию кератиноцитов в гранулярном слое. У новорожденных, инфицированных штаммами, продуцирующими эксфолиатины, наблюдается синдром «ошпаренной кожи».

Цитотоксическое действие могут оказывать и гемолизины. Выделяют четыре антигенных типа гемолизинов, вызывающих полный гемолиз кровяных сред. Золотистые стафилококки способны одновременно синтезировать несколько подобных продуктов.

$\alpha$ -Гемолизин, или  $\alpha$ -токсин, наиболее часто выявляют у бактерий, выделенных из клинических образцов. Он неактивен в отношении человеческих эритроцитов, но лизирует эритроциты животных, вызывает кожные некротические изменения у барана. Связываясь с макрофагами  $\alpha$ -токсин индуцирует секрецию интерлейкина-1 $\beta$ . fS-гемолизин, или сфингомиелиназа, открыт в 1935 году. Выявляется у 20% изолятов, оказывает умеренное действие на эритроциты человека. Максимальная активность проявляется при низких температурах.

$\gamma$ -гемолизин и PV-лейкоцидин (Panton-Valentineleukocidin) образуют двухкомпонентный токсин с умеренной гемолитической активностью в отношении эритроцитов человека. Поскольку один из компонентов инактивирует содержащую серу полимеры, присутствующие в агаре, то эффект этого гемолизина на кровяных средах обычно не проявляется. Два компонента токсина секретируются независимо друг от друга. При этом  $\gamma$ -гемолизин продуцируется практически всеми штаммами золотистых стафилококков, а PV-лейкоцидин образуют лишь 2-3% изолятов. Токсин действует на нейтрофилы и макрофаги; кроме того,  $\gamma$ -гемолизин способен лизировать эритроциты животных. Возможно существование комплекса, включающего  $\gamma$ -гемолизин, PV-лейкоцидин, S- и F-компоненты. Компоненты по отдельности обладают очень слабой гемолитической и токсической активностью. Различные комбинации компонентов обеспечивают токсину сильную гемолитическую активность.

5-гемолизин - агрегат низкомолекулярных соединений, проявляющих детергентные свойства, благодаря чему обеспечивается цитотоксичность широкого спектра. Токсин продуцируют 97% штаммов золотистых стафилококков. Мономер 5-гемолизина состоит из 26 аминокислот с молекулярной массой около 3000 Да. Стафилококки продуцируют различные ферменты - протеазы, липазы, гиалуронидазы. Эти ферменты способствуют распространению (дессиминации) этих микроорганизмов в тканях организма человека. Основные протеолитические ферменты, секретируемые *S. aureus*, относятся к трем классам: металлопротеиназам - ауреолизин (aureolysin - Aur); сериновым эндопептидазам (сериновая протеиназа - SspA); тиоловым протеазам, таким как стафопаин (ScpA) и протеиназа SspB.

Сериновая протеиназа (SspA) эффективно расщепляет фибриногенсвязывающий белок и поверхностный белок А. Металлопротеиназа (Aug) ответственна за модификацию белка, являющегося рецептором к фибриногену на поверхности микробной клетки (ClfB-Clumpingfactor B). Кроме того, существует гипотеза, предполагающая вероятное участие экзопротеиназ в инактивации токсинов стафилококков, что может быть сопряжено с особым регуляторным механизмом, снижающим вирулентный потенциал стафилококков в определенных нишах организма, что способствует колонизации им таких эпителиев, как кожа, в норме у здоровых лиц.

Кроме того, стафилококковые экзопроteaseы активно расщепляют человеческие плазменные белки, такие как  $\alpha_1$ -ингибитор протеаз. Результатом этого протеолитического прессинга ферментов стафилококков, особенно протеиназ, является угнетение контролирующего действия со стороны местной иммунной системы макроорганизма, что, в конечном счете, может привести к тяжелой деструкции соединительной ткани и кожи в целом. В дополнение к этому *in vitro* показано, что металлопротеиназа стафилококков - аурилизин (Aur) - оказывает существенное влияние на клеточные иммунные реакции, активирует Т- и В-лимфоциты, а *in vivo* способствует подавлению продукции антистафилококковых антител. Кроме того, в опытах *in vitro* показано, что сериновая протеиназа (SspA) расщепляет тяжелые цепи иммуноглобулинов всех классов.

Изоляты *S. aureus* и *S. epidermidis*, выделенные у пациентов с атопической экземой с различной степенью тяжести заболевания, оцениваемого по индексу SCORAD, проявляли в несколько раз более высокую активность по расщеплению в тестах *in vitro* таких значимых защитных белков как иммуноглобулины, лизоцим и структурный белок соединительной ткани - коллаген. Более высокая активность протеиназ у изолятов стафилококков, выделенных от больных атопической экземой, косвенно характеризует вирулентный потенциал этих штаммов. Необходимо учесть, что, обладая более высоким протеиназным потенциалом, стафилококки, колонизирующие кожу пациентов с атопическим дерматитом, способны вызвать развитие патологической дегенерации соединительной ткани кожи, в отличие от штаммов, колонизирующих кожу здоровых лиц.

К факторам патогенности необходимо отнести и способность бактерий образовывать биопленки. Особенно это касается условно-патогенных микроорганизмов. Установлено, что в составе биопленок бактерии более устойчивы к действию антибактериальных препаратов (включая антибиотики), бактериофагов и фагоцитов, а также к воздействию неблагоприятных факторов, таких как изменения температуры тела, рН среды, осмолярности. В ряде случаев бактерии могут образовывать смешанные биопленки с другими родами бактерий. Однако способность образовывать биопленки у штаммов оказалась различной.

Так, при исследовании способности клинических штаммов бактерий комплекса *Burkholderia cepacia* формировать биопленку установлено, что более 83% штаммов способно образовывать биопленки, а штаммы по этому признаку можно разделить на три группы: 1) обладающие хорошей способностью к формированию биопленки (27,8%), 2) с умеренной способностью образовывать биопленки (55,6%) и 3) не способные формировать биопленки (16,6%).

Установлено, что штаммы, характеризующиеся хорошей способностью к формированию биопленки, принадлежат только к двум геновариантам.

Таким образом, факторы патогенности должны изучаться как комплексная система, сформированная в результате длительной совместной эволюции условно-патогенной микрофлоры и иммунной системы хозяина.

Классификация антигенов с учетом генетических взаимодействий донора и реципиента

Аутогенные (аутологичные) - собственные антигены организма (аутоантигены), которые при определенных условиях могут индуцировать образование антител. Трансплантаты собственных тканей организма - аутотрансплантаты.

Изогенные (изолиогичные) - генетическая идентичность индивидов (однойцовые близнецы). Трансплантаты между ними - изотрансплантаты.

Сингенные - принадлежность донора и реципиента к генетически неидентичным индивидам одного и того же вида. Трансплантаты между такими индивидами -

аллотрансплантаты. Они гистонесовместимы и отторгаются. Аллогенные антигены вызывают образование изоантител.

Ксеногенные (гетерологичные) - принадлежность донора и реципиента к разным видам.

### 3.2. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИГЕНОВ С АНТИТЕЛАМИ

Антигены и антитела связываются между собой за счет пространственной комплементарности. Установлено, что различия в химической структуре гаптена сказываются на его способности связывать антитела. Представление о том, что антитела распознают антиген благодаря взаимной комплементарности паратопа и эпитопа, было блестяще подтверждено рентгеноструктурным анализом взаимодействия Fab-фрагментов специфических моноклональных антител и лизоцима.

По мере уменьшения межмолекулярного расстояния прочность связывания антигена и антитела возрастает. Силы, удерживающие вместе антиген и антитело, принципиально ничем не отличаются от сил, участвующих в так называемых неспецифических взаимодействиях, которые возникают между любыми двумя белками или другими макромолекулами, например между сывороточным альбумином и трансферрином человека. Эти межмолекулярные силы можно разделить на четыре группы.

1. Электростатические силы. Обусловлены притяжением между двумя противоположно заряженными ионизированными группами, например аминогруппой ( $\text{NH}_3^+$ ) лизина, входящего в состав одного белка, и карбоксильной группой ( $\text{COO}^-$ ) глутаминовой кислоты, входящей в состав другого белка. Сила притяжения обратно пропорциональна квадрату расстояния между зарядами, т. е. при сближении зарядов сила притяжения значительно возрастает.

2. Водородные связи. Образование слабых водородных связей между гидрофильными группами, такими как  $\text{OH}$ ,  $\text{NH}_2$  и  $\text{COOH}$ , зависит, прежде всего, от пространственного сближения молекул, несущих эти группы. Водородные связи относительно слабы, поскольку имеют чисто электростатическую природу.

3. Гидрофобные взаимодействия. Если гидрофобные группы двух белков окажутся настолько близко друг к другу, что между ними не останется молекул воды, то общая площадь их контакта с водой уменьшится, и энергия системы окажется ниже, чем до их взаимодействия. Иными словами, можно говорить о притяжении между белками. Гидрофобные взаимодействия по некоторым оценкам могут обеспечивать до 50% всего сродства между антигеном и антителом.

4. Вандерваальсовы силы. Эти межмолекулярные силы возникают в результате взаимодействия внешних электронных облаков. В результате флуктуации электронной плотности в одной молекуле она приобретает свойства диполя. Такой диполь индуцирует перераспределение электронной плотности и образование диполя в другой молекуле, и эти два диполя притягиваются друг к другу. Сила притяжения между диполями обратно пропорциональна седьмой степени расстояния, она очень быстро возрастает при сближении взаимодействующих молекул. Последнее свойство характерно для всех четырех типов сил - лишь при тесном сближении двух молекул и особенно в том случае, когда в область контакта уже не могут проникнуть молекулы воды, эти силы достигают значительной величины. Именно это составляет основы взаимодействия антигена с антителом.

Аффинность, или прочность связывания антигена с антителом. Аффинность определяется площадью контакта между антителом и гаптеном или эпитопом, межмолекулярными расстояниями в области контакта, распределением заряженных и гидрофобных групп, а также теми конформационными изменениями, которые вызваны

перекрыванием электронных облаков. Термин «аффинность» относится к связыванию антитела с моновалентным гаптенем или с одной антигенной детерминантой. В большинстве случаев мы имеем дело с поливалентным антигеном, такое связывание характеризует авидность. Авидность определяется многими сложными факторами, в частности, гетерогенностью антител в данной сыворотке, направленных к определенной антигенной детерминанте. Поливалентность большинства антигенов, кроме того, приводит и к своеобразному «усиливающему» эффекту («bonus» effect): прочность связывания между двумя молекулами антигена через молекулы антител всегда выше (обычно во много раз), чем прочность арифметической суммы связей антигенов через каждое антитело.

Специфичность взаимодействия антитела с антигеном не абсолютна. Способность антител дифференцировать антигены хорошо иллюстрируется различной реактивностью антител по отношению к близким по химической структуре гаптенем. Прочность взаимодействия можно количественно описать с помощью аффинности или авидности, а специфичность антисыворотки можно выразить как отношение авидностей к рассматриваемым антигенам. Антисыворотка имеет относительно более высокую авидность к одному антигену, нежели к другому. Это значит, что антисыворотка проявляет не абсолютную, а лишь относительную специфичность, т. е. по сути дела речь идет о степени перекрестной реактивности. Антисыворотка, полученная к одному антигену, может перекрестно реагировать с родственным антигеном, несущим одну или несколько идентичных или похожих детерминант. Антисыворотка слабее реагирует с антигеном, несущим только одну идентичную детерминанту, поскольку лишь некоторые из содержащихся в сыворотке антител могут связаться с антигеном. Антиген, имеющий сходную, но не идентичную детерминанту, еще менее эффективно взаимодействует с антителами. Антиген, не имеющий никакого структурного сходства, вообще не будет заметным образом реагировать с антисывороткой. На этих положениях основана этиологическая диагностика инфекционных болезней.

Будучи направленными только к одному эпитопу, моноклональные антитела высокоспецифичны, т. е. обладают низкой перекрестной реактивностью по отношению к перекрестным антигенам. Однако иногда моноклональные антитела связываются с посторонними антигенами с большей аффинностью, чем поликлональные антитела из соответствующей специфической антисыворотки. Это объясняется тем, что шесть гипервариабельных участков антитела составляют значительную часть вариабельного домена молекулы Ig и содержат самые разнообразные боковые цепи аминокислот. Очевидно, что разным участкам этой гипервариабельной области могут быть комплементарны самые разные эпитопы, взаимодействующие с ними с разной степенью аффинности.

Таким образом, каждое антитело может реагировать не только с антигеном, вызвавшим его образование, но и с другими, иногда совершенно не родственными молекулами.

### 3.3. ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ. РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ИММУННОГО ОТВЕТА

Главный комплекс гистосовместимости. Представления о главном комплексе гистосовместимости сложились при изучении судьбы аллогенных трансплантатов, т. е. органов и тканей, пересаживаемых в пределах одного вида животных. Такие органы надежно приживаются лишь между изогенными (генетически идентичными) парами донор-реципиент. Это характерно для инбредных животных, а у человека - для однояйцевых близнецов. В остальных случаях рано или поздно происходит отторжение донорских клеток в результате конфликта с антигенами реципиента. Молекулы, определяющие наиболее сильную (острую) реакцию отторжения, получили название главных антигенов гистосовместимости. Они кодируются генами хромосомной области, которая известна как

главный комплекс гистосовместимости - МНС (major histocompatibility complex). Лишь малая часть МНС-области кодирует антигены гистосовместимости. Кроме них, здесь локализовано более 100 генов, большинство из которых не имеют отношения к тканевому полиморфизму и иммунологическим функциям молекул МНС. Тем не менее, этот участок ДНК продолжают называть главным комплексом гистосовместимости, подчеркивая исторический приоритет и значимость МНС-зависимых реакций.

Продукты МНС отличаются необыкновенным полиморфизмом, который вносит решающий вклад в антигенную индивидуальность (неповторимость) каждой особи. В основе лежит избыток аллельных МНС-генов, циркулирующих в популяции. Этому соответствует множество молекул МНС с признаками структурной (антигенной) специфичности. Из их малой и случайной выборки складывается МНС-фенотип, присущий данному организму.

Дополнительное разнообразие вносит диплоидность соматических клеток, благодаря которой каждая из них содержит по два комплекта МНС-генов - на материнской и отцовской хромосомах. Это означает, что индивидум может иметь не более двух аллелей каждого МНС-гена (по одному на материнской и отцовской хромосомах) и, следовательно, не более двух разновидностей каждого МНС-антигена. МНС-гаплотипы ко-доминантны, т. е. одинаково влияют на фенотип клеток, поэтому МНС-фенотип (т. е. полный комплект молекул МНС, экспрессируемых клетками данного организма) является суммарным выражением двух гаплотипов, унаследованных по материнской и отцовской линиям.

МНС-система есть у всех млекопитающих и птиц. У низших позвоночных главный комплекс гистосовместимости отсутствует, чему соответствует хроническое (а не острое) отторжение аллогенных тканей. Наиболее детально изучены МНС мыши и человека. Они имеют много общего, подчеркивая эволюционное единство иммунной системы.

HLA: строение и номенклатура. МНС человека имеет акроним HLA (human leukocyte antigens - антигены лейкоцитов человека). Это связано с тем, что HLA были впервые обнаружены на лейкоцитах человека в реакциях с сыворотками от много рожавших женщин и больных, получавших многократные гемотрансфузии. Такие сыворотки содержат антилейкоцитарные антитела, которые образуются в ответ на аллоантигены плода или доноров крови.

Комплекс HLA локализован на хромосоме 6. Представления о масштабах HLA-генфонда существенно расширились благодаря использованию моноклональных анти-HLA-антител и молекулярно-генетическому анализу, т. е. прямому типированию HLA-генов. По данным на 2005 г. комплекс HLA включает более 1900 аллелей, альтернативное наследование которых обеспечивает беспрецедентную мозаику индивидуальных HLA-генотипов. Каждый человек наследует около 20 аллельных генов. Благодаря столь малой выборке вероятность полного совпадения индивидуальных HLA-генотипов (и, следовательно, HLA-фенотипов) ничтожно мала. Совпадение возможно лишь по отдельным аллелям или их комбинациям. Близость HLA-фенотипов повышает вероятность приживания тканей в аллогенных парах донор-реципиент. Подобно другим видам животных, для человека характерно наличие двух основных классов МНС - HLA-I и HLA-II. При общей стратегии они различаются по генетической, структурной организации, тканевому распределению и функциям.

HLA-I. Молекулы I класса содержатся на поверхности всех типов клеток, кроме эритроцитов и ворсинчатого трофобласта. Они представляют собой гетеродимеры, состоящие из двух полипептидных цепей - тяжелой (46 кДа) и легкой (12 кДа). Из них только тяжелая субъединица ( $\alpha$ -цепь) является продуктом главного комплекса гистосовместимости и именно с ней связаны иммунологические функции молекулы. Цепь  $\alpha$  пронизывает плазматическую мембрану и имеет три внеклеточных домена:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  и  $\alpha_3$ . Варибельность молекулы сконцентрирована в доменах  $\alpha_1$  и  $\alpha_2$ ; домен  $\alpha_3$  лишен полиморфизма.

Легкая ( $\beta$ ) цепь представлена  $\beta_2$ -микроглобулином. Это продукт гена, который локализован на хромосоме 15, т. е. не входит в состав комплекса HLA.  $\beta_2$ -Микроглобулин генетически однороден и напрямую не участвует в реализации функций HLA-1. Его роль сводится к транспорту  $\alpha$ -цепи на поверхность клетки (у мутантных мышей, лишенных  $\beta_2$ -микроглобулина, молекулы I класса не экспрессируются).  $\beta_2$ -Микроглобулин не имеет трансмембранного участка, удерживаясь на мембране за счет нековалентной связи с  $\alpha_3$ -доменом.  $\beta_2$ -Микроглобулин легко сбрасывается с клетки, и его определение в крови и моче используется в диагностике некоторых (прежде всего гематологических) заболеваний.

Молекулы HLA-I представлены тремя наиболее важными подклассами - HLA-A, HLA-B и HLA-C. Они кодируются одноименными генами, которым соответствует определенная позиция (локус) на хромосоме 6. Впервые HLA были идентифицированы Ж. Доссе в Париже в 1954 г., который открыл молекулу MAC, сегодня известную как HLA-A2. С тех пор прошло более 50 лет, в течение которых происходило накопление знаний об этом необыкновенно полиморфном наборе молекул и их генов. Согласно фенотипической классификации, которая основана на антигенных различиях HLA-I, молекулы называли в порядке их официального признания - A1, A2, A3, B7, B8 и т. д. В некоторых случаях цифре предшествует буква w, например, HLA-Cw5, HLA-Cw6 и т. д. (англ. work - работа, в работе). Это означает, что данный антиген официально не принят номенклатурным комитетом ВОЗ; после утверждения буква w убирается. С момента использования моноклональных антител некоторые антигены были расщеплены на молекулы (англ. spleet) с более узкой специфичностью. В биохимическом отношении HLA-антигены II класса состоят из двух почти равных гликополипептидных цепей  $\alpha$  с относительной молекулярной массой 33-35 кДа и  $\beta$  с относительной молекулярной массой 28-31 кДа. Каждая цепь состоит из двух наружных доменов ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  и  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ), имеет трансмембранную гидрофобную часть и цитоплазматический участок цепи. Различия аминокислотных последовательностей, характерные для определенных антигенов HLA, сосредоточены в доменах  $\alpha_1$  и  $\beta_1$ , в то время как домены  $\alpha_2$  и  $\beta_2$  обладают более постоянным аминокислотным составом и имеют выраженную гомологию с  $\beta_2$ -микроглобулином. Эти черты строения сходны со структурными особенностями иммуноглобулинов, что дает основание ряду исследователей постулировать общность эволюционного генеза иммуноглобулинов и антигенов системы HLA. При этом распознавательная функция последних считается эволюционно более древней, нежели распознавание с помощью антител. Антигены гистосовместимости I класса HLA-A, B, C присутствуют практически на всех клетках организма, за исключением ранних эмбриональных клеток - нормальных и злокачественных. При этом их количество и степень экспрессии сильно варьируют в зависимости от типа ткани. В наибольшем количестве они представлены на лимфоцитах, клетках эпителия и эндотелия (табл. 3.1).

Таблица 3.1. Клетки и ткани, экспрессирующие молекулы главного комплекса гистосовместимости I и II класса

Ткань	МНС I класса	МНС II класса
<i>Лимфатические ткани</i>		
Т-клетки	+++	+*
В-клетки	+++	+++
Макрофаги	+++	++
Другие представляющие антиген клетки	+++	+++
Эпителиальные клетки тимуса	+	+++

<i>Другие клетки, содержащие ядро</i>		
Нейтрофилы	+++	-
Гепатоциты	+	-
Почка	+	-
Мозг	+	*
<i>Безъядерные клетки</i>		
Эритроциты	-	-

Примечания: \* - экспрессируют активированные Т-лимфоциты.

Антигены локусов I класса (HLA-A, B, C) занимают около 1% клеточной поверхности. При этом число молекул одной специфичности приближается к 7000 и достаточно постоянно, поскольку через 6-7 ч после их удаления наблюдается их полное восстановление.

Говоря о биологической функции антигенов I класса, следует отметить, что именно они главным образом выступают в качестве рецепторов для чужеродных антигенов. При этом, учитывая теорию двойного распознавания, суть которой состоит в том, что антиген распознается Т-клеткой как чужеродный лишь после того, как он соединился с собственным антигеном презентирующей клетки, значение антигенов HLA-A, B, C представляется очень важным.

МНС обеспечивает взаимодействие не только между иммунокомпетентными клетками, но и любыми другими клетками организма, обуславливая его функциональное единство. В процессе иммунного ответа антигены HLA-A, B, C играют ведущую роль (функция рестрикции иммунного ответа) во взаимодействии между клеткой-эффектором (Т-киллером) и клеткой-мишенью. С другой стороны, как предшественники, так и зрелые клетки, распознают антигены II класса, результатом чего является синтез IL-2, без которого не происходит созревания предшественника Т-киллеров - образование зрелых эффекторных клеток (рис. 3.3).

Номенклатура HLA стала более сложной с введением генотипирования HLA. Это произошло в середине 1980-х гг. после внедрения ДНК-технологий, прежде всего полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для того чтобы отразить растущее число аллелей, которые идентифицируются по уникальным последовательностям нуклеотидов внутри известных антигенных обозначений, пришлось изменить привычную серологическую номенклатуру HLA-I, соединив ее с обозначением генетических аллелей. Для этого была введена четырехразрядная (иногда шестиразрядная) номенклатура, в которой два первых разряда (00) предназначены для обозначения группы аллелей, кодирующих данный антиген, а третий и четвертый разряды обозначают индивидуальные аллели. Например, для первого аллеля HLA-A1 это выглядит как HLA-A\*0101. Обозначение включает название подкласса (A), знак выноски (\*), указывающий на то, что для типирования использовались ДНК-методы, группу аллелей, кодирующих данный антиген (01), и специфический аллельный номер (01). К 2005 г. известно 1057 аллелей HLA-I, в том числе 349 для HLA-A, 626 - для HLA-B и 182 - для HLA-C. Число аллелей для отдельных серологических вариантов колеблется от 1 до 32. Например, HLA-B27 представлен 16 аллелями - HLA-B\*2701-HLA-B\*2716. Многие аллели не имеют серологического эквивалента, что дает основание говорить отдельно об аллельных и антигенных типах HLA. В связи с тем, что серологическое типирование допускает ряд ошибок, сегодня в классификации HLA-I предпочтение отдается первичной структуре ДНК (рис. 3.4).

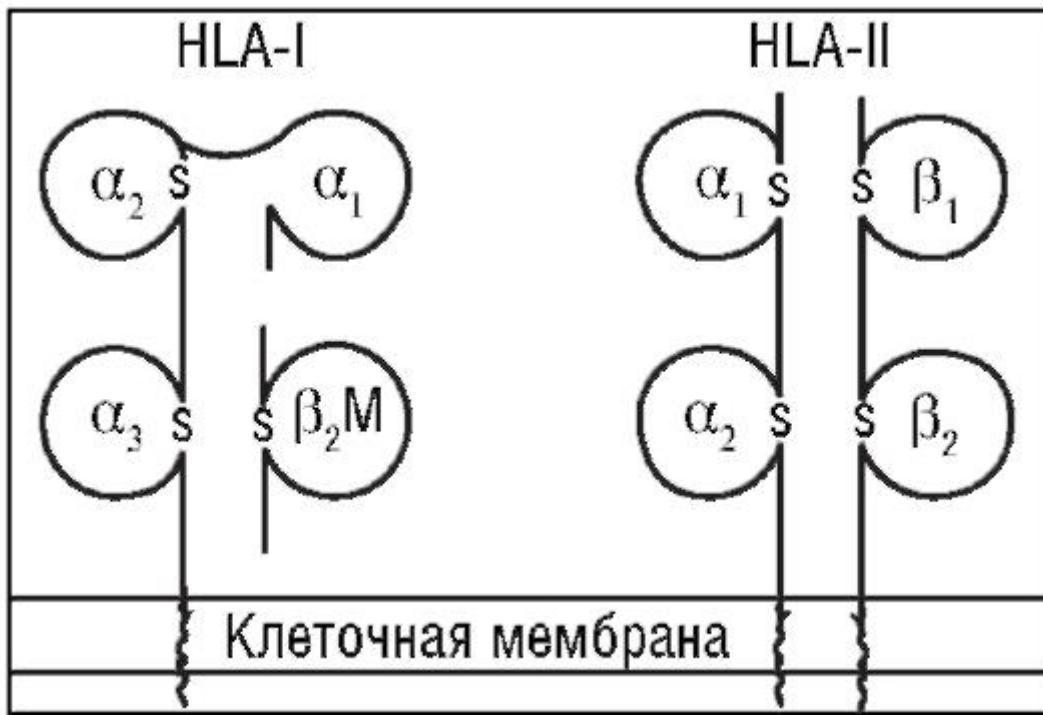


Рис. 3.3. Структура молекул главного комплекса гистосовместимости (HLA) (пояснения в тексте)

В генотипе каждого человека имеется шесть генов HLA-I - по три в каждом гаплотипе. При несовпадении (гетерозиготности) материнского и отцовского гаплотипов по генам всех трех локусов (A, B и C) индивидуум будет иметь наиболее полный HLA-I-фенотип, т. е. шесть аллотипических вариантов HLA-I (например, A3,24; B18,44; Cw7,4). Если гаплотипы дублируют друг друга (т. е. частично гомозиготны), набор молекул HLA-I будет редуцирован (например, A3; B18,44; Cw7). То же справедливо для HLA-II.

Недавно открыты дополнительные локусы HLA-I: E, F и G. Их гены отличаются ограниченным полиморфизмом и необычным тканевым распределением своих продуктов. Функции этих так называемых неклассических HLA-молекул неизвестны, но они не участвуют в представлении антигенов, по крайней мере, обычных пептидов.



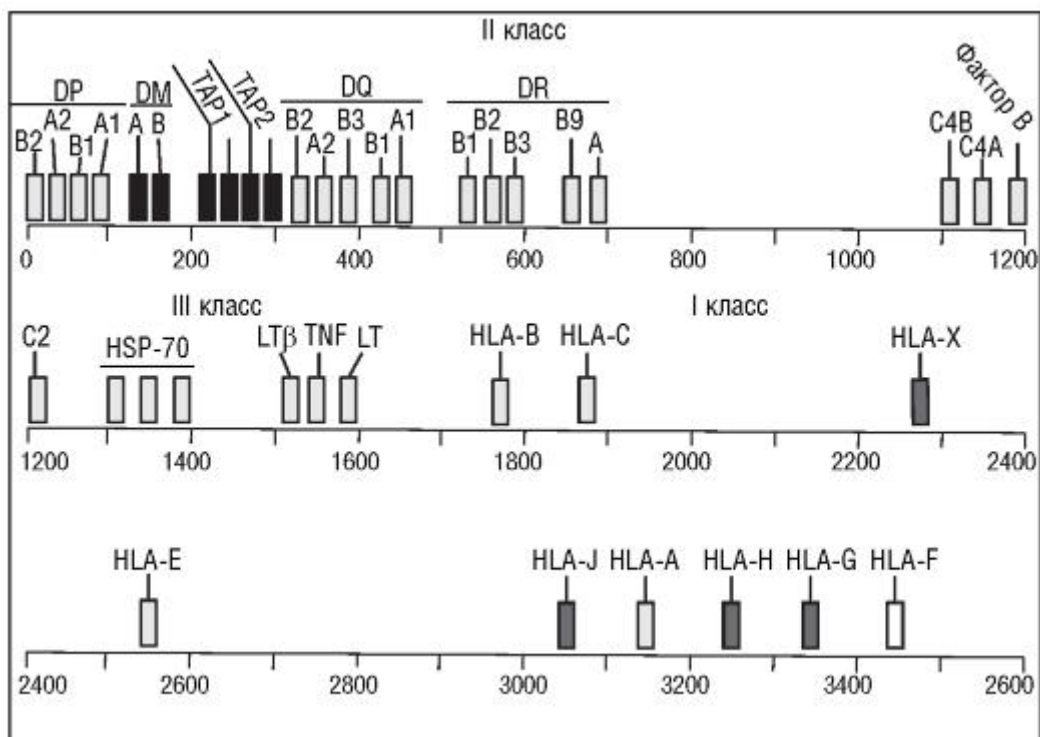


Рис. 3.4. Структура главного комплекса гистосовместимости человека (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

HLA-II. HLA-DR-антигены экспрессируются в основном на В-лимфоцитах и макрофагах, а также выявляются на эпидермальных, эндотелиальных клетках и сперматозоидах. На Т-клетках HLA-DR-антигены в обычном состоянии не обнаруживаются, но, будучи активированными *in vitro* и *in vivo* митогенами или аллогенными лимфоцитами, они экспрессируют антигены примерно на том же уровне, что и В-лимфоциты. Возможно, этот факт имеет определенный биологический смысл, ибо экспрессия генов ведет к взаимодействию клеток с развитием целой цепи последовательных событий и, возможно, как стимулирующий фактор, индуцирующий иммунную реакцию, она должна проявляться только при необходимости.

Молекулы II класса, экспрессия которых ограничивается В-лимфоцитами, моноцитами и активными Т-лимфоцитами, содержат две полипептидные цепи ( $\alpha$  и  $\beta$ ) неравной величины и являются продуктами нескольких тесно сцепленных генов, в сумме обозначаемых как зона HLA-D. МНС II класса - это тоже трансмембранные гликопротеины. Обе цепи формируют два домена, аминокислотные последовательности одного из них, расположенного ближе к мембране -  $\beta_2$ -микроглобулина и варибельного домена иммуноглобулина - в большой степени гомологичны.

Ассоциированные с HLA показатели иммунного статуса могут различаться в разных этнических группах по аналогии с данными о популяционных особенностях HLA-маркеров болезней. Верификация генетических факторов, обуславливающих предрасположенность или устойчивость к различным инфекционным и соматическим заболеваниям, в том числе к лепре и туберкулезу, имеет большое значение для формирования групп лиц с повышенным риском развития этих заболеваний, что особенно актуально для эндемичных по данным инфекциям регионов. Успехи последних десятилетий в молекулярной генетике позволили перейти на новый уровень прогноза развития указанных болезней.

В многочисленных исследованиях установлена взаимосвязь клеточного иммунного ответа с определенным генотипом HLA как при туберкулезе, так и при лепре в различных популяциях. При этом при наличии разных маркеров данных болезней по антигенам HLA I

класса в большинстве популяций определяются ассоциации с одними и теми же аллелями локусов HLA II класса. Для туберкулеза это чаще всего DR2, а для лепры - DR2, DR3, DQ1.

Можно полагать, что специфичность DRB1-16 или ее аллельные варианты избирательно нацелены на презентацию общих патогенных пептидов *Mycobacterium leprae* и *Mycobacterium tuberculosis* Т-клеткам.

Установление молекулярных механизмов распознавания антигенов является необходимой базой для дальнейшей коррекции силы иммунного ответа индивидуума в отношении любого антигенного воздействия. Прогресс на этом пути очевиден, так как уже сейчас показано, что замена всего лишь единственной аминокислоты в последовательности антигенсвязывающего участка молекулы гистосовместимости может приводить к развитию толерантности. Такого рода подходы открывают новые перспективы в борьбе с различными заболеваниями, в том числе с туберкулезом и лепрой.

HLA/МНС: функции. Отторжение чужеродных тканей, которое происходит в ситуациях, искусственно создаваемых человеком, ничего не говорит о физиологических функциях HLA. С этой точки зрения неудачна и терминология: понятие «главный комплекс гистосовместимости» не отражает природного назначения его продуктов. Это стало ясным после утверждения центральной позиции HLA в представлении антигенов Т-лимфоцитам - возможно, не единственного, но, безусловно, главного назначения данной системы.

HLA/МНС-презентация антигенов имеет четкую направленность, которая выражается в том, что молекулы I и II классов обеспечивают альтернативное представление антигенов CD8<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитам. Такая адресность основана на комплементарности в парах CD8-HLA-I ( $\alpha$ -домен) и CD4-HLA-II ( $\beta$ <sub>2</sub>-домен), которая обеспечивает ко-рецепторную функцию CD4 и CD8 в распознавании антигенов Т-лимфоцитами. Зависимость Т-реакций от HLA называется рестрикцией (англ. restriction - ограничение).

Учитывая универсальность тканевого распространения молекул I класса, следует ожидать, что в представлении антигенов могут участвовать многие типы клеток. Именно так обстоит дело на этапе реализации иммунного ответа, когда любая клетка, презентующая на своей поверхности «чужие» антигены в комплексе с HLA-I, атакуется цитотоксическими (CD8<sup>+</sup>) Т-лимфоцитами. Активность молекул класса II связана главным образом с профессиональными антигенпредставляющими клетками. Они презентуют антигены Т-хелперам, опираясь на ко-рецепторную активность CD4. Возможность индуцированной экспрессии HLA-II на эндотелиоцитах, эпителиальных клетках и ряде других клеток допускает вероятность «непрофессиональной» HLA-II презентации антигенов CD4<sup>+</sup>Т-лимфоцитам. Это возможно на этапе реализации иммунного ответа. Для индукции иммунного ответа этого недостаточно. Здесь требуется более сложная кооперация антигенпредставляющих клеток и Т-лимфоцитов. Она происходит при участии нескольких пар комплементарных CD-молекул и цитокинов на территории лимфоидных тканей, т. е. в зоне, оптимальной для взаимодействия иммунокомпетентных клеток.

Презентация антигенов молекулами I и II классов происходит по общей схеме. Короткие пептиды (Т-эпитопы, а точнее их носители), которые образуются из антигенов в результате процессинга (внутриклеточного протеолиза), соединяются с комплементарными молекулами HLA и вместе с ними выносятся на поверхность клетки. Можно говорить о функциональном дуализме HLA-презентируемых антигенных пептидов. Он проявляется их способностью одновременно связываться с молекулами HLA и реагировать с рецепторами Т-лимфоцитов. Антигены, распознаваемые Т-клетками, должны иметь, по меньшей мере, два неперекрывающихся участка: один - для взаимодействия с молекулами HLA, другой (собственно Т-эпитоп) - для рецепторов Т-лимфоцитов. Фрагмент молекулы HLA, распознаваемый Т-клеточным рецептором, называется гистотопом. Он возникает в результате конформационных изменений HLA, обусловленных комплексообразованием с антигенным пептидом. Это означает, что антигенспецифический рецептор Т-лимфоцитов

(TCR) обладает двойной специфичностью, или двойным распознаванием. С одной стороны, он реагирует на HLA-презентируемый антигенный пептид («чужое»), а с другой - на молекулу HLA («свое»).

Антигенные пептиды, воспринимаемые HLA-I и HLA-II, построены соответственно из 9-10 и 12-25 аминокислот. Большинство из них являются внутренними фрагментами молекул, которые вычлняются из белка-носителя. Пептидсвязывающий участок молекул HLA представляет собой щель, образуемую комбинацией переменных доменов: HLA-I и HLA-II. Аллельные варианты HLA различаются по конфигурации пептидной ловушки и, следовательно, по сродству к разным пептидам.

Принципиальное различие между HLA-I и HLA-II сопряжено с источником представляемых антигенов. По существу это древнее приобретение, нашедшее новое применение у высших организмов. HLA-I-зависимая презентация является способом освобождения от ненужного, отработанного материала, который непрерывно возникает внутри клеток. В нем участвует каскад механизмов, таких как убиквитин, молекулярные шапероны, протеасомы, транспортеры, связанные с процессингом антигенов (TAP1 и TAP2), образующие канал для транспорта пептидов через мембрану эндоплазматического ретикула. Именно здесь, на внутренней поверхности эндоплазматического ретикула, происходят сборка молекул HLA-I и их связывание (с помощью TAP-молекул) с адекватным пептидом. Комплекс HLA-I-пептид переносится на поверхность клетки, где осуществляется его представление (в том случае, если пептид является антигеном) CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитам. Таким путем уничтожаются опухолевые и вирусинфицированные клетки.

Презентация HLA-II отражает элиминацию чужеродных белков из внешней среды. После сборки в эндоплазматическом ретикулуме молекулы HLA-II соединяются с инвариантной пептидной цепью (она частично зависит от HLA-DM), которая служит шапероном (стоппером) для HLA-II, препятствуя опережающему связыванию пептидов. В виде такого комплекса молекулы HLA-II переносятся к эндосомальным везикулам, нагруженным экзогенными белками. Здесь после слияния с лизосомами происходит протеолитическое расщепление белков и инвариантной цепи, обнажающее связывающий участок HLA-II для сформировавшихся пептидов. Готовый комплекс HLA-II-пептид транспортируется на поверхность клетки, где распознается CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитами.

Это различие не абсолютно. При гибели клеток синтезированные ими (т. е. эндогенные) антигены могут поглощаться дендроцитами и макрофагами и, подобно экзогенным пептидам, экспрессироваться в комплексе с HLA-II. Возможен и альтернативный механизм: переключение потока антигенных пептидов с экзогенного (HLA-II-зависимого) пути на эндогенный (HLA-I-зависимый) путь. Такого рода перекрестная презентация содействует развитию полноценных Т-клеточных реакций, нацеленных, в частности, против тех вирусов, которые не реплицируются в профессиональных антигенпредставляющих клетках.

Повторим, что ассортимент каждого индивидуума ограничен примерно 20 аллельными HLA-генами. Это несравнимо меньше числа антигенных пептидов, с которыми могут встретиться Т-лимфоциты. Отсюда следует, что каждая молекула MHC способна презентировать не один, а множество пептидов. Все они имеют элементы структурного сходства, которое обеспечивает фиксацию в однотипной ловушке HLA. Но это не исключает их антигенной индивидуальности, так как специфичность Т-эпитопов определяется всего 1-2 аминокислотами.

Распространение различных HLA-структур неодинаково и зависит от национальной и расовой принадлежности. Некоторые антигены и аллели встречаются часто, тогда как другие - редкое исключение. Их значение до сих пор не установлено, так как с ними не сталкиваются специалисты, занятые пересадкой органов. Аллельные варианты HLA неодинаково реагируют с различными пептидами, определяя прецедент для генетического

контроля интенсивности иммунных реакций. Это означает, что индивидуумы с разными HLA-фенотипами могут неодинаково (даже альтернативно) реагировать на один и тот же антиген, так как их молекулы HLA различаются по взаимодействию с однотипными пептидами. Иммунный ответ вызывают лишь те антигены, которые связываются с HLA, поэтому неудивительно, что концепция о генах, контролирующих силу иммунного ответа (Ig-гены, от англ. immuneresponse), во многом базируется на представлениях о главном комплексе гистосовместимости, прежде всего HLA-II. Это понятно, так как молекулы II класса презентуют антигены Т-хелперам, от активации которых зависят все формы иммунного ответа. Влияние молекул главного комплекса гистосовместимости на реактивность к антигенам наиболее отчетливо проявляется в опытах на линейных (инбредных) животных. Но положительные связи между HLA-фенотипом и особенностями иммунного ответа известны и для человека. Так, носители аллелей HLA-DR2 и HLA-DR5 характеризуются склонностью к образованию IgE-антител к аллергенам пыльцы амброзии. Протективные пептиды вируса гриппа А встраиваются в молекулы B27 и A2, поэтому носители данных аллелей более устойчивы к гриппозной инфекции. Презентация антигенов - сложный процесс, связанный с участием многих молекул. Для ряда из них возможны аллельные варианты, которые неодинаково влияют на функции HLA и поэтому тоже включаются в генетический контроль иммунного ответа. Исследования в этом направлении только начинаются.

Загадкой остается предрасположенность к ряду болезней у лиц с определенным HLA-фенотипом, т. е. у носителей определенных HLA-I/ HLA-II-аллелей или их комбинаций. На этот счет имеется несколько гипотез, одна из которых основана на неодинаковой способности аллотипических вариантов HLA презентировать антигенные пептиды. Яркий пример - анкилозирующий спондилит (болезнь Бехтерева): около 90% больных являются носителями гена HLA-B27, тогда как его частота среди контрольных образцов составляет всего 9%. Допускают, что молекулы данного аллотипа могут быть рецепторами неизвестного вируса или избирательно представлять патогенетически значимые пептиды CD8<sup>+</sup>Т-лимфоцитам. Сюда примыкает реактивная артропатия (синдром Рейтера), возникающая после ряда инфекций: около 40% больных имеют в своем фенотипе HLA - B27. Менее выразительными, но значимыми примерами служат ревматоидный артрит (ассоциация с HLA-DR4), системная красная волчанка (HLA-DR3), инсулинзависимый диабет (HLADQA1\*0301/HLA-DQBI\*0302), идиопатический мембранозный гломерулонефрит (HLA-DR3), миастения гравис (HLA-B8, HLA-DR3), псориаз (HLA-DR4) и ряд других заболеваний, которые так же, как болезнь Бехтерева и синдром Рейтера, считаются аутоиммунными процессами.

Интригует и вопрос о причинах, приведших к формированию столь полиморфной системы генов. Согласно одной из версий главный комплекс гистосовместимости эволюционировал как механизм повышения видовой устойчивости против инфекционных агентов. Гарантией служит многообразие HLA-фенотипов, которое обеспечивает распознавание довольно большого количества антигенов на уровне популяции. В то же время каждый из ее представителей, обладая малой выборкой из общего числа аллельных HLA-генов, ограничен узким набором антигенпрезентирующих молекул. Это сокращает спектр воспринимаемых антигенов, снижая масштабность иммунного ответа против экзогенной агрессии. Неполноценные аллели и их комбинации выбраковываются естественным отбором. Примером служит устойчивость населения африканских стран к фатальным исходам малярии. Она связана с принадлежностью к группе аллелей HLA-B\*53, а также к гаплотипу HLA-DRBI\*1302/DQBI\*0501. Замечено, что резистентность к инфекциям выше у людей, гетерозиготных по HLA. Это, по-видимому, связано с тем, что они способны представлять Т-лимфоцитам более широкий круг пептидов, чем гомозиготные индивидуумы.

Не исключено, что специфика HLA влияет и на другие проявления биологической индивидуальности. Непонятной, но вряд ли случайной является экспрессия аутологических

(собственных) компонентов на поверхности клеток в комплексе с HLA-I. Более того, на них приходится львиная доля пептидов, встраиваемых в молекулы I класса (презентация «чужих» антигенов составляет ничтожный процент). Возможно, за этим скрыт механизм, поддерживающий иммунологическую толерантность к собственным тканям, но смысл может быть и другим. Замечено, например, что MHC-генотип влияет на сексуальное поведение животных. При спаривании мыши отдают предпочтение партнерам гетерологичных линий, т. е. особям с другим MHC-генотипом. Поразительно, но речь, скорее всего, идет о дифференциации структурных особенностей MHC по запаху, т. е. аллельные варианты MHC наделены функцией феромонов. Эта логика нацелена на повышение генетического полиморфизма популяции. Естественно, для человека это невозможно. Но, утратив функцию выбора сексуального партнера, HLA-система «пытается» защитить популяцию от появления HLA-гомозигот. В супружеских парах, близких по HLA, невынашивание беременности наблюдается чаще, чем в парах с альтернативным HLA-генотипом.

И все-таки наибольший практический интерес главный комплекс гистосовместимости представляет как фактор, определяющий возможность или невозможность пересадки аллогенных тканей. Главным является определение совместимости донора и реципиента по HLA-аллелям. Ее степень детерминирует приживляемость трансплантатов, особенно в связи с применением современных иммунодепрессантов. Возможно прямое и косвенное представление аллельных молекул HLA. В первом случае происходит реакция на HLA-связанные пептиды либо на донорские HLA вне презентуемых пептидов. Это наиболее важная разновидность при остром отторжении аллотрансплантатов. Косвенное представление имеет вторичный характер: Т-лимфоциты реципиента распознают донорские пептиды HLA, процессированные собственными антигенпредставляющими клетками. Этот механизм больше реализуется при хроническом отторжении трансплантатов. Поскольку хронический вариант является главной причиной потери пересаженных органов, косвенное представление служит основной мишенью в аллогенной трансплантологии при разработке методов терапевтического воздействия.

В состав III класса входят гены компонентов комплемента C2, C4a, C4b, пропердиновый фактор. Наконец, к IV классу условно отнесены гены, связь которых с системой HLA еще нуждается в доказательствах.

Распознавание антигена. Огромное значение имело установление того факта, что цитотоксические Т-лимфоциты, взятые у животного, выздоравливающего от вирусной инфекции, поражают только те зараженные вирусом клетки, которые имеют тот же самый гаплотип MHC. Цитотоксические Т-лимфоциты людей, выздоравливающих от гриппа, и экспрессирующие антигены HLA-A2 могли поражать зараженные вирусом гриппа клетки-мишени, несущие антигены HLA-A2, но не другой набор антигенов HLA.

Среди важнейших установленных фактов, характеризующих функцию антигенов HLA класса I и HLA класса II, обеспечивающих взаимодействие между всеми субпопуляциями иммунокомпетентных клеток организма, необходимо отметить также следующие.

1. Молекулы MHC приобретают стабильную форму и соответствующую трехмерную конфигурацию только после того, как в связывающий сайт ее складки встраивается пептид. Только после этого молекула MHC способна мигрировать на поверхность клетки, где она готова выполнить свои функции. Удаление пептида из пептидсвязывающей структуры MHC, экспрессированной на клеточной мембране, нарушает ее трехмерную конфигурацию и ведет к ее гибели.

2. Комплекс HLA-пептид является чрезвычайно стабильным и кристаллизуется в единой структуре. Этот комплекс остается на поверхности клетки в течение нескольких недель, что позволяет многим «проходящим» Т-клеткам сканировать представляемый собственной молекулой MHC пептид.

3. Наконец, каждый пептид связывается (и удерживается в складке) с инвариантным участком, характерным для каждого из аллелей молекулы МНС и имеющим определенный мотив аминокислотных остатков, участвующий в таком связывании. Таким образом, в связь с конкретным пептидом вовлекаются конкретные же участки антигенов - аллельные варианты молекул МНС, что, по сути, и является основой генетического контроля иммунного ответа. Это положение хорошо иллюстрируют данные о том, что пептид вируса герпеса связывается с гаплотипом HLA DQA1\*0501/DQB1\*2001, но не DQA1 0201/DQB10201, различие между которыми в DQA1-цепи составляет 15 аминокислотных остатков.

Длина пептидов, связывающихся с молекулой HLA класса I, 8-10 аминокислот. Пептиды, связывающиеся с молекулой HLA класса II, более гетерогенны: 9-25 аминокислот. Установление этих фактов и имеющаяся в настоящее время возможность анализировать аминокислотные последовательности всех аллельных вариантов антигенов HLA, в том числе их инвариантные участки, а также структуру пептидов, определяющих специфичность различных чужеродных агентов, включая болезнетворные, позволяют заранее предсказать связывание тех или иных пептидов тем или иным участком молекулы МНС. Иными словами, можно заранее предсказать генетическую отвечаемость или неотвечаемость на тот или иной агент. Это, в свою очередь, создает принципиально новые возможности при иммунизации населения, поскольку позволяет выявить лиц, которые в принципе не могут быть иммунизированы при использовании «классических» вакцин. Однако это не означает, что иммунный ответ у них не может быть получен вообще. Для этих целей подходят вакцины нового поколения, позволяющие действовать «в обход» генов HLA.

Из числа антигенов, кодируемых системой HLA, первыми в систему процессинга антигенов включаются антигены локуса LMP (гены *LMP2*, *LMP7*). Функция данных молекул состоит в том, что они регулируют размер и специфичность пептидов. Приводят их в «соответствие» со связывающими сайтами молекул МНС класса I. После связывания с пептидом происходит высвобождение молекул HLA и транспортировка на поверхность клеток, с помощью также кодируемых МНС «пептидных насосов» TAP (от транспортеров, ассоциированных с антигенным процессингом). В отличие от молекулы класса I обе цепи молекулы МНС класса II синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме, откуда после их временного соединения с третьей инвариантной цепью они транспортируются в эндоцитарный компартмент, где они встречаются и затем связываются с пептидом, либо, если этого не произошло, деградируют в лизосомах. После связи с пептидом, заменяющим инвариантную цепь молекулы МНС класса II, переходят на клеточную мембрану. Вытеснение пептидом инвариантной цепи молекул класса II обеспечивают белки, также кодируемые системой HLA и названные HLA-DM. Эти белки катализируют замену «временного» пептида инвариантной цепи на специфический антиген.

Таким образом, следует отметить, что открытые локусы HLA TAP, DM, LMP играют важнейшую роль в экспрессии молекул HLA на клетки и тем самым участвуют в развитии иммунного ответа.

В более упрощенном виде распознавание чужеродного антигена можно представить следующим образом.

Основные постулаты распознавания антигена

1. Наличие на поверхности лимфоцитов предсуществующих специфических антигенсвязывающих рецепторов, экспрессия которых не зависит от того, встречался ли организм с данным антигеном или нет.

2. На одном лимфоците может быть рецептор только одной специфичности.

3. Антигенсвязывающие рецепторы могут экспрессироваться на поверхности как Т-, так и В-лимфоцитов.

4. Лимфоциты с рецепторами определенной специфичности составляют клон, т. е. являются потомками одной родительской клетки.

5. Распознавание антигена невозможно без участия макрофагов, дендритных клеток, которые осуществляют представление антигена лимфоциту.

6. Распознавание «чужого» происходит в контексте распознавания «своего», т. е. антигенсвязывающий рецептор Т-лимфоцита распознает на поверхности макрофага молекулярный комплекс, состоящий из собственного антигена гистосовместимости и чужеродного антигена.

После распознавания антигена начинается активация В-лимфоцитов, которые реагируют на три различных типа антигенов.

1. Тимуснезависимые антигены типа 1. Некоторые антигены, такие как бактериальный липополисахарид, при достаточно высокой концентрации способны к поликлональной активации значительной части популяции В-лимфоцитов, т. е. для такой активации антигенная специфичность поверхностных рецепторов клетки роли не играет. При низкой концентрации подобных антигенов, не приводящей к поликлональной активации, те В-лимфоциты, у которых иммуноглобулиновые рецепторы специфичны по отношению к данным антигенам, будут пассивно фокусировать их на своей поверхности. При этом за счет собственной митогенной активности эти антигены будут стимулировать пролиферацию клеток.

2. Тимуснезависимые антигены типа 2. Некоторые линейные антигены, медленно распадающиеся в организме и имеющие часто повторяющуюся, определенным образом организованную детерминанту, например полисахарид пневмококков, полимеры D-аминокислот, поливинил-пирролидон, также способны непосредственно без участия Т-клеток стимулировать В-лимфоциты, т. е. относятся к тимуснезависимым. Они длительное время персистируют на поверхности специализированных макрофагов краевого синуса лимфатического узла и маргинальной зоны селезенки. Связывание этих антигенов с антигенспецифическими В-клетками происходит с высокой авидностью и обусловлено перекрестным взаимодействием антигенных детерминант с иммуноглобулиновыми рецепторами.

Тимуснезависимые антигены обоих типов вызывают преимущественно синтез IgM, и индуцируемый ими иммунный ответ практически не сопровождается формированием клеток памяти.

3. Тимусзависимые антигены. Необходимость кооперации с Т-хелперами. Многие антигены относятся к группе тимусзависимых; у животных, подвергнутых неонатальной тимэктомии и имеющих мало Т-клеток, они либо не вызывают синтез антител, либо этот синтез очень слаб. Эти антигены в отсутствие Т-лимфоцитов лишены иммуногенности: они могут быть одновалентными в отношении специфичности каждой детерминанты, подвергаться быстрой деградации фагоцитирующими клетками, наконец, не обладать собственной митогенной активностью. Связавшись с В-клеточным рецептором, они, так же как и гаптены, не способны активировать В-клетку. Гаптены приобретают иммуногенность при соединении с подходящим белком-носителем. В настоящее время известно, что функция носителя заключается в стимуляции Т-хелперов, помогающих В-клеткам реагировать на гаптен, стимулируя последние дополнительными сигналами.

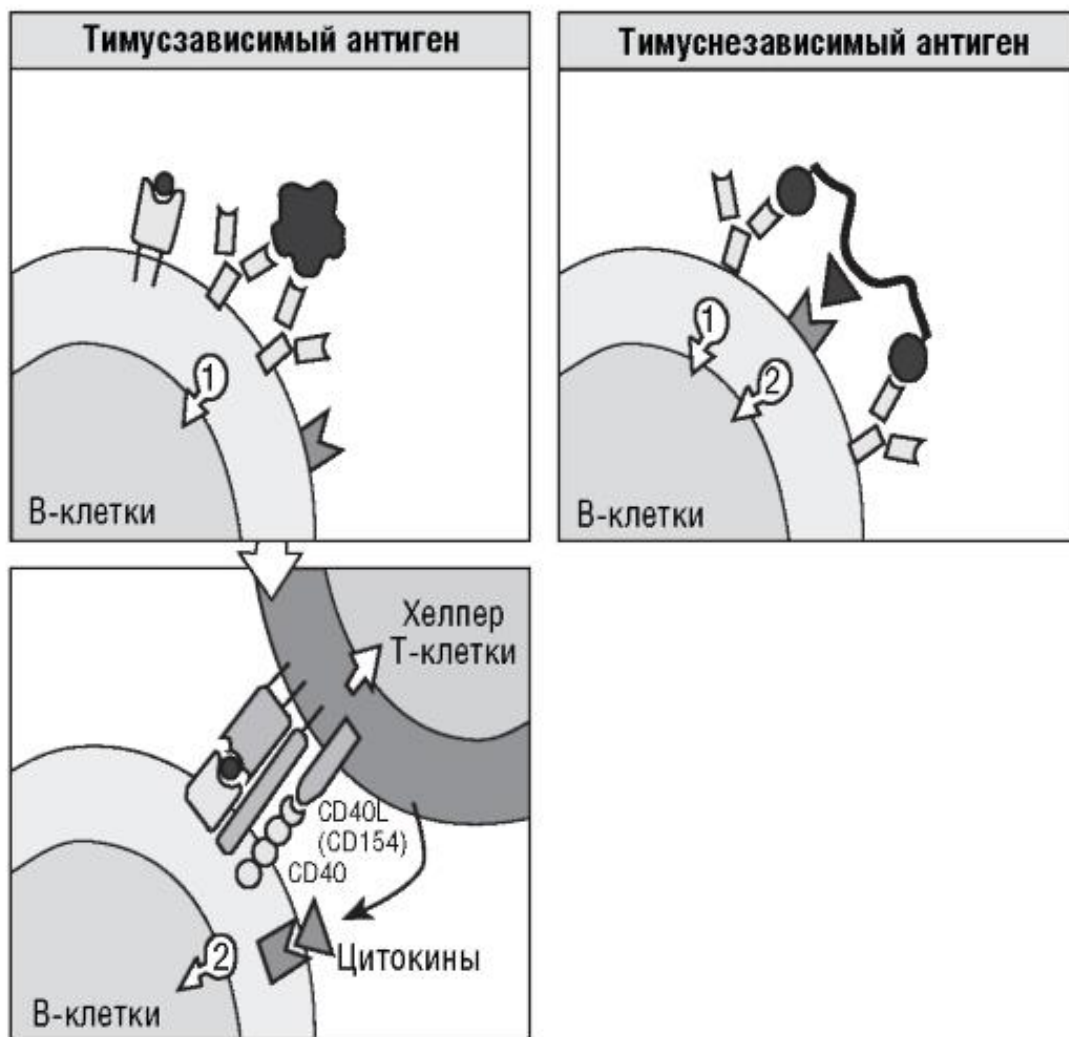


Рис. 3.5. Индукция иммунного ответа тимуснезависимыми и тимусзависимыми антигенами (по А. К. Abbas, 2009)

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Назовите силы, обеспечивающие эффективность взаимодействия антитела с антигеном.
2. Опишите специфичность взаимодействия антигена с антителом.
3. Из каких факторов складывается вирулентность микроорганизмов?
4. Назовите особенности формирования биопленок.
5. Перечислите основные биологические функции молекул HLA I класса.
6. Перечислите основные биологические функции молекул HLA II класса.
7. Назовите особенности формирования комплекса молекула HLA антиген.



## Глава 4. ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОГО ИММУНИТЕТА

Задача иммунитета - распознавание агентов (живых тел, веществ), несущих признаки генетической чужеродности, и в их элиминации из внутренней среды организма. Принципы защиты организма как от микробов, так и от модифицированных клеток, в том числе опухолевых, едины.

Защита организма от инфекции складывается из последовательного включения в борьбу с проникшим возбудителем трех различных эшелонов этой защиты, составляющих единый функциональный комплекс (первые два пункта относятся к неспецифическим доиммунным механизмам резистентности):

- 1) факторов естественной резистентности;
- 2) раннего индуцибельного ответа;
- 3) адаптивного или приобретенного иммунного ответа.

