

612.4
Д, 678

В. И. ДОНЦОВ

ИММУНОБИОЛОГИЯ
ПОСТНАТАЛЬНОГО
РАЗВИТИЯ

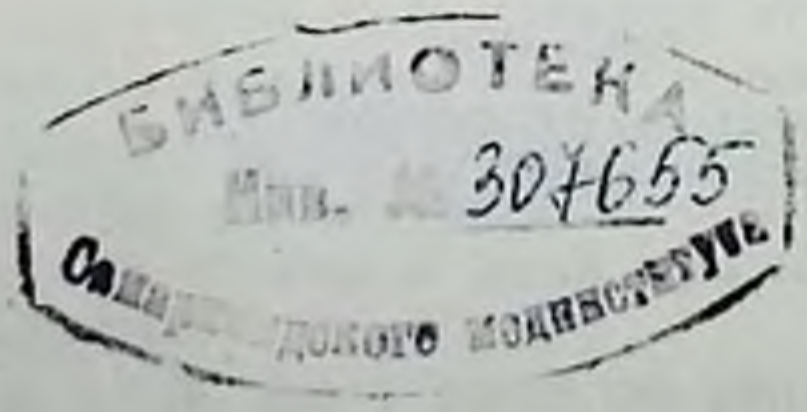
612.11
Д. 678

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
Московское общество испытателей природы

В.И. ДОНЦОВ

ИММУНОБИОЛОГИЯ ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Ответственный редактор
доктор биологических наук
Ф.А.АТА-МУРАДОВА



МОСКВА "НАУКА" 1990

Иммунобиология постнатального развития / В.И. Донцов. — М.: Наука, 1990. — 152 с. — ISBN 5-02-005341-4

В монографии рассматриваются вопросы регуляции лимфоцитами процессов роста, развития, физиологической и репаративной регенерации, гиперплазии тканей, участие лимфоцитов в процессах патологического роста и в старческой инволюции. Приводятся математические модели процессов и общая схема регуляции лимфоидными клетками процессов роста и деления различных клеточных типов. Новые и имеющиеся данные о подобных процессах, полученные в различных областях биологической науки и медицины, увязываются с современными представлениями о происхождении, функционировании и свойствах различных популяций лимфоцитов, накопленных в иммунологии. Обсуждается вопрос о месте лимфоцитов в иерархической системе регуляции пролиферации клеток у современных организмов.

Рассчитана на иммунологов, физиологов, биологов широкого профиля.

Табл. 5. Ил. 35. Библиогр.: 245 назв.

The immunobiology of postnatal development / V.I. Dontsov. — M.: Nauka, 1990

In monography the problems of lymphoid regulation of some nonimmune phenomens are discussed: the fisiological and reparative regeneration, hyperplastic processes, tumour growth and senile involution. The mathematical models of processes and general scheme are shown.

The role of lymphoid system in general regulation of cell proliferation in multicellular organism is discussed.

The book may be interested for different specialists: immunologists, general biologists, physishions and others.

Рецензенты:

академик Н.П. ДУБИНИН,
академик АМН СССР А.Д. АДО

ВВЕДЕНИЕ

Хотя "классическая" иммунология достигла в настоящее время впечатляющих успехов в области исследования молекулярных и клеточных механизмов иммунитета, а иммунологи работают на переднем крае современной науки, ряд феноменов, присущих лимфоцитам в целостном организме, оказывается, по существу, вне поля их зрения. В то же время эти феномены касаются важнейших областей живого — процессов регуляции физиологической и репаративной регенерации, нормального и опухолевого роста тканей, роста целостного организма, развития и старения, функциональной гиперплазии тканей и пролиферации соматических клеток и ряда других ситуаций. Парадокс ситуации заключается в том, что ряд этих явлений обнаружен давно, довольно хорошо описан на феноменологическом уровне, но не иммунологами, и важность этих процессов несомненна. То, что приоритет здесь во многих случаях принадлежит советским ученым, особенно важно — вклад в мировую иммунологию русских исследователей после И.И. Мечникова весьма скромнен. В то же время все эти явления никак не входят в общую теорию иммунитета, которая к настоящему времени потеряла важнейший свой теоретический постулат — не оправдались представления о противоопухолевом надзоре лимфоцитами как определяющей силе в эволюции, формирующей иммунную систему со всей совокупностью ее сложнейших взаимодействий и саморегуляцией.

С другой стороны, при исследовании молекулярных и клеточных механизмов распознавания "чужого" в иммунологии оказалось, что распознавание "чужого" — другой важнейший постулат иммунологии, — видимо, ничем не отличается от распознавания "своего", что подтверждает хорошо изученная в настоящее время так называемая сингенная смешанная культура лимфоцитов — феномен пролиферации Т-клеток при контакте со "своими" клетками организма, что совершенно не нужно и даже противоречит основным постулатам иммунологии.

Теоретически ясно, что в такой ситуации плодотворным может быть лишь синтез "классических" и "аномальных" феноменов и описание их в единой теории. Действительно, уже первый анализ таких феноменов [14, 15] и описание их с единых позиций позволяют выявить важность объединяющих эти феномены механизмов — во всех случаях речь идет о регуляции лимфоцитами пролиферации клеток: соматических при регенерации, иммунокомпетентных при иммунном ответе. Можно полагать, что функция саморегуляции клеточной

пролиферации на уровне взаимодействия клеточных популяций (лимфоциты как специализировавшиеся для этой цели клетки-регуляторы и клетки-эффекторы различного типа) может быть положена в основу новых теоретических представлений о причинах эволюции и возникновения сложной лимфоидной системы современных организмов. При этом лимфоидная система может рассматриваться как специализировавшаяся на процессах межклеточной регуляции пролиферации в организме — важнейшем процессе, без которого невозможно самоподдержание в единстве многоклеточного сообщества разнотипных, пролиферирующих с различной скоростью клеток — организма современных многоклеточных.

Так как большинство изученных феноменов — рост, развитие, старение, регенерация — рассматриваются современной биологией в ее разделе "биология развития", предлагаемая монография названа "Имунобиологией постнатального развития". Поскольку имеется ряд монографий, посвященных феноменологии этих процессов, а материал обширен, приводятся главным образом данные в контексте участия лимфоцитов в регуляции этих сложных процессов.

Подробно рассмотрены молекулярные механизмы протекания клеточного цикла и его регуляция, различные уровни регуляции пролиферации, фактические данные и математические модели регуляции лимфоцитами клеточного деления при различных процессах роста ткани и всего организма.

Глава I

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

НЕКОТОРЫЕ ОБЩИЕ ВОПРОСЫ БИОЛОГИИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Процессы, происходящие в клетке при пролиферации, достаточно типичны для самых различных видов клеток, что позволяет говорить о единой биологии клеточного цикла. Единая схема, по которой происходит деление самых различных клеток многоклеточных и одноклеточных организмов, является следствием того, что размножение — эта одна из наиболее древних функций живого, отражение фундаментальной характеристики живого — наследственности как передачи и сохранении во времени определенных свойств, структуры живого вещества.

Все уровни регуляции пролиферации имеют в конечном счете свое приложение именно на клеточный цикл, стимулируя или замедляя прохождение его отдельных фаз или вызывая инициацию вступления клеток в цикл и выход из него в состояние покоя.

Пролиферация клеток является качественно новым состоянием, в которое клетка вступает с целью увеличения пула аналогичных или дифференцирующихся из данной клеток. Логарифмический характер роста числа клеток при неограниченном делении требует наличия строгого контроля над этим процессом. Действительно, вход клеток в цикл и выход из него строго регламентированы, находясь под действием специфических внешних влияний. Войдя в цикл, клетка начинает серию последовательных делений, следуя автоматической программе клеточных делений, выход из которой требует специального сигнала. Это означает, что пройдя последовательно стадии G_1 , S , G_2 и M , клетка не возвращается в исходную G_0 фазу, из которой она вышла в первую фазу цикла G_1 , а сразу переходит в G_1 , минуя фазу покоя и начиная новый цикл деления. В начале фазы G_1 показано наличие короткого периода, в течение которого клетка "решает", начать ли следующий цикл деления или перейти в состояние покоя к функционированию в виде дифференцированной клетки того или иного типа. Переход G_0/G_1 стимулируется специфическими факторами, выполняющими роль регуляторов пролиферации.

Важнейшим моментом является то, что переход клеток из одной стадии в другую является иницируемым, причем индуцирующий агент действует короткое время и для дальнейшего протекания "включенной" стадии цикла не нужен. Для поддержания протекания фазы цикла, однако, важен уровень изменившихся внутриклеточных

регуляторных механизмов, затрагивающих прежде всего циклические нуклеотиды и кальций. Определенную роль могут играть моноамины, диамины, простагландины, уровень которых выражено увеличивается на определенных стадиях клеточного цикла [1, 2, 64, 71].

Определенную сложность в рассмотрении вопроса вносит то, что регулирующие и включающие сигналы могут иметь одну и ту же природу — быть представленными одними и теми же веществами, например циклическими нуклеотидами и кальцием.

Рассмотрение в общих чертах сигналов, ведущих к изменению клеточной активности, показывает, что все внешние воздействия, как специфические, так и неспецифические для клетки, могут приводить к первичному изменению трех параметров клетки: физико-химического состояния мембраны, ионного транспорта через мембрану, состояния связанных с мембраной ферментов [84, 99, 120, 136, 143, 203].

Все три типа изменений параметров клетки не являются строго изолированными, однако в конкретных случаях при определенных внешних воздействиях первичные изменения могут затрагивать лишь один из названных параметров. Изменение физико-химического состояния мембраны, видимо, не является собственно сигналом, а ведет к изменению остальных двух параметров состояния клетки. Из последних каждый тип сигнала играет различную роль для клеток разного типа. Вход кальция или перераспределение этих ионов на уровне мембраны представляют собой важнейший момент активации ферментов мембраны, а также цитозоля клетки. Такие ферменты являются центральными в активации клетки к пролиферации [128, 181]. Важнейшими являются пептидазы, связанные с мембраной клетки, а также циклазы, как связанные с мембраной, так и растворимые в цитоплазме. Для обоих типов ферментов показана зависимость от ионов кальция и от липидного состава мембраны — оба эти фактора выражено изменяются в процессе активации клеток. Для эукариотов можно наблюдать весь спектр пролиферативных реакций клетки — от практически не пролиферирующих высокодифференцированных клеток нервной системы до постоянно пролиферирующих клеток гемопозитической системы. Возможность ре-активации ядер даже высокодифференцированных клеток при помещении их в соответствующие условия — цитоплазму яйцеклетки — указывает на то, что феномен "выключения" программы клеточного деления носит регуляторный характер и возможен выход клеток самого разного типа в состояние пролиферации под действием факторов, содержащихся в цитоплазме.

Связь пролиферации клеток с процессами дифференцировки, как оказалось, является не простой. Сейчас уже совершенно ясно, что дифференцировка не ведет к автоматическому прекращению пролиферации — эти два процесса регулируются самостоятельно [53, 79]. Показано, что пролиферация и дифференцировка клеток могут сочетаться в любых отношениях, хотя обычно с увеличением степени дифференцировки клеток степень их пролиферативной активности

снижается [93]. Часто для начала дифференцировки клетка должна пройти хотя бы один митоз. Дифференцировка как синтез специфических для специализированной клетки белков представляет собой отдельный от пролиферации процесс; пролиферация же представляет собой автоматическую программу удвоения клеток в числе, сходную для всех типов клеток. Показано, что синтез специфических дифференцированных белков может быть начат до программы пролиферации, одновременно с ней или позже ее начала [53]. Возможно активирование дифференцировочных процессов и без включения программы пролиферации, например при превращении В-лимфоцита в антитело-продуцирующую клетку без деления — так называемая терминальная дифференцировка клетки [159]. На примере этого же типа клеток показано, что для пролиферации и дифференцировки требуются два различных по природе сигнала и без одного из них можно получить или постоянное деление, или "терминальную дифференцировку".

Важнейшим является вывод, что процесс пролиферации — это отдельный феномен, регуляция которого зависит от своих специфических механизмов, и сопряжение с другими процессами, например с дифференцировкой, является необязательным. Из этого следуют возможность и необходимость рассмотрения процесса пролиферации как самостоятельного процесса со всеми своими собственными механизмами регуляции.

МЕХАНИЗМ ВКЛЮЧЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ (G_0/G_1)-ПЕРЕХОД

Вход клетки в первую фазу клеточного цикла является наиболее важным и интересным моментом всей проблемы пролиферации. Показано, что "включение" механизма деления занимает незначительное время — минуты, после чего активирующий агент может даже оказывать ингибирующий эффект. У одноклеточных лишь условно можно выделить фазу покоя, тогда как для многоклеточных фаза G_0 является весьма важной. Для специализированных клеток, обычное состояние которых исключает деление, некоторые авторы предлагают ввести понятие фазы G_n [53]. Приобретение клетками способности выходить в длительное состояние покоя — G_0 -фазу — явилось важнейшей предпосылкой формирования многоклеточного организма, так как существование целостного организма предполагает ограничение пролиферации составляющих организм клеток. Наличие нескольких типов различных клеток в организме многоклеточных предполагает также существование механизмов избирательного ограничения пролиферации различных клеток и при необходимости избирательного включения клеточного деления той или иной популяции клеток. Особенно наглядно это видно на примере репаративной регенерации, когда в течение суток после повреждения печени митотический индекс гепатоцитов увеличивается на несколько порядков — с сотых долей до десятков процентов.

Среди действующих на клетку внешних агентов имеются лишь немногие, а физиологически, видимо, лишь один сигнал, способный запустить процесс клеточного деления, причем для каждого типа клеток такой фактор специфичен. Примером высокой специфичности активирующего сигнала может служить активация лимфоцита лишь одним, специфичным для него, антигеном.

Высокая специфичность сигнала в то же время не исключает общности запуска процессов пролиферации для самых различных типов клеток. Так, например, Т-лимфоциты тимуса могут быть активированы посредством встраивания в мембрану ганглиозидов мозга, при этом активирующим сигналом служит немитогенный биотин, рецепторы к которому были химически пришиты к ганглиозидам. Это указывает на то, что роль активирующего сигнала сводится лишь к взаимодействию со специфическим рецептором на мембране клеток, передача же дальнейшего сигнала осуществляется неспецифически общими для всех клеток молекулами. Так как клетки мозга практически не делятся, а ганглиозиды мембран выполняют у них совсем иную, не митогенную, функцию, то активация клетки к делению определяется не типом рецептора, а спецификой самой клетки.

Неясен конкретный механизм передачи активирующего сигнала с поверхности внутрь клетки. Известно слишком много быстрых изменений, развивающихся в ответ на активацию клетки, чтобы можно было судить о каких-либо первичных, запускающих клеточное деление процессах. Тем не менее представляется несомненным, что в основе такого активирования должны лежать процессы активации определенных ферментов, видимо, связанных с мембраной клетки.

При воздействии на В-лимфоциты активирующей антииммуноглобулиновой сыворотки показано увеличение активности аденилатциклазы, связанной с этим типом рецепторов. Для гепатоцитов и иных клеток известно повышение в ранние сроки активности гуанилатциклазы. Так как последний тип фермента локализован в цитоплазме, то должен существовать промежуточный передатчик сигналов на уровне мембраны. Отмена ранних процессов активации Т-лимфоцитов митогенами и увеличение уровня цГМФ при помещении их в безкальциевую среду показывают, что повышение кальциевого тока через мембрану имеет важное значение для инициации пролиферации клетки. Изменения мембраны, индуцированные митогенами, сохраняются длительно, и при переносе клеток в среду с кальцием Т-лимфоциты начинают делиться. Для различных типов клеток показано активирующее влияние кальциевых ионофоров, увеличивающих кальциевый ток в цитоплазму извне и из клеточных органелл, при этом для различных типов клеток механизм повышения кальция в цитоплазме оказывается различным. Если Т-лимфоциты обычно не могут быть активированы в безкальциевой среде, то В-клетки не нуждаются для активации в наличии свободного внеклеточного кальция. Для этих клеток, однако, имеет место выход кальция в цитоплазму из клеточных депо. Индукция выхода кальция из внутриклеточного депо под воздействием цАМФ показана также для Т-лимфоцитов [215]. При этом циклические нуклеотиды активируют

связанные с саркоплазматическим ретикулумом протеинкиназы, регулирующие кальциевый ток в микросомальную фракцию клеток [215]. В митохондриях транспорт кальция регулируется более сложным образом, однако циклические нуклеотиды могут воздействовать и на него через особый внутриклеточный посредник [56].

Несмотря на неоднозначность для разных типов клеток взаимоотношений циклических нуклеотидов и кальция, повышение цГМФ и кальция в клетке является общим для активации самых разных клеточных типов [231, 245], что указывает на общие внутриклеточные механизмы инициации клеточного цикла. При этом ионам кальция отводят роль первичных активаторов пролиферации клеток, тогда как циклические нуклеотиды в филогенезе являются, скорее всего, поздними вторичными регуляторами, что и приводит к неоднозначной сопряженности механизмов регуляции системы циклических нуклеотидов с кальциевым гомеостазом клетки для различных типов клеток [232, 236, 239].

Уровень кальция поддерживается на крайне низких цифрах в клетке в ее цитоплазме: клетка имеет сразу два мощных буфера для удаления кальция — микросомы и митохондрии, кроме того, она способна откачивать кальций во внешнюю среду. Поглощение ионов кальция микросомами происходит против градиента концентрации кальция, поэтому идет с поглощением энергии АТФ, тогда как вход кальция в митохондрии сопровождается обменом на ионы H^+ , что позволяет быстро снизить уровень кальция в цитоплазме, но требует активного дыхания митохондрий. В некоторых случаях митохондрии отдельных типов клеток имеют специальную систему поглощения и высвобождения кальция с участием кальций-натриевого антипортера [76]. Лимфоциты Т-типа не имеют такой системы и не активируются ионофорами одновалентных металлов, тогда как В-лимфоциты в ответ на вход ионов натрия и лития выражено активируются [116].

Важным моментом в активации клеток является деполяризация их мембраны: показано, что применение блокаторов деполяризации отменяет активацию клеток. Кроме того, ионы натрия могут активировать вход кальция в клетку и из внешней среды через посредство натрий-активируемых кальциевых каналов мембраны клеток.

Другим широко распространенным процессом является изменение метаболизма липидов мембраны в ходе клеточной активации. Мембрана клетки в соответствии с принятыми взглядами представляет собой белково-липидный бислой, имеющий характеристику жидкого кристалла, способного выражено изменять свое агрегатное состояние при внешних воздействиях. До 50% липидов составляют глицерофосфолипиды, главным образом лецитин. Около трети липидов представлено холестерином, важное значение имеют и другие составные части: фосфатидиловая кислота, инозитол-фосфаты, лизолецитин, насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты и их производные. При изучении активации В-лимфоцитов специфическим для них митогеном — липополисахаридом показано, что активирующим влиянием обладает липидная часть. Липиды могут быть и средой,

передающей сопряжение отдельных компонентов рецептора мембраны: его рецепторной части на поверхности и каталитической на внутренней стороне мембраны, как это имеет место для случая активации β -рецептора с активацией аденилатциклазы. Для функции самих ферментов мембраны липидное окружение необходимо: обработка клетки фосфолипид-расщепляющим ферментом — фосфолипазой — отменяет активацию аденилатциклазы, а добавление фосфатидинозитола и фосфатидилсерина восстанавливает ее активность.

При активации клеток различного типа разными стимулами наиболее выраженное изменение отмечается в обмене фосфатидинозитола, уровень которого в мембране увеличивается в десятки раз [216]. Одновременно повышается также содержание длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот за счет ацилирования эндогенного лизолецитина. Фермент, необходимый для последнего процесса, обнаружен в мембранах лимфоцитов, он ингибируется цАМФ, катализирующим противоположный процесс — расщепление жиров липазой.

В целом все изменения в мембране приводят к увеличению текучести мембраны и изменяют микроокружение мембранных ферментов [24], что глобальным образом сказывается на интегративном состоянии клетки. Сейчас идентифицировано до 50 различных ферментов, активность которых в мембране резко изменяется в ходе активации клетки к процессу деления. Кроме рассмотренных, важное значение имеют ферменты фосфорилирования, что косвенно сказывается на активности многих ферментов. Мембранные протеинкиназы активируются циклическими нуклеотидами, ионами кальция через посредство специального белка — кальмодулина, фосфолипидами. Их рецепторами являются фосфолипиды, белки мембран и мембранные ферменты. Важное место отводят метилазам мембраны, активность которых резко повышается сразу же после воздействия сигнала на клетку; эти ферменты играют центральную роль в процессах ионного транспорта через мембрану, регулируя открытие "ионных каналов".

Важным механизмом активации клетки является изменение активности мембранно-связанных протеиназ. Показано, что имеется несколько пептидаз, активируемых ионами кальция и зависимых от липидов [103]. Активация В-лимфоцитов антииммуноглобулиновой сывороткой, вызывающей в течение ближайших минут (G_0/G_1)-переключение, приводит к появлению в цитоплазме фактора, активирующего фосфорилирование негистоновых белков ядер клеток вследствие расщепления неактивного профактора массой 150 кДа на активные фрагменты с молекулярной массой по 45 кДа [128]. Этот фактор формировался также при искусственном ограниченном протеолизе цитоплазматического содержимого этих клеток. Известно, что блокада пептидаз может заметно ингибировать активность ряда клеток, в том числе В-лимфоцитов. В то же время Т-лимфоциты и некоторые иные типы клеток оказываются устойчивыми к ингибиторам протеолиза. В последних клетках, видимо, активация идет другим путем, хотя также с помощью белкового активатора:

показано растормаживание синтеза белка на предуготовленных РНК-матрицах вследствие снятия блока трансляции, действующего на уровне элонгации цепи белка на рибосомах — блокатор отщепляется и, видимо, высвобождается из клетки [53, 55].

Процесс образования активного белкового стимулятора, видимо, типичен для всех клеток, хотя механизм его формирования различается в каждом отдельном случае. Исследован механизм действия такого активирующего фактора на ядра: показано фосфорилирование под его действием ядерных белков негистонового типа [128]. Так как последний тип белков играет важную роль в регуляции транскрипции генов, фосфорилирование их должно значимо сказываться на метаболизме клеток. На примере лимфоцитов показано раннее — через 30 мин после действия митогена — активирование фосфорилирования белков ядер. Этот процесс может быть заторможен цАМФ. Обычно повышение в клетках цАМФ ведет к увеличению оттока ионов кальция из цитоплазмы, кроме того, цАМФ стимулирует активность фосфодиэстеразы, действующей противоположно киназам, или действует через цАМФ-протеинкиназы, фосфорелирующие иные типы негистоновых белков клетки — ингибиторного типа.

Процесс активации транскрипции является центральным моментом действия активирующих факторов, так как синтез белка — суть G_1 -фазы клеточного цикла, в ходе которого клетка растет и готовится к делению на две. Фактически, видимо, любой внешний сигнал может быть преобразован в сигнал активации пролиферации, если это имеет биологический смысл для клетки. Механизмы передачи сигнала на уровне мембраны имеют много общего для разных типов клеток. Так, встраивание мембран Т-клеток в плазмолемму В-лимфоцитов и наоборот позволяет активировать тот и другой типы лимфоцитов неспецифическими для них митогенами, с сохранением дифференцировки активированных клеток. В то же время гибриды из ядер Т-лимфоцитов и цитоплазмы В-клеток не могут быть активированы к пролиферации ни Т-, ни В-митогенами. Можно полагать, что в G_1 -фазе синтезируются многие белки, специфичные для дифференцирующихся клеток. Так как в подавляющем числе случаев дифференцировка клеток связана с подавлением пролиферации, филогенетически древние процессы дифференцировки сопровождаются появлением, углублением G_1 -фазы клеточного цикла и последующим переходом клеток в состояние покоя — G_0 , при этом должны были накапливаться различия в ранних механизмах активации клеток. Общие для разных типов клеток механизмы, переходящие видовые барьеры, сохранились на более поздних этапах активации пролиферации, как будет видно ниже — в точке (G_1/S)-переключения [230].

ПОДГОТОВКА КЛЕТОК К ПРОЛИФЕРАЦИИ (G_1 -ФАЗА)

В ходе G_1 -фазы клетка интенсивно синтезирует белок на вновь образованных РНК-матрицах и увеличивается в размерах. Это единственный период клеточного цикла, когда имеет место собственно рост клетки. Синтезируется весь спектр клеточных белков — структурные белки всех клеточных компонентов, новые белки, если после деления клетка меняет свою дифференцировку, а также специфические белки, необходимые для продвижения клетки в следующую фазу цикла.

Если включение клеточного цикла — (G_0/G_1)-переход занимает несколько минут, то период G_1 длится для большинства клеток несколько часов или даже дни, причем в это время собственно "включающий" сигнал не только не нужен, но во многих случаях оказывает обратное тормозящее действие.

В течение G_1 -периода клетка перестраивает свой метаболизм на новый уровень, включая аутосинтетические гены и изменяя уровень внутриклеточных регуляторных систем. Показано, что во многих, если не во всех, типах клеток в G_1 -период длительно повышается уровень цАМФ [12, 245]. Увеличение цАМФ наблюдается через 1,5—2 ч после включения цикла, когда происходит интенсивный синтез белка. Повышение уровня цАМФ важно для протекания первой половины G_1 -фазы цикла клеток, тогда как выраженное увеличение его в период (G_1/S)-переключения ингибирует дальнейшее движение в цикле.

Эксперименты с внесением экзогенного цАМФ и веществ, увеличивающих его уровень в клетке, показали, что в G_1 -период такое воздействие увеличивает скорость прохождения G_1 -стадии цикла и благоприятно для пролиферации. Одновременно для В-лимфоцитов показано, что длительное увеличение цАМФ способствует дифференцировке клеток в антитело-продуценты без деления [129]. Кроме того, для В-лимфоцитов цАМФ играет, видимо, еще и роль толерогенного сигнала [41]. Это связано со спецификой функционирования В-лимфоцитов, которые под действием антигена могут не только дифференцироваться, но и элиминироваться. Сейчас стало ясно, что толерогенный сигнал в организме столь же важен, как и иммуногенный [32, 33]. Для других типов клеток цАМФ выполняет главным образом дифференцирующую роль, что связано со стимулированием синтеза белка. В то же время для многих типов клеток цАМФ выполняет роль основного регулятора, предотвращающего переход клеток в стадию синтеза ДНК, т.е. ингибирует протекание цикла.

Увеличение уровня цАМФ ингибирует иммунный ответ лимфоцитов и опосредует ингибирующий сигнал ряда иммунорегуляторов [12, 22]. Видимо, такая особенность действия цАМФ отражает общую закономерность действия внутриклеточных регуляторов: фактор, стимулирующий прохождение данной фазы цикла, одновременно тормозит предыдущую и препятствует наступлению следующей. Это делает процесс прохождения цикла векторным, кроме того, для наступления следующей фазы цикла оказывается

необходимым дополнительным активирующим сигналом. Последнее весьма важно и отражает наличие независимых систем регуляции клеточного цикла — (G_0/G_1)-перехода и (G_1/S)-перехода. При этом в конечном счете интенсивность пролиферации клеток отражает как потребность в клетках данного типа, так и пролиферативный гомеостаз в организме в целом. Механизм реализации эффекта цАМФ включает действие его на цАМФ-зависимые протеинкиназы и модификацию фосфорилирования многих регуляторных белков клетки. Обнаружено, что в течение клеточного цикла фосфорилируется более ста белков в цитоплазме и ядре, что отражает переход клетки на новый уровень функционирования, необходимый для роста и деления.

Фосфорилирование под действием цАМФ белков мембраны лежит в основе активирования выхода кальция из клетки [164], что снижает и процесс активации клетки. В то же время цитоплазматические белки под действием цАМФ активно фосфорилируются синергично с действием активирующего пролиферацию стимула, что ускоряет течение G_1 -фазы цикла [129]. Особый интерес представляет вопрос о синтезе специфических для каждой фазы цикла белков, определяющих возможность прохождения цикла в данное время. Известно, что факторы, включающие синтез ДНК в клетках, не действуют на покоящиеся клетки. Это не является результатом отсутствия рецепторов к данному агенту — инсулин, ацетилхолин и другие агенты, стимулирующие пролиферацию клеток в G_1 -фазе, действуют на покоящиеся клетки совсем иным способом, обычно регулируя их функцию, подвижность и пр. Способность клеток реагировать на активирующий дополнительный сигнал активированием синтеза ДНК приобретает клетка лишь в середине G_1 -фазы, когда имеет место синтез белка. На мембране в это время появляется белок-рецептор для специфических факторов активации [200]. Такие факторы обычно запускают переход G_1/S через 1—2 ч после добавления к клеткам, чему предшествует синтез белка [105, 184].

В ряде случаев блокада гликозилирования предотвращает передачу сигнала активации синтеза ДНК [162]. По крайней мере в некоторых случаях активирующий сигнал может быть сходен с сигналом, активирующим (G_0/G_1)-переход; показано, что так называемые Т-независимые В-лимфоциты активируются таким образом, что антиген может выступать как второй сигнал, а первый сигнал может быть представлен неспецифическим воздействием [211].

Наличие двух сигналов активации, по-видимому, необходимо для самых различных типов клеток. Второй сигнал может быть представлен различными воздействиями. Так, активирующее влияние на синтез ДНК может достигаться под действием: сыворотки, ионов кальция, ацетилхолина, инсулина, простагландинов, глюкагона, при обработке клеток протеолитическими ферментами, цАМФ, адреналином и т.д. [54, 104, 112]. Все эти вещества способны в конечном счете влиять на уровень цАМФ, цГМФ и кальция. Активирующее влияние цАМФ неожиданно, однако для тех типов клеток, где оно имеет место, показано активирование циклическим АМФ входа Ca^{2+} в

клетки или выхода этих ионов из внутриклеточных депо. Другие активирующие факторы также способны увеличивать захват клетками ионов кальция. Так, для лимфоцитов Т-типа фактор активации лимфоцитов увеличивает в безкальциевой среде уровень цГМФ, а перенос клеток в среду с кальцием активирует синтез ДНК [111]. Роль ионов кальция состоит в включении (G_1/S)-перехода: достаточно кратковременного повышения концентрации этого иона в цитоплазме клеток, в дальнейшем же повышение уровня кальция в клетке необязательно. Ионы кальция и цГМФ оказывают синергетический эффект на протекание S -фазы, стимулируя фосфорилирование прочносвязанных негистоновых белков и прочносвязанных аргинин-богатых гистонов ядер [17]. Эти типы белков играют роль ингибиторов синтеза РНК и ДНК, а фосфорилирование с увеличением отрицательного заряда молекул оказывает депрессирующий эффект на синтез макромолекул.

Под действием активирующего сигнала дальнейшее присутствие активирующего фактора необязательно — после отмывания клеток, находящихся ранее несколько минут в контакте с фактором активации, наблюдается активирование синтеза ДНК через 1—2 ч. Такое время необходимо для синтеза новых белков на вновь синтезированных матрицах РНК. Показано в ряде случаев, что активирование (G_1/S)-перехода требует синтеза РНК, так как блокада синтеза РНК актиномицином Д отменяет процесс активации [54], хотя в некоторых типах клеток синтез белка-активатора может наблюдаться путем ограниченного протеолиза неактивного белка-предшественника [128]. Активация синтеза белка происходит, по-видимому, посредством активирования фосфорилирования под действием Ca^{2+} и цГМФ ядерных белков негистонового типа или путем активации кальций-зависимых протеаз клетки [17].

Неясна конкретная природа белка, синтезирующегося во вторую половину G_1 -цикла и активирующего наступление S -фазы. Известен ряд белков, увеличивающихся в количестве в этот период. Среди них наиболее интересен белок с молекулярной массой 135 кДа. Показано, что синтез и фосфорилирование его увеличиваются во всех типах клеток за 1—2 ч до вступления их в цикл синтеза ДНК, что делает фазу S цикла необратимой. Важная роль принадлежит и ДНК-связывающим белкам. Синтез последних увеличивается в G_1 - и S -фазе цикла. Среди них выделяются быстро движущиеся в электрофорезе НМГ-белки. Синтез НМГ₁ белка наблюдается лишь в делящихся клетках, причем связывание его с ДНК увеличивает доступность к ДНК фермента — ДНК-полимеразы [92]. В делящихся клетках НМГ₁ белок модифицирован — он может быть фосфорилирован, метилирован или ацетилован. Протеинкиназы для этого типа белка специфичны, независимы от циклических нуклеотидов. Другие типы белков данной группы — НМГ₁₄ и НМГ₁₇ — также увеличиваются в количестве в делящихся клетках, но в период (G_1/S)-перехода синтез и фосфорилирование данных белков не меняются. Эти белки важны для синтеза РНК, так как связывание их повышает

доступность к ДНК РНК-полимеразы. Известны зависимые и независимые от цАМФ и цГМФ протеинкиназы, специфические для HMG_{14} и HMG_{17} [229].

Кроме группы HMG белков, существует большая группа микрогетерогенных белков из группы ДНК-связывающих с молекулярной массой 23—25 кДа, фосфорилирование которых выражено в беспрерывно делящихся опухолевых клетках и повышает в сотни раз эффективность связывания с ДНК ДНК-полимеразы [183].

В ходе подготовки клетки к делению увеличивается количество кальмодулина, связывающего ионы кальция и активирующего ряд ферментов [240]. Увеличивается также количество протеинкиназ. Для клеток нормальной печени, например, обнаруживаются три протеинкиназы, а для опухолевых — пять, причем все цАМФ-независимые.

Независимым от циклических нуклеотидов протеинкиназам придают важное значение в ходе активации различных типов клеток под действием так называемых факторов роста. Исследования последних лет показали, что с рецепторами к таким факторам связаны как процессы естественной активации пролиферации, так и процессы активации пролиферации канцерогенами и вирусами. Показано, например, что за трансформацию клеток ответствен лишь один ген вируса, регулирующего синтез клетками факторов роста — это белок, действующий непосредственно на рецептор ввиду сходства с самим фактором роста, либо, в другом случае, протеинкиназа, непосредственно связанная с таким рецептором. Протеинкиназа, связанная с фактором роста, имеет особую специфику — она является непосредственно и рецептором к фактору роста и способна катализировать реакцию фосфорилирования и аутофосфорилирования, а также может фосфорилировать большую группу белков различного типа по тирозиновым остаткам, хотя в других случаях фосфорилируются и сериновые остатки [209]. Все эти особенности — объединение каталитической и рецепторной функций, полиспецифичность, аутофосфорилирование — указывают на древнюю филогенетическую природу такой тирозиновой протеинкиназы. Действительно, этот тип протеинкиназы обнаруживается у всех многоклеточных организмов [209]. Так как ее нет у одноклеточных, возможно, ее приобретение связано с возникновением многоклеточного уровня живого и процессов ограничения и индукции пролиферации клеток в целостном организме. У млекопитающих известна связь такой протеинкиназы с фактором роста тромбоцитов и фактором роста эпидермиса.

Среди других механизмов, активирующихся в G_1 -период, следует указать на значительное увеличение синтеза гистамина во всех пролиферирующих клетках, причем блокада процесса гистидином останавливает продвижение клетки в G_1 -фазе цикла. Так как в некоторых клетках имеются рецепторы к гистамину на микросомах, играющих роль кальциевых депо в клетках, механизм действия внутриклеточного гистамина может осуществляться через посредство ионов кальция. Кальций способен высвободиться из микросом

клеток также под действием циклических нуклеотидов, при этом наблюдается активирование цАМФ- и цГМФ-зависимых протеинкиназ микросом [215]. Внутриклеточный посредник эффекта кальция синтезируется в G_1 -фазу цикла, он является филогенетически весьма древним, активирующим синтез ДНК белком, выделенным из лимфоцитов млекопитающих и способным активировать также синтез ДНК в изолированных ядрах клеток лягушки [110].

Таким образом, G_1 -фаза клетки необходима для роста клетки и синтеза специфических белков, важных для включения следующей фазы цикла. Под действием дополнительных стимулирующих сигналов запускается (G_1/S)-переход, непосредственным следствием чего является начало синтеза ДНК клетки, что и составляет главную черту S -периода клеточного цикла.

ФАЗА СИНТЕЗА ДНК — ОСНОВА КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ (S -ФАЗА)

Период удвоения количества ДНК в клетке является важнейшим периодом клеточного деления, по которому обычно учитывают интенсивность пролиферации клеток.

Фаза S клеточного цикла едва ли не наиболее простая с точки зрения регуляции. Начавшийся синтез ДНК прекратиться уже не может, хотя показано, что скорость процесса может все же изменяться под действием внешних причин. Наступает S -фаза постепенно — в течение 1—2 ч после действия иницирующего фактора, начало фазы не связано с принципиальными изменениями в клетке и отражает события, произошедшие ранее — это естественное следствие (G_1/S)-перехода, наблюдающегося в конце G_1 -фазы, когда синтезируется ряд ядерных белков и изменяется их уровень фосфорилирования [203, 213, 236].

Синтез ДНК начинается в результате связывания с ДНК фермента — ДНК-полимеразы, работающей синхронно с другими молекулами, входящими в состав так называемого иницируемого комплекса. Для репликации ДНК фермент нуждается лишь в наличии всех четырех трифосфатов нуклеотидов и доступности ДНК-матрицы. Центральным в регуляции, таким образом, является доступность ДНК-матрицы. Эта доступность увеличивается в S -период клеточного цикла, что можно наблюдать по снижению температуры плавления хроматина, увеличению доступности ДНК для нуклеаз и красителей. В это время происходит раскручивание молекулы ДНК под действием некоторых белков, интенсивно синтезируемых в S -фазе цикла, — белков НМГ и гистоноподобных белков небольшой молекулярной массы, обычно высокофосфорилированных.

В период синтеза ДНК в ядре появляется цитоплазматическая ДНК-полимераза, но ее транспорт в ядро и синтез в клетке не изучены [133]. Синтез молекулы ДНК происходит на протяжении короткого участка молекулы ДНК (такие участки носят название фрагментов Оказаки), что позволяет быстро проводить синтез длинных молекул

ДНК — этот механизм является общим для всех типов клетки. В дальнейшем вновь синтезированные участки сшиваются особым ферментом.

По мере продвижения клеток в S-фазе закономерно увеличивается уровень цГМФ и кальция в клетке [111, 181]. Значительно, на несколько порядков, увеличивается уровень цитоплазматического кальция, мобилизуемого из внутриклеточных депо [164]. Повышение уровней цГМФ и кальция увеличивает в клетке фосфорилирование белков, в том числе негистонового типа, прочно связанных с ДНК, играющих супрессорную роль [83]. Увеличение цГМФ активирует фосфорилирование аргинин-богатых гистонов, для чего необходимо предварительное ацетилирование их, стимулируемое полиаминами, концентрация которых резко увеличивается в эту фазу цикла [83].

Среди других внутриклеточных медиаторов следует указать на резкое увеличение концентрации гистамина в пролиферирующих клетках [74], а также на увеличение биосинтеза простагландинов в быстро пролиферирующих клетках, к которым, как и к гистамину, имеются рецепторы на внутриклеточных органеллах [177]. Как гистамин, так и простагландины способны увеличивать уровень внутриклеточного цАМФ и цГМФ и влиять на процессы входа и выхода кальция в клетку и перераспределения ионов кальция из внутриклеточных депо в цитоплазму [64, 71, 176].

Выход клетки из S-фазы является естественным следствием окончания синтеза ДНК. На вновь синтезируемых молекулах ДНК сразу же по мере синтеза происходит присоединение гистоновых белков. Синтез гистонов является единственным примером синтеза белка, тесно связанного с протеканием S-фазы; РНК для гистонов синтезируется в S-фазе клеточного цикла, лишь H1-гистон частично синтезируется в конце G₁-фазы. При остановке синтеза ДНК немедленно прекращается и синтез гистонов.

После окончания синтеза ДНК клетка приступает собственно к делению.

ПРЕМИТОТИЧЕСКАЯ ФАЗА И МИТОЗ

Премитотическая фаза — G₂-фаза клеточного цикла — наступает сразу же по завершении синтеза ДНК и не нуждается в специальных сигналах перехода. К моменту окончания репликации ДНК в клетке увеличен синтез цГМФ и кальция, что происходит в течение всего S-периода и достигает максимума в G₂-фазу. По-видимому, эти процессы необходимы для конденсации хроматина и интенсивность их увеличивается по мере того, как увеличивается доля реплицированного хроматина. Циклический ГМФ и кальций действуют однонаправленно, приводя к гиперфосфорилированию белков хроматина, что лежит в основе его конденсирования и формирования видимых хромосом. Сайты фосфорилирования гистонов различны в различных фазах цикла. Новая протеинкиназа со специфичностью в отношении фосфорилирования H1-гистона синтезируется в G₂-фазе.

Для G_2 -периода характерен высокий уровень синтеза полиаминов [83], ингибирование синтеза которых блокирует клеточный цикл на G_2 -стадии. Высокий уровень полиаминов необходим для процессов рибозилирования белков хроматина, причем наиболее выраженное рибозилирование касается лизин-богатых H2A- и особенно H1-гистонов [75]. Рибозилирование ведет к образованию полимерных молекул гистонов, блокирующих доступ к ДНК любых молекул, что отражается в прекращении синтеза ДНК. В этот период, однако, синтезируется определенный тип белка, как и на предыдущих фазах: блокада синтеза белка останавливает цикл в G_2 -фазе. Кроме этого, в данный период дальнейшее продвижение клетки в цикле может быть заблокировано повышением концентрации цАМФ [53]. Инициирование митозов связано с импульсным увеличением цГМФ и параллельно кальция, хотя в дальнейшем процесс митоза носит автоматический характер и проходит при увеличении уровня цАМФ.

Фазы митоза достаточно хорошо изучены и описаны морфогенетически. В то же время достаточно хорошо описанные процессы в механизме своем мало ясны.

Принято разделять митоз на профазу, метафазу, анафазу и телофазу.

Условно считают началом профазы время видимого появления хромосом. В ходе профазы постепенно происходит агрегация хромосом и сокращение их в результате суперфосфорилирования, что сопровождается также суперспирализацией. Соотношение белок/ДНК остается все время постоянным в течение митоза, хотя модификация хроматина ферментами — фосфорилирование и рибозилирование — весьма отчетливо выражены.

По сравнению с интерфазой увеличивается концентрация негистоновых белков, специфических для митоза. Известно, что в процессе конденсации хромосом увеличивается главным образом гиперфосфорилирование H1- и H3-гистона, что характерно для организмов в широком филогенетическом диапазоне — от грибов до млекопитающих [200]. Стимулирование фосфорилирования стимулирует скорость митозов, однако препятствование ему не отменяет митоз, как и деконденсацию хроматина после окончания этой фазы.

Определенную роль в митозе могут играть процессы образования дисульфидных мостиков гистона H3 и негистоновых белков, что обнаружено в ходе профазы.

Уже в течение профазы синтез РНК в конденсированных хромосомах полностью прекращается. Незадолго до конца профазы исчезает ядерная мембрана и распадаются ядрышки. Исчезновение ядерной мембраны является стимулом к процессу присоединения нитей веретена к кинетохору. Ядрышковая РНК в большой степени связывается с конденсированным хроматином и перераспределяется, таким образом, между дочерними клетками равномерно, используя процесс контролируемого перераспределения ДНК.