Факторы естественной резистентности включаются в защиту мгновенно после преодоления возбудителем кожных или слизистых оболочек и его внедрения во внутреннюю среду организма. Их действие продолжается в течение всего периода борьбы организма с инфекцией, но наиболее эффективно они работают в течение первых 4 ч после внедрения микроба, когда они являются практически единственными защитниками организма.

На пути проникшего в организм микроба стоят две мощные преграды: клеточные и гуморальные факторы естественной резистентности. К первым относятся тканевые макрофаги, нейтрофилы и естественные киллеры; ко вторым - естественные IgG-антитела и комплемент.

Практически любой микроб, проникший в макроорганизм, обладает способностью индуцировать альтернативный путь активации комплемента, в результате чего образуются фрагменты C3a, C5a, C3b и др. C3a и C5a являются провоспалительными медиаторами с хемотаксической активностью. Они индуцируют приток нейтрофилов в воспалительный очаг. C3b и естественные IgG-антитела взаимодействуют с микробом и опсонизируют его, т. е. подготавливают микроб к поглощению фагоцитами. Первыми клетками, с которыми взаимодействуют проникшие во внутреннюю среду организма микробы, являются тканевые макрофаги. Они поглощают опсонизированные микробы, убивают их, активируют и синтезируют цитокины. Опсонизированные микробы значительно интенсивнее захватываются и убиваются фагоцитарными клетками, чем неопсонизированные. Этот тип элиминации возбудителя эффективен только в отношении внеклеточных условно-патогенных бактерий со слабой вирулентностью.

Затем, как правило, вступает второй, более мощный эшелон защиты организма от инфекции - ранний индуцибельный ответ, действие которого длится в течение 96 ч, пока не начнут работать факторы специфического иммунитета. В нем также можно выделить клеточные и гуморальные факторы. К первым относятся активированные макрофаги, нейтрофилы и естественные киллеры; ко вторым - цитокины и белки острой фазы, продуцируемые клетками печени под влиянием этих цитокинов. Тканевые макрофаги, активированные бактериальными антигенами, образующимися в процессе фагоцитоза возбудителя, продуцируют ряд цитокинов (монокинов): TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , -8, -12, IFN $\alpha$ , GM-CSF и др., которые оказывают активирующее воздействие на новые популяции клеток, мигрирующих в очаг воспаления, - моноциты, нейтрофилы, естественные киллеры. Эти клеточные популяции также начинают продуцировать цитокины, вовлекая в процесс защиты все новые и новые клетки. Кроме того, в процессе расщепления микроба образуются микробные пептиды, которые макрофаг в комплексе с антигенами МНС II представляет Т-

лимфоцитам. Это важнейший этап, без которого невозможно развитие специфического иммунного ответа. Важнейшим цитокином, продуцируемым активированными макрофагами в течение раннего индуцибельного ответа, является IL-12. От этого цитокина зависит характер иммунного ответа: преимущественное развитие клеточного или гуморального иммунитета. IL-12 активирует моноциты (макрофаги), нейтрофилы и NK-клетки. Активированные таким путем фагоциты более интенсивно поглощают микробы, быстрее убивают их и переваривают. Активированные NK-клетки приобретают большую цитотоксическую активность в отношении клеток, инфицированных возбудителем.

IL-1, -6, -8, TNF, GM-CSF и другие цитокины, продуцируемые макрофагами в течение раннего индуцибельного ответа, являются провоспалительными цитокинами.

Их действие полностью определяет развитие воспалительного процесса, развивающегося при внедрении микроба в макроорганизм:

1) повышение температуры тела при инфекционных процессах зависит от действия на ЦНС IL-1 и IL-6;

2) синтез БОФ зависит от действия на клетки печени IL-1 и IL-6; БОФ обладают выраженной способностью опсонизировать внедрившихся в организм микробов;

3) развитие классических признаков воспаления (опухоль, покраснение, боль, жар) полностью зависит от TNF $\alpha$ ;

4) лейкоцитоз периферической крови как характерная черта воспаления зависит от GM-CSF, G-CSF, M-CSF, усиливающих пролиферацию и дифференцировку клеток - предшественников костного мозга и ускоряющих их созревание до зрелых гранулоцитов с 7 до 15 дней;

5) миграция нейтрофилов и моноцитов в очаг воспаления зависит от  $\alpha$ -хемокинов (IL-8) и  $\beta$ -хемокинов, а также GM-CSF, являющихся мощными индукторами движения фагоцитов.

Главными защитниками организма от внеклеточных бактерий на стадии раннего индуцибельного ответа являются нейтрофилы. Они характеризуются наличием двух важных функций. Во-первых, они поглощают и убивают бактерии. Этот процесс резко усиливается при опсонизации возбудителей: или C3b+IgG, или БОФ, и при активации нейтрофилов цитокинами, продуцируемыми макрофагами и NK-клетками. Во-вторых, они сами являются мощными продуцентами цитокинов IL-1 $\beta$ , -8, -12, TNF $\alpha$ , GM-CSF, IFN $\alpha$ , тромбоцитарноактивирующего фактора, фактора роста фибробластов.

Главными защитниками организма от внутриклеточных микробов на стадии раннего индуцибельного ответа являются NK-клетки. Они характеризуются наличием двух важных функций. Во-первых, они обладают цитотоксической активностью непосредственно в отношении некоторых возбудителей, опухолевых клеток и клеток, инфицированных внутриклеточными микробами. Другой важной функцией NK-клеток является участие в общем каскаде синтеза цитокинов ( $\alpha$  - и  $\gamma$ -IFN, GM-CSF, IL-3, IL-8), активирующих новых участников иммунной защиты.

Факторы естественной резистентности и раннего индуцибельного ответа являются неспецифическими и осуществляют защиту организма в течение первых 96 ч после инфицирования. В эти сроки начинается развиваться адаптивный иммунный ответ, т. е. собственно специфический иммунитет, представляющий заключительный и наиболее мощный эшелон защиты организма. Он включает развитие протективного иммунитета и иммунологической памяти. Протективный иммунитет формируется с развитием гуморального и клеточного иммунного ответа. Сущность гуморального ответа заключается в образовании популяции В-лимфоцитов, синтезирующих специфические антитела класса IgG, IgA, IgM, IgE. Клеточный ответ - это образование популяции антигенспецифических Т-

лимфоцитов: Th1- и Th2-клеток, цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-эффекторов гиперчувствительности замедленного типа, обладающих способностью специфически распознавать антиген, вызвавший их появление, взаимодействовать с ним и выполнять при этом различные эффекторные функции. Иммунологическая память обусловлена образованием популяций Т- и В-клеток памяти. Их характерной особенностью является быстрая пролиферация под влиянием специфического антигена с образованием большой популяции клеток-эффекторов и синтезом соответственно большого количества антител и цитокинов. Иммунологическая память может сохраняться годами, а иногда всю жизнь (оспа, корь и другие инфекции). Она лежит в основе поствакцинального иммунитета и представляет собой высокоэффективную защиту организма от реинфекции, т. е. от повторного заражения тем же возбудителем.

Адаптивный иммунный ответ развивается при преодолении микробом факторов естественной резистентности и накоплении бактериальных антигенов в количестве, достаточном для инициации иммунного ответа. В любом иммунном ответе можно выделить четыре фазы: распознавание, активацию, пролиферацию и дифференцировку. Как при клеточном, так и при гуморальном иммунном ответе распознавание представляет собой сложное межклеточное взаимодействие антигенпредставляющих клеток (моноцитов/макрофагов, дендритных клеток, В-лимфоцитов) и Т-хелперов CD4. Антигенпредставляющие клетки захватывают микробный антиген, с помощью своей ферментной системы расщепляют его на пептидные фрагменты и в комплексе с молекулами антигенов гистосовместимости II класса (МНС II) представляют его на своей поверхности. Т-хелпер с помощью своего антигенраспознающего рецептора, состоящего из  $\alpha\beta$ -цепей или  $\gamma\delta$ -цепей, должен распознать микробные пептиды, лежащие в желобке МНС II антигенпредставляющей клетки. CD4-рецептор Т-хелпера, расположенный рядом с антигенраспознающим рецептором, должен распознать антигенные детерминанты МНС II антигенпредставляющей клетки. Это так называемое двойное распознавание, принцип которого заключается в обеспечении специфического взаимодействия в иммунном ответе только аутологичных клеток.

Следствием этого является образование комплекса из Т-хелпера и антигенпредставляющей клетки, который стабилизируется еще рядом связей между ко-стимулирующими или кофакторными молекулами, взаимодействующих по принципу рецептор-лиганд. К наиболее существенным относятся связи между CD40 и CD80/86 на антигенпредставляющих клетках и CD154 и CD28 на Т-хелперах. Следствием этого взаимодействия являются активация Т-хелперов и пролиферация (см. рис. 2.3, 2.4, 3.5).

Важнейшим событием в начале иммунного ответа является определение пути, по которому пойдет развитие Т-хелперов. Это развитие зависит от действия тех цитокинов, которые находятся на первых этапах иммунного ответа. Под влиянием IL-12, продуцируемого макрофагами, и  $\gamma$ -IFN, продуцируемого НК-лимфоцитами, Т-клетки CD4 дифференцируются в Th-хелперы, ответственные за развитие клеточного иммунного ответа. Главным цитокином, продуцируемым этими клетками, является  $\gamma$ -IFN. Под влиянием IL-4, продуцируемого, вероятно, тучными клетками, базофилами или эозинофилами, Т-клетки CD4 дифференцируются в Th2-хелперы, ответственные за развитие гуморального иммунного ответа. Главными цитокинами, продуцируемыми этими клетками, являются IL-4, -5, -6 и -10 (рис. 4.1).

При развитии гуморального иммунного ответа поверхностный иммуноглобулиновый рецептор В-лимфоцитов распознает растворимый антиген, клетка поглощает его, расщепляет до низкомолекулярных пептидов и представляет их в комплексе с МНС II Th-хелперам. Последние взаимодействуют с микробными пептидами с помощью описанного выше двойного распознавания. Это взаимодействие активирует как В-клетки, так и Т-клетки. На Т-клетках эта активация проявляется экспрессией нового антигенного рецептора CD154, для которого на В-клетках имеется специфический лиганд CD40. Взаимодействие CD154<sup>+</sup>CD40

служит мощным индуктором для пролиферации В-лимфоцитов, которая существенно усиливается под влиянием IL-2. Цитокины IL-4, -5, -6, -10, продуцируемые Th2-хелперами, играют решающую роль в переключении иммуноглобулиновых генов и синтезе основных классов специфических иммуноглобулинов - антител. Они нужны для продукции IgM-, IgA-, IgE-антител и слабоопсонизирующих субклассов IgG-антител (IgG2 и IgG4). Для образования сильно опсонизирующих субклассов IgG-антител (IgG1 и IgG3) нужны цитокины, продуцируемые Th1-хелперами.

Антитела играют важную роль в защите организма от инфекции. Это проявляется ингибированием взаимодействия микроорганизмов с клетками эпителия дыхательных путей, урогенитального и желудочно-кишечного трактов (секреторный IgA); нейтрализацией бактериальных, вирусных и других токсинов и антигенов (IgG); опсонизацией микроорганизмов (IgG и в меньшей степени IgA); лизисом под влиянием совместного действия комплемента и IgM-антител микроорганизмов, преимущественно грамотрицательных.

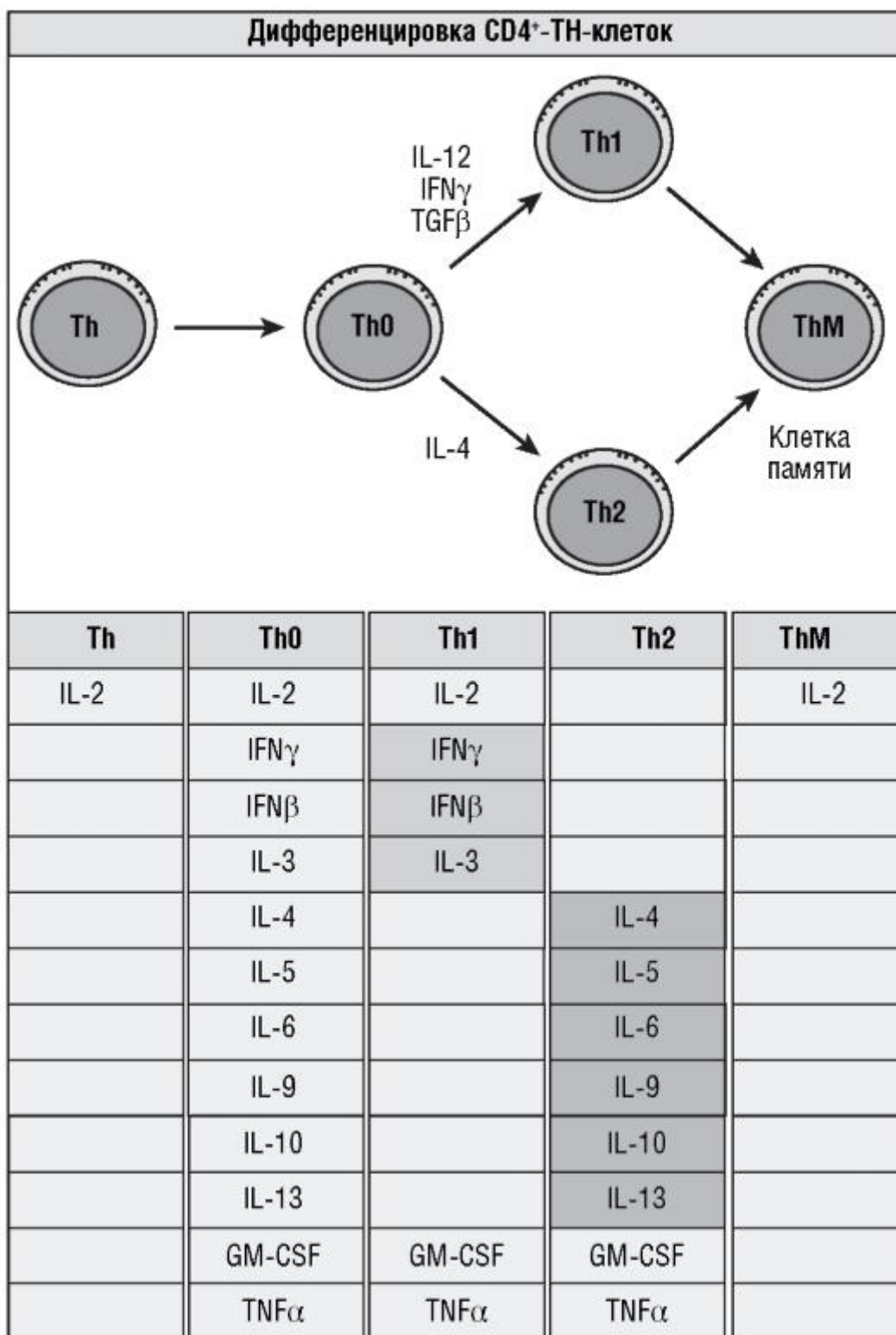


Рис. 4.1. Варианты дифференцировки «наивных» Т-лимфоцитов в Th1 и Th2, опосредующих развитие клеточного и гуморального иммунного ответов и продукция ими цитокинов (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Гуморальный иммунный ответ играет ведущую роль в защите организма от внеклеточных бактерий, при этом гибель возбудителя, в конечном счете, происходит в нейтрофилах, а антитела совместно с комплементом резко усиливают данный процесс. Но антитела играют важную роль и при вирусных инфекциях, особенно на ранних этапах развития последних, препятствуя проникновению вируса в чувствительную клетку.

При формировании популяции цитотоксических лимфоцитов (CTL) антигенпрезентирующей клеткой чаще всего является дендритная клетка, которая представляет микробные пептиды в комплексе с антигенными детерминантами МНС I. Антигенраспознающий рецептор Т-лимфоцита CD8<sup>+</sup> должен распознать этот пептид, а молекула CD8<sup>+</sup>, расположенная рядом с этим рецептором, - детерминанты МНС I (двойное распознавание). Образующийся комплекс стабилизируется взаимодействием нескольких ко-стимулирующих молекул. Из них наибольшее значение имеет распознавание CD28 молекулой Т-лимфоцита CD80рецептора дендритной клетки. В результате этого взаимодействия происходит активация Т-лимфоцитов, появление на их поверхности рецептора для ИЛ-2 (CD25) и синтез в умеренных количествах ИЛ-2. Под влиянием этого цитокина происходят пролиферация CTL и существенное увеличение их числа в организме. Однако собственного ИЛ-2, как правило, бывает недостаточно для интенсивной пролиферации CTL, и главным поставщиком ИЛ-2 являются активированные (возможно, на той же дендритной клетке) Th1-клетки.

Главной функцией CTL в противоинфекционной защите является уничтожение клеток, инфицированных внутриклеточными возбудителями (вирусами, микоплазмами, хламидиями, микобактериями). На таких клетках экспрессируются вирусные и бактериальные пептиды в комплексе с антигенными детерминантами МНС I. С помощью своего антигенраспознающего рецептора и CD8-молекулы CTL распознает инфицированную вирусом клетку, образует с ней комплекс и активируется. При этом происходит выброс гранул, содержащих цитотоксические белки: перфорин, грамзин и др. Перфорин обладает способностью встраиваться в мембрану пораженной клетки и образовывать там поры. С помощью эндоцитоза клетка старается их ликвидировать и при этом захватывает грамзин. Последний обладает способностью индуцировать апоптоз и гибель пораженной клетки.

Th1-хелперы, помимо цитокинов, «вооружающих» другие клетки, также принимают прямое участие в уничтожении возбудителей. Ряд внутриклеточных бактерий при проникновении в макрофаги могут долго персистировать там и даже размножаться. На поверхности таких клеток могут экспрессироваться бактериальные пептиды в комплексе с антигенами МНС II. Th1-хелпер CD4<sup>+</sup> распознает этот комплекс и взаимодействует с ним. Следствием этого являются активация макрофага и гибель внутриклеточных микроорганизмов.

Таким образом, существуют два пути борьбы с внутриклеточными возбудителями:

- 1) уничтожение инфицированных клеток CD8<sup>+</sup> CTL, следствием чего является прекращение развития возбудителя и, следовательно, его распространения в организме;
- 2) активация инфицированных макрофагов Th1-клетками CD4<sup>+</sup>, следствием чего является гибель возбудителя в фаголизосоме.

Итак, последовательные этапы формирования воспалительной реакции известны достаточно хорошо, однако до последнего времени были неизвестны клеточные рецепторы, передающие активационные сигналы после взаимодействия с различными бактериальными патогенами или компонентами их клеточных стенок. Лишь в последние годы выяснилось, что эта функция связана с толл-белками, которые экспрессированы на мембране лейкоцитов и других клеток различных видов животных и человека.

Толл-белки являются эволюционно древними молекулами и впервые были описаны у дрозофилы, где они также выполняют примитивные защитные функции. Среди около десяти известных толл-белков существуют явные различия в узнавании бактериальных производных. Белок толл-4 обеспечивает проведение сигнала при встрече лейкоцитов с грамотрицательными бактериями и основным компонентом их клеточных стенок - ЛПС. Белок толл-2 связывает продукты грамположительных микроорганизмов, пептидогликаны, а также производные дрожжевых клеток, например зимозан. Оба толл-белка экспрессируются

на мембранах макрофагов и обеспечивают активацию синтеза провоспалительных цитокинов IL-1, TNF- $\alpha$  и др. Таким образом, уже на уровне макрофага может происходить распознавание различных типов микроорганизмов. Однако в обоих случаях вслед за этим запускается одна и та же программа передачи внутриклеточного сигнала активации.

Важно, что этот путь полностью повторяется при передаче сигнала от рецептора IL-1, более того, внутриклеточные части трансмембранных толл-белков имеют гомологию с рецептором IL-1. Это позволяет предположить, что семейство молекул IL-1 использует тот же путь активации клеток, как и при первичном распознавании патогенов толл-белками, это нужно для усиления сигнала к развитию защитной воспалительной реакции. ЛПС, пептидогликаны, зимозан и другие компоненты клеточных стенок различных микроорганизмов запускают синтез IL-1 и ряда других провоспалительных цитокинов в макрофагах. В свою очередь, IL-1 способен вызвать продукцию тех же провоспалительных цитокинов и самого себя. Анализ строения толл-белков и рецепторного комплекса IL-1 подтверждает, что это не случайно. IL-1 практически повторяет все биологические эффекты ЛПС как на местном, так и на системном уровне, он служит не просто медиатором действия ЛПС в организме, но является амплификатором развития защитных реакций, используя гомологичные рецепторы и полностью идентичные внутриклеточные сигнальные системы.

#### 4.1. ИММУНИТЕТ К БАКТЕРИЯМ

Различают две основные формы специфического иммунного ответа: гуморальный и клеточный. Гуморальный иммунный ответ подразумевает продукцию специфических антител в ответ на воздействие чужеродного антигена. Здесь основную роль играют В-лимфоциты, дифференцирующиеся в плазмоциты. Клеточно-опосредованный иммунный ответ подразумевает накопление в организме клона Т-лимфоцитов, несущих специфические для данного антигена антигенраспознающие рецепторы, ответственные за клеточные реакции иммунного воспаления - гиперчувствительности замедленного типа, в которых кроме Тлимфоцитов участвуют макрофаги.

Особой формой специфического иммунного ответа на контакт иммунной системы с чужеродным антигеном является формирование иммунологической памяти, которая проявляется способностью организма отвечать на повторную встречу с тем же антигеном вторичным иммунным ответом более быстрым и более сильным. Это связано с накоплением клона долгоживущих клеток памяти, способных распознать антиген и ответить ускоренно и усиленно на повторный контакт с ним.

Альтернативной формой специфического иммунного ответа является формирование иммунологической толерантности, т. е. неответственности на собственные антигены организма (аутоантигены). Такая толерантность приобретается организмом в период внутриутробного развития.

Решающий момент специфического иммунного ответа - это ответ CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов-хелперов на распознавание антигена. На этом этапе определяется форма иммунного ответа: с преобладанием антител (гуморального) или с преобладанием клеточных реакций (гиперчувствительности замедленного типа). Направление дифференцировки CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, от которого зависит форма специфического иммунного ответа, контролируется цитокинами, образующимися в ходе воспалительной реакции. Так, в присутствии IL-12 и IFN $\gamma$  CD4<sup>+</sup>-лимфоциты дифференцируются в воспалительные Th1 - клетки, которые начинают продуцировать и секретировать IL-2, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , определяя клеточный характер специфического иммунного ответа (рис. 4.2).

В присутствии IL-4 CD4<sup>+</sup>-лимфоциты дифференцируются в Th2, которые начинают продуцировать и секретировать IL-4, -5, -6, TNF $\alpha$  и запускают гуморальный иммунный ответ, т. е. синтез специфических антител - иммуноглобулинов. Возможный источник IL-4 -

тучные клетки и базофилы, которые активируются при контакте с паразитами и аллергенами. Воспалительные Th1-лимфоциты нужны для борьбы с внутриклеточными паразитами, а Th2 - для эффективной защиты против внеклеточных паразитов. Между этими двумя субпопуляциями CD4<sup>+</sup>-клеток отношения антагонистические: IL-4 ингибирует генерацию воспалительных Th1 и продукцию IFN $\gamma$ , а IFN $\gamma$  ингибирует пролиферацию Th2, продукцию IL-4 и его активность.

Таким образом, под иммунитетом к инфекциям следует понимать следствие взаимодействия макроорганизма (человека) с постоянно изменяющимися (мутирующими) микроорганизмами. Защитные механизмы человека вынуждают микроорганизмы постоянно изменяться, чтобы противостоять действию этих механизмов.

Условно все микроорганизмы можно разделить на внеклеточные и внутриклеточные (схема 4.1).

Главными эффекторными клетками в борьбе с внеклеточными возбудителями являются нейтрофилы. Их поглотительная и бактерицидная функции резко усиливаются в присутствии комплемента и IgG, а также при их активации TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и другими цитокинами, продуцируемыми макрофагами, NK-клетками и Т-лимфоцитами. Главными эффекторными клетками в борьбе с внутриклеточными возбудителями являются макрофаги, NK-клетки и Т-лимфоциты.

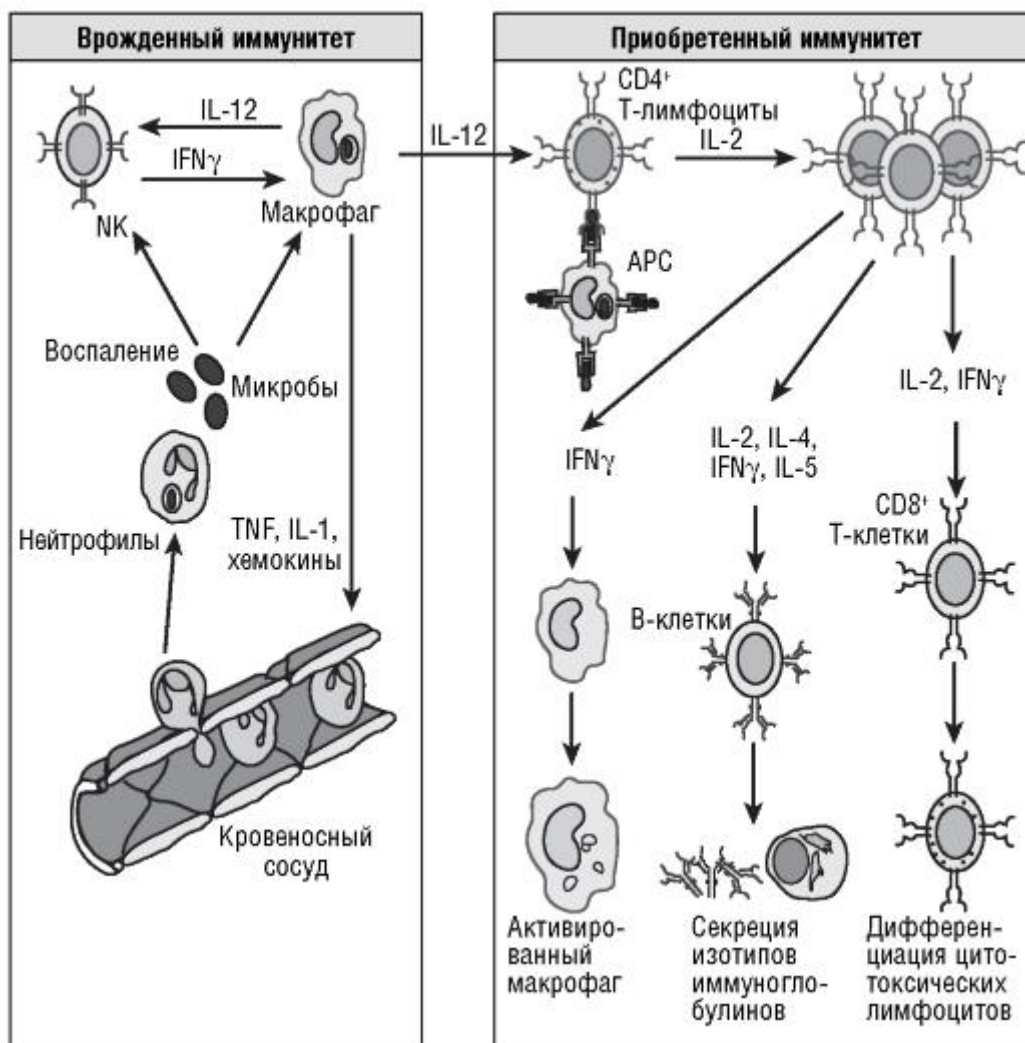


Рис. 4.2. Основные механизмы врожденного и приобретенного иммунного ответа, направленные на элиминацию патогена из организма (по А. К. Abbas, 2009)



Их микробицидные и цитотоксические свойства резко повышаются под влиянием  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов,  $\text{TNF}\alpha$ , IL-1, -2, -12 и других цитокинов, продуцируемых после активации антигенами возбудителя этих же трех популяций клеток. Первой клеткой, с которой встречается возбудитель, преодолевший слизистые или кожные покровы, является тканевой макрофаг. От него зависит развитие раннего индуцибельного ответа, осуществляющего защиту организма от микроба в первые 96 ч инфекционного процесса и заключающегося в синтезе ряда указанных выше монокинов, а также иммунного адаптивного ответа, осуществляющего защиту организма от инфекции на поздних стадиях инфекционного процесса и заключающегося в развитии гуморального (синтез специфических антител) и клеточного (образование популяции антигенспецифических Т-лимфоцитов) иммунного ответа (схема 4.3).

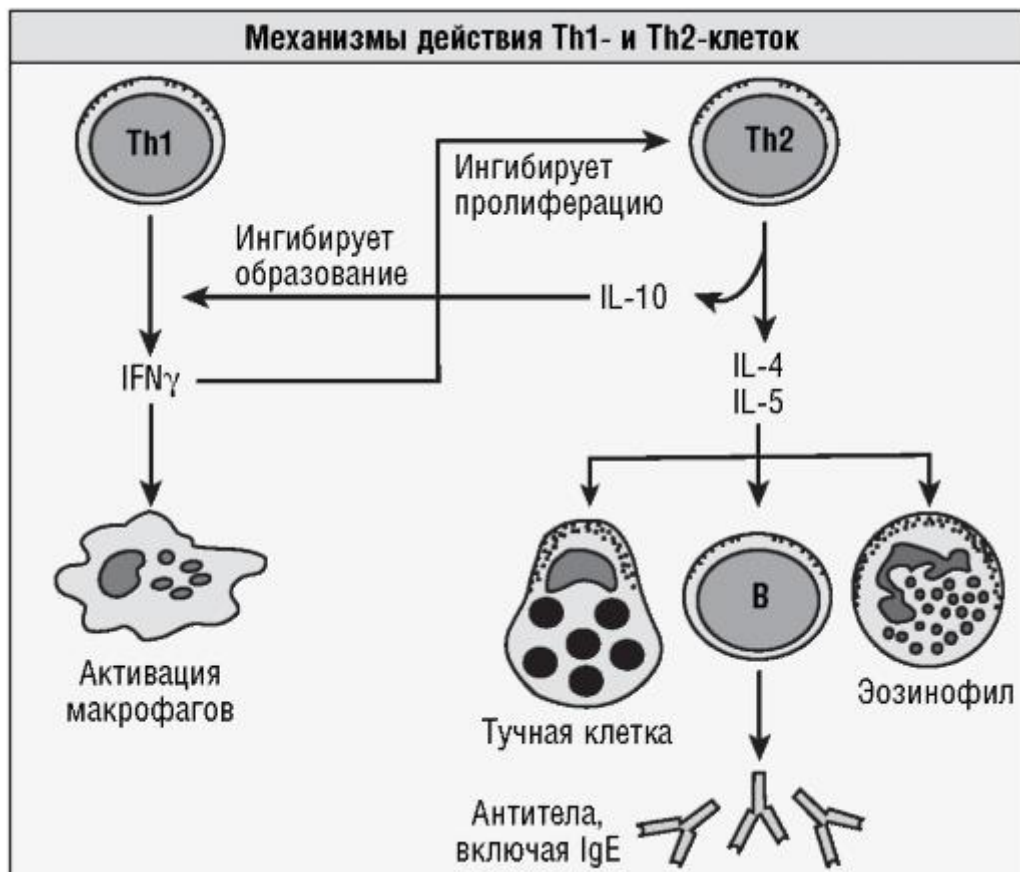


Рис. 4.3. Варианты дифференцировки «наивных» Т-лимфоцитов в Th1 и Th2, опосредующих развитие клеточного и гуморального иммунного ответов (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Макрофаг, захвативший микроб, активируется и синтезирует ряд монокинов, которые повышают функциональную активность новых моноцитов/макрофагов, нейтрофилов, НК-клеток. Этот макрофаг, расщепив с помощью своей ферментной системы микроб, представляет его антигенные детерминанты Т- и В-лимфоцитам, инициируя тем самым развитие гуморального и клеточного ответа и продуцируя некоторые цитокины, необходимые для его развития.

У тканевых макрофагов функция и экспрессия поверхностных рецепторов подавлены. Активация макрофагов происходит в несколько стадий. Макрофаги, выделенные из очагов воспаления, индуцированного локальной активацией комплемента или введением неспецифических раздражителей, например тиогликолята, заметно увеличены в размерах, имеют повышенное содержание кислых гидролаз, отличаются усиленной секрецией нейтральных протеиназ и повышенной фагоцитарной активностью.

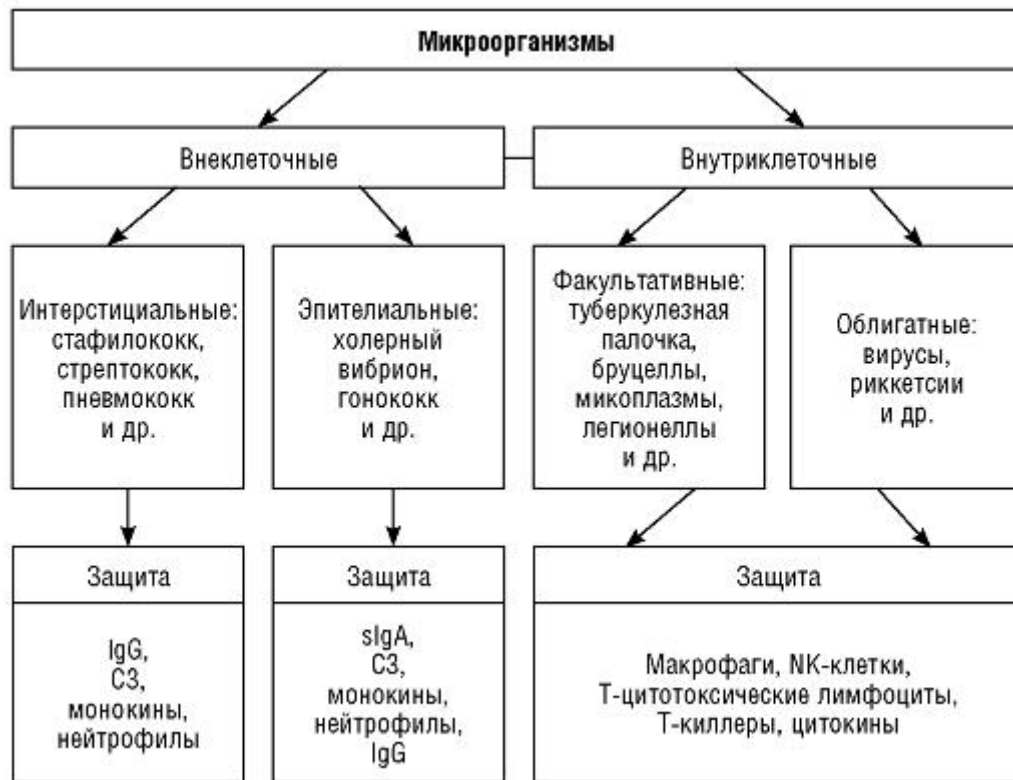


Схема 4.1. Классификация микроорганизмов по способу паразитирования и защита от них

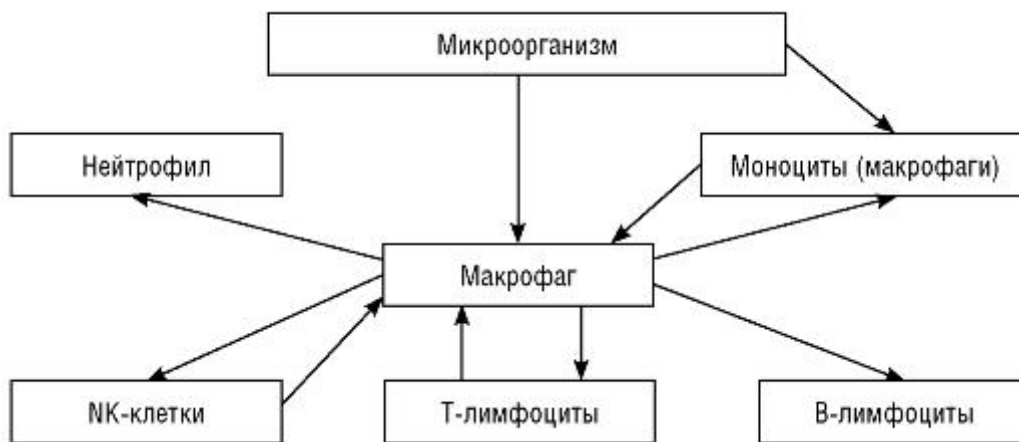


Схема 4.2. Принципы антиинфекционной защиты

Активированный макрофаг способен секретировать свыше 60 различных факторов. Схема активации макрофагов может быть представлена следующим образом.  $IFN\gamma$ , выделяемый стимулированными лимфокинпродуцирующими Т-клетками, воздействует на макрофаг, что сопровождается значительными изменениями клеточной поверхности (так, у макрофагов мыши резко увеличивается количество антигенов МНС класса II, Fc-рецепторов для IgG2b и участков связывания опухолевых клеток). Субпопуляция лимфоцитов CD4, примированная конкретным антигеном, будет узнавать комбинацию антигена и молекул МНС класса II на поверхности макрофага и связываться с ней, а затем продуцировать разнообразные растворимые лимфокины, в первую очередь  $IFN\gamma$ , которые активируют макрофаги, запуская поврежденные ранее микробицидные механизмы макрофагов и вызывая гибель внутриклеточных механизмов (рис. 4.4).

Защита от инфекций на клеточном уровне. Многие микроорганизмы способны к жизни внутри клеток-хозяев вне досягаемости гуморальных антител.

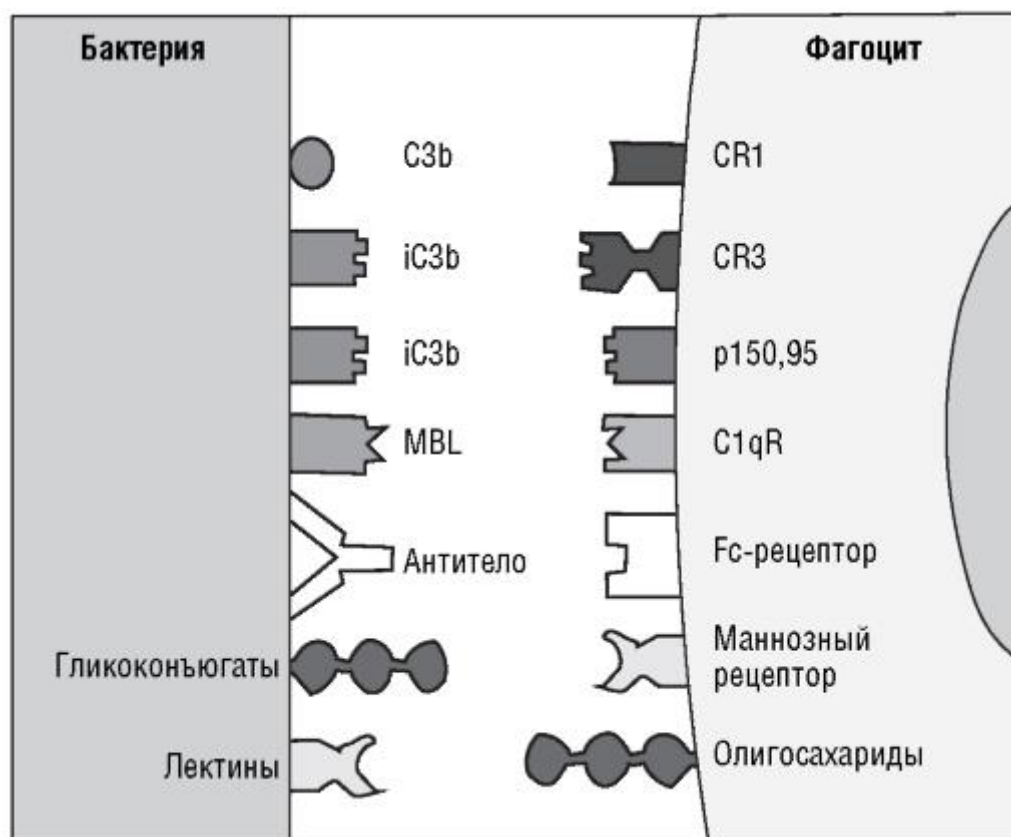


Рис. 4.4. Взаимодействие фагоцитирующей клетки и бактерии (объекта фагоцитоза) через поверхностные антигенные структуры и рецепторный аппарат нейтрофила (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Чтобы справиться с подобной ситуацией возникла совершенно обособленная система приобретенного иммунитета, основанная на функционировании отдельной субпопуляции Т-лимфоцитов, которые дифференцируются в тимусе. Внутриклеточные микроорганизмы, такие как *M. tuberculosis*, хламидии, микоплазмы, возбудители проказы, растут и размножаются внутри макрофагов. Они защищаются от механизмов уничтожения, подавляя слияние фагосом с лизосомами, образуя наружную оболочку или выходя из фагосом в цитоплазму. Эти бактерии уничтожаются специфическими лимфокинпродуцирующими Т-хелперами. При контакте с зараженными макрофагами они выделяют  $IFN\gamma$ , который активирует синтез токсичных метаболитов кислорода и запускает другие механизмы уничтожения микроорганизмов.

В процессе эволюции образовалась субпопуляция цитотоксических Т-лимфоцитов. Эти клетки отличаются очень широкой специфичностью, поскольку клонально экспрессируют многочисленные поверхностные рецепторы, сходные с таковыми Т-лимфоцитов, но не идентичные им. Каждый цитотоксический Т-лимфоцит запрограммирован на синтез рецепторов определенной специфичности и, подобно Т-хелперам, распознает антиген только в комплексе с клеточным маркером, молекулами МНС класса I.

Отбор и активация Т-хелперов происходят после контакта с антигеном. Затем они проходят стадию клональной экспансии и превращаются в зрелые Т-хелперы и цитотоксические Т-эфффекторы, а также формируют обширную популяцию клеток памяти.

Некоторые бактерии, избегая фагоцитоза, окружают себя капсулой, секретируют экзотоксины, убивающие фагоциты, или подавляют воспалительную реакцию. Они заселяют

относительно недоступные для иммунной системы участки организма. Макроорганизм отвечает продукцией антител, которые нейтрализуют токсины, активируют комплемент непосредственно на поверхности бактерий и преодолевают антифагоцитарные свойства капсулы, опсонизируют ее с помощью IgG и C3b.

IgA подавляет адгезию бактерий к клеткам слизистых оболочек. IgE, связанные с тучными клетками, могут стимулировать привлечение протективных IgG, комплемента, полиморфноядерные лейкоциты, вызывая острую воспалительную реакцию.

Специфические антитела образуются дифференцированными в костном мозге В-лимфоцитами. Каждый В-лимфоцит запрограммирован на образование антител только одной специфичности. Молекулы этих антител экспрессируются на поверхностной мембране лимфоцитов и функционируют как рецепторы. На поверхности каждого лимфоцита экспрессируется около  $10^5$  молекул антител.

Антиген, попадая в организм, соединяется только с теми рецепторами, которые ему в точности соответствуют. Лимфоциты, связавшие антиген, получают пусковой сигнал и дифференцируются в плазматические клетки, продуцирующие антитела. Лимфоциты, сенсibilизированные антигеном, последовательно проходят несколько стадий пролиферации и формируют большой клон плазматических клеток, которые будут синтезировать антитела только той специфичности, на которую был запрограммирован лимфоцит-предшественник. Благодаря этому механизму клональной селекции антитела могут накапливаться в достаточно высокой концентрации, чтобы эффективно бороться с инфекцией.

При вторичном контакте с антигеном организм отвечает более быстрой и эффективной продукцией антител, что является результатом «настройки» или примирования антителообразующей системы. Интенсивность ответа, осуществляемого популяцией примированных лимфоцитов, возрастает, главным образом, за счет увеличения числа клеток, способных воспринимать антигенный стимул.

Механизм развития противобактериального иммунитета зависит от состояния факторов, направленных на различные стадии фагоцитоза. Факторы защиты на первом этапе взаимодействия паразит-хозяин и профилактика заражения могут быть представлены следующим образом:

1. *Мукозный иммунитет:*

- IgA;
- фагоциты;
- антитела;
- Т-лимфоциты, НК-клетки;
- гликопротеиды слизи + рецепторы к микробным адгезинам.

2. *Системный иммунитет:*

- неспецифические гуморальные факторы;
- фагоциты, НК-клетки;
- «нормальные» антитела.

3. *Профилактика заболевания:*

- фагоциты, НК-клетки, К-клетки;
- Т-лимфоциты;
- В-лимфоциты;
- специфические антитела;

- гуморальные неспецифические факторы.

В отношении конкретных инфекций определяющую роль имеют отдельные иммунологические факторы, от их функционального состояния зависят распространение или локализация и ликвидация конкретного инфекционного процесса (табл. 4.1).

Таблица 4.1. Факторы иммунитета, играющие роль в исходе инфекционных заболеваний

Факторы	Примеры инфекций
Гранулоциты, антитела	Стафилококковая, стрептококковая, гонорея
Моноциты, антитела	Хламидиозы, риккетсиозы, микоплазмозы
Антитела	Токсикоинфекции (анаэробные, дифтерия, холера)
Моноциты, антитела, Т-лимфоциты	Кандидозы, сифилис, сальмонеллез, листериоз, вирусные инфекции
Моноциты, Т-лимфоциты	Туберкулез, листериоз, кокцидиоз

Возбудители пиогенных инфекций (стафилококки, стрептококки, менингококки, гонококки, гемофильные палочки, клебсиеллы и др.) имеют капсулы, которые угнетают фагоциты и опсонины, усиливающие действие фагоцитов. Как правило, возбудители, будучи фагоцитированными, погибают в полиморфных нуклеарах. Лимфоциты и макрофаги в защите против таких бактериальных агентов решающей роли здесь не играют.

Микроорганизмы в процессе взаимосвязанной эволюции паразитов и организма хозяина приобрели разные способы избегания иммунной защиты. Однако разнообразие механизмов специфического иммунного ответа позволяет в большинстве случаев преодолеть патогенность, агрессивность, инвазивность или токсичность возбудителей.

Внеклеточные бактерии пытаются избежать фагоцитоза (наличие капсулы), секретируют экзотоксины, убивающие фагоциты и подавляющие воспаление, ингибируют систему комплемента. Антитела преодолевают эту стратегию за счет нейтрализации токсинов, увеличения депозиции комплемента на поверхности бактерий, опсонизации бактерии к фагоцитозу путем присоединения Ig и C3b. IgA ингибируют адгезию бактерий и могут опсонизировать их.

Бактерии, способные размножаться в клетках, избегают внутриклеточной гибели, блокируя кислородзависимую бактерицидную активность макрофагов, ингибируя слияние лизосом с фагосомами, синтезируя устойчивую клеточную стенку или перемещаясь из фагосом в цитоплазму. Против них более эффективен клеточно-опосредованный иммунитет: специфически сенсibilизированные Th секретируют цитокины, активирующие макрофаги к продукции NO, активных форм кислорода и другие микробицидные механизмы.

#### 4.2. ИММУНИТЕТ К ВИРУСАМ

Особенности противовирусного иммунитета связаны с облигатным внутриклеточным паразитизмом вирусов. Антитела нейтрализуют свободные вирусы в кровяном русле, IgA и интерфероны защищают во входных воротах, антитела предупреждают реинфекцию, вирусы внутри клеток-мишеней атакуются CTL, так как инфицированные клетки экспрессируют вирусные пептиды в комплексах с MHC-I, которые распознаются TCR на CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитах. Цитотоксические Т-клетки распознают нативные белки вирусной оболочки на поверхности клеткамишени. Цитотоксической активностью против вирусинфицированных клеток-мишеней обладают активированные ЕК. Активированные Тлимфоциты и макрофаги

продуцируют  $IFN\gamma$  и  $TNF\alpha$ , способствующие формированию клеточного защитного барьера. Они превращают соседние клетки в непригодные для репликации вируса, повышают цитотоксичность ЕК для инфицированных клеток.

Запуск специфического иммунного ответа на инфекционный антиген происходит при встрече наивных Т-клеток, несущих соответствующий TCR, с комплексом антигенный пептид - МНС на поверхности АПК. Это событие происходит в лимфатическом узле, селезенке или МАЛТ в зависимости от путей проникновения и распространения возбудителя в организме. Патогенные микроорганизмы и их антигенные компоненты различаются по способности взаимодействовать с ДК, макрофагами, ЕК или с  $CD4^+$ -Т-клетками, что влияет на баланс цитокинов и на выбор направления дифференцировки  $CD4^+$ -Т-лимфоцитов.

Специфически примированные Th1 взаимодействуют с процессированным антигеном вирусов или других внутриклеточно паразитирующих микроорганизмов и присутствующим на поверхности инфицированных макрофагов в комплексах с МНС-II. Это ведет к активации Th1 и к секреции цитокинов ( $IFN\gamma$ ), активирующих макрофаги, которые повышают их способность убивать фагоцитированные микроорганизмы за счет усиленной продукции нитроксидных и других микробицидных радикалов. При персистенции инфекции развивается хроническое воспаление, которое часто морфологически проявляется формированием гранулемы.

В центре гранулемы сконцентрированы макрофаги, их слияние приводит к образованию гигантских клеток. Макрофаги окружены активированными Т-лимфоцитами, среди которых обнаруживаются Th1 и Th2, возможно для взаимной регуляции их активности. К числу ранних событий в очаге хронического иммунного воспаления относится усиление синтеза адгезионных молекул VCAM-1 и ICAM-1 на эпителиальных клетках. Это позволяет Т-клеткам памяти двигаться в очаг инфекции благодаря наличию VLA-4 и LFA-1 хоминг-рецепторов. TNF усиливает экспрессию адгезионных молекул и приток Т-лимфоцитов памяти в очаг инфекции. CCL-хемокины (MCP, MIP, RANTES) обеспечивают приток новых макрофагов и Т-лимфоцитов. Макрофаги с внутриклеточными паразитами активируются цитокинами:  $IFN\gamma$ , GM-CSF, IL-2,  $TNF\alpha$  с повышением их микробицидности (рис. 4.5).

Специфический иммунный ответ с доминированием Th1 эффективен при защите от микроорганизмов, если ведет к очищению от них. Если же инфекция персистирует, хронически текущий Th1-ответ ведет к разрушению тканей в очаге иммунного воспаления. Резко «поляризованный» Th1-ответ не всегда обеспечивает противомикробную защиту. В случаях эффективного противомикробного Th1-опосредованного ответа, который ведет к освобождению от возбудителей, возможно переключение на Th2, которые в этом случае выполняют супрессорную функцию.

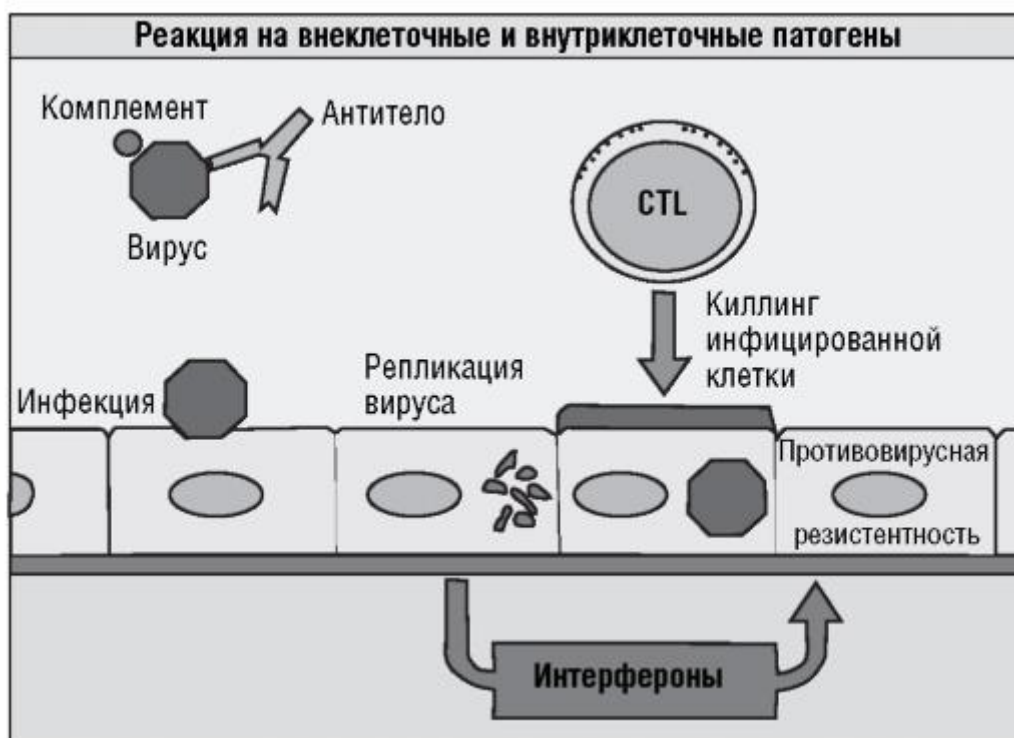


Рис. 4.5. Роль интерферонов в ингибировании репродукции вирусов (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Отмечено, что в печени больных хроническим вирусным гепатитом С превалируют Th1, а при хроническом вирусном гепатите В большинство лимфоцитов, инфильтрирующих печень, идентифицированы как Th0, способные продуцировать Th2-цитокины с небольшой примесью IFN $\gamma$ .

Особенности развития противовирусного иммунного ответа связаны с биологией вирусов. Для вирусной инфекции характерны следующие особенности:

- возможна трансформация вирулентного вируса в онкогенный (мутабельность ДНК);
- как правило, имеется большое количество серовариантов вируса;
- вирус способен встраивать в свою мембрану антигены клеток хозяина (своеобразная маскировка);
- вирус распространяется в организме различными способами: гематогенным, лимфогенным, из одной клетки в другую (*per contactum*), образовывать синцитий (слой слившихся клеток - симпласт);
- возможно распространение вируса по вертикали;
- вирусы высоко устойчивы к действию антител (белки комплемента лизируют мембрану вируса);
- вирусы кодируют гликопротеины, взаимодействующие с антителами через Fc-фрагмент, т. е. обладают Fc $\gamma$ R-активностью, которая нарушает активацию комплемента и блокирует действие противовирусных антител;
- некоторые вирусы продуцируют короткие отрезки РНК, которые конкурируют за протеинкиназу и тем самым подавляют активацию этого фермента и ингибируют эффекты интерферонов;
- ряд вирусов подавляет перенос молекул МНС I класса на плазматическую мембрану клетки, тем самым способствуя уходу от распознавания цитотоксическими Т-лимфоцитами;

- отдельные вирусы обладают генами белков, гомологичными цитокиновым рецепторам или даже самим цитокинам;
- ряд вирусов кодирует белки, которые обладают аналогичными эффектами IL-10;
- очень важны секреторные антитела против поверхностных белков вируса;
- вирус в организме пребывает в разных состояниях: в ядре клеток, на мембране, в цитоплазме, в крови;
- очень велика роль NK-клеток в противовирусном иммунитете, они активируют антитела;
- только для вирусных инфекций характерна значительная роль интерферона, который делает клетки устойчивыми к вирусу (синтезирует в клетке белок, блокирующий вирусную нуклеиновую кислоту);
- очень многие вирусы тропны к клеткам иммунной системы, если вирус размножается, клетка гибнет, если клетка вначале активируется, то осуществляется выброс цитокинов;
- некоторые белки вируса активируют Т-лимфоциты, обладающие супрессивным действием, т. е. подавляют иммунный ответ и на этом фоне вирус размножается;
- пусковым моментом к размножению вируса является активация (деление) клетки, реплицирующийся вирус «обгоняет» делящуюся клетку и вызывает ее гибель;
- вирусы поражают клетки эндокринной и иммунной систем, что, в конце концов, приводит к запуску иммунного ответа на собственные клетки организма, т. е. являются индукторами аутоиммунного процесса.

В развитии вирусных инфекций возможны три варианта иммунного ответа, в зависимости от местонахождения вируса. Первый вариант - «вирус свободен». В этом случае в первую очередь работают неспецифические факторы. Интерферон вызывает образование протективных белков и в клетке вирус не может размножаться. Основными противоинфекционными факторами в этой ситуации являются: «нормальные» антитела, комплемент, NK-клетки, фагоцитоз. Второй вариант - «вирус сидит на мембране клетки». В этом случае основными факторами противоинфекционной защиты будут: NK-клетки, «нормальные» антитела, комплемент, фагоцитоз (моноциты). Если произошел иммунный ответ, то присоединяются Т-киллеры. При третьем варианте - «вирус в клетке» эффективны те же факторы, что и при втором, но к ним присоединяются специфические антитела.

Примеры динамики основных факторов в противовирусном иммунном ответе представлены в табл. 4.2.

Таблица 4.2. Динамика основных иммунных факторов при развитии противовирусного иммунного ответа

Инфекция	Клетки-мишени иммунной системы			
	Т-клетки	В-клетки	макрофаги	комплемент
Хронические вирусные инфекции	Норма	Увеличение уровней всех классов иммуноглобулинов	Снижение хемотаксиса	Увеличение концентрации
Острые вирусные инфекции	Снижена реакция на ФГА	В норме или их количество незначительно снижено	Норма	Норма



Краснуха	Количество Т-лимфоцитов снижено, реакция на ФГА снижена	Снижены уровни иммуноглобулинов. Нет ответа на иммунизацию	Норма	Норма
Корь	Транзитная супрессия на ГЗТ	Количество клеток и уровни иммуноглобулинов в пределах нормы	Норма	Норма
Цитомегаловирусная инфекция	Специфический ответ на CMV	Увеличены уровни IgM и IgA	Вариабельно	Вариабельно
Инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барр	Количество клеток с фенотипом CD4 снижено, снижена реакция на ФГА, увеличено количество клеток с фенотипом CD8	Уровни иммуноглобулинов могут быть увеличены или снижены, количество В-клеток увеличено	Норма	Норма
Лепра	Реакции ГЗТ снижены, количество Т-лимфоцитов снижено	Увеличено количество В-клеток	Вариабельно	Вариабельно

Вирусные инфекции (грипп, парагрипп, папилломавирусные инфекции и др.) приводят к морфологическим изменениям на клеточном и субклеточном уровнях. Так, при электронно-микроскопическом исследовании клеток периферической крови обнаружены изменения форм, конфигураций эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, а также деструктивные изменения органелл лимфоцитов и тромбоцитов. Кроме того, обнаружены вирусные частицы и включения в этих популяциях клеток, а также в альвеолярных макрофагах и эпителиоцитах бронхиального дерева, тонкой и толстой кишки.