Особая роль принадлежит низкомолекулярной ядерной РНК — яРНК, которая прикрепляется к хроматину в это время и служит,

видимо, для поддержания дифференцировочных процессов в хроматине в дочерних клетках.

Прометафаза представляет собой короткую по времени стадию, в течение которой хромосомы упорядоченно выстраиваются, образуя метафазную пластинку.

На стадии метафазы сокращение хромосом достигает максимума. Если количество негистоновых белков в это время также достигает максимума, как и количество дисульфидных связей, то фосфорилирование гистонов H1 и РНК снижается до нуля. В это время окончательно формируется веретено и кинетохоры.

После завершения подготовки к расхождению хромосом начинается фаза их движения. В анафазе происходит разделение центральных районов хромосом. Вследствие натяжения веретена кинетохоры принимают выпуклую форму.

При развитии телофазы хромосомы распределяются у полюсов и деконденсируются. Считается, что в течение данной фазы процессы развиваются обратно по отношению к профазе. Происходит дефосфорилирование белков, дисульфидные группы восстанавливаются до сульфидных, добавочные негистоновые белки исчезают, возобновляется синтез РНК.

В некоторых случаях показано изменение соотношения цАМФ/цГМФ и возможность импульсного выброса ионов кальция в различные сроки митоза, но данные в этом плане недостаточны.

В целом фазы S , G_2 и M представляют собой автоматические процессы, определяемые предшествующими событиями и менее интересные в сравнении с G_1 -фазой, в которой определяется вступление клетки в цикл и имеются регулирующие клеточный цикл механизмы.

КРИТИЧЕСКИЕ ТОЧКИ В КЛЕТОЧНОМ ЦИКЛЕ

Клеточный цикл является основой для самовоспроизведения клеток, и скорость его протекания регулирует их общую численность. Так как при неограниченном удвоении клеток число их растет по экспоненте, то должны быть регуляторные механизмы, ограничивающие рост клеточной популяции через влияние на клеточный цикл. Различные фазы цикла неравноценны для возможности их использования для регуляции. Так, фаза S определяет удвоение ДНК и остановка в ней означала бы наличие клеток с различным количеством ДНК, что биологически неоправдано. Аналогично M -фаза определяет расхождение дочерних хромосом и равномерность распределения их необходима для жизнедеятельности клеток. Кроме того, в этих фазах не происходит синтеза РНК, а гены, по-видимому, функционально блокированы.

Таким образом, имеется лишь две фазы цикла, которые могут быть использованы для его регуляции — это G_1 - и G_2 -фаза. Действительно, в настоящее время показано наличие регулирующих влияний на обе эти фазы клеточного цикла [53]. Особый интерес имеет фаза G_1 . Регуляция здесь наиболее целесообразна, так как предшествует всем

процессам цикла, что энергетически выгодно. Фаза G_2 при задержке в ней клеток приводит к формированию диплоидных по набору хромосом клеток. Регуляция в этой точке часто сводится к кратковременной задержке клеток в данной фазе в тех случаях, когда требуется возможность быстрого получения новых клеток, например при регенерации кожи. Обнаружены G_2 -кейлоны, останавливающие клеточный цикл клеток кожи в данной фазе.

Первой критической точкой регуляции, таким образом, можно считать (G_0/G_1)-переход. Так как фаза покоя является поздним приобретением в эволюции, неудивительно, что механизмы, включающие такой переход, очень разнообразны и отражают, по существу, формирование клеточного разнообразия в эволюции и способности различных клеток реагировать на самые разные внеклеточные сигналы. Общим является то, что для многоклеточных иницирующим механизмом включения (G_0/G_1)-перехода является физиологическая недостаточность данного типа клеток, при этом избыток одного из внешних факторов становится выше определенного критического уровня и иницирует цикл. При этом пролиферация клеток наблюдается не всегда, для ее включения нужен дополнительный сигнал.

Основной регуляторной точкой в клеточном цикле является (G_1/S)-переход. Вследствие включения во второй половине G_1 -фазы синтеза ДНК через 1—2 ч наблюдается иницирование S -фазы. Для большинства регулирующих воздействий имеется направленность именно на эту стадию клеточного цикла. Включение механизма синтеза ДНК является результатом действия второго сигнала на клетку, который может быть представлен специфическими активирующими факторами или неспецифическими агентами, содержащимися в сыворотке крови.

Вероятно, активирование и ингибирование пролиферации в большинстве случаев связано с синтезом специфических белков, причем при задержке в G_1 -стадии цикла клетка может самопроизвольно переходить в G_0 -стадию, если такая задержка происходит в течение достаточно длительного времени.

Глава II

УРОВНИ РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ

ФОРМИРОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЕЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ — ОТРАЖЕНИЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ

Для многоклеточных известно огромное разнообразие различных воздействий, оказывающих влияние на пролиферативную активность составляющих организм клеток. Это система циклических нуклеотидов, ионов кальция, магния, цинка, изменения мембранного потенциала, система ретина-промина, простагландины, система кейлонов, целый ряд факторов, выделяющихся клетками различного типа белковой и иной природы, большинство гормонов, нейромедиаторы, наконец, группа модуляторов пролиферации — лимфокинов [32, 33, 53]. Значительное разнообразие агентов — стимуляторов пролиферации — заставляет рассматривать их в определенной системе. Наиболее приемлемой системой рассмотрения представляется взгляд на естественное возникновение тех или иных механизмов регуляции пролиферации при филогенетическом усложнении систем организма. В этом смысле можно говорить о различных уровнях регуляции пролиферации клеток, возникших на различных этапах филогенеза живого и наслаивающихся друг на друга по мере усложнения живых организмов. Такой процесс должен происходить по обычной схеме, подтвержденной для формирования самых различных систем организма, и подчиняться иерархическому принципу кибернетики: последующие системы регуляции возникают в продолжение существующим, над ними, осуществляя регуляцию через их посредство и не подменяя систему регуляции низшего уровня, а направляя ее во все более общем виде в соответствии с потребностями более высокого уровня живого.

Наиболее древним фактором, ограничивающим накопление биомассы, должно было быть ограничение питательных ресурсов во внешней среде. Этот фактор работает на всех уровнях организации живого вплоть до биоценозов, хотя механизм регуляции на каждом уровне живого различен. Элементы этого древнего фактора регуляции пролиферации можно видеть и при пролиферации клеток современных многоклеточных. Так, широко используют метод остановки пролиферации для синхронизации клеток в G_1 -фазе путем создания дефицита определенных аминокислот [47]. При этом остановка цикла наблюдается всегда в первой половине его, но не в самом начале, т.е. имеется регуляторная точка в G_1 -фазе цикла, прохождение которой осуществляется при достаточном уровне аминокислот. Высокий уровень аминокислот может служить и непосредственным сигналом для пролиферации [47]. Оба феномена носят характерные черты регуляторных влияний и не могут быть

сведены, например, к голоданию клеток при дефиците питательных веществ. Так, добавление лишь серина, но не других аминокислот запускает пролиферацию клеток. Аналогично только дефицит цистеина выраженно ингибирует пролиферацию лимфоцитов.

Еще одним важным механизмом регуляции пролиферации является контактное торможение клеток. Данный механизм торможения пролиферации отмечен для самых различных типов клеток, как нормальных, так и опухолевых, хотя некоторые опухолевые клетки этого механизма не имеют. Считают, что этот тип регуляции связан не с клеточным контактом, а с клеточным микроокружением, в котором содержатся ингибирующие рост молекулы [241]. Такой процесс мог играть важную роль в ограничении роста колоний первичных многоклеточных и может объяснить формирование пластов клеток, что важно для многоклеточных. Как и в случае дефицита аминокислот, точка торможения локализована в G_1 -фазе цикла и не связана с (G_0/G_1)-переходом. Медиатором контактного торможения называют специальный ядерный белок-ингибитор, количество которого резко возрастает в клетках, подвергшихся контактному торможению [198].

В многоклеточном организме описанные системы регуляции пролиферации могут подвергаться значительным изменениям. Так, при постоянстве внутренней среды организма питание клеток лишь в незначительной мере зависит от возможности поступления аминокислот в клетку. Однако при активации пролиферации резко увеличивается процесс транспорта аминокислот в клетку, что можно рассматривать, как активацию филогенетически древних механизмов стимуляции клетки путем активного приспособления самой клетки к условиям внутренней среды организма [63]. В то же время механизмы контактного торможения у современных высокоорганизованных многоклеточных организмов функционируют наиболее эффективно, что отражает общую направленность процесса — увеличение в филогенезе мощности механизмов, направленных на ограничение пролиферативных потенций ткани.

Образование первых многоклеточных организмов как совокупности клеток, составляющих единое целое в течение длительного времени, поставило перед многоклеточными ряд новых проблем. Клетки должны были научиться координировать свои способности делиться с соседними и отдаленными клетками разного типа, обеспечивать пополнение клеток в процессе естественной убыли, сохраняя определенное соотношение клеток разных типов. На этом этапе могут быть важными механизмы контактного торможения и регуляторные факторы, осуществляющие взаимодействие в пределах между клетками одного типа, а также между клетками различных типов. Видонеспецифичность и универсальность системы кейлонов, регулирующих пролиферативную активность клеток одного типа, указывают на филогенетическую древность этой системы [60, 193, 197, 201, 226].

С появлением различных типов клеток на первый план должны

были выйти механизмы взаимовлияния разнотипных клеток. При этом определенные типы клеток должны были приобретать функции специализации в отношении регуляции пролиферации. В первом приближении представляется, что такие клетки должны были быть подвижными и иметь доступ к регулируемым клеткам, должны были "запоминать" информацию о количестве клеток и быть способными к изменению функции при воздействии вышестоящих уровней регуляции клеточной пролиферации. Такие функции выявляются у современных организмов для макрофагов, лимфоцитов и промежуточного между ними типа клеток — "больших гранулярных моноцитов". На определенном уровне сложности такие клетки вместе с регулируемыми делящимися клетками могли сформировать специализированную систему регуляции пролиферации тканей, существование и принципы функционирования которой в дальнейшем и рассматриваются. С появлением гуморальной и нервной систем регуляции последние берут на себя функцию координации интенсивности пролиферации тканей в целом при экстремальных ситуациях и в течение длительных периодов времени, что хорошо видно на примере реакций стресса и регуляции роста целостного организма и его прекращения. При этом нервная система, являясь наиболее сложной и совершенной системой регуляции, осуществляет свой эффект в отношении регуляции пролиферации через гуморальную систему, прежде всего через гипоталамус и гипофиз. Функция регуляции пролиферации присуща многим гормонам: кортикостероидам, инсулину, пептидным гормонам, гормонам щитовидной и паращитовидной желез [46, 238]. Кроме гормонов широкого профиля действия, существуют специальные, с преимущественным действием на рост. Такими гормонами являются гормон роста, гормон, выделяемый гипофизом и влияющий на пролиферацию фибробластов [168], стимулирующий и ингибирующий гормоны, влияющие на массу тимуса, а также некоторые другие [24, 49, 57, 78, 132, 140, 221].

Таким образом, функция регуляции пролиферации присуща всем уровням организации многоклеточных, но в конечном счете все регуляторные влияния реализуются через клеточный уровень и воздействуют на внутриклеточные регуляторные системы.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ СТИМУЛЯТОРЫ И ИНГИБИТОРЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ

В клетке существует несколько систем регуляции пролиферации. В большинстве это два противоположно действующих фактора, баланс которых, видимо, и определяет, находится ли клетка в состоянии покоя или пролиферации. Считают, что способность клеток переходить в состояние покоя связана с накоплением в самой клетке специального ингибитора клеточного цикла [53]. При этом, например, в процессе созревания клеток миелоидного ряда концентрация ингибитора постепенно возрастает, что увеличивает время клеточной генерации, а затем и полностью выключает программу клеточного деления. Показано, что в быстропролиферирующих клетках содер-

жится меньше ингибитора, чем в медленноделящихся и дифференцирующихся [67], что определяет баланс в пользу стимулятора клеточного деления, который, видимо, синтезируется преимущественно в делящихся клетках. Считают, что ингибитор клеточного деления синтезируется на ранних стадиях G_1 -фазы и действует противоположно белку-активатору. Последний увеличивает фосфорилирование негистоновых белков ядра и растормаживает синтез РНК на ДНК-матрице. Стимулятор синтезируется в покоящихся клетках заново или существует в виде неактивного профактора. Тип конкретных взаимоотношений стимулятора и ингибитора не ясен. Доказано, что по крайней мере в некоторых клетках могут быть несколько различных ингибиторов [53]. В работах по реактивации ядер клеток при их слиянии с пролиферирующими клетками показано, что стимулирующие и ингибирующие факторы не зависят от природы клеток, т.е. являются общими регуляторами пролиферации [53, 192]. Возможна реактивация ядер и в межвидовом варианте, причем показано, что стимулирующее влияние исходит из цитоплазмы и направлено в ядро [126].

Наличие двух точек регуляции: (G_0/G_1)- и (G_1/S)-переход — отражает, как представляется, появление в филогенезе фазы длительного покоя клетки и специальных механизмов регуляции такого состояния. При этом филогенетически новые механизмы регуляции (G_0/G_1)-перехода наслоились на более древние, идентичные для различных типов клеток.

В G_1 -фазе имеется "точка принятия решения", в которой возможно движение в обе стороны в клеточном цикле. Длительное пребывание в G_1 -фазе само по себе, возможно, вследствие накопления постоянно синтезирующегося в этот период покоя ингибитора клеточного деления ведет к выходу клетки из состояния цикла в состояние покоя.

В отличие от постоянного синтеза ингибитора синтез стимулятора, как правило, является стимулируемым процессом, находящимся под выраженным регуляторным контролем. В различных клетках стимулятор образуется из неактивного профактора путем синтеза на готовых матрицах РНК или путем образования новых РНК-матриц. Учитывая, что ингибиторы и стимуляторы пролиферации появились в филогенезе для осуществления различных потребностей клетки, представляется, что система ингибиторов и стимуляторов формировалась отдельно. При этом каждый раз, когда появлялась новая потребность в реактивации клетки, например в ходе регенерации, или потребность в ингибировании, например при контактном торможении, формировался тот или иной тип стимулятора и ингибитора, входя в специфические взаимоотношения с уже сформировавшейся системой регуляции клеточной пролиферации. При этом для самых различных клеток должны были сформироваться во многих чертах различные системы регуляторов, влияющие на (G_0/G_1)-тип перехода.

Белковые факторы регуляции могут существовать в клетке наравне

с другими факторами, также способствующими пролиферации, но относящимися к собственно аппаратам синтеза белка, РНК и ДНК, а именно НМГ-белки, расплетающие ДНК-белки, ферменты синтеза ДНК, протеинкиназы — эффекторные белки действия регуляторов более высокого уровня и т.д. При этом первичные регуляторы функционируют часто как белки — регуляторы транскрипции соответствующих факторов пролиферации, чаще активируя синтез многих факторов сразу.

Широко распространенной и универсальной является система циклических нуклеотидов, представленная главным образом цАМФ и цГМФ. Оба вещества влияют на уровень ионов кальция, на зависимые от циклических нуклеотидов и ионов кальция протеинкиназы, в ряде случаев непосредственно активируя некоторые ферменты метаболизма [108, 181]. Так как циклические нуклеотиды, видимо, филогенетически более поздняя система, чем система кальция, сопряжение обеих систем регуляции в различных клетках произошло по-разному и можно наблюдать как активирование, так и ингибирование пролиферации различных клеток под действием цАМФ. Ионы кальция способны как инициировать цикл, так и поддерживать его течение, осуществляя свои многообразные стимулирующие эффекты на пролиферацию клеток через посредство кальмодулина и зависимых от него протеинкиназ различного спектра.

Менее изученные, а возможно, и менее значимые системы регуляции цикла могут замыкаться через циклические нуклеотиды и ионы кальция или действовать самостоятельно. Так действуют простагландины, гистамин, внутриклеточные амины и некоторые иные вещества. Гистамин важен для (G_1/S)-перехода, при отсутствии же полиаминов клетка останавливается в G_2 -стадии [74, 83].

Особый тип регуляции осуществляется с участием низкомолекулярных стимуляторов и ингибиторов — ретина и промина [214]. Эта система имеет отношение к регуляции энергетики клетки, которая подвергается выраженной перестройке в процессе активации аутосинтетических генов. Ретин является акцептором электронов, ответствен за состояние покоя и придает клеткам свойства сверхпроводимости, как считает открывший эту систему автор. Этот регулятор, по-видимому, является кетоальдегидом. Простейший кетоальдегид — метилглиоксаль — ингибирует пролиферацию самых различных типов клеток [165]. В клетке промин и ретин действуют противоположно. Ретин, скорее всего, представлен мелитарганином или иными кетокислотами, в том числе дегидроаскорбиновой кислотой. Антагонист ретина — промин. Он, по мнению автора, является глиоксалазой, расщепляющей ретин. Возможно, промин является ϵ -метилованным лизином — последнее вещество активно стимулирует пролиферацию многих клеток [53]. В покоящихся клетках синтезируется ретин, тогда как при активации пролиферации появляется промин. Механизм регуляции их синтеза и тип действия не известны.

В целом система внутриклеточных посредников отражает баланс

стимулирующих и ингибирующих влияний на клетку. Последние усложняются по мере филогенетического развития живого, приобретая определяющее значение при объединении клеток в многоклеточную систему — организм.

ВНУТРИТКАНЕВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ (КЕЙЛОНЫ)

Важнейшим фактором для формирования первых многоклеточных организмов должен был быть механизм поддержания на определенном уровне биомассы каждого типа клеток. В любом многоклеточном организме имеется много различных типов клеток, величина популяции которых поддерживается на строго определенном уровне за счет динамического равновесия элиминирующихся и вновь образованных клеток. Такое динамическое равновесие немыслимо без наличия обратной отрицательной связи в системе регуляции пролиферации клеток самообновляющихся органов. В настоящее время не остается сомнений в существовании материальных носителей такой обратной связи, которые выделены и названы кейлонами [53, 68].

Согласно современным воззрениям, кейлоны представляют собой вещества белковой природы, поддерживающие на определенном уровне митотическое равновесие в популяциях с делящимися клетками [68]. На основании теоретических представлений и экспериментальных данных им приписывают следующие свойства. Кейлоны образуются и потребляются в тех же тканях, где производятся, т.е. являются регуляторами в пределах одного клеточного типа: они тканеспецифичны, но не обладают видовой специфичностью. Эти регуляторы водорастворимы, действуют обратимо, не повреждая клетки, путем снижения скорости протекания клеточного цикла в G_1 - и G_2 -фазах; после отмывания этих соединений митотическая активность клеток-мишеней восстанавливается; время жизни кейлонов невелико и определяется скоростью их распада. Полагают, что основным типом действия кейлонов является подавление ими поглощения кальция и повышение уровня цАМФ.

Синтез кейлонов происходит обычно в дифференцированных клетках, а действие направлено на G_1 - или реже G_2 -фазу цикла. Кейлоны не ответственны за процессы изменения роста тканей в ходе онтогенеза и роста организма, не обнаружено изменений в чувствительности к ним при опухолевом росте, старении [138], т.е. они действуют на более низком уровне регуляции — на уровне популяций однотипных клеток.

Все известные свойства кейлонов указывают на древность их происхождения. Формирование этой системы шло, видимо, одновременно с новообразованием тканей, так как эффект кейлонов видонеспецифичен, но тканеспецифичен. В настоящее время описаны кейлоны, функционирующие едва ли не во всех обновляющихся тканях. Считают, что в принципе существуют регуляторы из группы кейлонов, осуществляющие эффект обратной отрицательной связи практически для всех пролиферирующих клеточных популяций. В эпидермисе обнаружены G_1 - и G_2 -тип кейлонов, являющихся гликопро-

теидами с молекулярной массой 20—30 кДа. Они эффективны уже в концентрации 0,1 мкг на животное и синтезируются в клетках базального слоя — G_2 -кейлон или в клетках кератинизированных — G_1 -кейлон. Сальные и потовые железы регулируются собственными G_1 -кейлонеми, как и слюнные железы [54]. Эпителий тонкого и толстого кишечника содержит G_1 - и G_2 -тип кейлонов, эндометрий — G_1 -кейлон [200, 224].

Из хрусталика получен препарат, ингибирующий регенерацию хрусталика в G_2 -фазе цикла. Три типа кейлонов получены из гранулоцитов, большое количество кейлонов выделено из лимфоидных органов и лимфоцитов, действуя на все типы лимфоцитов или на отдельные их популяции. Имеются кейлоны для мегакариобластов, макрофагов, фибробластов, гемопозитических клеток, гепатоцитов, клеток почек, легких, молочных желез и т.д.

Богатство типов кейлонов и тканеспецифический эффект при сходном типе действия подтверждают теоретический взгляд на них как на регуляторные молекулы, действующие по типу обратной отрицательной связи.

Можно считать, что кейлоны синтезируются в G_0 - и G_1 -фазе цикла, а действуют на G_1 - и G_2 -фазу цикла клеток-мишеней. Значительный интерес представляет вопрос о синтезе кейлонов клетками, находящимися на различных стадиях дифференцировки, т.е. между клетками различных клеточных компартментов клеточной популяции одного типа ткани. С этих позиций различают три типа кейлонов. Это S -ингибиторы, продуцируемые стволовыми клетками и действующие на этот тип клеток, например регулятор гемопозитических стволовых клеток; это $D-S$ -ингибиторы, образующиеся в дифференцированных клетках и действующие на пролиферирующие — стволовые клетки, и $D-P$ -ингибиторы, например гранулоцитарный кейлон, продуцируемый дифференцированными клетками и действующий на промежуточные клетки-мишени, являющиеся клетками-предшественниками.

Ингибиторы S -типа регулируют постоянство пула стволовых клеток и составляют свою замкнутую систему. Показано, например, что при большинстве типов поражений, включая апластические и лейкоэмические, пул стволовых клеток остается неизменным, как и при ускорении их дифференцировки в ходе кровопотери и при других процессах. Такой механизм исключает исчерпание пула стволовых клеток при любых состояниях организма, а избыточная их продукция предупреждается коротким сроком жизни этого типа клеток.

$D-S$ -ингибиторы являются наиболее типичными представителями групп кейлонов. Примером может служить лейкоцитарный кейлон или эпидермальный кейлон. Последний синтезируется в клетках кератинизированного ряда, а действие его направлено на базальный слой клеток, что регулирует как постоянство пролиферации клеток эпидермиса, так и его толщину.

$D-P$ -ингибиторы, наиболее четко рассмотренные на примере гранулоцитарного кейлона, по существу, можно рассматривать как вариант $D-S$ -ингибиторов или промежуточного между S - и $D-S$ -типом

ингибирования, когда между пролиферирующей и дифференцирующейся клетками имеется ряд промежуточных стадий, между которыми желателен контроль пролиферативных потенций.

Важной практически является обнаруженная закономерность, согласно которой нормальный синтез кейлонов возможен лишь в нормально функционирующих органах, полностью выполняющих свои функции, как показано на примере почки с нарушенным оттоком мочи [53], что свидетельствует о связи кейлонов с уровнем функционирования тканей.

Кейлонный тип регулирования позволяет поддерживать на оптимальном уровне количество клеток одного типа, восстанавливая популяцию клеток при отклонении от стационарного состояния — при регенерации, внешних повреждениях и стимулах к росту и т.д. В то же время эта система не имеет потенций к собственному росту и не может определять изменение роста организма в онтогенезе. Этим определяется тот факт, что кейлонная система в полной мере включается в функционирование лишь после рождения — клетки эмбрионов и клетки новорожденных в первые недели жизни не чувствительны к кейлонам. Кейлонный механизм работает в культурах многих типов опухолевых клеток, не влияя, таким образом, на канцерогенез, этот механизм не определяет и снижения пролиферативных потенций в старости — ткани старых животных столь же чувствительны к кейлонам, как и ткани молодых [66, 138].

При прямом подсчете числа митозов и оценке регуляторных влияний системы в организме на примере эпидермиса показано, что механизм только кейлонного регулирования один не объясняет картину. Необходимо также учитывать наличие дополнительного стимулирующего влияния неизвестной природы [53].

Действительно, выделен целый ряд стимуляторов тканевого происхождения. Стимуляторы выделены из быстрорастущих тканей, прежде всего из костного мозга. Полученные стимуляторы оказываются более гетерогенными, чем кейлоны, — выделены как стимуляторы со специфическим эффектом, так и не проявляющие специфичности факторы.

Не выяснено, образуются ли стимуляторы в самих быстрорастущих и регенерирующих тканях или поступают сюда извне, как не известна и природа выделяющих эти факторы клеток. Показано, что такие изученные стимуляторы, как фактор роста эпидермиса, фактор роста нервной ткани, фактор роста фибробластов, синтезируются в совершенно иных тканях, чем ткани-мишени. Их синтез обнаруживается в подчелюстной слюнной железе, гипофизе, мозге.

Наличие стимулирующих влияний указывает на то, что имеется сложное взаимодействие различных типов тканей. Это отражает теоретические представления о том, что кейлонная система не достаточна для обеспечения потребностей в регуляции пролиферации многих взаимодействующих, растущих и обновляющихся тканей в организме. Важное значение в регуляции совместно функционирующих тканей должно принадлежать межклеточным регуляторным влияниям.

МЕЖТКАНЕВЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ

Характер межклеточных взаимоотношений, разобранных выше, не может определить все потребности организма, прежде всего при росте и его остановке с последующей старческой инволюцией, при регенерации, опухолевом процессе и т.д. В большинстве случаев необходим учет дополнительных стимулирующих влияний.

Действительно, в организме обнаружены регулирующие влияния, исходящие из однотипных клеток определенного типа и действующие на другой тип клеток. Хорошо изученными являются так называемые факторы роста, регулирующие отдельные типы клеток, имеющих в филогенезе общее происхождение. Описаны и в значительной мере охарактеризованы факторы роста эпидермиса, нервных клеток, яичников, фактор роста фибробластов, миобластов и образующийся в эмбриогенезе мезенхимальный фактор. Типичным является формирование факторов в одних и действие на другие типы тканей, что коренным образом отличает эффект регуляции данного типа от кейлонного.

Если кейлоны можно рассматривать как факторы, формирующиеся в филогенезе из взаимоотношений, направленных на ограничение роста однотипных клеток — факторы обратной связи, то стимулирующие факторы, по-видимому, являются отражением складывающихся в филогенезе взаимоотношений по типу кооперации и симбиоза между разнотипными тканями в единый организм.

Механизмы действия факторов роста в большинстве случаев не ясны. Известно, однако, что по крайней мере некоторые из них осуществляют свой эффект путем стимулирования клеток, находящихся уже в G_1 -фазе цикла. На примере фактора роста из тромбоцитов изучен механизм действия такого фактора: стимулирование особого рода протеинкиназ, фосфорилирующих эндогенный субстрат по тирозиновым остаткам [96]. Характер процесса — аутофосфорилирование с повышением активности, т.е. совмещение функции рецептора с ферментом с последующим переходом фермента в цитозоль, полиспецифичность субстратов, — все это указывает на филогенетическую древность процесса данного стимулирования клеточной пролиферации. Этот тип протеинкиназ обнаружен у всех эукариот и связан, по-видимому, с формированием уровня многоклеточности живого.

В процессе эволюции некоторые факторы роста, видимо, изменили свое первоначальное назначение. Так, фактор роста нервной ткани для неделящихся типов клеток необходим как трофический, стимулирующий метаболизм, и лишь высокие дозы фактора способны оказывать митогенную роль, при этом фактор появляется в цитозоле и в ядре. Не известен механизм действия данного фактора, однако, известно, что ткань мозга богата тирозиновой протеинкиназой, что связывают с его высокой метаболической активностью.

В ряде случаев факторы роста, например, для фибробластов действуют только в присутствии кофакторов — инсулина, сыворотки, глюкокортикоидных гормонов. Важным механизмом их эффекта явля-

ется резкое повышение чувствительности клетки к факторами роста в G_1 -фазе цикла за счет увеличения числа рецепторов к ростовым факторам различной природы.

В процессе регенерации закономерно обнаруживают резкое повышение содержания стимуляторов в ткани и крови при снижении уровня ингибиторов. Причины снижения уровня ингибиторов ясны, так как ингибитор прямо связывают с количеством ткани, но повышение стимуляторов носит активный характер. Во многих случаях стимуляторы синтезируются в других тканях. Так, эритропоэтин синтезируется в почках. Интересно, что синтез эритропоэтина не связан с состоянием эритроидного ростка, а отражает функциональные потребности организма.

Таким образом, на уровне целостного организма механизмы регуляции пролиферации утрачивают свои простые взаимоотношения и становятся в прямую связь с той или иной функцией, при этом функция важна для организма как целостной системы.

Обзор стимуляторов различной природы [53] показывает, что отношения тканей-мишеней и тканей-источников стимуляторов носят скорее случайный характер, не связаны с какими-либо функциональными состояниями — регуляция отражает потребности организма как целого.

Выделен также и ряд ингибиторов, не относящихся к собственно кейлонам и синтезирующихся в иных тканях по сравнению с тканями-мишенями [91]. Некоторые ингибиторы синтезируются центральными органами и действуют неспецифически, составляя, таким образом, общий фон. В крови в норме содержится ряд стимуляторов: α -фетопротейн, концентрация которого обратно пропорциональна возрасту и повышается при опухолях и регенерации печени — источника данного стимулятора [208]; фактор, стимулирующий митозы, антихалон фибробластов и гранулоцитов, соматомедины, конкурирующие за те же места связывания поверхности клеток, что и инсулин; активность, стимулирующая размножение — АСР, выделенная из клеток печени; колонии-стимулирующий фактор и др.

Концентрация стимуляторов в крови обычно значительно выше, чем кейлонов, что указывает на системный характер их действия. Важной особенностью является выраженное изменение рост-стимулирующих веществ в онтогенезе. Так, концентрация α -фетопротейна на 4—5 порядков выше у эмбриона, чем у взрослых лиц. Некоторые стимуляторы непосредственно связаны с центральными регуляторными системами. Например, фактор, роста фибробластов секретруется гипофизом, соматомедины являются результатом действия на ткани гормона роста и т.д. [191].

Анализ источников стимуляторов и ингибиторов пролиферации клетки показывает, что особое место здесь принадлежит лимфоидным клеткам, которые выделяют десятки различных регуляторных факторов. Хорошо изучены факторы, выделяющиеся лимфоцитами и действующие на макрофаги, фибробласты. Особую систему составляют регуляторы иммунных реакций. С другой стороны, по-

казано наличие в сыворотке крови особых факторов, специфических к лимфоцитам. Известен выделяемый печеночными клетками неспецифический ингибирующий фактор, подавляющий пролиферацию лимфоцитов.

Последние данные указывают на особую роль лимфоидных клеток в процессах, связанных с регуляцией пролиферативной активности самых различных типов соматических клеток.

ПОСТОЯНСТВО РАЗМЕРОВ МНОГОКЛЕТОЧНОГО ОРГАНИЗМА КАК РЕЗУЛЬТАТ ИНТЕГРАЦИИ СИСТЕМ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ

Современный многоклеточный организм состоит из 10^{12} — 10^{13} клеток, большая часть которых способна к делению, входя в состав самообновляющихся с различной скоростью тканей. Такое огромное разнообразие может сохраняться лишь динамически. С точки зрения теории длительное равновесие сложных систем может поддерживаться только посредством наложения обратных отрицательных связей на процесс самообновления.

Наличие значительного числа различных типов тканей, не связанных между собой непосредственно и функционально, и необходимость постоянно регулировать интенсивность процессов пролиферации как отдельных частей, так и целостного организма делают такую регуляцию весьма сложной.

Уже применяя наиболее общие кибернетические подходы к анализу регуляции пролиферации клеток в целостном организме, нельзя не видеть, что такая регуляция может быть представлена только как иерархическая система, состоящая из наложенных друг на друга систем регуляции, в основе которых лежит регуляция пролиферации отдельной клетки. Формирование такой иерархической системы можно представить как результат постоянно усложняющегося филогенетического процесса, на каждом этапе которого формировались свои, законченные для данного уровня, системы регуляции, при переходе же на следующий уровень новые системы регуляции надстраивались над имеющимися, осуществляя их изменение и "вписывание" в потребности нового организма. При этом новые регуляторные системы пролиферации не подменяли старые, а в соответствии с представлениями кибернетики осуществляли общее регулирование согласно потребностям нового уровня регуляции.

Взаимоотношения между системами регуляции пролиферации различного уровня представляются следующим образом (табл. 1).

Порядок представления в таблице уровней регуляции пролиферации, очевидно, в значительной мере должен быть аналогичен порядку возникновения их в филогенезе. Наиболее древний тип регуляции путем конкурентного действия стимулятора и ингибитора характерен для (G_1/S)-перехода. Период покоя — G_0 -стадия — появляется при формировании многоклеточных в эволюции, для

Таблица 1. Уровни регуляции пролиферации клеток у многоклеточных

Уровень регуляции	Решаемые функции	Фактор регуляции	Механизм регуляции
Внутриклеточный (G ₁ /S)-переход (G ₀ /G ₁)-переход	Выбор альтернативы: пролиферация, или дифференцировка Включение клеточного цикла, подготовка к (G ₁ /S)-переходу	Циклические нуклеотиды, Ca ²⁺ , протеинкиназы, специфические ДНК-связывающие белки G ₁ -фазы Специфический белок-инициатор цикла и системы его образования, блокаторы транскрипции и трансляции	По типу конкуренции внутриклеточных стимулятора и ингибитора По типу включения при превышении сигнала над фоном
Внутриклеточной	Поддержание постоянства соотношения пролиферирующих и дифференцированных клеток одного типа	Кейлоны	По типу обратной отрицательной связи
Межклеточной	Поддержание постоянства биомассы тканей в организме, их взаимодействие в ходе роста тканей и организма	Межклеточные регуляторы	Кооперация, симбиоз, еще не описанные системы регуляции (система клеточной регуляции пролиферации тканей)
Организменный	Рост целостного организма, регуляция пролиферации всех типов клеток и отдельных типов в экстремальных ситуациях и в различные возрастные периоды	Гормоны, нервные влияния, неспецифические ингибиторы и стимуляторы крови	Тонические влияния при регуляции длительных процессов и импульсные в экстренных случаях

которых характерны различные дифференцированные неделивающиеся клетки. Система регуляции (G₀/G₁)-перехода отличается значительным разнообразием для разных типов клеток, так как выход клеток в состояние пролиферации для разных типов должен быть различным и по-разному регулироваться. Типично включение такого перехода, когда клетка не справляется с выполняемой функцией, что создает возможность для последующего (G₁/S)-перехода и начала собственно пролиферации клеток. Однако для пролиферации необходим еще дополнительный фактор, действующий в точке (G₁/S)-переключения. При этом результат — пролиферация или возвращение в G₀-состояние — определяется интеграцией всех внешних влияний на клетку, так как клетка является конечным и единственным элементом, на который конвергируют все системы регуляции.

Объединение одноклеточных в первичное многоклеточное сообщество требует возникновения наиболее простого популяционного типа регуляции — появления петли обратной отрицательной связи, осуществляемой кейлонами. Между кейлонной системой и организменным уровнем регуляции лежит еще один уровень — регуляция на уровне разнотипных клеточных сообществ. Для этого уровня выделено значительное число разнообразных межклеточных регуляторов [53,170]. Рассмотрение конкретных данных при этом показывает, что многие регуляторные факторы выделяются лимфоцитами. Последние типы клеток оказываются способными влиять на пролиферацию самых разных типов клеток, регуляция выходит здесь далеко за рамки собственно иммунной системы. Если учесть особенности функционирования лимфоцитов: способность распознавать "свое", активно пролиферировать при контакте со "своим" и "чужим", активно пролиферировать и регулировать пролиферацию выделением специфических и неспецифических регуляторных факторов, присущее лимфоцитам свойство "памяти" и очень древнее их происхождение в филогенезе, то данную систему клеток можно было бы рассматривать как специализировавшуюся для осуществления функции регуляции пролиферации самых разных типов клеток. Эта лимфоидная система имеет свою собственную функцию, не тождественную иммунной — как элиминации "чужого" для иммуноцитов, и может рассматриваться в определенной мере отдельно от иммунной системы.

Следует указать, что регуляция пролиферации на межтканевом уровне не может быть подменена регуляцией на иных уровнях, так как каждый уровень регуляции имеет свои собственные задачи и особенности функционирования. Теоретически для данного уровня регуляции функция регуляции должна осуществляться на уровне клеточных популяций и элементарной единицей регуляции должно быть не вещество, а популяция определенных типов клеток.

Рост целостного организма и его прекращение, фоновый уровень пролиферации для всех типов клеток и влияния, осуществляющиеся в ходе приспособления организма к меняющимся условиям существования, реализуются уже на более высоком — организменном уровне регуляции.

Глава III

НЕИММУННЫЕ ФУНКЦИИ ЛИМФОЦИТОВ И КОНЦЕПЦИЯ СИСТЕМЫ КЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССА ПРОЛИФЕРАЦИИ (СИСТЕМА КРП)

УЧАСТИЕ ЛИМФОЦИТОВ В ПРОЦЕССАХ, ТРЕБУЮЩИХ ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК

В течение ряда лет получено значительное количество экспериментальных данных исследователями самых различных дисциплин, не получивших в большинстве случаев широкого освещения в виду неясности их теоретического объяснения. Эти исследования указывают на наличие широкого спектра действия у лимфоцитов и ряда свойств, не относящихся к собственно иммунным.

Особый интерес к связи с наглядностью и важностью данных вызывает феномен регуляции лимфоцитами переноса репаративной регенерации. Было четко показано, что лимфоциты селезенки мышей, полученные от животных с резецированной печенью, способны резко, на порядок, увеличивать частоту митозов при сингенном переносе интактным животным для органа, гомологичного регенерирующему у доноров лимфоцитов [5]. Феномен специфичен для резецированного органа. Аналогично резекция почек или кишечника приводит к накоплению лимфоцитов, увеличивающих число митозов в почках или слизистой желудочно-кишечного тракта [10]. Способность лимфоцитов переносить "регенерационную информацию" увеличивается при повторных резекциях — наблюдается формирование "памяти" процесса [5].

Хорошо изученным процессом является формирование лимфоцитами специфических факторов, влияющих на пролиферацию фибробластов. Обнаружены факторы, как увеличивающие, так и снижающие пролиферацию этих клеток и не влияющие на иные типы клеток.

Другая близкая к фибробластам популяция — остеокласты — также оказалась способной к регуляции со стороны лимфоцитов. Было четко показано, что симптомы остеопетроза могут быть переданы у животных лимфоцитами и коррегированы лимфоцитами здоровых животных. Оказалось также, что остеокласты сами не способны реагировать на специфически действующий на них гормон — паратиреоидный — так как рецепторы к нему у этих клеток отсутствуют. В то же время такие рецепторы были обнаружены на лимфоцитах, но не на иных типах клеток [238].

Лимфоциты способны оказывать подавляющий эффект на пролиферацию многих клеток как опухолевой, так и неопухолевой природы [33, 35] в целостном организме и в культуре.

При исследовании иммунных клеток оказалось, что часто трудно различить киллерный и супрессорный эффекты, а в живом организме

Т-киллеры могут оказывать, видимо, чаще не цитотоксический, а цитостатический эффект. Учитывая сходство Т-киллеров и Т-супрессоров по Ly-фенотипу, а также приведенные данные, некоторые исследователи склонны считать, что оба типа клеток имеют общее происхождение в эволюции. При этом возможно существование периода, когда имеются супрессорные и стимулирующие лимфоциты, но нет клеток-эффекторов иммунной системы. В таком случае клетками-эффекторами для регуляторных популяций лимфоцитов могли бы выступать клетки неиммунного ряда.

При исследовании регуляторных факторов лимфоцитов часто выявляется неспецифичность эффектов супрессии и стимуляции [53, 73]. При хроматографии иногда удается обнаружить несколько компонентов в таких препаратах, что указывает на сложный состав ингибирующих и стимулирующих факторов, являющихся на самом деле сложными смесями, содержащими несколько разных факторов.

Недавно было показано, что лимфоциты сложным образом участвуют в процессе канцерогенеза. Так, было показано, что у безтимусных мышей не удается вызвать опухоли кожи химическими и вирусными канцерогенами [237]. В то же время пересадка тимуса восстанавливает "нормальную" частоту чувствительности животных к опухолям.

Лимфоциты, таким образом, могут сложным образом участвовать в регуляции пролиферации различных типов клеток, как ограничивая, так и способствуя или даже инициируя рост нормальных опухолевых клеток [147, 237].

Важным аспектом является изучение участия лимфоцитов в процессах роста и развития организма, что связано с поддержанием тесной многосторонней связи тимуса и гипофиза. На лимфоцитах обнаружены рецепторы к соматотропному гормону, что указывает на лимфоцит-опосредованность ряда эффектов гормона роста. На последнее указывает и тот факт, что заместительная терапия СТГ (гормоном роста) у карликовых мышей не эффективна при отсутствии или старческой инволюции тимуса, а рост у этих мышей может быть восстановлен не только СТГ, но и переносом лимфоцитов от нормальных животных [98, 189]. В период роста число рецепторов к СТГ на лимфоцитах оказывается повышенным [190]. Тимэктомия новорожденных приводит к четким изменениям в гипофизе, кроме того, всегда наблюдается выраженная задержка роста и полового созревания с дистрофическими изменениями тканей всех типов — синдром истощения [190].

Гипофиз играет двоякую роль во взаимоотношениях с тимусом, определяя его инволюцию в определенный возрастной период. Показано, что гипофизэктомия полностью предотвращает инволюцию тимуса и снижение иммунных реакций в старости, а у крыс увеличивает продолжительность жизни [87].

Реакция "трансплантат против хозяина" и тимэктомия у новорожденных ведут не только к иммунодефициту, но и к развитию иных симптомов — задержке роста, полового созревания, к выраженным атрофическим изменениям кожи, слизистых, внутренних органов,

снижению репаративной регенерации, иных процессов, связанных с клеточной пролиферацией. У взрослых животных тимэктомия и спленэктомия ведут к выраженному постарению тканей, снижая в отдаленные сроки митотический индекс тканей [26].

Анализируя все "неиммунные" функции лимфоцитов, можно видеть, что в основе их лежит единый процесс — способность лимфоцитов влиять на пролиферацию самых различных типов тканей. Этим механизмом могут быть объяснены практически все разобранные феномены. Эта функция аналогична также функции, выполняемой Т-лимфоцитами в ходе иммунной реакции — Т-хелперы и Т-супрессоры способны стимулировать или ингибировать пролиферацию Т- и В-лимфоцитов-эффекторов, определяя тем самым степень пролиферации клона и выраженность иммунной реакции.