Деструктивные изменения органелл при вирусных инфекциях имеют свои особенности: они в основном касаются гранулярного эндоплазматического ретикулума, элементов комплекса Гольджи и парануклеарной области. Все это свидетельствует, что при вирусных инфекциях имеются нарушения метаболического и деструктивного характера клеток.

Роль интерферонов в противовирусном иммунитете. Инфицированные вирусом клетки вызывают синтез  $IFN\alpha/\gamma$ . Под действием интерферонов активируются защитные механизмы соседних клеток, обеспечивая устойчивость к вирусной инфекции. Активация затрагивает гены белков, обладающих противовирусной активностью. Это протеинкиназа, которая фосфорилирует  $\alpha$ -субъединицу и в результате блокирует синтез вирусных белков и олигоденилатсинтетаза активирует латентную в обычных условиях эндонуклеазу, которая способна разрушать вирусные РНК. Кроме того, существуют и другие механизмы. Так, белок Mx (продукт активированного  $\alpha$  или  $\beta$ -интерферонами гена Mx) угнетает первичную транскрипцию генов вируса гриппа, но почти не действует на другие вирусы.  $IFN\gamma$ , кроме ингибирования размножения вируса в клетках, усиливает специфический иммунный ответ, стимулируя повышенную экспрессию молекул МНС класса I и II, также активирует макрофаги и NK-клетки.

Нормальные киллеры лизируют клетки, инфицированные вирусом. Активированные НК-клетки являются главным эффекторным механизмом сопротивления герпесвирусной инфекции. При уменьшении их активности наблюдается повышенная восприимчивость к цитомегаловирусу. Интенсивность поражения клеток-мишеней вирусом находится в обратной зависимости от уровня экспрессии молекул МНС I класса (ряд вирусов подавляют эту экспрессию).

Защитные механизмы с участием Т- и В-клеток. При отсутствии Т-клеток организм хозяина восприимчив к вирусной инфекции. Так, у бестимусных мышей с отсутствием Т-клеток вирус простого герпеса, введенный в кожу, проникает в ЦНС и вызывает гибель животных.

Т-клетки участвуют в формировании противовирусного иммунитета несколькими путями.  $CD4^+$ -лимфоциты способствуют переключению изотипов антител и индукции цитотоксических  $CD8^+$ -клеток, а также привлечению макрофагов в очаг вирусной инфекции и их активации. Макрофаги являются основными продуцентами ключевых цитокинов в ответ на вирусную инфекцию -  $IFN\gamma$  и  $TNF\alpha$ , необходимых для эффективной элиминации вируса из организма. Цитотоксические  $CD8^+$ -клетки являются главной Т-клеточной системой для осуществления противовирусного иммунологического надзора, так как фактически все клетки способны экспрессировать молекулы МНС I класса, с которыми взаимодействует  $CD8^+$ .

Антитела нейтрализуют инфекционность вирусов. Вирус, преодолевая барьеры врожденного иммунитета, способствует появлению и активации цитотоксических Т-лимфоцитов и противовирусных антител. Антитела служат главным препятствием распространения вируса в другие клетки и ткани, особенно в кровоток. В лимфоидных тканях, ассоциированных со слизистыми оболочками, образуются преимущественно антитела изотипа IgA, тем самым препятствуя распространению вируса. Антитела могут быть направлены против любого вирусного антигена, синтезируемого в инфицированной клетке, однако распространению вируса препятствуют только те антитела, которые специфичны к гликопротеинам, экспрессированным на мембране инфицированных клеток. Инъекция моноклональных вируснейтрализующих антител эффективно угнетает репродукцию вируса.

Комплемент способен повреждать оболочку вируса. Некоторые вирусы непосредственно вызывают активацию системы комплемента по классическому или альтернативному пути. Комплементзависимый цитолиз возможен лишь при высокой плотности экспрессии вирусных антигенов на клеточной мембране (примерно  $5 \times 10^6$  молекул на клетку). В противоположность этому, для лизиса по механизму антителозависимой клеточной цитотоксичности необходимо присутствие на поверхности клеток-мишеней лишь  $10^3$  молекул IgG, такое количество обеспечивает связь с ней НК-клеток. Эти клетки связываются с нагруженной антителами мишенью через  $Fc\gamma RIII$  (CD16) и быстро разрушают ее посредством белков-перфоринов.

#### 4.3. ИММУНИТЕТ К ПАРАЗИТАМ

Паразиты, как правило, специфичны в отношении хозяина и в большинстве случаев вызывают хроническую инвазию. Многие паразиты распространяются беспозвоночными переносчиками и имеют сложный жизненный цикл, причем на разных стадиях развития синтезируют различные антигены.

Устойчивость организма-хозяина обеспечивается эффекторными клетками - макрофагами, нейтрофилами, эозинофилами и тромбоцитами. Они секретируют высокоактивные метаболиты кислорода и оксид азота, функционируют более эффективно при активации их цитокинами.

Важную роль в распознавании антигенов паразитов играют рецепторы TLR. Так, обогащенные маннозой лиганды простейших и гельминтов взаимодействуют с маннансвязывающими лектинами (MBL), относящимися к семейству коллектинов. Фосфолипиды и фосфосахара паразитов взаимодействуют с С-реактивным белком, являющимся одним из основных пентраксинов. Лиганды трипаносом, шистосом взаимодействуют с маннозными рецепторами на макрофагах. Мембранный белок 1 (PfEMP1) *P. Falciparum* взаимодействует с CD36, являющимся рецепторами «мусорщиками». Липофосфогликан (LPG) лейшманий взаимодействует с CR1/CR3 комплемента.

Основная роль в развитии адаптивного противопаразитарного иммунитета принадлежит Т-клеткам. Субпопуляция Th1 усиливает элиминацию внутриклеточных простейших. Th1 и Th2-реакции важны для защиты от гельминтов. Th2 - клеткиннеобходимы для изгнания гельминтов. Паразиты индуцируют образование неспецифических и специфических антител. Антитела обычно эффективны по отношению к тем формам паразитов, которые обитают в крови. При гельминтозной инвазии значительно усиливается синтез IgE, что приводит к притоку иммуноглобулинов и эозинофилов к месту инфекции. Шистосомы, нагруженные IgG или IgE, уничтожаются прилипающими к ним эозинофилами, которые выделяют токсичные катионные белки и пероксидазу.

Тканевые паразиты родов *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Toxoplasma* находят убежище от антител внутри макрофагов. Они используют ту же стратегию для выживания, что и внутриклеточно паразитирующие бактерии. Их, как и эти бактерии, макрофаги могут уничтожать, если будут активированы лимфокинами, которые продуцируют Т-клетки.

Для изгнания гельминтов из кишечника требуется совместное действие как антител, так и стимулированных лимфокинами бокаловидных клеток, выделяющих муцин.

Гуморальный иммунитет как таковой необходим для уничтожения внеклеточных паразитов, например, локализующихся в крови, жидкостях организма или кишечнике. При одной и той же инвазии в борьбе с паразитом на разных стадиях его жизненного цикла участвуют различные эффекторные механизмы (рис. 4.6).

Первую линию защиты формируют макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы и тромбоциты. Макрофаги способны уничтожать внеклеточных паразитов. Активация макрофагов характерна для ранних стадий инвазии. Нейтрофилы способны уничтожать крупных и мелких паразитов. Активность эозинофилов обычно ассоциирована с гельминтозами, они действуют совместно с тучными клетками.

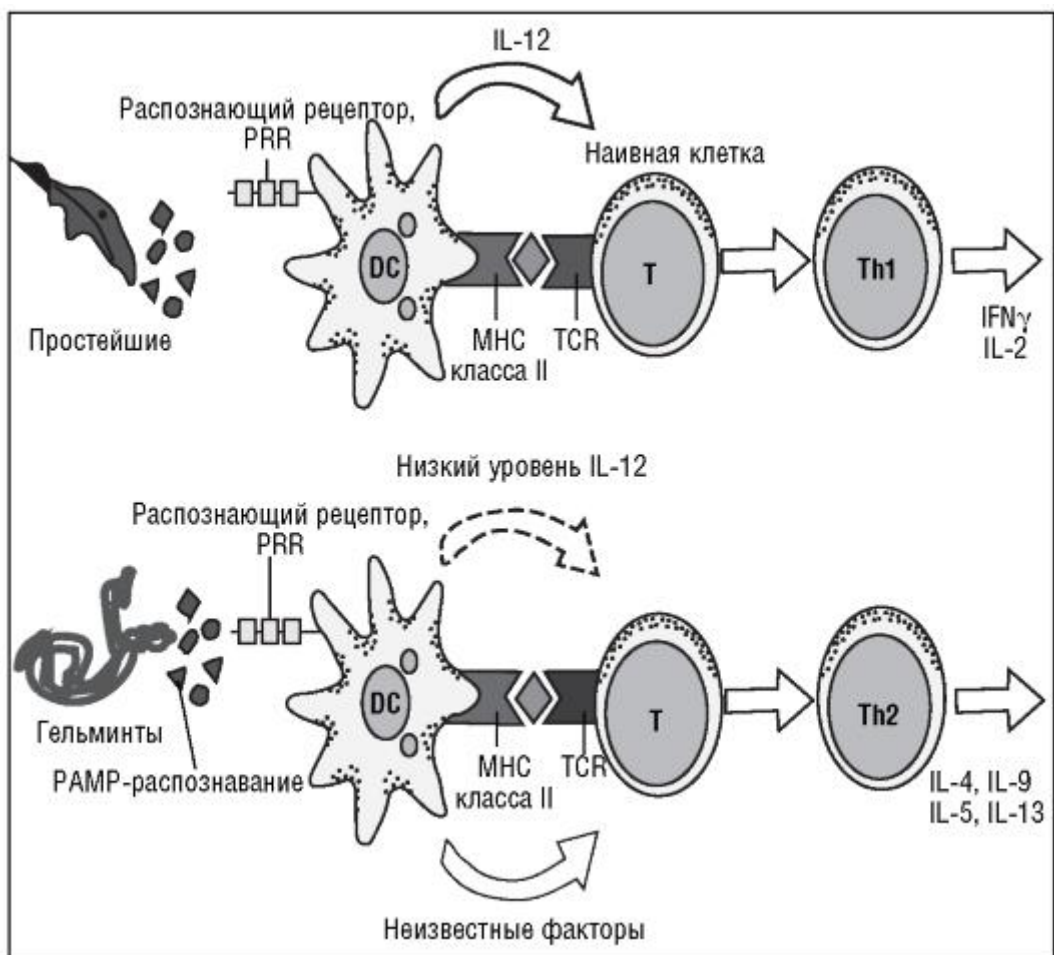


Рис. 4.6. Особенности развития адаптивного иммунитета при паразитарных инвазиях (простейшие и гельминты) (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Тромбоциты способны уничтожать различных паразитов (трематоды, токсоплазмы). Большинство паразитов вызывают неспецифическую супрессию иммунной системы хозяина. Хроническая персистенция антигенов паразита на фоне иммунного ответа может вызвать повреждение тканей в результате иммунопатологических реакций, таких как нефротический синдром, обусловленный иммунными комплексами, гранулематоз печени и аутоиммунные болезни сердца. Вызываемое паразитами иммуносупрессивное состояние повышает чувствительность организма к бактериальным и вирусным инфекциям.

Основные механизмы развития противопаразитарного иммунного ответа можно свести к следующим положениям.

Как правило, паразитические инвазии вызывают активацию ряда иммунологических защитных механизмов, причем эффективность их зависит от природы паразита и стадии инвазии. Паразитические простейшие способны обитать в кишечнике (амебы), в крови (африканские трипаносомы), внутри эритроцитов (плазмодии), в макрофагах (лейшмании и токсоплазмы) или в мышцах (трипаносомы). При таком разнообразии распространения возможны и самые разнообразные патологические реакции и особенности иммунного ответа.

Большинство паразитов вызывают неспецифическую супрессию иммунной системы хозяина. Хроническая персистенция антигенов паразита на фоне иммунного ответа может вызвать повреждение тканей в результате иммунопатологических реакций, таких как нефротический синдром, обусловленный иммунными комплексами, гранулематоз печени и аутоиммунные болезни сердца. Вызываемое паразитами иммуносупрессивное состояние повышает чувствительность организма к бактериальным и вирусным инфекциям.

#### 4.4. ИММУНИТЕТ К ГРИБАМ

Особенности грибов как инфекционных аллергизирующих факторов.

Биоразнообразие грибов приобрело особое значение в связи с огромным числом их в природе, а также в связи с особой важностью этих организмов в функционирующих экосистемах и их воздействие на компоненты иммунной системы. Одни виды стали нормальными обитателями тела человека, другие - при определенных обстоятельствах - вызывают соответствующие заболевания - микозы, и, наконец, третьи способны сенсibilизировать макроорганизм и индуцировать аллергические состояния - микоаллергозы.

В ряду учитываемых особенностей грибов, которые способствуют сенсibilизации макроорганизма, обращают на себя внимание размеры их спор и их способность переноситься на далекие расстояния от места зарождения, длительность переживания во внешней среде при неблагоприятных условиях. Величина спор колеблется от 1-2 мкм до 20-40 мкм в зависимости от вида гриба и морфологии клеток размножения. Соответственно скорость оседания спор (конидий) из воздуха достигает 50 мкм/с и более.

На замусоренных городских дворах и свалках плесневые грибы способны «процветать» в огромных количествах. Так, одна головка *Aspergillus fumigatus* дает около 65 тыс конидий, из одной конидии за 24 ч может произойти 1000 головок аспергилла, дающего  $65 \times 10^6$  спор.

В некоторых производствах, где культивируют микромицеты - продуценты биологически активных веществ, при содержании в 1 м<sup>3</sup> воздуха производственных помещений до 15 млн грибных спор работающие там люди вдыхают за 6 ч 170-200 млн спор.

Грибы отличаются рядом особенностей от других групп патогенных микроорганизмов, которые оказывают значительное влияние на последующее развитие иммунного ответа.

*Первой* особенностью их является то, что они относятся к эукариотическим организмам и, следовательно, грибы структурно более высоко организованы по сравнению, например, с бактериями или вирусами. Многие из них имеют специализированные органы репродукции в случаях полового и/или бесполого размножения.

*Вторая* особенность заключается в том, что грибам присуще двухфазное развитие. Первая фаза, называемая трофофазой (греч. *trophe* - питание, пища), характеризуется относительно высокой скоростью роста организма и низкой продукцией вторичных метаболитов; вторая фаза, называемая идиофазой (греч. *idios* - свой, собственный, специфичный), характеризуется низкой скоростью роста и высокой продукцией вторичных метаболитов. Следовательно, даже по качеству и количеству химических веществ, накапливающихся в клетках и в окружающей среде, грибы существенно различаются в разные периоды своего развития.

*Третья* особенность грибов заключается в том, что скорость размножения их в большинстве случаев меньше скорости размножения бактерий, поэтому во многих случаях грибковые инфекции по течению приобретают хронический характер.

*Четвертой* особенностью грибов является их предпочтительный рост на слабокислых средах (рН 6,0-6,5), хотя жизнеспособность может сохраняться в широких диапазонах рН (3,0-10,0).

*Пятой* особенностью грибов является отсутствие среди них облигатных паразитов. Следствием чего является слабый иммунный ответ.

*Шестой* особенностью грибов является мицелиально-дрожжевой диморфизм, присущий ряду видов (*Candida*, *Histoplasma*, *Coccidioides* и др.), сопровождающийся изменением вирулентности.

*Факторы вирулентности грибов.* Вирулентность (как мера патогенности) грибов обусловлена различными химическими ингредиентами, входящими в состав клеток или выделяющимися в окружающую среду: ферменты, экзо- и эндотоксины, гликопротеины, липиды и др.

Как и многим патогенным бактериям, возбудителям микозов присущи свойства адгезии к эпителиальным клеткам, колонизации их, пенетрации через эпителий, инвазии в подлежащие ткани, а также способность противостоять факторам неспецифической и специфической защиты организма (агрессивность).

Адгезины патогенных грибов представлены преимущественно гликоконъюгатами (например, у *Candida spp.*), хотя у многих из них адгезины остаются мало изученными.

Колонизация эпителиальных тканей во многом зависит также от присутствия бактерий, нередко проявляющих антагонистические свойства в отношении грибов. Вот почему отдельные микозы могут возникать на фоне проведения интенсивной противобактериальной химиотерапии, являясь суперинфекциями или вторичными инфекциями.

Возможность пенетрации через эпителий и последующая инвазия подлежащих тканей зависят, как правило, от наличия и активности в клетках грибов гидролитических ферментов, разобщающих (гиалуронидаза) или/и разрушающих (карбогидразы, протеазы) клетки покровных тканей. Некоторые гены, контролируемые детерминанты патогенности (например, у *Candida albicans*), частично изучены, и число их продолжает возрастать. Так, закодировано 10 различных секретируемых аспартил-протеиназ (SAP1-SAP10).

Грибы, в отличие от бактерий, содержат в клеточных стенках значительно больше углеводных компонентов, но меньше - белков и липидов, поэтому антигенные свойства грибных клеток менее выражены, чем бактериальных, и, как следствие, «напряженность» специфического иммунитета при грибковых инфекциях заметно меньше. Титры IgG антител в сыворотке крови больных невысокие, но, как правило, накапливаются IgE-антитела (реагины) и формируется устойчивая гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ). Гликопротеины и протеоглики клеток патогенных грибов выраженнее сенсибилизируют организм, причем ответственной за ГЗТ является белковая часть гликоконъюгата (углеводная часть ответственна за гиперчувствительность немедленного типа).

Токсические свойства грибов обуславливаются экзо- и эндотоксинами (табл. 4.3).

Данные особенности природы грибов оказывают значимое влияние на развитие специфического иммунного ответа при микозах. Большинство грибных токсинов, или микотоксинов, относят к вторичным метаболитам, биосинтез которых происходит с участием ферментов - первичных метаболитов. Специфические антитела к антигенам грибов, как правило, выявляются в низких титрах.

Таблица 4.3. Токсины грибов и их действие на макроорганизм

Микромицет - продуцент микотоксина	Микотоксин	Основные эффекты действия токсина на макроорганизм
<i>Aspergillus candidum</i>	Патулин	Гепато-, нейро-, нефротоксичность, канцерогенность, отек легких, антидиуретический
	Треморген	Нейротоксичность, индукция сарком в подкожных тканях
	Цитринин	Гипотензия, нейротоксичность,

		канцерогенность
<i>A. clavatus</i>	Треморген	Нейротоксичность, индукция сарком в подкожных тканях
	Цитохалазины	Повреждения нервно-мышечных тканей, торможение фагоцитоза и пиноцитоза, энуклеация клеток
<i>A. flavus</i>	Афлатоксины	Мутагенность, канцерогенность, тератогенность, гепатотоксичность
<i>A. fumigatus</i>	Глиотоксин	Нефротоксичность
<i>A. giganteus</i>	Глиотоксин	Нефротоксичность
<i>A. niveus</i>	Патулин	Гепато-, нейро-, нефротоксичность, канцерогенность, отек легких, антидиуретический
	Цитринин	Гипотензия, нейротоксичность, канцерогенность
<i>A. ochraceus</i>	Охратоксины	Нейро- и нефротоксичность, жировая инфильтрация печени
<i>A. terreus</i>	Патулин	Гепато-, нейро-, нефротоксичность, канцерогенность, отек легких, антидиуретический
	Цитринин	Гипотензия, нейротоксичность, канцерогенность
<i>A. versicolor</i>	Стеригматоцистин	Гепато- и нефротоксичность, канцерогенность
<i>Fusarium graminearum</i>	Дезоксиниваленол (вомитоксин, ДОН)	Раздражение конъюнктивы, кожи, цитотоксичность, иммуносупрессивность, нейротоксичность

Окончание табл. 4.3

Микромицет - продуцент микотоксина	Микотоксин	Основные эффекты действия токсина на макроорганизм
<i>F. nivale</i>	Ниваленол	Дегенерация и некроз слизистой оболочки тонкой кишки (особенно двенадцатиперстной и тощей кишки), дегенеративные и деструктивные изменения лимфатических узлов, селезенки и тимуса, повреждения гемопоэтических клеток и тканей в костном мозге; гепато-, нейро- и нефротоксичность, канцерогенность и др.

<i>F. sporotrichoides</i> ( <i>F. Tricinctum</i> )	Фузариогенин	Сужение кровеносных сосудов, питающих хрящи и метафизы
<i>Penicillium citreoviridae</i>	Цитреовиридин	Параличи с возможным летальным исходом за счет нарушения функции дыхательного центра
<i>P. citrinum</i>	Цитринин	Гипотензия, нейротоксичность, канцерогенность
<i>P. lividum</i>	Цитринин	Гипотензия, нейротоксичность, канцерогенность
<i>P. expansum</i>	Патулин	Гепато-, нейро-, нефротоксичность, канцерогенность, отек легких, антидиуретический
<i>P. patulum</i>	Патулин	Гепато-, нейро-, нефротоксичность, канцерогенность, отек легких, антидиуретический

Основной иммунологической защитой при микозах являются клеточные факторы. Часто, особенно при длительной антибактериальной терапии развиваются микозы, вызванные оппортунистическими грибами. Именно они сопровождаются развитием реакций гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Антигенность и аллергенность грибов. Термин «антигенность» отражает степень генетической чужеродности молекулы или веществ, вводимого(-ых) или проникающего(-их) в макроорганизм. Другой термин «иммуногенность» отражает силу иммунного ответа макроорганизма на введенный антиген. Клетки грибов, в том числе их споры, являются слабыми антигенами. Следовательно, их чужеродность для здоровых людей или экспериментальных животных менее выражена, чем, например, у грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. Это обусловлено различием химических составов и строения, прежде всего, клеточных стенок тех или иных представителей грибов и бактерий. Среди микромицетов нитчатые формы менее антигенны, чем дрожжевые.

Окончание табл. 4.3

Микромицет - продуцент микотоксина	Микотоксин	Основные эффекты действия токсина на макроорганизм
<i>F. nivale</i>	Ниваленол	Дегенерация и некроз слизистой оболочки тонкой кишки (особенно двенадцатиперстной и тощей кишки), дегенеративные и деструктивные изменения лимфатических узлов, селезенки и тимуса, повреждения гемопоэтических клеток и тканей в костном мозге; гепато-, нейро- и нефротоксичность, канцерогенность и др.
<i>F. sporotrichoides</i> ( <i>F. Tricinctum</i> )	Фузариогенин	Сужение кровеносных сосудов, питающих хрящи и метафизы
<i>Penicillium citreoviridae</i>	Цитреовиридин	Параличи с возможным летальным исходом за счет нарушения функции дыхательного центра
<i>P. citrinum</i>	Цитринин	Гипотензия, нейротоксичность, канцерогенность
<i>P. lividum</i>	Цитринин	Гипотензия, нейротоксичность, канцерогенность
<i>P. expansum</i>	Патулин	Гепато-, нейро-, нефротоксичность, канцерогенность,



		отек легких, антидиуретический
<i>P. patulum</i>	Патулин	Гепато-, нейро-, нефротоксичность, канцерогенность, отек легких, антидиуретический

Основной иммунологической защитой при микозах являются клеточные факторы. Часто, особенно при длительной антибактериальной терапии развиваются микозы, вызванные оппортунистическими грибами. Именно они сопровождаются развитием реакций гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Антигенность и аллергенность грибов. Термин «антигенность» отражает степень генетической чужеродности молекулы или веществ, вводимого(-ых) или проникающего(-их) в макроорганизм. Другой термин «иммуногенность» отражает силу иммунного ответа макроорганизма на введенный антиген. Клетки грибов, в том числе их споры, являются слабыми антигенами. Следовательно, их чужеродность для здоровых людей или экспериментальных животных менее выражена, чем, например, у грамтрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. Это обусловлено различием химических составов и строения, прежде всего, клеточных стенок тех или иных представителей грибов и бактерий. Среди микромицетов нитчатые формы менее антигенны, чем дрожжевые.

Роль грибов-микромицетов, способных вызвать заболевания человека в зависимости от степени адаптации к макроорганизму, представлена в табл. 4.4.

Таблица 4.4. Экологические группы микромицетов, способные вызвать заболевания у людей

Экологические группы микромицетов	Состояние макроорганизма	Пример
<i>Без адаптации микромицета к макроорганизму-хозяину</i>		
Сапроб (экониша - вне организма человека)	Макроорганизм здоров: сильно выражена неспецифическая защита	<i>Aspergillus fumigatus</i>
Комменсал (экониша - на организме человека)	Нет конфронтации с иммунной системой	<i>Malassezia furfur</i>
Эндосапроб (экониша - внутри организма человека)	Макроорганизм здоров: небольшая конфронтация с иммунной системой	<i>Candida albicans</i>
<i>Различная степень адаптации микромицета к макроорганизму-хозяину</i>		
Факультативный патоген (возможна передача по схеме: человек - окружающая среда)	Макроорганизм здоров: грибок умеренно вирулентен	<i>Histoplasma capsulatum</i>
Облигатный патоген (возможна передача по схеме: млекопитающее - млекопитающее)	Макроорганизм здоров: грибок высоковирулентен	<i>Trichophyton verrucosum</i>
Адаптированный патоген (возможна передача)	Макроорганизм здоров: грибок низковирулентен	<i>Trichophyton rubrum</i>

В настоящее время многочисленными исследованиями доказано значение микогенной сенсибилизации в патогенезе аллергического ринита, бронхиальной астмы, аллергических бронхолегочных микозов, экзогенного аллергического альвеолита, атопического дерматита. Эпидемиологическими исследованиями показано, что уровень микогенной сенсибилизации

весьма значителен и колеблется в зависимости от генетических особенностей обследованных групп населения и климатогеографических особенностей их мест обитания - от 5 (юг Европы) до 40% (США) для больных бронхиальной астмой. А в условиях пустыни (Кувейт) среди обследованных астматиков был достигнут показатель в 46%.

Качество и уровень иммунного ответа варьируют в зависимости от количества грибов *in vivo*, их качественных характеристик (вегетативные клетки, споры), фазового состояния (дрожжевая или мицелиальная форма) и характера инвазии. Поверхностные очаговые заболевания, как правило, не сопровождаются развитием выраженного воспаления и иммунного ответа, тогда как при глубоких микозах всегда отмечается клеточный или/и гуморальный ответ.

В настоящее время признано, что при грибковых заболеваниях основные защитные механизмы связаны с клеточными факторами и меньше - с гуморальными.

В составе антигенов различных патогенных (равно как и многих непатогенных) грибов имеются сходные детерминанты, снижающие специфичность аллергических проб, которые используются для диагностики грибковых заболеваний. У лиц, страдавших ранее, например, от гистоплазмоза и кокцидиомикоза, аллергические тесты могут оставаться положительными в течение ряда лет после выздоровления. Подобные результаты могут быть получены и при некоторых дерматомикозах, например при трихофитии. На основании многолетних исследований аллергии при грибковых заболеваниях ученые пришли к выводу, что в большинстве случаев кожные пробы имеют скорее эпидемиологическое значение, нежели диагностическое. Более того, например, грибы рода *Candida* настолько часто выявляются у здоровых индивидуумов, что сенсibilизацию к ним рекомендуют использовать в качестве показателя иммунной полноценности макроорганизма. Так, реакции ГЗТ позитивны у 14-15% здоровых лиц в возрасте 11-20 лет и 83-95% в возрасте 50 лет и старше. Титры антител (IgG, IgM) при микозах, как правило, невысокие. В сыворотке крови здоровых индивидуумов можно обнаружить нормальные антитела против некоторых грибов. Например, до 6-8% образцов донорской крови для переливания могут содержать кандидозные антитела (агглютинины) в титрах 1 : 10.

Отмечены и особенности их межклеточной кооперации в ответ на аллергены *C. albicans*. Так, в стимуляции *C. albicans* участвуют только молекулы CD54 и CD86, без CD80. Это обстоятельство может быть одной из причин относительно невысокого уровня синтеза IgE-антител к аллергену *Candida* при микогенной сенсibilизации, поскольку CD80 является молекулой-ко-стимулятором, усиливающей синтез антител.

Сенсibilизация к *C. albicans* обычно сопровождается повышением титров IgE-антител одновременно к аллергенам других грибов, что может быть связано с наличием у них общих антигенных детерминант. *Candida* spp., помимо общих внутриродовых антигенов, имеют общие эпитопы с *Saccharomyces cerevisiae*, *M. furfur*, *Trichosporon* spp., *Geotrichum* spp., *Brettanomyces* spp.

Поскольку при микозах основную роль иммунной защиты «берет на себя» клеточный компонент иммунной системы, то особое значение из числа иммуноглобулинов приобретает субизотип IgG1, усиливающий клеточный иммунитет (IgG2, напротив, выступает «блокатором» развития защитных иммунологических реакций).

На развитие микогенной сенсibilизации и аллергии оказывают влияние многие факторы: наследственная предрасположенность к аллергическим заболеваниям, доза аллергена и длительность контакта с ним, путь поступления аллергена в организм и др.

Наследственность является одним из основных факторов, способствующих развитию микогенной сенсibilизации и аллергии. У больных аллергиями такими иммуногенетическими маркерами являются HLA-антигены DR7, Cw4 и D8. У рабочих,

занятых в производстве гидролизных кормовых дрожжей, имеет место тесная связь возникновения профессиональных алергодерматозов с антигеном HLA-B16.

#### 4.5. ХРОНИЗАЦИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

Длительно вялотекущий острый воспалительный процесс с удлинением процессом реконвалесценции имеет тенденцию к переходу в хронический. Незавершенность антибактериальной терапии на конечном этапе воспаления, длительное наличие аутоинтоксикации, проявляющееся усилением дегенеративных и апоптотических изменений в нейтрофилах при воспалительном процессе, особенно на его заключительных этапах, способствуют хронизации воспалительного процесса.

На современном этапе многие патогены, особенно условно-патогенные, обеспечивают свое выживание в макроорганизме активным подавлением иммунного ответа. Так, вирусы семейства *Herpesviridis* содержат гены, влияющие на развитие иммунного ответа. Они снижают выработку в достаточном количестве провоспалительных цитокинов, необходимых для развития достаточного по интенсивности иммунного ответа. Они же способны экспрессировать ложные рецепторы и таким образом способны вмешиваться в функции системы комплемента и антител, подавляют экспрессию МНС I класса на инфицированных клетках и ослабляют их способность презентировать белки вирусного происхождения. Имеются гены, снижающие воспалительную реакцию. Капсулярные полисахариды белков и грибов снижают местную воспалительную реакцию. Многие вирусы (вирусы иммунодефицита) инфицируя, изменяют функциональную активность CD4-лимфоцитов, моноцитов и способствуют в итоге хронизации воспалительного процесса.

Бактерии, в частности *Neisseria meningitides*, *N. gonorrhoeae*, вырабатывают протеазы IgA, разрушающие IgA на поверхности слизистых оболочек. Стрептококки группы А вырабатывают многочисленные гемолизины и тем самым способствуют диссеминации микроорганизмов. Кроме того, многие стрептококки вырабатывают пептидазу, расщепляющую субкомпонент C5a комплемента.

*S. aureus* *S. aureus* экспрессируют белки А и G, которые могут взаимодействовать с Fc-фрагментами иммуноглобулинов, и снижают эффективность гуморального иммунитета. Это лишь незначительная часть способности микроорганизмов уходить от иммунного ответа и способствовать хронизации.

На сегодняшний день фактически только иммунограмма, а точнее - введенные в лейкограмму новые показатели субпопуляций лимфоцитов и физиологической активности клеток могут помочь клиницисту в большинстве случаев с достаточной надежностью определить наличие у пациента хронического процесса в фазе ремиссии.

Существенным критерием наличия хронического воспалительного процесса является наличие в иммунограмме пациента гетерогенных и нестабильных для данного индивида субнормальных значений (как сниженных, так и повышенных), которые могут принимать практически все показатели. Так, в иммунограмме может быть высокий уровень Т-цитотоксических лимфоцитов, почти равный количеству Т-хелперов, что у здоровых людей встречается крайне редко. При исчезновении сдвига одного показателя может появиться резкое снижение или повышение до субнормальных уровней значений другого показателя иммунограммы. Одновременный сдвиг нескольких показателей иммунограммы встречается значительно реже. Таким образом, в условиях клинической ремиссии хронического воспалительного процесса иммунограммы пациента в динамике их анализа характеризуются высокой лабильностью показателей, которые часто выходят за пределы значений, встречающихся у здоровых людей, причем в разные периоды времени отклоняются от обычных значений нормы разные показатели. Наличие у пациента таких гетерогенных

сдвигов, по-видимому, может существенно повысить уверенность в существовании у него текущего хронического процесса.

Обострение хронического процесса протекает обычно менее бурно, нежели острый процесс, и более часто имеет тенденцию к вялому течению. При обострении хронического процесса чаще и более стойко возрастает СОЭ, нежели при остром процессе. При обострении хронического процесса возрастание уровня В-лимфоцитов отмечается на более ранних этапах и достигает гораздо более высоких значений, чем при остром процессе.

Анергия истощения. Под этим термином понимается атипичность функционирования иммунной системы в условиях угнетения и истощения ее резервов при тяжелых воспалительных процессах.

Несоответствие сдвигов значений показателей иммунограммы клинической картине течения заболевания свидетельствует о тяжелом, неблагоприятном развитии процесса. Но особенно грозным признаком является, когда клиническое утяжеление воспалительного процесса сочетается с восстановлением до уровней здорового человека тех или иных показателей иммунограммы, значения которых до этого соответствовали картине активного воспаления. Обычно подобные признаки сочетаются с той или иной степенью выраженности дегенеративных изменений в нейтрофилах крови, указывающих на наличие иммуносупрессии в организме. Фактически подобные изменения являются первыми симптомами начала анергии истощения, когда иммунная система перестает активно реагировать на патоген, хотя в организме он присутствует в больших количествах.

Если экстренные лечебные меры по предотвращению развития анергии при этом не приняты, достаточно быстро можно наблюдать дальнейшее утяжеление клинического статуса пациента и его гибель. Это происходит на фоне «нормализации» большинства показателей иммунограммы, в том числе снижения содержания лейкоцитов до значений, характерных для здорового человека. Максимально увеличиваются признаки апоптотических дегенеративных изменений как в нейтрофилах, так и в лимфоцитах, что указывает на развитие выраженной иммуносупрессии. Количество взаимосвязей между иммунологическими показателями резко уменьшается.

#### 4.6. ФАГОЦИТОЗ

Важнейшим механизмом, обеспечивающим динамическое равновесие иммунного гомеостаза, служит фагоцитоз. Фагоцитоз - многостадийный процесс, состоящий из следующих этапов: активация, адгезия, хемотаксис, опсонизация, поглощение объекта фагоцитоза, киллинг и переваривание микроорганизма.

Нейтрофил является основной клеткой, осуществляющей фагоцитоз. Он способен активно перемещаться в пространстве, причем гораздо быстрее других лейкоцитов. Нейтрофил более чувствителен к действию разнообразных модуляторов миграционной функции. Структурной основой миграционной функции служат сократительные белки, они собраны в микрофиламенты, которые располагаются по клеточной периферии.

Хемотаксис отражает способность клетки активно перемещаться в направлении стимулирующих агентов, которые называются хемоаттрактантами (факторы хемотаксиса). Хемотаксические факторы, равномерно распределенные в среде, усиливают амебоидное движение и скорость перемещения клеток по поверхности. В отличие от спонтанной миграции, хемотаксис состоит из трех основных компонентов: выбор вектора движения, стабилизация вектора движения, собственно движение. Выбор и стабилизация вектора движения - результат перераспределения внутриклеточных органелл. Рецепция хемоаттрактантов плазматической мембраной индуцирует сложную, многоэтапную реакцию, результатом которой является усиление цитотоксичности, адгезии и секреции нейтрофилов.

Сложность механизмов, обеспечивающих хемотаксис, делает его одной из самых уязвимых форм реактивности нейтрофила.

Некоторые бактерии выработали механизмы противодействия хемотаксису нейтрофилов. Стрептококки группы А, вызывающие пневмонию, подавляют направленную миграцию нейтрофилов в очаг воспаления, впоследствии было установлено, что этот фактор специфически инактивирует C5a-компонент комплемента. Затем аналогичный фактор был обнаружен и у стрептококков группы В и назван C5a-пептидазой.

Фазы адгезии. Быстрый выход нейтрофилов из сосудистого русла по направлению к очагу воспаления или инфицированным тканям является ключевым этапом в системе защиты организма от внедрения микроорганизмов. В обычной ситуации циркулирующие нейтрофилы вступают лишь в мимолетные контакты с эндотелиальными клетками посткапиллярных венул (*фаза скольжения*). Молекулы адгезии (адгезины) нейтрофилов представлены  $\beta_2$ -интегринами (LFA-1, Mac-1, p150, 95) и L-селектином. Регуляция экспрессии адгезинов как на нейтрофилах, так и на эндотелиальных клетках является решающей для адгезии и миграции нейтрофилов. *Вторая фаза - фаза прочной адгезии*. Процесс адгезии может быть индуцирован некоторыми цитокинами (TNF $\alpha$  и IL-1) по отношению к эндотелиальным клеткам и GM-CSF и формилсодержащими белками бактериального происхождения по отношению к нейтрофилам. Кроме того, процесс адгезии между эндотелиальными клетками и лигандами нейтрофилов может быть усилен путем местного повышения концентрации катионов Mn<sup>2+</sup> и Mg<sup>2+</sup>. В качестве сигналов активации могут выступать: макрофагальный хемоаттрактантный протеин (MCP-1), макрофагальный воспалительный протеин (MIP-1 $\beta$ ), ингибирующий миграцию фактор (MIF), IL-8, тромбоцитарный активирующий фактор (PAF), C5a-фракция комплемента. *Третья стадия адгезии - стадия миграции лейкоцитов через эндотелий*. Эта стадия контролируется теми же интегринными (рис. 4.7).

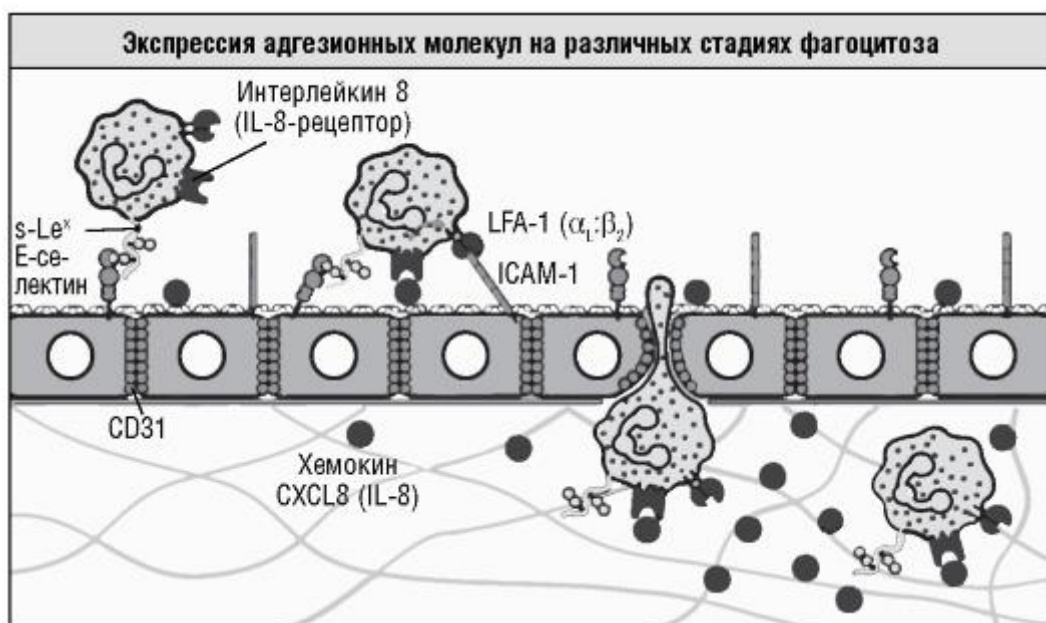


Рис. 4.7. Характеристика фаз адгезии клеток моноцитарно-фагоцитарной системы с экспрессией молекул адгезии, продукцией хемокинов (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

На процессы адгезии могут влиять процессы сращивания селектинов (шеддинг) с клеточной поверхности (в норме естественный процесс), которые могут значительно усиливаться при патологии. Потеря адгезионных молекул с поверхности клеток может быть одной из форм негативной регуляции воспаления. Среди генетически детерминированных иммунодефицитных синдромов описан *дефект адгезии лейкоцитов (LAD)*, при котором страдает адгезия гранулоцитов, моноцитов, лимфоцитов. Такие пациенты страдают

рецидивирующими бактериальными инфекциями, нарушением образования гноя, плохим заживлением ран.

Опсонизация. Опсонины - это сывороточные факторы, превращающие бактерии в материал для фагоцитов. Большинство патогенных бактерий должны подвергнуться опсонизации прежде, чем будут адгезированы фагоцитирующими клетками. Наиболее важными сывороточными опсонинами являются система комплемента (C3b - наиболее сильный опсонизирующий фактор) и иммуноглобулины. Антитела связываются со специфическими антигенами бактериальной клеточной стенки, т. е. молекулы этих антител фактически играют роль лигандов - мостиков, обеспечивающих адсорбцию IgG бактерий к нейтрофилам. Нейтрофилы несут на своей поверхности два рецептора к IgG: FcγRII и FcγRIII. FcγRII в одинаковой степени связывает IgG1 и IgG3, эта связь более крепкая, нежели с IgG2 и IgG4. FcγRIII связывает только агрегированный IgG. Опсонизирующими свойствами обладают и иммуноглобулины класса A, возможно, что опсонизирующими свойствами обладают и другие классы иммуноглобулинов (рис. 4.8).

Кроме комплемента и антител, дополнительным опсонин в сыворотке крови является белок, связывающий ЛПС (lipopolysaccharidebindingprotein - LBP). LBP - острофазовый белок крови, который связывает ЛПС грамотрицательных бактерий. LBP значительно повышает их адсорбцию на поверхности нейтрофилов и макрофагов через CD14.

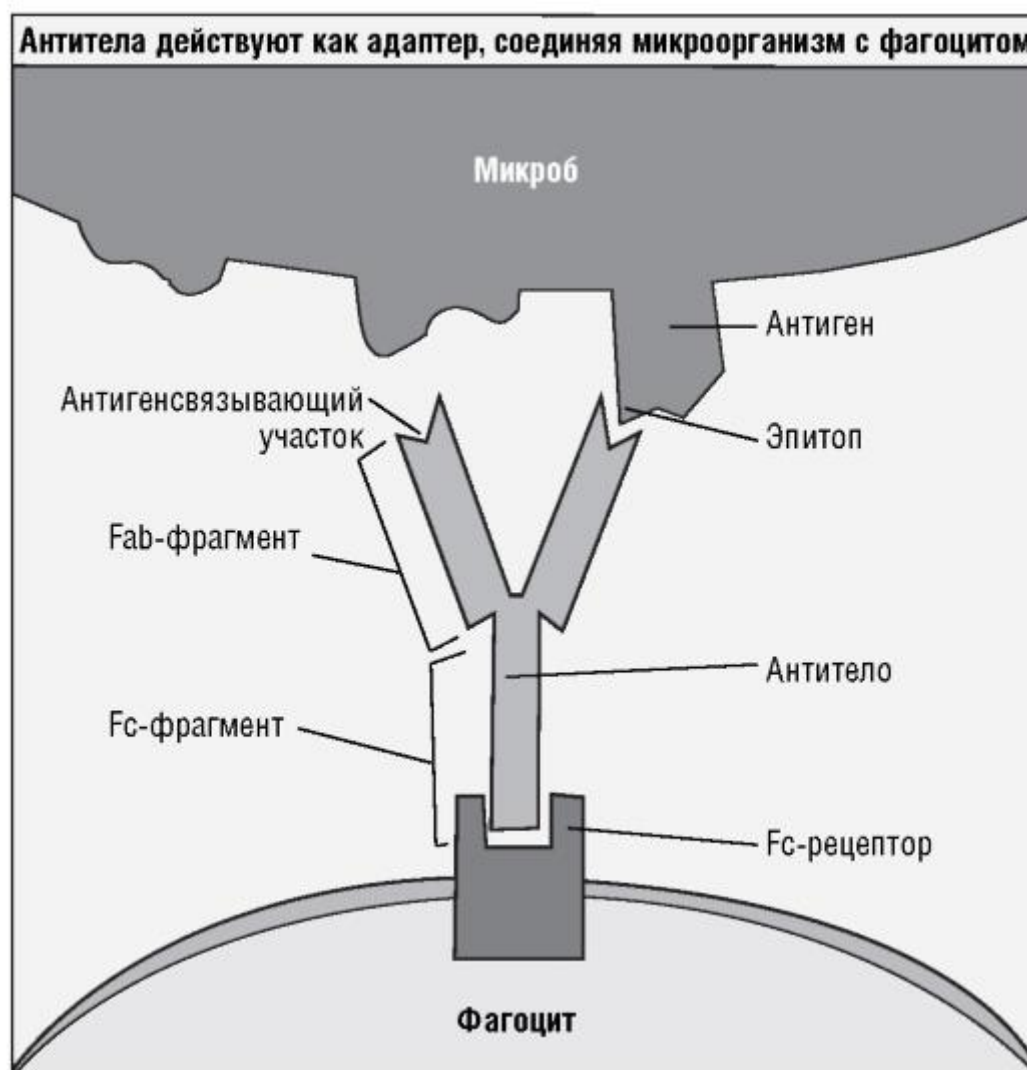


Рис. 4.8. Механизм опсонизации микроорганизмов антителами (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Это связывание приводит к значительному повышению фагоцитоза. Другим опсонизирующим белком сыворотки крови является фибронектин - высокомолекулярный гликопротеин (молекулярная масса 40 кДа), присутствующий в нерастворенном виде в соединительной ткани и на мембране некоторых клеток (моноцитов, нейтрофилов, гепатоцитов, фибробластов, эндотелиальных клеток, тромбоцитов и др.). Некоторые виды бактерий (*S. aureus*, стрептококки групп А, В, С и G) несут рецепторы к фибронектину.

Антибиотики влияют на состав бактериальной клеточной стенки (М-белок стрептококков, А-белок золотистого стафилококка) и таким образом способствуют процессу опсонизации.

С недостаточной опсонизирующей активностью сыворотки крови, врожденным отсутствием ряда компонентов системы комплемента связана увеличивающаяся восприимчивость к бактериальным инфекциям. Недостаточность опсонизации может быть вторичной природы и носит обратимый характер. Многие микроорганизмы выработали механизм защиты от опсонизации и последующего фагоцитоза нейтрофилами. В основном эти механизмы защиты связаны с образованием бактериальной капсулы. Капсула патогенных бактерий препятствует фиксации комплемента, в то время как капсула авирулентных бактерий не обладает такой способностью. Капсула слабо иммуногенна и маскирует структуры бактериальной стенки, которые более иммуногенны и могут непосредственно активировать систему комплемента. Компонентами клеточной стенки бактерий, снижающими эффективность фагоцитоза или препятствующими ему, являются пептидогликаны, белок А (*S. aureus*) и М-белок (стрептококки группы А). Кроме компонентов комплемента и иммуноглобулинов адгезию бактерий к нейтрофилам могут обеспечивать различные адгезины (Р-, М-, Х-, S-, фимбрии типов 1с и G) этих бактерий. MS-адгезины различают маннозосодержащие участки трех различных гликопротеинов: gp150, gp70-80, gp100.

Многие микроорганизмы препятствуют опсонизации, меняя антигенную структуру своих поверхностных образований.

Среди клеток, способных к фагоцитозу (моноциты, макрофаги, натуральные киллеры, эозинофилы), нейтрофил является главной фагоцитирующей клеткой. По современным представлениям, нейтрофилы - это уникальная мультипотентная популяция клеток иммунной системы, относящаяся к врожденному иммунитету и обладающая совершенной фагоцитарной функцией. Мембрана и ядро нейтрофилов играют центральную роль в их функционировании. Богатый репертуар рецепторов дифференцированно реагирует на изменения иммунного гомеостаза. Фенотип поверхностной мембраны нейтрофильных гранулоцитов включает рецепторы адгезии: L-селектин (CD62L), CD11b (CR3), CD18, LFA-1 (CD11a), CR4 (CD11c), VLA-4 (CD49d), ICAM-1 (CD54), ICAM-3 (CD50), PSGL-1 (CD162); рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16), FcαR, FcεR; молекулы главного комплекса гистосовместимости: MHC I, MHC II (HLADR); маркер миелоидной дифференцировки: CD15; ЛПС-распознающий рецептор: CD14; толл-подобные рецепторы: TLR1, 2, 4-10; рецепторы ко-стимуляции: CD80, CD86; проапоптотический рецептор: D95. Активированные нейтрофилы продуцируют и секретируют широкий спектр цитокинов (IL-1β, -3, -4, -6, -8, -12, TNFα, ИФН-γ, TGFβ, G-CSF, GM-CSF, MIP-1α), инициируя и регулируя воспаление и иммунный ответ. Доказано, что нейтрофилы регулируют функционирование Т- и В-лимфоцитов, участвуют в реакциях инфекционного, аллергического и аутоиммунного воспаления. Это связано с антигенпрезентирующими функциями нейтрофилов. Так, активированные нейтрофилы экспрессируют на своей поверхности антигены HLA-II, молекулы адгезии - CD80, CD86, ICAM-1, LFA-1.

Тем самым антигены HLA-II нейтрофилов, кроме локального представления чужеродных антигенов Т-клеткам, влияют на Т-клеточную пролиферацию. Регулирующее

влияние нейтрофилов на функционирование иммунной системы можно свести к следующим основным положениям. Нейтрофилы обеспечивают модуляцию функций Т-лимфоцитов, селекцию субпопуляций Т-лимфоцитов, особенно Th1. Стимулирующий фактор нейтрофилов BlyS, член суперсемейства TNF-лигандов, активирует В-лимфоциты, их созревание и выживание. Хемокины (CCR1, CCR2, CCR3, CCR6), продуцируемые нейтрофилами, обеспечивают движение иммуноцитов к слизистым и к лимфоидным органам. MIP активирует макрофаги. Высвобождаемые из специфических гранул дефензины повышают проницаемость сосудов, эластин - вазоконстрикцию и инотропный или митогенный эффект. Зачастую исход воспалительной реакции зависит от того, нормально или дефектно функционируют нейтрофилы. Дисфункции нейтрофилов проявляются как количественным и/или качественным дефицитом, так и гиперэргическим функционированием или состоянием анергии. Адекватная активация нейтрофилов при остром бактериальном воспалении заканчивается в большинстве случаев благоприятным исходом. Гиперактивация нейтрофилов сопровождается повреждающим действием при аутоиммунных процессах, тяжелой бактериальной инфекции (сепсис, перитонит, стафилококковая деструкция легких, острый гематогенный остеомиелит, острый деструктивный панкреатит и т. д.). Дефектное функционирование нейтрофилов сопровождается отсутствием адекватного ответа на бактериальную инфекцию с последующим развитием затяжного течения, хронических инфекционно-воспалительных процессов, в том числе вялотекущих, рецидивирующих гнойных процессов. Возможны дефекты апоптоза с развитием острого или хронического миелолейкоза. Основная функция нейтрофилов - борьба с микроорганизмами путем их фагоцитоза. Механизмы фагоцитоза (кислородзависимый и кислороднезависимый) обеспечивают компоненты специфических гранул нейтрофилов. У нейтрофилов известны следующие типы гранул.

Азурофильные гранулы (первичные, содержат следующие рецепторы: CD63, CD64, их экспрессию индуцируют TNF $\alpha$ , C5a, IL-8, fMLP), содержащие миелопероксидазу, которая является специфическим маркером первичных гранул, нейтральную сериновую протеазу, катепсин G, эластазу, протеиназу, дефензины, небольшое количество лизоцима. Специфические гранулы (вторичные), содержащиеся в гранулах: CD11b, CD15, CD67, fMLP, fibronectin receptor, laminin receptor, trombospondin receptor, TNF-receptor, vibronectin receptor, их экспрессию индуцируют TNF $\alpha$ , GM-CSF, G-CSF, содержащие лактоферрин, лизоцим, цитохром b558, колагеназу, желатиназу, адгезионные молекулы: CD11b/CD18, fMLP-R. Желатиназные гранулы, содержащие цитохром b558, CD11b/CD18, fMLP-R, лизоцим, ацетилтрансферазу, их экспрессию обеспечивает TNF $\alpha$ . Секреторные гранулы, содержащие CD11b/CD18, fMLP-R, цитохром b558, щелочную фосфатазу, CR1, их экспрессию обеспечивают PAF, C5a, G-CSF, GM-CSF, IL-1, IL-8, TNF $\alpha$ .

Кислородзависимые механизмы фагоцитоза. Активация гексозомонофосфатного шунта, генерирующего НАДФ<sup>\*</sup>Н-оксидазу, начинается сразу после опсонизации и поглощения чужеродного объекта. НАДФ<sup>\*</sup>Ноксидаза находится в фагосоме и преобразует O<sub>2</sub> в супероксид анион (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), который в присутствии супероксиддисмутазы (СОД) преобразуется в перекись водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), одновременно образуются другие токсичные продукты кислорода: гидроксирадикал (ОН<sup>\*</sup>, самый агрессивный и короткоживущий), синглетный кислород (O<sub>2</sub><sup>\*</sup>, электронейтральная частица). Особую роль играет фермент азурофильных гранул - миелопероксидаза, которая разрушает H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в присутствии ионов Br, Cl, I с образованием кислот HOBr, HOCl, HOI, которые оказывают сильное бактерицидное действие (окисляют полимеры бактериальной стенки до альдегидов, что нарушает ее проницаемость), способны взаимодействовать с ДНК, что может вызывать разрывы цепочки.

Могут также полимеризовать углеводные компоненты клеточной стенки, что также увеличивает ее проницаемость.



Миелопероксидаза - главная антимикробная система нейтрофилов. Дефицит миелопероксидазы - тяжелое врожденное заболевание, сопровождающееся инфекционным синдромом, но которое протекает мягче, чем хронический гранулематоз.

Отсутствие или поломка одного из компонентов респираторного взрыва в фагоцитарных клетках приводит к формированию вторичного иммунодефицитного состояния. В качестве суммарной оценки состояния кислородзависимых механизмов фагоцитоза используется тест с нитросиним тетразолием.

Кислороднезависимые механизмы. Цитоплазматические гранулы нейтрофилов содержат дополнительные антимикробные агенты, которые действуют в фаголизосомах без присутствия кислорода. К ним относятся протеазы, фосфолипазы, гликозидазы, лизоцим, другие белки и пептиды, которые, адсорбируясь на мембране клетки, резко повышают ее проницаемость и, если не приводят к гибели, то все равно нарушают процессы жизнедеятельности. Известны три компонента гранул: В/РІ (бактерицидный/повышающий проницаемость белок); СLСР (химотрипсиноподобный катионный белок; катепсин-G) и дефензины.

В/РІ - белок азурофильных гранул. Обладает бактерицидной активностью в отношении грамотрицательных бактерий. Повышает проницаемость их внешней мембраны путем деградации пептидогликанов и фосфолипидов.

СLСР - три катионных белка азурофильных гранул. Приводят к угнетению размножения микроорганизмов путем подавления синтеза белка, РНК, ДНК.

Дефензины - различные катионные белки с антимикробной активностью, содержащиеся в цитоплазматических гранулах. Это маленькие пептиды, богатые цистеином. Эти пептиды проявляют активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов и вирусов. Дефензины нейтрофилов человека убивают только метаболически активные бактерии и индуцируют потерю целостности их внешней и внутренней мембран.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Опишите особенности развития этапов иммунного ответа.
2. Какова роль цитокинов в развитии иммунного ответа?
3. Какова роль белков острой фазы в развитии иммунного ответа?
4. Опишите особенности развития иммунного ответа по Th1-типу.
5. Опишите особенности развития иммунного ответа по Th2-типу.
6. Какова роль факторов иммунной защиты в зависимости от патогенеза возбудителя?
7. Назовите основные особенности противовирусного иммунного ответа.
8. Охарактеризуйте роль IFN в механизмах противовирусной защиты.
9. Какова роль клеточных факторов в защите макроорганизма от паразитарных инвазий?
10. Опишите роль гуморальных факторов в защите макроорганизма от паразитарных инвазий.
11. Каковы основные биологические свойства грибов, позволяющие уйти от иммунного контроля?
12. Назовите основные токсины грибов.
13. Перечислите клеточные и гуморальные факторы, приводящие к хронизации воспалительного процесса.

14. Назовите факторы патогенов, приводящие к хронизации воспалительного процесса.

15. Перечислите основные стадии фагоцитоза.

16. Каково содержимое специфических гранул, обеспечивающих развитие кислородзависимых механизмов фагоцитоза?

17. Каково содержимое специфических гранул, обеспечивающих развитие кислороднезависимых механизмов фагоцитоза?

## **Глава 5. ПОНЯТИЕ НОРМЫ И НЕДОСТАТОЧНОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ**

### **5.1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ИХ ДИНАМИКА У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

Необходимо понимать, что для людей разного возраста характерно физиологическое изменение основных показателей врожденного и адаптивного иммунитета, отражающих как количественные, так и функциональные изменения. Иммунная система может функционировать в двух принципиально разных состояниях: спокойном и при наличии в организме воспалительного процесса. В этих двух состояниях иммунной системы показатели клеточного и гуморального иммунитета существенно различаются. Показатели существенно отличаются и на разных этапах течения воспалительного процесса, поэтому выявленное отличие любого иммунологического показателя независимо от его интенсивности может быть использовано для выявления иммунных дисфункций и патологии иммунной системы.

Проблемы определения нормы вызывали и продолжают вызывать особый интерес у клинических иммунологов. В настоящее время исследователи понимают, что количественные показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета здоровых людей, проживающих в различных географических регионах, могут существенно отличаться. Причиной служит то, что значения этих параметров у конкретных индивидов зависят от генетических (конституционально-соматических, психофизиологических) особенностей человека, его возраста, пола, биологических ритмов, условий жизни и других объективных и субъективных факторов. Наличие стресса, вредные привычки (курение, употребление алкоголя, наркотических веществ), носительство патогенных микроорганизмов, а также загрязненность среды обитания, разнообразных физических и эмоциональных нагрузок, стресса, биологических ритмов, а также на разных физиологических этапах существования организма - таких как возрастные гормональные перестройки, беременность и т. д. могут приводить к существенным изменениям значений иммунологических показателей.

Важную роль играет и индивидуальный диапазон возможного нормального функционирования иммунной системы в зависимости от разнообразных воздействий, поэтому необходимо учитывать индивидуальную норму в различные периоды жизни человека, т. е. в идеале клинический иммунолог должен иметь «иммунологический паспорт» индивидуума.

Работа иммунной системы направлена на уничтожение проникающих в организм микроорганизмов и постоянно образующихся собственных апоптотических клеток. Доза проникшего чужеродного антигена, его патогенность и инвазивность могут быть настолько велики, что обычного, относительно спокойного функционирования иммунной системы для его уничтожения становится недостаточно. В этой ситуации функционирование иммунной системы резко активизируется. Изменения, как количественные, так и качественные, могут

быть значительными. Несмотря на это, работу иммунной системы в период воспалительного процесса следует считать нормальной.

Способность своевременно переключаться на качественно иной режим работы является важнейшим свойством нормально работающей иммунной системы, поэтому нормальным считается достаточно широкий диапазон возможностей функционирования иммунной системы.

По всем известным параметрам, в том числе периферической крови, имеются таблицы средних значений показателей нормы. Однако гораздо большее значение имеют не средние значения, а возможные пределы разбросов показателей здоровых людей. Индивидуальная норма человека всегда конкретна. При этом значения отдельных показателей часто вообще не могут служить критерием нормы, поскольку известны многочисленные случаи резкого отклонения уровней показателей далеко за выявленные пределы нормы.

#### Значения иммунологических показателей у здоровых людей разного возраста

В целом средние групповые значения у лиц различных возрастных групп претерпевают достаточно выраженные изменения. С увеличением возраста происходит постепенное уменьшение абсолютного содержания в крови лейкоцитов, суммарных лимфоцитов и их субпопуляций - Т- и В-клеток и постепенное повышение абсолютного содержания нейтрофилов и IgA. Содержание IgG увеличивается до 1-3 лет, IgM - до 12-14 лет, IgE - до 18 лет, относительное содержание фагоцитирующих нейтрофилов и Т-хелперов - до 8-10 лет. Затем эти показатели изменяются незначительно. А вот СОЭ претерпевает существенные изменения в старости. В целом наиболее сильные изменения иммунологических показателей отмечаются в раннем детском возрасте. В зрелом возрасте количественные изменения показателей иммунной системы минимальны; скорее всего, эти изменения происходят уже на уровне системных взаимоотношений компонентов иммунной системы. Однако при анализе иммунограммы не следует упускать из виду возможность весьма резких отклонений показателей здоровых людей от средних нормативных значений. Необходимо выделить и вероятность того, что у отдельных индивидуумов могут выявляться «нулевые» или «отрицательные» значения, которые не влияют на частоту патологии. Так, могут встречаться индивидуумы с нулевыми количественными значениями сывороточного IgA. Частота встречаемости таких значений в разных возрастных группах может колебаться от 4 до 8%.

#### Изменения иммунологических показателей под действием различных факторов

Значения иммунологических показателей у индивидов изменяются не только в онтогенезе, но и под действием разнообразных факторов, влияние которых как на больной, так и на здоровый организм неизбежно. Важнейшими факторами, обуславливающими колебания иммунологических параметров, являются биологические ритмы и разнообразные нагрузочные факторы.

Жизнедеятельность организма человека тесно связана с биоритмическими колебаниями самых разных диапазонов. Среди биологических ритмов выделяют околосуточные (циркадные) и многодневные ритмы. Из многодневных ритмов различают, в частности, околонедельные ритмы, околόμεсячные ритмы, сезонную и околোগодовую периодичность. Отклонения показателей у клинически здоровых людей могут кардинально отличаться от средних групповых значений. Колебания этих параметров могут быть 2-3-кратными.

Среди факторов, воздействующих на макроорганизм, выделяют физиологические или естественные для человека и нефизиологические (неестественные, обычно вредные), кратковременные (действующие минуты или часы) и длительно действующие (влияющие месяцы, годы), слабые и сильные. К физиологическим нагрузкам можно отнести приемы пищи, физическую и психоэмоциональную нагрузку, воздействие климатогеографических

условий. К нефизиологическим - сильное переохлаждение или перегревание, курение, воздействие различных факторов, загрязняющих среду обитания человека (химические вещества, пыль, радиация и т. д.). Решающее значение имеют индивидуальная восприимчивость человека к нагрузке, сила и длительность воздействия этих факторов.

Примером этому может служить анализ содержания лейкоцитов в крови здоровых людей. Если несколько десятилетий назад содержание лейкоцитов в периферической крови здоровых жителей промышленных городов редко выходило за пределы  $5-8 \times 10^9/\text{л}$ , то сейчас, с изменением экологической обстановки, колебания данного показателя находятся в пределах  $3,5-9,5 \times 10^9/\text{л}$ . У здоровых жителей обнаружено снижение количества Т-лимфоцитов. Однако это не является дефектом Т-системы иммунитета и не требует иммунокоррекции. Изменились и показатели общего IgE, и если в 1990-х гг. доверительные границы нормы были 0-30 МЕ/мл, то в настоящее время верхняя граница у взрослых - 200 МЕ/мл, у детей до 5 лет - 400 МЕ/мл. Это является следствием того, что в процессе адаптации иммунной системы к соответствующим условиям оказался необходимым сдвиг тех или иных показателей в интересах динамического равновесия иммунной системы и с целью поддержания ее оптимального функционирования.

Значения иммунологических показателей у здоровых людей неодинаковы. Они характеризуются индивидуальностью значений, возрастными изменениями и колебаниями под влиянием биологических ритмов и нагрузочных факторов. Одни показатели подвержены более сильным изменениям, другие менее сильным. Подобной изменчивостью характеризуются и иммунологические параметры больных.

Динамика основных показателей иммунной системы при нормальном развитии воспалительного процесса

Инкубационный период. Сдвиги в иммунограмме на этой стадии минимальны. Почти все показатели остаются без изменений. Единственным показателем в иммунограмме, который достаточно часто выявляется перед окончанием инкубационного периода, является снижение процентного содержания Т-лимфоцитов.

Стадия продромы:

1) уменьшается в крови относительное количество эозинофилов, но в случае аллергии организма снижения числа этих клеток на данном этапе заболевания обычно не обнаруживается;

2) понижается количество базофилов, однако выявить эти изменения возможно лишь при автоматизации исследования;

3) уменьшается относительное количество Т-лимфоцитов; этот признак наиболее заметен и проявляется за 1-1,5 сут до развития клинических симптомов заболевания.

Стадия начала клинической картины заболевания. На этой стадии отмечаются сдвиги многих показателей иммунограммы:

1) увеличивается количество лейкоцитов, которое достигает максимума к концу стадии; выраженность воспалительного процесса коррелирует с интенсивностью увеличения количества лейкоцитов;

2) увеличивается относительное число нейтрофилов за счет повышения абсолютного их количества и снижения количества лимфоцитов и эозинофилов;

3) появляется сдвиг ядерной формулы нейтрофилов влево в результате увеличения количества палочкоядерных и появления юных форм нейтрофилов; в количественном выражении сдвиг обычно коррелирует с тяжестью процесса;

4) отмечается дальнейшее снижение уровня эозинофилов, выявляется максимально часто, но при развитии аллергических реакций он может и не проявляться вообще;

5) продолжается снижение количества Т-лимфоцитов и повышение уровня нулевых клеток; признак выявляется с максимальным постоянством;

6) наблюдается некоторое повышение относительного числа Т-хелперов за счет снижения количества Т-цитотоксических лимфоцитов; выявляется непостоянно, обычно коррелирует с тяжестью процесса;

7) возрастает фагоцитарная активность нейтрофилов; это наблюдается при благоприятном развитии процесса постоянно.

Стадия развернутой клинической картины заболевания. На этой стадии практически все сдвиги иммунограммы, появившиеся ранее, остаются без изменений, однако выявляются новые сдвиги:

1) количество лейкоцитов поддерживается на максимальных значениях предыдущего этапа;

2) повышается количество моноцитов, но повышенное число моноцитов держится обычно недолго и к концу периода нормализуется;

3) в середине или ближе к концу этой стадии появляются более юные формы клеток;

4) в начале или в середине данного периода повышается СОЭ; зачастую этот показатель сразу достигает высоких цифр, которые держатся увеличенными до конца заболевания, а иногда и дольше, до 1-2 мес после окончания процесса;

5) важнейшим критерием благоприятно развивающегося воспалительного процесса является повышение фагоцитарной активности нейтрофилов в течение этого периода. Стадия кризиса заболевания с окончанием клинических проявлений заболевания. Период кризиса и завершения клинической картины заболевания отличается характерными изменениями в иммунограмме:

1) самым ранним признаком кризиса, даже предшествующим ему на 1-2 сут, является нормализация в крови относительного содержания эозинофилов;

2) вслед за нормализацией уровня эозинофилов отмечается рост относительного количества В-лимфоцитов, иногда весьма значительный; повышение числа В-лимфоцитов является благоприятным признаком;

3) следующим важным признаком, обычно наблюдающимся вскоре после повышения числа В-лимфоцитов, является увеличение количества Т-цитотоксических лимфоцитов по отношению к Т-хелперам; однако это обнаруживается далеко не всегда, но это достаточно надежный признак успешного завершения процесса;

4) восстановление пониженного количества Т-лимфоцитов обычно четко совпадает с процессом выздоровления; этот параллелизм отмечается почти во всех случаях воспалительного процесса;

5) наряду с прежними изменениями иммунограммы на этой стадии снижается количество лейкоцитов, нормализуется сдвиг ядерной формулы нейтрофилов;

6) длительно поддерживается повышенная СОЭ, зачастую не снижающаяся и после исчезновения всех признаков заболевания.

Стадия реконвалесценции. После окончания клинических проявлений заболевания воспалительный процесс чаще всего полностью заканчивается, т. е. происходит полное уничтожение чужеродных микроорганизмов и восстановление тканей в очаге воспаления, на что указывает нормализация большинства показателей иммунограммы (за исключением СОЭ, которая восстанавливается постепенно, иногда в течение 30 дней).

Однако это происходит не всегда. Иногда клинические симптомы исчезают, в то время как сам процесс полностью не закончен, что подтверждается рядом показателей иммунограммы. Они во многом аналогичны стадии продромы, но с «обратным знаком».

1. Самым надежным и постоянным критерием незавершенности процесса является сниженное количество Т-лимфоцитов и повышенный уровень нулевых клеток.

2. Весьма информативен повышенный уровень В-лимфоцитов.

3. Высокая СОЭ должна указать на незавершенность процесса. Большинство заболеваний характеризуется не только определенным типом динамики изменения иммунограммы, но и усилением работы того или иного звена иммунной системы, что выражается в преобладающем сдвиге одного из показателей иммунограммы:

1) эозинофилия чаще всего появляется на ранних этапах заболевания; обычно соответствует усилению продукции IgE;

2) моноцитоз характерен для воспалительных процессов с ярко выраженной продуктивной фазой;

3) моноцитопения характерна для процессов с невыраженной продуктивной фазой воспалительной реакции;

4) плазмцитоз при большинстве воспалительных процессов у взрослых встречается крайне редко, у детей - несколько чаще; однако при острых инфекциях в связи с резким раздражением лимфоидной ткани отмечается выброс в кровотоки значительного количества плазматических клеток;

5) резкое увеличение СОЭ; повышение СОЭ - достаточно постоянный сопутствующий показатель практически при всех воспалительных процессах;

6) соотношение CD4/CD8, равное или меньшее, весьма частый признак, который в основном не коррелирует с тяжестью процесса, и лишь слишком резкое снижение данного соотношения может свидетельствовать о тяжести заболевания;

7) соотношение CD4/CD8 выше нормы; это наиболее характерно для ряда аутоиммунных заболеваний;

8) увеличение концентрации иммуноглобулинов; воспалительные заболевания характеризуются существенным повышением в крови уровня суммарных иммуноглобулинов или их отдельных субклассов;

9) отдельно стоят группы заболеваний, при которых в иммунограмме выявляются в основном незначительные сдвиги; к ним относятся локальные воспалительные процессы (например, в области глаза), в которые вовлечена преимущественно местная система защиты; воспалительные процессы, вызванные агрессивным началом с низкой степенью иммуногенности (чужеродности) при достаточной его инвазивности (например, многие злокачественные опухоли); процессы, обусловленные небольшими объемами разрушенных собственных тканей, не вызывающими сильной ответной реакции организма (малотравматичные операции).

Прогнозирование течения воспалительных процессов у больных с симптомокомплексом иммунной недостаточности

В период протекания воспалительного процесса на фоне развившейся иммунной недостаточности интерпретация иммунограммы усложняется и приобретает существенные особенности в определении прогностически положительных и отрицательных критериев. Воспалительные заболевания, протекающие при наличии симптомокомплекса иммунной недостаточности, развившегося на фоне врожденных иммунодефектов, характеризуются более резкими сдвигами показателей иммунограммы, чем это соответствовало бы клинической картине при нормальной реакции иммунной системы.

Наличие сдвига или тенденции к сдвигу параметров иммунограммы в направлении, совпадающем с классической схемой изменения иммунограммы на той же стадии процесса, - признак всегда благоприятный, указывающий на наличие в организме резервных возможностей и развертывание защитной воспалительной реакции. И напротив, отсутствие подобной тенденции, и особенно сдвиги показателей в обратном направлении - признак прогностически неблагоприятный.

При инфекции, неопластическом росте или других заболеваниях при наличии иммунной недостаточности это является сильной добавочной нагрузкой на иммунную систему, что может проявиться по-разному. Могут мобилизоваться последние резервы организма, и инфекция благополучно разрешается, также возможен выход из состояния иммунной недостаточности. Однако более вероятно возможность того, что дополнительная нагрузка усилит уже имеющуюся иммунную недостаточность, оставив организм полностью беззащитным.

Прогностическая значимость показателей иммунограммы на фоне иммунной недостаточности организма может меняться. При развитой иммунной недостаточности отмечается снижение относительного и абсолютного количества нейтрофилов, угнетение фагоцитарной активности этих клеток (часто при высокой их адгезивной активности). Отсутствие сдвигов в сторону активации фагоцитоза и повышения числа нейтрофилов обычно указывает на тяжелый дефект сопротивляемости организма, а тенденция к их угнетению является крайне неблагоприятным прогностическим симптомом. И напротив, малейшая тенденция к повышению количества нейтрофилов, активации фагоцитоза - симптом благоприятный, указывающий на наличие в этом звене иммунной системы резервных возможностей.

Развитие иммунной недостаточности на фоне основного процесса нередко сопровождается снижением уровня иммуноглобулинов. Этот признак становится более угрожающим, если одновременно уменьшается уровень нормальных антител к различным антигенам. Такое фоновое угнетение синтеза иммуноглобулинов, имеющее тенденцию к прогрессии при развитии воспалительного процесса, - крайне неблагоприятный признак.

В условиях интенсивно развивающейся иммунной недостаточности у пациентов часто выявляется высокий уровень Т-цитотоксических лимфоцитов и соответственно снижение соотношения Тх/Тц. Неизменность этого соотношения и тем более его дальнейшее снижение за счет роста уровня Т-цитотоксических лимфоцитов в начале развития воспалительного процесса - неблагоприятный признак, указывающий на тяжесть процесса. И наоборот, повышение соотношения Тх/Тц на раннем этапе воспалительного процесса - благоприятный симптом.

Перечисленные показатели являются важными критериями восстановления иммунной системы после окончания воспалительного процесса. Их нормализация свидетельствует не только об окончании суперинфекции, но и о выходе организма из состояния иммунной недостаточности. Однако необходимо учитывать, что развитие воспалительного процесса у лиц со сформированной иммунной недостаточностью имеет свои особенности, на которые влияет вирулентность микроорганизма, его неэффективное подавление антибактериальными средствами, а также развитие суммарной иммуносупрессии. Поскольку при наличии у пациента сформированной иммунной недостаточности иммунограмма в той или иной степени искажена, то эффективная оценка течения воспалительного процесса может быть проведена лишь на основании определения динамики изменения иммунограммы. Это позволит индивидуализировать интерпретацию иммунограммы в каждом отдельном случае с учетом стартовых значений показателей.

## 5.2. ВТОРИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ СОСТОЯНИЯ

В настоящее время большой практический интерес для клинической иммунологии представляет проблема вторичных иммунодефицитов (ВИД), которые в количественном отношении, без сомнения, преобладают над первичными иммунодефицитами.

ВИД - это нарушения иммунной системы, которые развиваются в позднем постнатальном периоде или у взрослых и которые, как принято считать, не являются результатом какого-либо генетического дефекта. ВИД - это клиническая категория, свидетельствующая о том, что иммунная система индивидуума не справляется с антигенной нагрузкой, чаще всего инфекционной природы и проявляется нетипично протекающими инфекциями, инфекционно-воспалительными заболеваниями, резистентными к традиционной терапии.

Среди ВИД выделяют три формы: *приобретенную, индуцированную* и *спонтанную*. Наиболее ярким примером первой из них служит синдром *приобретенного иммунодефицита*, развивающийся в результате поражения лимфоидной ткани человека соответствующим вирусом. *Индукцированные ВИД* - это такие состояния, при которых имеется конкретная причина, вызвавшая их появление: рентгеновское облучение, длительный прием кортикостероидов, цитостатиков, травмы и хирургические операции, а также нарушения иммунитета, которые развиваются вторично по отношению к основному заболеванию (диабет, заболевания почек и печени, злокачественные процессы и др.). *Индукцированные формы* ВИД, как правило, являются транзиторными и при устранении вызвавшей их причины в большинстве случаев происходит полное восстановление иммунитета. В отличие от индуцированной *спонтанная форма* ВИД характеризуется отсутствием явной причины, вызвавшей нарушение иммунологической реактивности. Клинически эта форма проявляется в виде хронических, рецидивирующих, инфекционно-воспалительных процессов бронхолегочного аппарата и околоносовых придаточных пазух, урогенитального и желудочно-кишечного тракта, глаз, кожи и мягких тканей, вызванных оппортунистическими или условно-патогенными микроорганизмами с атипичными биологическими свойствами и наличием множественной устойчивости к антибиотикам. В количественном отношении спонтанная форма является доминирующей формой ВИД.

В основе существования спонтанной формы ВИД должны лежать какие-то конкретные причины. На ранних этапах инфекционного процесса (первые 96 ч) защита организма от инфекционного агента осуществляется с помощью огромной совокупности неспецифических факторов иммунитета: системы комплемента, белков острой фазы, монокинов, фагоцитов, естественных киллеров и др. Допускается, что дефект в какой-либо из этих систем может в течение какого-то времени не проявляться клинически в виде повышенной инфекционной заболеваемости, поскольку все другие показатели иммунитета находятся в норме и компенсируют этот дефект. Однако происходящие со временем и под влиянием неблагоприятных факторов изменения в этих компенсаторных компонентах, пусть даже не очень значительные, могут дать кумулятивный эффект, ведущий к фенотипическому проявлению дефекта и развитию повышенной заболеваемости. Можно предположить, что в основе многих, а может быть практически всех клинических форм ВИД, проявляющихся у взрослых повышенной инфекционной заболеваемостью, лежит первичная иммунологическая недостаточность какого-то компонента иммунной системы, скомпенсированная до определенного времени за счет нормальной или высокой функциональной активности других ее компонентов.

Лица с ВИД подразделяются на три группы:

1) лица, имеющие клинические признаки нарушения иммунитета в сочетании с выявленными с помощью иммунологических методов конкретными изменениями его параметров;



2) лица, имеющие только клинические признаки нарушения иммунитета без изменения его параметров;

3) лица, не имеющие клинических признаков нарушения иммунитета, но с отклонениями лабораторных показателей иммунной системы.

Исходя из этиологической причины ВИД подразделяются на следующие группы.

I. Протозойные и глистные болезни (малярия, трипаносомоз, лейшманиоз, шистосомоз, трихинеллез и др.).

II. Бактериальные инфекции (лепра, туберкулез, сифилис, пневмококковые, менингококковые и другие инфекции).

III. Вирусные инфекции:

1) острые (корь, краснуха, грипп, паротит, ветряная оспа, острый вирусный гепатит);

2) персистирующие (коревая инфекция, вирусный гепатит В, герпетическая инфекция);

3) врожденные (цитомегаловирусная, краснуха);

4) вирусные инфекции иммунной системы (СПИД, цитомегаловирусная инфекция, вирус Эпштейна-Барр, папилломавирусная инфекция).

IV. Нарушения питания (голодание), несбалансированное питание.

V. Хронические соматические заболевания.

VI. Ятрогенные иммунодефициты.

VII. Иммунотоксическое действие лекарств, экологических и профессиональных факторов.

VIII. Постстрессовые иммунодефицитные состояния.

IX. Последствия ожогов.

X. Последствия травм, хирургических вмешательств.

XI. Заболевания органов выделения.

XII. Психические заболевания (депрессивные состояния).

Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин в 1997 г. предложили следующую классификацию ВИД:

1) транзиторные - продолжительность менее 6 мес;

2) хронические - продолжительность более 6 мес;

3) системные - продолжительность более 6 мес, нарушения более чем в одном органе или системе;

4) смешанного типа - нарушения более чем в одном звене иммунной системы;

5) изменения со стороны нейроэндокринной системы (гипофиз, тимус, щитовидная железа, надпочечники, половые железы);

6) изменения показателей периферической крови (по Т-, В-клеточному звену, по макрофагальному звену, по звену натуральных киллеров, по системе комплемента, гипоили гипериммуноглобулинемия, дисбаланс показателей Т-клеточного звена, снижение синтеза провоспалительных цитокинов, интерферонов);

7) изменения местного иммунитета.

При ВИД чаще всего выявляются следующие клинические синдромы:

1) чистый инфекционный синдром - 50%;

2) инфекционный и аллергический - 12-15%;

- 3) инфекционный и аутоиммунный - 5-7%;
- 4) инфекционный и нейроэндокринный - 15-17%;
- 5) инфекционный, аллергический и аутоиммунный 7-9%;
- 6) инфекционный, аутоиммунный и нейроэндокринный - 3-5%;
- 7) инфекционный, аллергический, аутоиммунный и нейроэндокринный - 1-3%;

8) инфекционный и неопластический - 3-5%. Инфекционный синдром в различных сочетаниях встречается в 100% случаев. Дефекты функционирования иммунной системы при ВИД при бактериальной инфекции выявляются со следующей частотой:

- со стороны нейтрофильных гранулоцитов - 80-90%;
- со стороны гуморального звена - 75-80%;
- со стороны системы комплемента - 45-50%;
- со стороны системы IFN - 6-10%.

Дефекты функционирования иммунной системы при ВИД, сопровождающиеся вирусным инфекционным синдромом, выявляются со следующей частотой:

- со стороны системы IFN - 95-100%;
- со стороны гуморального иммунитета - 35-40%;
- со стороны NK-клеток - 35-40%;
- со стороны Т-клеточного звена - 75-80%;
- со стороны нейтрофильных гранулоцитов - 55-60%.

В «чистом» виде инфекционный синдром встречается не часто. На практике гораздо чаще встречаются микст-синдромы, являющиеся следствием того, что человек - носитель условно-патогенной микрофлоры как бактериального происхождения, так и вирусной и грибковой, а возможно, и паразитарной.

Дефекты функционирования иммунной системы при ВИД, сопровождающиеся синдромом вирусно-бактериальных инфекций:

- со стороны системы IFN - 95-100%;
- со стороны нейтрофильных гранулоцитов - 80-85%;
- со стороны гуморального иммунитета - 75-80%;
- со стороны Т-клеточного звена - 75-80%;
- со стороны системы комплемента - 5-10%.

Дефекты функционирования иммунной системы при ВИД, сопровождающиеся синдромом вирусно-бактериально-грибковых инфекций:

- со стороны системы IFN - 100%;
- со стороны нейтрофильных гранулоцитов - 85-95%;
- со стороны гуморального иммунитета - 75-80%;
- со стороны Т-клеточного звена - 75-80%;
- со стороны системы комплемента - 9-10%.

Для выявления дисфункций иммунной системы или дефектного звена можно использовать следующий алгоритм иммунодиагностики:

1) исследование Т-клеточного звена: CD3<sup>+</sup>; CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>; CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>; CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>; спонтанный и стимулированный митогенный ответ; CD4<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>RA; CD4<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>RO; CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>; CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>; CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>; CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>;

2) исследование гуморального звена: сывороточные IgG, IgM, IgA, sIgA, CD19<sup>+</sup>, спонтанный и стимулированный митогенный ответ; CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>;

3) исследование естественных киллеров: CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>; CD3<sup>-</sup>CD16<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>; CD56<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>;

4) исследование системы нейтрофильных гранулоцитов: бактериальный фагоцитоз с оценкой завершенности; адгезия; хемотаксис; экспрессия мембранных адгезионных рецепторов (CD95<sup>+</sup>; CD11/CD18; CD16<sup>+</sup>; CD14<sup>+</sup> и т. д.); микробицидные системы;

5) оценка системы комплемента: C1-C9;

6) оценка состояния аутоиммунитета: АНФ; антитела к денатурированной ДНК (дДНК); нативной ДНК (нДНК); антимитохондриальные антитела; аутоантитела против нейтрофильных гранулоцитов и др.;

7) интерфероновый и цитокиновый профиль.

### 5.3. ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА ИНТЕРПРЕТАЦИИ ИММУНОГРАММ

Основные правила интерпретации иммунограмм сформулировали К. А. Лебедев и И. Д. Понякина (2003). Однако в настоящее время благодаря возможностям иммунодиагностики исследователи получили возможность получать информацию о функциональном состоянии клетки, ее потенциальных возможностях, о более детальных, интимных механизмах развития иммунного ответа, что позволяет уже по отдельным показателям сделать заключение. Тем не менее, подобные исследования еще не всегда доступны для широкой сети лечебных учреждений, поэтому клинические иммунологи по-прежнему должны ориентироваться на данные классических иммунограмм и основные требования к ним.

Комплексный анализ иммунограммы более информативен, чем оценка каждого показателя в отдельности. Вследствие этого комплексный анализ различных звеньев иммунитета более информативен. Только комплексный обзор всех показателей иммунограммы может выявить общий характер изменений в иммунной системе. Отдельные характерные сдвиги в иммунограмме у ряда однотипных больных могут проявляться слабо или вовсе не проявляться.

Полноценный анализ иммунограммы можно проводить лишь в комплексе с оценкой клинической картины у данного пациента. Только по иммунограмме без знания клинической картины сделать конкретные выводы практически невозможно. При сдвигах в иммунограмме на 20-25% в ту или иную сторону клинический диагноз не вызывает сомнений, а состояния, близкие к анергии без учета клинической картины, могут интерпретироваться как вариант нормы. Задача иммунологических исследований - постановка донозологического диагноза, а только иммунограмма лишь подтверждает отдельные сдвиги, которые могут проявляться при различных патологиях и на разных фазах процесса, и в зависимости от этого их интерпретация будет неодинаковой. Один и тот же сдвиг любого показателя в зависимости от фазы течения заболевания, его типа и особенностей, без учета клинической картины может рассматриваться и как благоприятный, и как неблагоприятный симптом.

Реальную информацию в иммунограмме несут только сильные сдвиги показателей; слабые сдвиги лишь позволяют повысить уверенность в правильности сделанного заключения. Наиболее эффективный подход к увеличению информативности должен состоять в получении средних значений показателей для каждого конкретного человека на основании ряда повторных диспансерных обследований и составлении на основании этого

«индивидуального паспорта здоровья», а при обследовании жителей конкретного региона - «иммунологического паспорта для жителей региона и конкретной возрастной группы», поэтому при интерпретации иммунограммы в отсутствие «индивидуальных иммунологических паспортов», следует опираться лишь на сильные сдвиги значений показателей относительно общепринятой нормы.

Анализ иммунограммы в динамике всегда более информативен как в диагностическом, так и в прогностическом отношении, нежели однократно полученная иммунограмма. Существенные разбросы значений показателей иммунограммы в группах здоровых лиц, на основе которых определяются нормативы параметров, не позволяют зачастую увидеть даже значительные изменения уровней показателей у пациентов при отсутствии у них индивидуальной нормы.

В подавляющем большинстве случаев анализ иммунограммы позволяет делать ориентировочные, а не безусловные выводы диагностического и прогностического характера.

В заключении, составляемом на основании анализа иммунограммы, всегда ведущим является наличие выраженных клинических симптомов. Отсутствие сдвигов в иммунограмме при наличии клинической картины воспалительного процесса должно трактоваться как отсутствие реакции иммунной системы, и является грозным неблагоприятным признаком течения процесса (анергия).

Для диагностической и прогностической оценки иммунограммы важное значение имеют индивидуальные показатели нормы конкретного обследуемого.

Необходимо учитывать, что у здоровых людей иммунный гомеостаз на фоне имеющихся дефектов в отдельных ее звеньях формируется за счет компенсации недостающего компонента усиленным функционированием других компонентов. Так, в условиях адаптации организма к экстремальным условиям в системе иммунитета происходит перестройка, сказывающаяся на характере иммунограммы, причем эта перестройка имеет существенные индивидуальные особенности.

В иммунограмме более высокую практическую значимость имеют соотношения разных популяций и субпопуляций клеток иммунной системы, нежели их абсолютные значения. Абсолютные содержания в крови, как суммы лейкоцитов, так и клеток отдельных популяций у здоровых людей могут физиологически изменяться весьма существенно в результате воздействия биологических ритмов, времени приема пищи, физической и эмоциональной нагрузки и многих других причин, в то время как относительное количество (процент) этих клеток является более или менее стабильным и может существенно изменяться лишь в процессе иммунных реакций организма.

Несоответствие сдвигов показателей иммунограммы клинической картине течения заболевания свидетельствует о тяжелом, неблагоприятном развитии процесса. В случае соответствия интенсивности сдвигов показателей иммунограммы силе воспалительного процесса мы имеем дело с адекватной реакцией иммунной системы на чужеродное. При развитии патологического процесса сдвиги в иммунограмме могут быть как менее сильными, не соответствующими клинической картине, так и более сильными. Это свидетельствует соответственно о более слабой или сильной реакции иммунной системы на чужеродное. Несоответствие изменений в иммунограмме клинической картине заболевания не следует путать с отклонением показателей иммунограммы от стандартных значений «нормы», которые нередко могут встречаться у клинически здоровых людей и являются их индивидуальной «нормой».

## КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНОГРАММЫ

Лейкоцитоз (повышение в крови содержания лейкоцитов) в подавляющем большинстве случаев характеризуется увеличением количества нейтрофилов или лимфоцитов, реже эозинофилов и моноцитов. Популяции клеток, обуславливающие повышение содержания лейкоцитов, связаны с возрастом индивида, характером текущего воспалительного процесса и его фазой. Так, в первые годы жизни человека лейкоцитоз проявляется в основном в превалировании лимфоцитов над нейтрофилами. В первой половине воспалительного процесса микробного происхождения лейкоцитоз чаще определяется повышением содержания нейтрофилов, а в заключительной фазе - увеличением количества лимфоцитов вследствие развития механизмов адаптивного иммунного ответа.

Лейкопения может иметь место за счет снижения количества нейтрофилов или лимфоцитов.

Содержание лейкоцитов в крови здоровых взрослых людей среднего возраста находится в следующих интервалах (с вероятностью 70, 90 и 95%): 70% ( $4,0-7,5 \times 10^9/\text{л}$ ); 90% ( $3,5-8,5 \times 10^9/\text{л}$ ); 95% ( $3,0-9,5 \times 10^9/\text{л}$ ).

Показатель содержания лейкоцитов у здоровых людей весьма лабилен. Целый ряд физиологических процессов, таких как мускульное напряжение, эмоциональный стресс, принятие пищи, перемена положения тела, фаза менструального цикла, беременность и другие, вызывает его существенные сдвиги (обычно за счет изменения содержания нейтрофилов). Прогностическое и диагностическое значение имеют лишь те сдвиги в содержании лейкоцитов, которые выходят за пределы значений показателя у здоровых людей, находящиеся в области 95% вероятностного интервала.

Лейкоцитоз, связанный с увеличением содержания *нейтрофилов*, наблюдается:

- при всех острых инфекционных и воспалительных заболеваниях, при тех же хронических заболеваниях в фазе обострения;
- при хронических и острых миелолейкозах;
- при злокачественных новообразованиях;
- на ранних этапах послеоперационного периода после больших хирургических вмешательств;
- после острых кровопотерь;
- на ранней фазе массивного радиационного поражения;
- при ожогах;
- при интоксикациях.

Лейкоцитоз, определяемый преимущественным повышением содержания *лимфоцитов*, имеет место:

- на заключительном этапе инфекционных и воспалительных заболеваний, но в сильной степени - достаточно редко и без связи с тяжестью процесса;
- при ряде вирусных инфекций;
- при острых и хронических лимфатических лейкемиях (лимфобластозах);
- при продолжительном облучении малыми дозами радиации (хронической лучевой болезни).

Лейкоцитоз, определяемый в основном повышением содержания *моноцитов*, обнаруживают:

- при инфекционном мононуклеозе (содержание моноцитов повышается одновременно с увеличением количества лимфоцитов);

- при моноцитарном остром и хроническом лейкозе. Лейкоцитоз, определяемый увеличением в крови содержания *эозинофилов*, выявляют:

- при гельминтозах (трихоцефалезе, фасциолезе, стронгилоидозе, аскаридозе, эхинококкозе, описторхозе, лямблиозе и др.);

- при эозинофильных инфильтратах органов (эозинофильной пневмонии и др.) - более чем в половине случаев;

- при бронхиальной астме.

*Лейкопения*, обусловленная преимущественно уменьшением содержания в крови нейтрофилов, наблюдается:

- при тяжелых инфекционных и воспалительных процессах (сепсисе, перитоните и др.) в фазе декомпенсации;

- при хронических воспалительных заболеваниях в фазе относительной ремиссии (туберкулезе, гонорее и др.);

- при заболеваниях, связанных с авитаминозами;

- при аутоиммунных лейкопениях (повышенной чувствительности к медикаментам, коллагенозах, некоторых видах аллергии);

- при В<sub>12</sub>-анемиях;

- при гиперхромной макроцитарной анемии.

*Лейкопения*, обусловленная преимущественно снижением содержания в крови лимфоцитов, обнаруживается:

- при лучевой болезни (тяжелой форме);

- при цитостатической болезни;

- при СПИДе в тяжелой заключительной стадии заболевания (снижение содержания лимфоцитов за счет уменьшения количества Т-хелперов при повышении относительных количеств Т-цитотоксических лимфоцитов и В-лимфоцитов);

- при лейкопенических формах хронического лимфолейкоза (в 20-30% случаев содержание лейкоцитов  $1,5-3 \times 10^9/\text{л}$ ).

*Переход в разгаре воспалительного процесса нейтрофильного лейкоцитоза в нейтрофильную лейкопению является крайне неблагоприятным признаком.* Повышение общего количества лейкоцитов при небольшом сдвиге ядерной формулы нейтрофилов влево, нормальном количестве лимфоцитов, низком уровне эозинофилов, моноцитов и Т-лимфоцитов, слабом снижении количества нулевых клеток на фоне небольшого увеличения фагоцитарной активности нейтрофилов чаще всего можно расценивать как благоприятный признак.

Напротив, если со значительным лейкоцитозом прогрессирует нейтрофилия, увеличивается сдвиг нейтрофилов влево, снижается количество эозинофилов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов, соотношение Т-хелперы/Т-цитотоксические лимфоциты и фагоцитарная активность нейтрофилов, а также повышается число нулевых клеток, это является обычно неблагоприятным симптомом, свидетельствующим о чрезмерной активации функционирования иммунной системы со срывом ее работы.

Относительное содержание лимфоцитов (в процентах к общему числу лейкоцитов) в крови здоровых взрослых людей среднего возраста характеризуется следующими значениями: 70% (23-35%); 90% (20-39%); 95% (18-42%).

Если абсолютное содержание в крови лимфоцитов, как и лейкоцитов, лабильно, то относительное количество лимфоцитов является стабильным показателем. Хотя, подобно другим биологическим показателям, оно может меняться в результате нормальных физиологических процессов. Эти изменения обычно находятся в пределах нескольких процентов, поэтому изменение этого показателя более чем на 15% исходного является информативным.

При классическом течении воспалительного процесса переход от сниженного процента лимфоцитов в крови к повышенному, который приходит на смену нейтрофилии, указывает на начало репаративной фазы процесса. Повышенный процент лимфоцитов в этом случае является предвестником клинического выздоровления, но не указывает на тяжесть процесса. Нормализуется число лимфоцитов обычно с исчезновением клинических симптомов.

При воспалительном процессе, связанном с рядом инфекций, сопровождающихся нейтропенией (например, при брюшном тифе, паратифе, гриппе), появление повышенного количества лимфоцитов нельзя рассматривать как начало завершения процесса. При подобных заболеваниях повышение процента лимфоцитов является нормальным признаком их течения. Истинной причиной повышения относительного содержания лимфоцитов в данном случае является снижение числа нейтрофилов в крови. Обычно этому предшествует значительное увеличение уровня иммуносупрессии.

*T-лимфоциты* - один из наиболее информативных показателей иммунограммы. Это очень лабильный показатель, изменяющийся в результате воздействия на макроорганизм самых разнообразных факторов. Реакция T-клеток на воспалительный процесс, обусловленная их интенсивной миграцией в патологический очаг, является более постоянной и зачастую более резко выраженной, чем реакция таких компонентов, как суммарное количество лейкоцитов, эозинофилы, нейтрофилы и сдвиг лейкоцитарной формулы влево. Количество T-лимфоцитов в крови имеет огромное практическое значение, особенно для оценки течения воспалительного процесса на всех его этапах, помогая в прогнозировании возникновения процесса и осложнений, оценке качества операционного вмешательства и завершенности процесса. Количественные показатели популяций T-лимфоцитов зависят от используемого метода, поэтому приводим лишь их относительные значения у взрослых людей среднего возраста.

CD3<sup>+</sup>-лимфоциты: 70% (60-74%); 90% (55-78%); 95% (52-82%).

Развитие любого воспалительного процесса сопровождается практически на всем его протяжении снижением содержания T-лимфоцитов. Это наблюдается при воспалениях самой разнообразной этиологии, фактически без исключений: различных инфекциях, неспецифических воспалительных процессах, процессах разрушения поврежденных тканей и клеток после операции, травмы, ожога, инфаркта ткани, разрушении клеток злокачественных опухолей, трофических разрушениях и т. д. Количественные изменения зависят от интенсивности воспалительной реакции, индивидуальной нормы, от наличия сопутствующих заболеваний, которые могут влиять на течение процесса. Снижение количества T-лимфоцитов четко проявляется еще до возникновения клинических симптомов.

Если на заключительном этапе воспалительного процесса отмечается постепенное повышение в крови относительного количества T-лимфоцитов, которое соответствует улучшению клинической картины, то это является благоприятным признаком. Напротив, высокий уровень T-лимфоцитов при выраженных клинических проявлениях воспалительного процесса - неблагоприятный признак, указывающий на вялое течение воспалительного процесса с тенденцией к хронизации. Полное завершение любого воспалительного процесса сопровождается нормализацией всей иммунограммы. Количество T-лимфоцитов как наиболее чувствительный показатель восстанавливается последним.

Количество *В-лимфоцитов*, выявляемых в периферической крови, увеличивается в случае их активной пролиферации в ответ на антигенный стимул внедрившегося чужеродного. Клиническая ценность содержания в крови *В-лимфоцитов* как отдельного показателя невелика в связи с замедленной, недостаточно сильной и непостоянной реакцией их выброса в кровоток при развитии патологического процесса. Однако в составе иммунограммы их значение повышается, причем в основном как критерия, уточняющего поставленный диагноз (при лейкозе) либо подтверждающего сдвиги других показателей иммунограммы в процессе развития воспалительной реакции. В отличие от *Т-лимфоцитов*, основной тенденцией изменения *В-клеток* при различных процессах в организме является повышение их количества. Количество *В-лимфоцитов* (в процентах к суммарному числу лимфоцитов) в крови здоровых взрослых людей среднего возраста характеризуется следующими значениями.

CD20<sup>+</sup>-лимфоциты: 70% (9-21%); 90% (7-24%); 95% (6-26%).

Относительное количество в крови *В-клеток* подвержено меньшим физиологическим колебаниям, чем число *Т-клеток* (в то время как абсолютное содержание *В-лимфоцитов* весьма лабильно и изменяется в соответствии с колебаниями содержания лейкоцитов). Низкая чувствительность изменения уровня *В-лимфоцитов* к изменениям физиологического состояния организма, по-видимому, важнейшее свойство данного показателя, которое проявляется и в низкой изменчивости его при патологическом процессе в организме.

Во второй половине нормально развивающегося воспалительного процесса в большей части случаев отмечается повышение в крови относительного количества *В-лимфоцитов*. Наиболее часто это имеет место при вирусных инфекциях, обычно при затяжных воспалительных процессах.

Для нормально текущего воспалительного процесса характерна следующая динамика изменения относительного содержания в крови *В-лимфоцитов*: нормальное их количество в начале процесса, существенное повышение во второй его половине и нормализация при окончании процесса. Следует отметить, однако, что довольно часто благоприятно развивающийся воспалительный процесс может протекать и без увеличения процентного количества *В-клеток*.

Содержание иммуноглобулинов в плазме крови здоровых людей характеризуется следующими значениями.

Взрослые люди среднего возраста:

- IgA: 70% (1,0-3,0 г/л); 90% (0,80-3,5 г/л); 95% (0,4-4,2 г/л);
- IgG: 70% (9,0-14,0 г/л); 90% (7,5-16,0 г/л); 95% (6,0-18,0 г/л);
- IgM: 70% (0,80-2,5 г/л); 90% (0,55-2,80 г/л); 95% (0,35-3,0 г/л).

Количество иммуноглобулинов, определяемое в плазме крови, слабо подвержено биоритмическим колебаниям и влиянию воздействия небольших нагрузок. Однако в результате сильных физических и психоэмоциональных нагрузок, приводящих к стрессу, уровни иммуноглобулинов в плазме могут меняться так сильно, как ни один другой показатель.

Количество *Т-хелперов* (%), *Т-цитотоксических лимфоцитов* (%) и их соотношения в крови здоровых людей характеризуются следующими значениями.

Взрослые люди среднего возраста:

- CD4<sup>+</sup>-лимфоциты: 70% (36-54%); 90% (34-59%); 95% (32-60%);
- CD8<sup>+</sup>-лимфоциты: 70% (11-29%); 90% (9-34%); 95% (8-37%);
- соотношение CD4/CD8: 70% (1,1-1,8); 90% (1,0-2,0); 95% (0,9-2,5).



С возрастом количество в крови Т-хелперов, Т-цитотоксических лимфоцитов и их соотношение изменяются незначительно.

При тяжелом течении воспалительного процесса соотношение Тх/Тц может становиться меньше 1. Подобное снижение вызывается преимущественным образованием, дифференцировкой, особенностями циркуляции в кровотоке, уходом к воспалительному очагу или в лимфоузлы Т-лимфоцитов той или иной субпопуляции.

Абсолютное количество *моноцитов* в крови подвержено существенным биоритмическим колебаниям. Интенсивные нагрузки, особенно физические, приводят к значительному повышению в крови содержания моноцитов.

Целый ряд воспалительных процессов практически всегда сопровождается моноцитозом, например вирусные гепатиты, туберкулез, большинство аутоиммунных процессов, в частности ревматоидный эндокардит.

Моноцитопения (вплоть до полного исчезновения в крови моноцитов) может наблюдаться при тяжелых септических процессах и лейкозах.

Появление относительного моноцитоза при остром воспалительном процессе можно рассматривать как предвестник перехода воспалительной реакции во вторую фазу развернутой клинической картины. При благоприятном течении заболевания моноцитоз может затянуться и до начала восстановления количества Т-лимфоцитов. В целом появление моноцитоза как предвестника кризиса всегда благоприятно.

При вялотекущих воспалительных заболеваниях и хронических инфекциях относительный моноцитоз может держаться долго и даже иметь тенденцию к усилению (часто при этом повышается и уровень В-лимфоцитов). При всех хронических воспалительных процессах в фазе обострения и маловирулентных затяжных инфекциях обычно наблюдается достаточно высокий, длительно поддерживающийся моноцитоз, который обычно сопряжен с уменьшением количества Т-лимфоцитов и повышением уровня нулевых клеток. Во всяком случае, наличие моноцитоза после клинического исчезновения симптомов воспаления однозначно указывает на незакончившийся процесс. При обострении хронических воспалительных процессов моноцитоз может быть как неблагоприятным симптомом, указывающим на развитие заболевания, так и благоприятным признаком, свидетельствующим о регрессии процесса. Уточнить прогноз поможет оценка содержания в крови процента моноцитов в совокупности с другими компонентами иммунограммы. Моноцитоз, сопровождающийся дальнейшим снижением числа Т-лимфоцитов и повышением количества нулевых клеток, - неблагоприятный симптом, особенно если он сочетается с резким повышением количества Т-цитотоксических клеток.

Моноцитопения, возникающая при тяжелых септических процессах и лейкозах на фоне резкой нейтрофилии, всегда является прогностически тяжелым симптомом.

Нейтрофилы представляют самый большой пул клеток иммунной системы (КИС), поэтому изменение количества именно этих клеток наиболее часто определяет изменение общего содержания в крови лейкоцитов. Однако существенную значимость приобретает относительное количество (%) нейтрофилов как отдельный показатель. Это объясняется тем, что все большее количество воспалительных процессов и инфекционных заболеваний течет без повышения общего содержания лейкоцитов в крови.

Большую клиническую значимость имеет определение состава популяции нейтрофилов по степени их зрелости. Важную роль играет также оценка нейтрофилов по наличию в них патологических морфологических изменений. Степень зрелости нейтрофилов на очень близких этапах их дифференцировки можно легко различить по сегментации ядра (юные, палочкоядерные, сегментоядерные, гиперсегментоядерные нейтрофилы).

Все большую клиническую значимость приобретает оценка физиологической активности нейтрофилов. Методы такой оценки основаны на определении ферментативной, адгезивной и фагоцитарной активности этих клеток.

Характеристика значений у здоровых людей

Количество сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, а также фагоцитарная активность нейтрофилов в крови здоровых людей характеризуются следующими значениями.

Взрослые люди среднего возраста:

- нейтрофилы:

- сегментоядерные: 70% (56-68%); 90% (52-70%); 95% (45-72%);

- палочкоядерные: 70% (1-3%); 90% (1-4%); 95% (1-5%);

- фагоцитоз: 70% (29-58%); 90% (27-62%); 95% (25-65%).

Соотношение палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов у здоровых людей составляет 1 : 15 (1 : 30-1 : 12).

Юных и еще менее зрелых форм нейтрофилов у здоровых людей обычно не обнаруживается.

Количество в крови нейтрофилов, так же как и показатели их физиологической активности, подвержены биоритмическим колебаниям, причем их абсолютное количество подвержено значительно более сильным колебаниям, нежели относительное. Сильные физические нагрузки приводят к существенному повышению содержания нейтрофилов в крови.

Относительное количество эозинофилов - один из наиболее чувствительных показателей иммунограммы. Это способствует его большой клинической значимости, которую не уменьшает даже низкое содержание этих клеток среди других КИС (обуславливающее невысокую точность их количественного определения).

Относительное количество эозинофилов в крови здоровых взрослых людей среднего возраста характеризуется следующими значениями: 70% (2-3%), 90% (1-4%), 95% (1-5%).

Диагностическая значимость. Эозинофилия (т. е. увеличение числа эозинофилов в крови свыше 5%) характерна для следующих патологий: некоторых инфекционных заболеваний в период развернутой клинической картины; глистных инвазий, причем на этапе тканевого прохождения паразита или при его личиночной форме в ткани (эхинококкоз) до осумкования (в этих случаях отмечается крайне высокое количество эозинофилов при значительном лейкоцитозе); аллергических заболеваний различной локализации; при аутоиммунных процессах; злокачественных новообразованиях и хронических инфекциях типа туберкулеза и др.

Эозинопении встречаются на первом этапе воспалительного процесса и сохраняются вплоть до криза заболевания.

Появление эозинофилов в крови при нормально текущем воспалительном процессе - благоприятный признак, свидетельствующий о скором выздоровлении. Однако ряд инфекционных и других заболеваний, сопровождающихся в периоде развернутой картины процесса повышением уровня IgE и активацией тучных клеток, характеризуется повышением содержания эозинофилов. В этих случаях поддержание повышенного количества эозинофилов после окончания воспалительного процесса указывает на незаконченность иммунной реакции с ее аллергическим компонентом.

Не вызывает сомнений, что наиболее глубокое прогностическое значение динамика эозинофилов имеет только при учете всей иммунограммы в целом и клинической картины

болезни. Так, прогрессирующая эозинопения при повышающемся уровне лейкоцитов указывает на усиление инфекции и в то же время свидетельствует о достаточной реактивности кроветворных органов. И напротив, прогрессирующая эозинопения при уменьшении содержания в крови лейкоцитов - признак неблагоприятный, свидетельствующий о понижении сопротивляемости организма (обычно она сопрягается с низким числом Т-лимфоцитов и высоким уровнем нулевых клеток).

Скорость оседания эритроцитов - интегральный показатель, который включает в себя результат действия многих факторов. СОЭ зависит от вязкости плазмы крови, которая обусловлена ее физико-химическим составом: соотношением низко- и высокомолекулярных белков плазмы (глобулинов/альбуминов и фибриногена), электростатическим зарядом этих и других белков, ионным составом. На СОЭ влияют концентрация и характеристика клеток крови, особенно электростатический заряд эритроцитов. Склеивание эритроцитов в «монетные столбики» ускоряет их оседание, в то время как повышение вязкости плазмы тормозит его.

Таким образом, СОЭ - это сугубо неспецифический показатель по отношению к той или иной инфекции, к работе иммунной системы как таковой. Впрочем, косвенно она отражает все же функционирование иммунной системы, поскольку активация ее работы, а также чужеродные вещества и продукты микроорганизмов, изменяющие различные процессы в организме, оказывают влияние на свойства плазмы и клеточный состав крови. СОЭ указывает лишь на активность процесса и ничего не говорит о его качестве.

Характеристика значений СОЭ у здоровых взрослых людей среднего возраста (мм/ч):

- мужчины: 70% (5-8); 90% (4-9); 95% (3-12);
- женщины: 70% (5-9); 90% (5-12); 95% (4-15).

Многие физиологические процессы сопровождаются существенным изменением СОЭ. Увеличение СОЭ (до 20 мм/ч) отмечается при интенсивном солнечном загаре, после приема ванн и грязелечения, обильного белкового питания, во время менструации. Все это необходимо учитывать при анализе СОЭ у пациента.

В прошлом и в настоящем при скрининговых оценках иммунного статуса (до установления дисфункции конкретного звена или звеньев иммунной системы) применяется двухэтапный подход. На первом этапе выявляются грубые дефекты со стороны иммунной системы. Основной перечень исследований представлен в табл. 5.1.

Таблица 5.1. Первичная оценка иммунного статуса

Исследуемые показатели Ед. изм. Норма		
<i>Субпопуляции лимфоцитов</i>		
CD3 <sup>+</sup> -Т-лимфоциты	%	60-80
	x10 <sup>9</sup> /л	0,80-2,20
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> -Т-лимфоциты (хелперы/индукторы)	%	30-50
	x10 <sup>9</sup> /л	0,50-1,20
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> -Т-лимфоциты (цитотоксические лимфоциты - ЦТЛ)	%	20-30
	x10 <sup>9</sup> /л	0,30-

		0,90
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> 56 <sup>+</sup> (Т-киллеры) - Т-клетки, экспрессирующие маркеры NK-клеток	%	1,7-8,6
	x10 <sup>9</sup> /л	0,03-0,25
Индекс CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> / CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	-	1,2-1,8
CD3 <sup>-</sup> CD16 <sup>+</sup> 56 <sup>+</sup> - истинные натуральные киллеры (NK-клетки)	%	6-20
	x10 <sup>9</sup> /л	0,10-0,60
CD3 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup> - NK-клетки, экспрессирующие антиген CD8	%	1,9-11,9
	x10 <sup>9</sup> /л	0,06-0,28
CD19 <sup>+</sup> -В-лимфоциты	%	5-15
	x10 <sup>9</sup> /л	0,10-0,50
<i>Иммуноглобулины</i>		
М	г/л	0,5-2,8
А	г/л	0,8-3,6
G	г/л	6,5-16,7
<i>Циркулирующие иммунные комплексы</i>		
Высокомолекулярные ЦИК отн. ед. 0-60		

Окончание табл. 5.1

Исследуемые показатели	Ед. изм.	Норма
<i>Провоспалительные цитокины</i>		
Интерлейкин-1β (IL-1β) - сыворотка Спонтанная продукция Индукцированная продукция	пг/мл пг/мл	0-50 30-50
	пг/мл	1000-5000
Интерлейкин-6 (IL-6) - сыворотка Спонтанная продукция Индукцированная продукция	пг/мл пг/мл	0-50 30-50
	пг/мл	1000-5000
Фактор некроза опухолей-α (ФНО-α) - сыворотка Спонтанная продукция Индукцированная продукция	пг/мл пг/мл	0-50 30-50
	пг/мл	500-3000
<i>Функциональная активность нейтрофилов</i>		
Фагоцитарный показатель (ФП)	%	40-90
Фагоцитарное число (ФЧ)	абс.	8-26

Показатель завершенности фагоцитоза (ПЗФ)	%	20-60
НСТ-тест спонтанный	у. е.	0,1-0,15
НСТ-тест индуцированный	у. е.	0,5-1,5
ЛКТ (лизосомально-катионный тест)	у. е.	1,5-1,7

На втором этапе оценивается функциональная активность иммунокомпетентных клеток (табл. 5.2).

Таблица 5.2. Оценка иммунного статуса на втором этапе

Исследуемый показатель	Ед. изм.	Норма
<i>Лимфоциты, экспрессирующие маркеры активации</i>		
CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> - активированные Т-лимфоциты	%	1,3-4,4
	x10 <sup>9</sup> /л	0,02-0,12
CD3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> - активированные Т-лимфоциты, экспрессирующие рецепторы к IL-2	%	3,5-12,5
	x10 <sup>9</sup> /л	0,06-0,35
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> - активированные Т-хелперы, экспрессирующие рецепторы к IL-2 (% от CD3)	%	5,6-15,5
	x10 <sup>9</sup> /л	0,06-0,37
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> - активированные Т-хелперы, экспрессирующие HLA-DR (% от CD3)	%	1,3-2,7
	x10 <sup>9</sup> /л	0,02-0,06
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> - активированные цитотоксические Т-лимфоциты, экспрессирующие рецепторы к IL-2 (% от CD3)	%	0,46-1,56
	x10 <sup>9</sup> /л	0,008-0,04

Продолжение табл. 5.2

Исследуемый показатель	Ед. изм.	Норма
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> - активированные цитотоксические Т-лимфоциты, экспрессирующие HLA-DR (% от CD3)	%	0,6-3,6
	x10 <sup>9</sup> /л	0,005-0,09
CD95 <sup>+</sup> - активированные Т-, В-лимфоциты и NK-клетки, экспрессирующие APO-1/FAS антиген, опосредующий апоптоз	%	3,8-8,2
	x10 <sup>9</sup> /л	0,05-0,23

CD3 <sup>+</sup> CD95 <sup>+</sup> - активированные Т-лимфоциты, экспрессирующие АРО-1/FAS антиген, опосредующий апоптоз	%	3,2-7,7
	х10 <sup>9</sup> /л	0,04-0,20
CD19 <sup>+</sup> CD95 <sup>+</sup> - активированные В-лимфоциты, экспрессирующие АРО-1/FAS антиген, опосредующий апоптоз	%	0,10-0,72
	х10 <sup>9</sup> /л	0,001-0,02
<i>Иммуноглобулины подкласса IgG</i>		
IgG1	г/л	6,3-9,1
IgG2	г/л	1,4-6,45
IgG3	г/л	0,51-1,9
IgG4	г/л	0,47-1,3
<i>Циркулирующие иммунные комплексы</i>		
Среднемолекулярные ЦИК	отн. ед.	0-148
Низкомолекулярные ЦИК	отн. ед.	0-322
<i>Компоненты системы комплемента</i>		
C3	мг/мл	0,55-1,2
C4	мг/мл	0,02-0,5
C5	мг/мл	0,04-0,15
<i>Цитокины</i>		
Интерферон-γ (ИФН-γ) - сыворотка Спонтанная продукция Индукцированная продукция	пг/мл	0-50 30-50
	пг/мл	1000-5000
Интерферон-α (ИФН-α) - сыворотка Спонтанная продукция Индукцированная продукция	пг/мл	0-50 30-50
	пг/мл	1000-5000
Интерлейкин-2 (IL-2) - сыворотка Спонтанная продукция Индукцированная продукция	пг/мл	0-50 30-50
	пг/мл	1000-5000

Окончание табл. 5.2

Исследуемый показатель	Ед. изм.	Норма	
Интерлейкин-4 (IL-4) - сыворотка	пг/мл	0-	50
Спонтанная продукция	пг/мл	30-	-50
Индукцированная продукция	пг/мл	1000	-5000
Интерлейкин-10 (IL-10) - сыворотка	пг/мл	0-	50
Спонтанная продукция	пг/мл	30-	-50
Индукцированная продукция	пг/мл	1000	-5000

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Опишите динамику лабораторных показателей при нормально развивающемся воспалительном процессе.
2. Каковы неблагоприятные прогностические признаки развития воспалительного процесса?
3. Назовите виды вторичных иммунодефицитных состояний.
4. Какие дисфункции иммунной системы приводят к ВИД?
5. Какие показатели иммунограммы прогнозируют благоприятное развитие воспалительного процесса?
6. Какие показатели иммунограммы прогнозируют неблагоприятное развитие воспалительного процесса?