КОНЦЕПЦИЯ СУЩЕСТВОВАНИЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ СИСТЕМЫ КЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССА ПРОЛИФЕРАЦИИ ТКАНЕЙ

Из предыдущего раздела ясно, что в процессе регуляции пролиферации клеток в организме важное значение имеют отдельные типы клеток, а именно лимфоциты и в определенной степени макрофаги — филогенетически древнейший тип клеток. Эти клетки в настоящее время считаются основными элементами иммунной системы. Как стало ясно, иммунная система является едва ли не древнейшей системой организма, причем сформировавшейся во всех своих основных чертах на самых ранних ступенях эволюционной лестницы. Так, уже у кольчатых червей мы встречаемся с хорошо развитыми иммунными реакциями клеточного типа — быстрым отторжением трансплантата, специфичностью реакций клеточного типа, специфичностью реакций иммунитета и иммунной памятью, вторичным ответом и возможностью переноса иммунной реакции целомацитами — аналогами лейкоцитов. Функции целомацитов очень сходны с таковыми лимфоидных клеток человека: участие в реакции смешанной культуры лимфоцитов, пролиферация при контакте со специфическим митогеном Т-клеток — фитогемагглютинином, реакция с образованием розеток с эритроцитами барана [83]. Универсальность иммунных реакций и возникновение их на самых ранних этапах филогенеза живого указывают на то, что иммунитет должен быть связан непосредственно с какой-то ключевой функцией, лежащей в основе самой жизни.

В свое время было выдвинуто положение, что основной функцией иммунной системы является контроль за регуляцией генетически определяемого постоянства внутренней среды организма путем элиминирования мутировавших клеток, что получило название теории "иммунного надзора" [72]. Упрочению этого взгляда послужили выдающиеся успехи клеточной иммунологии. Без преувеличения можно сказать, о "дифференцировке, онтогенезе и филогенезе иммунной системы на клеточном, генетическом и молекулярном уровнях нам известно больше, чем о какой-либо иной системе" [83]. Тем более странным представляется положение, сложившееся к

настоящему времени, когда данные, полученные в подтверждение основного положения иммунологии, носят лишь косвенный характер. Более того, нет не только убедительных данных о повышении частоты мутаций с развитием опухолей при неонатальной тимэктомии и при врожденном отсутствии тимуса, чего следует ожидать из представлений об "иммунном надзоре", но при таких ситуациях частота опухолей даже снижена [178, 237]. К тому же у безтимусных мышей не удается индуцировать некоторые типы опухолей канцерогенами и вирусами, которые возникают только при подсадке таким животным тимуса. Эти и ряд других данных позволили многим исследователям прийти к выводу, что "иммунный надзор в той форме, в которой он первоначально постулирован, по всей видимости, не существует" [147].

С другой стороны, универсальность лимфоидной системы и возникновение этих клеток на самых ранних этапах живого указывают на то, что лимфоциты должны быть связаны с какой-то ключевой функцией, общей для всех многоклеточных организмов. На это указывает поразительное сходство клеточного иммунитета позвоночных с иммунитетом организмов, стоящих на самых низших ступенях филогенетической лестницы. Ясно, что такой развитой иммунной системе, какую мы видим у современных организмов, предшествовала более простая, возникшая на самых ранних этапах формирования первых многоклеточных.

Фундаментальной характеристикой, вытекающей из самой сути многоклеточного организма, является постоянство его состава по достижении взрослого состояния — после остановки или резкого замедления роста. В иммунологии до последнего времени господствовал взгляд, базирующийся исключительно на первой части этой формулы — генетическое постоянство уже сформировавшегося организма. Между тем всякий многоклеточный организм имеет период роста, формирования из одной многих типов клеток, во взрослом состоянии происходит постоянная координированная замена клеток в ходе физиологической регенерации, абсолютно необходима пролиферация клеток также в ходе репаративной регенерации. Все эти процессы должны иметь мощные регуляторные механизмы, позволяющие сбалансировать пролиферативные потенции всех тканей.

Из предшествующих данных видно, что лимфоциты способны оказывать универсальное действие, влияя на пролиферацию самых разных типов клеток. Эта функция регуляции пролиферации любых типов клеток и могла быть, по нашим представлениям, первичной функцией, для выполнения которой дифференцировался лимфоцит в определенный отдельный тип клеток. У современных многоклеточных эта функция наиболее четко выявляется при регенерации; процессы роста и развития также требуют участия лимфоидных клеток, как и процессы индуцированной пролиферации клеток при опухолевом росте и гиперплазии органа. При возникновении в эволюции необходимости собственно иммунной системы лимфоциты приобрели, видимо, способность регулировать пролиферацию и иммуноцитов — В- и Т-эффекторов иммунитета.

Наличие специальной системы регуляции популяционного уровня восполняет дефицит в иерархии систем регуляции пролиферации клеток на межтканевом уровне.

Таким образом, как закономерное следствие возникновения многоклеточного уровня организации живого можно ожидать появления и специальной системы регуляции пролиферации разнотипных клеток организма. Филогенез системы КРП должен быть тесно связан с формированием между клетками взаимоотношений, направленных на контроль их пролиферации.

Уже у кишечнополостных, когда признаков собственно иммунной реакции уловить не удастся, можно наблюдать относящиеся, по-видимому, к собственно доиммунной реакции процессы регуляции пролиферации тканей. Так, у этих организмов хорошо развита регенерация, причем медленнопротекающий процесс восстановления массы отдельного, выделенного типа клеток резко ускоряется при добавлении единичных клеток другого типа — характерный для разобранной системы взаимодействия клеток пример взаимосодействия пролиферации различными типами клеток. У этих организмов, иммунитет у которых отсутствует, особым образом протекает процесс отторжения трансплантата — чужеродный трансплантат вначале приживается, но затем не растет и постепенно вытесняется клетками организма-хозяина. При этом нет реакции инфильтрации трансплантата иммунными клетками и нет разрушения трансплантата, как нет и иммунной памяти — ускоренного разрушения трансплантата при повторных пересадках [59, 83]. Такой процесс очень напоминает феномен исключения клеток чужеродного типа из процессов регуляции пролиферации клеток с последующим естественным вытеснением клеток трансплантата клетками хозяина, для которых такая система регуляции пролиферации действует.

Вероятный филогенез функций, приводящий к формированию развернутой системы клеточной регуляции пролиферации тканей, отражен в табл 2, при этом основное внимание уделялось соотношению системы КРП с иммунной, так как до настоящего времени иммунная система рассматривается как единственная формируемая лимфоцитами система.

Филогенетически наиболее древним типом клеток, способным к свободному перемещению во внутренней среде организма, реагирующим на "свое" и "чужое" и способным выделять регулирующие пролиферацию факторы, являются макрофаг и его филогенетический предшественник — археоцит.

На примере взаимодействия макрофагов с Т-клетками в ходе иммунного ответа можно видеть характерные особенности, приписываемые реакциям взаимодействия клеток с целью регуляции пролиферации: выделение регулирующего фактора, действие его на определенный тип клеток, с которыми клетка-регулятор имеет контакт, действие на клетки, готовые к восприятию активирующего сигнала и находящиеся в G_1 -фазе цикла, усиление выработки сигнала при взаимодействии клетки-регулятора и клетки-мишени, ограни-

Таблица 2. Филогенез функции в системе клеточной регуляции пролиферации

Уровень филогенеза	Клетки-регуляторы пролиферации	Функции, выполняемые на данном уровне
Одноклеточные	Аналог — макрофаг многоклеточных	Наличие значительного числа различных рецепторов к экзогенным веществам — потенциальной пище, выделение метаболитов, к которым формируются рецепторы на клетках, превращение метаболитов в (+) и (—) регуляторы пролиферации
Однослойные многоклеточные	Взаимовлияния различных клеток, архециты	Агрегация на примере <i>Dictyostelium discoideum</i> — распознавание "своего"
Многослойные многоклеточные: гидра, губки, плоские черви	Взаимовлияние клеточных популяций, КРП-система	Генный аппарат гистосовместимости с аллелями, аллельное исключение, архециты, система КРП; регуляция морфогенеза, роста, регенерации
Целомические: кольчатые черви	T-система лимфоцитов	Реакция отторжения гетеротрансплантата, иммунная память, реакция E-розеткообразования целомоцитами, ФГА-стимуляция, распознавание "чужого"
Позвоночные	B-система, T-хелперы, супрессоры иммунитета, иммунная "сеть"	Регуляция гуморальных иммунных реакций, образование идиотипической сети иммунной регуляции

чение процесса взаимодействия главным комплексом гистосовместимости. Именно таким образом должны действовать и гипотетические клетки-регуляторы пролиферации: мигрирующая КРП, встречая клетку-мишень, к которой имеется сродство как к "своему", активируется последней в результате контакта или выделения специфического фактора или неспецифического метаболита — последним может быть метаболит, специфичность которого определяется синтезом его в определенную фазу цикла, например циклический нуклеотид, — после чего клетка-регулятор активируется, сама пролиферирует и выделяет активирующий фактор. Обычно рецептор к активирующему фактору появляется на клетке-мишени только в G_1 -фазу цикла. В результате действия активирующего фактора клетка-мишень вступает в процесс пролиферации. Аналогичным

образом могут активироваться ингибирующие клетки, выделяющие факторы-супрессоры; известно, например, что макрофаг уже выделяет ряд ингибирующих пролиферацию факторов, еще большее количество регуляторных молекул выделяет лимфоцит.

Для полноценного функционирования в качестве КРП макрофагу не хватает некоторых свойств — специфичности, способности пролиферировать в ответ на воздействие других клеток. Для них характерны ограниченность регуляторных потенциалов по сравнению с лимфоцитами, примитивность выделяемого ингибиторного фактора. Видимо, макрофаги не смогли приобрести таких свойств, так как были слишком хорошо запрограммированы для выполнения функции неспецифической защиты, сохранившей свою ценность и у современных многоклеточных. В то же время в начальные сроки формирования системы КРП макрофаги могли быть способны к осуществлению в ограниченных пределах функции регуляции пролиферации клеток. В особых условиях, например при культивировании совместно с некоторыми опухолевыми клетками, макрофаги оказываются способными также к пролиферации. Однако уже на самых ранних стадиях формирования многоклеточных организмов для осуществления функции регуляции пролиферации составляющих их клеток в полном объеме должны были выделиться специализированные клетки, обладающие специфичностью и свойством пролиферировать с образованием клеток "памяти", формируя с клетками-мишенями регуляторную сеть. Такие свойства типичны для лимфоцитов, появившихся на самых ранних этапах филогенеза.

Макрофаги не утратили полностью начавшей формироваться способности к регуляции пролиферации, так как эта способность оказалась весьма важной для включения макрофагов в иммунную систему, обеспечивающую защиту многоклеточного организма от "чужого". Видимо, поэтому регуляторные свойства макрофага выявляются у современных организмов в полной мере при взаимодействии его клеток с клетками иммунной системы — лимфоцитами. Однако в некоторых условиях и у современных организмов могут выявляться процессы влияния макрофагов на пролиферацию тех или иных типов клеток. Так, показано, что влияние на систему макрофагов позволяет стимулировать или ингибировать пролиферацию гепатоцитов в ходе регенерации печени [29]. Известно, что выделяемый макрофагами регулятор пролиферации — интерлейкин-1 (ИЛ-1) является неспецифическим агентом, влияющим на пролиферацию фибробластов, а также некоторых иных клеток [135].

Свойства ИЛ-1 подробно описаны. Показано, что это белок с молекулярной массой 11 кДа и изоэлектрической точкой около 7,0, чувствительный к трипсину и химотрипсину, додецилсульфату натрия, но не чувствительный к 2-меркаптоэтанола, нейраминидазе, периодату натрия, йодацетамиду. Он существует в виде нескольких форм в организме, рецепторы к которым и эффект которых идентичны. Фактор устойчив к нагреванию при 56° в течение 60 мин и к рН в пределах 3—10. Вводимый в организм ИЛ-1 способен вызывать лихорадку и увеличивать уровень гранулоцитов крови; в культуре

клеток он стимулирует рост лимфоцитов, фибробластов — имеет черты неспецифического фактора роста

Сейчас показано, что ИЛ-1 вырабатывают ряд клеток, например астроциты мозга, что указывает на возможную широкую биологическую роль этого медиатора. Подобный ИЛ-1 фактор вырабатывается кератиноцитами кожи. Известна важная роль ИЛ-1 в индукции сингенной смешанной культуры лимфоцитов, причем в данном типе реакции, отражающей пролиферацию лимфоцитов в ответ на контакт со "своим", ИЛ-1 необходим для реакции Т-хелперов в начале процесса.

При активации пролиферации лимфоцитов в ходе индукции регенерации показано, что сингенная смешанная культура лимфоцитов в этом случае запускается клетками Купфера — аналогами макрофагов.

Для проявления своих активирующих свойств в сингенной смешанной культуре, где реакция идет на Ia-антигены — главного комплекса гистосовместимости, экспрессированные на собственных клетках организма, макрофаг должен нести на мембране значительные количества молекул гистосовместимости и выделять достаточные количества ИЛ-1, что характерно, как считают, для "молодых" макрофагов. В ряде случаев регуляция, осуществляемая макрофагом, направляется клетками лимфоидного ряда. Так, супрессорный фактор антиген-специфических Т-супрессоров может осуществлять свой эффект через посредство макрофагов, придавая им специфичность эффекта.

Макрофаг, однако, осуществляет главным образом неспецифические функции защиты и не обладает специфичностью действия, которая характерна для клеток лимфоидной системы. Последние очень рано появились в филогенезе. Так, уже у целомических многоклеточных имеются подвижные клетки, относящиеся к двум группам — элеоцитам, выполняющим трофическую функцию, и лейкоцитам, среди которых выделяются зернистые и не имеющие гранул формы [83]. Среди лейкоцитов имеются клетки как макрофагального ряда, так и нефагоцитирующие — лимфоциты. Последние способны осуществлять многие функции Т-клеток: реагировать с эритроцитами барана, формируя Е-розетки, активироваться Т-митогенами к пролиферации, реагировать на "чужие" клетки в реакции отторжения трансплантата и в реакции смешанной культуры клеток, проявлять свойства клеток памяти [82, 83].

К сожалению, практически не изучены функции лимфоцитов в филогенезе с точки зрения регуляции клеточной пролиферации, так как такая концепция не выдвигалась специально для рассмотрения до настоящего времени. Поэтому о возникновении КРП можно судить косвенно — основываясь на хорошо изученных процессах возникновения в эволюции иммунной системы.

Раннее появление Т-системы иммунитета в филогенезе, проявляющей свое действие уже у целомических, обычно рассматривают как указание на важность иммунных механизмов защиты на самых ранних этапах эволюции; эти данные, однако, можно интерпретировать и как указание на еще более раннее появление в филогенезе

системы КРП, также предоставленной Т-клетками. Лимфоциты Т-ряда имеют все необходимые свойства для функционирования в качестве КРП: они распознают "свое", могут реагировать на покоящиеся и пролиферирующие клетки, регулируют пролиферацию клеток-мишеней в сторону как усиления, так и ингибирования, отвечают на пролиферацию клеток-мишеней усилением собственной пролиферации, образуя, таким образом, систему с динамическим равновесием регуляторных и регулируемых клеток. По-видимому, Т-лимфоциты очень рано "перехватили" у макрофагов эстафету функций регуляторных клеток и во взаимодействии с макрофагами сформировали систему иммунной защиты с участием как регуляторных, так и эффекторных клеток. Факт эволюции иммунной системы из КРП, будучи доказан, объяснил бы тесную связь функций Т-лимфоцитов с главным комплексом гистосовместимости — распознаванием "своего", что до сих пор теоретически мало понятно в иммунологии.

Тесная связь системы иммунитета с системой КРП может быть обнаружена при анализе механизма осуществления регулирующего влияния Т-хелперов и Т-супрессоров на пролиферацию иммунокомпетентных клеток в ходе иммунного ответа. Так, показано, что регуляция гиперчувствительности замедленного типа, осуществляемая Т-лимфоцитами, включает участие нескольких типов Т-лимфоцитов супрессорного ряда — антиген-специфических, выделяющих "вооружающий" фактор, и антиген-неспецифических, воспринимающих этот фактор с приобретением специфичности [37]. Последний тип клеток — антиген-неспецифические Т-супрессоры — активируются в ходе иммунной реакции отдельно от специфических и выделяют неспецифический по природе фактор, действующий как на лимфоидные, так и на иные типы клеток. Аналогичный факторный "каскад" Т-супрессоров обнаружен и при клонировании отдельных Т-клеток с целью выделения субпопуляций супрессоров [90].

Первичные лимфоциты — клетки-регуляторы пролиферации — выполняли, скорее всего, весьма ограниченные и примитивные функции регуляции. Достаточным могло быть осуществление совместной, координированной регуляции пролиферации клеток разного типа, что может осуществляться любыми типами клеток, способными благоприятно влиять на пролиферацию иных типов клеток и мигрировать в организме. Лимфоциты типа антиген-неспецифических уже способны к динамическому равновесию с клетками-мишенями по типу регуляторной "сети".

Увеличение числа клеток в организме многоклеточного в процессе эволюции с приобретением специализированных функций увеличивает и число вовлекаемых в КРП. Соответственно по мере формирования тех или иных систем организма можно обнаружить и участие системы КРП в осуществлении регуляции пролиферации, а в определенных случаях и функции этих клеток. Принципиально важным здесь можно было бы считать то, что во всех случаях мог функционировать единый по механизму процесс — взаимодействие клеток-регуляторов пролиферации с вновь появившимися в фило-

генезе типами клеток по уже сформировавшейся схеме влияний, при этом тип регулируемых клеток не имеет значения. Это должно создавать чрезвычайно пластичную систему КРП и ее автоматическое включение в любую систему, выполняющую любые функции, если требуются регулирование пролиферации ее клеток. Таким путем, по-видимому, система КРП могла включаться в регуляцию естественной функции физиологического самообновления тканей, репаративную регенерацию, функционирование соединительной и костной тканей, а также в другие процессы, связанные с клеточной пролиферацией. Во многих случаях, вероятно, должно быть выгодным осуществление регуляции пролиферации разных типов клеток на уровне организма через систему КРП, как это имеет место при действии паратиреоидного гормона на остеокласты. Система КРП должна вовлекаться и в процесс регуляции роста; через лимфоидные клетки, как отмечалось, осуществляет свое действие гормон роста [98]. Истощение функций КРП может лежать в основе снижения иммунных процессов при старении, а также определять снижение пролиферативных процессов в соматических тканях, что в действительности является существенным моментом старения.

Таким образом, можно ожидать, что спектр функций системы КРП должен был формироваться соответственно расширению функций в эволюции организмов, однако схема функционирования системы КРП должна быть достаточно консервативной. Эволюция в системе самой КРП по общим правилам должна была также происходить в направлении специализации отдельных КРП. Специфичность их эффектов четко видна у млекопитающих на примере регенерации печени [3].

Детальные механизмы формирования и эволюции подобных сложных систем обычно более наглядны при математическом моделировании систем.

КИБЕРНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ФОРМИРОВАНИЯ,
ЭВОЛЮЦИИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ
МЕЖКЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ
ПРОЛИФЕРАЦИИ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ

САМООРГАНИЗАЦИЯ ПРОЛИФЕРИРУЮЩИХ КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМ
И ФОРМИРОВАНИЕ ЭЛЕМЕНТАРНОЙ САМОВОСПРОИЗВОДЯЩЕЙСЯ
КЛЕТОЧНОЙ ЯЧЕЙКИ

Многоклеточные организмы представляют собой сложные системы, в которых поддерживается постоянство числа клеток каждого типа и сохраняется конечный размер всей системы, хотя отдельные ее клетки и находятся в постоянном делении, причем зачастую с различной интенсивностью. Исходя из общих представлений кибернетики ясно, что сохранение единства такой динамической системы возможно лишь при наличии многоуровневой системы регуляции пролиферации клеток.

В соответствии с современными взглядами на проблему построения математических моделей сложных систем в основе рассмотрения должны быть положены наиболее общие их свойства, что позволяет в наиболее общем виде рассматривать биологические процессы и распространять полученные данные в ходе анализа математической модели на многие конкретные биологические формы.

Для моделирования развивающихся систем, в том числе биологических, в настоящее время имеются два главных кибернетических подхода. Это теория самовоспроизводящихся автоматов или однородных систем, разработанная для анализа процессов самовоспроизведения фон Нейманом, и Тьюрингом и теория параллельных развивающихся грамматик, введенная Линденмейером (L-системы) для моделирования процессов морфогенеза [37, 222]. Использование математического аппарата однородных систем наиболее полно отвечает специфике клеточного деления и нашему уровню знаний об этом процессе: клетка рассматривается как "черный ящик", или "клеточный автомат", т.е. формальный элемент с известным входом и выходом и некоторыми заданными состояниями, без уточнения конкретной природы и механизмов процессов. Дискретно-детерминированная модель L-системы клеточного деления, которая реализуется в теории "клеточных автоматов", позволяет варьировать в зависимости от характера изучаемых систем и их конкретного содержания понятие "автомат" — основного формального элемента системы.

В наиболее общем виде конечный автомат, имеющий конечное число внутренних состояний и входных сигналов, характеризуется математической схемой и в общем виде включает конечное множество z внутренних состояний с начальным состоянием z_0 , функцией перехода $\varphi(z, x)$ и функцией выходов $\varphi(z, y)$ [37]. В общем виде такой

автомат, задаваемый F -схемой, может быть представлен формулой вида $F = \langle z, x, y, \varphi, \psi, z_0 \rangle$.

Для рассмотрения процесса клеточного деления вначале достаточно ограничиться двумя состояниями клетки: покоя — G и собственно пролиферации — S — с учетом векторного характера перехода из одного состояния в другое и двумя типами внешних влияний — стимулирующими (+) и ингибирующими (–). Так как после деления из одной клетки получаются две, идентичные начальной, можно считать, что процесс носит аутокаталитический характер. Последнее свойство — формирование замкнутых каталитических циклов, — как и предполагаемая для простоты рассмотрения неограниченность внешних пищевых ресурсов, является важным обстоятельством, позволяющим применять для рассмотрения процесса идеи теории самоорганизации, разработанные в последние годы нобелевским лауреатом И. Пригожиным и другими исследователями как для химических, так и для биологических объектов [35, 95]. Наиболее общими представлениями, полезными для нашего рассмотрения, являются: принципиальное отсутствие заранее поставленной цели — “самоорганизация” процесса, самовоспроизведение составляющих систему элементов — клеток, а также клеточных популяций и некоторые иные, рассмотренные ниже.

Принцип синергетики — самоорганизация, что отличает ее от кибернетики и сближает с естественными процессами, для которых заранее поставленной цели не существует — последняя возникает самопроизвольно в ходе становления системы в эволюции. Движущими силами становления системы являются в этом случае не необходимость достижения заранее поставленной цели, а внутренние свойства самой развивающейся системы. При этом в принципе реализуются все возможные варианты взаимодействия, но через некоторое время остаются лишь те взаимодействия, которые формируют устойчивые системы. Внутренняя структура таких систем обеспечивает длительное сохранение системы во времени — процессы самоорганизации ведут к структурообразованию и самовоспроизведению системы.

Из современной теории самоорганизации для биологических систем наибольший интерес представляет теория “гиперцикла” нобелевского лауреата Эйгена и Шустера [95], рассматривающая процесс самоорганизации наиболее приближенно к биологическим системам. Конкретные положения этой теории, будут рассмотрены на конкретном материале, здесь же следует привести определение “гиперцикла” как “принципа естественной самоорганизации, обуславливающего интеграцию и согласованную эволюцию систем функциональных самореплицирующихся единиц” [95]. Сами авторы, используя эту теорию для анализа биохимического уровня живого, указывают на принципиальную возможность использования своих взглядов и для анализа более высокого уровня самоорганизации — клеточного. Другие авторы также считают, что клетка может рассматриваться как мультипликативный гиперцикл Эйгена, окруженный мембраной.

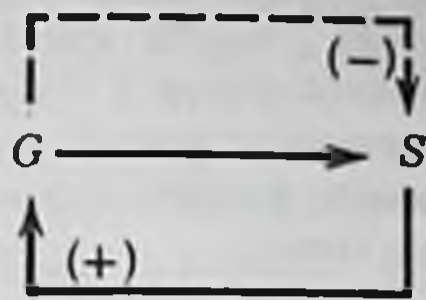
Используя общеметодологический подход — исторический принцип рассмотрения, будем рассматривать становление регулирующих взаимоотношений между клетками многоклеточного организма как результат последовательного усложнения систем регуляции клеточной пролиферации при возникновении из клеточной колонии единственного многоклеточного организма, его строения и функций. При этом система регуляции пролиферации клеток такого организма должна возникнуть самопроизвольно из взаимоотношений, складывающихся между клетками, которые эффективно сводятся в этом аспекте к двум типам влияний — стимулирующему и ингибирующему. Под саморегуляцией системы будем понимать сложную структуру взаимодействующих пролиферирующих клеток, способную поддерживать свое постоянство конечных размеров и постоянство соотношения клеток различных типов на протяжении достаточно длительного времени — сотен клеточных циклов.

Функционирование абстрактного клеточного автомата обычно рассматривают в дискретном времени — $t = 1, 2, \dots, n$. В нашем случае это тем более удобно, что соответствующий реальный процесс клеточного деления также дискретен. При отсутствии внешних влияний изменение числа клеток во времени будет пропорционально самому числу клеток: $dG/dt = G$, $G = G_0 \cdot 2^n$, где n — число клеточных делений. Выражая n в единицах времени, равных длительности клеточного цикла T_0 , получим $G = G_0 \cdot 2^{\frac{t}{T_0}}$. Для одного клеточного цикла — времени от $t-1$ до t получим

$$G_t = G_{t-1} \cdot 2^{\frac{1}{T_0}}. \quad (1)$$

Ясно, что графически рост системы с обратной положительной связью характеризуется экспонентой (рис. 1). Такой рост, однако, в реальных биологических системах возможен лишь на самых ранних этапах эмбриогенеза и у некоторых простейших многоклеточных в начальные периоды развития. Понятно, что такой рост не удовлетворяет потребностям биологических систем. У всех современных многоклеточных имеет место система обратной отрицательной связи, причем наличие систем такой регуляции для биологических систем придают принципиальное значение, рассматривая это свойство как фундаментальное для жизни вообще. Причиной, требующей ограничения пролиферации, для биологических систем является в наиболее общем виде формирование самого многоклеточного организма. Появление при этом клеточных контактов, взаимовлияний клеток, формообразующих процессов, выполнение специализированных функций и прочие процессы, собственно и составляющие суть жизни многоклеточного организма, требуют координированности, что означает прежде всего ограничение клеточного деления, так как экспоненциальный рост без ограничений очень быстро исчерпает все ресурсы внешней среды, подрывая самое основание жизни. При наличии обратной отрицательной связи интенсивность пролиферации клеток

будет обратно пропорциональна достигнутому числу клеток, что отражает схема.



Материальными носителями обратной отрицательной связи являются для пролиферирующих клеточных популяций кейлоны, вначале постулированные теоретически, а в настоящее время идентифицированные как белковые молекулы [67, 68]. Действие кейлонов направлено на увеличение длительности клеточного цикла и пропорционально числу G -клеток, т.е. предполагая близкий к линейному характер зависимости, можно считать, что $T = kG$, где k — некоторая константа процесса. Учитывая эту формулу и то, что каждая клетка как любая сложная система в любой момент имеет некоторую конечную величину вероятности гибели a , при отсутствии старения популяции клеток, являющуюся константой, можно преобразовать выражение (1) в

$$G_t = G_{t-1} \cdot 2^{\frac{1}{kG}} - aG_t. \quad (2)$$

Эта формула в дальнейшем (с оговариваемыми модификациями) и была использована для математического моделирования процесса пролиферации клеточных популяций на ЭВМ "Apple IIIe" с программированием на языке Бейсик.

Рост ограниченной кейлонами системы в описываемой модели оказывается ограниченным с постоянно замедляющимся характером роста и выходом на плато, с наличием максимума, когда число гибнущих клеток пополняется за счет пролиферации клеток (см. рис. 1). Так как процесс входа клеток в S -состояние, длительность которого мало изменяется при изменении фазы G_1 цикла, носит вероятностный характер, что экспериментально подтверждено, то описываемый процесс может быть интерпретирован не только как увеличение времени G_1 для всей популяции клеток, но и как снижение числа клеток, находящихся в состоянии деления в данный момент, что не меняет сути рассмотрения.

Исследование в эксперименте кейлонов показало, что они являются видонеспецифическими, тканеспецифическими молекулами. Последнее достаточно ясно теоретически: действительно, включение в регулируемую кейлонами систему клеток иного типа уже при минимальных различиях в скорости пролиферации каждой популяции не обеспечивает специфичности регуляции для клеток каждого типа и произойдет вытеснение одних клеточных типов другими. Для объединения пролиферирующих клеток различного типа необходимо как сохранение системы регуляции каждой отдельной популяции клеток — кейлонной системы, так и возникновение нового уровня регуляции, решающего новые задачи — регуляцию между популяциями разнотипных клеток.

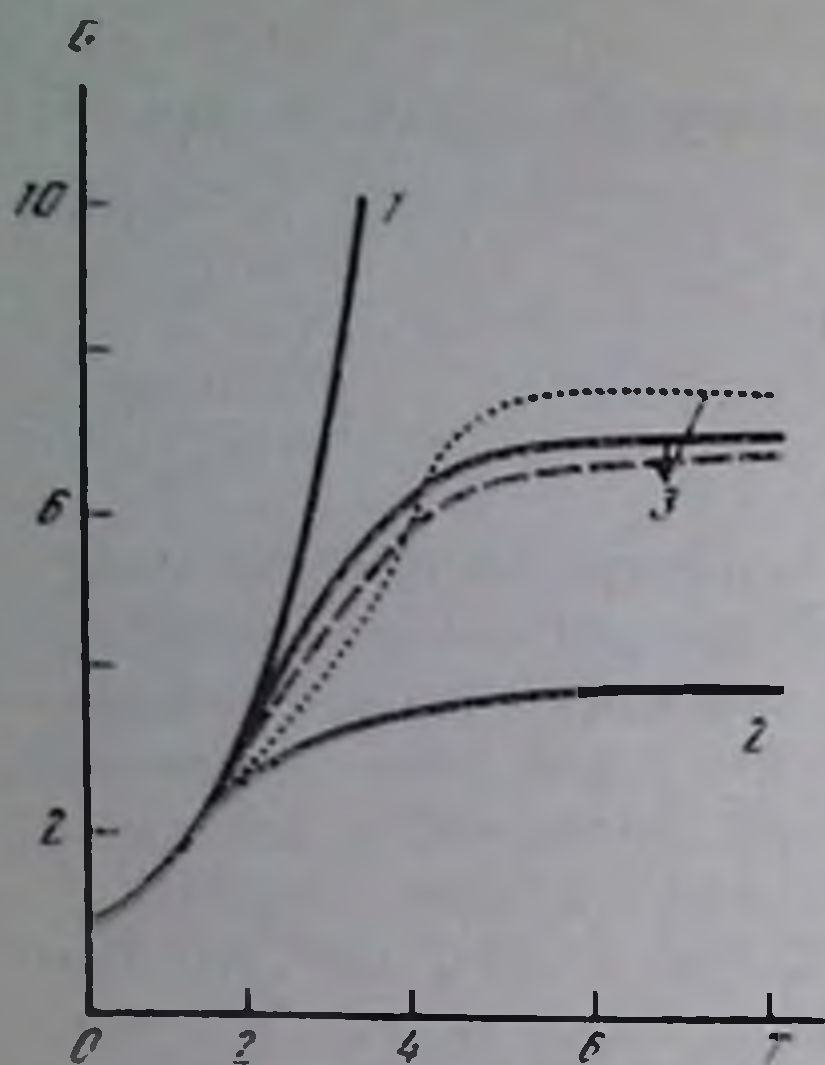


Рис. 1. Типы роста взаимодействующих клеточных систем

По оси абсцисс — время в виде числа клеточных циклов; по оси ординат — число клеток. 1 — при отсутствии ограничения роста; 2 — при наличии кейлонного ограничения роста; 3 — рост трех взаимодействующих систем стимулирующего и ингибирующего типов

Популяции клеток, ограниченные обратной отрицательной связью, можно рассматривать как элементарные саморегулирующиеся единицы, между которыми могут возникать самопроизвольно взаимодействия, чей анализ можно провести с позиций теории "гиперцикла". По определению, теория гиперцикла как раз и рассматривает взаимодействие,

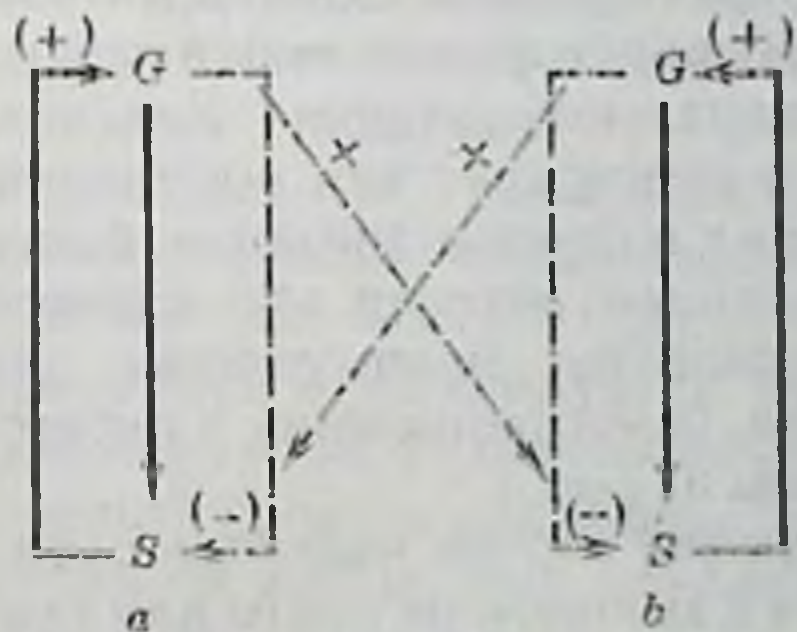
саоорганизацию и саморазвитие более простых циклов, составляющих в ходе взаимодействия цикл более высокого уровня — "гиперцикл" [95]. Математический анализ, проводимый авторами теории, показывает, что наличие случайных взаимодействий между несколькими самореплицирующимися единицами должно вести закономерно, самопроизвольно и с неизбежностью к формированию надструктур в том случае, когда появляются "гиперциклы" — циклы второго порядка, регулирующие взаимодействие между "самореплицирующимися единицами", их составляющими, — в нашем случае между клеточными популяциями, самовоспроизводящимися и ограниченными в элементарный цикл за счет кейлонных взаимодействий. При таких процессах формируется надпопуляционное сообщество, ведущее себя как единое целое, т. е. в нашем случае должно происходить закономерно и с неизбежностью возникновение единого многоклеточного организма. Рассмотрим возможные типы влияний, возникающие при этом.

В целом между двумя взаимодействующими популяциями клеток могут возникать влияния, эффективно сводящиеся к ситуациям одно- и двухнаправленного стимулирования и ингибирования. Для нашего рассмотрения важны ситуации, когда имеет место самосогласование роста взаимодействующих популяций, так как согласованный рост различных клеточных типов в целостном организме является центральным моментом поддержания его единства. Для математического численного моделирования здесь и далее рассмотрим положительные (+) и отрицательные (—) влияния как влияния, приводящие к снижению длительности клеточного цикла T_0 или увеличению его, что согласуется с известным механизмом действия нецитотоксических ингибиторов и стимуляторов клеточной пролиферации и позволяет моделировать регулирующие влияния без рассмотрения конкретного механизма процесса. Тогда все внешние влияния здесь и далее будут отражаться на длительности T_0 в виде членов суммы,

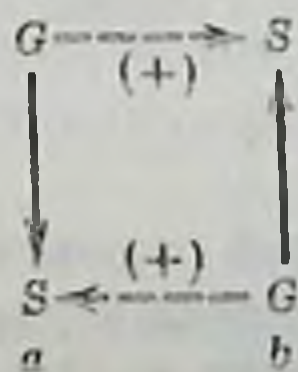
составляющей эту величину. Так как при взаимодействии число клеток различного типа, влияющих друг на друга, изменяется, то по закону действия масс это влияние с учетом коэффициента взаимодействия B будет пропорционально произведению числа клеток каждого типа.

При численном моделировании взаимодействий интерес представляет случай взаимостимулирования (см. рис. 1) с достижением нового стационарного состояния клеток каждого типа на более высоком уровне. Эволюционно благоприятным приобретением здесь можно считать увеличение числа клеток каждого типа при внешних повреждениях до стационарного состояния с более высокой скоростью за счет взаимостимуляции, посредством чего достигается и общее увеличение числа клеток системы; кроме того, система реагирует на внешние влияния как единое целое.

Для численного моделирования T_0 в формуле (2) можно выражать в этом случае в следующем виде: $T_a = K_a G_a - B G_a G_b$, аналогичным образом и для клеток типа b . Взаимостимулирующие влияния показаны на схеме.

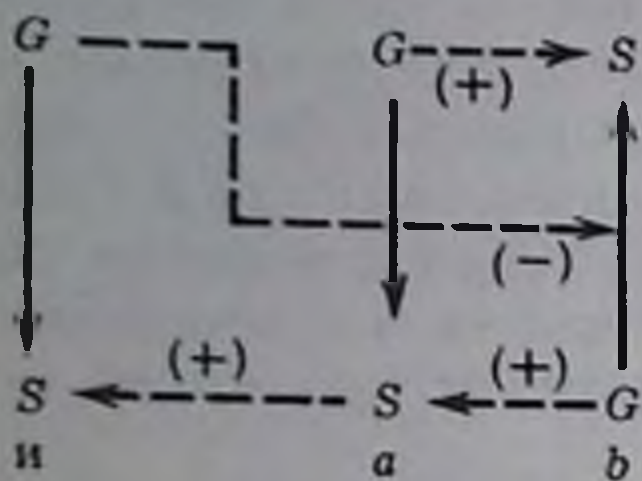


или упрощенно



В такой системе, однако, создается дефицит отрицательных условий — обратных связей, которые могут быть представлены на новом уровне организации лишь специальной ингибирующей популяцией клеток, отвечающей на стимуляцию повышением ингибирующих влияний. Для того чтобы эта популяция не конкурировала со стимулирующей, а только снижала эффект стимулирующей и ингибирующей систем без возникновения качественно новых и количественно благоприятных взаимовлияний, ингибирующая популяция должна реагировать на отдельное, иное, чем в случае стимулирующих влияний, состояние клетки — в нашем случае это S -состояние. Вероятно, это

поздние стадии G_1 -состояния, как следует из экспериментального материала. При этом варианте (—) популяция активируется лишь делящимися клетками и является, таким образом, регулятором пролиферации, а не числа клеток, занимая в целостной системе из трех различных типов клеток отдельную экологическую нишу. Вся система отражена на схеме.



Такая система, состоящая из двух стимулирующих и одной ингибирующей популяций, может рассматриваться как элементарное надпопуляционное сообщество, которое можно назвать "клеточным гиперциклом", и обладает следующими характерными свойствами. Вся надсистема самовосстанавливается при повреждениях любой из подсистем, она не требует никаких специальных условий для возникновения, кроме самого случайного взаимодействия популяций, т.е. обладает свойством самостановления и самоорганизации; более высокий потенциал роста и согласованная реакция как единого целого на внешние воздействия определяет преимущества для системы "клеточного цикла" в эволюции. Самостановление и регенерация "клеточного гиперцикла" показаны на рис. 1.

Графиком роста трех взаимодействующих систем являются сложные взаимосогласованные кривые роста с выходом на плато для каждого типа клеток такой системы. С учетом (—) популяции можно записать систему уравнений для математического моделирования "клеточного гиперцикла": $T_a = K_a G_a - B_a G_a G_b + B_{и} G_a G_{и}$, аналогично для T_b и для $T_{и}$, учитывая, что в последнем случае участвуют клетки в S-состоянии.

Дальнейшая эволюция "клеточного гиперцикла" должна осуществляться по общим правилам для "гиперциклов" [95]: в сторону увеличения числа клеточных типов и специализации каждого клеточного типа (увеличение количества клеточных систем). Это отражает характерные черты биологической эволюции: развитие в филогенезе идет путем усложнения организмов и дифференцировки их частей.

НАПРАВЛЕНИЯ ДАЛЬНЕЙШЕЙ ЭВОЛЮЦИИ ЭЛЕМЕНТАРНОГО "КЛЕТОЧНОГО ГИПЕРЦИКЛА"

Количественные и качественные изменения клеточных популяций в составе "гиперцикла" дают характерные для "гиперциклов" направления эволюции: увеличение численности взаимодействующих типов клеток и изменение их функции — специализацию. Часть клеток при этом, минимум один тип стимулирующих и один тип инги-

бирующих, получают возможность специализироваться в сторону собственно регуляторных клеток, тогда как остальные типы клеток можно рассматривать как регулируемые, при этом пропорциональность пролиферации клеток каждого типа одной и той же величине — числу регуляторных клеток поддерживает целостность всей системы и взаимодействие частей системы — клеток органов и тканей.

Дифференцировка клеток, как показывают эксперименты, в принципе находится в антагонистических отношениях с их пролиферацией, так как имеет место конкуренция за расход энергии и пластических веществ клетки для того или иного процесса. Для функциональных типов клеток такое противоречие снимается в эволюции появлением дополнительной системы регуляции деления с наличием G_0 состояния клеток, когда клетка выходит в состояние покоя и не доступна в обычных условиях для регуляторов пролиферации. Переход G_0/G_1 оказался тесно связанным с функцией клеток и регулируется, как теперь ясно, совершенно отдельно от (G_1/S)-перехода. Для нашего рассмотрения конкретный механизм такого процесса не важен, так как в разобранной системе регуляции по типу "клеточного гиперцикла" участвуют лишь клетки в G_1 -состоянии. Ушедшие в G_0 -состояние клетки получают дополнительную возможность установления функциональных взаимоотношений, не зависящих от пролиферации клеток.

Хотя механизм (G_0/G_1)-перехода оказался тесно связанным с функцией клеток и регулируется, как теперь стало ясно, независимо от (G_1/S)-перехода, от взаимодействия обоих типов регуляции зависит конечный уровень пролиферативной реакции ткани. Для нашего рассмотрения конкретный механизм (G_0/G_1)-перехода, различный для разных типов клеток, не важен, так как в разобранной системе регуляции участвуют лишь G_1 -клетки.

В общем случае выход клеток в G_1 -состояние зависит от недостаточности функции клеток данного типа. Это значит, что для состояния равновесия должно быть характерно некоторое число клеток $G_{\text{опт}}$ — оптимальное, удовлетворяющее выполнению функции, тогда выход клеток в G_1 -состояние будет пропорционален $G_{\text{опт}}$ и обратно пропорционален уже достигнутому уровню клеток данного типа:

$G_1 = \frac{G_{\text{опт}}}{G_{\text{общ}}} K_1$, где K_1 — коэффициент. Размерность K_1 — клеточная, тогда K_1 удобно выражать в виде $G_{\text{опт}}$. Учитывая, что $G_{\text{опт}}$, выполняя важную для организма функцию, зависит от числа клеток всего гиперцикла и допуская в первом приближении линейную зависимость, для клеток типа a , как и других типов, должно наблюдаться соотношение

$$G_{1a} = K \frac{G_a^2}{G_{a...n}}$$

В общем виде схема регуляции многоклеточных с несколькими

рис. 2. Рост "клеточного гиперцикла" с (G_0/G_1)-переходом

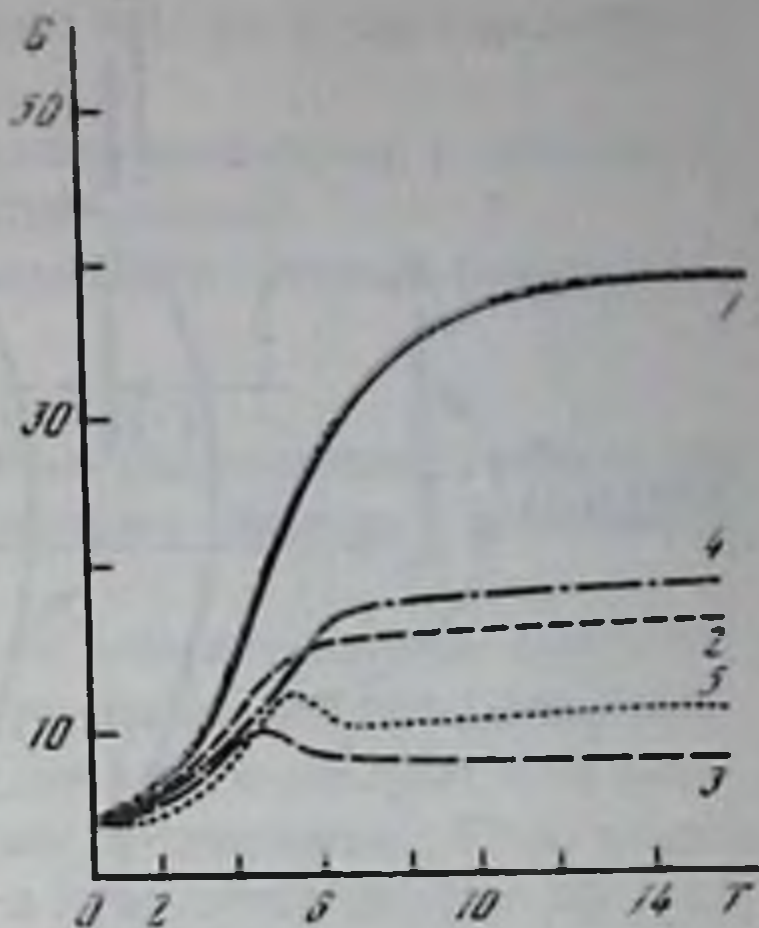
1 — общее число клеток регулируемой системы; 2 — число G_1 -клеток этой системы; 3 — число S-клеток этой системы; 4 — число клеток-регуляторов (+) типа; 5 — число клеток-регуляторов (—) типа

всеми возможными типами специфичностей будут подвергаться селекции — автоматически будут отбираться те специфичности, которые соответствуют пролиферирующим тканям организма, и "подтягиваться" за счет собственной пролиферации до необходимого уровня. Это должно вести к формированию регуляторной сети: специфические КРП — ткань. В иммунологии принято называть специфический рецептор идиотипом, тогда такая сеть может называться идиотип-органной.

Специфические рецепторы могут появиться как на КРП I, так и на иных типах клеток, не обладающих самостоятельной функцией регуляции пролиферации — выделением регулирующего деление фактора. В таком случае для осуществления как специфического, так и регулирующего влияния необходима кооперация КРП I и КРП II. Простейший известный способ такой кооперации состоит в секреции идиотипических (ИД) молекул и адсорбции их на КРП I. В этом случае специфические эффекты будут проявляться через КРП I, несущие адсорбировавшиеся на них рецепторы, а секреция ИД будет наблюдаться для КРП II. При адсорбции ИД на КРП I (+) и (—) описанный процесс позволяет придавать специфичность эффекту, не меняя направленности влияния КРП I на ткань-мишень. Математически это может быть выражено в виде коэффициента, равного числу КРП II соответствующего типа, стоящего перед разностью КРП I (+) и (—) типов. Пролиферация КРП II в такой системе будет зависеть от количества G_1 -клеток соответствующего типа.

В случае, если рецепторы специфичности появились на КРП I, то такие вновь появившиеся КРП III типа способны сразу самостоятельно выполнять функции и регуляции и специфичности для определенной ткани-мишени. Можно ожидать наличия обоих типов специфических КРП: КРП II создают "буфер" между КРП I и тканью-мишенью, тогда как КРП III могут обеспечить одновременную и независимую разно-направленную регуляцию нескольких типов тканей, что важно, например, при регенерации и иных экстренных ситуациях с резким изменением количества пролиферирующих клеток лишь для одного типа клеток; КРП I при этом создают общий регуляторный фон, необходимый для совместного функционирования всех типов клеток, составляющих многоклеточный организм (рис. 3).

Включение в регуляцию специфических КРП должно отражаться как на ткани-мишени, так и на самих КРП. Так как КРП (+) всех типов в



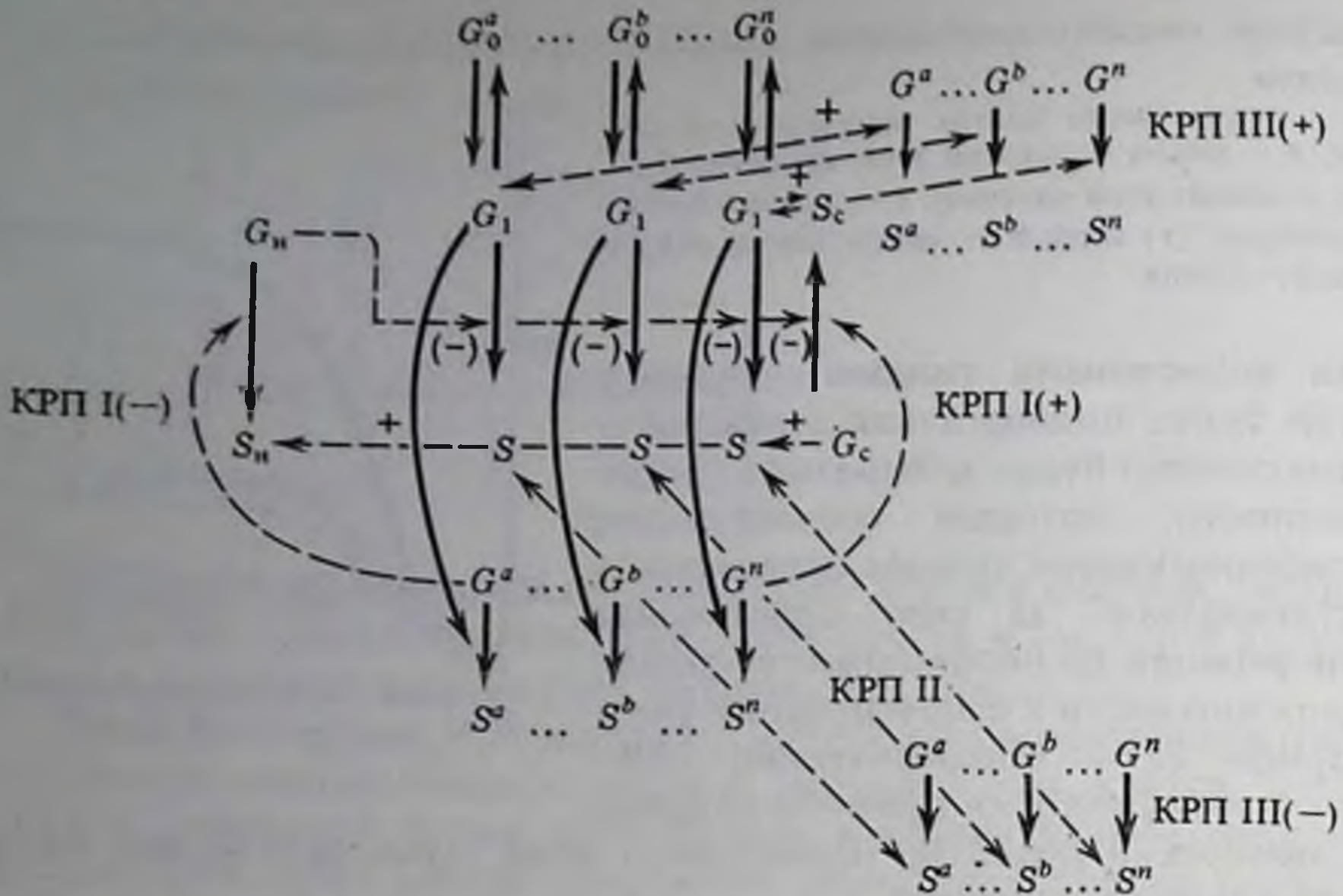


Рис. 3. Общая схема функционирования системы КРП. Пояснение в тексте

своим действием направлены на одну и ту же мишень, между ними должна существовать конкуренция за регулируемые клетки. То же имеет место и для КРП (-). Это, в частности, снижает необходимое число каждого типа регуляторных клеток, что в целом благоприятно, а также позволяет КРП различного типа компенсировать недостаток друг на друга в случае необходимости. Математическое численное моделирование подтверждает высказанные положения.

При сравнении различных регулируемых клеток можно заключить, что в целом при качественном анализе высокий уровень пролиферации ткани-мишени поддерживается при высоком уровне КРП как (+), так и (-) типа, тогда как низкий пролиферативный потенциал клеток-мишеней должен сопровождаться наличием незначительного числа специфических КРП (+) и (-) типов.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ "КЛЕТОЧНОГО ГИПЕРЦИКЛА"

В стационарном состоянии функционирование КРП—ткань системы происходит на каком-то определенном уровне при небольших отклонениях от стационарного состояния за счет естественных процессов гибели клеток КРП и ткани-мишени в ходе физиологической регенерации, как видно из приведенных схем. Однако в экстренных случаях возможна активация значительного числа или даже практически всех клеток КРП-системы. Биологический смысл такой реакции состоит в устойчивости системы не только к флюктуационным отклонениям числа элементов, но и к выраженным внешним воздействием, поражающим значительное число элементов системы, в

чем и состоит смысл явления регенерации тканей у многоклеточного организма.

Запуск системы из стационарного состояния возможен в принципе при одном из следующих условий или их комбинации.

- а) при увеличении числа G_1 -клеток определенного типа ткани;
- б) при увеличении КРП (+) любого типа;
- в) при снижении КРП (—) любого типа.

В эксперименте возможно изолированное достижение любого из этих условий, причем при каждом типе запуска кинетика активации будет несколько различаться.

Наиболее естественным, видимо, следует считать запуск системы вследствие повышения числа G_1 -клеток, что эквивалентно репаративной регенерации, например, при резекции части печени или повреждении гепатоцитов четыреххлористым углеродом. Повышение числа G_1 -клеток может быть достигнуто и при гипертрофии органа любой природы за счет увеличения необходимого $G_{кр}$ — критического числа клеток, необходимых для выполнения функции органа, пропорционального связанного с $G_{опт}$. Не физиологическим, но удобным в эксперименте является искусственное повышение выхода клеток в G_1 -состояние за счет активирования (G_0/G_1)-перехода фармакологическими агентами, например изопротеренолом для клеток слюнных желез, инсулином для клеток молочной железы, смесью глюкагона с трийодтиронином и β -адреномиметиками для гепатоцитов и т.д. При этом быстрое и значительное повышение числа соответствующих клеток в G_1 -состоянии должно вести по общей схеме процесса к запуску системы КРП и увеличению пролиферации клеток соответствующего типа, однако в последующем избыток массы органа снижает (G_0/G_1)-переход ниже имевшегося, так как $G_{кр}$ при этом не меняется, и происходит быстрая, наблюдаемая в эксперименте, атрофия гиперплазированного органа с возвращением к исходному весу. При данном типе запуска увеличение G_1 нарушает равновесие с КРП (+), что должно активировать пролиферацию этого типа клеток; пролиферирующие КРП (+) увеличиваются в количестве, нарушается равновесие с КРП (—) и запускается пролиферация G_1 -клеток; пролиферирующие клетки стимулируют КРП (—) с восстановлением равновесия. Интересным для экспериментальной проверки является следующее. Так как в таком типе запуска (G_0/G_1)-переход происходит синхронно, а длительность первого цикла, например, для гепатоцитов при регенерации составляет около суток, то активация и пролиферация КРП (+) и (—) типов будут разделены друг от друга во времени: в G_1 -период должны активироваться КРП (+), в более поздние сроки — КРП (—). Дальнейшая реакция системы будет зависеть от соотношения G_1 -клеток КРП (+) и (—) типов: при репаративной регенерации избыток G_1 будет поддерживать пролиферацию КРП (+) вплоть до восстановления массы органа, при фармакологическом запуске, когда имеется вынужденная гиперплазия, процесс должен закончиться первым циклом. Действительно, известно, что изопротерен-инду-

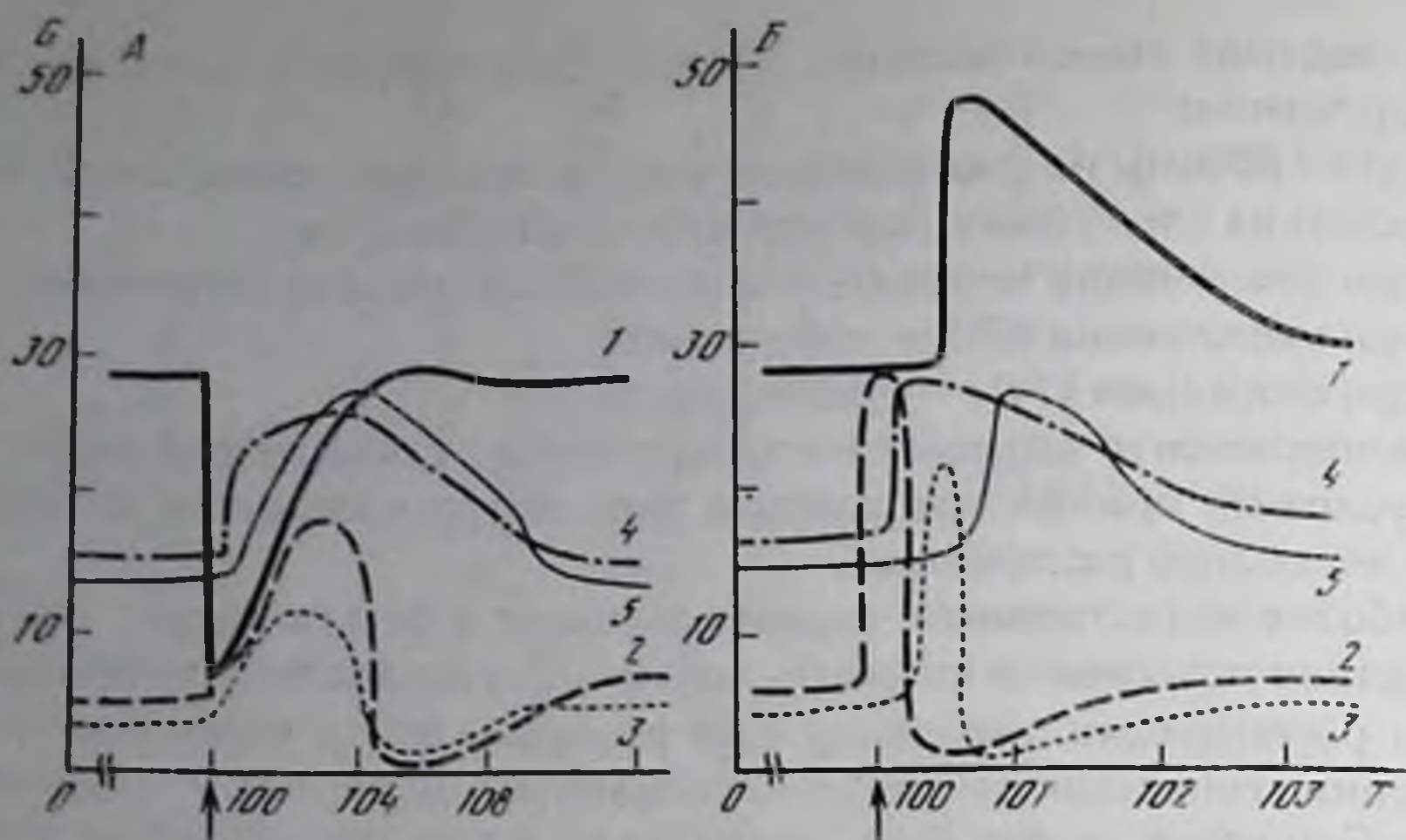


Рис. 4. Схема двух типов запуска системы КРП

А — репаративный тип; Б — фармакологически-индуцированный тип. Момент воздействия указан стрелкой: гибель $2/3$ клеток типа а при моделировании регенерации и перевод всех а клеток в G_1 -состояние при моделировании фармакологического воздействия. 1 — общее число клеток типа а; 2 — число клеток этого типа в G_1 -состоянии; 3 — число клеток этого типа в S -состоянии; 4 — число клеток-стимуляторов; 5 — число клеток-ингибиторов

цированная гиперплазия слюнных желез у грызунов оканчивается быстро, в течение суток, с последующим обратным развитием массы железы.

Общий вид процессов репаративного и фармакологического типов запуска системы КРП—ткань представлен на рис. 4.

При обоих типах запуска системы КРП—ткань-мишень происходит повышение числа КРП, что должно при повторном воздействии вести к более интенсивной реакции как ткани-мишени, так и КРП, известной как формирование "памяти" и зарегистрированной не только при иммунной реакции, но и при таком типичном процессе, происходящем с участием КРП, как репаративная регенерация печени. Феномен памяти обнаружен нами и для реакции изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез. Можно ожидать при этом специфичности памяти, так как запуск реакции для одного типа ткани будет сказываться прежде всего на специфических для нее КРП.

Другим типом запуска может быть увеличение числа КРП (+), что ведет к дисбалансу КРП (+) и (-) типов и установлению равновесия на новом уровне. Это может быть легко достигнуто в эксперименте при переносе КРП (+) интактным животным от животных, например, с регенерацией печени или иных органов, что известно как "феномен переноса регенерационной информации". При этом, так как КРП функционируют циклически, скорость проявления эффекта при таком переносе будет зависеть от времени, когда эти клетки будут получены от животных с индукцией КРП (+), и, в частности, промежуток времени между моментом индукции КРП (+) у животных-доноров и временем развития максимального эффекта у животных-реципиентов во всех вариантах переноса КРП должен быть постоянным.

Еще одним возможным типом нарушения равновесия КРП (+) и (-) типов с запуском всей системы КРП—ткань является снижение КРП (-). Это может быть достигнуто в эксперименте введением веществ, избирательно действующих на КРП (-). Например, действие цитостатических агентов, ионизирующего облучения должно сказываться на быстропролиферирующих клетках в первую очередь, что и должно вести к снижению прежде всего КРП (-). Этот тип активации должен вызывать запуск процесса гиперплазии в обычные сроки плюс время, необходимое для элиминации КРП (-). Таким образом, по скорости развития эффекта можно ожидать наиболее быстрого развития процесса при переносе КРП (+) от доноров с активацией КРП (+), затем при запуске при увеличении G_1 -клеток и, наконец, наиболее длительное время необходимо для запуска вследствие элиминирования КРП (-).

"Клеточный гиперцикл" является лишь частью иерархической системы регуляции любого многоклеточного организма, осуществляя регуляцию на "среднем" уровне — уровне клеточных популяций. Для целостного организма, однако, должны существовать более высокие уровни регуляции, ответственные за реакции всего многоклеточного организма как единого целого и представленные, по-видимому, эндокринной и нервной регуляциями. Эти системы должны осуществлять регуляцию в соответствии с общими представлениями кибернетики, влияя на подсистемы более низкого уровня, в данном случае — на "клеточный гиперцикл", потребностями целостного организма и с учетом меняющихся влияний внешней среды. Механизм подобных влияний в иерархической системе состоит в фоновых тонических влияниях более высокой системы в обычных условиях и в кратковременной импульсной активации для случаев экстремальной реакции, а также в длительном запрограммированном изменении фонового уровня, что связано, по-видимому, с реализацией программы развития организма.

Важно то, что система "клеточного гиперцикла" является стационарной системой, что, с одной стороны, обеспечивает возможность самовосстановления, самоорганизации и самосохранения во времени, а с другой — этот уровень регуляции не может сам реализовать программу развития, характерную для целостного организма в онтогенезе, что связано прежде всего с ростом организма. Это положение отражает представления общих теорий развития, в соответствии с которыми гомеостаз и гомеорез в принципе реализуются различными механизмами, так как функционируют в разных временных режимах. Конкретные модели таких процессов будут рассмотрены в разделе о регуляции роста и развития.

Ввиду наличия КРП неспецифического типа, функционирующих для всех типов клеток, индукция экстремальной пролиферации одного типа клеток-мишеней, например при регенерации, должна вести к изменению пролиферации других типов клеток, т.е. должны наблюдаться процессы интерференции пролиферации тканей различного типа. Такая интерференция процессов пролиферации давно отмечена для самых различных процессов, но теоретические объяс-

нения подобных явлений отсутствуют. Между тем теория "клеточного гиперцикла", учитывающая наличие общих регуляторных клеток, хорошо объясняет и описывает эти факты. Так, индукция большого количества G_1 -клеток в ходе репарационной регенерации одного типа ткани ведет к активации неспецифических КРП (+), стимулирующих пролиферацию клеток различных типов тканей, что, в свою очередь, стимулирует специфические КРП (—) и в дальнейшем снижает неспецифическую пролиферацию других по отношению к регенерирующей тканей в более поздние сроки. Таким образом, должна увеличиваться доля в регуляции специфических КРП (+) и (—) типов. Подобные явления интерференции давно описаны, например, для регенерации печени, однако без анализа причин такого эффекта. Интерференция процессов пролиферации должна хорошо воспроизводиться исходя из теоретических представлений и, действительно, наблюдается в эксперименте для взаимодействия различных процессов роста: регенерации и опухолевого роста, регенерации нескольких типов тканей, регенерации и фармакологически-индуцированной гиперплазии тканей, регенерации и иммунного ответа, иммунного ответа и опухолевого роста и т.д.

На рис. 5 показано рассчитанное восстановление количества клеток системы *a* при моделировании повреждения, т.е. регенерации. Видно, что если регенерация второй системы (*b*) индуцируется одновременно, то регенерация усиливается, если же к этому моменту имеет место снижение регенерации клеток *b*, то замедляется и регенерация системы *a*. Рис. 6 отражает наглядно, что это связано с изменением количества КРП I как (+), так и (—) типа. Эта расчетная картина демонстрирует реальные процессы, наблюдаемые при регенерации в эксперименте.

Разработанные ЭВМ-модели позволяют моделировать многие стороны процессов, связанных с клеточным делением: регенерацию, процессы опухолевого роста, их взаимодействие между собой и с иммунной системой, другие процессы. При этом можно следить за кинетикой процесса, рассчитывать изменения для клеток любого типа тканей, что открывает широкие возможности для экспериментальной проверки модели.

Специальные вопросы функционирования системы КРП—ткань будут рассмотрены отдельно для различных физиологических процессов.

Все сказанное можно изложить в виде следующих пунктов теории.

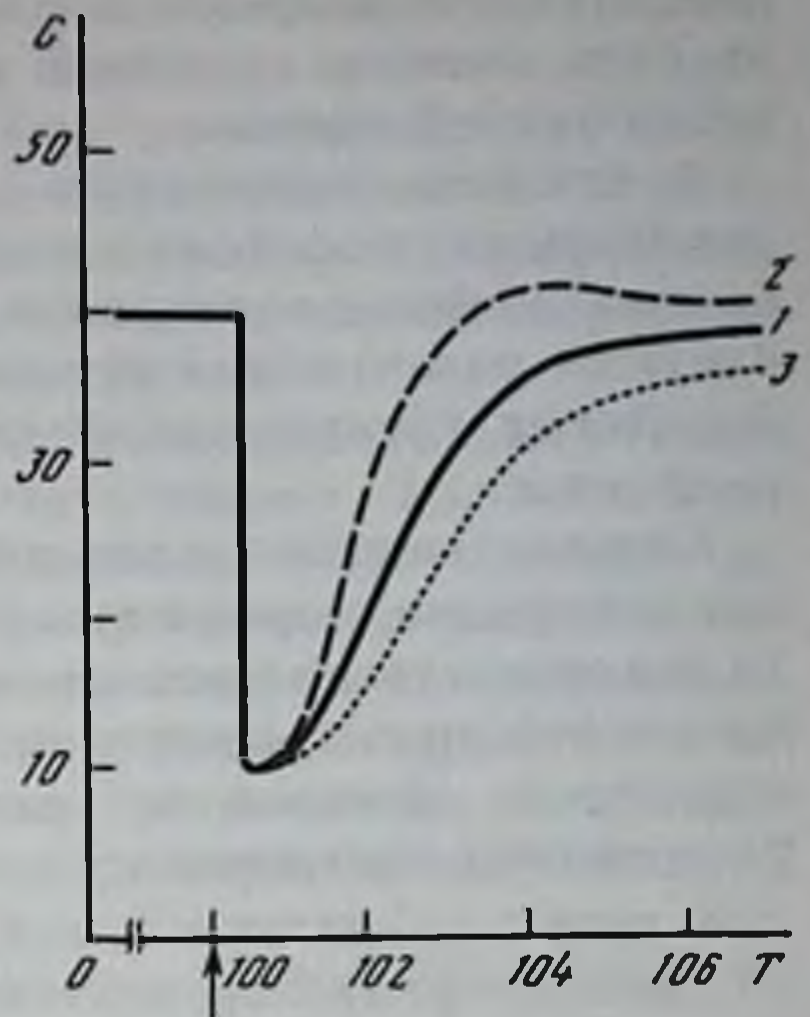
1. Для поддержания постоянства клеточного состава многоклеточных необходимо наличие специальной иерархической системы регуляции клеточной пролиферации, обеспечивающей целостность организма.

2. Для уровня клеточных популяций элементарной саморегулирующейся единицей следует считать ограниченную обратной отрицательной связью систему клеток одного типа — кейлонный уровень регуляции.

3. Для дальнейшей эволюции названной системы необходимо фор-

Рис. 5. Интерференция пролиферирующих клеток разного типа

1 — регенерация системы а при отсутствии интерференции; 2 — то же, при одновременной индукции регенерации для системы в; 3 — то же, при индукции системы в ранее, чем а



мирование более высокого уровня регуляции на стадии взаимодействия клеточных популяций. При взаимодействии нескольких клеточных популяций для трех взаимодействующих типов клеток имеется возможность формирования более высокого уровня регуляции. Саморегулирующаяся система клеточных популяций — "клеточный гиперцикл" — формируется самопроизвольно, с неизбежностью, обладает изначально свойствами самовосстановления, самостановления, саморегуляции и реагирует на внешние влияния как единое целое.

4. Дальнейшая эволюция "клеточного гиперцикла" должна осуществляться характерным для "гиперциклов" способом — увеличением количества клеточных типов в "гиперцикле" и их специализацией — дифференцировкой в сторону формирования как функциональных тканей, так и клеток-регуляторов неспецифического и специфического для сформировавшихся тканей типов.

5. Противоречие пролиферативных и дифференцировочных потенций клеток должно приводить в эволюции к появлению дополнительных систем ограничения пролиферации функциональных типов клеток, что проявляется в появлении клеток, не способных к пролиферации, и клеток, с регулируемым переходом (G_0/G_1)-типа. В системе ткань—клетки—регуляторы участвуют лишь G_1 -клетки. Для регуляторных клеток нет эволюционных причин формирования (G_0/G_1)-перехода.

6. Для специализации на уровне клеток-регуляторов в "клеточном гиперцикле" достаточно появления на клетках-регуляторах рецепторов к тканям-мишеням, причем необходимым и достаточным является клоновый характер представления рецепторов при случайной их специфичности. В ходе последующего взаимодействия идиотип-органная функциональная регуляторная сеть формируется самопроизвольно.

7. Появление специфических КРП открывает новые возможности в регуляции разнотипных клеток организма, различающихся по интенсивности деления, позволяет одновременно осуществить разнонаправленную регуляцию разнотипных клеток и т.д.

8. Сам "клеточный гиперцикл" является гомеостатическим организационным механизмом и не способен осуществлять гомеостатические процессы, характерные для онтогенетического развития

целостных организмов; последние процессы должны осуществляться за счет внешних влияний на "клеточный гиперцикл" со стороны целостного организма.

9 Система "клеточного гиперцикла" может быть активирована различными способами и использована для описания реальных процессов — физиологической и репаративной регенераций, взаимовлияний разнотипных пролиферирующих клеток в ходе различных процессов, пролиферации клеток при опухолях и иммунных реакциях и т.д.

Математическое моделирование процессов клеточной регуляции пролиферации тканей позволяет также рассматривать возможные пути эволюции таких процессов, получать точные кинетические кривые процессов, предсказывать новые явления, описывать количественно известные феномены регуляции пролиферации клеточных популяций в организме.

Глава V

КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ КРП

ОБЩИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК—РЕГУЛЯТОРОВ ПРОЛИФЕРАЦИЙ

Приведенные рассуждения о свойствах, которыми должны обладать КРП, и сравнение их со свойствами известных типов клеток в организме многоклеточных показывают, что наиболее вероятными претендентами на роль КРП являются лимфоциты Т-ряда. Действительно, данные, приведенные в гл. III, указывают, что в тех случаях, когда клетки-регуляторы пролиферации идентифицированы, ими оказывались Т—лимфоциты.

Современная иммунология накопила за последние годы огромный фактический материал и подробно исследовала многие типы Т-лимфоцитов. Исходными данными для поиска Т-клеток, принадлежащих системе КРП, должны быть, как обосновано выше, следующие: это должны быть клетки, рано появившиеся в филогенезе, они должны распознавать "свое", для них должно быть показано участие в регуляции клеточной пролиферации нелимфоидных клеток, активация их пролиферации должна наблюдаться при неспецифических для иммунной системы раздражителях.

Анализ фактического материала показывает, что такие функции могут быть присущи прежде всего популяции Т-лимфоцитов, относящейся к так называемым антиген-неспецифическим Т-супрессорам. Есть данные, позволяющие считать, что имеются также и антиген-неспецифические Т-хелперы.

Для антиген-неспецифических Т-лимфоцитов-супрессоров показано очень раннее возникновение в филогенезе, активация при самых

различных воздействиях, увеличивающих пролиферацию лимфоцитов самого разного типа, а также, видимо, активация в ответ на пролиферацию любых клеток иного типа. За этим типом клеток признается роль регуляторов пролиферации лимфоцитов в независимости от активационного сигнала. Считают, что они реагируют на состояние клеточной пролиферации как таковое, т.е. активируются неспецифически любой пролиферирующей клеткой.

Этот тип клеток хорошо изучен и подробно описан [12, 32, 37]. Это Т-клетки, несущие Thy-1-антиген, активирующиеся Т-митогенами, способные угнетать пролиферацию как Т-, так и В-клеток, и, видимо, нелимфоидных типов клеток, воздействуя на иммунную реакцию как к Т-зависимым, так и к Т-независимым антигенам. Активирующим сигналом для них служит состояние пролиферации других типов клеток — вероятно, общий для различных типов клеток метаболит. Действуют антиген-неспецифические Т-супрессоры на ткани-мишени прямо, тогда как антиген-специфические Т-клетки — через посредство инактивации Т-хелперов. Антиген-неспецифические Т-супрессоры — это большие бластные клетки, постоянно умеренно пролиферирующие; так как обработка митомицином С отменяет супрессорный эффект таких клеток, то считают, что для них при активации типично увеличение пролиферации. С этим согласуются радиочувствительность и короткий срок жизни; для поддержания их функции на определенном уровне необходима постоянная пролиферация других типов клеток; преинкубация в течение суток лимфоцитов в культурах без митогена повышает ответ лимфоцитов на митоген вследствие отмирания таких неспецифических супрессоров. В процессе иммунной реакции неспецифические супрессоры могут "вооружаться" специфическим фактором других типов супрессоров, что ведет к проявлению у них эффекта специфичности [90].

Свойства Т-клеток, ограниченных в отношении "своего", сейчас хорошо изучены на примере сингенной смешанной культуры клеток [123, 242]. Подробное изучение феномена показало, что рестриктированные к "своему" — это Т-лимфоциты, несущие Ly-1-антиген, которые активируются собственными Ia-антигенами тканей самого разного типа. Удаление этих лимфоцитов из общей популяции специфическими моноклональными антисыворотками, отменяя сингенную СКЛ, не влияет на интенсивность собственно иммунной реакции. Это можно трактовать как указание на то, что эти клетки не принадлежат собственно к иммунной системе. Действительно, считают, что они имеют собственные пути дифференцировки в тимусе, более быстро замещаются из предшественников после облучения или обработки цитостатиками и кортикостероидами, реагируют на "свое", но не на "чужое", хотя репертуар клеток-эффекторов, реагирующих в сингенной и аллогенной СКЛ, частично перекрывается. В пределах собственно иммунологии эти клетки лишние: нет сколь-либо удовлетворительной гипотезы, объясняющей их необходимость для организма, причины формирования и функционирования. Между тем они очень хорошо соответствуют требованиям, предъявляемым к КРП, и по формальным признакам могут быть отождествлены с ними.

При активации Т-хелперы, реагирующие первыми и имеющие обычно $Ly-1^+$ -фенотип, выделяют интерлейкин-2, запускающий процесс пролиферации основной популяции реагирующих в этой реакции клеток; для полноценного начала реакции необходима не только презентация Ia-антигенов собственного комплекса гистосовместимости, но и выделение макрофагами другого интерлейкина — интерлейкина-1. Описана вторичная реакция в сингенной смешанной культуре лимфоцитов, в том числе при реакции Т-клеток на гепатоциты в ходе регенерации печени [242], при этом отмечено, что в ходе вторичной реакции начинают преобладать типы клеток, имеющих небольшое значение при первичной реакции и несущие главным образом $Ly-2^+$ -фенотип. При этом во вторичной реакции четко проявляется феномен "памяти". Стимулируются эти клетки в ходе регенерации печени купферовскими клетками, несущими, как известно, Ia-антиген. Описанные во вторичной смешанной культуре лимфоциты напоминают постулированные КРП II и III типов. Известно, что в ходе сингенной смешанной СКЛ формируются как стимулирующие, так и ингибирующие популяции Т-клеток, причем первые в начале, а вторые — в конце реакции.

Исходя из имеющихся в литературе и полученных нами оригинальных экспериментальных данных, а также теоретически выведенных предпосылок можно описать основные свойства, которыми должны обладать КРП и которые во многих случаях выявляются экспериментально следующим образом.

1. Прежде всего это должны быть рано появившиеся в филогенезе с целью объединения пролиферирующих клеток разного типа клетки, сходные с лимфоцитами наиболее древнего Т-ряда.

Сравнительные эволюционные исследования показывают, что Т-лимфоциты появились очень рано в филогенезе и имеют характерные свойства уже у низших животных. У кольчатых червей имеются клетки, реагирующие с формированием Е-розеток с эритроцитами барана, способные отторгать трансплантат, реагировать в смешанной культуре клеток пролиферацией и формировать "память" при иммунных реакциях клеточного типа. Многие проявления клеточного иммунитета встречаются уже у губок [88, 83]. У низших многоклеточных — кишечнополостных и губок хорошо изучены процессы регенерации, к сожалению, без внимания к участию в них лимфоподобных клеток, которые передают "регенерационную информацию" у млекопитающих. Многие черты регенерации удивительно сходны у различных видов. Например, малые дозы ионизирующей радиации стимулируют регенерацию, иммунный ответ, а большие — подавляют, что объясняют для млекопитающих существованием фоновых неспецифических, радиочувствительных лимфоцитов-супрессоров. Ранее приведены данные об участии именно лимфоидных клеток в регуляции пролиферации соматических клеток при многих физиологических и иных процессах.

2. Подвижность и циркуляция в тканях. Это свойство хорошо известно для Т-лимфоцитов и представляет постулированное свойство для КРП, которые должны достигать регулируемых тканей и вступать

с ними в контакт для активации. Уже давно отмечено, что при регенерации происходит накопление лимфоцитов и инфильтрация ими тканей; при ряде процессов, когда наблюдается интенсивная клеточная пролиферация, характерна и лимфоидная инфильтрация тканей [38].

3. Способность Т-лимфоцитов, принадлежащих к КРП, секретировать регулирующие пролиферацию других клеток факторы. Продемонстрирована при регенерации, в сингенной смешанной культуре лимфоцитов и в некоторых иных случаях. При регуляции Т-лимфоцитами пролиферации фибробластов такие факторы выделены и подробно описаны. Для иммунной реакции выделение Т-хелперами и супрессорами регулирующих пролиферацию факторов является существенным моментом процесса.

4. Неспецифичность эффекта для КРП I. Неспецифичность стимулирования и ингибирования различных типов ткани продемонстрирована в той или иной мере всеми исследователями при изучении феномена переноса "регенерационной информации" и вытекает теоретически из вероятного филогенеза системы КРП как интегративной по существу. При этом выявляется как системность действия лимфоцитов, например при регенерации кишечника, когда стимулирование митозов распространяется на протяжении всего желудочно-кишечного тракта, так и стимулирование по типу интерференции при регенерации негомологичной ткани, например увеличение митозов в почках при регенерации печени.

5. Сочетание специфичности и неспецифичности эффектов регуляции пролиферации различных типов тканей наблюдается при иммунной реакции, что определяется сочетанием эффекта ряда популяций лимфоцитов, и прежде всего специфических и неспецифических популяций Т-клеток. Для регенерации известно, с одной стороны, перекрестное стимулирование пролиферации неспецифических типов тканей и интерференция с другими процессами пролиферации, например в ходе иммунного ответа, а с другой — более высокое стимулирование пролиферации специфической ткани. Как показано нами, при реакции гиперплазии слюнных желез у мышей на изопротеренол специфические и неспецифические эффекты осуществляются различными популяциями лимфоцитов [13].

6. Ограниченность эффекта главным комплексом гистосовместимости. Реакция КРП на "свое" является основополагающим из теоретических представлений свойством, так как эти клетки должны были осуществлять функцию интеграции. Ограниченность эффекта регуляции пролиферации хорошо проявляется на переносе "регенерационной информации" и показана нами на примере гиперплазии слюнных желез в ответ на введение изопротеренола при переносе лимфоцитов от таких доноров к сингенным и аллогенным реципиентам, что рассмотрено ниже.

Эта ограниченность эффекта в отношении к "своему" хорошо проявляется у кишечнополостных при гетеротрансплантациях, что осуществляется у таких животных не по типу иммунного ответа, а по типу аллогенного ингибирования. При этом гетеротрансплантат

выключается из системы регуляции роста. Видимо распознавание "своего" должно было играть важную роль при формировании первых многоклеточных для приобретения ими индивидуальности, отличия "своих" клеток, что должно было быть тесно связанным со становлением системы регуляции пролиферации для "своих" клеток.

7. Отсутствие G_0 -состояния для КРП. Это свойство следует из предполагаемой древности возникновения таких клеток, а также из кинетики процесса: стимулирующие и ингибирующие лимфоциты должны успеть разделиться в G_1 -фазу цикла регулируемых клеток, чтобы запустить (G_1/S)-переход у последних. Так как КРП (—) активируются еще позднее, они должны иметь наиболее короткий жизненный цикл и быстро пролиферировать. Показано, что в лимфоузлах имеются заторможенные в G_1 -стадии лимфоциты, быстро вступающие в цикл пролиферации, причем функция их не понятна [18].

8. Распознавание G_1 - и S -состояния клеток-мишеней. Для эффективного функционирования КРП должны различать G_1 - и S -состояние пролиферирующих клеток, как следует из разрабатываемых схем их активации, что может осуществляться КРП за счет рецепторов к метаболитам, секретирующимся клетками в те или иные фазы цикла, а также за счет появления новых антигенов и рецепторов, например Ia-антигенов гистосовместимости, только на активированных клетках. Такие антигены в настоящее время обнаруживаются при многих случаях активации пролиферации клеток, и им отводится основная роль в иницировании реакции сингенной смешанной культуры лимфоцитов. Известно, что различные клетки в определенных стадиях клеточного цикла могут выделять те или иные метаболиты, которые и могут распознаваться как стимуляторы КРП. Так, пролиферирующие клетки способны выделять циклические нуклеотиды, простагландины, а на лимфоцитах имеются рецепторы к ним [66, 142].

9. Относительно короткий цикл для КРП. Заторможенность КРП в G_1 -фазе или постоянная их умеренная пролиферация без G_0 -фазы определяют небольшую длительность цикла, ожидаемую для этих клеток. Из рассмотренной кинетики видно, что КРП (—) активируются позже КРП (+) и должны иметь соответственно более короткий цикл. Последнее, видимо, определяет известную радиочувствительность неспецифических супрессоров и возможность на определенные дозы ионизирующего облучения получить стимулирование регенерации или иммунного ответа.

10. Взаимодействие КРП I и II типов. Возможность приобретения специфичности антиген-неспецифическими супрессорами путем адсорбции специфического фактора, выделяемого другой популяцией супрессоров, уже упоминалась ранее. Весьма вероятно, что аналогичная возможность реализуется и для КРП.

11. Пролиферация КРП в ходе активации и осуществления эффекта. Пролиферация КРП в ходе выполнения своих функций и резкое увеличение пролиферации в ходе экстремальных состояний, например регенерации, хорошо известны при изучении пролиферации лимфоцитов в ходе регенерации печени. Кинетика этого процесса в

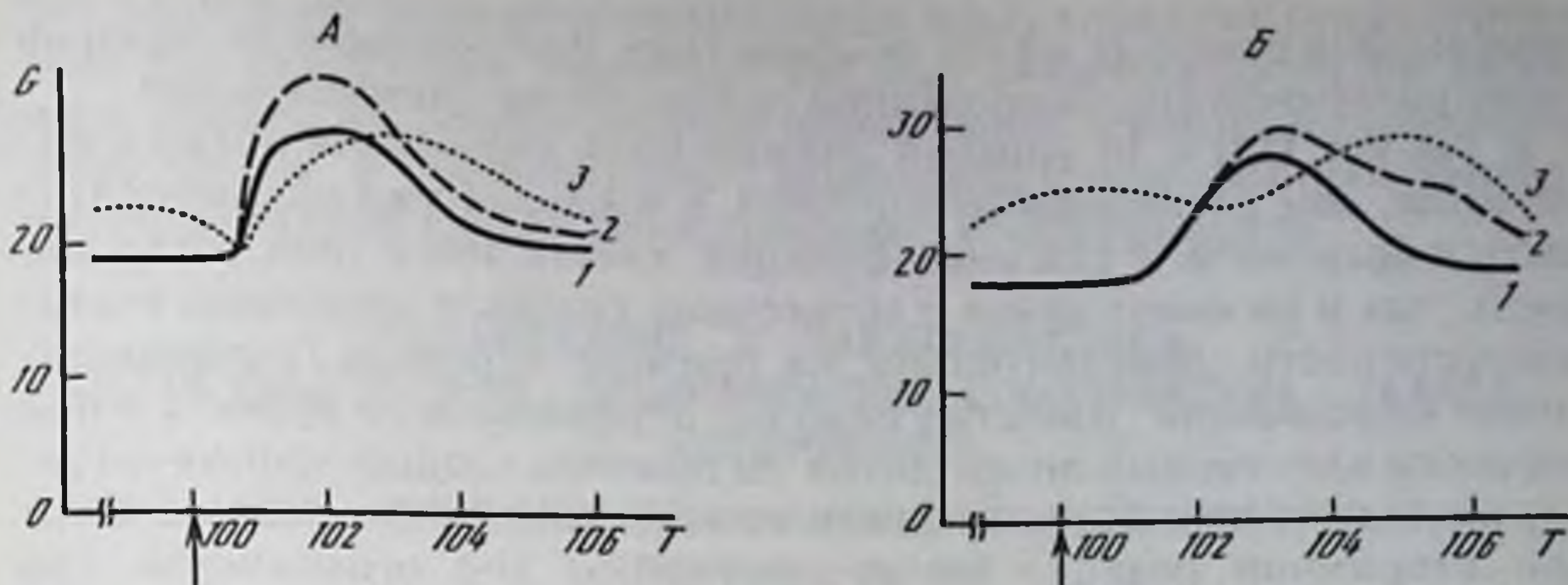


Рис. 6. Изменения в системе клеток-регуляторов при интерференции пролиферирующих клеток различного типа

А — изменения клеток-стимуляторов; Б — изменения клеток-гибиторов. Обозначения 1, 2, 3 см. на рис. 5

первые сутки, когда деление гепатоцитов синхронизировано, характерна и представлена двумя пиками пролиферации — стимулирующих и ингибирующих лимфоцитов.