## Глава 6. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ

### 6.1. ВАКЦИННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Иммунный ответ на введение антигена всегда строго специфичен; кроме того, один и тот же антиген вызывает иммунный ответ различной интенсивности - от слабого или даже нулевого до очень сильного, в соответствии с генотипом. Напротив, один и тот же организм бывает в разной степени реактивным по отношению к различным антигенам. Это связано с тем, что специфический иммунный ответ регулируется генами иммунной реакции, сцепленными с главной генетической системой гистосовместимости. Лица, несущие антигены этого комплекса (HLA), характеризуются иммунной дефектностью в отношении того или иного инфекционного агента (вируса, бактерии и др.). Некоторые из антигенов HLA сцеплены с генами, контролирующими силу иммунного ответа к данному возбудителю. При этом микроб может задерживаться в организме, вызывая развитие латентной инфекции с различного рода нежелательными последствиями.

Имеются существенные различия в силе иммунной реакции на введение живых и инактивированных вакцин, на первичное и повторное введение вакцинных антигенов.

При первичном введении (вакцинации) иммунная реакция развивается на живые вакцины по истечении как бы инкубационного периода и проявляется ослабленным симптомокомплексом естественной инфекции. Иммунный ответ в этом случае

характеризуется появлением в крови антител класса IgM с последующим переключением на синтез IgG. Очевидно, что образуются и клетки иммунной памяти.

При повторном введении антигена (ревакцинация) характер иммунного реагирования также будет зависеть от вида вакцины (живая или инактивированная). При введении инактивированной вакцины возникает бустерный эффект за счет включения клеток памяти. При этом практически сразу начинается продукция специфических антител, в основном IgG, и их уровень бывает более значительным, чем при первичном введении.

Третья доза антигена еще более усиливает процесс антителообразования, но эта закономерность не бесконечна, поскольку сила иммунного ответа генетически детерминирована. Последующие дополнительные дозы антигена могут и не привести к усилению антителопродукции, а наоборот - могут вызвать состояние иммунодепрессии.

Различают первичную и вторичную иммунную недостаточность. Первичная иммунная недостаточность - это генетически обусловленная неспособность организма реализовывать то или иное звено иммунного ответа. В аспекте активной иммунизации важно иметь в виду, что лицам, страдающим первичной иммунной недостаточностью, особенно с врожденным дефицитом клеточного иммунитета и комбинированными иммунодефицитами, противопоказаны прививки живыми вакцинами.

Вторичная иммунная недостаточность обычно бывает транзиторной, вызывается повторными заболеваниями, хроническими инфекциями, длительным применением кортикостероидной или лучевой терапии, злокачественными новообразованиями и другими причинами.

Вместе с тем нередко выявляемые отклонения иммунологических показателей (в субпопуляциях лимфоцитов, уровней иммуноглобулинов и др.), зачастую трактуемые как вторичный иммунодефицит, существенно не влияют на выработку иммунитета и не могут считаться препятствием к проведению вакцинации.

Кроме иммунодефицитов, к патологическим изменениям со стороны иммунокомпетентных клеток относят аллергию.

Таким образом, при проведении вакцинопрофилактики необходимо учитывать следующие практические выводы.

1. Получение напряженного и длительного иммунитета обеспечивается путем повторного введения вакцинных препаратов.

Для поддержания защитного уровня специфического иммунитета при проведении активной иммунизации большое значение имеет схема введения вакцинного препарата с определенными интервалами.

2. Иммунный ответ на вакцинацию строго специфичен и индивидуален. Активная иммунизация не обеспечивает развития у всех прививаемых одинаковой невосприимчивости. Существуют группы лиц, которые в силу тех или иных обстоятельств (индивидуальные особенности иммунного ответа, длительный прием цитостатиков, крайняя степень нарушения питания, первичный иммунодефицит и др.) не способны к полноценной выработке антител.

3. Наиболее эффективный искусственный иммунитет можно получить к тем инфекциям, после которых создается достаточный естественный иммунитет и, наоборот, в тех случаях, когда после болезней формируется слабый иммунитет или таковой вовсе отсутствует, активная иммунизация часто оказывается малоэффективной.

4. Активная иммунизация приводит к выработке специфических антител лишь после определенного периода времени, поэтому ее применение целесообразно, главным образом, в профилактических целях, тогда как использование с лечебными целями имеет ограниченное значение.



Характеристика вакцинных препаратов. К вакцинам относятся препараты, получаемые из бактерий, вирусов, грибов, простейших, а также из продуктов их жизнедеятельности. Все вакцины можно разделить на две основные группы: *инактивированные* и *живые*.

*Инактивированные*: корпускулярные (цельновирионные) вакцины, представляют собой бактерии и вирусы, инактивированные путем химического (формалин, спирт, фенол) или физического (тепло, ультрафиолетовое облучение) воздействия или комбинацией обоих факторов.

Для приготовления корпускулярных вакцин используют, как правило, вирулентные штаммы микроорганизмов, поскольку они обладают наиболее полным набором антигенов. Примерами корпускулярных вакцин являются коклюшная (компонент АКДС-вакцины<sup>4</sup>), антирабическая, лептоспирозная, гриппозные цельновирионные инактивированные вакцины, вакцины клещевого и японского энцефалита и ряд других. Помимо цельновирионных, в практике используют также расщепленные или дезинтегрированные препараты (сплит-вакцины), в которых структурные компоненты вириона разъединены с помощью детергентов.

*Химические вакцины* представляют собой антигенные компоненты, извлеченные из микробной клетки, которые определяют иммуногенный потенциал клетки. Для их приготовления используют различные физико-химические методики. К вакцинам такого рода относятся вакцины менингококковых групп А и С полисахаридные, вакцина против гемофильной инфекции типа b полисахаридная, вакцина пневмококков полисахаридная, вакцина брюшнотифозная - Vi-антиген брюшнотифозных бактерий. Так как бактериальные полисахариды являются тимуснезависимыми антигенами, то для формирования Т-клеточной иммунной памяти используют их конъюгаты с белковым носителем (дифтерийным или столбнячным анатоксином в количестве, не стимулирующем выработку соответствующих антител, или с белком самого микроба, наружной оболочки пневмококка).

К этой же категории могут быть отнесены субъединичные вирусные вакцины, содержащие отдельные структурные компоненты вируса, например субъединичная гриппозная вакцина, состоящая из гемагглютинина и нейраминидазы. Важная отличительная особенность химических вакцин - их низкая реактогенность.

*Рекомбинантные вакцины* - в качестве примера можно назвать вакцину против гепатита В, для производства которой применяют рекомбинантную технологию. Участок гена, кодирующий синтез поверхностного антигена вируса гепатита В (HbsAg), встраивают в ДНК дрожжевых клеток, которые размножаясь осуществляют продукцию данного антигена. Белок HbsAg выделяют из дрожжевых клеток путем разрушения последних и подвергают очистке с помощью химических и физических методов. В результате полученный препарат HbsAg полностью освобождается от дрожжевой ДНК и содержит лишь следовое количество белка дрожжей.

Для создания полноценного иммунитета обычно необходимо двукратное или трехкратное введение инактивированных вакцин. Развивающийся после этого иммунитет относительно кратковременен и для поддержания его на высоком уровне требуются ревакцинации.

К этой же подгруппе могут быть отнесены и анатоксины, которые представляют собой бактериальные экзотоксины, обезвреженные длительным воздействием формалина при повышенной температуре. Подобная технология получения анатоксинов, с сохранением антигенных и иммуногенных свойств, делает возможной реверсию их токсичности. В процессе производства анатоксины подвергаются очистке от балластных веществ (питательной среды, продуктов метаболизма и распада микробной клетки).

Анатоксины выпускают в виде монопрепаратов (дифтерийный, столбнячный, стафилококковый и др.) и ассоциированных препаратов (дифтерийно-столбнячный). Для

достижения напряженного антитоксического иммунитета требуются, как правило, двукратное введение препаратов анатоксинов и последующая ревакцинация. При этом их профилактическая эффективность достигает 95-100% и сохраняется в течение нескольких лет. Важной особенностью анатоксинов является также и то, что они обеспечивают в организме привитого сохранение стойкой иммунной памяти. Другой не менее важной особенностью анатоксинов является их относительно низкая реактогенность, что позволяет свести к минимуму перечень противопоказаний к их применению.

*Живые вакцины* изготавливаются на основе аттенуированных штаммов со стойко закрепленной авирулентностью. Будучи лишенными способности вызывать инфекционный процесс, они сохранили способность к размножению в организме вакцинированного. Развивающаяся вследствие этого вакцинальная инфекция приводит в большинстве случаев к формированию стойкого иммунитета. Живые вакцины, за исключением полиомиелитной, выпускаются в лиофилизированном виде, что обеспечивает их стабильность в течение относительно длительного срока.

*Аутовакцина.* Одним из существенных недостатков вакцин, приготовленных из «музейных» штаммов бактерий, являются трудности в подборе культур бактерий с достаточно универсальным антигенным набором. Только в случае использования для приготовления вакцины возбудителя, выделенного от больного (аутовакцины), с последующей аутовакцинотерапией его, с учетом индивидуальной реактивности больного, наступает полноценный специфический иммунитет.

Аутовакцинотерапия используется, как правило, при лечении хронических гнойно-септических инфекций. Методика приготовления убитых аутовакцин может быть разнообразной (гретая, формализированная, с использованием бактерицидных свойств рыбьего жира). Курс аутовакцинотерапии проводится дробно, в постепенно возрастающих дозах препарата, что проводится с целью десенсибилизации (снятия повышенной чувствительности организма к антигену).

Аутовакцина может вводиться как парентеральным, так и пероральным способами (например, при дисбактериозе кишечника используют пероральное введение аутовакцины).

Перспективно применение аутовакцинотерапии при злокачественных новообразованиях.

Препятствием на пути широкого использования аутовакцин служит сложность выделения микроба-возбудителя, длительность процесса их изготовления, а также невозможность их применения с профилактической целью для иммунизации большого контингента больных в предоперационном периоде.

Вакцина из «госпитальных» штаммов возбудителей гнойно-септических инфекций. Преимущества вакцины, приготовленной из наиболее часто и устойчиво встречающихся в данном лечебном учреждении (закрытом коллективе) так называемых госпитальных, «ведущих» штаммов возбудителей гнойно-септических инфекций, перечислены ниже.

1. В такой вакцине более полно (по сравнению со стандартными вакцинами из «музейных» культур) представлен антигенный набор, соответствующий антигенам «госпитальных», циркулирующих в данном лечебном учреждении возбудителей.

2. Наличие вакцины из «госпитальных» штаммов дает возможность одновременно профилактически иммунизировать большие группы больных, обеспечивая при этом надежную защиту против гнойных осложнений, вызванных «госпитальными» штаммами.

3. Применение вакцины из «госпитальных», ведущих штаммов позволяет добиться защиты против внутригоспитальных инфекций, вызванных «госпитальными» штаммами, резистентных к антимикробным препаратам.

4. Вакцина из «госпитальных» штаммов позволяет добиться терапевтического эффекта при применении ее в случае возникновения в послеоперационном периоде осложнений в виде гнойно-септических инфекций, не дожидаясь выделения аутокультуры и приготовления аутовакцины.

Требования, предъявляемые к приготовлению аутовакцин и вакцин из «госпитальных» штаммов, такие же, как и для стандартных вакцин из «музейных» культур бактерий.

*Состав вакцин.* В состав вакцин, помимо аттенуированных микроорганизмов или антигенов, обеспечивающих развитие специфической невосприимчивости, входят и другие компоненты, которые можно разделить на две группы.

В качестве *стабилизаторов* используются только вещества, внесенные в фармакопейные статьи: сахароза, лактоза, альбумин человека, натрия глутамат. Наличие их в препарате не оказывает какого-либо влияния на реактогенность.

Назначение *консервантов* - химических веществ, оказывающих бактерицидное действие, - состоит в обеспечении стерильности инактивированных вакцин, выпущенных стерильными. Наиболее распространенным консервантом является натрия мертиолат (тиомерсал), представляющий собой органическую соль ртути. Содержание препарата в АКДС-вакцине<sup>\*</sup>, анатоксинах, вакцине против гепатита В и других сорбированных препаратах не более 50 мкг в дозе.

В качестве *адъюванта* используют, как правило, алюминия гидроксид.

Вторая группа включает вещества, присутствие которых в вакцинах обусловлено технологией их производства (гетерологичные белки субстрата культивирования, например - овальбумин в гриппозных вакцинах, антибиотики, вносимые в культуру клеток при производстве вирусных вакцин, компоненты питательной среды, вещества, используемые для вакцинации). По требованиям ВОЗ содержание гетерологичного белка в парентерально вводимых вакцинах не должно превышать 0,5 мкг в прививочной дозе, а содержание антибиотиков (канамицина или мономицина) в коревой, паротитной и краснушной вакцинах должно быть не выше 10 ЕД в прививочной дозе.

При производстве вирусных вакцин запрещено использовать в качестве тканевых культур клетки злокачественных опухолей, а также антибиотики, обладающие выраженными сенсибилизирующими или токсическими свойствами (пенициллин и его производные, стрептомицин, тетрациклины). При производстве бактериальных вакцин антибиотики не используются вовсе.

Перечень вакцин, выпускаемых в Российской Федерации, представлен в табл. 6.1.

Таблица 6.1. Вакцины, выпускаемые в Российской Федерации

Виды вакцин	Инфекции, для профилактики которых применяются вакцины
Живые вакцины	Бруцеллез, грипп, корь, ку-лихорадка, желтая лихорадка, эпидемический паротит, полиомиелит, сибирская язва, туберкулез, сыпной тиф, туляремия, чума
Убитые (инактивированные) и субъединичные вакцины	Бешенство, брюшной тиф, грипп, клещевой энцефалит, коклюш, холера, лептоспироз, гепатит А, сыпной тиф, герпес
Химические вакцины	Менингококковая инфекция, холера, брюшной тиф
Анатоксины	Дифтерия, столбняк, гангрена, ботулизм, холера,

	стафилококковые и синегнойная инфекции
Рекомбинантные вакцины	Гепатит В
Гриппозная вакцина с полиоксидонием	Грипп, ОРЗ, аденовирусные инфекции

Вакцинация населения Российской Федерации производится согласно Национальному календарю профилактических прививок, утвержденному Приказом Минздравсоцразвития от 31.01.2011 г. № 51н (табл. 6.2).

Таблица 6.2. Национальный календарь профилактических прививок

Возраст	Наименование прививки	Вакцины
Новорожденные (в первые 24 ч жизни)	Гепатитная В (1-я прививка)	Эувакс В 0,5 <sup>а</sup>
Новорожденные (3-7 дней)	Туберкулезная (1-я прививка)	БЦЖ-М <sup>а</sup>

Продолжение табл. 6.2

Возраст	Наименование прививки	Вакцины
1 мес	Гепатитная В (2-я прививка) (в том числе дети из групп риска)	Эувакс В 0,5 <sup>а</sup>
2 мес	Гепатитная В (3-я прививка) (дети из групп риска)	Эувакс В 0,5 <sup>а</sup>
3 мес	Дифтерийно-коклюшно-столбнячная (1-я прививка) Полиомиелитная (1-я прививка)	Инфанрикс <sup>а</sup> Имовакс <sup>а</sup> Полио <sup>а</sup> Пентаксим <sup>а</sup>
	Против гемофильной инфекции (1-я прививка)	Акт-ХИБ <sup>а</sup> Хиберикс <sup>а</sup> Пентаксим <sup>а</sup>
4,5 мес	Дифтерийно-коклюшно-столбнячная (2-я прививка) Полиомиелитная (2-я прививка)	Инфанрикс <sup>а</sup> Имовакс <sup>а</sup> Полио <sup>а</sup> Пентаксим <sup>а</sup>
	Против гемофильной инфекции (2-я прививка)	Акт-ХИБ <sup>а</sup> Хиберикс <sup>а</sup> Пентаксим <sup>а</sup>
6 мес	Гепатитная В (3-я прививка)	Эувакс В 0,5 <sup>а</sup>
	Дифтерийно-коклюшно-столбнячная (3-я прививка) Полиомиелитная (3-я прививка)	Инфанрикс <sup>а</sup> Имовакс <sup>а</sup> Полио <sup>а</sup> Пентаксим <sup>а</sup>
	Против гемофильной инфекции (3-я прививка)	Акт-ХИБ <sup>а</sup> Хиберикс <sup>а</sup> Пентаксим <sup>а</sup>

12 мес	Гепатитная В (4-я прививка) (дети из групп риска)	Эувакс В 0,5*
	Коревая, краснушная, паротитная (1-я прививка)	Приорикс*Вакцина для профилактики кори Вакцина для профилактики краснухи
18 мес	Дифтерийно-коклюшно- столбнячная (1-я ревакцинация) Полиомиелитная (1-я ревакцинация)	Инфанрикс*Имовакс* Полио* Пентаксим*
	Против гемофильной инфекции (ревакцинация)	Акт-ХИБ* Хиберикс*

Продолжение табл. 6.2

Возраст	Наименование прививки	Вакцины
20 мес	Полиомиелитная (2-я ревакцинация для ОПВ)	ОПВ*
6 лет	Коревая, краснушная, паротитная (ревакцинация)	Приорикс*Вакцина для профилактики кори Вакцина для профилактики краснухи
6-7 лет	Дифтерийно-столбнячная (2-я ревакцинация)	АДС-М*
	Полиомиелитная (2-я ревакцинация для ИПВ)	Имовакс*Полио*
7 лет	Туберкулезная (ревакцинация) (неинфицированным, при отрицательной пробе Манту)	БЦЖ-М*
14 лет	Дифтерийно-столбнячная (3-я ревакцинация)	АДС-М*
	Туберкулезная (ревакцинация) (неинфицированными не привитым в 7 лет, при отрицательной пробе Манту)	БЦЖ-М*
	Полиомиелитная (3-я ревакцинация)	Имовакс*Полио*
Взрослые от 18 лет	Дифтерийно-столбнячная (каждые 10 лет с момента последней ревакцинации)	АДС-М*
Дети от 1 до 18 лет, взрослые от 18 до 55 лет, не привитые ранее	Гепатитная В	Эувакс В 0,5* Энджерикс В 1,0*Эувакс В 1,0*

Дети от 1 до 18 лет; девушки от 18 до 25 лет, не болевшие, не привитые ранее	Краснушная	Вакцина для профилактики краснухи
Подростки и взрослые в возрасте до 35 лет, не болевшие, не привитые	Коревая	Вакцина для профилактики краснухи

Окончание табл. 6.2

Возраст	Наименование прививки	Вакцины
Взрослые и дети с 6 мес	Гриппозная	Ваксигрипп <sup>▲</sup> Инфлювак <sup>▲</sup> Инфлексал <sup>▲</sup>
	Пневмококковая	Пневмо 23 <sup>▲</sup> Превенар <sup>▲</sup>
	Менингококковая	Менинго А+С <sup>▲</sup> Менцевакс АСWУ <sup>▲</sup>
	Гепатитная А	Хаврикс 720 <sup>▲</sup> Хаврикс 1440 <sup>▲</sup>
	Брюшнотифозная	Вианвак <sup>▲</sup>

Иммунизация в рамках Национального календаря профилактических прививок проводится вакцинами отечественного и зарубежного производства, зарегистрированными и разрешенными к применению в установленном порядке в соответствии с инструкциями по их применению.

1. Детям, родившимся от матерей - носителей вируса гепатита В или больных вирусным гепатитом В в III триместре беременности, вакцинация против вирусного гепатита В проводится по схеме 0-1-2-12 мес.

2. Вакцинация против гепатита В в 13 лет проводится ранее не привитым по схеме 0-1-6 мес.

3. Вакцинация против краснухи проводится девочкам в 13 лет, ранее не привитым или получившим только одну прививку.

4. Ревакцинация против туберкулеза проводится не инфицированным микобактериями туберкулеза туберкулиноотрицательным детям.

5. Ревакцинация против туберкулеза в 14 лет проводится не инфицированным микобактериями туберкулеза туберкулиноотрицательным детям, не получившим прививку в 7 лет.

6. Применяемые в рамках Национального календаря профилактических прививок вакцины (кроме БЦЖ<sup>▲</sup>) можно вводить одновременно разными шприцами в разные участки тела или с интервалом в один месяц.

7. При нарушении срока начала прививок последние проводятся по схемам, предусмотренным настоящим календарем и инструкциями по применению препарата.

Разработка новых вакцин осуществляется по следующим основным направлениям:

- создание ассоциированных вакцин на основе существующих монопрепаратов;
- расширение номенклатуры вакцин;

- использование новых технологий.

*Ассоциированные вакцины.* Разработка ассоциированных вакцин проводится на основе существующих монопрепаратов. К ассоциированным препаратам, выпускаемым в России, относятся вакцины АКДС\*, менингококковая А+С\*, а также АДС-анатоксины. В настоящее время за рубежом проходят клинические испытания такие ассоциированные препараты, как шестивалентная вакцина, содержащая дифтерийный и столбнячный анатоксины, бесклеточную коклюшную вакцину, HbsAg, конъюгированный полисахарид *H. Influenzae b*, инактивированную полиомиелитную вакцину; четырехвалентная живая вирусная вакцина против кори, краснухи, эпидемического паротита и ветряной оспы; комбинированная вакцина против гепатита А и В и ряд других препаратов.

Расширение номенклатуры вакцин ведется как в отношении инфекций, против которых ранее не имелось средств специфической профилактики, против широко распространенных инфекционных болезней с целью последующего включения в календарь прививок, так и в отношении препаратов против эндемичных инфекций.

#### Новые технологии получения вакцин

*Вакцины, получаемые с помощью методов генной инженерии.* Получение подобных препаратов заключается во встраивании гена, кодирующего определенное биологическое соединение, в вектор с помощью высокоспецифических ферментов - рестрикционных эндонуклеаз, разрезающих ДНК вектора в строго определенных местах, и лигаз, вшивающих генную вставку в вектор. Следующий этап заключается в отборе клонов, несущих данный ген, и их размножении. Непременное условие для такого рода препаратов - сохранение способности вектора к размножению в организме человека.

*Вакцины на основе трансгенных растений.* С помощью методов генной инженерии представляется возможным «внедрить» чужеродные гены почти во все сельскохозяйственные культуры, получив при этом стабильные генетические трансформации. Данные технологии особенно перспективны по получению оральных вакцин. Подобного рода «растительные вакцины» весьма перспективны:

- в ДНК растений может быть встроено до 150 чужеродных генов;
- будучи пищевыми продуктами, применяются орально;
- их использование приводит как к развитию системного иммунитета, так и местного иммунитета кишечника (иммунитет слизистых оболочек).

*Антиидиотипические вакцины* получают в результате изготовления ряда моноклональных антител к идиотипам молекул иммуноглобулина, обладающего протективной активностью.

*Вакцины в биодеградируемых микросферах.* Инкапсуляция антигенов в микросферы представляет собой заключение их в защитные полимеры с образованием специфических частиц. Наиболее часто используемым полимером для этих целей является poly-DL-lactide-co-glycolide (PLGA), который в организме подвергается гидролизу с образованием молочной и гликолевой кислот, являющихся нормальными продуктами обмена веществ. При этом скорость выделения антигена может варьировать от нескольких дней до нескольких месяцев.

*Липосомальные вакцины.* Липосомы представляют собой пузырьки с двухслойной мембраной, состоящей из фосфолипидов, их используют для транспортировки антигенов к антигенпрезентирующим клеткам. Размеры липосом варьируют от 0,01 до 150 мкм. Антигены могут включаться в липосомы в растворимой водной фазе или прикрепляться к мембране. При этом отмечается как снижение их токсичности, так и более продолжительная циркуляция. Липосомы являются и иммунными адьювантами. В Швейцарии разработана липосомальная вакцина против гепатита А, проходят испытания вакцины для

парентеральной иммунизации против гриппа, гепатитов А и В, дифтерии, столбняка и гепатита А.

*Синтетические пептидные вакцины.* Альтернативой иммунизации живыми и инактивированными вакцинами является использование синтетических аналогов пептидов для производства вакцин. В отличие от традиционных вакцинных препаратов, данные вакцины, будучи целиком синтетическими, не несут в себе риска реверсии или неполной инактивации; помимо этого, их эпитопы могут быть селекционированы и освобождены от компонентов, которые определяют развитие побочного действия.

*Поствакцинальные осложнения.* Так как в состав вакцин, кроме чужеродных антигенов, входят консервант (мертиолят), антибиотики (канамицин, мономицин и др.), гетерологичные белки (дрожжевые, сыворотка крупного рогатого скота, белки яйца) - это может приводить к поствакцинальным осложнениям (табл. 6.3).

Таблица 6.3. Возможные осложнения, имеющие причинную связь с вакцинацией

Клинические формы осложнений	Вакцины	Сроки развития после прививки
Анафилактический шок	Все, кроме БЦЖ* и ОПВ*	До 12 ч
Тяжелые генерализованные аллергические реакции (рецидивирующий ангионевротический отек - отек Квинке)	Все, кроме БЦЖ* и ОПВ*	До 5 дней
Синдром сывороточной болезни	Все, кроме БЦЖ* и ОПВ*	До 15 дней
Энцефалит	АКДС*	До 3 дней
	Вакцина для профилактики кори	5-15 дней
Другие поражения ЦНС с генерализованными или фокальными проявлениями:		
- энцефалопатия	АКДС*, АДС*	До 3 дней
- серозный менингит	Вакцина для профилактики кори, вакцина для профилактики паротита	5-15 дней 10-40 дней
Неврит, полиневрит	Инактивируемые	До 30 дней
Резидуальные судорожные осложнения - апфебрильные судороги (появившиеся после прививки при температуре ниже 38,5 °С и отсутствовавшие до прививки), повторившиеся в течение первых 12 мес после прививки	АКДС*, АДС* Вакцина для профилактики кори, вакцина для профилактики паротита, вакцина для профилактики краснухи	До 3 дней 5-10 дней
Вакциноассоциируемый полиомиелит:		
- у привитого здорового	ОПВ*	5-30 дней



- у привитого с иммунодефицитом		5 дней - 6 мес
Тромбоцитопеническая пурпура	Вакцина для профилактики кори	10-25 дней
Артралгия, артрит	Вакцина для профилактики краснухи	5-40 дней
Генерализованная инфекция	БЦЖ*	После 6 нед
Лимфаденит, келоидный рубец	БЦЖ*	После 6 нед

Помимо перечисленных выше осложнений различают также:

- осложнения, вызванные программными ошибками, т. е. связанные с нарушениями правил и техники вакцинации;
- осложнения, вызванные вакциной как таковой (поствакцинальные осложнения);
- события, косвенно связанные с вакцинацией (например, фебрильные судороги в результате температурной реакции, вызванные вакциной);
- случайные совпадения.

*Истинные поствакцинальные осложнения* могут быть связаны с различным влиянием вакцинного препарата на организм:

- токсический (фармакологический) эффект (инактивированные корпускулярные вакцины);
- инфекционный вакцинальный процесс (живые вакцины);
- сенсбилизация;
- аутосенсбилизация;
- реверсия вирулентных (живые вакцины) или токсигенных (анатоксины) свойств;
- влияние на генетический аппарат клетки.

К *побочным явлениям*, вызванным вакцинами, относятся все изменения функций органов и тканей, которые выходят за пределы физиологических колебаний и не способствуют развитию иммунитета.

Любые осложнения, возникающие после вакцинации, не способствуют развитию специфического иммунитета. Побочное действие вакцин может быть обусловлено действующим началом препарата или содержащимися в нем примесями, а общий побочный эффект вакцинации складывается из различных видов биологического действия ее компонентов.

*Виды побочного действия вакцин:*

- 1) фармакологическое действие;
- 2) поствакцинальный инфекционный процесс, вызванный:
  - остаточной вирулентностью вакцинного штамма;
  - реверсией патогенных свойств вакцинного штамма;
- 3) туморогенное действие;
- 4) индукция образования антител к непротективным антигенам вакцин;
- 5) аллергия;

- к антигенам вакцины;
- к примесям и добавкам;
- к экзоаллергенам, не связанным с вакциной;

б) иммуномодулирующее действие:

- действие антигенов вакцин;
- действие сорбента, носителей и др.;
- действие цитокинов, присутствующих в вакцинах;

7) индукция аутоиммунных состояний;

8) индукция иммунодефицитных состояний;

9) психогенное действие вакцин.

*Фармакологическое действие.* Вакцины вызывают образование различных медиаторов иммунного ответа с выраженным фармакологическим действием (интерферон вызывает лихорадку, гранулоцитопению и токсические явления в ЦНС; IL-1 $\beta$  является одним из основных провоспалительных цитокинов, обладающих системным воздействием на макроорганизм).

*Поствакцинальный инфекционный процесс* связан с остаточной вирулентностью вакцинного штамма и реверсией его патогенных свойств (лимфадениты, остеомиелиты при введении БЦЖ<sup>а</sup>).

*Туморогенное действие вакцин.* В связи с интенсивным развитием биотехнологии, прежде всего рекомбинантной технологии, с использованием клеточных линий и гибридом особое значение приобретает безопасность генно-инженерных вакцин в смысле их влияния на человека, на генетический аппарат клетки и возможность обсеменения окружающей среды генетически измененными возбудителями. К таким препаратам относятся рекомбинантные вакцины, рекомбинантные цитокины (интерфероны, интерлейкины, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, фактор некроза опухолей), моноклональные антитела. Безопасность препаратов во многом зависит от качества сырья и материалов первичных и перевиваемых клеточных культур, гибридом, сыворотки крови животных, трипсина, которые могут быть контаминированы различными вирусами и микоплазмами. Для контроля препаратов применяются методы молекулярного анализа (определение содержания ДНК, аминокислотной и нуклеотидной последовательности, методы молекулярной гибридизации с применением ПЦР).

Присутствие в препаратах гетерологичной ДНК в большой концентрации представляет онкогенную опасность, так как ДНК может вызвать инактивацию супрессорных онкогенов или активацию протоонкогенов после ее интеграции с клеточным геномом.

*Индукция образования антител к непротективным антигенам вакцин.* Корпускулярные и многие растворимые вакцины представляют собой набор антигенных детерминант, число которых в одной вакцине может достигать нескольких десятков. Лишь небольшая часть этих детерминант обеспечивает развитие антиинфекционного иммунитета. Остальные антигены вызывают продукцию антител-свидетелей, не играющих существенной роли в становлении иммунитета.

*Аллергия.* Вакцины содержат разнообразные сенсибилизирующие субстанции. Большинство вакцин содержат различные примеси и добавки: гетерологичный белок, консерванты, ростовые факторы, стабилизаторы, сорбенты и др. (табл. 6.4).

Таблица 6.4. Содержание примесей, консервантов и сорбентов в вакцинах, выпускаемых в Российской Федерации

Примесь	Предельная концентрация
Гетерологичный белок:	
- яичный	0,5 мкг/доза
- бычий сывороточный	0,5 мкг/доза
ДНК	100 пг/доза
Антибиотики:	
- канамицин	150 мкг/мл
- гентамицин	0,04 мкг/мл
Мертиолят	0,01%
Фенол	0,2%
Формальдегид	0,01%
Сорбент (гидроокись алюминия)	1,5 мкг/мл

Некоторые вакцины стимулируют синтез IgE, что создает возможность немедленной аллергии к неродственным антигенам. АКДС-вакцина<sup>а</sup> способствует появлению аллергических реакций на пыльцу растений, на клещи домашней пыли и т. д.

*Иммуномодулирующее действие вакцин.* Многие возбудители и бактериальные препараты (пептидогликаны, ЛПС, белок А) обладают ярко выраженными неспецифическими иммуномодулирующими свойствами, влияющими на развитие иммунного ответа к другим антигенам.

Неспецифические реакции клеток возникают не только в результате прямого действия микробных продуктов на клетки, они могут быть опосредованы через медиаторы, выделяющиеся из лимфоцитов или макрофагов под влиянием этих продуктов.

Одно из новых направлений в изучении побочного действия вакцин - определение различных цитокинов в препаратах, для изготовления которых используются культуры клеток эукариотов. Многие цитокины (IL-1, IL-6, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор) могут присутствовать в полиомиелитной, антирабической, коревой, краснушной вакцинах. Цитокины могут быть причиной повышенной реактогенности отдельных серий вакцин.

*Индукция иммунодефицитных состояний.* При соответствующих условиях поступления вакцины в организм (сроки, доза) происходит супрессия иммунного ответа. Она зависит от способности микробных антигенов активировать клетки-супрессоры, секрецию простагландина E<sub>2</sub> из макрофагов и т. д. Вакцинация способна подавлять неспецифическую антиинфекционную резистентность. Изучение неспецифического влияния вакцин должно входить в программу доклинических и клинических испытаний новых вакцин. Это позволит определить наиболее рациональные варианты вакцин и схемы их применения.

## 6.2. СОВРЕМЕННЫЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ, ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

*Иммуномодуляция - это своего рода коррекция процессов иммунитета. Все фармакологические препараты, обладающие этим свойством, делятся на препараты, стимулирующие процессы иммунитета, и иммунодепрессивные.*

Целесообразно выделить третью группу препаратов этого класса - собственно иммуномодуляторы, т. е. вещества, оказывающие разнонаправленное действие на иммунную систему в зависимости от ее исходного состояния.

Таким образом, в зависимости от эффекта действия иммуномодуляторы подразделяют следующим образом:

- иммунодепрессанты (иммуносупрессоры);
- иммуностимуляторы;
- собственно иммуномодуляторы.

Иммунодепрессанты (иммуносупрессоры) - это средства, подавляющие иммунный ответ. К ним относятся лекарственные препараты, обладающие иммулотропностью или оказывающие неспецифическое действие, а также другие агенты биологической или химической природы, угнетающие иммунные процессы.

Иммуностимуляторы - это средства, усиливающие иммунный ответ. К ним относятся лекарственные препараты, пищевые добавки, адъюванты и другие агенты биологической или химической природы, стимулирующие иммунные процессы.

Иммуномодуляторы - это лекарственные средства, обладающие иммулотропной активностью, которые в терапевтических дозах восстанавливают функции иммунной системы (эффективную иммунную защиту).

Практически все природные вещества, обладающие способностью воздействовать на иммунитет, можно подразделить на экзогенные и эндогенные иммуномодуляторы (схема 6.1).

Подавляющее большинство экзогенных иммуномодуляторов - это вещества микробного происхождения: в основном бактериального и грибкового. Известны также препараты растительного происхождения (экстракт коры мыльного дерева, полисахарид из проростков картофеля - вегетан).

Вещества эндогенного происхождения в соответствии с историей их появления условно можно подразделить на две группы: иммунорегуляторные пептиды и цитокины.

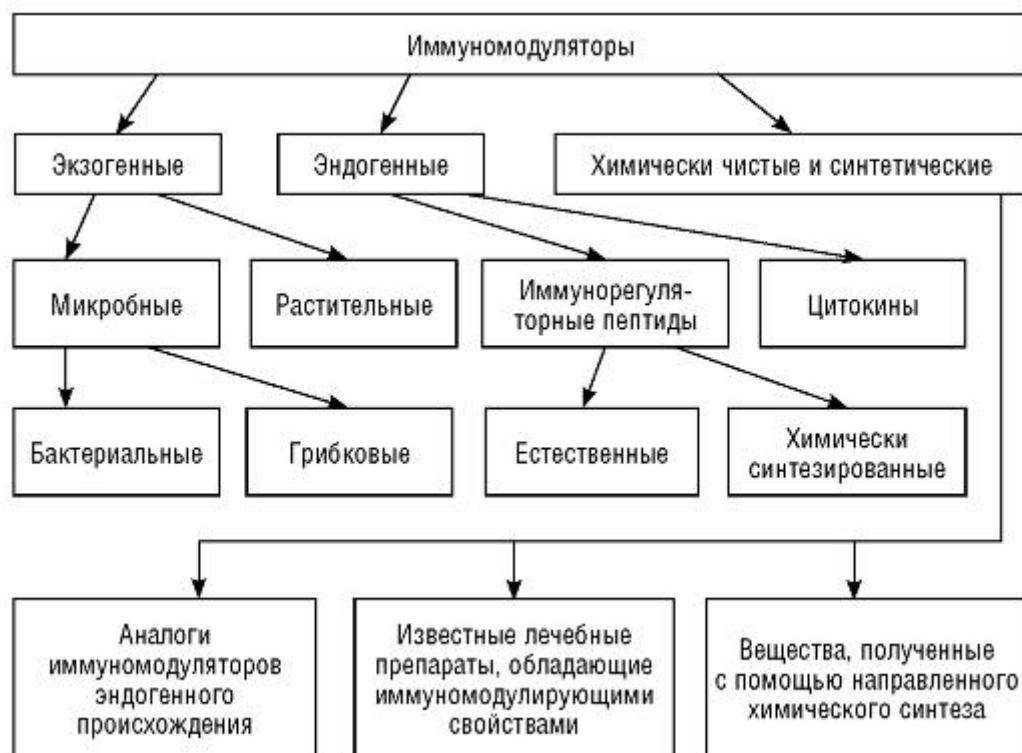


Схема 6.1. Иммуномодуляторы

Иммунорегуляторные пептиды являются в основном экстрактами из органов иммунной системы (тимуса, селезенки) или продуктами их жизнедеятельности (костного мозга).

Под цитокинами понимают всю совокупность биологически активных белков, продуцируемых лимфоцитами и макрофагами: интерлейкины, монокины, интерфероны. В иммунотерапии они используются в виде рекомбинантных препаратов (беталейкин<sup>®</sup>, ронколейкин<sup>®</sup>).

В настоящее время проявление инфекционной патологии характеризуется наличием двух взаимосвязанных и взаимообусловленных процессов:

- 1) ростом количества хронических инфекционных заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами с атипичными биологическими свойствами, часто с множественной устойчивостью к антибиотикам;
- 2) снижением иммунологической реактивности населения, наблюдаемым практически во всех развитых странах.

Существуют три основные группы заболеваний иммунной системы: иммунодефициты, аллергические и аутоиммунные процессы, при которых показана иммуномодулирующая терапия. Наибольшую эффективность от назначения иммуномодуляторов с иммуностимулирующими свойствами следует ожидать при вторичных или приобретенных иммунодефицитах, которые в 80-90% случаев проявляются в виде инфекционного синдрома.

При *аллергических заболеваниях* использование иммуномодуляторов целесообразно в тех случаях, когда эти заболевания осложнены какими-либо проявлениями вторичной иммунологической недостаточности: атопический дерматит с пиодермией, бронхиальная астма с явлениями хронического гнойно-обструктивного бронхита, рецидивирующей герпетической или цитомегаловирусной инфекцией и т. д. Однако во всех случаях иммуномодулирующая терапия направлена не на основную причину заболевания. При аллергических заболеваниях отмечают активацию Th2-клеток и повышение продукции IL-

2, -4, -5, -13. IL-5 способствует созреванию эозинофилов и их активации. IL-4 и IL-13 индуцируют синтез IgE В-клетками. Следовательно, существенной причиной аллергического процесса служит повышенная активность Th2-клеток, поэтому иммуномодулирующая терапия должна быть направлена на снижение активности Th2-клеток и повышение активности Th1-клеток. Однако в настоящее время не существует иммуномодуляторов с доказанной селективной способностью изменять активность Th1- и Th2-клеток в нужном направлении, поэтому внедрение в практику соответствующих иммунокорректоров, обладающих избирательной способностью снижать синтез и секрецию цитокинов Th2-клетками, является актуальной задачей.

При аутоиммунных заболеваниях, так же как и при аллергических, довольно широко применяются иммунодепрессанты для подавления воспалительного процесса. Но их применение является не этиотропным, а симптоматическим. В основе этиопатогенеза многих аутоиммунных заболеваний, как и аллергических процессов, лежит дисбаланс Th1- и Th2-клеток, когда активность Th1-клеток выше, чем Th2-клеток, поэтому, как и при аллергических заболеваниях, основанием для применения иммуномодуляторов при аутоиммунных заболеваниях будут инфекционные процессы с целью снижения риска инфекционных осложнений.

Эффективным при аутоиммунных заболеваниях оказалось применение препаратов  $\beta$ -интерферона, снижающего продукцию IFN $\gamma$  и IFN $\alpha$ . Разрабатываются и лекарственные средства химического происхождения - синтетические ко-полимеры из аминокислот и другие, обладающие способностью изменять в организме баланс Th1- и Th2-клеток.

Вторичные иммунодефициты служат главной мишенью применения иммуномодулирующих препаратов. Вторичные иммунодефициты проявляются частыми, рецидивирующими трудно поддающимися лечению инфекционно-воспалительными процессами различной локализации. При назначении иммуномодулирующих препаратов учитываются основные принципы антиинфекционной защиты (см. схему 4.2).

При проникновении инфекционного начала в макроорганизм первой клеткой, которая взаимодействует с ним, является тканевой макрофаг, который затем инициирует развитие неспецифической резистентности и специфического иммунного ответа.

По механизму действия иммуномодулирующие препараты подразделяют по их преимущественному влиянию на моноциты, макрофаги, В- и Т-клетки, НК-клетки. Как правило, мишенями для препаратов микробного происхождения (продигиозан<sup>\*</sup>, пирогенал<sup>\*</sup>, рибомунил<sup>\*</sup>, ликопид<sup>\*</sup> и др.) служат фагоциты: нейтрофилы/макрофаги, естественной задачей которых является элиминация микробов из организма. Параллельно с этим происходит и активация цитотоксической функции макрофагов, что проявляется в их способности разрушать *in vitro* сингенные и аллогенные опухолевые клетки. Как правило, активированные моноциты и макрофаги начинают синтез ряда цитокинов: IL-1, IL-3, TNF $\alpha$ , колониестимулирующих факторов и т. д. Следствием этого является активация как гуморального, так и клеточного иммунитета. На фагоцитарное звено иммунитета действует и полимерный иммуномодулятор полиоксидоний<sup>\*</sup>, который активирует все клетки моноцитарно-фагоцитарной системы.

Следствием этого является усиление функциональной активности факторов как клеточного, так и гуморального иммунитета. Иммунофан<sup>\*</sup>, бестим<sup>\*</sup> - препараты тимического происхождения, точкой их приложения являются Т-лимфоциты. Некоторые иммуномодуляторы, такие как миелопид<sup>\*</sup>, обладают способностью активировать иммунную систему в обоих направлениях. Так, компонент МП-1 действует преимущественно на Т-клетки, компонент МП-3 - на макрофаги, усиливая их цитотоксичность, экспрессию антигенов HLA-DR и способность представлять антигенные пептиды.

Естественной мишенью для действия препаратов тимического происхождения являются Т- и В-клетки, вследствие чего усиливаются их пролиферация и дифференцировка. Проллиферация проявляется индукцией синтеза Т-клетками цитокинов и усилением их цитотоксических свойств, дифференцировка - усилением синтеза антител.

В настоящее время в учении об иммуномодуляторах происходит смена эмпирического подхода к более научно обоснованному, что отражается в:

- применении вместо микробных клеток или грубых экстрактов из центральных или периферических лимфоидных органов химически чистых и (или) химически чистых синтетических аналогов биологически активных природных веществ;
- использовании синтетических иммуномодуляторов, не имеющих природных аналогов (синтетические полиэлектролиты);
- применении рекомбинантных цитокинов - естественных регуляторов иммуногенеза;
- поиске веществ, которые с той или иной степенью специфичности действуют как индукторы естественных регуляторов иммуногенеза - цитокинов;
- направленном синтезе новых химических соединений, обладающих тропностью по отношению к иммунной системе.

Основные принципы воздействия на иммунную систему (по Р. М. Хаитову, Б. В. Пинегину) представлены на схеме 6.2.

Назначение иммуномодуляторов больным с недостаточностью антиинфекционной защиты также имеет свои особенности:

- иммуномодуляторы назначают в комплексной терапии одновременно с антибиотиками, противогрибковыми, противопаразитарными или противовирусными препаратами;

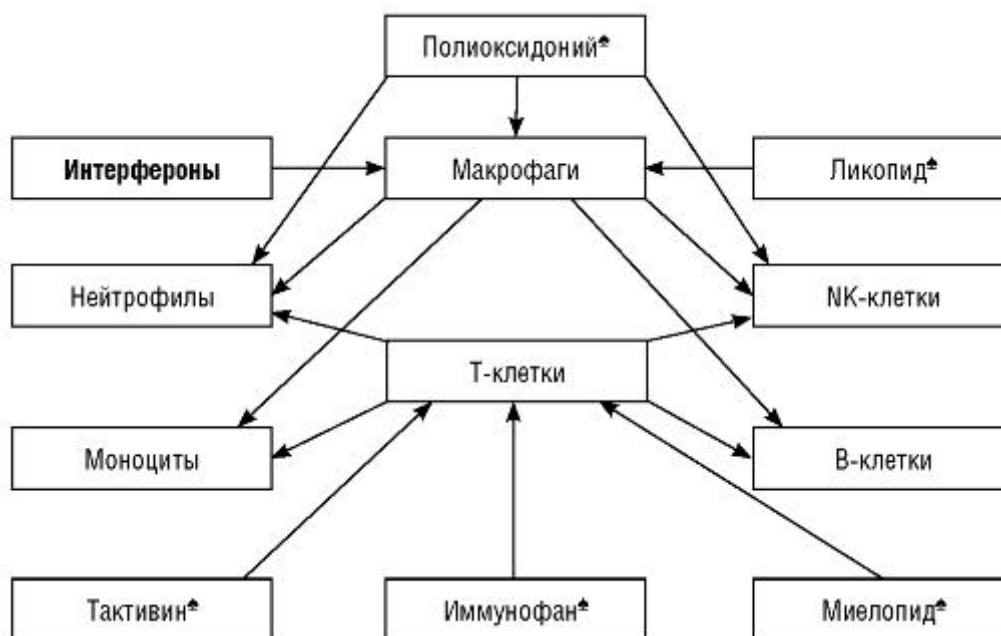


Схема 6.2. Основные принципы воздействия иммуномодуляторов на иммунную систему

- целесообразно как можно ранее назначение иммуномодулятора - с первого дня применения химиотерапевтического этиотропного средства;

- иммуномодуляторы, действующие на фагоцитарное звено иммунитета, можно назначать больным как с выявленными, так и с невыявленными нарушениями иммунного статуса, т. е. исходя из клинической картины заболевания;
- иммуномодуляторы целесообразно применять на фоне иммунологического мониторинга, который следует проводить вне зависимости от выявленных или не выявленных исходных изменений в иммунной системе;
- иммуномодуляторы можно применять и в виде монотерапии при проведении иммунореабилитационных мероприятий, в частности, при неполном выздоровлении после перенесенного острого инфекционного заболевания;
- снижение какого-либо параметра иммунитета, выявленное при иммунодиагностическом обследовании у практически здорового человека, не служит основанием для назначения ему иммуномодулирующей терапии.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие лабораторные тесты могут подтвердить эффективность иммунизации?
2. Какие последствия могут сопровождать введение чужеродного (на основе лошадиных сывороток) антитоксина для пассивной защиты человека?
3. Почему пока не созданы аттенуированные вакцины против большинства вирусных и бактериальных инфекций?
4. Каковы основные механизмы действия иммуномодуляторов?
5. Перспективны ли иммуномодуляторы точечного приложения по сравнению с иммуномодуляторами, воздействующими на различные звенья иммунитета?

## Глава 7. РЕАКЦИИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Аллергия - особое иммунологическое состояние организма, которое характеризуется повышенной чувствительностью к антигенам (аллергенам) и патологическими изменениями в клетках. При аллергии в результате повторных антигенных раздражений развиваются не защитные, а повреждающие иммунные реакции. По существу аллергия - это особый вариант иммунопатологии.

Аллергенами могут быть практически все высоко- и низкомолекулярные соединения органической и неорганической природы (антигены и гаптены): бытовые, грибковые, животного происхождения, лекарственные, пищевые, микробные, растительные, простые химические вещества и т. д.

Интенсивность аллергической реакции зависит от природы аллергена, экспозиционной дозы, пути поступления аллергена в организм, генотипа индивидуума и состояния иммунной системы.

По данным многих авторов наследственная предрасположенность к поллинозам и атопической экземе ассоциирована с генотипом HLA-A1, B8; к атопическому дерматиту - с HLA-Bw35, к бронхиальной астме - с HLA-B12, однако абсолютной предрасположенности к той или иной форме аллергических реакций, связанных с генотипом индивидуума, не выявлено.

Результаты изучения заболеваемости и распространенности аллергических болезней в разных странах свидетельствуют, что в настоящее время эти болезни поражают до 20-40% населения.



R. Coombs и P. Gell (1969) выделили четыре типа аллергических реакций, которые на практике далеко не всегда могут проявляться отдельно.

I тип - реагиновый, или гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ).

II тип - антителозависимая цитотоксичность, клинические проявления обусловлены в основном цитотоксичностью антител классов IgG и IgM.

III тип - иммунокомплексный, клинические проявления обусловлены иммунокомплексной цитотоксичностью, иммунные комплексы также в основном образованы IgG и IgM.

IV тип - реакции, обусловленные сенсibilизированными эффекторными лимфоцитами, или клеточные реакции (реакции гиперчувствительности замедленного типа - ГЗТ).

*I тип - реагиновый, или гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ)*, обусловлен IgE, реже IgG<sub>4</sub>-реагинами. Этот процесс не имеет каких-либо клинических проявлений и заканчивается присоединением указанных реагинов к тучным клеткам и базофилам (иммунологическая фаза ГНТ). За иммунологической фазой следует патохимическая фаза, в результате которой происходит соединение специфических аллергенов с реагинами, приводящее к дегрануляции тучных клеток (находятся в коже, верхних и нижних отделах путей дыхательного тракта, в свободном состоянии в просвете бронхов, в слизистой оболочке ЖКТ, в соединительной ткани по ходу кровеносных сосудов и нервных волокон. Их содержание в перечисленных выше тканях значительное:  $10^6$  кл./г в легких,  $10^4$  кл./мм<sup>3</sup> в коже,  $2 \times 10^4$  кл./мм<sup>3</sup> в двенадцатиперстной кишке. Сенсibilизированные иммуноглобулинами тучные клетки выделяют биологически активные медиаторы (гистамин, гепарин, серотонин, ацетилхолин, хемотаксические факторы эозинофилов и нейтрофилов, фактор активации тромбоцитов и др.), которые вызывают острую воспалительную реакцию с симптомами астмы или ринита, поллиноза, крапивницы, отека Квинке. Механизм развития патофизиологической стадии показан на рис. 7.1.

IgE-активация тучных клеток сопровождается и выделением многофункциональных цитокинов. Так, IL-3 и IL-4 способны оказывать сильное аутокринное действие на тучные клетки, а IL-5, IL-8, IL-9 принимают участие в хемотаксисе и активации клеток зоны воспаления. Схему развития фаз иммунного ответа при аллергии можно представить следующим образом (схема 7.1).

Важное свойство IgE - высокая аффинность к Fc-участкам рецепторов тучных клеток и базофилов. Хотя период полужизни свободных IgE в сыворотке крови составляет всего несколько суток, тучные клетки могут оставаться сенсibilизированными IgE в течение многих месяцев благодаря высокой аффинности связывания этих иммуноглобулинов с рецепторами FcεRI, которые защищают IgE от разрушения сывороточными протеазами. FcεRII обладает гораздо меньшим сродством к IgE. Фиксация свободной молекулы IgE на рецепторе не сопровождается проведением в клетку активационного сигнала.

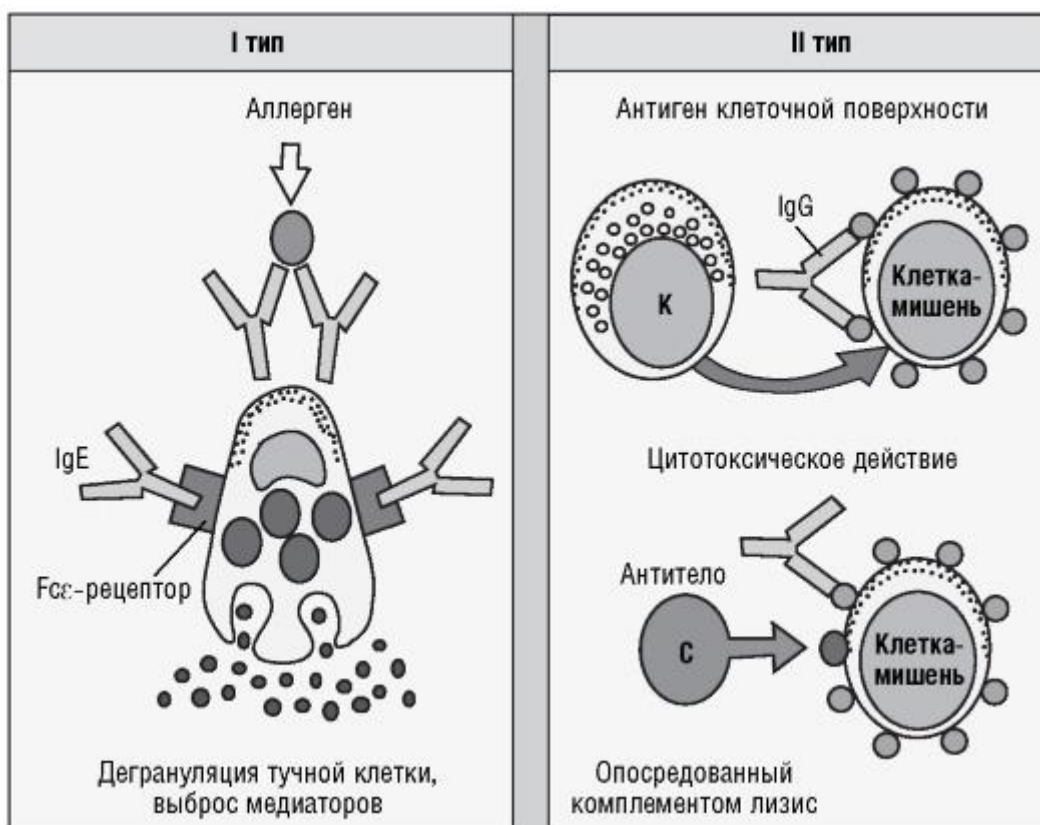


Рис. 7.1. Реакции ГНТ I типа связаны с IgE и последующей дегрануляцией тучных клеток. Реакции II типа связаны с IgG, IgM и системой комплемента с последующим развитием клеточного лизиса (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Массовая фиксация IgE-антител к конкретному антигену на поверхностных рецепторах тучных клеток и базофилов называется сенсibilизацией к данному антигену-аллергену. В результате возрастает чувствительность этих клеток к действию минимальных количеств вновь поступающего аллергена, усиливается и выброс активированными клетками медиаторов и цитокинов.

Преимущественный синтез IgE у индивидуумов, склонных к реакциям ГНТ I типа (атопии, анафилактический шок, отек Квинке), связан с дифференцировкой Th в сторону Th2. При нормальном соотношении Th1/Th2 иммунный ответ обычный. Преобладание продукции антител изотипа IgE может быть связано и с природой самого антигена-аллергена, путей его попадания в организм, способов его презентации иммунокомпетентным клеткам. Атопические реакции вызывают мелкие белковые молекулы (молекулярная масса 5-15 кДа) с хорошей растворимостью, обладающие ферментативной активностью протеаз.