Увеличение в результате пролиферации числа КРП в процессе регенерации лежит в основе наблюдаемого феномена "памяти", аналогичного таковому для иммунных реакций.

12. Интерференция процессов пролиферации нескольких типов ткани. Наличие КРП I делает неизбежным такого рода взаимовлияния пролиферирующих тканей разного типа (см. рис. 5, 6). Такой эффект отмечен в действительности — при интерференции физиологической и репаративной регенераций, регенерации опухолевого процесса, регенерации и иммунных реакций. Ниже приводится пример отмеченной нами интерференции процессов регенерации печени и изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез.

В отношении свойств, приписываемых теорией КРП более высокого уровня, известно в эксперименте мало. Теоретически можно предполагать, что эти клетки представлены Т-лимфоцитами, как и КРП I, они также должны пролиферировать в ходе функционирования, формируя "память" процесса при самых разных типах пролиферации клеток. Они также должны распознавать G_1 - и S-состояние клеток-мишеней, рециркулировать и влиять на пролиферацию клеток-мишеней. В то же время, возникнув для осуществления иной, чем у КРП I, цели, эти клетки должны обладать и рядом отличий.

1. КРП I и II уровней должны определять специфичность процесса регуляции пролиферации различных клеток. Таким образом, должны существовать клоны специфических к различным тканям лимфоцитов. Взаимодействия между специфическими лимфоцитами и специфическими для них клетками-мишенями должны строиться по типу функциональной идиотип-органной сети. Действительно, специфичность влияния является основной характеристикой феномена "переноса регенерационной информации" [3, 5]. Аналогичным образом нами обнаружен специфический эффект передачи состояния

гиперплазии слюнных желез лимфоцитами, получаемыми от доноров с изопротеренол-индуцированной гиперплазией слюнных желез.

2. Так как КРП II, III уровней должны были возникнуть позже в филогенезе, чем неспецифические КРП I, в пределах уже сформировавшегося организма и для иных функций, клетки этого типа могли как иметь, так и не иметь связи с антигенами главного комплекса гистосовместимости. Действительно, на примере переноса "регенерационной информации" известно наличие определенного эффекта и при переносе аллогенных лимфоцитов. На примере изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез у мышей нами показано, что при вторичной реакции на изопротеренол H-2 ограничение при сингенном переносе отсутствует.

3. Филогенетически сформировавшиеся уже в присутствии КРП I клетки II и III типов могли осуществлять свое действие непосредственно или же через посредство КРП I, т.е. кооперировать с КРП I. Такие механизмы, типичные для иммунных реакций, вполне могли бы иметь место и для процессов регуляции пролиферации соматических тканей.

4. Так как необходимость передавать специфичность эффектов регуляции пролиферации специфических клонов клеток существует на протяжении длительных промежутков времени в связи с постоянно имеющимся определенным уровнем физиологической регенерации, КРП II и III типов должны быть долго живущими, что определяет также специфичность долговременной "памяти", обнаруженной для феномена "переноса регенерационной информации".

5. Статистический характер формирования специфичности рецепторов КРП II и III делает реальным возникновение идиотип-органной специфической регуляторной сети, а также создает возможность идиотип-андиидиотипических взаимоотношений между самими КРП II и III, что должно создавать основу формирования в последующем реакции на чужеродные организму агенты для возникновения T-системы иммунитета, что подробно рассмотрено в отдельной главе.

Взаимное стимулирование клеток факторами, выделяемыми ими, подробно исследовано на примере взаимодействия лимфоцит—макрофаг. Такое взаимостимулирование может быть результатом ответа на прямой контакт клеток—регуляторов с клетками-мишенями или же результатом выделения дополнительных факторов, стимулирующих высвобождение основных факторов. Первично таким фактором мог быть общий для клеток метаболит — циклический нуклеотид, простагландины, биогенные амины — ко всем этим соединениям имеются рецепторы на лимфоцитах. В ходе эволюции, по-видимому, должно было происходить формирование специфических активаторов. На примере сингенной смешанной культуры лимфоцитов показано, что важнейшим моментом является стимулирование T-хелперов посредством интерлейкина-1, выделяемого макрофагами. Участие макрофагов доказано и в процессах регулирования регенерации органов. Таким образом, в ходе эволюции, видимо, сформировался каскад усиливающих и "наводящих" факторов, подробно изученных для иммунной системы. На наличие хемотактических

факторов и, по-видимому, новых типов поверхностных рецепторов в ходе (G_0/G_1)-перехода указывают быстрая динамика развития феномена "переноса регенерационной информации" и быстрое накопление лимфоцитов в регионарных лимфоузлах при изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез у грызунов.

ОБНАРУЖЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК-РЕГУЛЯТОРОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ СОМАТИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

КРП при изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез

Реакция в виде увеличения массы слюнных желез у грызунов в случае введения сверхвысоких доз изопротеренола была обнаружена Селье четверть века назад при исследовании фармакологических эффектов катехоламинов. Рядом авторов была доказана истинно гиперпластическая природа процесса, которую рассматривают как удобный способ индукции массовой синхронной пролиферации клеток одного типа в организме фармакологическим путем.

Известно, что в первые 15—30 мин после введения препарата наблюдается выраженный подъем внутриклеточного цАМФ в клетках подчелюстной, подъязычной и околоушной желез у грызунов — крыс, мышей, морских свинок с возвращением к нормальным цифрам в течение часа. Через 18—24 ч происходит подъем уровня синтеза РНК, белка и ДНК [4]. Так как актиномицин Д и облучение животных перед введением изопротеренола отменяют реакцию, предполагается, что в индукции процесса участвуют механизмы, требующие синтеза РНК и ДНК. Однако в клетках слюнных желез синтез РНК и ДНК наблюдается лишь через сутки после введения препарата, тогда как облучение эффективно в первые часы его введения, что парадоксально не согласуется друг с другом. Можно предполагать, что подавление синтеза макромолекул важно для активации каких-то других, не железистых, но важных для данной реакции клеток. Используя эти данные, а также то, что индукция синтеза белка и ДНК в железистых клетках наблюдается через сутки после введения изопротеренола, а эффект последнего сохраняется лишь в течение первого часа, изучавшие процесс исследователи указывают, что механизм, запускающий реакцию гиперплазии ткани слюнных желез на изопротеренол, не известен [4, 14].

Исходя из разрабатываемых нами теоретических взглядов на процессы регуляции клеточного деления в многоклеточном организме представляется вероятным участие в описанном процессе лимфоцитов, регулирующих пролиферацию соматических клеток, — КРП. Действительно, β -адренергические агенты, являясь в норме физиологическими регуляторами (G_0/G_1)-перехода для железистых клеток, должны индуцировать в сверхвысоких дозах массовый переход в G_1 -состояние, что по приведенной схеме должно вести к массовой стимуляции КРП по схеме на рис. 4, Б. Так как цикл железистых клеток

укладывается в сутки, можно ожидать, что КРП (+) должны активироваться в первые часы после введения изопротеренола, а КРП(–) — в конце суток. Кроме того, следует ожидать, что инактивация лимфоцитов любым способом отменит реакцию.

В табл. 3 представлены результаты воспроизведения реакции на изопротеренол — у интактных крыс и мышей и при инактивации лимфоцитов введением животным анти-Thy-сыворотки, высоких доз циклофосфана и гидрокортизона. Антисыворотку, имеющую титр 1:320, вводили внутрибрюшинно мышам и крысам соответственно по 0,25 и 0,75 мл за 6 ч до изопротеренола. Число мононуклеаров периферической крови, выделяемых в градиенте плотности фикола, снижалось при этом на 65—70%. Циклофосфан и гидрокортизон для создания тотального иммунодефицита вводили в дозе 300 мг/кг массы за 3 дня до изопротеренола.

Из представленных данных видно, что элиминация лимфоцитов всеми использованными способами ведет к полному ингибированию реакции слюнных желез на изопротеренол. Сами препараты не влияют на собственно железистые клетки, так как при введении одновременно с изопротеренолом их эффект был выражен слабо. Введение лимфоцитов иммунодефицитным мышам восстанавливало реакцию на изопротеренол. Учитывая эти данные, можно объяснить известное снижение этой реакции у животных с облучением или введением блокаторов синтеза ДНК и белка в момент реакции, когда синтез макромолекул должен наблюдаться в лимфоцитах-регуляторах, но не в железистых клетках, а также известное снижение этой реакции у бестимусных мышей, у которых снижены также и иные процессы пролиферации клеток, в частности регенерация печени.

Используя факт снижения плотности клеток в процессе пролиферации, исследовали кинетику появления активированных бластных клеток низкой плотности — менее 1,08 в селезенке мышей и крыс при изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез, а также изменение числа лимфоцитов регионарных лимфоузлов шеи в ходе этой реакции в сравнении с кинетикой нарастания массы желез и индукцией синтеза ДНК в лимфоидных и железистых клетках [15, 199].

В региональных лимфоузлах шеи нами было показано значительное повышение числа клеток с низкой плотностью в первый час после введения изопротеренола (рис. 7). Всего в первые сутки — в течение цикла железистых клеток — наблюдались три пика накопления лимфоцитов в региональных лимфоузлах: в течение первых 30—60 мин, через 16 ч, что предшествует индукции синтеза ДНК, и через сутки, когда повышалось включение ^3H -тимидина в железистые клетки. Клетки низкой плотности активно включали ^3H -тимидин, т.е. пролиферировали, при оценке включения в импульсных 4-часовых культурах. Для общей популяции клеток селезенки в первые часы наблюдался выраженный спад пролиферативной активности, что можно расценивать как ингибирование пролиферации сверхвысокими дозами изопротеренола, повышающего, как известно, цАМФ в

Таблица 3. Влияние лимфоидной ткани у мышей и крыс на воспроизведение изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез

Условия реакции	Прирост массы слюнных желез в процентах к интактным животным	
	Крысы Вистар	Мыши BALB/c
Интактные	100 ± 4,3	100 ± 3,5
Изопротеренол	206,7 ± 7,5	174,3 ± 8,8
Введение анти-Thy-сыворотки	92,4 ± 4,3	94,0 ± 5,1
Введение анти-Thy-сыворотки и изопротеренола	103,3 ± 3,3	94,1 ± 5,5
Введение циклофосфана	—	99,6 ± 4,8
Введение циклофосфана и изопротеренола	—	91,6 ± 4,8
Введение гидрокортизона	—	96,3 ± 5,5
Введение гидрокортизона и изопротеренола	—	87,9 ± 5,1

Таблица 4. Формирование бластных клеток и интенсивность реакции на изопротеренол у мышей различных линий

Линия мышей	Интенсивность показателей (в процентах к интактным животным)		
	Число клеток I пика в селезенке	Число клеток II пика в селезенке	Интенсивность гиперплазии
BALB/c	224,4 ± 11,1	257,6 ± 13,5	170,6 ± 6,5
C57Bl/6	158,4 ± 10,9	181,4 ± 14,5	160,8 ± 5,8
СВА × C57Bl/6	107,4 ± 4,4	120,6 ± 8,6	101,4 ± 3,0
СВА	85,6 ± 4,8	93,7 ± 9,8	99,4 ± 5,2
AKR	103,4 ± 6,2	108,6 ± 8,0	95,9 ± 2,5

лимфоцитах и иных типах клеток. Ингибирование пролиферации касалось, видимо, лишь неспецифических лимфоцитов, тогда как КРП активно пролиферировали и включали метку.

Непосредственно после появления второго пика клеток низкой плотности включение тимидина в клетки селезенки вновь отчетливо снижалось, что отражает неспецифическое ингибирование пролиферации лимфоцитов селезенки накопившимися в это время КРП(—)-лимфоцитами с характеристиками супрессорных клеток. Функциональный эффект клеток с низкой плотностью, как показано ниже, мог быть учтен в тесте сингенного переноса к интактным или изопротеренол-обработанным реципиентам.

При исследовании реакции на изопротеренол мышей различных линий оказалось, что интенсивность реакции на изопротеренол совпадала с интенсивностью накопления клеток низкой плотности I и II пиков, тогда как низкие цифры реакции сопровождалась отсутствием реакции и лимфоидной ткани (табл. 4.)

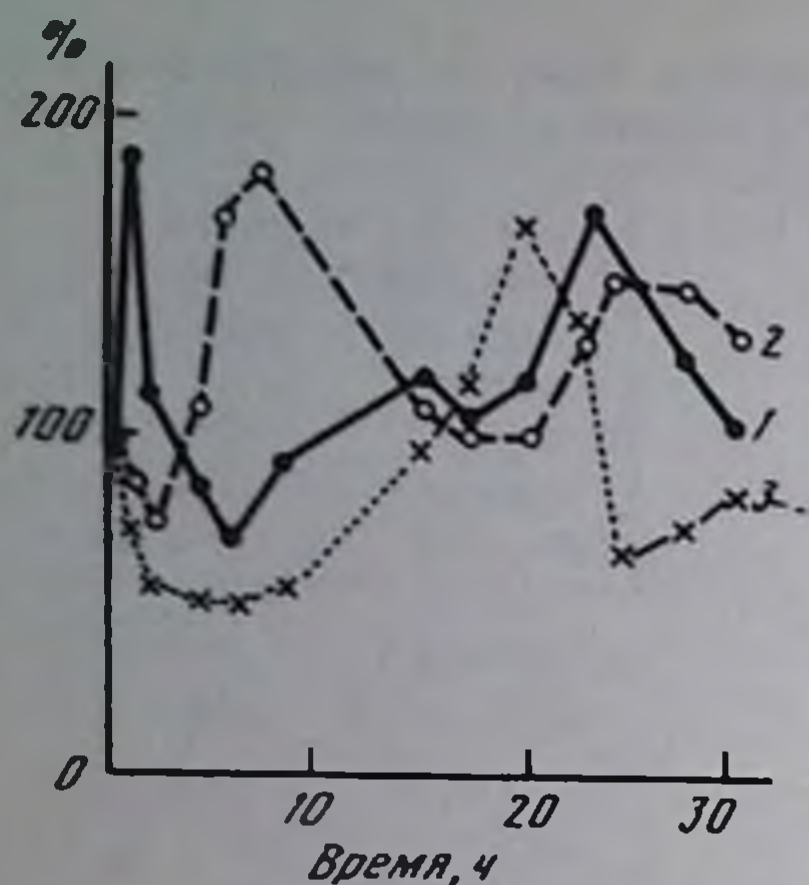


Рис. 7. Кинетика активации лимфоцитов в региональных лимфоузлах шен и в селезенке у мышей после введения изопротеренола

По оси ординат — изменение параметров (в процентах к интактным животным). 1 — число лимфоцитов лимфоузлов; 2 — число бластных клеток низкой плотности в селезенке; 3 — включение ^3H -тимидина в клетки селезенки

Как у мышей, так и у крыс стимулирующей активностью обладали клетки I и II пиков, выделенные из региональных лимфоузлов, и I пика из селезенки, а ингибирующей — клетки III пика из лимфоузлов и II пика из селезенки.

Перенос $(2-5) \cdot 10^6$ клеток активных фракций интактным сингенным реципиентам приводили к приросту массы желез у последних в среднем на $31,2 \pm 5,6\%$; аналогичная доза клеток-ингибиторов, введенная изопротеренол-обработанным животным через 2 ч после или за 2 ч до изопротеренола, подавляла реакцию на 47—72%. Большая часть активности отменялась обработкой клеток анти-Thy-1-сывороткой и комплементом до переноса, что указывает на Т-клеточную природу феномена. Таким образом, можно заключить, что в ходе индукции изопротеренолом гиперплазии слюнных желез у грызунов наблюдается активирование клеток-регуляторов пролиферации железистых клеток с пролиферацией как клеток-мишеней, так и клеток-регуляторов.

Клетки, полученные в различные сроки после введения изопротеренола, оказывали практически одинаковый эффект, что указывает на достаточность их активации уже в течение 1 ч после введения изопротеренола.

Полученные кривые активации клеток-регуляторов соответствуют теоретически ожидаемым. В соответствии с теоретическими взглядами на возможность инактивации избирательно клеток-супрессоров ввиду их предположительно меньшего по времени цикла деления и соответственно большей чувствительности к цитостатикам исследовали влияние циклофосфана на изопротеренол-индуцированную гиперплазию слюнных желез у мышей. Оказалось (рис. 8), что циклофосфан даже в отсутствие изопротеренола вызывает увеличение массы желез, причем, как следует из теории, в более поздние сроки после введения по сравнению с реакцией на изопротеренол. Наличие такого эффекта указывает, что у мышей имеется динамическое равновесие КРП (+) и (-) типов, регулирующих массу слюнных желез в каждый данный момент времени.

Участие лимфоцитов в циклофосфан-индуцированной гиперплазии слюнных желез у мышей могло быть подтверждено введением

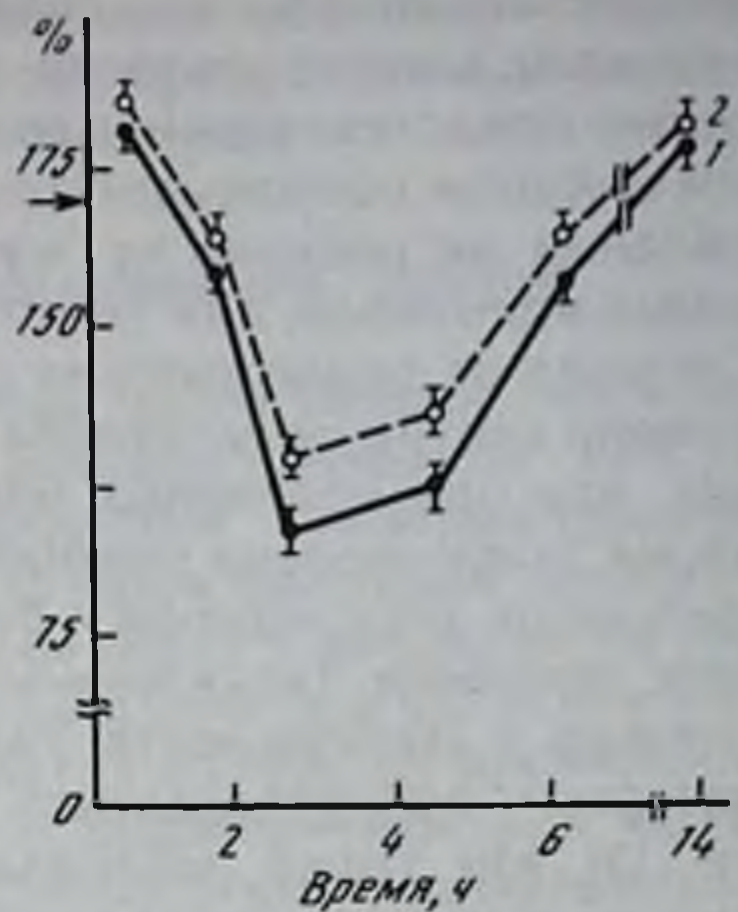
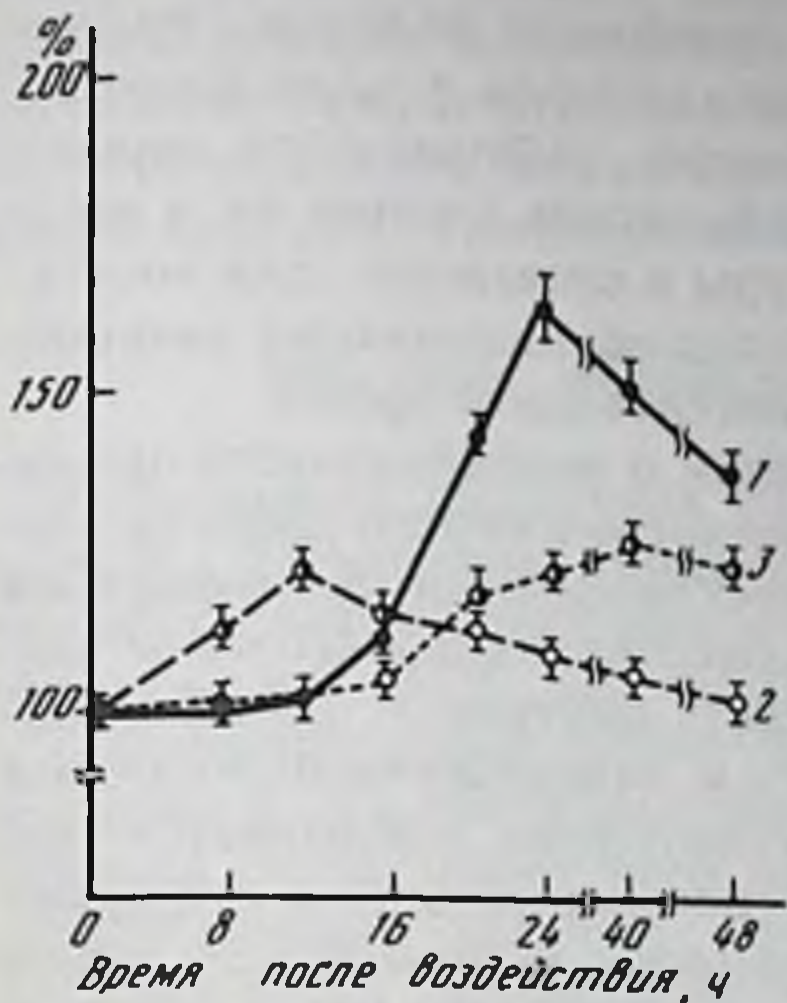


Рис. 8. Запуск реакции гиперплазии слюнных желез у мышей различными способами. По оси ординат — прирост массы желез (в процентах к интактным животным). 1 — введение изопротеренола; 2 — введение лимфоцитов, полученных через 16 ч после введения изопротеренола мышам-донорам; 3 — введение циклофосфана

Рис. 9. Элиминация предшественников КРП циклофосфаном и гидрокортизоном. 1 — введение циклофосфана; 2 — введение гидрокортизона. Реакция на изопротеренол интактных животных показана стрелкой. Другие обозначения см. на рис. 8

животным анти-Thy-1-сыворотки, которая отменяла реакцию как на изопротеренол, так и на циклофосфан.

Так как по современным представлениям реакция лимфоцитов восстанавливается после обработки цитостатиками за счет пополнения их количества из костномозговых предшественников, исследовали скорость восстановления реакции на изопротеренол у мышей после элиминации предшественников высокими дозами циклофосфана и гидрокортизона (рис. 9). Известно, что введение этих веществ в дозе 200—300 мг/кг массы ведет к иммунодефициту в течение месяца. В наших исследованиях аналогичные дозы обоих препаратов отменяли реакцию на изопротеренол с третьего по пятый день от момента введения препарата. Аналогичным образом в первые два дня отмечалось также повышение фоновой массы желез без введения изопротеренола. Последнее, видимо, можно расценивать как более быструю элиминацию лимфоцитов-супрессоров по сравнению со стимуляторами, что хорошо согласуется с теоретическими выкладками. Обращает на себя внимание быстрое восстановление реакции на изопротеренол, тогда как иммунная реакция в таких условиях оказывается, по данным литературы, дефектной в течение месяца. Это согласуется с данными литературы о быстром восстановлении в аналогичных условиях реакции сингенной смешанной культуры лимфоцитов при значительно более длительном сроке восстановления — для аллогенной смешанной культуры клеток. Такая особенность может говорить скорее не столько о различиях в популяциях, определяющих ту или иную реакцию, сколько о том, что постоянно

протекающая в организме "сингенная смешанная реакция", видимо тождественная реакции лимфоцитов-регуляторов в ходе физиологического самообновления тканей, быстро "выбирает" из вероятно представляемых идиотип-специфических клонов те, к которым имеются комплементарные структуры в организме, для восстановления же реакции на "чужое" необходимо накопление разнообразных идиотипов, для чего требуется значительное время.

Исходя из теоретических представлений о необходимости пролиферации клеток-регуляторов в ходе выполнения своего эффекта следует, что при повторных реакциях стимулирования пролиферации той же ткани-мишени реакция будет осуществляться с большим числом клеток-регуляторов и будет протекать быстрее — феномен "памяти" процесса. Такая неиммунная, хотя и лимфоцит-зависимая, как показано в эксперименте, память, действительно, наблюдается при повторном воспроизведении переноса "регенерационной информации" [5]. Мы также наблюдали статистически значимое повышение реакции у мышей при повторном введении изопротеренола [13], что сопровождалось и повышением реакции бластообразования лимфоцитов в регионарных лимфоузлах и селезенке. Проявление памяти (—) типа можно было наблюдать в случае неспецифического стимулирования КРП системы, например в ходе индукции регенерации печени в ответ на введение четыреххлористого углерода. Повторное повреждение печени приводило к менее значимой неспецифической гиперплазии слюнных желез — 27 и 11% соответственно. Необходимость пролиферации лимфоцитов для становления "памяти" могла быть продемонстрирована введением одновременно с изопротеренолом циклофосфана — такая процедура отменяла формирование "памяти" на повторное введение препарата.

Используя моноклональные анти-Ly-1-антитела против общих детерминант мышинового Ly-1-антигена — R1 α -Ly-1-антитела (Япония), в комплексе с антииммуноглобулиновыми антителами и компонентом, удалось показать при сингенном переносе, что клетки-стимуляторы селезенки (I пик) представлены положительными по этому антигену лимфоцитами клетками в ходе первичной реакции, тогда как такая обработка не могла отменить реакцию гиперплазии слюнных желез при повторном введении изопротеренола. Это хорошо согласуется с представлениями, что в первичной реакции сингенной смешанной культуры лимфоцитов, которую можно считать аналогом разбираемых процессов *in vivo*, участвуют главным образом Ly-1⁺-лимфоциты, а во вторичной — Ly-2⁺-лимфоциты. Недавно такая закономерность подтверждена при исследовании сингенной смешанной культуры лимфоцитов, индуцируемой клетками Купфера в ходе первичной и повторной регенераций печени.

Для исследования значимости антигенов главного комплекса гистосовместимости в осуществлении эффектов КРП исследовали развитие реакции при переносе КРП от сингенных и аллогенных — BAL B/c- и C57Bl/6-мышей. Оказалось, что при первичном введении изопротеренола эффект переноса гиперплазии мышам-реципиентам

воспроизводился лишь в сингенной комбинации, тогда как во вторичной реакции барьера гистосовместимости не наблюдалось. Это напоминает первичную и вторичную иммунные реакции — барьер гистосовместимости, как известно, удается преодолеть для кооперации клеток в ходе вторичной реакции на антиген.

КРП при репаративной регенерации печени

Регенерация различных органов, в том числе печени, является хорошо изученным процессом, при котором выявлены КРП, и осуществляется лимфоцитами, переносящими "регенерационную информацию" [3—5, 43]. Исследования авторов феномена показали, что активация лимфоцитов—переносчиков эффекта наблюдается уже в первые 4—6 ч после индукции регенерации печени и сохраняется в течение суток, после чего резко снижается вплоть до проявления ингибирующего эффекта, но может воспроизводиться и в более поздние сроки регенерации печени. В соответствии с развиваемыми теоретическими представлениями в более поздние сроки должны активироваться клетки-супрессоры.

Известно, что уже в течение получаса после резекции или повреждения печени токсическим агентом ее клетки, оставшиеся интактными, переходят в G_1 -состояние и вступают в клеточный цикл с индукцией синтеза ДНК примерно через сутки. В соответствии с нашими теоретическими представлениями такой процесс должен протекать по единой схеме, общей с разобранной гиперплазией слюнных желез: при быстром активировании пролиферации клеток-регуляторов (+) типа и через сутки — (—) типа. Исследование кинетики бластообразования в селезенке подтвердило эту картину (рис. 10) Параллельное исследование включения 3H -тимидина в клетки селезенки показало наличие двух пиков пролиферации в течение суток, совпадающих с пиками бластообразования, причем после второго пика повышения пролиферации интенсивность включения метки в переживающие в кратковременной культуре клетки резко снижалась — ниже фона. Последнее, характерное и для изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез, видимо, указывает на активирование неспецифических клеток-супрессоров пролиферации, подавляющих и фоновую, достаточно высокую для клеток селезенки, пролиферацию.

Так как обработка анти-Thy-сывороткой и комплементом отменяла реакцию увеличения пролиферации в кратковременных культурах клеток селезенки для клеток обоих пиков, можно заключить, что пролиферировали в основном Т-клетки. Для оценки функции бластообразующих клеток их переносили интактным или обработанным четыреххлористым углеродом реципиентам. Как показано на рис. 11, клетки I пика стимулировали, а II пика подавляли включение 3H -тимидина в гепатоциты мышей-реципиентов. Включение метки оценивали в кратковременных переживающих культурах печеночной ткани, что, как неоднократно подтверждено,

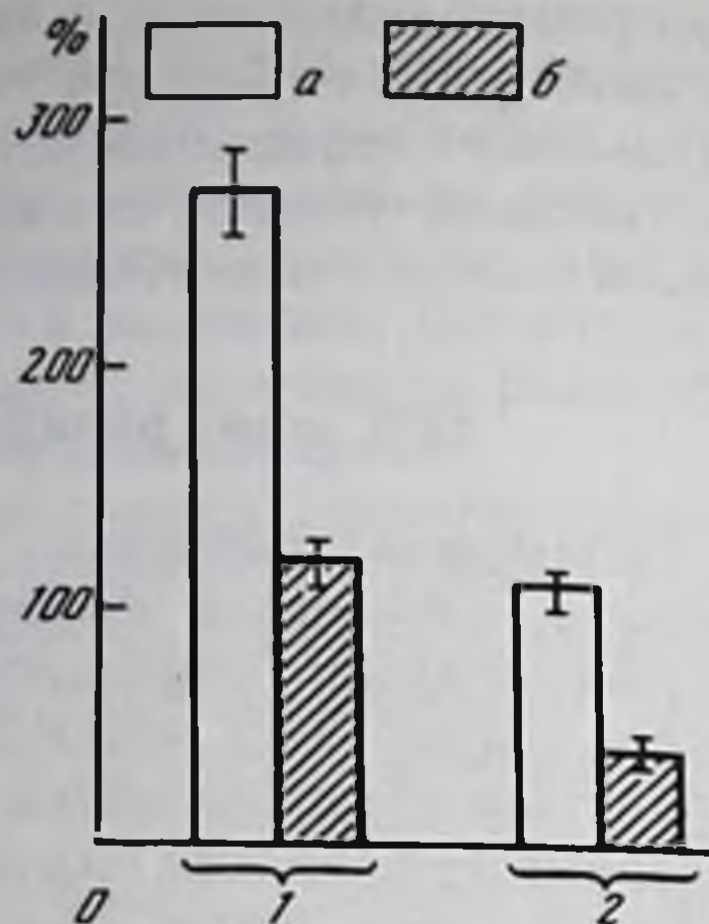
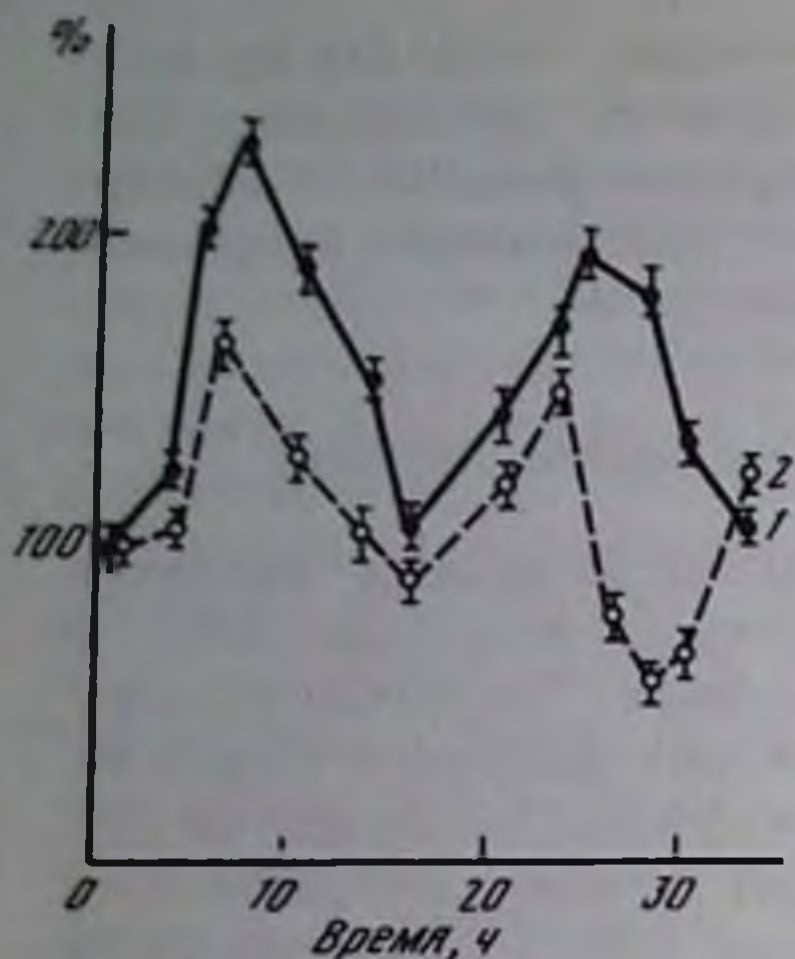


Рис. 10. Кинетика активации лимфоцитов селезенки мышей, получивших CCl_4

По оси абсцисс — время после введения CCl_4 ; по оси ординат — параметры (в процентах к интактным). 1 — количество бластных клеток в селезенке; 2 — включение ^3H -тимидина в клетки селезенки

Рис. 11. Сингенный перенос бластных клеток селезенки от CCl_4 -обработанных животных к интактным и CCl_4 -обработанным реципиентам

По оси абсцисс — условия переноса; по оси ординат — изменение включения ^3H -тимидина (в процентах к включению у контрольных животных). 1 — перенос клеток, взятых через 6 ч после введения CCl_4 реципиентам; 2 — перенос клеток, взятых через сутки после введения CCl_4 реципиентам; а — перенос интактным реципиентам; б — перенос CCl_4 -обработанным реципиентам

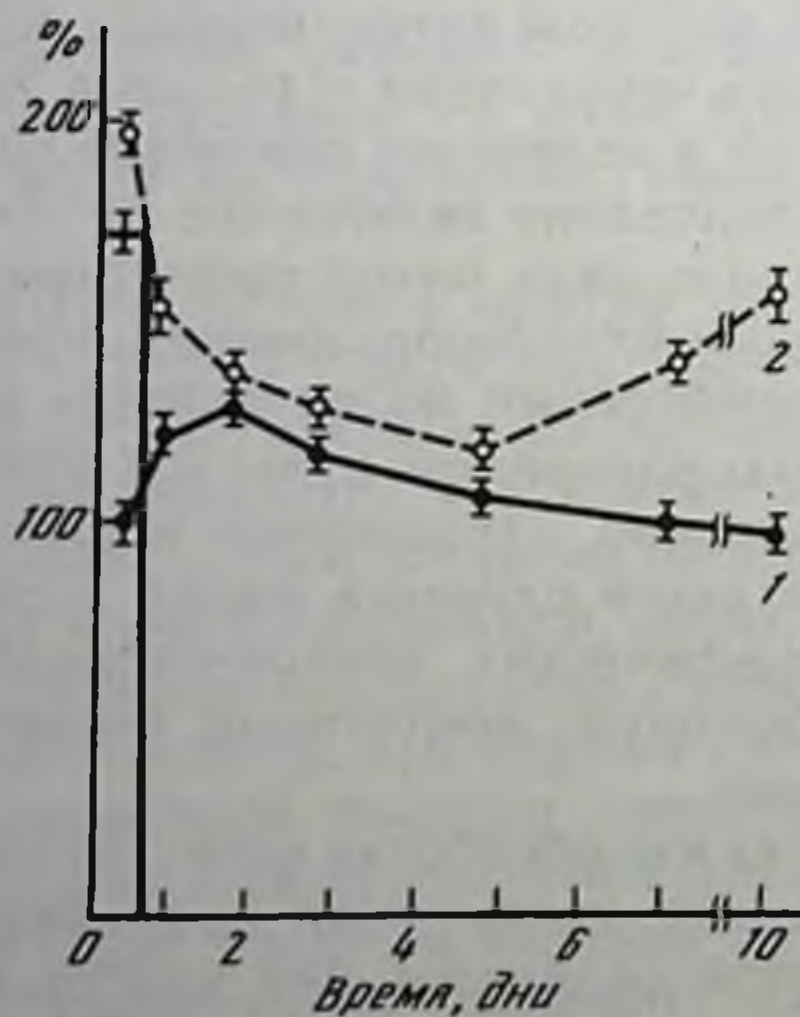
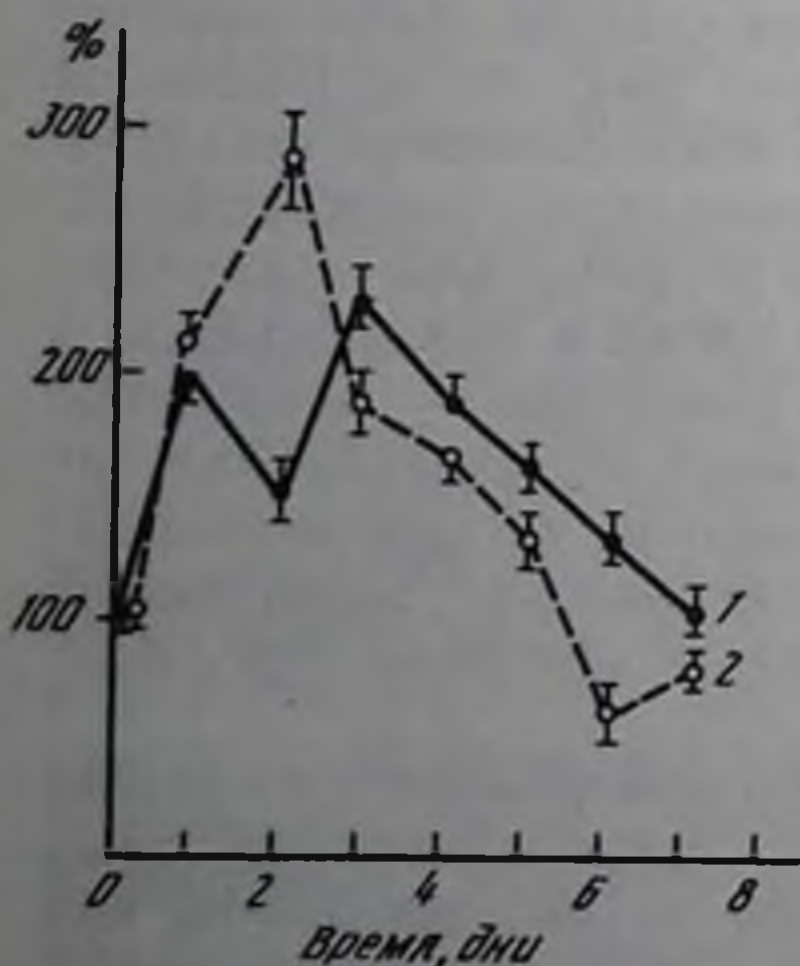


Рис. 12. Кинетика активации лимфоцитов селезенки мышей, получивших CCl_4

По оси ординат — параметры (в процентах). 1 — число бластных клеток; 2 — включение ^3H -тимидина

Рис. 13. Кинетика фоновой и изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез у мышей, получивших CCl_4

По оси абсцисс — дни после введения CCl_4 ; по оси ординат — масса слюнных желез (в процентах к интактным). 1 — фоновое значение; 2 — реакция на изопротеренол

позволяет адекватно оценивать пролиферативную активность гепатоцитов на данный момент исследования.

Известно, что регенерация печени заканчивается у мышей в течение недели, что должно вести к активированию клеток-стимуляторов преимущественно в первые дни, а ингибиторов — к концу этого срока. Бластообразование в селезенке действительно увеличено в течение всего этого срока (рис.12).

Как и в случае с изопротеренолом, повторные введения четыреххлористого углерода повышали и уровень бластообразования в селезенке животных.

Из теоретических представлений следует возможность и неизбежность интерференции пролиферации клеток разного типа, ввиду постулированной неспецифичности эффекта КРП I. Действительно, известно из исследований различных авторов, что в первые сутки после индукции регенерации печени происходит значительное повышение пролиферативной активности самых различных типов клеток организма — мегакариоцитов, клеток эритроцитарного ряда, а также клеток паренхиматозных органов и т.д. [3, 22].

На рис.13 показано наблюдаемое нами изменение массы слюнных желез у мышей с регенерирующей печенью и изменение у них реакции на изопротеренол. Отмечается значимое увеличение массы желез у мышей через сутки после индукции регенерации печени. Характерно, что максимум реакции несколько запаздывает в соответствии с несколько растянутой кинетикой цикла гепатоцитов. В дальнейшем, несмотря на продолжение регенерационного процесса, происходит снижение массы желез, а также снижение реакции на изопротеренол, что можно трактовать как активацию КРП (—), подавляющих неспецифическую пролиферацию непеченочной ткани. При одновременном введении изопротеренола и четыреххлористого углерода реакция желез значительно усиливается, что согласуется с представлением о дополнительном стимулировании в таком варианте КРП (+) I типа.

В ходе пассивного переноса интактным реципиентам бластных клеток селезенки от животных с регенерирующей печенью всегда наблюдалась и неспецифическая гиперплазия слюнных желез. Реакция воспроизводилась при сингенном переносе, но не при переносе аллогенных клеток и исчезала при обработке бластных клеток анти-Thy-сывороткой и комплементом.

Таким образом, регуляция процессов пролиферации соматических клеток как специфическими, так и неспецифическими механизмами позволяет проявляться интерференции для одновременно протекающих процессов пролиферации различных типов клеток в зависимости от фазы процесса как в сторону стимулирования, так и в сторону ингибирования эффекта.

УПРАВЛЕНИЕ ПРОЦЕССОМ ПРОЛИФЕРАЦИИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА СИСТЕМУ КРП

Наличие лимфоцитов-регуляторов пролиферации, оказывающих стимулирующее и ингибирующее действие на процессы роста соматических клеток, делает возможным оказывать влияние на пролиферативную активность соматических клеток при самых различных процессах посредством воздействия на КРП-систему.

Из иммунологии известно значительное число биологически активных веществ, влияющих на активность лимфоцитов, главным образом на Т-хелперы и Т-супрессоры. Отсутствие реакции на изопротеренол при элиминации лимфоцитов тем или иным способом указывает на выраженность этого уровня регуляции для пролиферации соматических клеток. Известно, что регенерация, для которой участие КРП доказано, может выражено изменяться под воздействием целого ряда агентов — простагландинов, биогенных аминов, микроэлементов и других веществ, известных как иммуномодуляторы [11, 38, 40].

Наличие удобной экспериментальной системы — индуцированного фармакологическими агентами процесса пролиферации соматических клеток, — гиперпластическая реакция слюнных желез грызунов на изопротеренол дает возможность исследовать в этой зависимой от КРП реакции регулирующее влияние ряда биологически активных веществ, к которым известна чувствительность лимфоцитов:

Мы вводили мышам BALB/c в различные сроки после введения изопротеренола 100 мкг оксопроизводных простагландинов E_2 и F_2 , обладающих продленным биологическим эффектом (синтетические препараты производства Института органического синтеза Латв АН СССР). Регистрация реакции (рис.14) через сутки показала, что ПГЕ₂, вводимый непосредственно до изопротеренола, выражено ингибирует реакцию на изопротеренол, тогда как через 2 ч после изопротеренола стимулирует ее. На бластные клетки, выделенные через 4 ч после введения изопротеренола, ПГЕ₂ оказывал стимулирующее влияние, повышая интенсивность включения ³H-тимидина в кратковременных культурах выделенных бластных клеток селезенки. Простагландин F_2 оказывал противоположный эффект. При элиминировании КРП (—) предварительным, за сутки, введением циклофосфана ПГЕ₂ оказывал только стимулирующее действие. Такой эффект, типичный и для иммунной реакции, указывает на две точки приложения ПГЕ₂: стимулирование супрессорных клеток к усилению их супрессорного эффекта, что может происходить и без стимуляции пролиферации их, и прямое стимулирование пролиферации КРП (+). Такой эффект позволяет в зависимости от условий получить как стимулирование, так и ингибирование реакции под действием одного и того же препарата. Известно из иммунологии, что ПГЕ₂ стимулирует Т-супрессоры к выделению ими супрессорного фактора, а для Т-хелперов стимулирует их пролиферацию, в обоих случаях опосредованно через повышение внутриклеточного цАМФ.

Исходя из известного эффекта на иммунную систему биогенных

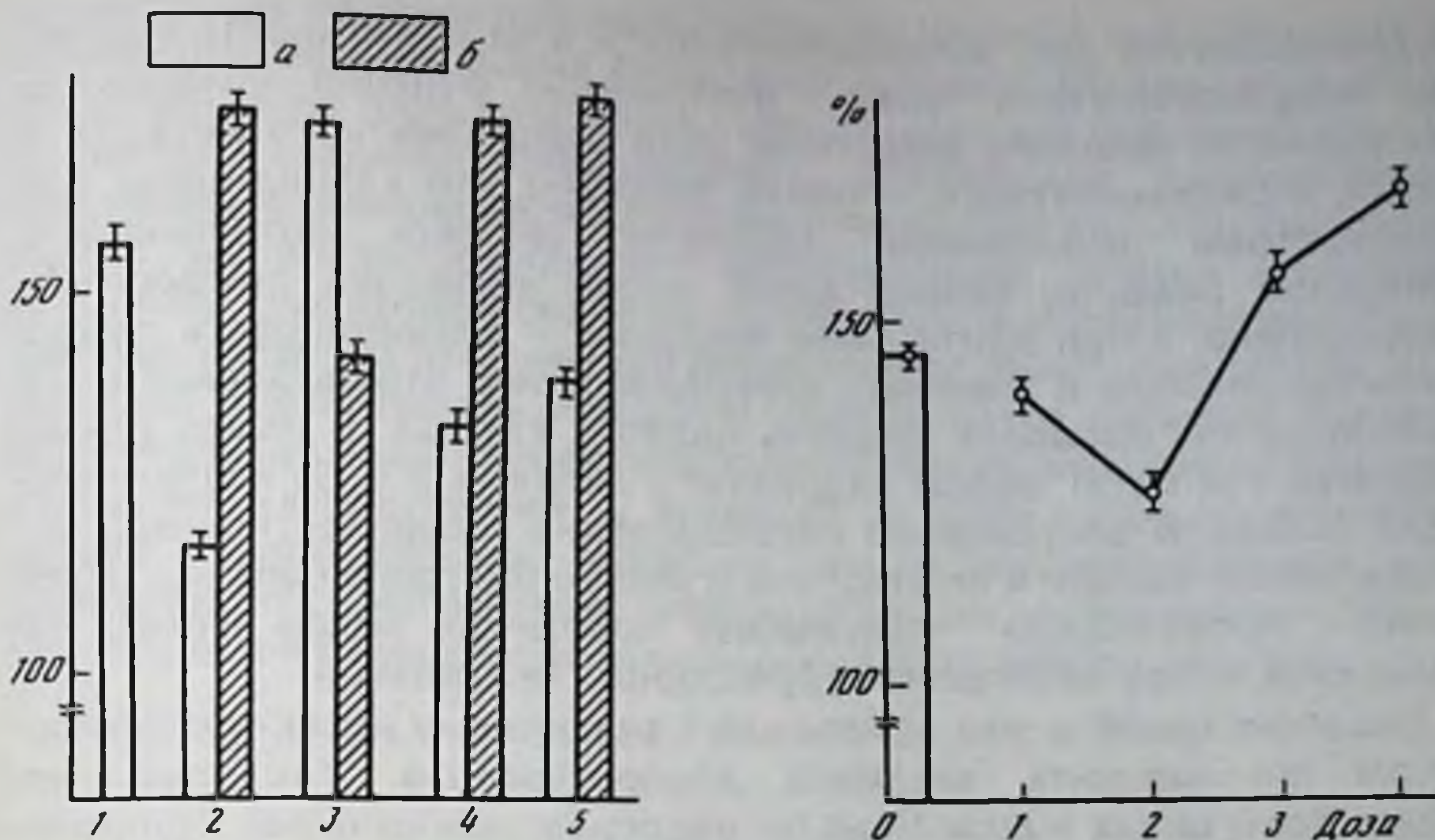


Рис. 14. Влияние биологически активных веществ на изопротеренол-индуцированную гиперплазию слюнных желез у мышей

По оси абсцисс — вводимые вещества; по оси ординат — прирост массы желез (в процентах к интактным). 1 — изопротеренол; 2 — ПГЕ₂; 3 — ПГФ₂; 4 — гистамин; 5 — лимфокейлон; а — введение препарата за 2 ч до изопротеренола; б — введение препарата через 6 ч после изопротеренола

Рис. 15. Влияние различных доз глюкокортикоидов на индукцию изопротеренолом гиперплазии слюнных желез у мышей

По оси абсцисс — доза преднизолона (—lg дозы, выраженной в мкг); по оси ординат — прирост массы желез (в процентах к интактным). Реакция на изопротеренол у интактных животных показана столбиком

аминов — гистамина и ДОФА [11,40], мы исследовали действие этих веществ в нашей системе. Оказалось, что введение серотонина и гистамина за несколько часов до изопротеренола ингибирует, а после — стимулирует гиперплазию слюнных желез (см. рис.14). Введение препарата ДОФА стимулировало гиперплазию. Такая кинетика характерна и для влияния этих препаратов на иммунную реакцию. Так как известна тропность этих веществ к Т-супрессорам, а эффект ингибирования отменялся предварительным введением циклофосфана, можно заключить, что механизм действия их аналогичен таковому для ПГЕ₂.

Так как циклофосфан обладает неспецифическим цитотоксическим эффектом, мы исследовали влияние его на процесс гиперплазии слюнных желез в сравнении со специфическим лимфостатиком — лимфокейлоном, полученным от С.А.Кетлинского. Препарат лимфокейллона обладал принципиально сходным с циклофосфаном действием: вводимый до изопротеренола, он стимулировал, а после — подавлял реакцию на изопротеренол. Это соответствует представлению о высокой чувствительности предсуществующих клеток-супрессоров к цитостатикам и индукции после введения изопротеренола пролиферации клеток-стимуляторов.

Известная выраженная реакция иммунной системы на целый ряд

микроэлементов дает основание надеяться на возможность коррекции микроэлементами также и неиммунных функций лимфоцитов. Исследовали введение животным соли одновалентного металла — лития, и двухвалентного — цинка. Известно, что хлорид цинка при однократном применении способен снижать интенсивность иммунной реакции, скорее всего, путем активации лимфоцитов-супрессоров, а при длительном введении — элиминировать лимфоциты-супрессоры и повышать иммунный ответ, что связывают с его способностью повышать уровень цАМФ в клетках. В нашем случае введение 100 мг/кг массы хлористого лития за 2 ч до изопротеренола вызывало достоверное ингибирование гиперпластической реакции желез, однако в последующем вместо быстрого обратного развития происходило дальнейшее повышение массы желез, по-видимому, ввиду истощения супрессорных механизмов.

Введение солей цинка приводило к различному эффекту в зависимости от момента введения изопротеренола. Так, введение хлористого цинка в дозе 10 мг/кг непосредственно перед изопротеренолом интенсивно ингибировало реакцию, тогда как через 16 ч — после прекращения пролиферации КРП (+) и перед началом пролиферации КРП (—) — удлиняло реакцию. Оба эффекта могут быть объяснены подавлением пролиферации лимфоцитов-стимуляторов при введении микроэлемента в ранние сроки и ингибиторов — в поздние. Ингибирование пролиферации лимфоцитов, известное и для иммунной реакции в присутствии высоких концентраций солей цинка, связывают обычно со способностью этих, как и некоторых иных, двухвалентных ионов интерферировать с ионами кальция. Характерно, что при исследовании регионарных лимфоузлов шеи и селезенки у цинк-обработанных мышей повышалось содержание лимфоцитов высокой плотности в лимфоузлах и снижалось — в селезенке. Видимо, это связано с торможением процессов миграции лимфоцитов, активирующихся в лимфоузлах и мигрирующих, судя по кинетике накопления активных клеток в ходе изучаемых процессов, в селезенку. Этот эффект торможения миграции также типичен для действия ионов цинка на лимфоидные клетки, что связывают с влиянием на кальциевые механизмы процесса.

Известна выраженная реакция иммунной системы на глюкокортикоиды, что определяет их широкое использование на практике. В зависимости от дозы и времени введения обнаруживают как стимулирующее, так и ингибирующее влияние этих препаратов, причем мишенью их действия являются Т-клетки. Показано, что в небольших дозах глюкокортикоиды способны активировать Т-супрессоры, вероятно, стимулируя продукцию ими супрессорного фактора через повышение цАМФ, а также увеличивать миграцию супрессорных лимфоцитов из тимуса. В больших дозах эти препараты ингибируют иммунную реакцию, влияя непосредственно на пролиферацию клеток-эффекторов и на процессы кооперации.

При исследовании влияния глюкокортикоидов на изопротеренол-индуцированную гиперплазию слюнных желез нами также был обнаружен принципиально двухфазный эффект их действия — сти-

мулирование реакции при использовании высоких доз препарата и ингибирование — на низких дозах, если преднизолон вводился непосредственно до изопротеренола (рис. 15). Так как предварительное, за сутки, введение циклофосфана, истощающее супрессорные механизмы, отменяло ингибирование и не влияло на стимулирующий эффект, мы предположили, что ингибирование связано с прямым действием глюкокортикоидов на супрессоры, а стимулирование — с прямым эффектом на стимулирующие клетки. Выше отмечалось, что введение преднизолона в большой дозе за сутки истощает супрессорные механизмы, повышая гиперпластическую реакцию железистых клеток на изопротеренол, а введение за трое суток — отменяет эффект изопротеренола, очевидно, ввиду индуцированного иммунодефицита с истощением лимфоидного ростка костного мозга — типичный для глюкокортикоидных препаратов эффект действия.

Глава VI

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ КРП

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАСПОЗНАВАНИЯ "СВОЕГО" И "ЧУЖОГО" — ОСНОВА СПЕЦИФИЧНОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ КРП

Важнейшим свойством функционирования лимфоцитов, обнаруженным в эксперименте, является тесная связь с системой главного комплекса гистосовместимости. В свете новейших данных ясно, что с комплексом гистосовместимости связаны как процессы распознавания антигена, так и механизмы взаимодействия клеток между собой.

Первые признаки узнавания "своего" мы находим в филогенезе у первых многоклеточных организмов. Одноклеточные не способны еще сохранять сколь-либо долго свою специфичность. Так, амёбы, происходящие из различных водоемов, оказываются не способными к приращению кусочков тела друг друга, но при совместном культивировании скоро утрачивают специфичность, которая, таким образом, целиком зависит от состава среды культивирования [83]. Закрепление специфичности поверхностных гликопротеидов клетки в геноме является важнейшим эволюционным приобретением, обеспечивающим создание возможности совместимости "своего" и исключения "чужого" — феномен, известный в примитивном виде как "сингенное предпочтение": смесь "своих" клеток выполняют любые функции лучше, чем смесь "чужих". В основе феномена лежит формирование контактов между "своими" клетками, объединившимися в единое целое.

Удивительно рано в филогенезе появляются аллели гистосовместимости в пределах вида — уже у гидр их обнаружено шесть [83]. Интересен процесс отторжения гетеротрансплантатов у таких низко-

организованных многоклеточных, как гидры: клетки гидры другого типа, отличающиеся, например, по окраске, вначале приживаются и функционируют, но постепенно ложе трансплантата уменьшается и он оказывается оттеснен собственными клетками хозяина. При таком процессе отсутствует собственно иммунная реакция — нет инфильтрации ткани трансплантата, а отторжение целиком определяется аллогенным исключением. Представляется, что в таком процессе могли бы участвовать КРП: отсутствие "помощи" для пролиферации клеток "чужого" трансплантата может полностью объяснить наблюдаемую картину вытеснением его нормально размножающимися пролиферирующими "своими" клетками.

Структура и свойства компонентов главного комплекса гистосовместимости в настоящее время в значительной мере расшифрованы.

Антигены главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) делят на два больших класса, значительно различающихся по биохимической природе и значению, которое они имеют для иммунной реакции. Антигены I класса представлены H-2K, H-2D и H-2L-областью у мышей или HLA-A, -B- и -C-областью у человека. Они весьма полиморфны — до 25% различий в аминокислотном составе, хотя состоят из одной вариабельной полипептидной цепи, связанной на мембране клетки с неполиморфной молекулой β_2 -микроглобулина. Полиморфизм состава является результатом случайного дрейфа генов, а не приспособлением, что подтверждено статистическими выкладками, и распространяется как на внеклеточный, так и на цитоплазмический участок молекулы при выраженной консервативности трансмембранного домена. Молекулярная масса вариабельной цепи составляет 45 кДа — 345 аминокислотных остатков. На мембране всех ядродержащих клеток имеется значительное количество антигенов данного класса — порядка $5 \cdot 10^5$ молекул, или 1% от всего мембранного белка. Содержание антигенов I класса ГКГ мало изменяется при различных функциональных состояниях клетки и не изменяется значимо в ходе клеточного цикла. Эти антигены являются главными для активации Т-киллеров в ходе иммунной реакции, причем реакция на них может идти без участия А-клеток. Гаптены, к которым развивается реакция замедленной гиперчувствительности, распознаются обычно в комплексе с данными антигенами при активации Т-киллеров.

В отличие от антигенов I класса антиген II класса ГКГ представлен двумя различными пептидными цепями — α -цепью с молекулярной массой 33 кДа и β -цепью с молекулярной массой 28 кДа. С генами, кодирующими эти антигены, связываются так называемые I_r- и I_s-гены — "гены иммунного ответа", что определяется способностью антигенов II класса самостоятельно или в комплексе активировать Т-хелперы. У мышей класс II ГКГ представлен так называемыми I_a-антигенами, у человека — D_r. На I_a-антигены реагируют преимущественно Ly-1⁺-Т-лимфоциты хелперного типа, что, возможно, определяется способностью этой структуры связываться с неполиморфной частью I_a-антигена [69]. Некоторое время назад считали, что I_a-антигены ответственны только за иммунную реакцию и представлены только на антиген-представляющих клетках, прежде всего макрофагах — А-

клетках, однако теперь данные структуры обнаружены также на активно пролефирующих клетках и при ряде физиологических и патологических процессов, связанных с гиперпластическими реакциями, — регенерации, лактации, тиреотоксическом зобе, нормальной реакции ткани на тиреотропный гормон гипофиза и др., а также на клетках ряда опухолей. На клетках, находящихся в G_0 -стадии клеточного цикла синтез Ia-антигена отсутствует, но он обнаруживается на клетках в G_1 - и особенно S-, G_2 -, M-стадии. На А-клетках Ia-антиген представлен главным образом на молодых, недавно закончивших циклы деления клетках, хотя и может вновь увеличиваться в ответ на воздействие лимфокинов в ходе иммунной реакции. На А-клетках новорожденных в течение некоторого времени Ia-антигены не обнаруживаются, что, по-видимому, и играет важную роль в установлении толерантности к "своему".

Считают, что Ia-структуры являются наиболее филогенетически древними [32] из всех белков ГКГ. В надсемейство белков, обладающих функцией распознавания, включают сейчас антигены ГКГ I и II типов, Thy-1-антиген, Ly-1- и Ly-2-антиген, α -, β - и γ , δ -цепи антиген-распознающего рецептора Т-лимфоцитов, κ и λ легкие цепи иммуноглобулинов и все разновидности тяжелых цепей, а также, по различным источникам, ряд других структур. Вероятная последовательность появления отдельных белков этого надсемейства, как это представляется сейчас, отражена на рис. 16. Всем этим структурам присущи свойства распознавания "своих" и "чужих" молекул, но эволюционно более новые молекулы накапливали специфичность распознавания, повышая аффинность взаимодействия, что достигалось за счет увеличения разнообразия антиген-распознающих структур при врожденных и соматических мутациях, клоновом характере представления антиген-распознающих рецепторов.

Одним из древнейших антигенов, видимо, является Thy-1-антиген, широко представленный на клетках разного типа — печени, головного мозга, Т-лимфоцитах, но не на В-клетках. Так как антитела против этого антигена отменяют ауторозеткообразование, но не влияют на реакцию Т-клеток с эритроцитами барана при формировании Е-розеток, полагают, что этот антиген участвует в распознавании "своего" [139].

На подавляющем большинстве В-лимфоцитов этот антиген отсутствует, видимо, как результат вторичной потери в ходе специализации В-лимфоцитов, распознающих прежде всего "чужое". Этот рецептор имеется также и на ряде других клеток, например на нервных клетках.

Другим древнейшим рецептором, распознающим "чужое", является Ly-2-антиген. Он гомологичен переменным областям легких цепей иммуноглобулинов. Несущие Ly-2-антиген Т-клетки представлены всеми функциональными типами лимфоцитов, однако в норме при первичной реакции на антиген супрессорные и киллерные клетки являются преобладающими, причина этого не известна. У безтимусных мышей обнаруживается во взрослом возрасте значительное

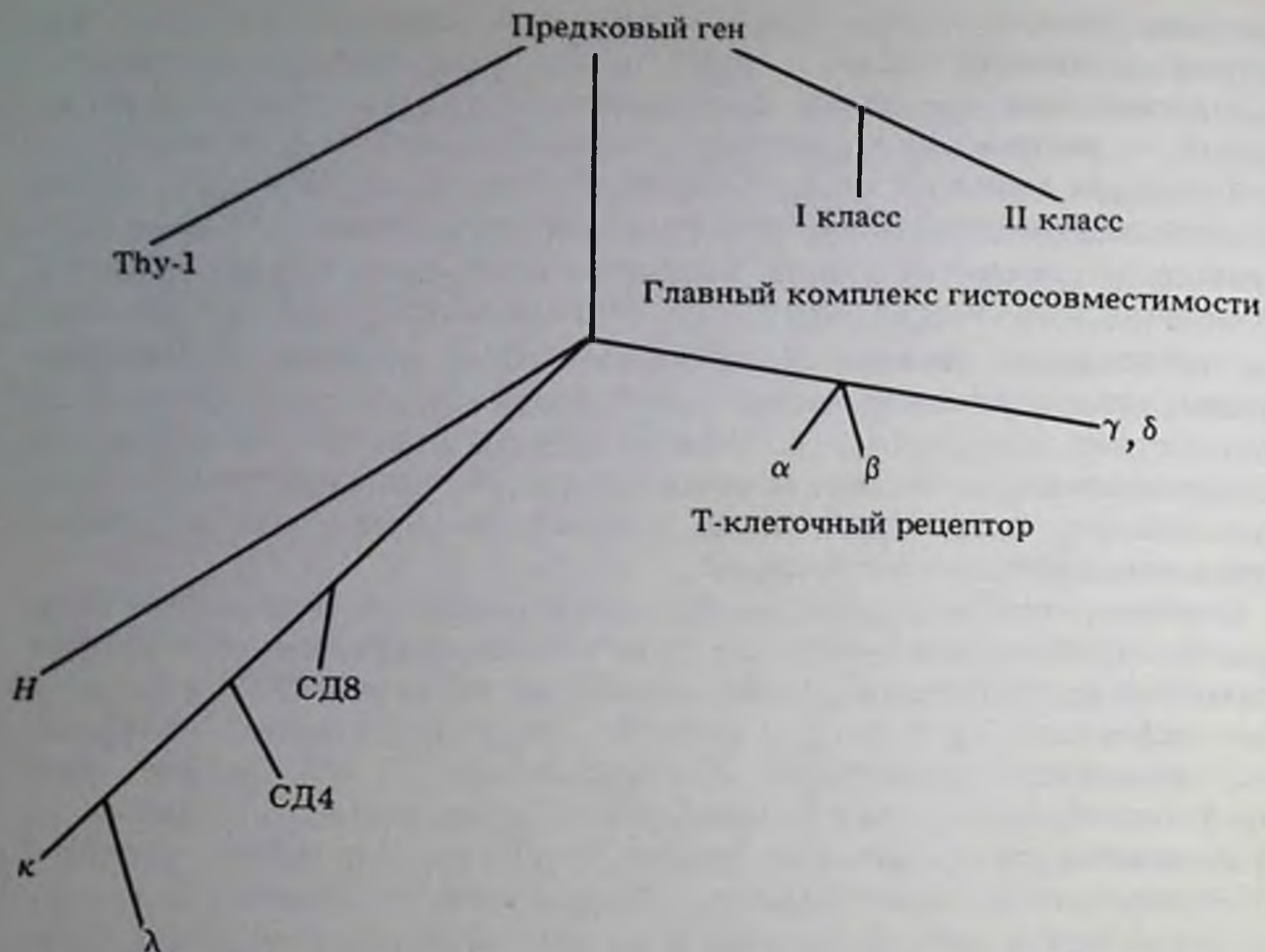


Рис. 16. Вероятная схема филогенеза белков главного комплекса гистосовместимости и родственных им рецепторов клеток. Пояснение в тексте

число $Ly-2^+$ -клеток, как несущих, так и не несущих Thy-1-антиген, локализующихся главным образом в слизистой кишечника. Показана высокая способность $CD8^+$ -Т-лимфоцитов — гомологов $Ly-2^+$ -клеток у человека — активироваться на лимфобластах, а также представлять антиген $CD4^+$ -Т-клеток хелперного типа. В настоящее время считают, что $Ly-1$ - и $Ly-2$ -структура отражают не функциональные ограничения, а ограничения по ГКГ, так $Ly-1^+$ -Т-клетки ограничены прежде всего по ГКГ-системе. Несущие $Ly-2$ -антиген Т-клетки различной функции появляются в конце иммунной реакции. Считают, что доля этих клеток в общей популяции лимфоцитов увеличивается в старости, а также при опухолях.

Пролиферация $Ly-2^+$ -Т-лимфоцитов во многих случаях активируется $Ly-1^+$ -Т-лимфоцитами, выделяющими ИЛ-2, т.е. эти клетки являются прежде всего Т-супрессорами и функционируют как носители ратной отрицательной связи в иммунной реакции. Среди $Ly-2^+$ -клеток есть как антиген-специфические, так и антиген-неспецифические — "фоновые" супрессоры. Некоторые $Ly-2^+$ -Т-лимфоциты могут выполнять функции типичных хелперов, выделяя ИЛ-2. Структуры $Ly-1$ -типа появились в филогенезе, скорее всего, раньше, чем $Ly-2$ -молекулы, и, как считают некоторые исследователи, представляют собой первичный рецептор Т-клеток для неполиморфных детерминат Ia-антигена. Несущие $Ly-1$ -антиген Т-лимфоциты представлены всеми

типами Т-клеток: хелперами, супрессорами, киллерами, однако в ходе первичной иммунной реакции они реагируют в основном как Т-хелперы.

Повышение специфичности распознавания в эволюции привело к появлению специальных структур, составляющих семейство рецепторов Т-лимфоцитов. Структура Т-клеточного рецептора в настоящее время хорошо изучена. Известно, что Т-клеточный рецептор представлен на поверхности Т-лимфоцитов гетеродимером из двух полипептидных цепей — α и β . Наиболее изученной является β -цепь, в N-концевой области которой расположен V-домен, состоящий из V-, D-, J-области, соединяющихся в данном порядке или непосредственно, через D-регион, не транскрибирующийся в последнем случае. Варибельная область соединяется с C-доменом, состоящим из наружной глобулы, соединительного пептида — гомолога шарнирной области антител и полярного цитоплазматического домена. Сходным образом построена α -цепь. Варибельные области α - и β -цепи образуют антиген-связывающие участки и гомологичны соответствующим антиген-связывающим структурам иммуноглобулинов. Гены α - и β -цепи содержат ряд генов, часть которых не активна. Области V значительно различаются по аминокислотному составу и имеют семь гиперварибельных участков. Все эти особенности определяют способность Т-лимфоцитов реагировать с большим числом антигенов, в том числе с аллоантигенами. Считают, что рецептор Т-лимфоцитов имеет врожденный аффинитет к антигенам ГКГ, что и определяет большой процент Т-клеток, реагирующих с аллоантигенами. С белковыми антигенами и гаптенами реагирует значительно меньшая часть Т-лимфоцитов, причем характерно распознавание антигена в комплексе с собственными антигенами ГКГ, так называемое двойное распознавание. Так как на клоновом уровне показано существование Т-лимфоцитов, распознающих одновременно антиген-собственный ГКГ, с одной стороны, и аллоантиген — с другой, считают, что комплекс гаптен + собственный антиген ГКГ распознается как вариант аллоантигена, что, впрочем, не объясняет причин и механизмов такого распознавания. Учитывая развиваемые взгляды о Т-лимфоцитах как регуляторах пролиферации собственных клеток организма, а также существование реакции на собственные Ia-антигены в ходе реакции "сингенной смешанной культуры лимфоцитов" и общность происхождения надсемейства антиген-распознающих молекул, можно рассматривать феномен "двойного распознавания" и наличие значительного количества лимфоцитов, распознающих аллоантиген в интактном, не встречавшемся ранее с этим антигеном организме. "Отбор к своему" может объяснить параллельный отбор специфичностей и к близким антигенам — несколько измененным собственным антигенам при присоединении гаптенов или аллоантигенам, филогенетически являющимися вариантами одного антигена. В обоих случаях в комплексном антигене должны иметься участки, общие с собственными антигенами организма, что и определяет прочность связывания с антиген-распознающими рецепторами лимфоцитов Т-ряда [81, 117, 141, 186, 204, 235, 243].

Сколько-либо четких различий структуры рецепторов Т-клеток различного типа обнаружено не было. Межвидовой гибрид мыш-человек для Т-клеточного рецептора является функционально активным в эксперименте, что указывает на ограниченность функции рецептора главным образом распознаванием различных структур. Не обнаружено на клоновом и генетическом уровнях и различий в распознавании "своего" и "чужого", — по-видимому, такое распознавание — функция более высокого уровня организации иммунной системы — уровня клеточных популяций. Активный характер супрессии к собственным антигенам гистосовместимости с наличием Т-супрессоров к "собственным" антигенам также указывает на это.

В последнее время обнаружены γ - и δ -гены Т-клеточного рецептора, активные лишь для небольшой части лимфоцитов крови [145], функционально, видимо, мало отличающиеся от ранее известных. Резкое увеличение этих типов рецепторов отмечено на Т-лимфоцитах безтимусных мышей. Это, как и обнаруженный консерватизм в эволюции, указывают на древнее происхождение и важную функциональную роль таких рецепторов, не известную к настоящему времени. Интересно было бы сравнить экспрессию этих, филогенетических древних и обладающих, видимо, нешироким спектром действия, генов на КРП и иммуноцитах, не участвующих непосредственно в этой реакции, так как широкий спектр специфичностей, характерный для α - и β -генов, важен не для системы КРП, а для собственно иммунных реакций, связанных с распознаванием большого числа различных чужеродных специфичностей.

Структура Т-клеточного рецептора со многими гипервариабельными участками на двух цепях указывает на принципиальную возможность распознавания собственных и чужеродных антигенов за счет взаимодействия с ними небольшого числа или даже одного гипервариабельного участка, что доказывается, например, обнаружением рестрикции для многих антигенов только по β -цепи Т-клеточного рецептора, тогда как α -цепь не отражается на иммунной реакции. Различия в наборе гипервариабельных участков разного состава объясняют индивидуальную чувствительность к различным аллоантигенам, так как специфичность реакции должна формироваться случайным образом. Наличие нескольких возможных участков связывания антигена рецептором предполагает поликлональный характер ответа даже на антиген низкой молекулярной массы с одной антигенной детерминантой, что имеет место в действительности. Так как за счет нескольких гипервариабельных участков должно наблюдаться многоточечное связывание высокомолекулярных антигенов, это объясняет преимущественное активирование лимфоцитов, чувствительных одновременно к антигенам и к собственным структурам ГКГ, если предварительно лимфоциты селекционированы "к своему". Наличие так называемой сингенной смешанной культуры лимфоцитов, при которой ответ Т-клеток на собственные антигены не отличается от иммунного ответа, указывает на наличие именно такого механизма. Протекающая *in vivo* "сингенная смешанная культура" лимфоцитов, реагирующая на собственные ГКГ, может естественным

образом объяснить описываемые сложные процессы, характерные для иммунной реакции.

Учитывая древнее происхождение КРП, можно было бы предполагать, что КРП I за счет древних структур распознавания (типа Thy-1-антигена, γ - и δ -рецепторов Т-клеток) могли адгезироваться на "своих" клетках, активируясь к пролиферации и активируя пролиферацию соматических клеток. В дальнейшем активное формирование разнообразия, важного для иммунной реакции, по-видимому, привело к формированию α - и β -цепи Т-клеточного рецептора, отличающихся значительной вариабельностью, участвующих прежде всего в реакции на "чужое". Последний тип рецепторов, видимо, мог бы быть представлен на КРП II и III.

В соответствии с развиваемой гипотезой о КРП-системе интерес представляет тот факт, что на всех ядродержащих клетках в организме присутствуют молекулы ГКГ, причем филогенетически древнего II класса присутствуют лишь на активно пролиферирующих клетках соматической ткани в G_1 -, S - и $M-G_2$ - фазе цикла. На примере иммунного ответа известно, что эти антигены участвуют в кооперации клеток, что является центральным моментом активации антигенчувствительных клонов и их пролиферации в ходе иммунного ответа. Аналогичным образом Ia-антигены участвуют в активации пролиферации Т-лимфоцитов, чувствительных к собственным структурам организма, в ходе сингенной СКЛ. Это, как и обнаружение недавно появления Ia-антигенов на гиперплазирующихся, опухолевых и иных готовящихся к пролиферации клетках, как нельзя лучше соответствует представлениям об участии лимфоцитов-регуляторов пролиферации в поддержании пролиферативного потенциала любых клеток в организме. Появление в филогенезе G_0 -состояния клеток, по-видимому, должно было вторично привести к "выключению" из регуляции этих клеток путем прекращения экспрессии Ia-антигена. Одновременно с увеличением разнообразия клеточных типов в организме возникла необходимость иммунной защиты от экспрессии чужеродных антигенов в ходе инфекции, опухолевого перерождения и т.д. Для этого, видимо, и возникла система высокополиморфных антигенов ГКГ I класса, широко представленных на всех типах клеток вне зависимости от их функционального состояния.

Посмотрим, что может дать стандартная, разобранная схема функционирования КРП для уточнения общей картины иммунной реакции, толерантности, сингенной смешанной культуры лимфоцитов и иных процессов, генам ГКГ в которых принадлежит важная функциональная роль.

Сформулируем некоторые исходные положения в следующем виде.

1. В соответствии с общей теорией КРП хелперные типы клеток активируются на клетках, находящихся в G_1 -фазе цикла, а супрессорные — на пролиферирующих клетках — в S -, G_2 -, M - и поздней G_1 -стадии. Выраженность активации пропорциональна в организме числу клеток, находящихся в этих состояниях. Обычно для тканей самого разного типа справедливо распределение $G_0 \gg G_1 \gg S$.

2. Структурами, вызывающими активацию КРП, являются антигены ГКГ.

3. Рецепторы Т-лимфоцитов изначально не обладают каким-либо аффинитетом к определенным структурам ГКГ, антигена, Ia и др. Выявляемая чувствительность должна формироваться на уровне взаимодействия популяций лимфоцитов, в ходе иммунных, сингенных, толерогенных реакций.

4. За счет нескольких гипервариабельных участков рецептора и двух цепей рецепторы Т-клеток могут реагировать одновременно с несколькими структурами ГКГ или его комплекса с антигеном.

5. Наличие дополнительных рецепторов на Т-клетках вносит дополнительные черты разнообразия в картину: Ly-1-несущие Т-клетки способны к более выраженной адгезии на Ia-несущих клетках за счет реакции с неполиморфными детерминантами Ia-антигена. Количественные различия Ly-1⁺- и Ly-2⁺-популяции разного функционального состава формируются на уровне взаимодействия популяций в ходе конкретных реакций.

6. Следует учесть, что в процессе эволюции появлялись дополнительные системы усиления реакций активации Т-лимфоцитов за счет выделения Ia⁺-клетками ИЛ-1, действующего на Т-хелперы, и стимуляции активации взаимодействующих с Т-хелперами Т-клеток ингибирующего типа выделением Т-хелперами ИЛ-2, активирующего как лимфоциты-эффекторы, так, по-видимому, и все Ly-2⁺-лимфоциты.

Рассмотрим вначале, какие взаимодействия исходя из вышеприведенного, должны были сформироваться в лимфоидной системе в ходе ее становления в онтогенезе — период новорожденности. В этот период особенностью является наличие факта установления толерантности к "своему". Известно, что в течение некоторого времени после рождения А-клетки, являющиеся основными в стимуляции Т-хелперов, не экспрессируют Ia-антигенов; в организме циркулирует еще значительное количество эмбриональных факторов роста, что определяет интенсивность пролиферации соматических клеток, т.е. значительное число клеток находятся в поздней G₁-, S- и G₂-M-фазе. Оба факта способствуют активации Т-супрессоров на активно пролиферирующих клетках при сниженной активации Т-хелперов, что должно вести к формированию толерантности к "своему", формируя активную толерантность к собственным антигенам ГКГ I класса. Так как Ia-антигены экспрессируются мало в этот период, активироваться должны прежде всего Ly-2⁺-Т-клетки, у которых Ly-2-рецептор обладает некоторым сродством ко всем антигенным структурам. Эти Ly-2⁺-Т-супрессоры, описанные теоретически выше, очень напоминают экспериментально известные фоновые супрессоры, всегда активные в организме, несущие Ly-2⁺-фенотип и требующие для поддержания своей активности пролиферации клеток — в культуре свежывыделенных лимфоцитов без митогенной стимуляции эти фоновые супрессоры элиминируются в течение суток.

При появлении Ia-антигена через несколько дней после рождения значительное число клеток в G₁-фазе цикла должно появиться в

результате быстрого снижения эмбриональных факторов роста, что ведет к преходящему (G_1/S)-блоку; это должно вести к стимуляции $Ly-1^+$ -Т-лимфоцитов, неспецифически сорбирующихся на Ia^* -клетках за счет реакции $Ly-1$ -структур с непалиморфной частью Ia -структур. Так как в этот период уже активированы Т-супрессоры, направленные к собственным антигенам ГКГ I класса, должна наблюдаться активация преимущественно $Ly-1^+$ -Т-хелперов, чувствительных к Ia -структурам, появившимся через некоторое время после рождения. Последнее отражает "обучение к своему" и приводит к избирательной активации Ia -чувствительных Т-хелперов. Популяция таких Т-хелперов должна быть гетерогенной — реагировать должны все $Ly-1^+$ -лимфоциты, вариабельные области которых способны распознавать Ia -структуры. Так как имеется несколько участков возможного связывания со случайной спецификой, лишь некоторые должны реагировать с Ia -структурами, а другие могут быть свободны и реагировать, например, на комплексированный с Ia -антигенами чужеродный антиген или гаптен. Описанная ситуация должна определять в первичном иммунном ответе на чужеродный антиген реакцию преимущественно $Ly-1^+$ -Т-хелперов, ограниченных по Ia -антигенам, что хорошо известно в иммунологии.

Активированные в описанной, по существу, сингенной смешанной культуре *in vivo*, $Ly-1^+$ -Т-хелперы, реагирующие на собственные Ia -структуры, должны вести к массовой активации по антиидиотипическому механизму Т-супрессоров с рецепторами, направленными против рецепторов Т-хелперов к Ia -структурам. Так как $Ly-1$ -структура на Т-супрессорах не играет в такой реакции существенной роли, активироваться должны прежде всего $Ly-2^+$ -супрессоры. Специфической особенностью таких Т-супрессоров, таким образом, должна быть опосредованная связь с Ia -антигенами. В то же время, так как такая связь не является прямой, не должно быть в Ia -области генов, ответственных за рецепторы Т-супрессоров данного типа. Последний теоретически ожидаемый феномен интересно сравнить с известным феноменом J-ограниченных Т-супрессоров. При поиске генов, кодирующих этот антиген, оказалось, что хотя он картируется в Ia -области, места для него при молекулярных исследованиях не оказалось. Поэтому сейчас склонны считать, что J-ограничение — это серологический феномен, отражающий серологически выявляемые рецепторы с антиидиотипической направленностью к собственным структурам, кодируемым в Ia -области [153].

Ясно, что J-ограничение для Т-супрессоров должно преобладать в первичной реакции на антиген, как и преобладание в первичной реакции $Ly-1^+$ -Т-хелперов. Значительное количество таких клеток приводит к быстрому установлению равновесия на новом уровне при нарушении прежнего равновесия антигеном. В то же время $Ly-2^+$ -Т-лимфоциты различного функционального типа, присутствующие изначально в небольших количествах и не поддерживаемые сингенной смешанной реакцией *in vivo*, должны получать преимущество к концу первичного и во вторичном ответе, так как регуляторная сеть для

них складывается заново для каждого антигена. Такая картина и наблюдается в действительности для иммунной реакции.

Для Т-лимфоцитов-эффекторов типа киллеров характерна как активация с участием стимулирующих структур, переводящих их в G_1 -состояние, так и "помощь" в ходе кооперации со стороны Т-хелперов. Хотя описаны как $Ly-1^+$, так и $Ly-2^+$ -Т-киллеры с направленностью против антигенов I и II классов ГКГ, в норме активируются главным образом $Ly-2^+$ -Т-киллеры против антигенов, ассоциированных с ГКГ класса I. Многоточечность связывания Т-рецептора с антигеном может объяснить реакцию Т-киллеров на антиген, связанный с ГКГ. Наличие Т-рецепторов, специфических к антигенам II класса ГКГ, в ассоциации с антигеном для Т-киллеров будет вести к тому, что этот тип киллеров будет активно супрессироваться активированными Т-супрессорами по разобранному механизму: $Ly-1^+$ -Т-хелперы, преимущественно активирующиеся на ранних этапах иммунной реакции, выделяют ИЛ-2, быстроактивирующий соответствующие антиидиотипические Т-супрессоры, которые подавляют пролиферацию Т-хелперов и Т-киллеров, специфических к антигену в комплексе со II классом ГКГ антигена. Специфические $Ly-1^+$ -Т-хелперы, однако, хотя быстро прекращают деление, продолжают выделять ИЛ-2, активируя в ходе кооперации антиген-чувствительные киллеры. Это типично для начала иммунной реакции. Таким образом, преимущество вскоре должны получать Т-киллеры, чувствительные к антигенам I класса ГКГ (комплексе с гаптенем), но кооперация в начале иммунного ответа должна идти с Ia-чувствительными Т-хелперами, что также типично для реальной картины иммунной реакции.

Описанная ситуация, когда на ранних стадиях активации Т-киллеров активируются клетки, чувствительные как к антигенам I класса, так и II класса, действительно наблюдается в эксперименте, причем показано, что реакция на I класс антигенов идет в дальнейшем на фоне подавления супрессорами Т-киллеров, чувствительных к антигенам II класса ГКГ [149].

Наличие $Ly-1$ -структур на мембране Т-киллеров не создает дополнительных преимуществ в процессах кооперации, а так как на активированных Т-лимфоцитах, в том числе супрессорных, имеются Ia-антигены, то $Ly-1^+$ -Т-киллеры будут супрессироваться в ходе иммунного ответа. Видимо, поэтому Т-киллеры с фенотипом $Ly-1^+$ редки, хотя и обнаруживаются в эксперименте.

Не останавливаясь на других особенностях иммунной реакции (часть их рассмотрена в специальном разделе), следует указать на следующие моменты.

Так как делящиеся клетки стимулируют Т-супрессоры, то если клетки-мишени пролиферируют, должно наблюдаться повышение активности Т-супрессоров и подавление иммунной реакции — такая ситуация складывается, по-видимому, при опухолях.

Так как иммунная реакция на антигены I класса идет для Т-киллеров, а активация Т-хелперов идет на антигены II класса, от соотношения противоопухолевого иммунитета и рост-стимулирующей

активности будет зависеть рост опухоли, что в свою очередь, определяется соотношением антигенов I и II классов на клетках опухоли. Действительно, известно, что снижение экспрессии антигенов I класса резко снижает противоопухолевый иммунитет, а увеличение антигенов II класса ГКГ стимулирует рост и увеличивает злокачественность опухоли. Таким образом, гипотеза о системе КРП хорошо объясняет реально наблюдающуюся ситуацию в ходе иммунной реакции. Важнейшим является вывод о необходимости рассмотрения всего комплекса антиген-распознающих рецепторов одновременно.