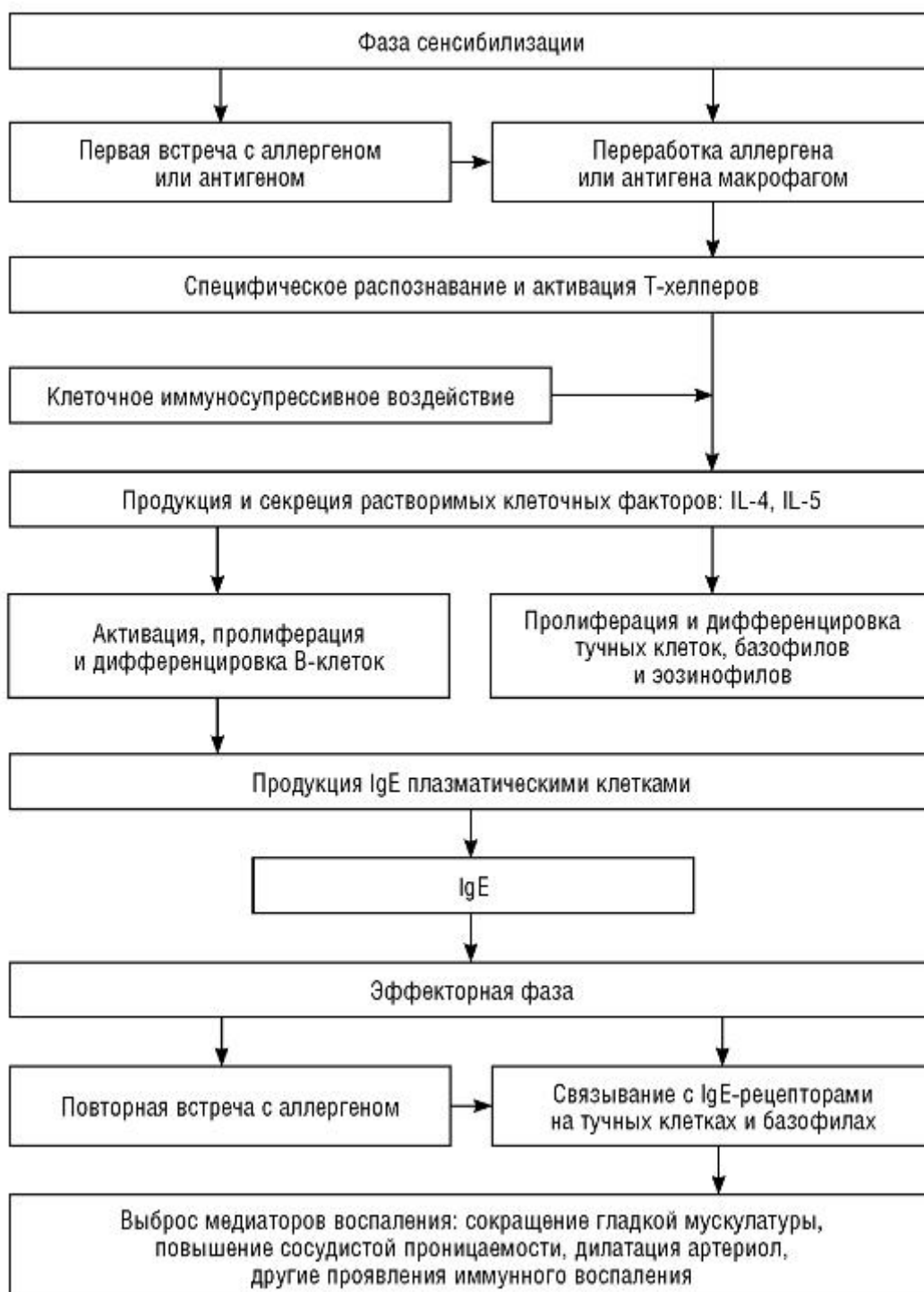


Схема 7.1. Фазы иммунного ответа при аллергии

Эти антигены-аллергены способствуют индукции синтеза IL-4, селективное накопление IL-4 в микроокружении Th0 способствует их дифференцировке в Th2. Активированные Th2 продуцируют и секретируют IL-4, IL-13, экспрессируют CD40L и CD23 (низкоаффинный рецептор для IgE). Эти ко-стимулирующие молекулы связываются с их лигандами (CD40 и CD2) на В-лимфоцитах и способствуют переключению на синтез IgE и пролиферации клона В-лимфоцитов. Запущенный IgE-ответ затем поддерживается и усиливается при участии базофилов, тучных клеток и эозинофилов, которые дублируют функции Th2 при переключении В-лимфоцитов на синтез IgE. Эти процессы межклеточных взаимодействий, ведущие к самоподдержанию аллергии, разыгрываются непосредственно в местах проникновения аллергенов: в MALT бронхов, ЖКТ и др.

Дальнейшему усилению синтеза IgE способствуют и другие цитокины, продуцируемые Th2: IL-5, -6, -10, -13. Сдвиг в сторону преобладания Th2-ответа усиливается и под влиянием нитроксидных радикалов (NO) - продуктов цитокиностимулированных эпителиальных клеток дыхательных путей. Нитроксидные радикалы избирательно ингибируют Th1, что сопровождается снижением продукции IFN $\gamma$ , что приводит к повышению секреции IL-10, который, в свою очередь, подавляет активность Th1.

После IgE-опосредованной реакции тучных клеток через несколько секунд развивается немедленная аллергическая реакция, а через 8-12 ч - поздняя воспалительная реакция. *Немедленная реакция* обусловлена действием гистамина, пептидогликанов, протеиназ и других ферментов, простагландинов, токсических медиаторов, вызывающих местное расширение сосудов, быстрое повышение их проницаемости, спазм гладкой мускулатуры, гиперпродукцию слизи, раздражение нервных окончаний. *Поздняя воспалительная реакция* вызвана секрецией активированными тучными клетками лейкотриенов, хемокинов и цитокинов. Эти медиаторы отвечают за привлечение в очаг воспаления Th2, эозинофилов, нейтрофилов и других лейкоцитов. Поздняя воспалительная реакция становится причиной длительных аллергических заболеваний (бронхиальная астма), легко превращается в хроническое воспаление в случае персистенции антигена (рис. 7.2, схема 7.2).

Выраженность клинической картины при развитии аллергической реакции атопического типа зависит от количества фиксированных на клетках специфических IgE-антител, пути проникновения и дозы аллергена.

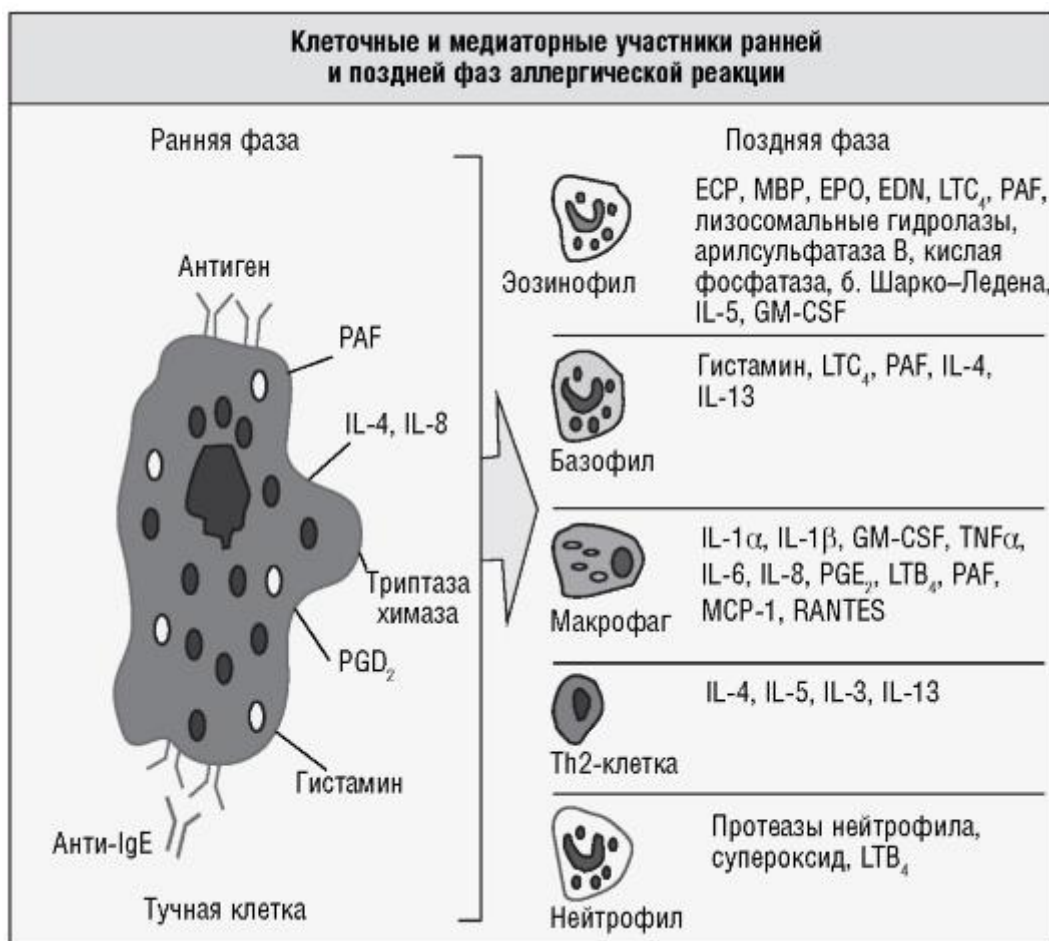


Рис. 7.2. Клеточные и гуморальные факторы ранней и поздней фаз аллергической реакции

В случае парентерального введения аллергена или быстрой абсорбции из ЖКТ наступает одномоментная активация всех соединительнотканых тучных клеток, ассоциированных с кровеносными сосудами. Клинически это проявляется «системной анафилаксией» или «анафилактическим шоком». Наиболее частой причиной системных анафилактических реакций являются:

1) пищевые продукты: морепродукты, рыба, молоко, яйца, орехи, бобовые, цитрусовые, клубника, сыр, шоколад и др.;

2) лекарственные препараты: антибиотики (в первую очередь, пенициллины), сульфаниламиды, витамины (особенно группы В), белковые препараты (кровь, плазма), миорелаксанты, наркотические анальгетики, рентгеноконтрастные вещества, плазмозаменители;



Схема 7.2. Иммунопатогенез ранней и поздней фаз аллергической реакции

- 3) укусы насекомых (ос, пчел и др.);
- 4) паразиты (простейшие, гельминты);
- 5) инфекционные агенты (вирусы, особенно гепатита В и С, бактерии, грибы);
- 6) физические факторы: холод, тепло, физические нагрузки, инсоляция;
- 7) химические вещества: хром, никель, бытовая химия;
- 8) аэроаллергены: бытовые (домашняя пыль), эпидермальные, пыльцевые;
- 9) психогенные (нервно-психический стресс);
- 10) генетические дефекты: дефицит ингибитора C1-компонента комплемента.

Следует также отметить, что крапивница и отек Квинке часто возникают на фоне других заболеваний (болезни пищеварительной системы, опухоли, коллагенозы и др.).

У многих людей аллергия к вдыхаемым аллергенам проявляется атопическим ринитом (результат активации мукозных тучных клеток, ассоциированных с эпителием слизистой носа под влиянием аллергена, проникающего через слизистую оболочку). Клиническую картину атопического ринита вызывает преимущественно гистамин. Атопическую бронхиальную астму вызывает активация теми же вдыхаемыми аллергенами субмукозных тучных клеток нижних отделов дыхательных путей. Последующие обострения

бронхиальной астмы могут провоцироваться различными другими факторами. Двухфазность аллергических реакций наблюдается и при аллергических поражениях кожи. Местная активация тучных клеток кожи немедленно ведет к местному повышению проницаемости сосудов и выходу жидкости из сосудов, проявляющемуся местным отеком и покраснением кожи. Через 8 ч у некоторых индивидуумов развивается и поддерживается более распространенный отек, характеризующий позднюю фазу ответа. Массивный выброс гистамина активированными аллергеном тучными клетками кожи клинически проявляется крапивницей. После острой атопической реакции воспалительный процесс в коже нередко принимает хроническое течение, которое клинически проявляется экземой и рассматривается как атопический дерматит.

Наиболее выраженными клиническими примерами реакций преимущественно ГНТ I типа являются поллинозы, аллергический ринит, бронхиальная астма, крапивница и отек Квинке, атопический дерматит.

*Поллиноз (сенная лихорадка)* - заболевание, обусловленное сенсibilизацией к пыльце различных растений, характеризующееся воспалением слизистых оболочек, преимущественно дыхательных путей и глаз. Поллинозами страдает от 3 до 20% населения земного шара. Это заболевание нередко предшествует бронхиальной астме. Поллиноз вызывается пыльцой различных растений, которая представляет собой мужские половые клетки. Установлено, что пыльца деревьев имеет до 3 антигенов, трав - до 5, сорняков - до 10, которые представлены преимущественно белками. Известны три группы растений, пыльца которых вызывает развитие поллиноза: деревья, злаковые травы, сорняки. В центральной полосе России причиной поллиноза наиболее часто бывают сорные злаки (тимофеевка, овсяница, ежа, лисохвост, мятлик, пырей и др.), деревья (орешник, ольха, береза, дуб, вяз и др.), сорняки (полынь, лебеда). На юге России основным аллергеном является пыльца амброзии, полыни, подсолнечника, кукурузы. Концентрация пыльцы, вызывающая появление симптомов поллиноза, должна составлять не менее 10-50 зерен в 1 м<sup>3</sup> воздуха. Антигены присутствуют не только в пыльцевых зернах, но и в других частях растений (семена, листья), что является причиной перекрестной пищевой аллергии.

Наиболее частыми факторами, способствующими развитию поллиноза, являются: отягощенная наследственность (у 60-80% больных), высокий уровень в крови общего и специфического IgE, курение, употребление кофе, алкоголя во время беременности, искусственное вскармливание, высокая концентрация пыльцевых аллергенов в окружающей среде, частые респираторно-вирусные инфекции, загрязнение окружающего воздуха поллютантами (окись азота, диоксид серы, озон, твердые частицы).

Наиболее выраженными клиническими примерами реакций преимущественно ГНТ I типа являются поллинозы, аллергический ринит, бронхиальная астма, крапивница и отек Квинке, атопический дерматит.

*Поллиноз (сенная лихорадка)* - заболевание, обусловленное сенсibilизацией к пыльце различных растений, характеризующееся воспалением слизистых оболочек, преимущественно дыхательных путей и глаз. Поллинозами страдает от 3 до 20% населения земного шара. Это заболевание нередко предшествует бронхиальной астме. Поллиноз вызывается пыльцой различных растений, которая представляет собой мужские половые клетки. Установлено, что пыльца деревьев имеет до 3 антигенов, трав - до 5, сорняков - до 10, которые представлены преимущественно белками. Известны три группы растений, пыльца которых вызывает развитие поллиноза: деревья, злаковые травы, сорняки. В центральной полосе России причиной поллиноза наиболее часто бывают сорные злаки (тимофеевка, овсяница, ежа, лисохвост, мятлик, пырей и др.), деревья (орешник, ольха, береза, дуб, вяз и др.), сорняки (полынь, лебеда). На юге России основным аллергеном является пыльца амброзии, полыни, подсолнечника, кукурузы. Концентрация пыльцы, вызывающая появление симптомов поллиноза, должна составлять не менее 10-50 зерен в 1

м<sup>3</sup> воздуха. Антигены присутствуют не только в пылевых зернах, но и в других частях растений (семена, листья), что является причиной перекрестной пищевой аллергии.

Наиболее частыми факторами, способствующими развитию поллиноза, являются: отягощенная наследственность (у 60-80% больных), высокий уровень в крови общего и специфического IgE, курение, употребление кофе, алкоголя во время беременности, искусственное вскармливание, высокая концентрация пылевых аллергенов в окружающей среде, частые респираторно-вирусные инфекции, загрязнение окружающего воздуха поллютантами (окись азота, диоксид серы, озон, твердые частицы).

Наиболее выраженными клиническими примерами реакций преимущественно ГНТ I типа являются поллинозы, аллергический ринит, бронхиальная астма, крапивница и отек Квинке, атопический дерматит.

*Поллиноз (сенная лихорадка)* - заболевание, обусловленное сенсibilизацией к пыльце различных растений, характеризующееся воспалением слизистых оболочек, преимущественно дыхательных путей и глаз. Поллинозами страдает от 3 до 20% населения земного шара. Это заболевание нередко предшествует бронхиальной астме. Поллиноз вызывается пыльцой различных растений, которая представляет собой мужские половые клетки. Установлено, что пыльца деревьев имеет до 3 антигенов, трав - до 5, сорняков - до 10, которые представлены преимущественно белками. Известны три группы растений, пыльца которых вызывает развитие поллиноза: деревья, злаковые травы, сорняки. В центральной полосе России причиной поллиноза наиболее часто бывают сорные злаки (timoфеевка, овсяница, ежа, лисохвост, мятлик, пырей и др.), деревья (орешник, ольха, береза, дуб, вяз и др.), сорняки (полынь, лебеда). На юге России основным аллергеном является пыльца амброзии, полыни, подсолнечника, кукурузы. Концентрация пыльцы, вызывающая появление симптомов поллиноза, должна составлять не менее 10-50 зерен в 1 м<sup>3</sup> воздуха. Антигены присутствуют не только в пылевых зернах, но и в других частях растений (семена, листья), что является причиной перекрестной пищевой аллергии.

Наиболее частыми факторами, способствующими развитию поллиноза, являются: отягощенная наследственность (у 60-80% больных), высокий уровень в крови общего и специфического IgE, курение, употребление кофе, алкоголя во время беременности, искусственное вскармливание, высокая концентрация пылевых аллергенов в окружающей среде, частые респираторно-вирусные инфекции, загрязнение окружающего воздуха поллютантами (окись азота, диоксид серы, озон, твердые частицы).

Развитие поллиноза начинается с фазы сенсibilизации. Следующим этапом является дифференцировка Т-лимфоцитов в сторону Th2, которые продуцируют цитокины, отвечающие за синтез В-лимфоцитами (IL-4, IL-13) и активацию эозинофилов (IL-3, IL-5, GM-CSF). IgE и IgG<sub>4</sub> за счет длинного Fc-фрагмента фиксируются на поверхности тучных клеток и базофилов слизистых оболочек дыхательных путей. Аллергическая реакция начинается с взаимодействия антигенов пыльцы с реакинами, что стимулирует секрецию тучными клетками гистамина, хемотаксических факторов, лейкотриенов и др. В результате через 15-20 мин развиваются клинические симптомы ранней фазы аллергической реакции (зуд, чихание, выделения из носа, приступообразный кашель, бронхоспазм и др.). Через 4-6 ч после взаимодействия с аллергеном формируется поздняя фаза реакции, в которой участвуют эозинофилы, базофилы, лимфоциты, нейтрофилы. Накопление этих клеток обусловлено молекулами адгезии, что и приводит к развитию аллергического воспаления с гиперреактивностью дыхательных путей и конъюнктивы глаз к различным факторам внешней среды. Главную роль в формировании поздней фазы реакции играют эозинофилы, продукция которых увеличена в костном мозге, увеличена продолжительность их жизни, активирована способность прилипания к сосудистому эндотелию и хемотаксису. Эндотелий также является активным участником воспаления. Под влиянием аллергенов, вирусов эпителиальные клетки продуцируют хемоаттрактанты (IL-8, MIP-1, MCP-1) и адгезионные

молекулы (ICAM-1), привлекающие и активирующие эозинофилы, тучные клетки, базофилы и Т-лимфоциты.

*Бронхиальная астма* - хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, в котором принимают участие тучные клетки, эозинофилы и Т-лимфоциты. Распространенность бронхиальной астмы составляет от 1 до 12% в мире. Максимальное ее распространение в странах с теплым и сырым климатом, минимальное - в зоне пустынь и Заполярье, в России около 6%.

Риску развития бронхиальной астмы способствуют наследственность (до 40-45% среди родственников), вирусные респираторные заболевания во время беременности, токсикоз, вредные привычки, неправильное питание матери. Имеют значение в развитии бронхиальной астмы и факторы внешней среды: аллергены, инфекции, нервно-психические стрессы, химические препараты, физические воздействия.

Патогенез бронхиальной астмы сложен и связан с развитием воспаления бронхов, в котором принимают участие иммунные реакции I, III и IV типов, но чаще других ведущую роль играют механизмы гиперчувствительности I (анафилактического) типа. I тип иммунологического реагирования осуществляется с участием клеток первого и второго порядка. Тучные клетки с IgE-антителами и базофилы первично вовлекаются в аллергическую реакцию при взаимодействии аллергена с IgE-антителами (клетки-мишени первого порядка). Вторично вовлекаются в аллергическую реакцию эозинофилы, нейтрофилы, альвеолярные макрофаги, лимфоциты и тромбоциты, за счет действия на них продуктов активации клеток-мишеней первого порядка. Привлеченные в зону аллергической реакции клетки-мишени второго порядка могут быть стимулированы к секреции биологически активных веществ причинно-значимым аллергеном по IgE-опосредованному механизму. Эти медиаторы, воздействуя на ткани легких, вызывают повышение проницаемости сосудов, отек ткани, сокращение гладкой мускулатуры, гиперсекрецию слизи слизистыми железами и бокаловидными клетками, раздражение периферических нервных рецепторов, что и формирует клиническую симптоматику бронхиальной астмы.

Для III типа гиперчувствительности бронхиальной астмы характерно образование иммунных комплексов (артусоподобная реакция), что сопровождается активацией системы комплемента, агрегацией тромбоцитов с последующим повреждением тканей, на которых фиксировались иммунные комплексы.

При IV типе гиперчувствительности бронхиальной астмы (клеточноопосредованная реакция) происходит взаимодействие несущих на своей поверхности специфические рецепторы лимфоцитов (сенсibilизированные Т-лимфоциты) с представленным на макрофаге антигеном, что вызывает высвобождение лимфокинов, опосредующих развитие ГЗТ. Все типы иммунологических реакций имеют три стадии: иммунологическую, патохимическую и патофизиологическую.

Развивающиеся немедленные реакции по I, IgE-зависимому типу (т. е. возникающие через несколько минут после контакта с аллергеном) могут быть ответом на атопические (неинфекционные) аллергены, но известно, что они могут развиваться и по III типу с участием IgG<sub>4</sub>-антител, и протекать в более поздние сроки. Реакции на инфекционные антигены (бактерий, вирусов, грибов) могут быть немедленными и замедленными (развиваются через 2-3 сут). Ответ по IgE-типу часто наблюдается на нейссерии, клебсиеллы, гемофильную палочку, стафилококки, хламидии, микоплазмы, различные виды грибов и вирусов.

*Крапивница* - гетерогенное заболевание, характеризующееся появлением кожной сыпи, первичным элементом которой является волдырь или папула.

*Отек Квинке (гигантская крапивница, ангионевротический отек)* - наследственное или приобретенное заболевание, характеризующееся отеком кожи, подкожной клетчатки, а



также слизистых оболочек различных органов и систем (дыхательной, пищеварительной, мочевыделительной и др.).

Практически любой антиген или аллерген пищевой, лекарственной, инфекционной, бытовой природы может явиться этиологической причиной крапивницы или отека Квинке.

По механизму развития различают аллергическую, неаллергическую и идиопатическую формы заболевания.

Аллергическая крапивница и отек Квинке обусловлены I, реже II и III типами реакций гиперчувствительности. В зависимости от типа аллергена, вызывающего развитие заболевания, различают: атопическую, инфекционно-аллергическую, аутоиммунную крапивницу (опухоль желудка, кишечника, коллагенозы, аутоиммунный тиреоидит). Неаллергические крапивница и отек Квинке обусловлены: неспецифическим высвобождением гистамина из тучных клеток, избыточным выделением ацетилхолина, активацией системы комплемента по альтернативному пути, дефицитом ингибитора C1 компонента комплемента и др.

При острой крапивнице отмечается отек эпидермиса и сосочкового слоя дермы, расширение капилляров и артериол. При хроническом течении заболевания наблюдаются периваскулярные инфильтраты, состоящие из Т-лимфоцитов, моноцитов, тучных клеток, эозинофилов и нейтрофилов.

*Реакции гиперчувствительности II типа* опосредованы IgG- или IgM-антителами к антигенам клеточной поверхности, которые, связываясь с определенными клетками или тканями, вызывают развитие реакций гиперчувствительности II типа. Локализация возникающих повреждений ограничена клетками или тканями, экспонирующими соответствующие антигены на своей поверхности.

Прикрепившись к поверхности клеток или тканей, антитела могут связывать и активировать компонент C1 комплемента, вызывая последующие эффекты антителозависимой цитотоксичности, отраженные на схеме 7.3.

Все эффекторные клетки (К-клетки, тромбоциты, нейтрофилы, эозинофилы и клетки мононуклеарно-фагоцитарного ряда) обладают рецепторами к Fc-фрагменту, посредством которых они взаимодействуют с антителами, фиксированными в тканях на клетках-мишенях. Активация C3 может непосредственно приводить к комплементопосредованному лизису клеток-мишеней или способствовать связыванию фагоцитов с их мишенями - при участии субкомпонентов комплемента C3b, C3bi, C3d, которые одновременно активируют фагоциты.

Наиболее яркие примеры ГНТ II типа - антиэритроцитарные реакции. Они могут вызвать тяжелые последствия в следующих случаях:

- переливание несовместимой крови, когда реципиент сенсibilизирован к поверхностным антигенам эритроцитов донора; трансфузионные реакции на эритроциты вызываются антителами к антигенам групп крови;
- гемолитическая болезнь новорожденных, возникающая в результате сенсibilизации беременной женщины эритроцитами плода, когда материнские антитела к групповым антигенам крови плода проходят через плаценту и разрушают его эритроциты;
- аутоиммунные гемолитические анемии, когда больной сенсibilизирован собственными эритроцитами.

Кроме того, возможны реакции ГНТ II типа, когда антитела повреждают клетки и ткани вследствие активации комплемента, а также связывания и активации эффекторных клеток, несущих Fc $\gamma$ -рецепторы. Повреждения тканей могут вызывать антитела к базальным мембранам. Клиническими примерами такой патологии могут быть больные с тиреоидитом Хашимото, с синдромом Гудпасчера, когда повреждаются антителами клетки почечных клубочков.

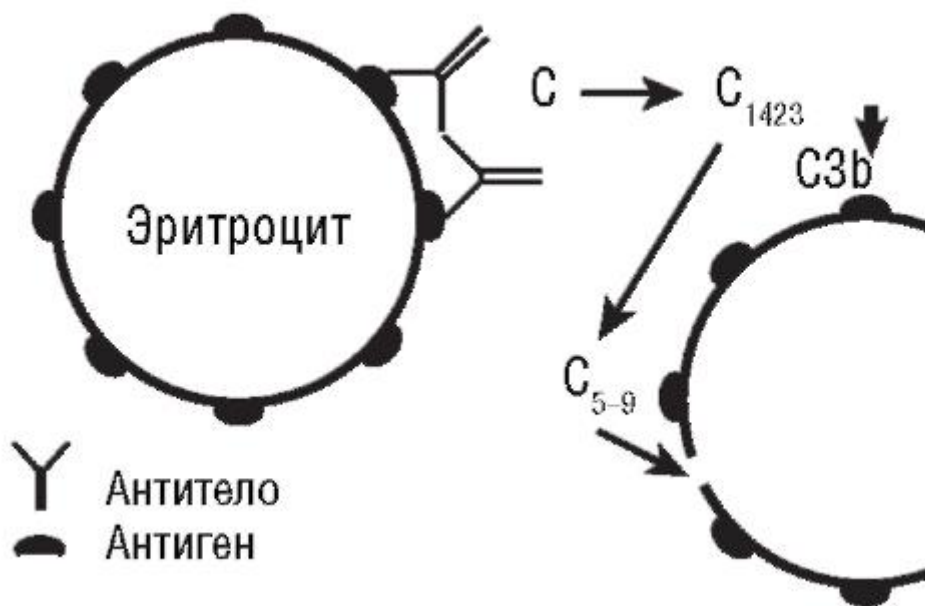


Схема 7.3. Антителозависимая цитотоксичность

Реакции гиперчувствительности III типа, или болезнь иммунных комплексов, развиваются в результате повреждения, опосредуемые комплектом и эффекторными клетками. Болезни иммунных комплексов разделяют на три большие группы.

1. Болезни, связанные с персистенцией инфекции, сочетающиеся со слабым гуморальным ответом, приводящие к постоянному образованию иммунных комплексов и к их отложению в тканях. К болезням с такой этиологией относятся проказа, малярия, геморрагическая лихорадка денге, вирусный гепатит, стафилококковый эндокардит.

2. Болезни, связанные с аутоиммунными заболеваниями. Характеризуются хроническим образованием иммунных комплексов вследствие непрерывной продукции антител к аутоантигенам. В подобных случаях моноцитарно-фагоцитарная система неэффективна и комплексы откладываются в тканях (почки, суставы, артерии, кожа). Клинические примеры: ревматоидный артрит, системная красная волчанка, полиомиозит.

3. Болезни, связанные с вдыханием антигенного материала. Иммунные комплексы могут образовываться на поверхности полостей. Антигенами, приводящими к развитию реакций ГНТ III типа, могут быть термофильные актиномицеты, живущие в заплесневелом сене; сывороточный белок, присутствующий в экскрементах голубей; сывороточный белок, присутствующий в моче крыс вивария; споры гриба *Penicillium casei*, вызывающие болезнь сыроделов; белки лисьего меха, вызывающие болезнь меховщиков. Все эти заболевания развиваются лишь при повторном контакте с антигеном. Антитела к таким антигенам относятся преимущественно к классу IgG, а не IgE.

Иммунные комплексы способны инициировать разнообразные воспалительные процессы:

- они взаимодействуют с системой комплемента, способствуя образованию анафилотоксинов C3a и C5a, которые стимулируют выделение вазоактивных аминов и хемотаксических факторов из тучных клеток и базофилов;
- в присутствии иммунных комплексов активируются макрофаги, выделяющие цитокины (TNF $\alpha$  и IL-1), которые играют важную роль в процессах воспаления;
- комплексы непосредственно взаимодействуют с базофилами и тромбоцитами через Fc-рецепторы, что приводит к высвобождению вазоактивных аминов;

- выделяющиеся vasoактивные амины приводят к сокращению эндотелиальных клеток и тем самым увеличивают сосудистую проницаемость. Повышенная проницаемость сосуда создает возможность отложения иммунных комплексов в его стенке. Иммунные комплексы индуцируют агрегацию тромбоцитов и активацию комплемента. Агрегированные тромбоциты формируют микротромбы на базальной мембране эндотелия. К месту образования микротромбов подходят нейтрофилы, но они не способны поглотить комплексы, а в результате фагоцитоза выделяют лизосомные ферменты, вызывающие дальнейшее повреждение сосудистой стенки. Механизмы гиперчувствительности III и IV типов представлены на рис. 7.3.

Особым примером ГНТ III типа является «сывороточная болезнь» - системная иммунокомплексная реакция. Такую реакцию часто вызывает повторное введение лечебно-профилактических лошадиных сывороток против бактериальных токсинов, против яда змей и др.

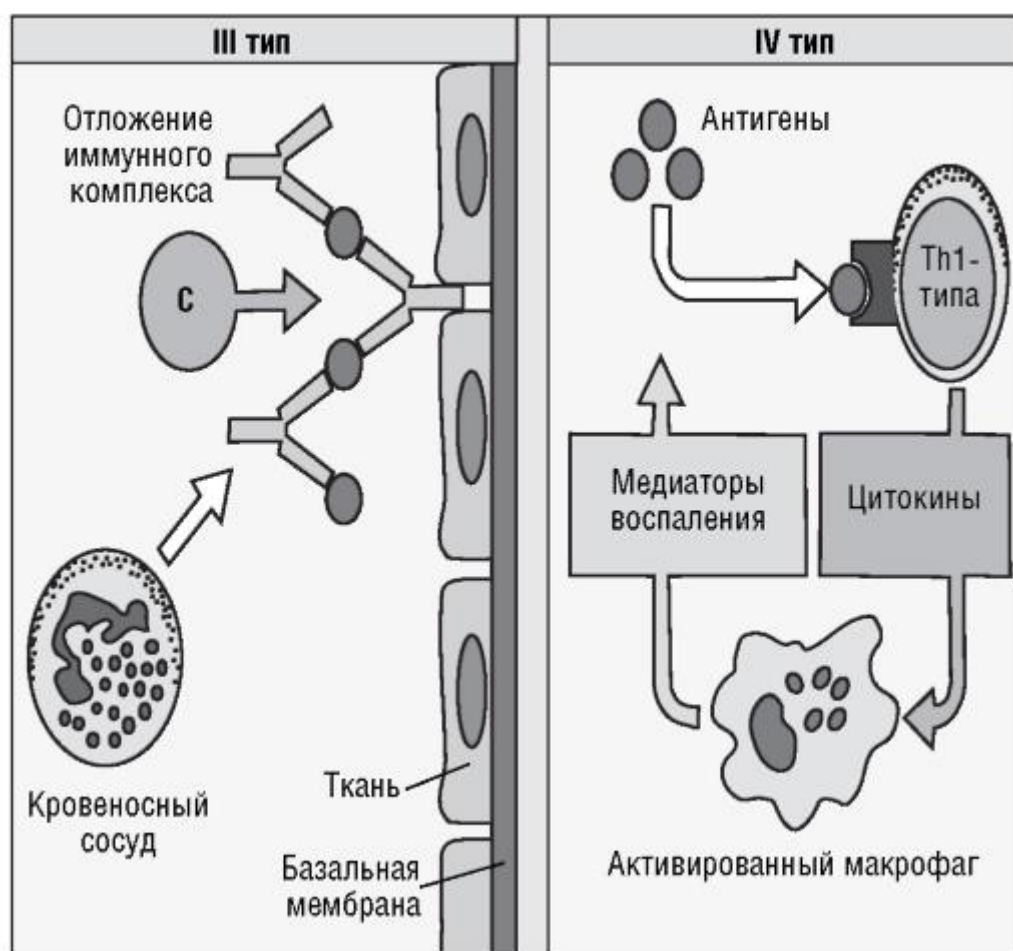


Рис. 7.3. Повреждение сосудистой стенки, отложение иммунных комплексов, активация системы комплемента при III типе; наличие сенсibilизированных Т-лимфоцитов - необходимое условие развития реакций IV типа (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Наиболее частой причиной являются противостолбнячная, противодифтерийная, противоботулиническая, противогангренозная, антилимфоцитарная сыворотки, антирабический  $\gamma$ -глобулин, противостафилококковый иммуноглобулин. Показано, что сывороточная болезнь возникает прямо пропорционально дозе введенного белка. Заболевание развивается через 7-10 дней после введения сыворотки, когда образуются специфические антитела против чужеродных антигенов сыворотки. Образующиеся в зоне преобладания антигена нерастворимые иммунные комплексы (ИК) связываются с  $Fc\gamma RIII$  на поверхности тучных клеток с последующей их дегрануляцией и выбросом гистамина. ИК,

образующиеся повсюду, связываются с Fc-рецепторами лейкоцитов или с рецепторами для комплемента и вызывают повреждение тканей. Общим симптомом сывороточной болезни является лихорадка, а локальные проявления определяются преимущественной локализацией отложений ИК: васкулиты (при отложении ИК в сосудистой стенке), артриты (при отложении ИК в суставах), нефрит (при отложении ИК в гломерулах почек). После повторного введения лошадиной сыворотки сывороточная болезнь развивается через 1-2 дня в связи с более быстрым накоплением специфических антител (рис. 7.4).

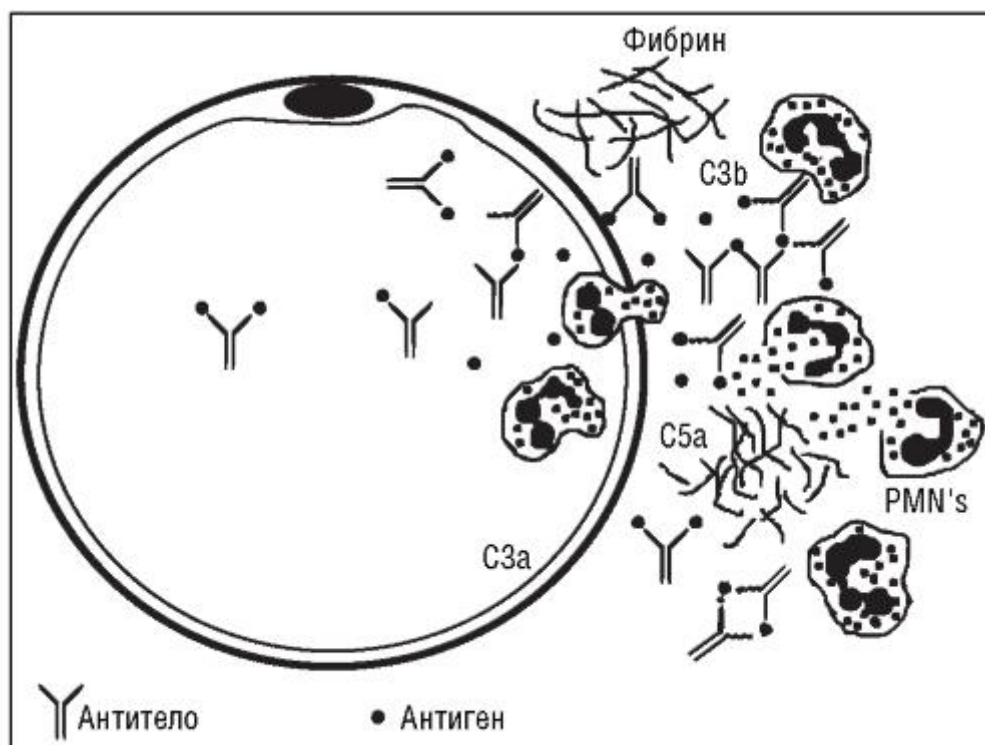


Рис. 7.4. Отложение иммунных комплексов и повреждение сосудистой стенки

Хроническое персистирование вирусного антигена приводит к развитию реакций иммунокомплексного типа и в случае хронического вирусного гепатита, так как иммунный ответ не приводит к быстрому очищению организма от инфекционных антигенов. Отложение депозитов ИК в мелких сосудах разных тканей ведет к повреждению кожи, почек, нервов.

Морфологической картиной сывороточной болезни является гиперергический васкулит с поражением артерий, капилляров и венул. В поврежденных сосудах наблюдается отложение иммунных комплексов и комплемента. Среди клеток преобладают нейтрофилы и макрофаги, разрушение которых сопровождается высвобождением ядер. В сердце возможно развитие эндокардита, миокардита и перикардита, коронарита, в почках - гломерулонефрита. В суставах наблюдается отложение фибрина и клеточных инфильтратов в синовиальной оболочке. Возможна гиперплазия лимфатических узлов и селезенки.

В настоящее время гораздо чаще развиваются симптомы, напоминающие сывороточную болезнь, которые возникают при введении небелковых средств (лекарственные препараты - пенициллин, цефалоспорины, тетрациклины, фторхинолоны, сульфаниламиды, препараты золота, йода и др.; яды насекомых; вакцины). В этом случае используется термин «сывороточноподобное заболевание» или «сывороточная реакция».

*Гиперчувствительность IV типа (замедленная ГЗТ)* - это реакции, проявляющиеся не ранее чем через 12 ч и обусловленные клеточными, а не гуморальными иммунными механизмами. Это реакции, связанные с наличием сенсibilизированных лимфоцитов. Обязательным условием развития ГЗТ IV типа является предшествовавшая сенсibilизация

специфическим антигеном-аллергеном, чаще всего инфекционной природы. Преобладание в микроокружении очага воспаления Th0 в момент распознавания антигена, провоспалительных цитокинов IL-12 и IFN $\gamma$  создает условия для их дифференцировки в направлении Th1. Основными участниками иммунного воспаления являются Th1, моноциты, макрофаги эндотелиальные клетки. Среди них продуктами Th1 являются IFN $\gamma$ , TNF $\beta$ , IL-2, IL-8, GM-CSF; активированными макрофагами продуцируются IL-1, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8. В реакциях ГЗТ различают острую фазу и стадию хронического воспаления. Острая фаза по своим проявлениям сходна с ранним воспалительным ответом, но отличается тем, что макрофаги исходно активируются не микробными продуктами, а IFN $\gamma$  и другими цитокинами (MIF, GM-CSF). Продукты активированных Т-лимфоцитов IL-3, GM-CSF стимулируют и продукцию моноцитов, и их рекрутирование из кровяного русла (TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ , MCP).

В результате на месте очага иммунного воспаления формируется мононуклеарный инфильтрат.

При повторном поступлении антигена стимулированные Т-лимфоциты секретируют множество цитокинов, функционирующих в качестве медиаторов ГЗТ. Цитокины, продуцируемые Th1, вызывают приток и активацию макрофагов. Цитокины, продуцируемые Th2, вызывают приток эозинофилов.

В стадии хронического воспаления провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ) стимулируют пролиферацию фибробластов и синтез коллагена. Так, перечисленные выше провоспалительные цитокины в результате совместного действия с ростовыми факторами (PDGF - тромбоцитарного фактора роста фибробластов, TGF $\beta$  - трансформирующего ростового фактора, FGF - фактора роста фибробластов) при длительной активации макрофагов в очаге хронического иммунного воспаления приводят к замещению тканей органов фиброзной тканью. Фиброз способствует хроническому иммунному воспалению, приходящему на смену неэффективному острому воспалению, которое не привело к элиминации причинного антигена.

При хроническом течении воспаления с персистенцией сдвигов сывороточных белков, связанных с воспалительным ответом, повышенный уровень сывороточного амилоида А может вести к его отложению в интерстициальных тканях в форме фибрилл. Развивается амилоидоз, нарушающий жизненно важные функции.

В случае персистенции микробных антигенов (при лепре, туберкулезе) развивается хроническая местная повреждающая реакция ГЗТ. В очаге воспаления накапливаются провоспалительные цитокины, большое количество увеличенных в размерах макрофагов, которые сливаются, образуют большие многоядерные клетки. Совокупность активированных макрофагов, НК, CTL, с пролиферирующими лимфоцитами и фибробластами, с зонами фиброза и некроза формируют «гранулемы». Гранулемы возникают в местах персистенции не удаленных возбудителей и иммунных комплексов. Следствием гранулемы может быть деструкция ткани до некроза с последующим фиброзом. Подобные проявления ГЗТ развиваются при паразитарных инвазиях и микозах.

При вирусных инфекциях (вирусы семейства *Herpesviridae*) ведущую роль играют CTL, которые повреждают инфицированные вирусами клетки. При вирусном гепатите С (HCV) в печени больных преобладают Th1, продуцирующие IFN $\gamma$ , а при вирусном гепатите В (HBV) большинство Т-лимфоцитов в печени относятся к Th0, которые дифференцируются Th2, контролирующими гуморальный ответ.

А. Ройт (2000) выделил три варианта развития реакций гиперчувствительности IV типа: контактная (развивается в течение 48-72 ч), туберкулиновая (48-72 ч), гранулематозная (21-28 сут).

Контактная гиперчувствительность характеризуется экзематозной реакцией в месте воздействия антигена (никель, хромат, токсичные вещества). Ключевую роль при контактной гиперчувствительности играют клетки Лангерганса и кератиноциты. Основными антигенпрезентирующими клетками в этом случае служат дендритные клетки Лангерганса, локализованные в надбазальном слое эпидермиса. Реакции контактной гиперчувствительности протекают в две стадии: *сенсibilизации* и *проявления*. В процессе сенсibilизации образуются Т-клетки иммунологической памяти. У человека период сенсibilизации длится 10-14 сут. *Сенсibilизация* зависит, прежде всего, от дозы гаптена на единицу площади кожи, а не от общей дозы или общей площади, на которую воздействует гаптен. *Фаза проявления реакции* протекает с участием лимфоцитов CD4<sup>+</sup> и моноцитов. Наиболее раннее (через 4-8 ч) гистологическое изменение состоит в появлении мононуклеарных клеток вокруг производных кожи и кровеносных сосудов. Макрофаги проникают в дерму и эпидермис через 48 ч. Количество инфильтрирующих эти слои кожи клеток достигает максимума через 48-72 ч, причем большинство лимфоцитов относится к популяции CD4<sup>+</sup> и лишь немногие к CD8<sup>+</sup>. Менее 1% инфильтрирующих кожу клеток принадлежит к одному клону (а именно к клону антигенспецифических клеток, иммунологической памяти - Th1-клеток CD4<sup>+</sup>). Центральную роль в сложных взаимодействиях между клетками Лангерганса, Т-клетками CD4<sup>+</sup>, кератиноцитами, макрофагами и эндотелиальными клетками при контактной реакции гиперчувствительности играют цитокины и простагландины (IL-1, IL-6, IFN $\gamma$ , GM-CSF). Это приводит к активации и пролиферации Т-клеток CD4<sup>+</sup>, повышению экспрессии молекул ICAM-1 и МНС класса II на поверхности кератиноцитов и эндотелиальных клеток, а также привлечению в кожу Т-клеток и макрофагов.

*Гиперчувствительность туберкулинового типа.* Эта форма гиперчувствительности впервые описана Кохом. Кожная туберкулиновая проба позволяет выявить реакцию на растворимый антиген у ранее инфицированных лиц. После введения антигена сенсibilизированным лицам антигенспецифические Т-клетки активируются и начинают секретировать цитокины, опосредующие реакцию гиперчувствительности. Выделяемые Т-клетками TNF $\alpha$  и TNF $\beta$  действуют на эндотелий кожных сосудов, индуцируя последовательную экспрессию молекул адгезии - E-селектина, ICAM-1 и VCAM-1. Эти молекулы связываются рецепторами на поверхности лейкоцитов и привлекают их к месту реакции. На протяжении 4 ч здесь скапливаются нейтрофилы, но через 12 ч их заменяют моноциты и Т-клетки. Инфильтрат, распространяясь, разрушает пучки коллагена дермы, увеличивается до максимальных размеров через 48 ч. Количество Т-клеток CD4<sup>+</sup> в инфильтрате примерно вдвое превышает число клеток CD8<sup>+</sup>. Примерно 80-90% всех клеток инфильтрата приходится на долю моноцитов. Лимфоциты и макрофаги, присутствующие в инфильтрате, экспрессируют молекулы МНС класса II, что повышает способность активированных макрофагов презентовать антиген.

*Гранулематозная гиперчувствительность.* Именно этими реакциями обусловлены многие проявления заболеваний, связанных с Т-клеточными иммунными реакциями. Обычно гранулематозные реакции развиваются при внутриклеточной персистенции в макрофагах микроорганизмов или других частиц, которые клетка не способна разрушить. Гистологически гранулематозная реакция резко отличается от реакции туберкулинового типа. Однако обе они часто развиваются при сенсibilизации одними и теми же микробными антигенами (*M. tuberculosis*, *M. leprae*). В центре иммунологической гранулемы, как правило, расположены эпителиоидные клетки и макрофаги, иногда вместе с гигантскими клетками (образуются при слиянии эпителиоидных клеток), которые окружены зоной лимфоцитов.

При гранулематозных реакциях активированные макрофаги являются основным источником TNF $\alpha$  и IL-12 вследствие их активации бактериальными продуктами. Активация Т-клеток этими цитокинами приводит к выделению IFN $\gamma$ , IL-3, GM-CSF, которые активируют макрофаги, помогая уничтожению внутриклеточных инфектов. Неспособность

ликвидировать антигенный стимул обуславливает постоянное выделение цитокинов и дифференцировку макрофагов в эпителиоидные клетки, которые секретируют большое количество TNF $\alpha$ . Некоторые эпителиоидные клетки сливаются, образуя многоядерные гигантские клетки.

*Методические подходы к диагностике аллергических заболеваний.* Аллергические заболевания, как правило, сопровождаются длительным и тяжелым течением, которое приводит к длительной нетрудоспособности наиболее молодых слоев общества, поэтому ранняя специфическая диагностика аллергопатологий является чрезвычайно актуальной.

Основной принцип выявления истинных аллергических реакций (заболеваний) - обнаружение специфических антител или факта их присутствия. Все методы специфической диагностики базируются на знании свойств аллергических антител:

- способность реагинов фиксироваться в коже и слизистых оболочках, что позволило с диагностической целью использовать кожные тесты - прямые (скарификационные, внутрикожные), непрямые (тест Праустница-Кюстнера) и провокационные (ингаляционный, конъюнктивальный, назальный);
- способность IgE фиксироваться на клетках-мишенях с последующими видимыми под микроскопом морфологическими явлениями их и, соответственно, использование клеточных прямых и непрямых тестов - тест дегрануляции тучных клеток, базофилов;
- способность аллергических антител к преципитации и, соответственно, использование тестов преципитации в сыворотке или агаре;
- высвобождение под действием комплекса антиген-антитело медиаторов аллергии повлекло за собой внедрение многочисленных тестов определения концентрации гистамина, серотонина, ацетилхолина, простагландинов, интерлейкинов и других вазоактивных веществ.

Следует отметить, что эти методы достаточно сложны и требуют дорогостоящего оборудования и реактивов. Для специализированной диагностики аллергических реакций используются методы, позволяющие непосредственно обнаруживать аллергические антитела в сыворотке крови и секретах (слюне, бронхиальных смывах, назальном секрете и др.).

При аллергологическом обследовании условно можно выделить тесты первого, второго и третьего уровней.

Тесты первого уровня позволяют выявить выраженные нарушения в аллергологическом статусе, являются информативными, специфическими и с достаточной степенью вероятности позволяют диагностировать атопические заболевания, даже протекающие латентно. Тесты первого уровня обязаны выполнять в любом аллергологическом кабинете в поликлинических условиях. Они включают:

- аллергологический анамнез;
- фармакологический анамнез;
- пищевой анамнез;
- тесты с атопическими аллергенами;
- определение уровней общего IgE в сыворотке крови;
- лабораторные методы - клинический анализ крови (выявление эозинофилии), цитологическое исследование секретов (мазки из носа, конъюнктивы и т. д.) на эозинофилию.

К тестам второго уровня относятся:

- внутрикожные тесты с аллергенами;
- провокационные тесты (ингаляционный, оральные, назальные, конъюнктивальные и др.);

- уровень специфических IgE (к лекарственным препаратам, клещам домашней пыли, эпителию и перхоти животных, перьям птиц, белкам сыворотки и выделениям животных, продуктам питания, травам, ядам насекомых, гельминтам, инфекционным антигенам, пыльце деревьев, профессиональным аллергенам, древесной пыли, пыльце трав и др.);

- тесты преципитации, позволяющие выявить наличие преципитирующих антител;
- оценка иммунного статуса;
- клеточные тесты.

Тесты второго уровня выполняются как в амбулатории, так и в стационаре.

Выполнение тестов третьего уровня возможно только в крупных аллергологических центрах. Они позволяют выявить интимные механизмы аллергических заболеваний и часто представляют больше научный интерес, чем практический. К тестам третьего уровня относятся:

- определение специфических иммуноглобулинов в сыворотке крови (их субклассов);
- специфическое высвобождение гистамина из базофилов;
- изучение состояния системы интерлейкинов;
- определение уровней простагландинов;
- изучение чувствительности рецепторного аппарата к специфическим антигенам и неспецифическим медиаторам;
- определение уровней медиаторов аллергии, ферментов и других биологически активных веществ, участвующих в реализации аллергических реакций.

Несомненно, что тесты второго и третьего уровней будут пополняться новыми методами, разработанными по мере совершенствования наших знаний и позволяющими выявить нарушения иммунного ответа на клеточном и цитокиновом уровнях.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. От чего зависит тяжесть симптомов при ГНТ I типа?
2. Какова природа большинства аллергенов?
3. Какие механизмы лежат в основе хронических симптомов аллергии?
4. Каковы перспективы лечения аллергических заболеваний?



## Глава 8. АУТОИММУННЫЕ РЕАКЦИИ. ТОЛЕРАНТНОСТЬ. АНЕРГИЯ ИСТОЩЕНИЯ

Функцией иммунной системы является защита организма от проникновения чужеродных организмов. Однако этот защитный ответ может нанести вред организму, если он направлен на собственные антигены, часто называемые аутоантигенами, поэтому иммунная система выработала ряд средств проверки и противодействия, которые помогают ей отличать безопасные сигналы от угрожающих и реагировать на чужеродные, а не аутологичные антигены. Для этого как врожденный, так и адаптивный ответы претерпели определенную эволюцию.

### 8.1. ЦЕНТРАЛЬНАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ

Толерантностью называется отсутствие реакции на антиген. Оно наблюдается, когда взаимодействие антигена с антигенспецифичными лимфоцитами приводит к появлению сигнала, который либо не активизирует, либо инактивирует клетки. Только клетки с антигенспецифичными рецепторами (лимфоциты) могут быть вовлечены в формирование толерантности. После такого взаимодействия, вызывающего толерантность, клетки или организм, встретившиеся с антигеном, считаются толерантными. Толерантность, индуцированная на ранних стадиях развития лимфоцита, называется центральной толерантностью, а возникшая у зрелых лимфоцитов - периферической. Центральная толерантность развивается в первичных лимфоидных органах, а именно, в костном мозге у В-клеток и в тимусе у Т-клеток.

Процесс возникновения различий среди В-клеточных (BCR) и Т-клеточных рецепторов (TCR) неизбежно приводит к появлению рецепторов, способных распознавать аутоантигены. В- и Т-клетки с рецепторами к аутоантигенам называются аутореактивными. Возникающие аутореактивные В-клетки обычно становятся толерантными в месте своего возникновения - костном мозге, а возникающие аутореактивные Т-клетки превращаются в толерантные в тимусе в процессе негативной селекции. Благодаря негативной селекции большинство Т- и В-лимфоцитов, выходящих на периферию, реагируют только с чужеродными антигенами.

Механизмы обеспечения толерантности. Иммунная система выработала несколько механизмов обеспечения центральной толерантности в популяциях В- и Т-клеток. Эти механизмы включают анергию, делецию и клональное игнорирование. Кроме того, показано, что у наивных В-клеток важным механизмом обеспечения толерантности является процесс редактирования рецептора.

### 8.2. АНЕРГИЯ, РЕДАКТИРОВАНИЕ РЕЦЕПТОРОВ, ДЕЛЕЦИЯ И КЛОНАЛЬНОЕ ИГНОРИРОВАНИЕ

Анергией называется функциональная инактивация клеток, приводящая к отсутствию ответа при контакте с аутоантигеном. Анергичные В-клетки не могут активироваться к пролиферации и дифференцировке в клетки, секретирующие антитела, после взаимодействия их BCR с антигеном. Подобно этому связывание TCR анергичных Т-клеток не активизирует их для пролиферации и дифференцировки в функциональные Т-клетки, продуцирующие цитокины и рецепторы цитокинов. Подтверждение наличия анергии у В-клеток впервые получили G. J. Nossal и B. L. Pike в 1980 году. Они продемонстрировали, что когда незрелые IgM<sup>+</sup>-В-клетки встречались с антителами, специфичными для IgM, которые перекрестно связывали IgM, клетки теряли способность к дифференцировке и секреции антител. Позднее В-клеточная анергия была смоделирована с помощью системы трансгенных мышей, у

которых В-клетки, специфичные к аутореактивным В-лимфоцитам, формировались после введения реаранжированных генов иммуноглобулина в зародышевую линию мыши.

В конце 1960-х гг. Р. А. Bretscher и М. Cohn высказали предположение, что В-клеткам, специфичным к Т-зависимым антигенам, нужно для активации два сигнала: первый обеспечивается антигеном, а второй - Т-клетками. Исследователи также предположили, что при отсутствии второго сигнала В-клетки будут приводиться в состояние толерантности. Теперь известно, что этот второй сигнал может быть обеспечен взаимодействием лиганда CD40 (CD40L) на поверхности Т-клетки с CD40, экспрессированным на В-клетке. Опыты с использованием моделей трансгенных мышей подтвердили, что В-клетки при контакте с аутоантигеном в отсутствие помощи со стороны Т-клетки могут становиться анергичными.

Анергичные В-клетки не могут успешно соперничать с В-клетками, специфичными к чужеродному антигену, за то, чтобы попасть в В-клеточные фолликулы селезенки и лимфатических узлов, поэтому аутореактивные В-клетки остаются вне фолликулов и впоследствии погибают посредством апоптоза.

Т-клеткам также требуется для активации два сигнала. Первый сигнал обеспечивается комплексом МНС-пептид. Второй сигнал вызывается взаимодействием между ко-стимулирующими молекулами, экспрессируемыми специализированными АПК, такими как зрелые дендритные клетки и В-клетки, с их лигандами на Т-клетках. Основной ко-стимулирующий сигнал обеспечивается взаимодействием В7-1 (CD80) и/или В7-2 (CD86), экспрессированными на АПК, с CD28, экспрессированным на Т-клетках. Поступление первого сигнала ведет к индукции ряда транскрипционных факторов, один из которых связывается с промоторным участком гена IL-2, обеспечивая его транскрипцию в Т-клетке. В результате взаимодействия В7 с CD28 период полураспада и РНК IL-2 увеличивается и синтезируется белок IL-2. Если первый сигнал не сопровождается ко-стимулирующим взаимодействием В7-CD28, то иРНК IL-2 быстро разрушается и белок IL-2 не образуется. Таким образом, в отсутствие ко-стимуляции, что происходит, когда клетки, не экспрессирующие ко-стимулирующие молекулы, представляют антиген, процесс активации прекращается и Т-клетки становятся анергичными.

*Редактирование рецептора* представляет собой процесс, при котором реаранжированный вариабельный генный сегмент в области Н- или L-цепи иммуноглобулина подвергается вторичной реаранжировке: его заменяет расположенная далее V-область, что приводит к изменению (редакции) специфичности рецептора. Этому предшествует реэкспрессия генов *RAG-1* и *RAG-2*. Теоретически обосновано, что процесс редактирования рецептора появился в качестве механизма для предотвращения аутореактивности, поскольку в результате получаются BCR или TCR, обладающие другой специфичностью, часто с отсутствием аутореактивности. Впервые редактирование В-клеточного рецептора подтвердили в наблюдениях за костным мозгом у мышей, трансгенных в отношении антител к двухцепочечной ДНК (дцДНК) и по антителам к антигенам МНС I класса. Редактирование BCR также отмечалось в незрелых В-клетках селезенки. Позднее редактирование рецептора наблюдали в V $\alpha$ -локусе дважды позитивной Т-клетки, проходящей негативную селекцию в тимусе.

*Делеция* представляет собой механизм, с помощью которого аутореактивные В- и Т-клетки удаляются из репертуара. Основным механизмом негативной селекции Т- и В-клеток, развивающихся соответственно в тимусе и костном мозге, является апоптоз (программируемая смерть клеток).

*Клональное игнорирование* - это состояние, при котором аутореактивные лимфоциты не подвергаются анергии, не удаляются и их рецептор не редактируется. Вместо этого они сосуществуют с антигеном, оставаясь в неактивном состоянии, что связано с низкой аффинностью их рецептора к аутоантигену или низкой концентрацией антигена. В отличие от анергичных клеток, клоны клеток, игнорирующих антиген, не обладают врожденной

а реактивностью к данному антигену. В определенных условиях они могут быть активированы, поэтому их присутствие представляет определенную угрозу для организма. Например, если В-клетки с низкой аффинностью к аутоантигену претерпевают соматическую мутацию и приобретают к нему более высокую аффинность, они могут впоследствии активироваться этим аутоантигеном. Кроме того, при клональном игнорировании Т-клетки, сосуществующие с собственным пептидом в низкой концентрации, могут быть активированы, если концентрация этого пептида увеличится.

Незрелые В- и Т-клетки легче становятся толерантными, чем зрелые лимфоциты. Сила, или avidность, взаимодействия BCR или TCR с аутоантигеном определяет, будет ли аутореактивная клетка подвергнута анергии или делеции. У В-клеток avidность зависит от аффинности взаимодействия между иммуноглобулиновым рецептором и его антигеном, плотности расположения рецепторов на поверхности В-клетки и природы и концентрации аутоантигена. Чем выше аффинность антитела к своему антигену и чем больше иммуноглобулиновых рецепторов экспрессируется на В-клеточной мембране, тем больше avidность взаимодействия антиген-антитело. Это напрямую коррелирует с выраженностью перекрестного связывания иммуноглобулиновых рецепторов. В-клетки с высокой avidностью к аутоантигену подвергаются делеции, а с умеренной avidностью - анергии. В-клетки со слабой avidностью к аутоантигену вовлекаются в клональное игнорирование. Природа аутоантигена определяет его способность индуцировать перекрестное связывание BCR. Например, мультивалентные антигены, прикрепленные к мембране, опосредуют более выраженное перекрестное связывание рецептора, чем моновалентные или растворимые антигены. В-клетки, встречающиеся с аутоантигеном, связанным с мембраной, будут скорее подвергнуты делеции, а встречающиеся с растворимым антигеном - анергии.

На селекцию Т-клеток в тимусе влияет avidность, определяемая аффинностью TCR относительно комплекса пептид-МНС, уровнем представительства TCR на поверхности Т-клетки и молекул МНС, экспрессированных на поверхности АПК. Все Т-клетки, распознающие комплекс пептид-МНС, независимо от своей avidности проходят позитивную селекцию. Т-клетки с высокой avidностью относительно комплекса пептид-МНС проходят отрицательную селекцию, в ходе которой они либо удаляются, либо происходит редактирование их рецептора.

Наконец, микросреда, в которой аутореактивный лимфоцит встречается с аутоантигеном, вероятно, тоже влияет на судьбу клетки. Недавние исследования позволили предположить, что другие клетки, которые вступают в контакт с аутореактивными В-клетками, могут давать сигналы, определяющие, будет ли клетка удалена или подвергнется редактированию.

Истощение запасов этих стромальных клеток костного мозга приводит к тому, что большая часть незрелых аутореактивных В-клеток подвергается делеции, а не редактированию рецептора. Исследования тимуса дали основания предположить, что кортикальные эпителиальные клетки, презентующие комплекс пептид-МНС для дважды позитивных тимоцитов, скорее способствуют редактированию рецепторов, чем апоптозу; наоборот, презентация комплекса пептид-МНС АПК костномозгового происхождения скорее способствует апоптозу. Это можно объяснить тем, что кортикальные эпителиальные клетки не дают сигналов, необходимых для апоптоза тимоцитов.

### 8.3. ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ

Иногда аутореактивные В- и Т-клетки избегают негативной селекции и поступают на периферию. Кроме того, В-клетки претерпевают там соматические мутации, и иногда эти мутации приводят к приобретению аутореактивной специфичности, поэтому периферическая толерантность возникла как страховочная система для обнаружения аутореактивных В- и Т-

клеток, которые укрылись на периферии или возникли там. Механизмы периферической толерантности включают не только анергию и делецию, но и индуцированную активацией смерть клетки, а также индукцию регуляторных Т-клеток. Хотя и показано, что редактирование рецепторов происходит и на периферии, до сих пор не ясно, осуществляется ли оно для избежания аутореактивности.

Основным механизмом индукции отсутствия ответа на аутоантиген, который встречается на периферии, считается анергия Т-клеток. Клетки из тканей поджелудочной железы, почки, печени и других органов в норме не экспрессируют ко-стимулирующие молекулы. Таким образом, антигены, презентруемые этими клетками, скорее индуцируют анергию, чем приводят к активации. Точно так же у В-клеток, встречающихся с антигенами на периферии, но не имеющих поддержки Т-клеток, будет индуцироваться переход в состояние анергии. Делеция также встречается на периферии.

#### 8.4. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ Fas - FasL

Считается, что решающую роль в удалении аутореактивных В- и Т-клеток играет Fas-опосредованный апоптоз. Fas является мономером, экспрессируемым активированными лимфоцитами, и членом семейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNF). Связывание Fas-рецептора Fas-лигандом (FasL), членом семейства мембранных белков TNF, дает сигнал к апоптозу клеткам, экспрессирующим Fas. Лиганд Fas экспрессируется клетками нескольких типов, такими как активированные Т-клетки и некоторые эпителиальные клетки. Он является тримером, поэтому, когда FasL связывается с Fas, тот становится тримерным. Это приводит к активации домена смерти у Fas, который взаимодействует с доменами смерти ряда цитозольных адаптерных белков, основной характеристикой которых является наличие Fas-ассоциированного домена смерти (FADD). Последний, в свою очередь, включает активацию ряда цистеиновых протеаз, называемых каспазами, что ведет к апоптозу клетки.

Важность взаимодействий Fas - FasL первоначально была показана при исследовании линий мышей с аутоиммунными расстройствами, приводящими к накоплению в селезенке и лимфатических узлах огромного количества Т-клеток. Показано, что дефекты у мышей этих линий, называемых *lpr* (при лимфопролиферации) и *gld* (при генерализованных лимфопролиферативных заболеваниях), являются следствием мутаций в Fas и FasL соответственно. Эти мутации предотвращают у мышей делецию аутореактивных Т-клеток и отменяют уменьшение их Т-клеточной популяции. Мутации в гене Fas описаны и у человека. У лиц с таким дефектом имеется аутоиммунное заболевание - *аутоиммунный лимфопролиферативный синдром* (АЛПС), признаки которого сходны с симптомами у мышей с описанными мутациями. Показано, что апоптоз, опосредованный взаимодействием Fas - FasL, является механизмом удаления аутореактивных Т-клеток на периферии, а недавние исследования указывают, что он также может быть вовлечен в негативную селекцию тимоцитов. Анергичные Т-клетки также чувствительны к Fasопосредованному апоптозу.

#### 8.5. РЕГУЛЯТОРНЫЕ/СУПРЕССОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ

Эксперименты начала 1970-х гг. показали, что специализированная популяция Т-клеток подавляет реакции со стороны других лимфоцитов. Однако невозможность выделения и клонирования популяции супрессорных Т-клеток вызвала сомнения в реальности ее существования. Интерес к Т-супрессорным клеткам возродился в 1990-х гг., когда была выявлена популяция CD4<sup>+</sup>-Т-клеток, обладающих способностью подавлять функцию Т-клеток. Показано, что эти супрессорные, или регуляторные, как их часто называют, Т-клетки (Treg) экспрессируют CD25,  $\alpha$ -цепь рецептора IL-2, поэтому обладают

фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. Экспрессия CD25 характерна не только для супрессорных Т-клеток, она также наблюдается у эффекторных CD4<sup>+</sup>-Т-клеток. Это затрудняет выделение чистой субпопуляции супрессорных Т-клеток для исследования их функций.

Регуляторные CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-Т-клетки составляют примерно 10% периферических CD4<sup>+</sup>-клеток. Когда бестимусным «голым» мышам, у которых имеется дефицит по всем Т-клеткам, был восполнен недостаток CD4<sup>+</sup>-Т-клеток, но без CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-Т-супрессорной популяции, у них развились такие аутоиммунные заболевания, как тиреоидит, гастрит, гломерулонефрит. Однако эти заболевания могли быть предотвращены при введении этим мышам CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-Т-супрессорных клеток параллельно с CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>-Т-клетками. Так была продемонстрирована роль CD25<sup>+</sup>-Т-клеток в обеспечении толерантности. Показано также, что CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-Т-супрессорные клетки препятствуют развитию реакции «трансплантат против хозяина», индуцируемой CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>-Т-клетками, а также диабета у мышей, генетически предрасположенных к этому заболеванию.

Первоначально супрессорные CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-Т-клетки были выявлены у мыши, но позднее их обнаружили и у человека. Оказалось, что они происходят из отдельной линии CD4<sup>+</sup>-Т-клеток, отобранных в период развития Т-клеток в тимусе. Они или не продуцируют IL-2, или продуцируют его в очень небольшом количестве. Некоторые из них могут продуцировать иммуносупрессивный цитокин - трансформирующий фактор роста (TGFβ), но и он не необходим для проявления их супрессорной активности. Такие клетки экспрессируют хемокиновые рецепторы CCR4 и CCR8, которые помогают им в миграции в воспаленные органы и лимфатические узлы, куда происходит отток лимфы. Они изначально экспрессируют CTLA-4, хотя значение этого факта еще не определено.

Для активации CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-Т-супрессорным клеткам требуется участие специфических TCR, но пролиферации в ответ на TCR-опосредованную стимуляцию не происходит. После активации их *супрессорная функция является антигеннеспецифической*, для нее необходим контакт с Т-клетками, отвечающими на антиген. Они ингибируют пролиферацию и активацию и CD4<sup>+</sup>-, и CD8<sup>+</sup>-Т-клеток и предотвращают транскрипцию IL-2 в реактивных Т-клетках.

Супрессорные CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-Т-клетки могут иметь клиническое значение. Увеличение количества этих клеток может быть важным для лечения аутоиммунных заболеваний и подавления реакции отторжения аллотрансплантата. Снижение численности этих Т-клеток может усилить иммунный ответ на противоопухолевые вакцины и вакцины против инфекционных агентов.

Внутри CD4<sup>+</sup>-Т-клеточной субпопуляции были выделены два других типа клеток, оказывающих супрессорное действие. Их называют Т-регуляторными клетками первого типа (Tr1) и Th3-клетками. Эти супрессорные Т-клетки оказались как CD25<sup>-</sup>, так и CD25<sup>low</sup> и различными по своим цитокиновым профилям. Tr1-клетки вырабатывают большое количество IL-10 и TGFβ и опосредуют супрессорное действие с помощью этих цитокинов. Они не вырабатывают или вырабатывают в очень малом количестве IL-2 и IL-4. У мышей Tr1, вероятно, вовлечены в защиту кишечника от воспалительного заболевания, а у крыс предотвращают развитие аутоиммунного диабета. Наблюдения указывают на то, что эти Т-клетки могут возникнуть при активации CD4<sup>+</sup>-Т-клеток в присутствии IL-10. Th3-клетки были выделены при изучении оральной толерантности. Они отличаются от Th1- и Th2-субпопуляций CD4<sup>+</sup>-Т-клеток. Они в основном продуцируют TGFβ и оказывают супрессорное действие посредством секреции этого цитокина. Эти клетки также продуцируют различное количество IL-10 и IL-4, которые отвечают за их дифференцировку. Сходство и различие между CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>-, Tr1- и Th3-регуляторными/супрессорными Т-клетками и их возможные взаимосвязи друг с другом в настоящее время интенсивно изучают.

*Оральная толерантность* представляет собой отсутствие гуморального или клеточного иммунного ответа на антигены, поступающие с пищей. Она *опосредуется Т-клетками*, а механизмы ее обеспечения зависят от дозы поступающего антигена. Малая доза антигена индуцирует Th3-супрессорные клетки, в то время как большая индуцирует Т-клеточную анергию или делецию. Оральная толерантность первоначально иницируется, когда поступивший через рот антиген встречается с лимфоидной тканью, ассоциированной с кишечником (GALT), включая эпителиальные клетки ворсинок, интраэпителиальные лимфоциты, лимфоциты *lamina propria* (собственной пластинки) и лимфоидные узелки пейеровых бляшек.

Дендритные клетки являются основными АПК в GALT и, таким образом, процессируют и презентуют основную часть пищевых антигенов, хотя отмечается присутствие и других АПК, таких как макрофаги, В-клетки и эпителиальные клетки. При поступлении больших доз пищевых антигенов не все из них подвергаются расщеплению ко времени, когда они достигают тонкого кишечника, поэтому некоторые пищевые антигены всасываются в изначальном виде, поступая в общую циркуляторную систему. Затем антиген процессируется и презентуется периферическими АПК в отсутствие ко-стимулирующих взаимодействий, что приводит к отсутствию ответа у Th1-клеток.

*Низкодозная толерантность* индуцируется местно в кишечнике. Цитокиновая среда GALT характеризуется повышенным уровнем IL-4, IL-10 и TGFβ, которые способствуют дифференцировке в Th2- и Th3-клетки и подавляют дифференцировку в Th1-клетки. Th3-клетки, как указывалось ранее, оказывают супрессорное действие посредством секреции TGFβ. Включение Th3-клеток является антигенспецифичным, однако его супрессорное действие не антигенспецифично.

В ряде лабораторных исследований показано, что низкие дозы пищевого антигена могут подавлять развитие смоделированных аутоиммунных заболеваний у животных.

## 8.6. ИММУНОПРИВИЛЕГИРОВАННЫЕ ОБЛАСТИ

В организме есть несколько мест, где не развивается иммунный ответ на патогены, клетки опухоли и гистонесовместимые тканевые трансплантаты. Этими участками - *иммунопrivилегированными областями* - являются глазные яблоки, яички, головной мозг, яичники и плацента. Наиболее яркий пример такой области - глазное яблоко. Например, при пересадке роговицы у человека не нужно обеспечивать совместимость или проводить иммуносупрессивную терапию для приживания трансплантата. Первоначально считалось, что иммунная защита в привилегированных областях объясняется отсутствием тока лимфы и барьером для крови, не позволяющим воспалительным клеткам контактировать с антигенами в этих местах. Однако теперь известно, что доминирующую роль в обеспечении иммунной привилегии играют другие факторы, такие как иммуносупрессивные цитокины и экспрессия FasL. Исследования показали, что FasL экспрессируется клетками некоторых типов, находящихся в этих областях, и что взаимодействие этих клеток, экспрессирующих FasL, с инфильтрирующими воспалительными Т-клетками, экспрессирующими Fas, ведет к апоптозу последних. Установлено, что пигментные эпителиальные клетки сетчатки человека и эндотелиальные клетки роговицы экспрессируют FasL и индуцируют апоптоз воспалительных Т-клеток. Успех трансплантаций роговицы у мышей, как было показано, обусловлен экспрессией FasL клетками трансплантата, которые затем устраняли инфильтрирующие Fas<sup>+</sup>-Т-клетки, предотвращая, таким образом, воспалительное повреждение трансплантата. При пересадке роговицы от мышей, не имеющих функциональных FasL (мыши *gld*), аллогенным реципиентам трансплантаты отторгались, поскольку инфильтрирующие Fas<sup>+</sup>-лимфоциты не могли быть устранены путем FasL-опосредованного апоптоза.

## 8.7. АУТОИММУНИТЕТ И ЗАБОЛЕВАНИЯ

Аутоотолерантность является эволюционным феноменом, который должен сохраняться в неизменном виде для обеспечения нормального роста, развития и выживания видов. Если что-либо разрушает целостность аутоотолерантности (а имеется множество экзогенных и эндогенных факторов, способных привести к этому), может возникнуть аутоиммунный ответ - *аутоиммунитет*.

Последствия возникновения аутоиммунитета могут быть как минимальными, так и катастрофическими в зависимости от степени нарушения целостности аутоотолерантности. Таким образом, следует отличать аутоиммунные реакции от аутоиммунных заболеваний, при которых распознавание собственного антигена приводит к патологическим последствиям с возможным вовлечением антител, комплемента, иммунных комплексов и клеточно-опосредованного иммунитета.

Все большее число заболеваний считаются аутоиммунными по происхождению, но доказательства этого могут быть не такими уж очевидными. Второй момент касается причины этих заболеваний. Возникновение большинства инфекционных болезней может быть приписано одному агенту, некоторые генетические заболевания могут быть обусловлены дефектом одного гена. В противоположность этому гораздо труднее определить агент или агенты, ответственные за аутоиммунное заболевание. Наиболее важной характеристикой аутоиммунного заболевания является то, что его причина многофакторна, т. е. включает как генетический компонент, так и влияние окружающей среды.

Третьим моментом является то, что аутоиммунный феномен может быть *вторичным* по отношению к заболеванию и определять появление значительной части патологических нарушений. Тем не менее, заболевание не должно рассматриваться как первичное аутоиммунное.

Критерии определения аутоиммунного заболевания. При классификации используются три типа доказательств. Наиболее четким прямым доказательством является воспроизведение заболевания при переносе аутоантител или аутореактивных лимфоцитов в организм. В связи со сложностью получения прямых доказательств действия аутоиммунных механизмов могут быть использованы *непрямые доказательства*. Одним из способов является идентификация антигенов-мишеней у человека, выделение гомологичного антигена в модели у животного и воспроизведение заболевания у экспериментального животного путем введения причинного антигена. Примеры успеха данного подхода: воспроизведение аутоиммунного тиреоидита с помощью тиреоглобулина, злокачественной миастении - с помощью ацетилхолинового рецептора, аутоиммунного увеита - с помощью увеального S-антигена и аутоиммунного орхита - с помощью спермы. Однако в отношении заболеваний человека, для которых еще не существует подходящей животной модели, проблемами являются многофакторность событий, которые должны произойти до возникновения заболевания, вовлечение в процесс нескольких аутоантигенов и отсутствие данных о патогенетическом антигене.

Другой способ получения непрямого свидетельства - использование генетически детерминированных животных моделей. Новозеландские черные мыши (НЗЧ) страдают спонтанно возникающей гемолитической анемией, в то время как у новозеландских белых мышей (НЗБ) она отсутствует. Гибридные животные (НЗЧхНЗБ) продуцируют большое количество антинуклеарных антител и используются в качестве модели СКВ человека.

Непрямые доказательства третьего типа основываются на выделении аутореактивных антител или Т-клеток из органов-мишеней. Например, антиэритроцитарные антитела могут быть отделены от эритроцитов у больных с аутоиммунной гемолитической анемией, антитела против ДНК могут быть выделены у пациентов с СКВ, а цитотоксические Тклетки

обнаруживаются в щитовидной железе у больных с болезнью Грейвса. Однако роль этих антител или Т-клеток в развитии патологии установить трудно.

Условные доказательства аутоиммунитета, полученные в клинических исследованиях, включают данные о склонности к заболеванию в семье, наличие лимфоцитарной инфильтрации и ассоциации с МНС и, что наиболее важно, клиническое улучшение при лечении иммуносупрессивными препаратами. Для большинства заболеваний человека последний из критериев наиболее часто употребляется для отнесения заболевания к аутоиммунным.

#### Причины аутоиммунных заболеваний

Генетическая предрасположенность. Наиболее распространенное свидетельство существования генетической предрасположенности к аутоиммунному заболеванию - более высокая частота заболевания у монозиготных близнецов и более низкая, но все еще повышенная частота заболевания у дизиготных близнецов и членов семьи по сравнению с остальной популяцией. Несмотря на существование склонности к заболеванию у родственников, форма наследования отличается сложностью, что указывает на полигенетическую природу заболевания. Это означает, что для возникновения заболевания одного индивидуального гена недостаточно, необходимо взаимодействие многих генов.

Другой способ получения непрямого свидетельства - использование генетически детерминированных животных моделей. Новозеландские черные мыши (НЗЧ) страдают спонтанно возникающей гемолитической анемией, в то время как у новозеландских белых мышей (НЗБ) она отсутствует. Гибридные животные (НЗЧхНЗБ) продуцируют большое количество антинуклеарных антител и используются в качестве модели СКВ человека.

Непрямые доказательства третьего типа основываются на выделении аутореактивных антител или Т-клеток из органов-мишеней. Например, антиэритроцитарные антитела могут быть отделены от эритроцитов у больных с аутоиммунной гемолитической анемией, антитела против ДНК могут быть выделены у пациентов с СКВ, а цитотоксические Т-клетки обнаруживаются в щитовидной железе у больных с болезнью Грейвса. Однако роль этих антител или Т-клеток в развитии патологии установить трудно.

Условные доказательства аутоиммунитета, полученные в клинических исследованиях, включают данные о склонности к заболеванию в семье, наличие лимфоцитарной инфильтрации и ассоциации с МНС и, что наиболее важно, клиническое улучшение при лечении иммуносупрессивными препаратами. Для большинства заболеваний человека последний из критериев наиболее часто употребляется для отнесения заболевания к аутоиммунным.

#### Причины аутоиммунных заболеваний

Генетическая предрасположенность. Наиболее распространенное свидетельство существования генетической предрасположенности к аутоиммунному заболеванию - более высокая частота заболевания у монозиготных близнецов и более низкая, но все еще повышенная частота заболевания у дизиготных близнецов и членов семьи по сравнению с остальной популяцией. Несмотря на существование склонности к заболеванию у родственников, форма наследования отличается сложностью, что указывает на полигенетическую природу заболевания. Это означает, что для возникновения заболевания одного индивидуального гена недостаточно, необходимо взаимодействие многих генов.

Многие аутоиммунные заболевания генетически гетерогенны, т. е. одинаковые по клинической картине заболевания могут быть результатом сочетанного эффекта различных генов. Дополнительная сложность в изучении генетической предрасположенности обусловлена тем, что предрасполагающие гены достаточно часто встречаются в обычной популяции (табл. 8.1).



Несмотря на то, что склонность к аутоиммунному заболеванию может быть связана со специфическими МНС-аллелями, для возникновения заболевания могут потребоваться и другие гены или пусковые механизмы, связанные с некоторыми факторами окружающей среды.

Исследования, проведенные на мышах, показали, что нарушения экспрессии различных не-HLA-генов могут влиять на многие процессы, связанные с осуществлением клетками своих функций, и способствовать развитию аутоиммунных реакций. Показано, что чрезмерная или недостаточная экспрессия генов, причастных к апоптозу или выживанию клеток, цитокинов, ответственных за проведение сигналов через BCR, ко-стимулирующие взаимодействия и иммунное удаление апоптозных клеток и иммунных комплексов - все это определяет аутоиммунный фенотип мышей.

Таблица 8.1. Ассоциативные связи аутоиммунных заболеваний с МНС

Аутоиммунное заболевание	Ассоциация с МНС	Аллель	Проявление ассоциации
Класс I:			
- анкилозирующий спондилит	B27	B12702, -04, -05	Сильная
- синдром Рейтера	B27		Сильная
- острый передний увеит	B27		Сильная
- гипертиреозидизм (Грейвса)	B8		Слабая
- псориаз	Cw6		Умеренная
Класс II:			
- ревматоидный артрит	DR4	DRB 1*0401, -04, -05	Сильная
- синдром Шегрена	DR3		Умеренная
- системная красная волчанка:			
◊ у европеоидов	DR3		Слабая
◊ у японцев	DR2		Умеренная
- целиакия	DR3	DQA 1*0501	Сильная
- пузырьчатка обыкновенная	DR4, DR6		Сильная
- сахарный диабет 1-го типа	DR4 DR3	DQB 1*0302	Сильная Умеренная
- рассеянный склероз	DR2	DRBP1501	Умеренная
- злокачественная миастения	DR3		Слабая
- синдром Гудпасчера	DR2		Умеренная

Дефицит проапоптозных молекул (например, Fas или FasL) или чрезмерная экспрессия антиапоптозных молекул (например, bcl-2) ведет к сокращению апоптоза и увеличению числа аутореактивных В- и Т-клеток, а также увеличению продукции антител, особенно антинуCLEARных. Аутореактивность Т-клеток часто является следствием чрезмерной экспрессии противовоспалительных цитокинов (таких как IL-10) и чрезмерной ко-стимуляции, связанной с повышенной экспрессией ко-стимулирующих молекул (таких как B7 и CD28) или дефицитом ингибиторов ко-стимулирующих взаимодействий (таких как CTLA-4 и PD-1). Нарушения, касающиеся силы сигнала, передаваемого В-клеточным рецептором, связанные с недостаточной экспрессией сигнальных молекул, таких как CD22, или чрезмерной экспрессией таких молекул, как CD19 или CD45, ассоциируются с продукцией аутоантител. Усиленная помощь со стороны Т-клеток, которая встречается при увеличенной экспрессии CD40 или CD40L, также ведет к выработке аутоантител. Наконец, к продукции аутоантител ведут недостаточная экспрессия белков (таких как сывороточный амилоидный белок - САП), которые вовлечены в удаление фрагментов, оставшихся после апоптоза, или пониженное выведение иммунных комплексов, связанное с дефицитом первых компонентов классического пути активации комплемента (или C1q, C2, C3, или C4). Повреждения органов-мишеней при аутоиммунном заболевании могут также быть генетически обусловлены. На моделях аутоиммунного миокардита, полученных на мышах, было показано, что чувствительность к заболеванию и повреждение сердца зависели от доступности антигена кардиального миозина у специфических линий мышей.

Некоторые аутоантигены защищены (секвестрированы) от иммунной системы. Таким образом, даже при наличии в организме аутореактивных Т- и В-клеток эти клетки не будут активироваться для запуска аутоиммунитета, поскольку они никогда не будут контактировать с аутоантигеном. Представителями таких секвестрированных антигенов считаются антигены хондроцитов в хряще и некоторые антигены нервной ткани и сердца. В тех случаях, когда они встречаются с иммунной системой, в результате *физического воздействия или инфекции*), может возникнуть аутоиммунный ответ. В некоторых случаях *аутоиммунный миокардит* наблюдался после *ишемического сердечного приступа*. Считается, что аутореактивность в отношении сердечных антигенов возникает вследствие выхода секвестрированных антигенов после повреждения сердечной ткани.

Аутоиммунитет также может возникнуть, когда антитела или Т-клетки, специфичные по отношению к *микробным антигенам*, перекрестно реагируют с аутоантигеном (это связано с тем, что эпитоп микробного антигена высокомологичен эпитопу, присутствующему на аутоантигене). Это явление называется *молекулярной мимикрией*. Обычно Т-зависимый аутоантиген не вызывает ответа со стороны антител, поскольку отсутствуют аутореактивные Т-клетки-хелперы, способные обеспечить помощь, так как они были либо устранены, либо анергизированы.

Однако чужеродный антиген, который содержит эпитоп, сходный с эпитопом на аутоантигене, может вызвать ответ со стороны аутоантител, если он содержит Т-клеточный эпитоп, отличающийся от такого эпитопа у аутоантигена. Это связано с тем, что чужеродный эпитоп активирует Т-клетки, которые не стали толерантными, и эти Т-клетки могут оказать помощь аутореактивным В-клеткам. Считается, что *молекулярная мимикрия* играет существенную роль в развитии *ревматической лихорадки*, которая в некоторых случаях развивается после *стрептококковой инфекции*. Полагают, что аутоантитела к кардиальному миозину возникают в связи с перекрестной реактивностью со стрептококковым антигеном.

В некоторых случаях запускать аутоиммунитет могут *вирусные инфекции*, что также обусловлено перекрестной реактивностью с Т-клетками. Т-клетка, специфичная к вирусному пептиду, может перекрестно реагировать с пептидом, происходящим из аутоантигена.

Доказано, что при аутоиммунном диабете Т-клетка, распознающая пептид из декарбоксилазы глутаминовой кислоты, перекрестно реагирует с пептидом, выделяемым из

вируса Коксаки. Таким образом, молекулярная мимикрия может привести к развитию аутоиммунного заболевания после микробной инфекции.

Микробные агенты также могут индуцировать аутоиммунитет путем *поликлональной активации*. Поликлональные активаторы могут неспецифически запускать многие В- или Т-клеточные клоны (включая аутореактивные). Многие бактериальные и вирусные агенты действуют как *суперантигены*, способные активировать ряд различных клонов Т-клеток независимо от их специфичности, потому что они связываются с доменами, которые кодируются V $\beta$ -генными сегментами и лежат снаружи от пептидсвязывающей полости. Показано, что консервативные молекулярные структуры на большой группе микроорганизмов (молекулярные структуры, ассоциированные с патогенами; pathogen-associated molecular patterns - PAMP) действуют как поликлональные активаторы В-клеток. Рецепторы, распознающие эти PAMP, обнаружены на всех В-клетках и других АПК. Липополисахарид является компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий, которые способны поликлонально активировать В-клетки мышей. Другие обычные PAMP, такие как микробные липопротеины и гипометилированные ДНК бактерий, могут также запускать поликлональную активацию человеческих В-клеток.

## 8.8. ПУСКОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ АУТОИММУНИТЕТА

Пусковыми механизмами неинфекционного происхождения могут быть гормоны, лекарственные средства и утрата супрессорных Т-клеток. Влияние гормонов иллюстрируют специфические по половой принадлежности факторы, способствующие запуску аутоиммунных заболеваний. Например, СКВ возникает у женщин в 10 раз чаще, чем у мужчин, а эстроген может вызывать обострение заболевания. Некоторые лекарственные средства могут химически повредить Т-клеточный носитель эпитопа аутоантигена, делая его иммуногенным. Наконец, подавление или утрата супрессорных Т-клеток могут способствовать проявлению аутоиммунитета. Супрессорные Т-клетки обычно подавляют активацию CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-Т-клеток. Утрата этих клеток, по-видимому, способствует усилению клеточно-опосредованной деятельности, что может привести к развитию аутоиммунных реакций, опосредованных Т-клетками. У больных диабетом и воспалительными заболеваниями кишечника количество супрессорных Т-клеток часто снижено.

## 8.9. ПРИМЕРЫ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Традиционно аутоиммунные заболевания классифицировались как заболевания, опосредованные В- или Т-клетками. В настоящее время известно, что большинство В-клеточных ответов зависят от Т-клеток и что В-клетки могут являться важными АПК для активации Т-клеток. Таким образом, упомянутая классификация уже устарела. По другой классификации аутоиммунные заболевания разделялись на системные и органоспецифические. И эта классификация тоже уже не пригодна. При некоторых заболеваниях аутоантиген встречается повсеместно, однако повреждения ограничиваются одной тканью. Другие аутоиммунные заболевания, ранее считавшиеся связанными с патогенетическими проявлениями органоспецифических иммунных ответов, теперь признаются затрагивающими многие органы, поэтому заболевания классифицируют по эффекторному механизму, который более всего отвечает за повреждение органа: антитела, комплемент или Т-клетки. Такая система тоже несовершенна, поскольку при многих заболеваниях действуют все механизмы.

Аутоиммунные заболевания, при которых доминирующую роль в поражении органа играют антитела

Аутоиммунная гемолитическая анемия. Гемолитическая анемия является аутоиммунной в том случае, когда антитела реагируют с собственными *красными кровяными тельцами* (эритроцитами). При этом заболевании количество циркулирующих эритроцитов снижено, поскольку антитела, направленные на антигены, находящиеся на поверхности клеток крови, разрушают или устраняют эти клетки. Разрушение эритроцитов может быть связано с двумя механизмами. В первом случае происходит активация каскада комплемента с последующим лизисом клеток. Гемоглобин, высвобождающийся в результате этого, может появиться в моче. Такое состояние называется *гемоглобинурией*. Во втором случае происходит опсонизация эритроцитов, которой способствуют антитела и С3b-компонент комплемента. В последнем случае эритроциты связываются и захватываются макрофагами, рецепторы которых к Fc и С3b прикрепляются к антителам, покрывающим эритроциты.

Антитела, ответственные за возникновение аутоиммунной гемолитической анемии, обычно делят на две группы, основываясь на их физических свойствах. Первая группа состоит из *тепловых антител*, называемых так, поскольку для оптимальной реакции с эритроцитами им необходима температура 37 °С. Тепловые аутоантитела принадлежат преимущественно к классу IgG, и некоторые из них реагируют с резусантигенами на поверхности клеток крови. Поскольку для активации каскада комплемента нужно плотное прилегание по крайней мере двух молекул - IgG и Rh, а Rh-антигены имеют низкую плотность на поверхности эритроцита, лизиса, опосредованного комплементом, не происходит. При этом антитела IgG к этим антигенам эффективно индуцируют иммунную адгезию и фагоцитоз. Такие антитела у больных аутоиммунной гемолитической анемией определяют с помощью *теста Кумбса*, который создан для выявления IgG, прикрепленного к поверхности эритроцитов.

Вторым видом антител являются *холодовые агглютинины*, прикрепляющиеся к эритроцитам, только когда температура тела ниже 37 °С, и отделяющиеся от клеток, когда температура поднимается выше 37 °С. Холодовые агглютинины принадлежат преимущественно классу IgM и специфичны относительно I- или i-антигенов, присутствующих на поверхности эритроцитов. Поскольку холодовые агглютинины относятся к классу IgM, они эффективно активируют каскад сборки мембраноатакующего комплекса комплемента и вызывают лизис эритроцитов, к которым они прикрепляются. Однако гемолиз, вызываемый холодовыми агглютинами, у пациентов с аутоиммунной гемолитической анемией выражен нерезко, поскольку температура их тела поддерживается на уровне 37 °С. Тяжелые приступы гемолиза могут возникать, когда организм охлаждается и температура циркулирующей крови снижается.

Хотя причина формирования аутоантител часто неизвестна, информацию для размышления дают случаи анемии, вызванной лекарственными средствами. Препарат пенициллин, действуя как гаптен, может связываться с определенным белком на поверхности эритроцитов, и весь этот комплекс затем действует как антиген, привлекающий антитела к поверхности клетки, что ведет к лизису или фагоцитозу. В таких случаях, однако, заболевание является «самоограниченным» и проходит после прекращения приема препарата.

Другим примером анемии, вызванной лекарственными средствами, является анемия, встречающаяся у небольшой части пациентов, принимающих  $\alpha$ -метилдопу в качестве гипотензивного средства. Этот препарат провоцирует нарушение, почти идентичное вызываемому тепловыми аутоантителами. Иногда холодовые агглютинины появляются после инфекций, вызванных *Mycoplasma pneumoniae* или вирусами, что подтверждает роль инфекционного заболевания как пускового механизма у генетически предрасположенных индивидуумов.

*Злокачественная миастения.* Другим аутоиммунным заболеванием, в развитии которого участвуют антитела к четко установленному антигену-мишени, является

злокачественная миастения. Аутоантигеномишенью при этом заболевании является *ацетилхолиновый рецептор* в нервно-мышечных соединениях. Аутоантитело действует как антагонист, блокирующий соединение ацетилхолина с рецептором. Это прекращает прохождение нервного импульса через нервно-мышечное соединение, вызывая выраженную мышечную слабость, проявляющуюся затруднениями при жевании, глотании и нарушением дыхательной функции, приводящим в дальнейшем к смерти от дыхательной недостаточности. Соотношение заболевших женщин и мужчин примерно 3 : 2. У некоторых детей, рожденных матерями, больными миастенией, отмечается транзиторная мышечная слабость, преимущественно связанная с тем, что через плаценту поступает существенное количество IgG.

Это заболевание может быть экспериментально вызвано у животных путем иммунизации очищенными ацетилхолиновыми рецепторами, взятыми у электрического ската или электрического угря, которые обладают выраженной перекрестной реактивностью с рецепторами млекопитающих. При экспериментальном заболевании вследствие формирования антител против чужеродных рецепторов антитела связываются с рецепторами млекопитающих и почти воссоздают картину естественного заболевания. Миастения может пассивно переноситься с помощью антител. Развитие болезни, похоже, связано с вирусной железой, поскольку многие пациенты имеют сопутствующую тимому или гипертрофию тимуса, а его удаление иногда ведет к регрессу заболевания. Молекулы, перекрестно реагирующие с рецептором ацетилхолина, были обнаружены на различных клетках тимуса, таких как тимоциты и эпителиальные клетки. Однако являются ли эти молекулы первичным стимулом для развития заболевания, неизвестно. У болезни есть генетический компонент, поскольку злокачественная миастения ассоциирована с аллелями HLA-DR3.

Болезнь Грейвса. Одно из основных проявлений болезни Грейвса - гиперактивность щитовидной железы (*гипертиреоз*). Это проявление служит примером того, как антитела, направленные против рецептора гормона, могут в большей степени активировать рецептор, чем мешать его работе. По еще неизвестным причинам при болезни Грейвса у пациентов вырабатываются антитела против тиреоидных *рецепторов для тиреостимулирующего гормона* (ТСГ), расположенных на поверхности клеток. Взаимодействие этих антител с рецептором активирует клетку таким же образом, что и ТСГ, т. е. антитело ведет себя как агонист. Длительно продолжающаяся стимуляция этими антителами ведет к гипертиреозу.

Непрямыми доказательствами того, что болезнь Грейвса является аутоиммунной, служат семейная предрасположенность, генетическая ассоциация с генами HLA II класса и взаимосвязь титра антител к рецепторам ТСГ с тяжестью заболевания. Однако наилучшим свидетельством служит перенос антител, стимулирующих щитовидную железу, от больной тиреотоксикозом матери через плаценту плоду с появлением у него *транзиторного неонатального гипертиреоза*, сохраняющегося до момента полного распада материнских IgG. Болезнь наиболее часто поражает женщин 30-40 лет. В районах, где заболевание не распространено, соотношение больных женщин и мужчин составляет примерно 7 : 1. Генетические факторы играют роль при сцеплении с генами MHC II класса и как семейная предрасположенность. Недавно Международный консорциум по изучению генетики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (International Consortium for the Genetic of Autoimmune Thyroid Disease) определил новый ген предрасположенности к болезни Грейвса на хромосоме 20 (20q11.2).

Это заболевание может быть экспериментально вызвано у животных путем иммунизации очищенными ацетилхолиновыми рецепторами, взятыми у электрического ската или электрического угря, которые обладают выраженной перекрестной реактивностью с рецепторами млекопитающих. При экспериментальном заболевании вследствие формирования антител против чужеродных рецепторов антитела связываются с рецепторами млекопитающих и почти воссоздают картину естественного заболевания. Миастения может пассивно переноситься с помощью антител. Развитие болезни, похоже, связано с вирусной железой

железой, поскольку многие пациенты имеют сопутствующую тимому или гипертрофию тимуса, а его удаление иногда ведет к регрессу заболевания. Молекулы, перекрестно реагирующие с рецептором ацетилхолина, были обнаружены на различных клетках тимуса, таких как тимоциты и эпителиальные клетки. Однако являются ли эти молекулы первичным стимулом для развития заболевания, неизвестно. У болезни есть генетический компонент, поскольку злокачественная миастения ассоциирована с аллелями HLA-DR3.

Болезнь Грейвса. Одно из основных проявлений болезни Грейвса - гиперактивность щитовидной железы (*гипертиреоз*). Это проявление служит примером того, как антитела, направленные против рецептора гормона, могут в большей степени активировать рецептор, чем мешать его работе. По еще неизвестным причинам при болезни Грейвса у пациентов вырабатываются антитела против тиреоидных *рецепторов для тиреостимулирующего гормона* (ТСГ), расположенных на поверхности клеток. Взаимодействие этих антител с рецептором активирует клетку таким же образом, что и ТСГ, т. е. антитело ведет себя как агонист. Длительно продолжающаяся стимуляция этими антителами ведет к гипертиреозу.

Непрямыми доказательствами того, что болезнь Грейвса является аутоиммунной, служат семейная предрасположенность, генетическая ассоциация с генами HLA II класса и взаимосвязь титра антител к рецепторам ТСГ с тяжестью заболевания. Однако наилучшим свидетельством служит перенос антител, стимулирующих щитовидную железу, от больной тиреотоксикозом матери через плаценту плоду с появлением у него *транзиторного неонатального гипертиреоза*, сохраняющегося до момента полного распада материнских IgG. Болезнь наиболее часто поражает женщин 30-40 лет. В районах, где заболевание не распространено, соотношение больных женщин и мужчин составляет примерно 7 : 1. Генетические факторы играют роль при сцеплении с генами MHC II класса и как семейная предрасположенность. Недавно Международный консорциум по изучению генетики аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (International Consortium for the Genetic of Autoimmune Thyroid Disease) определил новый ген предрасположенности к болезни Грейвса на хромосоме 20 (20q11.2).

Хотя антиген, который инициировал выработку этих антител, неизвестен, предполагают, что это инфекционный агент. Системная красная волчанка может быть результатом иммунного ответа на широко распространенные в окружающей среде организмы только у небольшой части генетически предрасположенных индивидуумов. Другими факторами окружающей среды являются ультрафиолетовое излучение, которое обостряет заболевание, и действие гормонов. Такие лекарственные средства, как пеницилламин, могут вызывать симптомы, сходные с СКВ. Есть свидетельство генетической предрасположенности: повышенный риск возникновения СКВ среди членов семьи, более высокая вероятность появления заболевания у монозиготного близнеца (25%) по сравнению с дизиготным (менее 3%), связь с HLA-генами II класса и наличие врожденного дефицита ранних компонентов комплемента у 6% больных СКВ.

Аутоиммунные заболевания, при которых Т-клетки играют доминирующую роль в повреждении органов

Рассеянный склероз. При рассеянном склерозе происходит *демиелинизация ткани ЦНС*. Болезнь характеризуется либо ремиссиями и обострениями, либо хроническим прогрессирующим течением. Считается, что она является аутоиммунной, *опосредованной Т-клетками*. Повреждения напоминают клеточные инфильтраты, ассоциированные с Th1-клетками, схожими с таковыми при ГЗТ.

Неясно, обусловлен ли аутоиммунный ответ недостаточностью клональной делеции вследствие нейроантигенной сенсibilизации или *молекулярной мимикрии по отношению к нейроэпиту*, отмечаемой после вирусной инфекции. Доказательство того, что рассеянный склероз - аутоиммунное заболевание, не является прямым. Оно основывается на моделировании экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ) у грызунов. У

животных с ЭАЭ наблюдаются многие признаки, сходные с симптомами у больных рассеянным склерозом. Клоны CD4<sup>+</sup>T-клеток, специфичные к основному белку миелина и многим другим антигенам ЦНС, способны переносить заболевание ЭАЭ. Условными свидетельствами аутоиммунной природы рассеянного склероза являются ассоциация HLA II класса с предрасположенностью к болезни и выявление повышенной реакции T-клеток на компоненты миелина в цереброспинальной жидкости у больных по сравнению с контрольной группой.

В результате одного исследования была установлена способность активированных T-клеток проходить через гематоэнцефалический барьер, который обычно препятствует проникновению клеток и макромолекул в ЦНС. У активированных T-клеток регуляция интегринами не осуществляется, что позволяет им прикрепляться к стенкам сосудов вблизи мозга. Активированные T-клетки способны вырабатывать металлопротеиназы, которые разрушают коллаген базальной мембраны, позволяя им накапливаться в ЦНС. Попав туда, T-клетки должны пройти стимуляцию антигеном (вероятно, с помощью микроглии, макрофагоподобных АПК, присутствующих в мозге), чтобы задержаться в мозге. Продуцируются хемокины, привлекающие дополнительные воспалительные клетки. Это приводит к накоплению не только CD4<sup>+</sup>T-клеток, но также макрофагов и микроглии; все эти клетки принимают участие в повреждении ткани. Воспалительный процесс индуцирует экспрессию Fas, усиливающуюся на олигодендроцитах, превращая их в мишени для T-клеток и микроглии, которая экспрессирует FasL. Это приводит к запуску программируемой смерти олигодендроцитов.

В семьях больных рассеянным склерозом заболевание наблюдается часто, с большей частотой возникая у второго монозиготного близнеца (25-30%). Женщины болеют в 2 раза чаще, пик заболевания приходится на 35 лет. Недавние исследования указывают на то, что примерно 12 участков генома человека могут иметь значение с точки зрения предрасположенности к рассеянному склерозу. Выделение этих генов и определение, каким образом они связаны с иммунной системой, поможет понять первопричину поражения и иммунопатогенез заболевания.

Инсулинзависимый сахарный диабет 1-го типа. Инсулинзависимый сахарный диабет представляет собой форму диабета, характеризующуюся хронической воспалительной деструкцией продуцирующих инсулин β-клеток островков поджелудочной железы. При этом заболевании основную лепту в разрушение β-клеток вносят *цитотоксические T-клетки* и цитокины, которые индуцируют аутоантитела. Среди генетических факторов существует несколько генов в участках MHC II класса, ген инсулина на хромосоме 11 и по крайней мере 11 других не связанных с HLA генов предрасположенности к диабету. Некоторые гаплотипы HLA II класса предрасполагают к заболеванию, а другие защищают от него. Например, около 50% больных инсулинзависимым сахарным диабетом являются гетерозиготными по HLA-DR3/DR4, а в общей популяции этот гаплотип встречается в 5% случаев. Однако индивидуумы с HLA-DQB1\*62 редко страдают этим заболеванием.

Тиреоидит Хашимото. Тиреоидит Хашимото является заболеванием щитовидной железы, наиболее часто наблюдаемым у женщин средних лет. Вначале оно ведет к появлению *зоба*, а затем к атрофии железы, вызывающей нарушение ее функций и гипотиреоз. В семьях пациентов с болезнью Хашимото гораздо чаще, чем в общей популяции, отмечаются и другие аутоиммунные заболевания. Заболевание опосредуется T-клетками, однако в его развитии могут играть роль и антитела.

В процесс развития заболевания вовлечены антигены-мишени, такие как *тиреоглобулин* - основной гормон, вырабатываемый щитовидной железой, а также *микросомальные антигены* тиреоидных эпителиальных клеток. У пациентов с болезнью Хашимото обнаруживаются антитела к обоим этим антигенам. При гистологических исследованиях отмечается преимущественно инфильтрация

моноклеарными клетками фолликулов щитовидной железы. Моноклеарные инфильтраты содержат большое количество В-клеток, Т-клеток и макрофагов. Наличие этих инфильтратов сопровождается постепенной деструкцией фолликулов и попытками железы регенерировать, что приводит к ее увеличению. Когда разрушение фолликулов достигает определенного уровня, выработка гормона снижается и появляются симптомы гипотиреоза: сухость кожи, отечность лица, ломкость волос и ногтей и постоянное ощущение холодности кожных покровов. Свидетельства важной роли Т-клеточного ответа получены при исследованиях экспериментального аутоиммунного тиреоидита, который может быть вызван у животных либо путем их иммунизации тиреоглобулином с полным адьювантом Фрейнда, либо пассивным переносом клонов CD4<sup>+</sup>-Th1-клеток, специфичных для тиреоглобулина. В отличие от истинного заболевания, которое характеризуется хроническим течением с рецидивами, болезнь, вызванная экспериментально, протекает остро и не рецидивирует. Таким образом, причиной естественного развития аутоиммунного заболевания является скорее длительный процесс, чем случай единичной иммунизации.

Ревматоидный артрит характеризуется *хроническим воспалением синовиальной оболочки* с присутствием в ней большого количества лимфоцитов, что приводит к разрушению хряща и кости. Воспаленная синовиальная оболочка, обычно состоящая из одного слоя клеток, становится настолько насыщенной клетками, что начинает напоминать лимфоидную ткань с формирующимися в ней новыми кровеносными сосудами. Синовиальная оболочка плотно набита дендритными клетками, макрофагами, Т-, В-лимфоцитами, НК-клетками и сгустками плазматических клеток; в некоторых случаях в ней возникают вторичные фолликулы. Патология в наиболее тяжелой форме является следствием целого ряда иммунопатологических механизмов с участием комплексов антиген-антитело, комплемента, полиморфноядерных-нейтрофилов, воспалительных CD4<sup>+</sup>- и цитотоксических CD8<sup>+</sup>-Т-клеток, активированных макрофагов и НК-клеток. Вся эта «агрессивная смесь» высвобождает разнообразные цитокины (из которых TNF $\alpha$  и IL-1 появляются одними из первых), расщепляющие ферменты и медиаторы, разрушающие целостность хряща. Хондроциты, клетки хряща, подвергаются воздействию иммунной системы и поддерживают процесс повреждения, в котором являются не только потенциальными мишенями, но и продуцентами цитокинов и факторов роста. В суставах таких больных часто накапливается синовиальная жидкость, содержащая большое количество полиморфноядерных нейтрофилов. После нескольких приступов воспаления *откадывается фибрин*, хрящ заменяется фиброзной тканью.

Предполагают, что воспалительный процесс инициируется выработкой аномальных антител (обычно IgM), называемых *ревматоидным фактором*, который специфично связывает детерминанты на Fc-фрагменте собственных молекул IgG больного. Однако существуют сомнения в том, что ревматоидный фактор является общей причиной начала заболевания, поскольку у 30% больных ревматоидным артритом он не определяется современными методами. В группе пациентов, у которых определяется ревматоидный фактор, болезнь имеет тенденцию протекать более агрессивно. Ревматоидный фактор является важным показателем активности заболевания, поскольку понижение его уровня в сыворотке наблюдается во время ремиссии. Наличие ревматоидного фактора влияет на течение ревматоидного артрита, но, по-видимому, не связано с Т-клеточным ответом.

Первоначальный механизм запуска заболевания может быть многофакторным. В организме значительной части больных ревматоидным артритом повышено количество В-клеток, инфицированных вирусом Эпштейна-Барр.  $\gamma\delta$ -Т-клетки этих пациентов распознают белки теплового шока; имеется ассоциация ревматоидного артрита с бактериями.

Уникальной особенностью этого вируса является его способность неспецифически (без участия антигена) стимулировать человеческие В-клетки к пролиферации и активной продукции тех иммуноглобулинов, выработка которых для данных клеток генетически детерминирована. Все В-лимфоциты человека имеют на своей поверхности рецепторы для



вируса Эпштейна-Барр, и поэтому после контакта с ним возникают многочисленные клоны активированных В-лимфоцитов, секретирующих различные (но специфические для данного конкретного клона) антитела и аутоантитела. В этом смысле вирус Эпштейна-Барр должен рассматриваться как поликлональный активатор В-клеток. После инфицирования человека вирус Эпштейна-Барр остается в В-клетках в латентном состоянии, но сохраняет способность к последующему активированию. Конкретные проявления такого относительно скрытого вирусоносительства могут иметь разную степень выраженности.

Так, при малой активности вируса он не размножается, и В-клетка остается жизнеспособной, инфекционные частицы из нее не выделяются. Однако и при этом под влиянием вирусного генома в инфицированной В-клетке вырабатываются антигены, к которым человеческий организм продуцирует антитела. Один из основных антигенов такого типа образуется в ядре В-клетки и носит международное название EBNA (Ebstein-Barr nuclear antigen). Он обнаружен во всех клетках, содержащих геном вируса Эпштейна-Барр, и при отсутствии активации этого вируса служит единственным проявлением инфицированности.

При начальной степени активации вируса (но до его явной репликации) в клетках возникают еще три индуцированных вирусным геномом антигена, один из которых в основном связан с ядром, второй - с цитоплазмой и третий - с клеточной мембраной. Эти три антигена объединяются понятием «ранний антигенный комплекс» - EAC (early antigen complex). Очевидная активация вируса Эпштейна-Барр, проявляющаяся репликацией его ДНК и образованием новых инфекционных частиц, сопровождается возникновением в клетке позднего антигенного комплекса. Важнейшей составной частью этого комплекса служат компоненты капсида (белковой оболочки вирусной ДНК) - вирусный капсидный антиген (VCA).

Женщины болеют ревматоидным артритом в 3 раза чаще мужчин, заболевание обычно начинается в возрасте 40-50 лет. В семейных исследованиях, касающихся развития ревматоидного артрита, во многих популяциях проверялась ассоциация различных генов. Для многих популяций подтверждена связь аллелей HLA-DR4 с заболеванием, хотя подтипы и варьировались. Например, ассоциация HLA-DRB1 для белых жителей Северной Америки - это \*0401 и \*0404, в то время как для израильтян - это \*0102 и \*0405, для индейцев якима - \*1402. У прочих ассоциация с DR4-генами отсутствует. Определение последовательности ДНК этих молекул МНС II класса показывает, что все они обладают сегментом наружного домена β-цепи HLA-DR, называемым *общим эпитопом*. Индивидуумы с двумя различными HLA-DRB1, обладающие общим эпитопом β-цепи, больше всех подвержены риску развития ревматоидного артрита, и заболевание у них протекает в наиболее тяжелой форме. Среди других генов, прямо ассоциированных с ревматоидным артритом, можно назвать TNF и белки теплового шока.

Аутоиммунные заболевания, связанные с дефицитом компонентов комплемента. Добавление C3b к комплексу антиген-антитело способствует его связыванию с C3b-рецептором на клетках многих типов, таких как фагоцитарные клетки и эритроциты. Комплексы, связанные с эритроцитами, быстро переносятся в печень и селезенку, а захваченные фагоцитами разрушаются.

Отложение иммунных комплексов в неподходящих местах может происходить при различных обстоятельствах, приводящих к заболеванию. Например, избыточное формирование иммунных комплексов часто перегружает механизмы их клиренса, опосредованного комплементом, как при сывороточной болезни. Кроме того, врожденный дефицит компонентов классического пути активации комплемента также может приводить к отложению. Дефект компонентов комплемента C1, C4 или C2 предотвращает активацию классического пути, а дефицит C4b и C3b приводит к невозможности фагоцитоза иммунных комплексов макрофагами. Более чем у 80% лиц с полным дефицитом C1, C4 или C2

возникает СКВ. Наконец, неэффективный клиренс иммунных комплексов также вызывают дефекты комплемента или Fc-клеточных рецепторов на клетках.

## 8.10. ДИАГНОСТИКА АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Аутоиммунные болезни поражают 5-7% населения земного шара, чаще развиваются у женщин, чем у мужчин; как правило, возникают в молодом возрасте.

Аутоиммунные заболевания развиваются в тех случаях, когда в организме появляются антитела (Ig) или клоны Т-клеток, способные взаимодействовать с собственными антигенами (Ag) и тем самым разрушать клетки и ткани, обладающие этими антигенами. Возникший аутоиммунный процесс - явление в значительной степени хроническое, приводящее к долговременному повреждению тканей. Связано это, в первую очередь, с тем, что аутоиммунная реакция постоянно поддерживается тканевыми антигенами. В качестве аутоантигенов могут выступать белки, нуклеиновые кислоты, фосфолипиды, сахара, стероиды и т. д.

Аутоиммунные заболевания можно разделить на органоспецифические и органонеспецифические в зависимости от того, реагируют ли они главным образом с антигенами клеток одного или многих органов. Органами-мишенями при органоспецифических заболеваниях часто оказываются щитовидная железа, надпочечники, желудок и поджелудочная железа (тиреоидит Хашимото, первичная микседема, тиреотоксикоз, пернициозная анемия, болезнь Аддисона, инсулинзависимый сахарный диабет и др.). При органонеспецифических болезнях, в том числе ревматологических, обычно возникают поражения кожи, почек, суставов и мышц (дерматомиозит, СКВ, склеродермия, ревматоидный артрит и др.).

Этиопатогенез. Механизм аутоиммунного разрушения клеток и тканей не отличим от того, который действует в условиях нормы при адаптивном иммунитете, и включает как специфические иммуноглобулины различных классов, так и субпопуляции Т-клеток, способные реагировать на собственные антигены. Механизмы повреждения тканей при органоспецифических и органонеспецифических заболеваниях различны. В тех случаях, когда антиген локализован в каком-либо одном органе, наибольшее значение имеют гиперчувствительность II типа и клеточные реакции. При органонеспецифических аутоиммунных заболеваниях основную роль играет отложение иммунных комплексов, ведущее, так или иначе, в том числе путем активации комплемента и фагоцитоза, к воспалению.

Генетическая предрасположенность. Практически все изученные аутоиммунные заболевания ассоциированы с тем или иным гаплотипом HLA. При органоспецифических заболеваниях особенно часто встречается гаплотип В8, DR3, хотя тиреоидит Хашимото чаще ассоциирован с DR5. Ревматоидный артрит ассоциирован с определенной последовательностью в DR4. Это подтверждает представление об участии нескольких генетических факторов в развитии аутоиммунных заболеваний: во-первых, генов, определяющих общую предрасположенность к аутоиммунной патологии, органоспецифической или органонеспецифической, а во-вторых, других генов, которые определяют конкретную мишень - антиген или антигены, против которых направлена аутоиммунная реакция.

Триггерные факторы. В настоящее время в связи с высокой инфицированностью населения различными вирусными инфекциями их роль в развитии аутоагрессии является лидирующей. В патогенезе этого задействованы два механизма, приводящие к срыву иммунологической толерантности к тканям собственного организма и поддержанию аутореактивного процесса. Ими являются феномен молекулярной мимикрии и избыточная активация аутореактивных лимфоцитов. Структурное сходство вирусных и аутоэпитопов

способно приводить при соблюдении ряда дополнительных условий к активации аутореактивных иммунокомпетентных клеток. В норме аутоантиген в низкой концентрации поддерживает аутореактивные Т-лимфоциты-хелперы в состоянии толерантности. Инфекционный агент, несущий эпитопы, перекрестно реагирующие со «скрытыми» аутоэпитопами, вызывает экспрессию ко-стимулирующих молекул (CD2, CD28, LFA-1), вследствие чего происходит активация аутореактивных Т-хелперов.

Будучи активированными, аутореактивные лимфоциты уже не нуждаются во внешнем стимуле и способны реагировать с аутоэпитопами на поверхности «непрофессиональных» антигенпрезентирующих клеток (АПК) (гепатоциты, клетки билиарного эпителия). В-клеточные перекрестно реагирующие эпитопы также могут привести к срыву толерантности, однако по другому механизму.

Многие аутореактивные В-лимфоциты не могут быть активированы, так как Т-хелперы, в «содействии» которых они нуждаются, либо находятся в состоянии толерантности под воздействием низкой концентрации аутоантигена, либо способны распознавать только «скрытые» эпитопы. Однако эти В-клетки могут связывать другие эпитопы перекрестно-реагирующего антигена, презентуя его перекрестные эпитопы аутореактивным Т-хелперам в концентрации, достаточной для их активации. После клиренса внешнего фактора роль стимулятора берет на себя аутоэпитоп, и Т-хелперы, выйдя из состояния толерантности, активируют В-лимфоциты.