Исходя из представлений об активации филогенетически древних механизмов рецепции клеток при их индукции к пролиферации, мы исследовали появление Ia-антигенов на клетках печени в ходе пострепаративной регенерации печени у мышей и на клетках слюнных желез мышей после индукции гиперплазии последних изопротеренолом. Использовали иммуноферментный анализ с мечеными пероксидазой хрена антииммуноглобулиновыми сыворотками и ортофенилендиамином в качестве субстрата. Ткань печени получали через 3 дня после введения четыреххлористого углерода, ткань слюнных желез — через 4 ч после введения изопротеренола; использовали мембранные фракции клеток, выделенные ультрацентрифугированием. Для получения анти-Ia-сыворотки использовали гипериммунную сыворотку против лимфоцитов лимфоузлов, иммунизируя мышей C57 Bl/6 клетками мышей BAL B/c. Сыворотку многократно истощали от активности против антигенов I класса ГКГ мембранной фракцией интактной печени и эритроцитами мышей BAL B/c до отрицательной реакции с тимоцитами в цитотоксическом тесте. В трех сериях было показано, что связывание сыворотки с мембранами клеток регенерирующей печени или гиперплазирующейся слюнной железы значительно превышало контрольные уровни у интактных животных. Оптическая плотность проб, содержащих 100 мкг мембранной фракции интактных клеток, составила (за вычетом фона) 0—0,016 единиц, тогда как в опыте — 0,160—0,200 единиц.

Анти-Ia-сыворотка оказалась также эффективной в подавлении ингибирования изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез у мышей лимфоцитами лимфоузлов шеи, полученными от доноров через сутки после введения изопротеренола. Таким образом, КРП (—) в данной системе несли Ia-антигены. Наличия в системе сингенного переноса у КРП (±) этих антигенов обнаружено не было.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ КРП

Есть лишь косвенные данные, позволяющие судить о конкретных механизмах формирования и активации клеток-регуляторов пролиферации в ходе различных процессов в организме, требующих клеточной пролиферации. Наиболее изученным процессом является регенерация, когда в целом ряде работ подробно исследовали различные стороны этого процесса. Одним из наиболее общих является заключение о двойном типе воздействия ионизирующего

облучения на регенерационный процесс в зависимости от дозы. Ионизирующее облучение отменяет и реакцию изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез у грызунов [4], причем при облучении непосредственно до введения препарата. Необходимость пролиферации лимфоцитов для индукции ими пролиферации соматических клеток, высокая радиочувствительность лимфоцитов — все это должно вести к высокой чувствительности процессов, протекающих с участием КРП, к митостатикам.

Мы исследовали реакцию гиперплазии слюнных желез на изопротеренол у мышей в отношении чувствительности к введению циклофосфана и обнаружили три точки чувствительности к этому агенту в пределах одних суток после его введения. При введении цитостатика непосредственно до введения изопротеренола и через 6—8 ч после реакция на изопротеренол увеличивается, тогда как введение цитостатика через 2 ч после введения изопротеренола отменяет реакцию. Эти сроки хорошо согласуются с временем пролиферации КРП (+) через 2—6 ч после введения изопротеренола, указывая также на наличие некоторой фоновой пролиферации КРП (–) у интактных животных. В более поздние сроки цитостатик действует непосредственно на клетки слюнных желез, причем имеется рефрактерный период в сроки 8—12 ч после введения изопротеренола, когда эффекта циклофосфана не наблюдается. Сходная кинетика, как известно, наблюдается и при иммунной реакции [210], когда введение цитостатиков до иммунизации повышает иммунный ответ, элиминируя пролиферирующие в организме неспецифические супрессоры, а при более позднем введении элиминируется антиген-чувствительный клон и иммунная реакция снижается.

Приведенные данные отражают теоретически предсказанную кинетику активации КРП в ходе индукции соматических клеток к пролиферации.

Для характеристики кинетики циклов КРП (+) и КРП (–) было исследовано формирование бластов лимфоцитов параллельно с определением ^3H -тимидина, включаемого ими, в ходе реакции слюнных желез мышей на изопротеренол. Было показано, что накопление активированных клеток низкой плотности наблюдается в регионарных лимфоузлах шеи в течение первого часа после введения изопротеренола, затем имеется пик бластообразования в селезенке через 4—8 ч после начала реакции с интенсивным включением ^3H -тимидина в это время; через 20—24 ч формируются КРП (–), также активно задерживающиеся в лимфоузлах шеи и пролиферирующие в селезенке. По срокам активации можно полагать, что КРП (+) вступают в цикл не из G_0 -, а непосредственно из G_1 -фазы цикла, а КРП (–) постоянно пролиферируют, увеличивая скорость пролиферации в ходе данной реакции. Используя данную кинетическую схему активации КРП, исследовали чувствительность процесса к различным ингибиторам клеточного цикла, вводимых в различные сроки после изопротеренола. Оказалось, что КРП (+) чувствительны к ионам цинка — блокаторам кальциевых механизмов активации, к ингибиторам

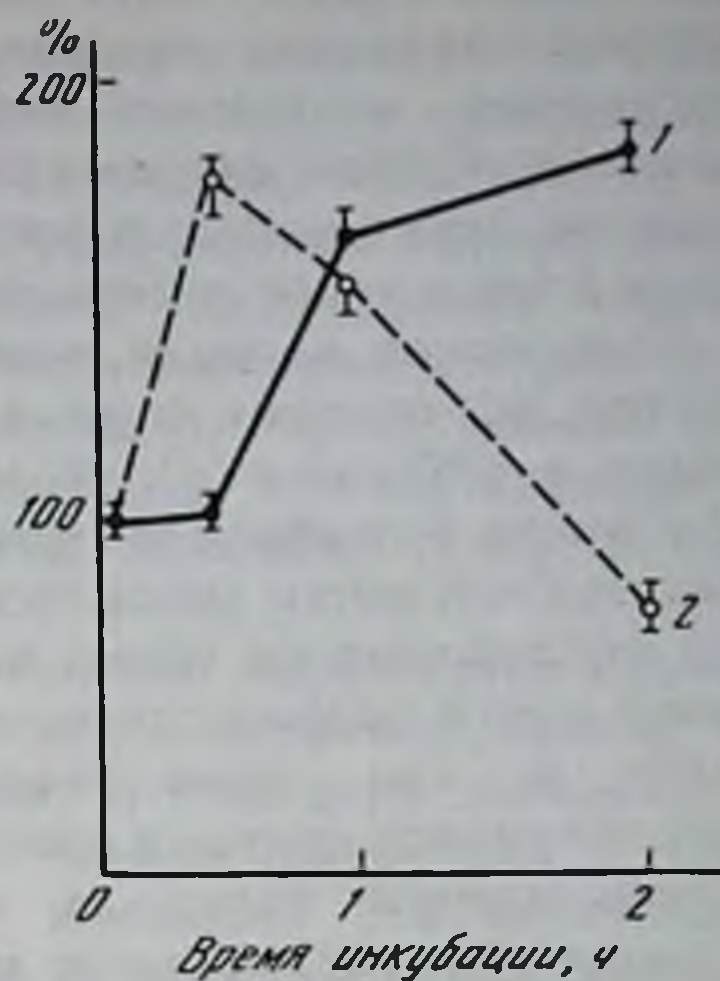
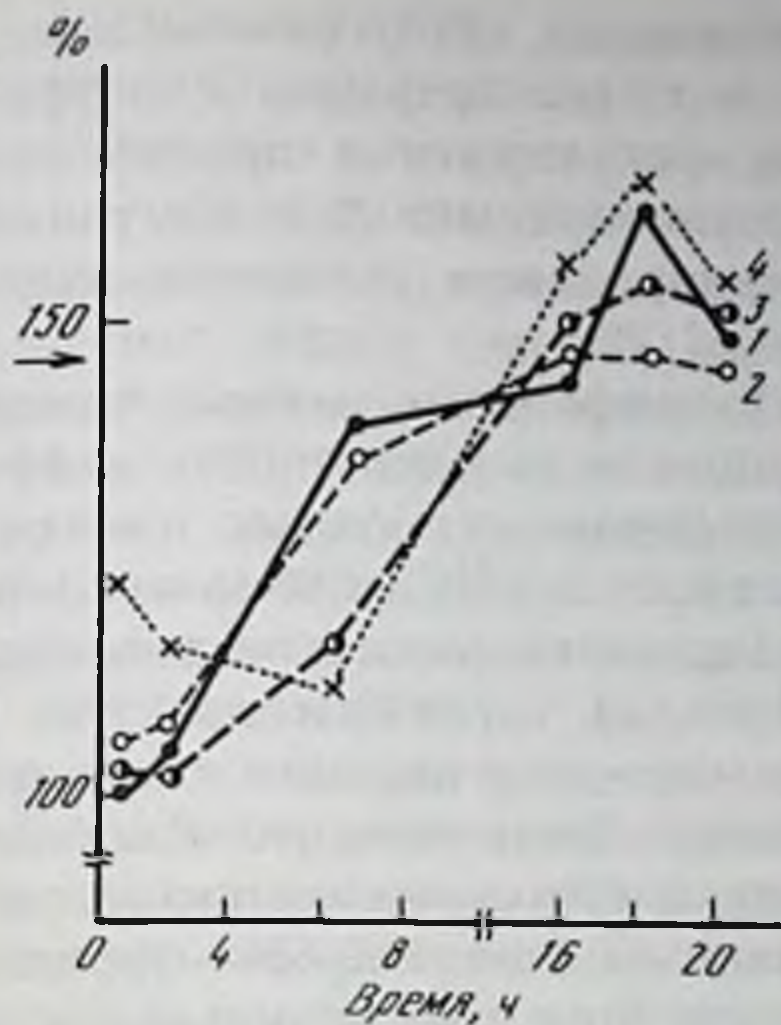


Рис. 17. Чувствительность процесса активации КРП при изопротеренол-индуцированном росте слюнных желез мышей к различным ингибиторам клеточного цикла

По оси абсцисс — время введения веществ (в ч), принимая время введения изопротеренола за 0; по оси ординат — прирост массы слюнных желез (в процентах к интактным). 1 — введение хлористого цинка; 2 — введение контрекала; 3 — введение актиномицина Д; 4 — введение циклофосфана

Рис. 18. Зависимое от времени стимулирование циклическими нуклеотидами пролиферации КРП

По оси ординат — изменение включения импульсной 30-минутной метки в культурах бластных клеток селезенки (в процентах к контролю без нуклеотида). 1 — активация КРП(+) циклическим АМФ; 2 — активация КРП(—) циклическим ГМФ

протеолиза и ингибитору синтеза РНК — тразилолу и актиномицину Д, тогда как КРП (—) — лишь к введению ионов цинка (рис. 17).

Известно, что гиперплазия слюнных желез на изопротеренол отменяется введением актиномицина Д, что не получило объяснения, так как блокатор для оказания эффекта должен вводиться рано, до начала пролиферации собственно железистых клеток. Синтез РНК является необходимым элементом запуска пролиферации лимфоцитов и в ходе иммунного ответа. Чувствительность лимфоцитов Т-ряда к блокаторам кальциевых механизмов активации этих клеток также широко известна.

Известна чувствительность процесса регенерации к ингибиторам протеолиза, а также ингибирующее действие последних на иммунный процесс [55].

Так как важная роль в активации лимфоцитов принадлежит циклическим нуклеотидам, исследовали влияние ПГЕ₂, увеличивающего уровень внутриклеточного цАМФ, и ПГФ₂, повышающего цГМФ, на изопротеренол-индуцированную гиперплазию слюнных желез у мышей. Было показано, что ПГЕ₂ стимулирует, а ПГФ₂ подавляет пролиферацию КРП (+), выделенных через 4 ч из клеток селезенки изопротеренол-обработанных мышей в кратковременных культурах *in vitro*. Для КРП (—) эффект был противоположный. Интересно, что на

функцию КРП (+) и (-) эти вещества действовали, как отмечено выше, противоположным образом. Известно, что пролиферация и дифференцировка во многих клетках также регулируются противоположным образом, поэтому последнее неудивительно. Для иммунных реакций также имеются данные о стимулировании цАМФ-повышающими агентами пролиферации Т-хелперов [170].

Роль ионов кальция известна для Т-лимфоцитов и иных типов клеток, вступающих в цикл. Мы исследовали интенсивность включения в КРП (+) и (-) фракции активированных клеток низкой плотности в лимфоузлах шеи и селезенке изотопа ^{45}Ca в 30-минутной импульсной метке. Оказалось, что поглощение кальция снижается во все исследованные сроки выделения КРП (+), тогда как для КРП (-) имеет место период стимулирования входа ионов кальция в клетку, вслед за чем также следует снижение. Снижение поглощения внеклеточного кальция обычно отражает компенсаторные процессы, развивающиеся вслед за кратковременным повышением уровня кальция в цитоплазме как за счет поступления этих ионов извне в клетку, так и за счет выхода из внутриклеточных депо. Так как для КРП (+) не отмечено входа ионов в клетку, можно полагать, что последние выходят в цитоплазму из внутриклеточных депо. Отмена гиперплазии слюнных желез на изопротеренол введением хлористого цинка — кальциевого антагониста — указывает на важность этих ионов в активации КРП.

Из основной схемы функционирования системы КРП (см. рис. 3) видно, что пусковым механизмом активации клеток-регуляторов пролиферации является их реакция на G_1 -состояние клеток-мишеней. Это означает, что изменения в тканях-мишенях передаются на КРП, что наиболее вероятно осуществляется с помощью гуморальных механизмов. Известен ряд соединений, концентрация которых резко увеличивается при активации любых типов клеток, — это простагландины, циклические нуклеотиды, биогенные амины. Все эти вещества хорошо изучены, и показано их функционирование как медиаторов в системе иммунитета [142, 187, 188]. Циклические нуклеотиды являются, видимо, одним из наиболее древних типов регуляторных молекул, передавая сигнал при высвобождении из одного типа клеток и адсорбируясь на других клетках. Так, например, они действуют уже у первых многоклеточных, являющихся организмами-колониями [52, 107]. Известно выраженное увеличение концентрации цАМФ в G_1 -фазе для многих типов клеток, тогда как повышение цГМФ способствует наступлению S-фазы, показана также чувствительность лимфоцитов к низким концентрациям цАМФ и цГМФ, влияющим на пролиферативную активность в этом случае, по-видимому, через посредство мембранных рецепторов клеток для циклических нуклеотидов; наличие рецепторов для цАМФ показано некоторыми авторами для тимоцитов. Определенный уровень цАМФ всегда имеется в крови, и местные изменения его в ходе клеточной пролиферации могут быть весьма значительными.

Связывание КРП циклических нуклеотидов может быть тем первичным механизмом их активации, который и определил активирование этих клеток самыми различными типами клеток, находящихся в G_1 -фазе цикла. Действительно, в переживающих культурах КРП, активированных при изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез клетках селезенки, низкие концентрации цАМФ активировали пролиферацию КРП (+), причем очень быстро (рис. 18). Эффект цАМФ сохранялся в присутствии ЭДТА, т.е. не зависел от кальция среды, но отменялся актиномицином Д, что согласуется с обнаруженной ранее чувствительностью реакции гиперплазии слюнных желез к актиномицину Д.

Активация КРП (-), выделенных из селезенки через сутки после введения изопротеренола, могла быть достигнута инкубацией с цГМФ. Быстрое активирование включения 3H -тимидина сменялось вскоре снижением. По-видимому, это можно расценивать как ускорение прохождения цикла этими клетками. Эта активация отменялась ЭДТА, но не актиномицином Д. В то же время эффект цАМФ на КРП (+) зависел от синтеза белка, так как актиномицин Д и циклогексамид отменяли реакцию, развивающуюся в более короткие сроки, чем действие цГМФ на КРП (-).

Эффект циклических нуклеотидов на КРП в целостном организме, видимо, может быть и опосредованным. Так, известно, что рецепторы к цАМФ имеются на макрофагах, которые активно участвуют в самых различных процессах, связанных с клеточной пролиферацией, например в регенерации органов. Влияние циклических нуклеотидов на макрофаги может проявляться, например, в изменении последними секреции ИЛ-1, что важно для прохождения клетками цикла пролиферации [200].

Тканями различного типа выделяются и иные медиаторы, действующие на лимфоциты. В сыворотке крови содержится α -глобулин с молекулярной массой 40 кДа и фетуин с массой 65 кДа, ингибирующие пролиферацию Т-лимфоцитов [53]. Специфичность в отношении лимфоцитов проявляет ингибирующий пролиферацию фактор печени с молекулярной массой 65 кДа [205]. Скорее всего, подобные факторы призваны ограничивать пролиферацию лимфоцитов в крови, локализуя ее в лимфоидных органах.

Особый интерес представляет фактор активации Т-лимфоцитов — выделяемый макрофагами ИЛ-1. Обзор данных по эффекту ИЛ-1 [135] показывает, что это белок, молекулярная масса которого 10—15 кДа, устойчивый к нагреванию и изменениям рН, действующий на активированные Т-лимфоциты, находящиеся в G_1 -фазе цикла, но способный влиять и на иные типы клеток. Он способен активировать Т-лимфоциты тимуса в реакции на собственные антигены гистосовместимости в сингенной смешанной культуре лимфоцитов [137], что связывают с увеличением в клетках цГМФ и индукцией входа ионов кальция [127]. Участие макрофагов, выделяющих ИЛ-1, показано на примере индукции пролиферации лимфоцитов в ходе регенерации печени [157], при этом А-клетки играют роль критической точки

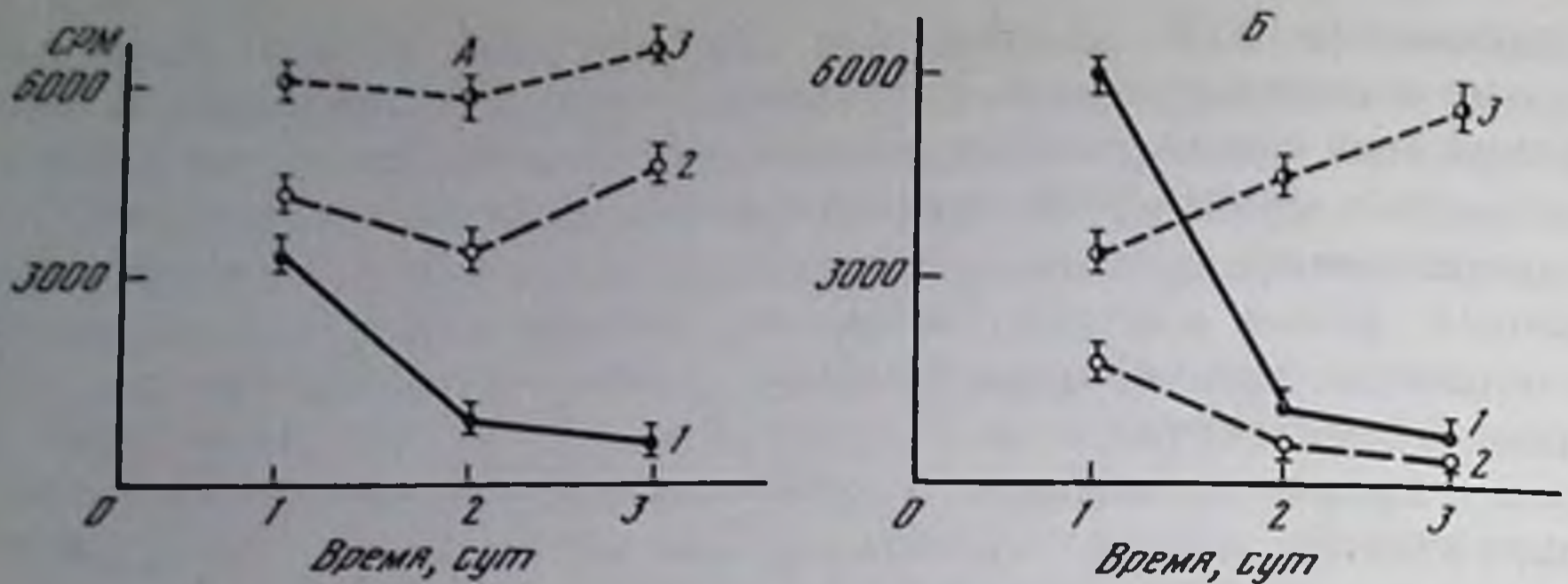


Рис. 19. Чувствительность КРП, полученных от изопротеренол-индуцированных мышья, к интерлейкинам

По оси ординат — включение ^3H -тимидина в культуры в $\text{CPM}/10^6$ клеток при 2-часовой инкубации. А — КРП(+); Б — КРП(—); 1 — контроль; 2 — ИЛ-1-содержащий препарат; 3 — ИЛ-2-содержащий препарат

запуска процесса. Активирующий лимфоциты ИЛ-1 может выделяться и иными типами клеток — клетками кожи, глиальными клетками [101]. Сам ИЛ-1 способен активировать пролиферацию фибробластов, т.е. проявлять некоторый неспецифический эффект, а также оказывать и другие виды биологического действия.

Определенную роль в активации пролиферации КРП может играть и второй медиатор, к которому чувствительны лимфоциты, — ИЛ-2. Этот агент имеет молекулярную массу 13—16 кДа, изоэлектрическую точку 6,5—6,8, чувствителен к трипсину, химотрипсину, а также к изменениям pH. Он способен активировать пролиферацию антиген-неспецифических Т-супрессоров, поддерживая их рост в культуре, полученной из селезенки даже интактных животных (в норме такие супрессоры отмирают через сутки [223]). Показано, что ИЛ-2 может активировать Т-супрессоры в сингенной смешанной культуре лимфоцитов [202]. Этот медиатор активирует пролиферацию также лимфоцитов-эффекторов и $\text{Ly}-2^+$ -лимфоцитов стимулирующего и ингибирующего типов. Для системы КРП этот медиатор, скорее всего, может играть роль медиатора обратной связи, активируя КРП (—). На соматических клетках рецепторов к ИЛ-2 нет. На многих тканях, однако, имеются рецепторы к ИЛ-3, выделяемому клетками-предшественниками Т-лимфоцитов костного мозга. Возможно, именно этот медиатор играет важную роль в осуществлении КРП I (+) своего эффекта. Как будет показано в следующей главе, существуют данные, что КРП I (+) является именно клеткой — предшественником Т-лимфоцитов. В последнее время появились данные, указывающие на участие ИЛ-3 в реакции сингенной смешанной культуры лимфоцитов, в особенности если при постановке реакции исключается контакт с экзогенными антигенами.

Мы исследовали возможность активации КРП различного типа препаратами, полученными при активации клеток селезенки КонА и макрофагов липополисахаридом *E. coli*, содержащими соответственно ИЛ-2 и ИЛ-1. Полученные через 4 ч после введения изопротеренола КРП (+) пролиферировали при добавлении обоих препаратов.

тогда как полученные через сутки КРП (-) — только при добавлении ИЛ-2, что отражено на рис. 19. В отсутствие лимфокинов естественная пролиферативная активность КРП обоих типов сохранялась лишь в течение суток.

Можно полагать, что феномен индукции пролиферации соматических клеток с участием КРП является аналогом сингенной смешанной культуры лимфоцитов, но протекающим *in vivo*, а сама эта реакция — отражение наличия регуляторной сети из КРП и соматических пролиферирующих клеток. Эта сеть в отличие от иммунной постоянно пролиферирует *in vivo* и необходима для сохранения пролиферативного гомеостаза организма.

МЕДИАТОРЫ КРП

К настоящему времени получено значительное число данных о медиаторах лимфоцитов, но в основном в рамках иммунологии. Данные о нелимфоидных эффектах этих веществ весьма ограничены.

Среди хелперных факторов, выделяемых Т-клетками, известны антиген-неспецифические факторы, которые могли бы быть отнесены к медиаторам КРП [202]. Так, в ходе иммунного ответа показано "втягивание" в реакцию антиген-неспецифических Н-2 ограниченных Т-хелперов, увеличивающих ответ [243]. Эти клетки напоминают КРП I: они активируются в то время, когда иммунный ответ уже достиг определенного порога в результате действия антиген-специфических факторов и лимфоцитов и имеется определенное число клеток в G_1 -фазе цикла, готовых к индукции пролиферации. Описан рядом авторов антиген-неспецифический хелперный фактор, проявляющий в некоторых экспериментальных системах Н-2 ограничение, но вопрос о принадлежности его к медиаторам КРП не ставился.

Хорошо охарактеризован неспецифический ингибитор Т-лимфоцитов — ингибитор синтеза ДНК—ИДС. Этот медиатор выделяется антиген-неспецифическими супрессорными Т-лимфоцитами, он неспецифичен в отношении Н-2-фенотипа животных, вида животных и типа клеток-мишеней. Молекулярная масса его составляет 80—120 кДа. Этот медиатор термостабилен, является гликопротеидом, чувствительным к трипсину и перйодату, с изоэлектрической точкой 2,7—3,0; он выделяется в культурах лимфоцитов в период активной пролиферации их на антиген или митоген. Действие его определяется влиянием на G_1 -фазу клеток-мишеней путем увеличения в них цАМФ. Все эти свойства отвечают таковым, постулированным для медиатора КРП I (-).

Единственная к настоящему времени группа факторов, которые формально можно в полной мере отнести к медиаторам КРП, выявлена при активации Т-лимфоцитов митогенами: при этом удалось выделить специфические для фибробластов стимулирующий и ингибирующий факторы.

Постулированная (см. выше) возможность опосредованного дейст-

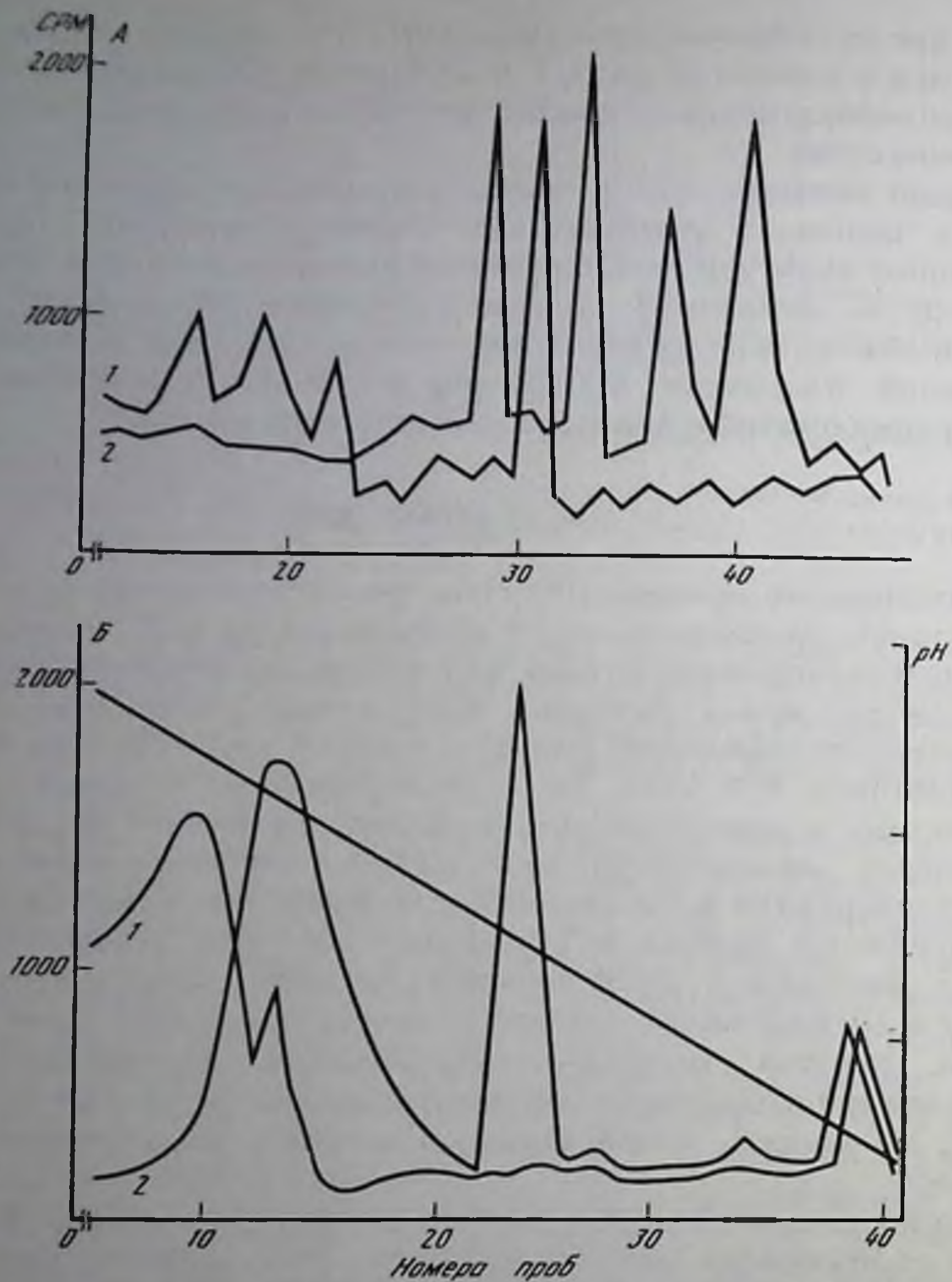


Рис. 20. Физико-химические характеристики стимулирующего и ингибирующего факторов, выделяемых КРП в ходе изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез у крыс

По оси ординат — радиоактивность проб. А — гель-хроматография на сефадексе G-200; Б — изоэлектрофокусирование. 1 — стимулирующий фактор; 2 — ингибирующий фактор

вия КРП II и III через КРП I в настоящее время известна в иммунологии, когда антиген-специфические Т-супрессоры, влияя на пролиферацию антиген-активированных клеток, осуществляют этот эффект, "вооружая" антиген-неспецифические супрессоры выделяемым специфическим фактором [90].

В определенных условиях медиаторы КРП могут действовать через H-2-барьер. Так, нами было обнаружено, что КРП I, выделенные из регионарных лимфоузлов шеи через 16 ч после введения изопротеренола, выделяют при культивировании в надосадочную жидкость фактор, способный при введении животным достоверно увеличивать

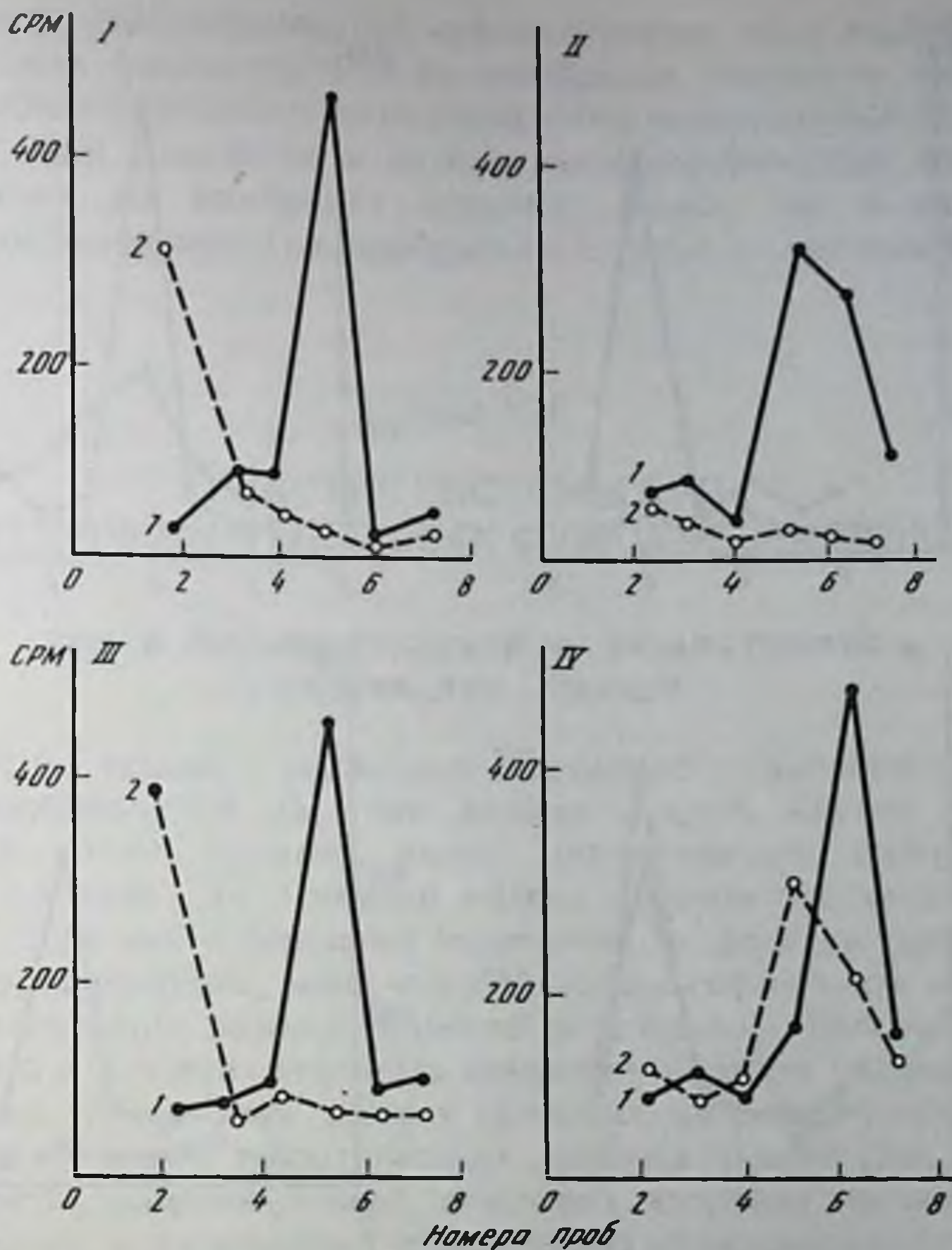


Рис. 21. Аффинная хроматография факторов, выделяемых КРП(+)

По оси ординат — радиоактивность проб I—IV — номера пиков, взятых для аффинной хроматографии после разделения на сефадексе. 1 — хроматография на сефарозе с фиксированными мембранами клеток слюнных желез (специфический сорбент); 2 — хроматография на сефарозе с фиксированными мембранами клеток печени (неспецифический сорбент)

у них массу слюнных желез. Аналогичным образом в более отдаленные сроки лимфоциты лимфоузлов шеи, культивируемые *in vitro*, выделяли ингибирующий изопротеренол-индуцированную гиперплазию слюнных желез фактор. Эти факторы, меченные в кратковременных культурах в присутствии ^{14}C -аминокислот, можно было высолить сернокислым аммонием и хроматографировать (рис. 20). При гель-фильтрации на сефадексе G-200 для фактора, выделяемого КРП (+), определялось наличие четырех четких пиков с молекулярными массами 15, 20, 25 и 40 кДа, а для КРП (–) — четырех пиков с молекулярными массами 40, 60, 80 и 160 кДа. При изоэлектрическом фокусировании в градиенте плотности глицерина для борноборатного буфера с рН 4,0—8,0, по Г.В. Троицкому, для стимулирующего фактора выявлено четыре пика, а ингибирующий сосредоточивался в узкой зоне рН (рис. 21). Для определения

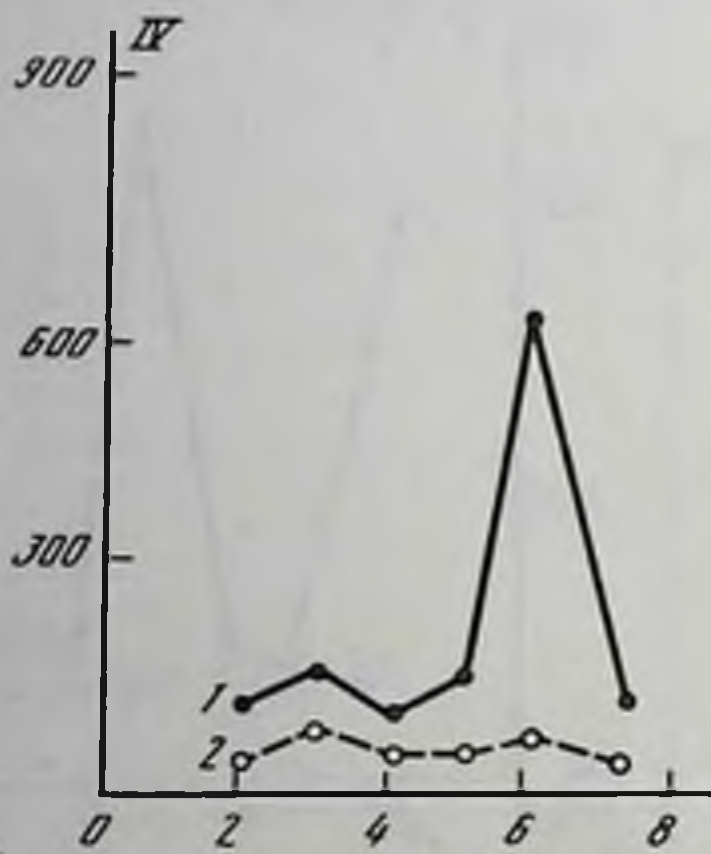
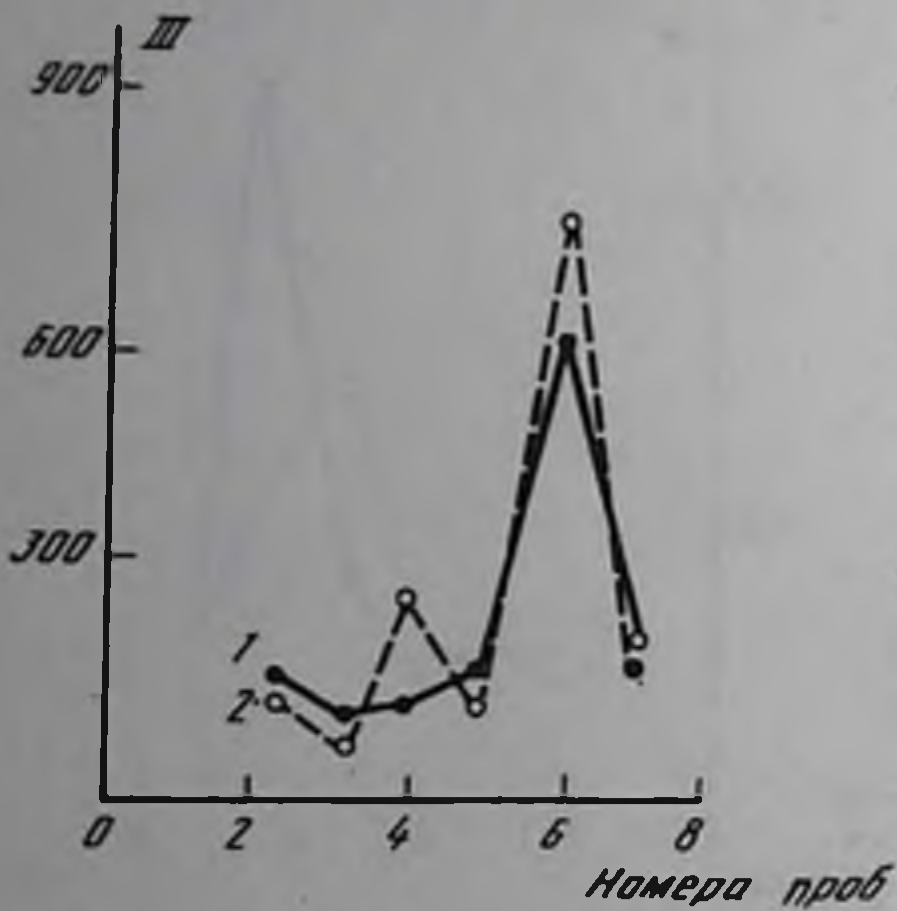
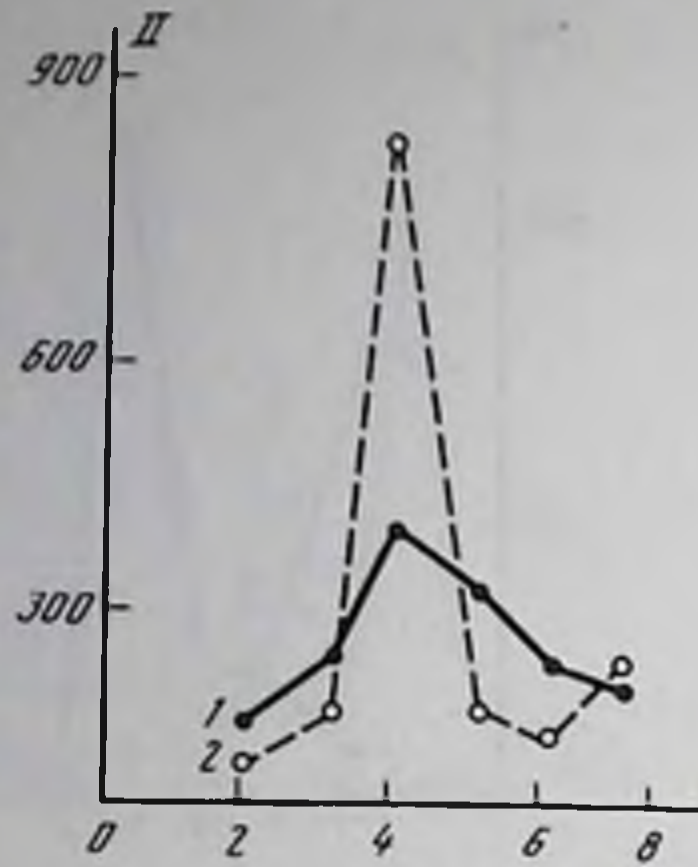
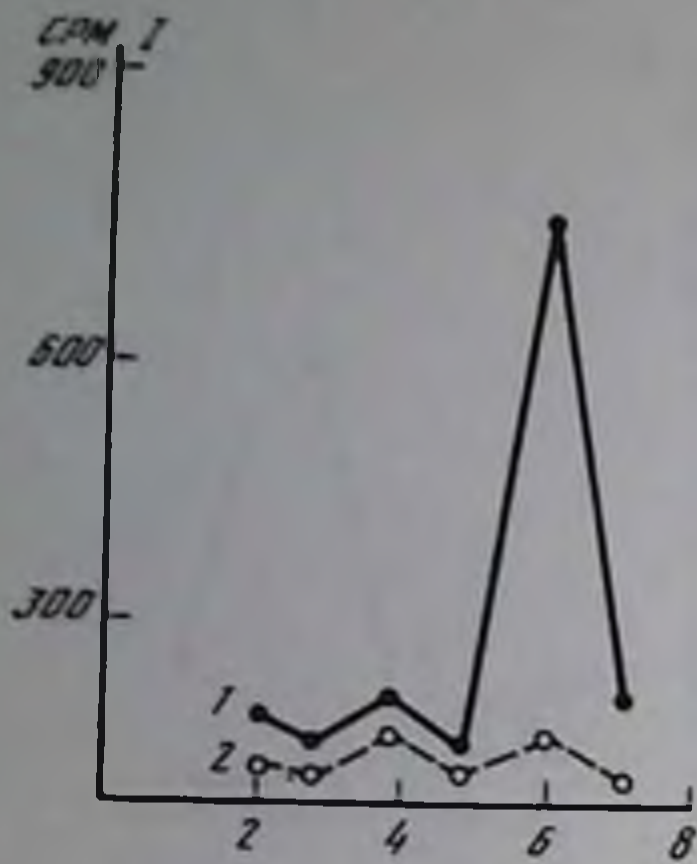


Рис. 22. Аффинная хроматография факторов, выделяемых КРП(—)

Обозначения см. на рис. 21

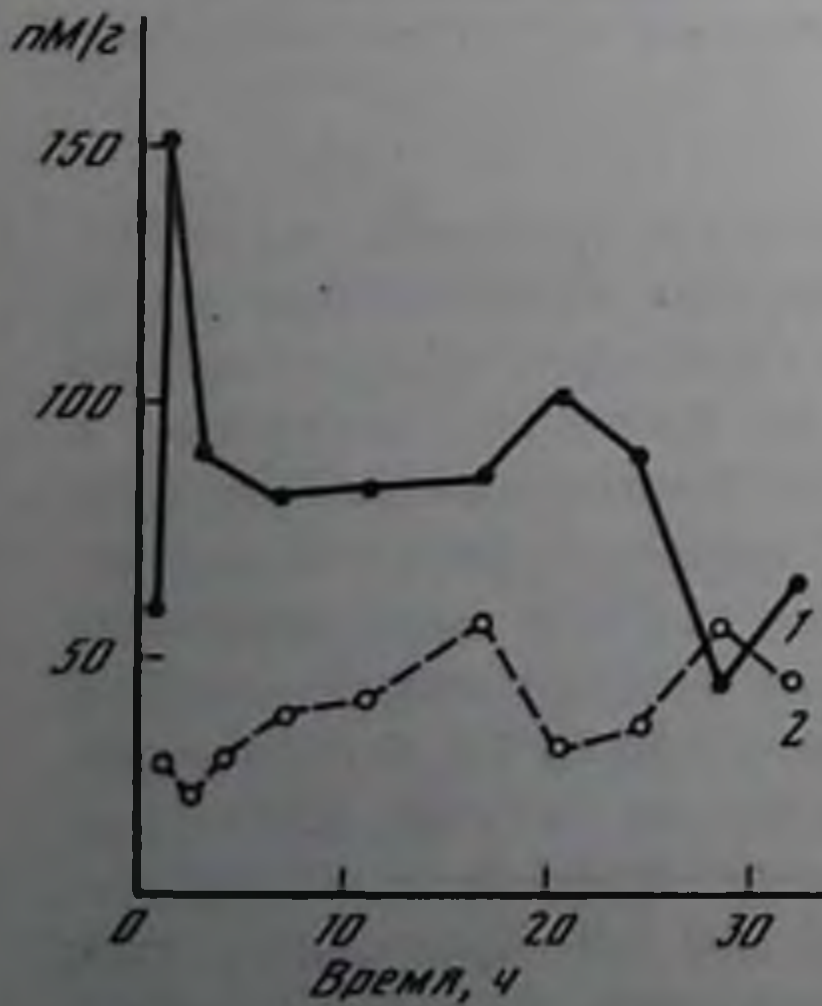


Рис. 23. Изменение циклических нуклеотидов в ткани слюнных желез у мышей после введения изопротеренола

По оси абсцисс — время после введения изопротеренола; по оси ординат — уровень циклических нуклеотидов в пМ/г-ткани. 1 — уровень цАМФ; 2 — уровень цГМФ

специфичности полученные при хроматографии пики исследовали на способность фиксироваться на мембранах печени и слюнных желез, иммобилизированных на цианобром-активированной сефарозе (рис. 22, 23). При этом были выявлены как специфические факторы, сорбирующиеся на мембранах слюнных желез, так и неспецифические, сорбирующиеся на мембранах и печени, и слюнных желез.