Нельзя исключить, что, кроме вирусов, функцию инициатора иммунопатологических процессов могут выполнять и другие факторы окружающей среды, в частности, реактивные метаболиты лекарственных препаратов.

*Обнаружение в сыворотке крови различных аутоантител имеет порой решающее диагностическое значение для подтверждения того или иного заболевания, тесно связано с активностью болезни или может определять прогноз.*

Диагностика аутоиммунной патологии соединительной ткани. Диагностическими иммунологическими маркерами болезней соединительной ткани, безусловно, являются антиядерные антитела (АЯА).

Основная цель исследования АЯА - исключить системную красную волчанку (СКВ), поскольку при этом заболевании АЯА появляются в сыворотке 95% больных в течение 3 мес после начала заболевания. СКВ - это прототип общих или системных заболеваний, характеризующихся присутствием большого количества антител к множеству собственных антигенов. Наличие АЯА может быть связано с такими заболеваниями, как ревматоидный артрит (РА), смешанные заболевания соединительной ткани (СЗСТ), склеродерма, синдром Шегрена (СШ), дерматозы, полимиозиты, дискоидная красная волчанка, и другими плохо изученными синдромами, например, CREST-синдром (разновидность склеродермии в виде кальциноза, синдрома Рейно, дискинезии пищевода, склеродактилии и телеангиэктазии) и прогрессирующим системным склерозом (ПСС). Частота положительной реакции на АЯА среди нормальной популяции составляет примерно 2-4%. АЯА выявляются в 93% случаев при СКВ, в 60% - при СШ, в 99% - при СЗСТ, в 40% - при РА и в 15% случаев - при подростковой форме РА.

К настоящему времени описано более 100 разновидностей АЯА, направленных против структур цитоплазмы и ядра (против клеток нуклеиновых кислот, гистонов, белков ядерной мембраны, рибонуклеопротеинов, белков ядрышек и центромер). АЯА могут быть разделены на три группы:

- 1) истинные ядерные антигены: двухспиральная ДНК, односпиральная ДНК, гистоны, ядерная РНК;
- 2) экстрагируемые ядерные антигены: Sm, n-RNP, Scl 70;

3) цитоплазматические антигены: SS-A(Ro)\*, SS-B(La)\* и Jo-1. SS-A (Ro) и SS-B (La) могут локализоваться как в цитоплазме, так и в ядрах.

Основными методами лабораторной диагностики являются непрямая иммунофлюоресценция и иммуноферментный анализ.

Непрямая иммунофлюоресценция - высокочувствительный скрининговый метод для выявления АЯА. Сыворотка крови больного в серийных разведениях инкубируется с клетками или тканью-субстратом в лунках предметного стекла. Это позволяет присутствующим в сыворотке АЯА связаться с клеточными мишенями внутри клеток. Среди клеточных линий лучшим субстратом признана клеточная линия HEp-2, которая существенно улучшает чувствительность теста за счет яркой флюоресценции даже при значительных разведениях сыворотки больного, а большое, богатое эухроматином ядро позволяет точно описать тип свечения. Результат оценивается с помощью люминесцентного микроскопа. Описано более 40 типов свечения ядра клетки, но в практической работе обычно используется всего шесть: гомогенный, периферический, гранулярный, ядрышковый, центромерный и цитоплазматический. Так, периферический тип свечения обнаруживается у больных с антителами к ядерной мембране и вызывается преимущественно у больных с СКВ. Следует отметить, что этот метод требует очень высокой квалификации врача-лаборанта. На сегодняшний день иммуноферментный анализ представляет собой основной метод для определения АЯА и позволяет проводить скрининговое обследование. Отличие тест-систем для скрининга состоит в том, что в инкубационную лунку помещается смесь антигенов - ядерный экстракт (ENA). Положительный результат такого теста указывает на наличие у больного одной или сочетания нескольких разновидностей АЯА. Отрицательный результат такого теста более чем в 95% случаев позволяет исключить СКВ, лекарственную волчанку, СШ, СЗСТ, СС, ДМ/ПМ.

Однако использование смеси антигенов, а не одного очищенного антигена приводит к увеличению частоты ложноположительных результатов. С другой стороны, при выделении антигена утрачивается большое количество конформационных и межмолекулярных антигенных доминант. Эта особенность скрининговых иммуноферментных тестсистем не позволяет им заменить непрямую иммунофлюоресценцию для первичного скрининга пациентов. На практике получили широкое распространение комбинированные иммуноферментные системы выявления АЯА (комби). В ходе одного теста выявляются антитела к основным разновидностям АЯА - Sm, SSA/Ro, SSB/La, Sm/RNP, Scl-70, Jo-1. Это позволяет одновременно провести широкое тестирование аутоантител, маркеров основных аутоиммунных заболеваний соединительной ткани. Надо учитывать, что они обычно не включают в свой состав определение антител против дсДНК, которые выполняются отдельно.

Необходимо учитывать, что ни одна разновидность АЯА не выявляется у 100% больных. В связи с этим целесообразно применять для обследования комплекс методов, позволяющий с большей уверенностью решить диагностическую задачу.

Антитела к двухспиральной ДНК (дсДНК). Аутоантитела могут вырабатываться или к двухспиральной ДНК, или к односпиральной ДНК. Ауто-Ig к дсДНК специфичны для СКВ и могут обнаруживаться приблизительно у 40-70% больных. Антитела к дсДНК являются высокоспецифичным маркером СКВ, что позволяет широко их использовать в диагностике этого заболевания. Антитела к дсДНК включены в состав одного из 11 критериев СКВ 1982 г. Американского колледжа ревматизма. При эффективной и успешной терапии концентрация антител к дсДНК значительно снижается. Ежемесячный мониторинг их концентрации в крови позволяет предсказать надвигающийся рецидив заболевания, и агрессивная терапия улучшает долгосрочный прогноз. Титры антител к дсДНК тесно коррелируют с концентрацией IgG-содержащихся в циркулирующих иммунных комплексах (ЦИК) в сыворотке крови больных СКВ. Выявление антител к дсДНК и обнаружение

гипокомплементемии представляют собой незаменимые диагностические тесты, выявляющие категорию больных с высоким риском развития волчаночного гломерулонефрита. Имеется прямая корреляция между нарастанием титра антител к дсДНК, выраженностью гипокомплементемии и тяжестью волчаночного нефрита.

Антитела к односпиральной ДНК (ссДНК). Антитела, распознающие нуклеотидные основания ссДНК, являются главными составляющими большинства ядерных Ig. Антитела к ссДНК встречаются приблизительно у 70% больных с СКВ. Хотя эти антитела неспецифичны для СКВ, присутствуя в организме при разнообразных заболеваниях соединительной ткани, ревматоидном артрите, склеродермии и синдроме Шегрена, их регулярное обнаружение в элюатах из почечных клубочков больных СКВ, умерших от гломерулонефрита, может свидетельствовать о роли антител к ссДНК в патогенезе поражения почек при волчаночном нефрите. Обнаружение в сыворотке больного антител к ссДНК класса IgM имеет значение для диагностики дискоидной красной волчанки.

Антитела к гистонам. Приблизительно 80% всех больных СКВ имеют антитела к гистонам. Очень часто эти антитела обнаруживаются у пациентов с лекарственной красной волчанкой (ЛКВ) после приема таких лекарств, как гидралазин и прокаинамид. Однако анти-дсДНК отсутствуют. Следовательно, одновременное определение анти-дсДНК и антител к гистонам позволяет проводить дифференциальную диагностику СКВ и ЛКВ. Кроме того, антитела к гистонам можно обнаружить у пациентов с первичным билиарным синдромом, РА и склеродермией.

Антитела к нуклеосомам. В последнее время в диагностике СКВ появился новый иммунологический маркер - антитела к нуклеосомам. Антитела к нуклеосомам появляются значительно раньше, чем антитела к дсДНК и обнаруживаются у 84-88% пациентов с СКВ. Нуклеосома состоит приблизительно из 140 пар оснований ДНК, обернутой вокруг ядра из белков - гистонов H2A, H2B, H3 и H4. Гистон H1 покрывает ДНК в промежутках между нуклеосомами. Показано, что 16-30% больных СКВ имеют антитела к нуклеосоме, в то время как анти-дсДНК и антитела к гистонам у этих больных отсутствовали. Антинуклеосомные IgG-антитела являются более чувствительным маркером СКВ, чем антитела к двухспиральной ДНК, и их находят почти исключительно при СКВ, склеродермии и смешанном заболевании соединительной ткани.

Антитела к компоненту Sm. В настоящее время установлено, что Sm-антиген образует около 9 белков, ассоциированных с РНК, которые входят в состав сплайсосомы - белкового комплекса, осуществляющего перестройку мРНК. Антитела к компоненту Sm отмечаются приблизительно у 20-30% больных СКВ. Важность выявления антител к компоненту Sm при СКВ обусловлена их абсолютной специфичностью при данном заболевании. Это послужило причиной включения этой разновидности АЯА, наряду с антителами к дсДНК и LE-клетками, в 10-й критерий СКВ. Следует отметить, что концентрация антител к компоненту Sm не изменяется при терапии СКВ. Мониторинг не имеет клинического значения. Только в редких случаях антитела к компоненту Sm обнаруживаются изолированно и обычно выявляются в комбинации с антителами к SmRNP-комплексу. Негативные результаты анти-Sm не исключают наличия СКВ. Клиническими признаками, связанными с присутствием Sm-антител, являются, прежде всего, более агрессивное течение заболевания, поражение ЦНС, волчаночные психозы и относительная сохранность функции почек.

Антитела к RNP-70. Выделение в самостоятельную нозологическую группу смешанного соединительнотканного заболевания (СЗСТ) основано на выявлении циркулирующих антител к RNP-70. Все же большинство исследователей признают, что клинические признаки у больных с антителами RNP-70 обычно удовлетворяют классическим классификационным критериям СКВ, однако у них наблюдаются своеобразные клинические формы ее течения. По всей видимости, СЗСТ представляет определенный этап в развитии

заболевания, после чего заболевание трансформируется в конкретную клиническую форму - СКВ, системный склероз, ревматоидный артрит, полимиозит.

Аутоантитела к компонентам SS-A и SS-B. Аутоантитела к компонентам SS-A и SS-B присутствуют у пациентов с первичным синдромом Шегрена. Синдром Шегрена является хроническим аутоиммунным заболеванием, поражающим слюнные и слезные железы, что приводит к ксеростомии и ксерофтальмии. Обнаружение у больного синдромом Шегрена антител к SS-A и SS-B может прогнозировать развитие таких экстрагландулярных проявлений заболевания, как васкулит, лимфоаденопатия, спленомегалия, анемия и лейкопения. Антитела к SS-A обычно встречаются в популяции больных СКВ с выраженной симптоматикой фотосенситивных кожных проявлений. Большое значение имеет определение антител к компоненту SS-A у женщин во время беременности как фактора риска развития тяжелой кардиальной патологии у плода. Неонатальный волчаночный синдром развивается у новорожденных 5-10% женщин, имеющих высокий титр анти-SS-A. Антитела к компоненту SS-B появляются редко и только вместе с антителами к SS-A. Основным проявлением врожденной волчанки является дерматоз и ряд системных и гематологических синдромов, включающих врожденную поперечную блокаду, гепатит, гемолитическую анемию и тромбоцитопению. Все беременные с подозрением на СЗСТ должны быть иммунологически обследованы для выявления группы риска врожденной волчанки.

Антитела к рибосомальному белку Р. Антитела к рибосомальному белку Р встречаются у 10-20% больных с СКВ. Эти антитела взаимодействуют с фосфопротеинами рибосом и встречаются преимущественно у больных СКВ с поражением центральной нервной системы. Антитела к рибосомам выявляются у 20% больных с СКВ, их обнаружение специфично для СКВ, протекающей с волчаночным психозом.

Антитела к центромере В и топоизомеразе I (Scl-70). При системной склеродермии имеют значение антитела к центромере В и топоизомеразе I (Scl-70), как диагностические показатели лимитированной и диффузной системной склеродермии соответственно.

Аутоантитела к Jo-1 антигену. Аутоантитела к Jo-1 антигену могут быть обнаружены у пациентов с полимиозитами и дерматомиозитами.

Альфа-фодрин. Альфа-фодрин - внутриклеточный органоспецифический белок цитоскелета. Это димерный белок, состоящий из альфа- и бета-субъединиц. Сеть, образованная актином и фодрином, расположена под плазматической мембраной секреторных клеток и участвует в транспорте секреторных пузырьков к плазматической мембране для последующей секреции. В процессе апоптоза димер альфа-фодрина расщепляется на продукты с молекулярной массой 120 кДа, в большом количестве встречающиеся в слюнных железах. Этот протеолиз фодрина может быть следствием активации протеаз во время апоптоза. Установлено, что продукт расщепления 120 кДа альфа-фодрина - важнейший аутоантиген в патогенезе органоспецифического аутоиммунного ответа. Антитела, направленные против альфа-фодрина, присутствовали у взрослых как с первичным (95%), так и с вторичным синдромом Шегрена (62,5%). Антитела к альфа-фодрину определяются в сыворотке крови на более ранних сроках развития болезни по сравнению с антиSS-A или анти-88-B-антителами. Согласно последним данным скрининг антител, направленных против альфа-фодрина, может быть полезным инструментом в диагностике синдрома Шегрена на ранней стадии.

Ревматоидный фактор (РФ). Ревматоидный артрит (РА) - системное мультифакторное заболевание, характеризующееся воспалением синовиальной оболочки суставов. Наличие РФ - один из критериев классификации РА, установленных Американской ассоциацией ревматологии; 75-80% больных ревматоидным артритом имеют РФ. РФ не является специфичным для РА, его также обнаруживают при синдроме Шегрена, склеродермии, дерматомиозите, гиперглобулинемиях, В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях. Показано, что более 30% пациентов с системной красной волчанкой, не имеющих признаки

РА, РФ-позитивны. Несмотря на низкую специфичность, наличие РФ считается важным прогностическим признаком для исхода заболевания РА. По своей природе РФ - это антитела против Fc-фрагментов IgG. Чаще (до 90% случаев) эти антитела относятся к IgM, но встречаются и IgG-, IgA-, IgE-антитела.

Антитела к кератину. Антитела к кератину, определяемые методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием буккального эпителия или крысиного эзофагального эпителия, являются высокоспецифичными для РА. Эти антитела определяются приблизительно у 40% пациентов с РА. Антитела к кератину обнаруживаются у пациентов, имеющих высокий уровень ЦИК.

Антитела к циклическому цитруллиновому пептиду (анти-ССР). Недавно идентифицирован антиген антител к перинуклеарному фактору и кератину, им оказался эпидермальный белок филагрин, ассоциированный с промежуточными филаментами в процессе ороговения кератиноцитов эпидермиса. Профилагрин, присутствующий в кератогиалиновых гранулах буккальных человеческих клеток, протеолитически расщепляется до филагрина в процессе клеточной дифференциации. На этой стадии белок дефосфорилируется и некоторые аргининовые остатки превращаются в цитруллин. Показано, что антитела, взаимодействующие с линейным синтетическим пептидом, содержащим необычную аминокислоту цитруллин, присутствуют в 79% сывороток от больных РА со специфичностью для РА 97%. Анти-ССР обнаруживаются на очень ранней стадии РА. Кроме того, тест позволяет дифференцировать эрозивную и неэрозивную формы РА. У анти-ССР положительных пациентов отмечается большая степень повреждения хряща по сравнению с анти-ССР отрицательными пациентами. Прогностическая ценность метода возрастает, если его используют в комбинации с РФ. Этот тест позволяет дифференцировать РА с другими заболеваниями соединительной ткани. В самом ближайшем будущем тест обещает стать ключевым серологическим диагностическим методом для пациентов с РА.

Аутоантитела не только являются диагностическими маркерами, но и помогают определить степень активности болезни и ее прогноз. Прогностическое значение имеет изменение уровня аутоантител в сторону как повышения титров, так и их снижения. Большинство аутоантител не являются специфичными для какого-либо заболевания, они обнаруживаются в различных комбинациях. Закономерность той или иной комбинации различных присутствующих антител и их концентрации с учетом клинической картины является полезным диагностическим средством в лечении аутоиммунных ревматоидных заболеваний.

Циркулирующие иммунные комплексы C3d. До 50% образцов пациентов с СКВ имеют анти-C1q аутоантитела. У пациентов с системной красной волчанкой постоянное измерение анти-C1q аутоантител целесообразно для определения риска развития активного люпус-нефрита. Пациенты, у которых отсутствуют анти-C1q аутоантитела, имеют очень низкий риск развития активного люпус-нефрита в ближайшие 3-4 мес. В случае активного люпус-нефрита последовательное определение анти-C1q аутоантител может помочь оценить успех иммуносупрессивной терапии. Характерно возрастание титров анти-C1q аутоантител в период от нескольких недель до 6 мес перед манифестацией люпус-нефрита. Успешное лечение активного люпус-нефрита, как правило, способствует снижению титров анти-C1q аутоантител.

Циркулирующие иммунные комплексы C1q. Формирование циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) представляет собой физиологический механизм защиты, приводящий к быстрому устранению либо эндогенных, либо экзогенных антигенов (например, микроорганизмы, вирусы, паразиты, растительные антигены, антигены грибов, пыльцы или пищевых продуктов) через ретикулоэндотелиальную систему.

Высокий уровень ЦИК в сыворотке и/или в других биологических жидкостях наблюдается при многих воспалительных и злокачественных заболеваниях, что может стать

причиной развития патологии. Определение ЦИК в сыворотке - важный маркер для оценки активности заболевания, особенно при аутоиммунных болезнях. Определение количества ЦИК основано на их способности связываться с C1q компонентом комплемента, сорбированным в ячейках микропланшета. В дальнейшем комплексы C1q-ЦИК, связанные с твердой фазой, детектируются специфически с помощью ферментного конъюгата, взаимодействующего с Fc-фрагментом IgG в составе иммунных комплексов.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Опишите механизм периферической толерантности.
2. Опишите механизм центральной толерантности.
3. Опишите механизм анергии.
4. С какой патологией связано определение истинных ядерных антигенов?
5. С какой патологией связано определение экстрагируемых ядерных антигенов?
6. С какой патологией связано определение цитоплазматических антигенов?

### Глава 9. МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ИММУНОПАТОЛОГИИ

Современные методы диагностики иммунопатологии подразделяются на несколько групп. Одни из них направлены на выявление дефектного звена и оценку обнаруженной иммунной дисфункции. Другие определяют этиологическую причину заболевания, а также количественные изменения в изучаемом дефектном звене. Данные направления исследований важны для постановки диагноза, выбора средств терапии, а также оценки эффективности проводимой терапии.

Поликлональные антитела в настоящее время используются для скрининговых исследований и этиологической диагностики инфекционной патологии.

Использование моноклональных антител объединяет более широкий спектр исследований:

- идентификация субпопуляций лимфоцитов человека (метод флюоресцирующих антител, метод проточной цитометрии);
- установление функций молекул клеточной поверхности;
- диагностика новообразований;
- анализ эмбрионального развития и многие другие.

Определение уровней иммуноглобулинов является важным в диагностике инфекционной патологии, миеломной болезни, лимфопролиферативных заболеваний. Для этого в настоящее время по-прежнему используют методы преципитации в агаре и иммуноферментный анализ (ИФА).

Исследование системы комплемента включает оценку как количественного содержания определенных компонентов, так и их функциональной активности, т. е. способности перфорировать (лизировать) клетки-мишени. В скрининговых исследованиях основными объектами исследования являются компоненты C3, C4, C5. Определение других компонентов комплемента проводится гораздо реже, при подозрении на первичный иммунодефицит. Оценка системы комплемента проводят двумя методами. Это метод, позволяющий оценить функциональную активность белков системы комплемента по 50% гемолизу, и количественное определение компонентов комплемента методом ИФА.

Обнаружение аутоантител с помощью реакции непрямой иммунофлюоресценции и ИФА (антиядерный фактор, антицентромерные, антимитохондриальные,



антинейтрофильные антитела и др.) в сыворотке крови используется при диагностике аутоиммунной патологии.

Реакции гиперчувствительности I типа выявляются с помощью определения общего IgE методом ИФА, иммунокомплексные реакции выявляются определением иммуноглобулинов классов G или M.

Определение количества лимфоцитов используется для оценки состояния клеточного звена иммунитета. Для этого в настоящее время применяется иммунофенотипирование с использованием моноклональных антител к CD-антигенам, экспрессируемым различными популяциями лимфоцитов. Подсчет лимфоцитов проводится в основном методом проточной цитометрии, позволяющим идентифицировать каждую клетку по интенсивности флюоресцентного сигнала.

В последние годы все больше молекулярно-биологических методов находят практическое применение в различных областях медицины, промышленности и сельского хозяйства. Один из таких методов - полимеразная цепная реакция (ПЦР), позволяющая нарабатывать в пробирке определенный участок молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) практически в неограниченных количествах.

В медицине ПЦР применяют при диагностике инфекционных и наследственных заболеваний, рака и иммунных патологий. ПЦР используют для идентификации личности и определения биологического родства индивидов. Санитарно-эпидемиологические службы используют ПЦР для контроля микробиологического загрязнения окружающей среды и продуктов питания, а также для выявления генетически модифицированных источников пищи (ГМИ).

## 9.1. МЕТОД ФЛЮОРЕСЦИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ

Используют два варианта метода - прямой и непрямой иммунофлюоресценции.

Метод прямой иммунофлюоресценции используется для скрининговых исследований. Объект исследования (взвесь микроорганизмов, суспензия живых клеток) обрабатывается антителами, соединенными с флюорохромом, тропными соответствующим антигенам. Инкубируется во влажной камере и оценивается с помощью люминесцентного микроскопа. Заключение дается по специфическому зеленому свечению по периферии клетки и характерной морфологической картине.

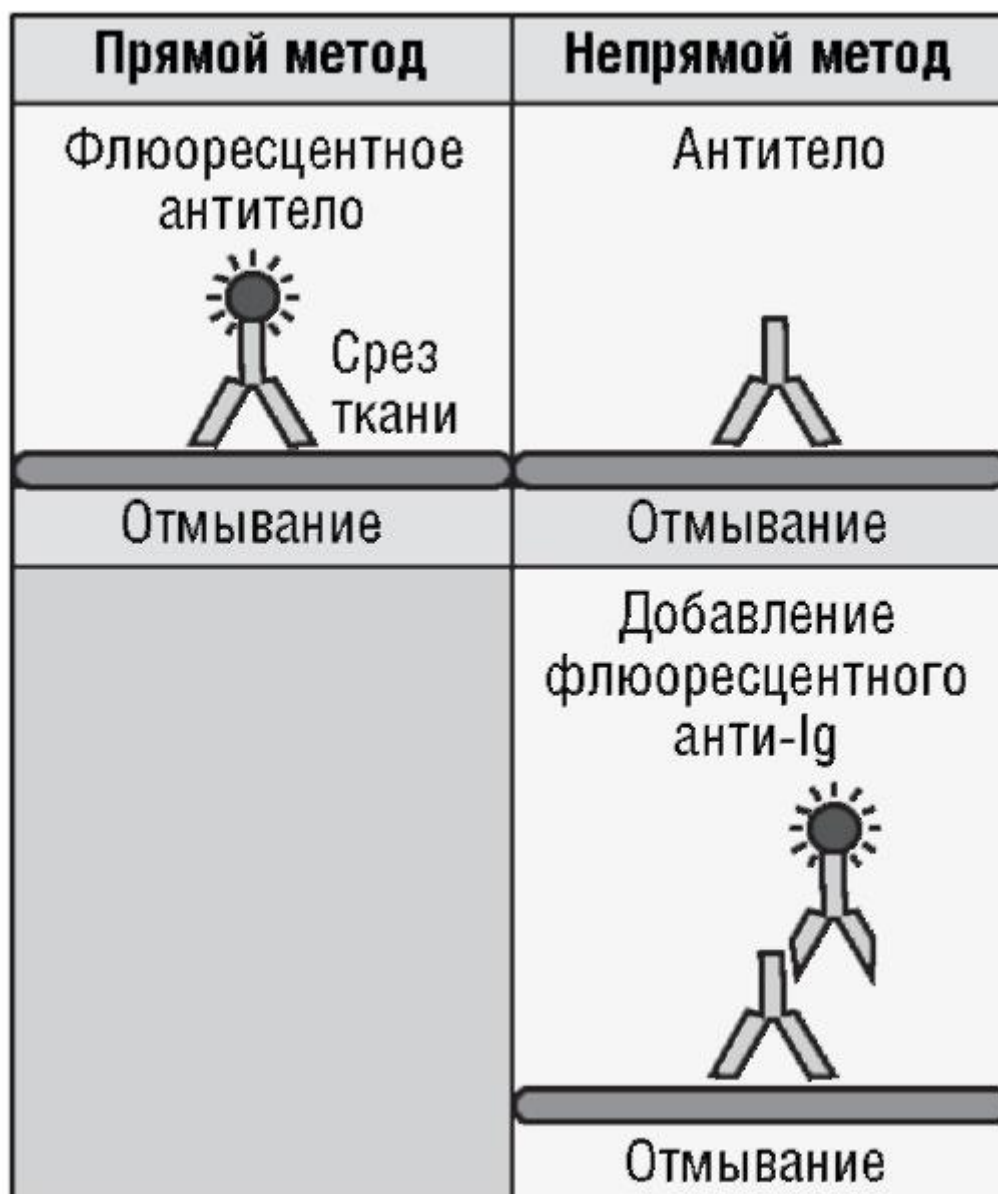


Рис. 9.1. Схема постановки метода флюоресцирующих антител в диагностике инфекционной, аутоиммунной патологии (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Непрямая иммунофлюоресценция - метод, основанный на использовании специфичности иммунологической реакции антигенантитело и чувствительности флюоресцентной микроскопии. При применении этого метода суспензию живых клеток вначале обрабатывают антителами, специфическими к выявляемому антигену, а затем - антителами, соединенными с флюорохромом и направленными против специфических антител. Оценка результатов производится по специфическому свечению клеток в люминесцентном микроскопе. Непрямая иммунофлюоресценция увеличивает время исследования и несколько снижает чувствительность, но повышает специфичность метода.

Методика и особенности постановки этих двух реакций описаны во многих учебниках и пособиях.

Схема постановки метода флюоресцирующих антител в диагностике инфекционной, аутоиммунной патологии представлена на рис. 9.1.

## 9.2. ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ

В основе иммуноферментного анализа лежит иммунная реакция взаимодействия антигена с антителом. Для выявления образовавшихся иммунных комплексов антиген-антитело используется фермент, которым предварительно метится один из компонентов реакции (антиген или антитело). Сам фермент не виден, поэтому визуализация его присутствия достигается применением посредника - хромогена. Это особое химическое соединение, хорошо растворимое в воде, раствор которого бесцветен. Превращение бесцветного хромогена в цветное вещество (хромофор) происходит под действием фермента, для которого хромоген является субстратом. Слова «хромоген» и «хромофор» в переводе с греческого означают соответственно «производящий цвет» и «несущий цвет».

В другом варианте ИФА хромоген окисляется продуктом реакции, которую катализирует ферментная метка. Окисленное соединение приобретает цветную окраску. В зависимости от модификации иммуноферментного анализа хромофор либо остается в растворе, либо выпадает в осадок.

Меченный ферментом специфический компонент в конце проведения иммунной реакции находится в двух состояниях: связанном (в составе комплекса антиген-антитело) и свободном (не вступивший в реакцию его избыток). Количество образовавшихся комплексов антиген-антитело, а тем самым и содержание определяемого вещества, оценивают по каталитической активности фермента.

Перед проведением ферментативной реакции необходимо разделить свободную и связанную фракции ферментной метки. С этой целью применяют иммуносорбент, состоящий из двух связанных между собой особым образом компонентов: специфического реагента, играющего роль «ловушки», и нерастворимого вещества, которое именуется термином «твердая фаза» и на поверхности которого образуются иммунные комплексы.

После образования на твердой фазе специфического комплекса антиген-антитело жидкая фаза удаляется промыванием. Вместе с другими веществами и реагентами, содержащимися в растворе, удаляется и не вступивший в специфическую связь реагент, меченный ферментом. В итоге на твердой фазе остается только ферментная метка, входящая в состав комплекса антиген-антитело. С внесением на твердую фазу хромоген-субстратного раствора начинается ферментативная реакция, результаты которой регистрируются определенным образом.

Твердая фаза может быть представлена различными полимерными материалами и иметь разную форму. Плоскодонные 96-луночные планшеты (плашки) и шарики изготавливаются из полистирола, полоски мембран - из нитроцеллюлозы и полиамидов. Применение шариков, по сравнению с цилиндрическими лунками, позволяет использовать большую площадь для адсорбции и проводить более равномерную отмывку всех участков поверхности. Еще большей сорбционной емкостью обладают нитроцеллюлоза и полиамиды, из которых изготавливают мембраны. В общем виде схема ИФА представлена на рис. 9.2.

Для обнаружения антигенов используют в основном следующие методы ИФА:

- конкурентный метод;
- «сэндвич»-метод;
- двойной «сэндвич»-метод.

Конкурентный метод. В конкурентном методе процесс происходит с участием трех компонентов: связанных с твердой фазой антител против определяемого вещества (антигена), меченого ферментом антигена (конъюгата) и антигена опытной пробы.

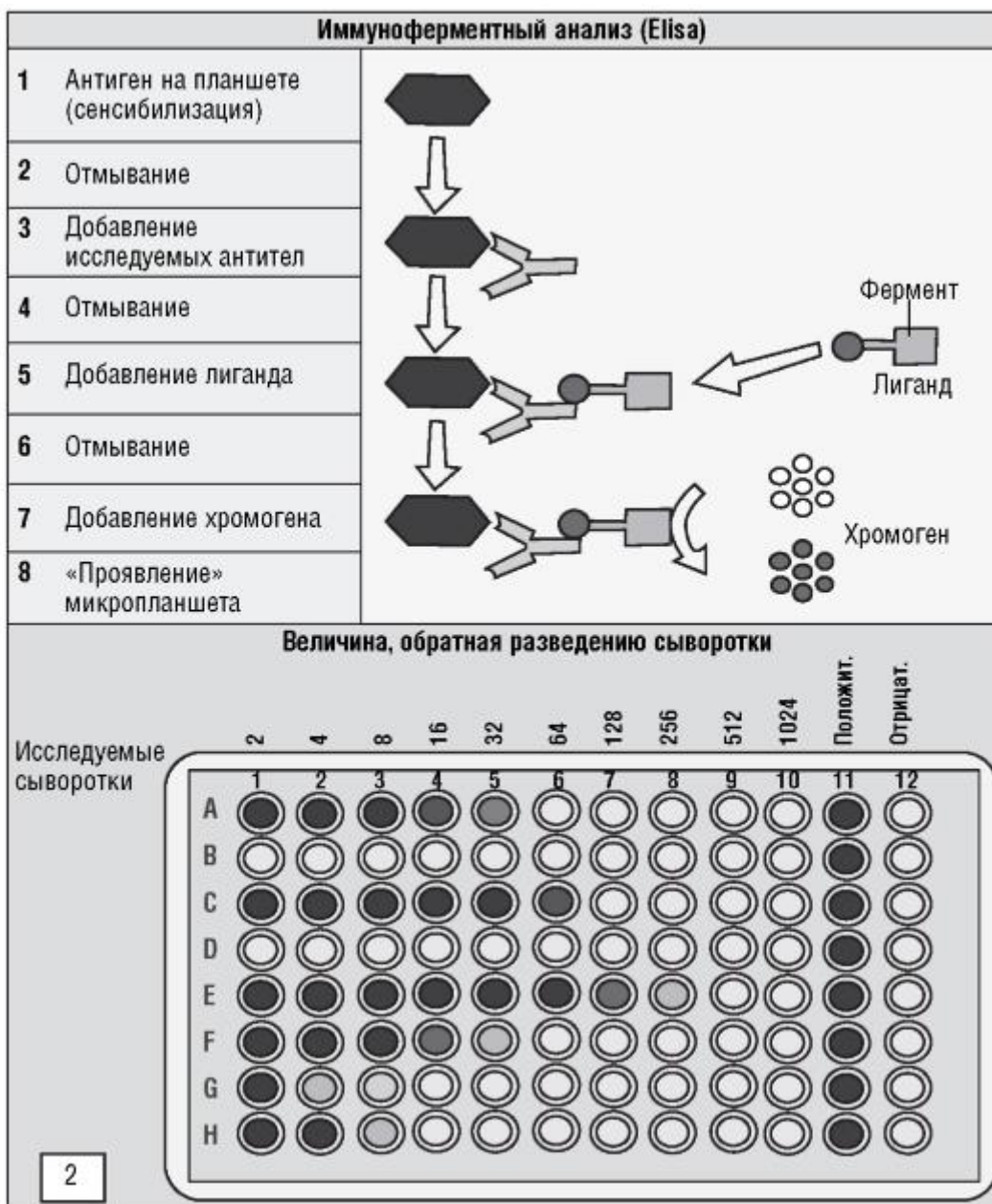


Рис. 9.2. Схема проведения ИФА («сэндвич»-метод) и полистироловый планшет с результатами ИФА (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007). В настоящее время применяются планшеты из материалов нового поколения, которые значительно повысили чувствительность метода

При этом имеет место конкуренция между фиксированным количеством меченого антигена и неизвестным количеством определяемого антигена. Так как количество антител на твердой фазе ограничено, конъюгата связывается тем меньше, чем больше анализируемого антигена в пробе. После удаления в ходе промывки несвязавшихся компонентов измеряют ферментативную активность иммобилизованного комплекса антиген-антитело.

Особенность «сэндвич»-метода - создание сложного иммунного комплекса. Комплекс образован двумя антителами и антигеном между ними. Условием одновременного связывания обоими антителами определяемого антигена является наличие двух антигенных детерминант (эпитопов). Кроме того, эпитопы на молекуле антигена должны быть расположены друг от друга на расстоянии, достаточном, чтобы антитела свободно

связывались с соответствующими специфическими участками. Это возможно только на крупных молекулах массой более 1000 Да.

Сравнение двух методов иммуноферментного анализа представлено на рис. 9.3.

Искусство разработчиков таких тест-систем состоит в том, чтобы, проанализировав антигенный состав вещества, найти подходящую пару эпитопов, а затем к каждому из них получить специфические антитела

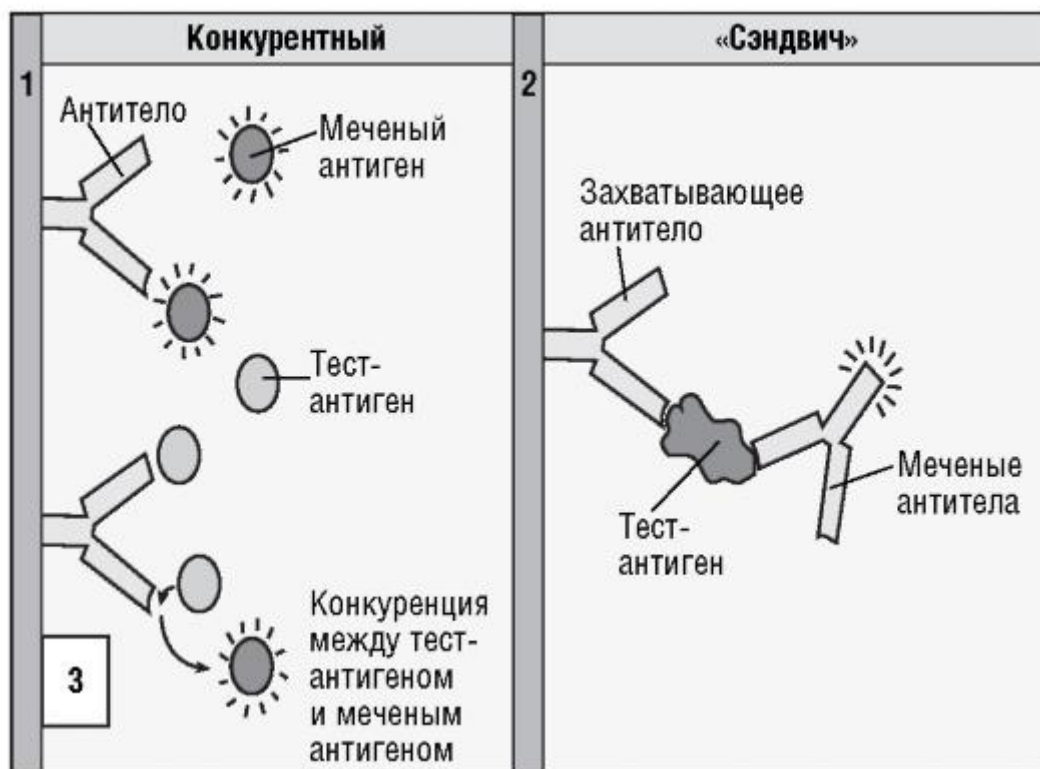


Рис. 9.3. Сравнение конкурентного и «сэндвич»-метода (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

Это стало возможным благодаря использованию моноклональных антител, которые обладают высокой специфичностью и реагируют только с определенной антигенной детерминантой.

Иммобилизованное на твердой фазе первое антитело, связываясь с соответствующим эпитопом, захватывает из раствора молекулу антигена. Антитело, входящее в состав ферментного конъюгата, обладает специфичностью к другому участку поверхности молекулы антигена. Связывание антигена первым антителом не препятствует связыванию со вторым (конъюгатом), поэтому опытный образец и конъюгат вносят на твердую фазу одновременно. По окончании инкубации проводят промывку, удаляют несвязавшуюся часть конъюгата, вносят раствор субстрата (хромогена) и измеряют ферментативную активность твердой фазы, которая пропорциональна количеству антигена в пробе.

Специфичность данного метода значительно выше конкурентного, так как идентификация молекулы определяемого вещества происходит только при условии узнавания одновременно двух антигенных детерминант. Кроме того, отпадает необходимость в дополнительной промывке.

Данный вариант ИФА получил наиболее широкое распространение для обнаружения антигенов возбудителей инфекционных заболеваний, определения в крови концентрации онкомаркеров и других специфических белков и используется во многих коммерческих тест-системах.

Метод двойного «сэндвича». Данная схема постановки анализа по сравнению с «сэндвич»-методом несколько усложняется за счет применения третьих антител. Начальные этапы проводятся аналогично с теми же реагентами, что и в предыдущем методе, но антитела № 2 не имеют ферментной метки. Помечены ферментом антивидовые антитела № 3 против антител № 2. Результаты исследования могли бы быть искажены, если бы антитела № 3 реагировали и с антителами № 1. Во избежание этого животные, от которых получены антитела № 1 и № 2, должны принадлежать к разным видам.

Например, если антитела № 2 получены из кроличьей иммунной сыворотки, то антитела № 1 должны быть получены из сыворотки другого вида животных (коза, свинья и т. д., но не кролик). Соответственно антитела № 3 - это антитела к иммуноглобулинам кролика.

### 9.3. МЕТОД ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

Метод основан на использовании моноклональных антител, конъюгированных (прямой метод) или неконъюгированных с флюоресцентной меткой (непрямой метод).

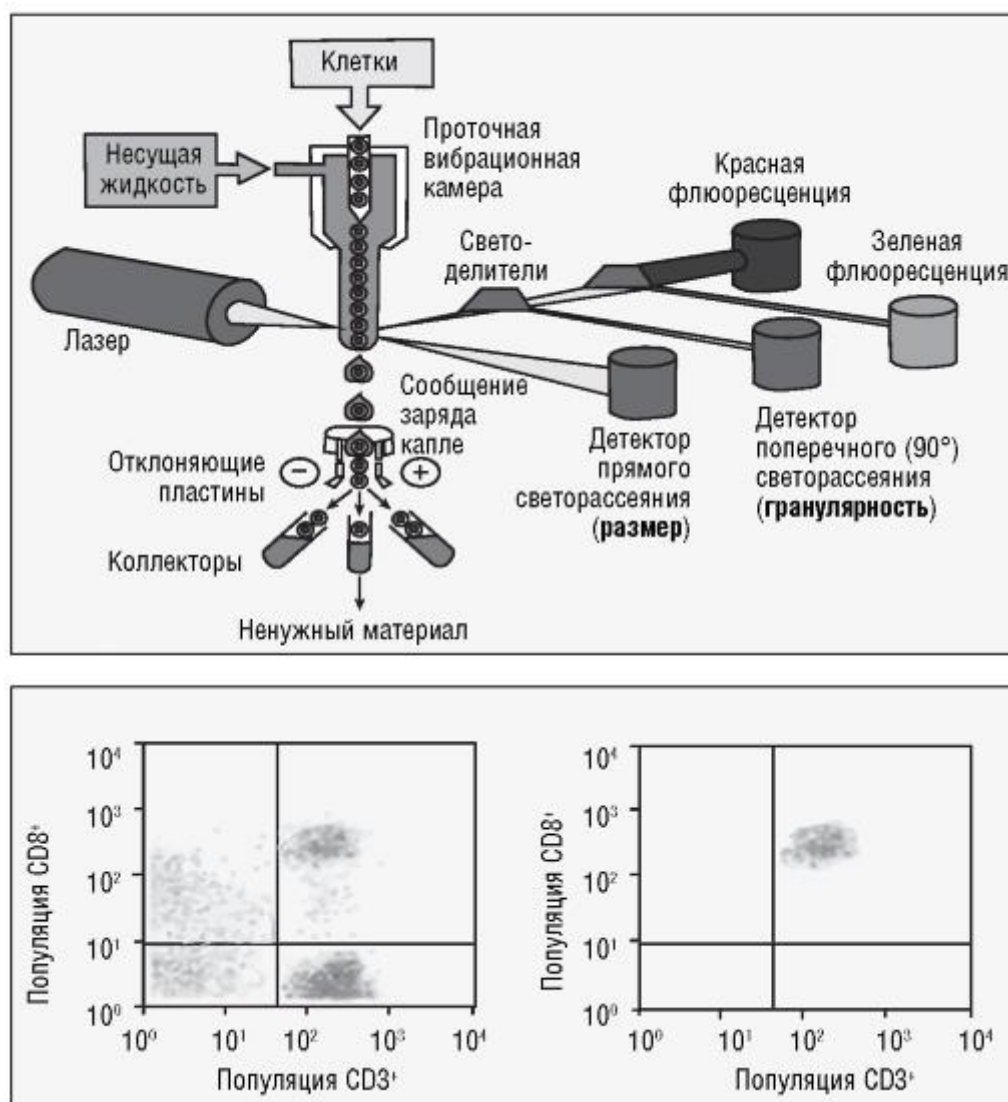


Рис. 9.4. Схема проведения проточной цитофлюориметрии (по Д. Мейл, Дж. Бростофф, 2007)

При использовании неконъюгированных антител применяются связывающие антимишьяные поликлональные антитела, меченные флюоресцентной меткой. В качестве флюоресцеиновых красителей используются флюоресцинизоотиоцианат (ФИТЦ), который

дает зеленое окрашивание, или R-фикоэритрин (ФЭ), дающий краснооранжевое окрашивание. Каждый из используемых флюорохромов имеет «свою» длину волны, поэтому прибор может быть оснащен датчиками для различных флюоресцентных красителей. Учет результатов проводится с помощью проточного цитофлюориметра. Принцип его работы заключается в следующем: суспензия предварительно окрашенных клеток под давлением впрыскивается в центр быстро движущегося в том же направлении потока жидкости, в результате чего скорость движения клеток резко возрастает, и они выстраиваются, образуя столбик, окруженный оболочечной жидкостью. Благодаря приему гидродинамической фокусировки создаются условия ламинарного потока без перемешивания суспензии клеток с обтекающей жидкостью. Попадая в измерительную камеру прибора, клетки возбуждаются светом определенной длины волны, идущим от аргонового лазера или ртутно-кварцевой лампы, и посылают световые сигналы другой длины волны, которые, проходя через систему оптических линз, фильтров, двухцветовых зеркал, регистрируются фотоэлектронным умножителем, преобразующим эти световые сигналы в электрические, которые обрабатываются компьютером и выдаются как характеристики клеток в виде гистограмм. При этом в случае одномерной гистограммы на оси абсцисс откладывается интенсивность флюоресценции клеток, а по оси ординат - число клеток с определенной интенсивностью флюоресценции (рис. 9.4).

Результаты проточной цитометрии отличаются высокой точностью, благодаря подсчету большого количества клеток. Важным достоинством метода является воспроизводимость получаемых результатов, его относительная простота. К недостаткам можно отнести достаточно высокую стоимость исследования.

#### 9.4. ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

Открытие полимеразной цепной реакции стало одним из наиболее выдающихся событий в области молекулярной биологии за последние десятилетия. Это позволило поднять данную область науки на качественно новый уровень. Внедрение полимеразной цепной реакции в медицину открыло новое диагностическое направление - ДНК-диагностику. ПЦР в настоящее время представляет собой наиболее технологичный метод для исследования геномов организмов и вирусов. Метод применяют в специально спланированных и оборудованных ПЦР-лабораториях, работающих в различных областях медицинских и биологических исследований.

Под ПЦР-анализом понимают последовательно выполняемые этапы пробоподготовки, амплификации и детекции полученных продуктов, которые проводят в условиях *in vitro* с применением специального оборудования и реактивов для каждого из них.

В настоящее время ПЦР представляет процесс, протекающий в одной пробирке и состоящий из повторных циклов амплификации (размножения, копирования) специфической последовательности молекулы ДНК с целью получения достаточно большого количества копий, которые могут быть выявлены обычными методами детекции. Одним из ключевых компонентов реакции являются «праймеры» - синтетические олигонуклеотиды, состоящие из 20-30 оснований, комплементарных «сайтам» (участкам) отжига (присоединения) на идентифицируемой матричной ДНК.

Каждый цикл ПЦР состоит из трех стадий, протекающих при различных температурах: денатурации, отжига и удлинения. Во время 1-й стадии - денатурации - происходит плавление ДНК при температуре 95 °С, при этом нити ДНК разъединяются и становятся доступными для праймеров. При отжиге («annealing») реакционная смесь охлаждается до температуры, оптимальной для присоединения «праймеров» к сайту нити ДНК. Праймеры присоединяются в направлении с 3'-конца цепочки ДНК, как правило, по одному на каждую цепь. Следующая стадия - удлинение новой цепочки ДНК посредством

присоединения имеющихся в реакционной смеси коротких нуклеотидов по принципу комплементарности. Удлинение начинается от праймеров и катализируется ферментом ДНК-полимеразой при оптимуме температуры 72 °С. ДНК-полимераза, используемая в современных методиках - Tag-полимераза, выделенная из термостабильной бактерии *Thermus aquaticus*, живущей в горячих источниках, высокостабильна и сохраняет активность до конца процесса амплификации. Ранние версии ПЦР требовали добавления новых порций нетермостабильных ДНК-полимераз после этапа денатурации ДНК. Tag-полимераза вводится в реакционную смесь однократно. Проведение этапов отжига и удлинения при высоких температурах значительно снижает риск неспецифической амплификации.

Полимеразная цепная реакция протекает автоматически в программируемом термостате - термоциклере (амплификаторе). Трехступенчатый цикл, в результате которого получают точные копии идентифицируемого участка матричной ДНК, повторяется до 30 раз в соответствии с заданной программой термоциклера. С каждым новым циклом число молекул матричной ДНК удваивается, по завершении процесса количество копий нарастает в геометрической прогрессии. Так, если один цикл продолжается менее 3 мин, то менее чем через 2 ч можно получить около миллиарда копий определяемой последовательности ДНК. Во время первого цикла удлинение новой цепочки от праймера заканчивается произвольно (рис. 9.5).

В большинстве случаев проводимой в научных лабораториях ПЦР, а также в коммерческих отечественных наборах реактивов в качестве метода детекции ранее использовался электрофорез, с помощью которого производилось разделение амплифицированного материала по размеру ампликонов. Другие методы детекции основаны на идентификации меченых компонентов реакции.

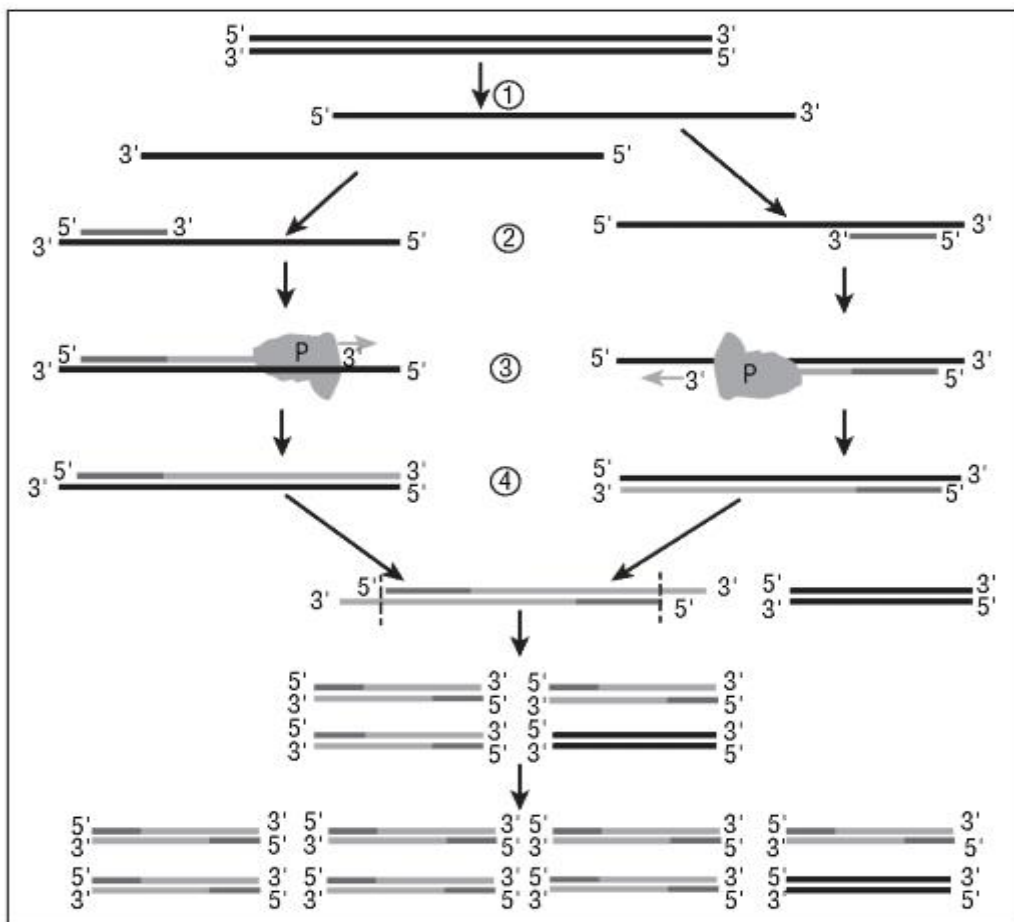


Рис. 9.5. Схематическое изображение первого цикла ПЦР: 1 - денатурация при 96 °С; 2 - отжиг при 68 °С; 3 - элонгация при 72 °С (P - полимеразы); 4 - завершение первого цикла



Так, в тест-системах фирмы «Хоффманн-Ла Рош», являющейся мировым лидером применения метода ПЦР в медицине, используются праймеры, меченные биотином, соответственно меченым оказывается и продукт реакции амплификации ампликон. На стадии детекции биотин прочно связывается с авидином, входящим в состав конъюгата с ферментом пероксидазой хрена. Далее, как при иммуноферментном анализе, добавляется хромоген ТМБ и субстрат перекись водорода для проведения ферментативной реакции, протекающей с изменением окраски раствора. Реакцию останавливают добавлением серной кислоты. Интенсивность окраски измеряют на планшетном фотометре при 430 нм. Развитие окраски, имеющее место только при образовании ампликон-биотин-авидин-ферментного комплекса, прямо свидетельствует о том, что фрагмент матричной ДНК был амплифицирован посредством ПЦР, и соответственно вирус или другой выявляемый агент присутствует в исходном материале.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Перечислите особенности постановки метода флюоресцирующих антител.
2. Опишите принцип иммуноферментного анализа.
3. Опишите принцип метода полимеразной цепной реакции.
4. Опишите принцип проточной цитофлюориметрии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барышников А. Ю., Тоневицкий А. Г. Моноклональные антитела в лаборатории и клинике. - М.: Медицина, 1997. - 212 с.
2. Ван Донген Ж., Никитин В. Ю. Проточная цитометрия в диагностике хронических лимфопролиферативных заболеваний // Диагностика и лечение лимфом: мат-лы Российско-голландской конференции. - СПб., 2002. - С. 7-34.
3. Гребенюк А. Н., Антушевич А. Е., Беженарь В. Ф. Нейтрофил и экстремальные воздействия. - СПб.: ВМА, 1998. - 216 с.
4. Гребенюк А. Н., Легеза В. И. Противолучевые свойства интерлейкина-1. - СПб.: Фолиант, 2012. - 215 с.
5. Громова А. Ю., Симбирцев А. С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека // Цитокины и воспаление. - 2005. - Т. 4, № 2. - С. 3-12.
6. Кетлинский С. А., Калинина Н. М. Иммунология для врача. - СПб.: Гиппократ, 1998. - 156 с.
7. Лебедев К. А., Понякина И. Д. Иммунная недостаточность. Выявление и лечение. - М.: Медицинская книга, 2003. - 442 с.
8. Луговская С. А., Почтарь М. Е., Тушицын Н. Н. Иммунофенотипирование в диагностике гемобластозов. - М.-Тверь: Триада, 2005. - 168 с.
9. Меньшиков В. В. Стандартизация в клинической лабораторной медицине. Организационные и метрологические аспекты. - М.: Наука, 2005. - 251 с.
10. Москалев А. В., Сбойчаков В. Б. Инфекционная иммунология. - СПб.: Фолиант, 2006. - 169 с.
11. Назаренко Г. И., Кишкун А. А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. - М.: Медицина, 2000. - 278 с.
12. Назаренко Г. И., Кишкун А. А. Управление качеством лабораторных исследований. - М.: Медицина, 2001. - 245 с.
13. Оценка иммунного статуса организма в лечебных учреждениях СА и ВМФ: методическое пособие / под ред. Е. В. Гембицкого. - М.: ЦВМУ МО РФ, 1987. - 60 с.
14. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология: пер. с англ. - М.: Мир, 2000. - 581 с.
15. Симбирцев А. С. Справочник по иммунотерапии. - СПб.: Диалог, 2002. - 478 с.
16. Тиц Н. У. Клиническое руководство по лабораторным тестам: пер. с англ. - М.: Юнимед-пресс, 2003. - 942 с.
17. Тоголян А. А. Роль хемокинов и их рецепторов в иммунорегуляции // Иммунология. - 2001. - № 5. - С. 7-18.
18. Тоголян А. А., Фрейндлин И. С. Клетки иммунной системы: Т. I- II. - СПб.: Наука, 2000. - 231 с.
19. Хаитов Р. М., Игнатьева Г. А., Сидорович И. Г. Иммунология. - М.: Медицина, 2000. - 432 с.
20. Ярилин А. А. Иммунология. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 749 с.
21. Abbas A. K., Lichtman A. H., Pillai S. Cellular and molecular immunology. - 6<sup>th</sup> ed. - Philadelphia, 2009. - 566 p.
22. Abbas A. K., Lichtman A. H., Pober J. S. Cellular and molecular immunology. - 4<sup>th</sup> ed. - Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2000. - 553 p.

23. *Abramson J. S., Wheeler J. G.* The neutrophil. - Oxford, 1993. - 306 p.
24. *Adelman D. C., Casale T., Corren J.* Manual of allergy and immunology. - 5<sup>th</sup> ed. - Philadelphia, 2001. - 494 p.
25. *Belkaid Y., Rose B. T.* Natural regulatory T cells in infectious disease // *Nature Immunol.* - 2005. - Vol. 6, N 4. - P. 353-360.
26. *Gershwin M. E., Vierling J. M., Manns M. P.* Liver immunology. - Philadelphia: Hanley and Belfus, Inc., 2003. - 498 p.
27. *Harmening D. M.* Modern blood banking and transfusion practices. - 5<sup>th</sup> ed. - Philadelphia: Davis Company, 2005. - 543 p.
28. *Janeway C. A. et al.* Immunobiology (the immune system in health and disease). - 6<sup>th</sup> ed. - N. Y.; London: Taylor and Francis Group, 2005. - 823 p.
29. *Mahon C. R., Lehman C. D., Manuselis G.* Diagnostic microbiology. - 3<sup>rd</sup> ed. - St. Louis, Missouri, 2007. - 1211 p.
30. *Mahon C. R., Tice D.* Clinical laboratory immunology. - New Jersey: Upper Saddle River, 2006. - 325 p.
31. *McKenzie S. B., Shirlyn B.* Clinical laboratory hematology. - New Jersey: Upper Saddle River, 2004. - 956 p.
32. *Mercer J. C., Ragin M. J., August A.* Natural killer Tcells: rapid responders controlling immunity and disease // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* - 2005. - Vol. 37, N 7. - P. 1337-1343.
33. *Olson K., De Nardin E.* Contemporary clinical immunology and serology New Jersey: Upper Saddle River, 2013. - 439 p.
34. *Szczepanski T., VanderVelden V. H. J., VanDongen J. J. M.* Flow-cytometric immunophenotyping of normal and malignant lymphocytes // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2006. - Vol. 44. - P. 775-796.
35. *Wood B. L.* 9-color and 10-color flow cytometry in the clinical laboratory // *Arch. Pathol. Lab. Med.* - 2006. - Vol. 130. - P. 680-690.
36. *Wood B. L.* Multicolor immunophenotyping: human immune system hematopoiesis // *Methods. Cell. Biol.* - 2004. - Vol. 75. - P. 559-576.
37. *Zabriskie J. B. et al.* Essential clinical immunology. - N. Y., 2009. - 362 p.