Глава VII

УЧАСТИЕ СИСТЕМЫ КРП В РЕГУЛЯЦИИ ОТДЕЛЬНЫХ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА

КРП В ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ И РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИЯХ ТКАНЕЙ

Большинство тканей в организме постоянно подвергаются процессу самообновления за счет замены старых клеток новыми делящимися. Этот процесс имеет значительный размах для различных органов. Так, в печени индекс митозов составляет доли процента, тогда как в эпителии кишечника — десятки процентов. Исходя из приведенного, ясно, что КРП должны принимать активное участие в регуляции физиологической регенерации. Действительно, показано, что в условиях дефицита лимфоидной ткани, например при спленэктомии, тимэктомии, даже у взрослых животных постепенно развивается снижение митотического индекса тканей [26], причем интенсивность влияния может достигать порядка величины. С другой стороны, инактивация Т-супрессоров антисывороткой ведет к растормаживанию митотического индекса многих тканей [3], что указывает на наличие в каждый данный момент баланса стимулирующих и ингибирующих лимфоцитов, поддерживающих на определенном уровне пролиферативный гомеостаз клеток разного типа.

Наиболее четко функция КРП должна выявляться в случае индуцированного резкого повышения пролиферации клеток какого-либо типа, т.е. во время репаративной регенерации.

Регенерация представляет собой достаточно сложный и относительно хорошо изученный феномен, сущность которого рассмотрена во многих монографиях. При этом достоверно показано участие лимфоцитов в восстановлении органов, на эту тему также имеются специальные работы [3, 42], поэтому здесь будут рассмотрены только непосредственно относящиеся к излагаемому вопросу аспекты.

Сам факт участия лимфоцитов в регенерации органов после повреждения известен давно; показателен в этом плане факт инфильтрации лимфоцитами участков воспаления, гипертрофии и регенерации самых различных тканей, показано изменение регенерации органов при инактивации лимфоцитов облучением, аутоиммунным процессом, при реакции "трансплантат против хозяина".

тимэктомии и спленэктомии [3, 26, 173]. При регенерации изменяется также содержание в крови рост-стимулирующих и ингибирующих веществ, при этом в интактном организме обычно преобладают ингибиторы, а при регенерации в крови появляются стимуляторы; в конце регенерации вновь появляется, причем в высокой концентрации, ингибирующий фактор [132, 160]. Неоднократно наблюдалась интерференция регенерации с иммунным процессом как со снижением, так и с повышением последнего [3].

Подробными исследованиями школы А.Г. Бабаевой показано, что лимфоциты способны переносить "регенерационную информацию" интактным реципиентам [3, 4, 5]. Специфичность феномена подтверждена для ряда тканей.

Процесс регенерации уникален в том отношении, что позволяет одновременно перевести большое число клеток в G_1 -состояние, причем естественным для организма образом синхронизировать на протяжении первого цикла деление определенного типа клеток. Показано, что уже через 30 мин после резекции печени оставшиеся гепатоциты вступают в состояние G_1 [156]. Этот переход должен в соответствии с теорией КРП вести к запуску клеток системы КРП с кинетикой, описываемой ранее приведенной формулой. Зная кинетику первого деления гепатоцитов — быстрый, в течение часа, выход клеток в цикл и начало синтеза ДНК через сутки после этого, можно предсказать начало активации КРП (+) через 1—2 ч после резекции органа и КРП (—) — через сутки после этого, что и подтверждается в эксперименте (см. рис. 10).

Физиологическая регенерация, определяющая самообновление тканей в организме, наблюдается при наличии определенного числа клеток в G_1 -состоянии. Известно, что часть популяции гепатоцитов постоянно делится, но значительно большая часть находится в G_1 -состоянии, так как обратимый переход G_0/G_1 для гепатоцитов определяет вступление в G_1 -фазу в течение суток до 1/3 от общего числа клеток печени. Такой переход носит статистический характер, и в течение определенного времени практически каждая клетка печени проходит состояние готовности к делению. Так как митотический индекс в печени весьма мал, то ясно, что сигнал к делению лимитируется внешними причинами — в данном случае в значительной степени лимфоцитами КРП системы.

Учет влияния КРП на регенерацию позволяет понять многие известные черты этой реакции. Так, известное в литературе представление, что все органы влияют каким-то образом на рост всех других органов, полученное эмпирическим анализом, является, по существу, отражением функционирования КРП I системы. Так как в ходе регенерации органов должны пролиферировать регулирующие его рост лимфоциты, прежде всего специфического типа, то можно ожидать, что при повторной регенерации феномен "переноса регенерационной информации" лимфоцитами будет осуществляться лучше. Действительно, известно, что при повторной регенерации четко выявляется лимфоидная "память" процесса [5].

Взаимодействие неспецифических КРП I и специфических КРП хорошо объясняет как наличие неспецифических влияний при регенерации на другие типы тканей, так и увеличение специфичности эффекта в более поздние сроки регенерации, что можно сравнить с известным в иммунологии феноменом "созревания" иммунной реакции — повышения аффинности антител с увеличением времени развития иммунного ответа. Интерференция регенерации и иммунного ответа, регенерации и опухолевого роста, влияние регенерации на самообновление клеток костного мозга и другие подобные процессы также совершенно логично укладываются в схему взаимодействия КРП-системы с тканями в организме.

На примере интерференции репаративной регенерации печени с изопротеренол-индуцированной гиперплазией слюнных желез также можно видеть характерные стимулирующие реакции на изопротеренол при одновременно индуцированном процессе регенерации печени и ингибирование — при более раннем индуцировании регенерации печени (см. рис. 13). В принципе кратковременное стимулирование пролиферации неспецифических тканей должно стимулировать и формирование для них специфических КРП (—), также ограничивающих процесс неспецифической гиперплазии нерегенерирующих органов, в дополнение к формированию при регенерации печени значительного количества КРП I (—) неспецифического типа.

Хорошо согласуются с представлением о функционировании системы КРП и данные о том, что в период после рождения в отличие от эмбриональной регенерации восстанавливается масса органа, но не форма его, что в корне отличает процесс вторичного развития — регенерацию от процессов формообразования при первичном развитии в эмбриогенезе. Характер регенерации быстро изменяется сразу после рождения — этот период является критическим и для становления ряда функций системы иммунитета, например толерантности "к своему". Аналогичным образом известно, что изопротеренол-индуцированная гиперплазия слюнных желез мала или отсутствует у новорожденных, постепенно нарастает к зрелости и затухает одновременно с затуханием иммунных реакций и атрофией лимфоидной ткани в старости [4]. Аналогичным образом изменяется сингенная смешанная культура лимфоцитов в течение онтогенеза — аналог КРП-системы в культуре.

Хорошо понятны в свете представлений о КРП и данные о влиянии на регенерацию различных лимфотропных веществ.

Таким образом, феномен регенерации является удобной моделью для выявления клеток — регуляторов пролиферации соматических клеток в условиях резкой стимуляции этой системы. То, что в обычных условиях эта система также работает, а не является специфическим механизмом для осуществления репаративной регенерации, можно видеть, как отмечалось, на примере физиологической регенерации — при естественном самообновлении тканей. На уровне целостного организма такой процесс должен координироваться синхронно для различных типов тканей.

Действительно, показаны циркадные ритмы в интенсивности митозов в тканях, а также изменения числа циркулирующих в крови лимфоцитов хелперного и супрессорного рядов, что обычно связывают с циркадными изменениями уровня кортикостероидов крови [25, 220]. Интересно, что для общего числа Т-лимфоцитов и для популяции Т-хелперов имеет место суточный ритм, а для Т-супрессоров — 12-часовой ритм, что хорошо согласуется с представлениями о более быстрой замещаемости вследствие повышенной пролиферации для супрессоров КРП (-). Циркадные ритмы могут значительно изменяться и, например, для животных, ведущих ночной образ жизни, противоположны обычным.

Еще одним важным следствием наличия "физиологической сети" КРП—ткань является теоретически ясное представление, что для интенсивно обновляющихся тканей должно иметься значительное количество КРП II, III как стимулирующего, так и ингибирующего типа.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ И КОСТНОЙ ТКАНЕЙ

Соединительная ткань является вездесущей тканью, выполняющей среди других функций важнейшую — питающую: окружая клетки самых различных типов, она опосредует обмен кислородом и питательными веществами между кровью и тканями. В состав соединительной ткани входят основное вещество, волокна и клетки, синтезирующие два предыдущих компонента и обновляющие соединительную ткань.

Важнейший элемент соединительной ткани — основное вещество, представленное кислыми мукополисахаридами — гликозаминогликанами. Гигантские молекулы их образуют молекулярную сеть, в ячейках которой содержится аморфный компонент соединительной ткани. Обмен веществ через соединительную ткань происходит как путем диффузии, так и посредством микроканалов жидкости в полужидком, вязком геле основного вещества. Уже небольшие изменения структуры и состава соединительной ткани могут существенно повлиять на обмен веществ и отражаться на функции паренхиматозных органов, для которых внешняя среда представлена, таким образом, по существу, соединительной тканью.

Обновление соединительной ткани осуществляется способными к делению клетками — фибробластами. По мере увеличения хронологического возраста фибробласты утрачивают способность к делению, а также начинают хуже выполнять функции обновления соединительной ткани. Так как количество фибробластов снижается с возрастом, абсолютное их количество и возраст существенно должны сказываться на метаболизме [30, 113]. Снижение фибробластов в количестве старит ткань, при этом увеличивается доля волокон, которые становятся более инертными за счет образования поперечных сшивок — нормальный процесс, происходящий в соединительной ткани. Снижение доли основного вещества и изменение его структуры ведут к недостаточности транспортной функции и кисло-

родному голоданию тканей, создают условия для развития атеросклероза. При прогериях — синдромах преждевременного старения — выраженный атеросклероз может наблюдаться уже в детском возрасте, как и старческие изменения соединительной ткани [219]. В то же время в эксперименте задержка старения диетой или иными факторами задерживает и старение соединительной ткани [7, 179, 228, 234].

Все это указывает на выраженную лабильность этого типа ткани, функциональная активность которой зависит в конечном счете от фибробластов.

Полученные экспериментальные данные указывают на отчетливое влияние лимфоцитов на функцию соединительной ткани, осуществляющееся прежде всего через фибробласты. Выделены специфические лимфокины, действующие на фибробласты и секретлируемые Т-клетками. Это белки с молекулярными массами 60 и 16 кДа, способные специфически увеличивать пролиферацию фибробластов или подавлять их деление. Тропные факторы очищены, показана их специфичность и отличие от лимфокинов, влияющих собственно на иммунные процессы.

Кроме регуляции пролиферации, лимфоциты секретируют фактор, регулирующий продукцию фибробластами коллагеназы. Аналогичный фактор выделяется макрофагами [86]. Известно также, что гипофиз выделяет стимулирующий фибробласты фактор, интенсивность синтеза которого меняется с возрастом.

Особым видом соединительной ткани является костная. Костная ткань по современным представлениям является высокопластичной, способной к выраженным перестройкам в зависимости от функционального состояния и нагрузки на кость; регуляция ее метаболизма осуществляется специализированными клетками — остеокластами и остеобластами, выделяющими органические вещества кости и принимающими участие в резорбции костной ткани.

Показано, что выраженные нарушения в резорбции костной ткани — остеопетроз — наблюдаются в эксперименте на фоне снижения массы тимуса и снижения функции Т-лимфоцитов [154]. Подобный механизм может быть ответствен и за нарушения функции костной ткани, наблюдающиеся с возрастом. Известно также, что симптомы остеопетроза могут быть купированы переливанием крови или лимфоцитов от здоровых животных [149].

Как стало теперь ясно, лимфоциты являются уникальной популяцией клеток, опосредующих гормональное влияние на костную ткань. Показано, что на остеокластах отсутствуют рецепторы к паратиреоидному гормону и единственный тип клеток крови, имеющих рецепторы к нему, — это лимфоциты, принадлежащие к Т-ряду. Моноциты также могут играть определенную роль в регуляции функции остеогенеза, причем их эффект осуществляется, видимо, через посредство простагландинов [89]. Известно, что влияние паратиреоидного гормона на лимфоциты связано с повышением в последних уровня цАМФ [89].

Таким образом, уровень функционирования соединительной и

костной тканей в значительной мере определяется регулирующими влияниями со стороны лимфоцитов. Изменения такого влияния могут старить ткань, способствовать развитию патологии или, наоборот, позволяют осуществлять коррегирующие воздействия на функцию этих тканей и через их посредство — на функцию других типов клеток и всего организма.

КРП И СИСТЕМА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Так как организм со всеми типами его клеток происходит из одной зародышевой клетки, описываемые здесь КРП должны появиться на определенной стадии онтогенеза из других типов клеток. Учитывая, что лимфоциты, среди которых идентифицированы и КРП, являются интенсивно обновляющейся популяцией клеток, происходящей из малодифференцированных стволовых клеток, формирование КРП может происходить в организме постоянно. Так как КРП должны быть постоянно пролиферирующими клетками, их следует искать среди предшественников лимфоцитов. Убыль КРП в таком случае могла бы быть связана не с их естественной гибелью, что расточительно, а с дифференцировкой в антиген-чувствительные иммунокомпетентные клетки. Такой механизм является экономичным и соответствует общему правилу в эволюции — развитие новых структур происходит на базе уже сформировавшихся. В ходе созревания до антиген-чувствительного клона лимфоциты переходят в G_0 -фазу, требуя в дальнейшем для активации пролиферации дополнительного сигнала, при этом они выбывают из-под контроля системы КРП, в которой участвуют лишь активно пролиферирующие клетки, и могут формировать иммунокомпетентную систему, не мешающую функционированию собственно КРП-системы. В таком случае КРП по общей схеме могли бы участвовать в регуляции всей системы стволовой клетки, состоящей из активно пролиферирующих клеток. По стандартной схеме регуляция со стороны КРП может осуществляться для физиологической и репаративной регенераций, иммунного ответа, регуляции предшественников стволовой клетки, что может объяснить и наличие выраженной интерференции для всех этих систем и процессов.

Появление свойств КРП на ранних стадиях дифференцировки лимфоцитов можно ожидать и исходя из общих представлений о филогенетической древности КРП. Тогда филогенетически древние свойства по общему правилу должны проявляться в организме в онтогенезе для малодифференцированных клеток, каковыми и являются клетки-предшественники и сама стволовая клетка.

Общим свойствам стволовой клетки посвящен ряд монографий и обзоров, поэтому здесь мы остановимся лишь на некоторых, важных для нашего рассмотрения [22, 53].

Система стволовой клетки является высоколабильной, представленной многими типами клеток с различной интенсивностью пролиферации клеток-предшественников для эритроцитов, лимфоцитов,

гранулоцитов. Хотя теоретически ясно, что такая система может быть устойчивой лишь при наличии мощных обратных отрицательных связей саморегуляции, о структуре таких связей известно мало. Наиболее изученной является система эритропоэтина, оказывающая мощное стимулирующее влияние на эритропоэз в случае гипоксии, и отражающая обратную связь системы эритроидных предшественников с конечной функцией — потреблением кислорода. Показано и существование ряда кейлонных субстанций, включающихся в систему регуляции с определенного уровня дифференцировки отдельных клеток-предшественников [53]. Наличие рецепторов ко многим биологически активным веществам и гормонам, циклическим нуклеотидам, простагландинам делает систему регуляции стволовой клетки высокочувствительной к функциональным запросам организма, быстро реагирующей на изменение многих параметров организма.

Для системы регуляции стволовой клетки, однако, широко обсуждался лишь вопрос о влиянии на дифференцировку в сторону того или иного ростка кроветворения, что привело к представлениям о двунаправленной регуляции дифференцировки: увеличение дифференцировки в одном направлении ведет к снижению количества клеток-предшественников в другом направлении. Однако в действительности имеется более сложная картина. Так, при массовых кровопотерях активируются одновременно все ростки. При активации дифференцировки любого ростка, кроме того, обычно одновременно активируется и пролиферация соответствующих клеток-предшественников. Аналогичным образом при гипертрансфузии эритроцитов подавление эритропоэза в значительной мере определяется снижением пролиферации предшественников — на таком фоне формирование макроколоний в селезенке после облучения снижено, а число микроколоний не изменено [22].

Анализ процессов регуляции в системе стволовой клетки показал, что имеет место механизм регуляции, ограничивающий пролиферацию стволовых клеток, причем отрицательный сигнал исходит из части клеток, находящихся в *S*-состоянии. Так как не удалось показать, что такие клетки выделяют какие-либо ингибиторы непосредственно, считают, что имеет место опосредованное влияние. Из представлений о механизме действия КРП (–) прямо следует, что такой механизм ингибирования для популяции делящихся клеток костного мозга должен существовать и быть представлен КРП I (–) — неспецифическими супрессорами пролиферации, реагирующими на число клеток в *S*-фазе. Такие интенсивно пролиферирующие супрессоры обнаружены, например, на ранних стадиях восстановления кроветворения после облучения, они опосредуют интерференцию процессов при длительно протекающих процессах пролиферации различных типов клеток, влияние иммунизации на число эндогенных колониобразующих единиц и выявляются при иных процессах [22, 148]. Эти клетки-супрессоры восстанавливаются первыми после облучения, что отражает короткий цикл их самообновления, не несут известных маркеров, гистосовместимостные антигены

являются единственными, обнаруживаемыми на их мембране. Эти клетки очень похожи по свойствам на теоретически описываемые КРП I(-).

Известно выраженное влияние "микроокружения", т.е. наличия других типов клеток, для нормального функционирования всей системы стволовых клеток. Так, например, у мышей Sl/SI^d резко снижена функция формирования КОЕ — образования колоний в селезенке при введении облученным животным клеток костного мозга. Так как их собственные клетки костного мозга при введении мышам без данного дефицита формируют нормальное количество КОЕ в селезенке, считают, что имеет место дефект лимфоцитов селезенки, стимулирующих пролиферацию КОЕ. Аналогичный, но, видимо, функциональный дефект связан с аутоиммунным процессом у мышей линии NZB.

Интересен известный из радиобиологии факт выраженного повышения числа КОЕ, когда основному облучению предшествует предварительное в небольшой дозе. Известно, что для различных линий мышей этот эффект значительно варьирует — в пределах порядка. Так как радиочувствительность животных при этом и миграция КОЕ оказались не нарушенными, речь, скорее всего, идет о влиянии предварительного облучения на радиочувствительные клетки-регуляторы.

Восстановление функции КОЕ у мышей W/W^v под действием тимоцитов указывает на Т-клеточную природу клеток-регуляторов, хотя более детальные исследования показывают, что имеется сложное взаимодействие зрелых Т-лимфоцитов и лимфоцитов-предшественников в осуществлении регулирующих функций.

В настоящее время показано, что хелперные клетки-регуляторы в костном мозге и других органах несут специфический маркер — SC-антиген, к которому могут быть выработаны антитела иммунизацией кроликов гомогенатом головного мозга мышей. Как и Thy-1-антиген, SC-антиген присутствует на клетках нервной ткани.

Мы исследовали способность полученной таким образом антисыворотки, истощенной от Thy-1-эффекта тимоцитами, отменять реакцию гиперплазии слюнных желез при переносе мышам-реципиентам лимфоцитов от изопротеренол-обработанных животных, основываясь на доказанном участии в последнем процессе КРП [18]. Из представленных на рис. 24 данных видно, что в зависимости от времени введения изопротеренола донорам лимфоциты изменяют свой фенотип, теряя SC-антиген и приобретая Thy-1-антиген. При этом, как показано ранее, происходит активация пролиферации КРП.

Считают, что пролиферация необходима для нормальной дифференцировки SC^+ -предшественников до SC^- -лимфоцитов, несущих Thy-1-антиген, причем этот процесс активируется веществами, повышающими уровень цАМФ клеток [46].

Описанная картина хорошо согласуется с теоретически ожидаемой схемой функционирования КРП: под действием стимулированных в ходе регенерации, изопротеренол-индуцированной гиперплазии, нормальной пролиферации клеток-предшественников

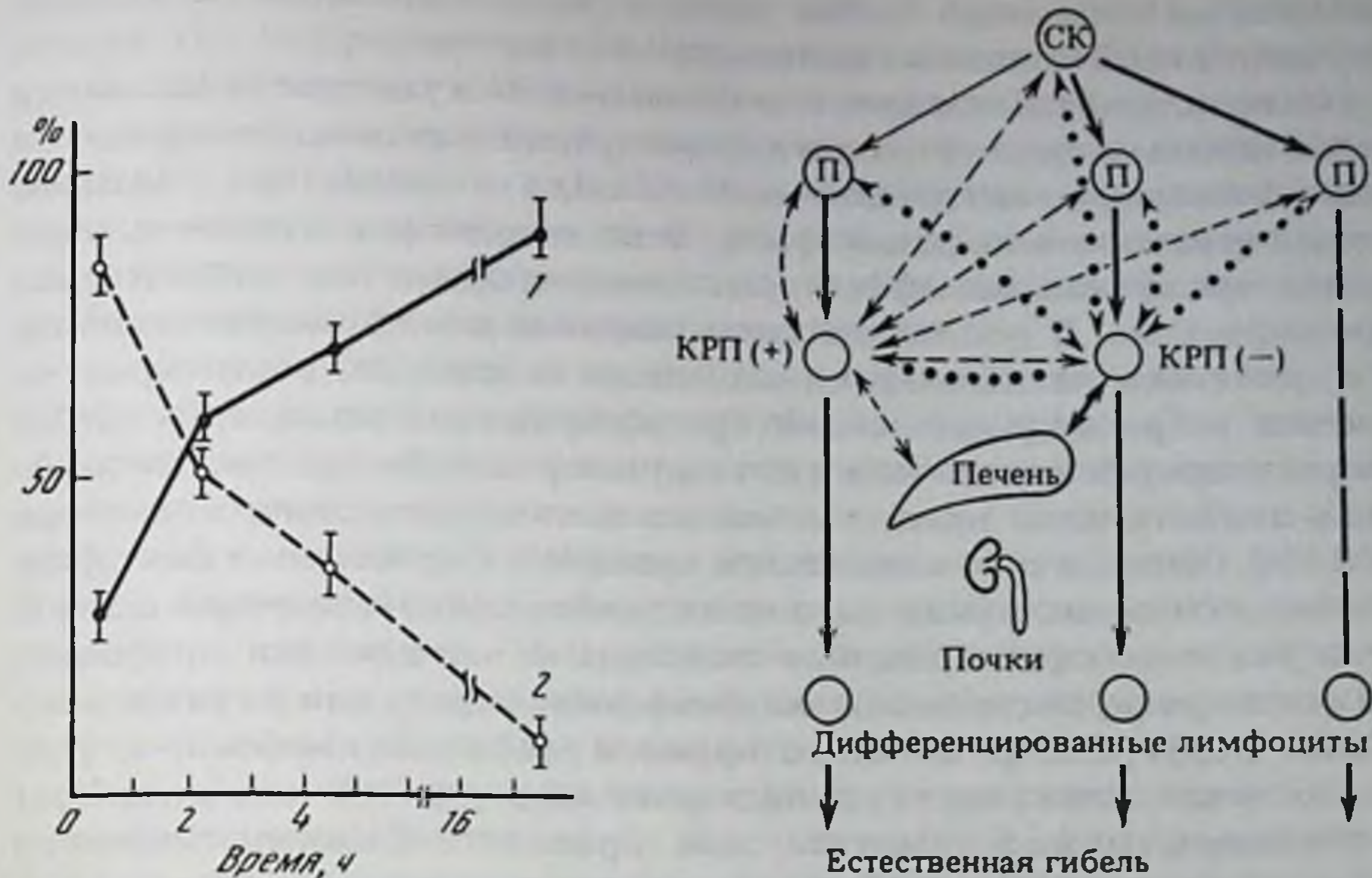


Рис. 24. Отмена анти-Thy-1- и анти-SC-сывороткой стимулирующего эффекта КРП (+) в тесте сингенного переноса к интактным реципиентам

По оси абсцисс — время после введения изопротеренола; по оси ординат — отмена сыворотками эффекта гиперплазии слюнных желез у мышей-реципиентов (в процентах ингибирования). 1 — анти-Thy-1-сыворотка; 2 — анти-SC-сыворотка

Рис. 25. Предполагаемое взаимодействие КРП с лимфоцитами-предшественниками, стволовыми клетками и клетками соматических тканей. Объяснение в тексте

СК — стволовая клетка; П — клетка-предшественник

системы стволовой клетки, пролиферации различных типов соматических клеток исходных процессов, SC^+ -предшественники увеличивают свою пролиферацию с одновременной дифференцировкой до зрелых лимфоцитов. Такой синергический механизм с выделением предшественниками лимфокинов хорошо описывает как функционирование SC^+ -клеток, так и наблюдающееся у всех видов животных увеличение массы лимфоидных органов в ходе регенерации соматических клеток. Так, у аксолотля в ходе регенерации конечностей масса селезенки увеличивается в 7—12 раз. Так как новообразованные лимфоциты ничем не отличаются от имевшихся, остается предположить, что имеет место ускорение дифференцировки лимфоцитов из их предшественников в ходе регенерации другого типа ткани.

Ярко выявляются тимус-независимые процессы стимуляции дифференцировки лимфоцитов у безтимусных животных. Если у молодых Nude мышей нет $Thy-1^+$ -лимфоцитов, снижены Т-зависимые реакции иммунитета, регенерация, рост и развитие, то у взрослых животных все эти показатели восстанавливаются. Это прямо указывает на наличие внетимических механизмов созревания Т-клеток. Скорее всего, тимус в эволюции лишь ускорил созревание Т-клеток,

которое имеет место и без него в ходе взаимодействия предшественников Т-клеток с соматическими тканями.

Наконец, на примере сингенной смешанной культуры лимфоцитов четко показана пролиферация клеток-предшественников лимфоцитов под действием интерлейкина-3 (ИЛ-3) — медиатора, активно секретлируемого в костном мозге. Этот медиатор в данном случае прямо выступает как эффекторный медиатор клеток—регуляторов пролиферации. В последние годы показана полифункциональность его, действие на нелимфоидные клетки и наличие рецепторов на клетках эмбриональной печени. При обнаружении рецепторов к ИЛ-3 на регенерирующей печени этот медиатор мог бы претендовать на роль теоретически предполагаемого неспецифического медиатора КРП I (–). Обнаружение в последнее время ИЛ-4 и ряда иных факторов, однако, позволяет думать, что может иметь место и секреция целого ряда различных факторов, причем показано, что один тип лимфоцита может секретировать несколько лимфокинов сразу или на различных этапах дифференцировки секретируются различные лимфокины.

Учитывая, что существует несколько подвидов ИЛ-1 со сходными свойствами, можно полагать, что древность филогенетического происхождения КРП открывает им возможность секретировать целый ряд — семейство медиаторов как специфического, так и неспецифического типа со сходными свойствами.

Таким образом, видимо, КРП (+) и КРП (–) типы у современных организмов представлены клетками-предшественниками из системы стволовых клеток. Общая схема вероятного взаимоотношения их с различными типами пролиферирующих клеток в организме показана на рис. 25.

КРП В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ ОРГАНИЗМОВ

Рост и развитие являются существенными моментами онтогенеза любого многоклеточного организма, в результате чего из одной клетки-зиготы формируется организм со всеми присущими ему свойствами. Принято понимать под развитием усложнение организма с увеличением числа как выполняемых функций, так и дискретных отделов организма, специализированных для выполнения таких функций — формирования органов и тканей, или морфогенез. Так как органы строятся из клеток, то по крайней мере в период роста развитие тесно связано с процессами роста, понимаемого как увеличение числа клеток в организме и массы всего организма. Обычно в процессах роста и развития различают процессы дифференцировки, связанные со специализацией, что обычно сопровождается утратой клетками пролиферативных потенций, и процессы пролиферации, лежащие в основе собственно роста массы организма.

Таким образом, рост и развитие оказываются взаимосвязанными, но в то же время противоречивыми процессами, протекание которых во многом зависит от закономерностей каждого процесса.

Современные теории роста и развития носят общий характер,

вытекая из теорий самоорганизации живой материи. Наибольшие успехи тут получены при использовании математических теорий, прямо не связанных с биологией, — топологические построения, законы симметрии, критерий упорядоченности, термодинамические законы [19, 244]. При этом из всех типов теорий роста и развития лишь термодинамические теории ставят вопрос о причинах ограничения роста различных микроорганизмов — фундаментальном процессе, особенно выраженном для наземных животных.

Так как наличие внешних воздействий на организм, случайных по своей природе, всегда приводит к гибели некоторой части живого вещества вне зависимости от уровня организации биологической системы, представляется достаточно ясным, что избыточный анаболизм является законом существования живых систем. Определенное значение имеет и то, что все живые системы являются сложными системами. Из законов кибернетики следует, что в сложных системах неизбежно возникают ошибки, которые, если не устраняются, ведут к гибели системы.

Общепризнанные представления о росте живого вещества исходят из представлений Бергаланфи о том, что рост (dy/dt) определяется как разность процессов ассимиляции (ηy^n) и диссимиляции (xy^m), что, в свою очередь, является приложением закона сохранения массы и энергии к живым системам. Так как все процессы, описываемые формулой, суть функции веса W , то для практических расчетов используют обычно отношение $dW/dt = a_1 W^{b_1} - a_2 W^{b_2}$, где a_1, a_2, b_1, b_2 — коэффициенты. Так как с ростом ассимиляция в целом не может увеличиваться, то ясно, что $n < m$, а $n \leq 1$. Эмпирически для многих типов организмов было показано, что удельная ассимиляция на деле снижается с возрастом; обычно $n = 0,75$. Это указывает на то, что траты на обмен растут медленнее, чем рост массы тела. Последнее выявляет характерную черту, выступающую на первый план при старении, — с течением времени по мере увеличения массы интенсивность самообновления тканей снижается. Вначале первому члену уравнения придавали смысл поверхности тела, так как поступление вещества в организм ограничивается площадью соприкосновения с внешней средой, а второму члену придавали значение объема, так как катаболизм протекает в определенном объеме.

Так как увеличение массы (объема) происходит по кубическому закону, а площади — по квадратическому, это несоответствие должно накладывать внутреннее ограничение на рост. Эти рассуждения, верные для отдельной клетки, однако, преодолеваются при переходе организма к многоклеточности.

Другим, более распространенным взглядом является представление об увеличении процессов дифференцировки по мере роста, что сопровождается переходом на более экономный — гетеросинтетический — путь метаболизма с исключением аутосинтетических генов. Важным здесь является представление о физиологических механизмах ограничения роста и отход от чисто физико-

химических теорий, которые, как стало ясно, помочь в решении феномена роста и его ограничения сами по себе не могут. Действительно, исходя из наиболее общих представлений достаточно ясным является то, что закономерности живого следует искать на уровне организации живого, а не более низких уровней организации. Эти представления хорошо иллюстрируют положение кибернетики о том, что законы функционирования сложных систем возникают каждый раз заново, когда количественные изменения приводят к возникновению нового качественного уровня.

Конкретные исследования показали, что тип роста организмов резко изменился с выходом на сушу. В онтогенезе также тип роста, а значит, и законы, его определяющие, не остаются идентичными — известно, что для роста человека имеет место смена трех типов роста — эмбрионального, основного и пубертатного. Показано, что в соответствии с этим изменяются и величины l и m для человека в различные возрастные периоды.

Тщательный анализ выявляет, что лимитирующим фактором для процессов роста является поступление энергии в организм, так как с увеличением массы одновременно увеличивается и необходимое для поддержания существования организма поступление энергии извне. В том же направлении (ограничение конечных размеров организма) действует для наземных животных гравитация, так как с увеличением массы тела резко увеличивается необходимость затрат энергии на перемещение в пространстве. Поскольку данная закономерность носит общий характер, из нее вытекает необходимость формирования в эволюции специальных механизмов ограничения роста у всех многоклеточных, в особенности у современных, быстро передвигающихся по суше.

Система КРП, являясь интегративной по существу, прямо не связана с процессами роста и развития. Существуют целые области живого, где вследствие отсутствия пролиферации соматических клеток у взрослого организма, например у коловраток, этой системе просто "нечего делать". В случае эмбриогенеза развитие осуществляется за счет формообразующих влияний морфогенетических полей, где индукторами могут служить самые разнообразные клетки. С этим хорошо согласуется положение, что при регенерации, для которой доказано функционирование КРП, вторичное развитие поврежденного органа идет по-разному в эмбриогенезе и в постэмбриональный период, когда восстанавливается масса органа, а не его форма.

Очевидно, репопуляция КРП осуществляется сразу же в период после рождения, чем и объясняется известный феномен "истощения" с прекращением роста, дистрофическими изменениями органов, нарушением репаративной регенерации и т.д. при неонатальной тимэктомии.

Другим примером нарушения функций КРП могут быть случаи прогерии. Обычно ребенок при этих состояниях рождается вполне нормальным, и лишь после рождения начинается резкое постарение тканей [126]. В случае наиболее тяжело протекающей формы —

синдрома Гилфорда — причиной нарушений могут быть изменения в системе антигенов гистосовместимости — главных, распознаваемых, видимо, системой КРП, детерминант клетки. В качестве компенсации КРП должны усиленно пролиферировать, что, видимо, и определяет типичную для этого заболевания спленомегалию, хотя при других формах прогерий первичная лимфопения может указывать на первичный дефицит самой системы КРП.

По-видимому, клетки КРП сразу же после рождения вступают во взаимоотношения со всеми клетками организма, приспособляясь к имеющимся в наличии типам клеток в течение всей индивидуальной жизни организма.

Представляется достаточно ясным, что рост и его ограничение как достижение для каждого вида определенных размеров являются результатом прежде всего поступления энергии извне в виде пищи. Этот процесс, таким образом, должен подвергаться мощному эволюционному давлению, что и должно формировать надежные механизмы регуляции средних размеров организма для вида. Собственно организация организма является результатом сложного переплетения действующих на него факторов, которые можно объединить в группы — физиологические, популяционные и экосистемные. Во многих случаях эти три группы факторов противостоят друг другу и разрешаются на компромиссной основе. Считают, что общей стратегией эволюции являлось увеличение темпов роста, сопровождающееся ускорением наступления половозрелости, большей продуктивностью и большей жизнеспособностью.

Практически все эволюционисты сходятся во взглядах на то, что абсолютная продолжительность жизни отдельной особи никогда не играла в эволюции определяющей или даже заметной роли: факторный анализ показывает связь продолжительности жизни со всеми тремя группами факторов, но ни в одной группе продолжительность жизни не является определяющей величиной.

Если приспособление системы КРП к процессам развития может сводиться к увеличению разнообразия КРП II и III, то проблема регуляции роста непосредственно связана с внешними влияниями на интенсивность функционирования КРП. Рост массы при этом может достигаться за счет одного из трех влияний:

увеличение числа КРП (+) при стимуляции их естественной пролиферации внешним к системе КРП фактором;

снижение числа КРП (–) при снижении их естественной пролиферации внешним по отношению к КРП-системе фактором;

увеличение числа различных типов клеток в G_1 -фазе цикла или прямая стимуляция клеток-мишеней внешним к системе КРП и тканям-мишеням фактором.

Увеличение числа G_1 -клеток наблюдается при репаративной регенерации и может происходить также при всех состояниях физиологической стимуляции определенных тканей. Так, усиленный рост костей в длину, связанный с гормональными воздействиями на эпифизы, ведет к механическому растяжению мышц, нервов, сосу-

дистого пучка и может восприниматься как сигнал недостаточности функции и необходимости роста ткани, что может лежать в основе роста массы тканей при физической нагрузке, гипертрофии органов, пубертатном росте и т.д. Различие природы факторов, запускающих (G_0/G_1)-переход для различных типов тканей, не позволяет, однако, использовать такой механизм как универсальный при регулировании роста всего организма, кроме того, этот механизм важен для процессов регенерации и гипертрофии органов, что необходимо организму в любом возрастном периоде.

Известно значительное число факторов роста, действующих на уровне целостного организма, особенно в эмбриональный период, и создающих, видимо, определенный фон для роста [53, 65, 91, 109, 208].

Четко показана связь Т-лимфоцитов с процессами роста, позволяющая считать, что рост-регулирующие влияния опосредуются через систему КРП. Так, известна четкая связь тимуса с процессами роста — синдром "истощения" при неонатальной тимэктомии и инволюция тимуса при прекращении роста. Известно, что после завершения роста происходит переключение тимуса с продукции преимущественно Т-хелперов на Т-супрессоры, что связано с изменением соответствующих гормонов тимуса. На примере иммунных реакций показано, что в старости увеличивается доля Т-супрессоров, причем неспецифического типа [77, 147]. Все эти процессы являются результатом прямых регуляторных влияний на тимус со стороны гипофиза, причем некоторые исследователи объединяют гипофиз и тимус в одну систему регуляции организма [171]. На гипопитуитарных мышах показано, что лечение гормоном роста эффективно лишь при сохранении тимуса [207]. Стимуляция роста карликовых мышей возможна, кроме СТГ, также введением лимфоцитов от взрослых растущих животных [147]. Показано наличие рецепторов к СТГ на лимфоцитах, причем СТГ активирует цАМФ-зависимые протеинкиназы и стимулирует пролиферацию лимфоцитов в культуре. Интересно, что на Т-клетках растущих мышей число рецепторов к СТГ повышено в дополнение к увеличению уровня СТГ [190]. О наличии активных, специфических, вызывающих инволюцию тимуса влияний, исходящих со стороны гипофиза, будет сказано в следующем разделе.

Для разработки теории роста с участием системы КРП необходимо знать кинетику изменения различных клеток КРП в течение онтогенеза. Для исследования таких возрастных изменений регуляции пролиферации тканей системой КРП мы использовали процесс гиперплазии у грызунов слюнных желез при введении им изопротеренола. На рис. 26 показана динамика этого процесса в зависимости от возраста. Отмечается, что сниженная в первый месяц жизни гиперпластическая реакция слюнных желез животных на изопротеренол достигает максимума у взрослых животных и затем быстро снижается с возрастом. Одновременно снижается число бластных клеток, выделяемых через 4—6 ч после введения препарата и идентифицированных как КРП (+). В ходе онтогенеза также

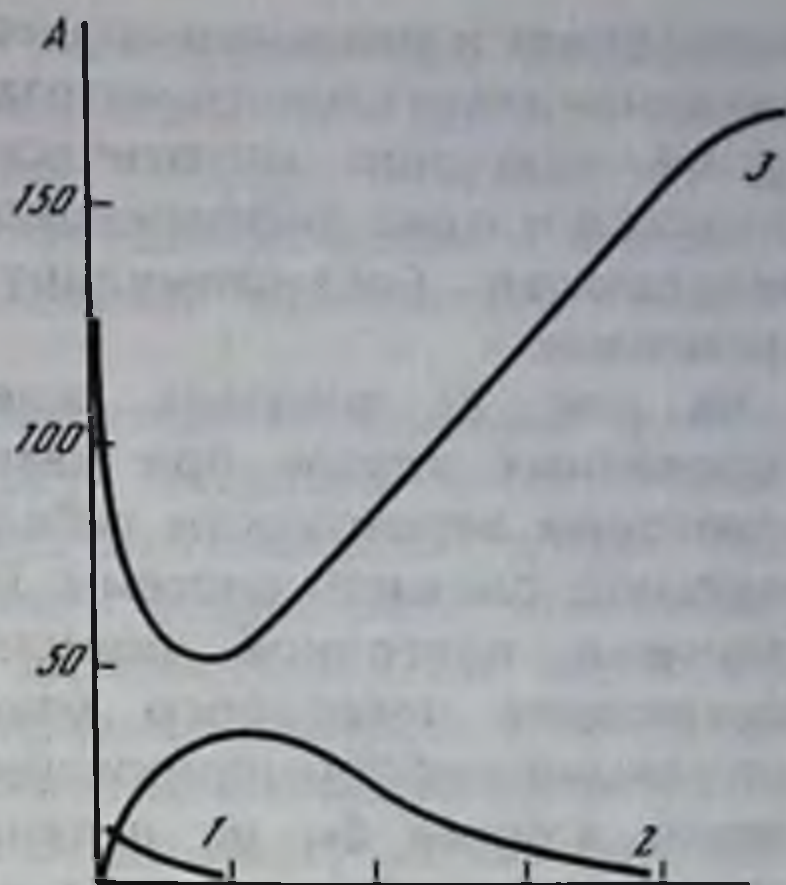
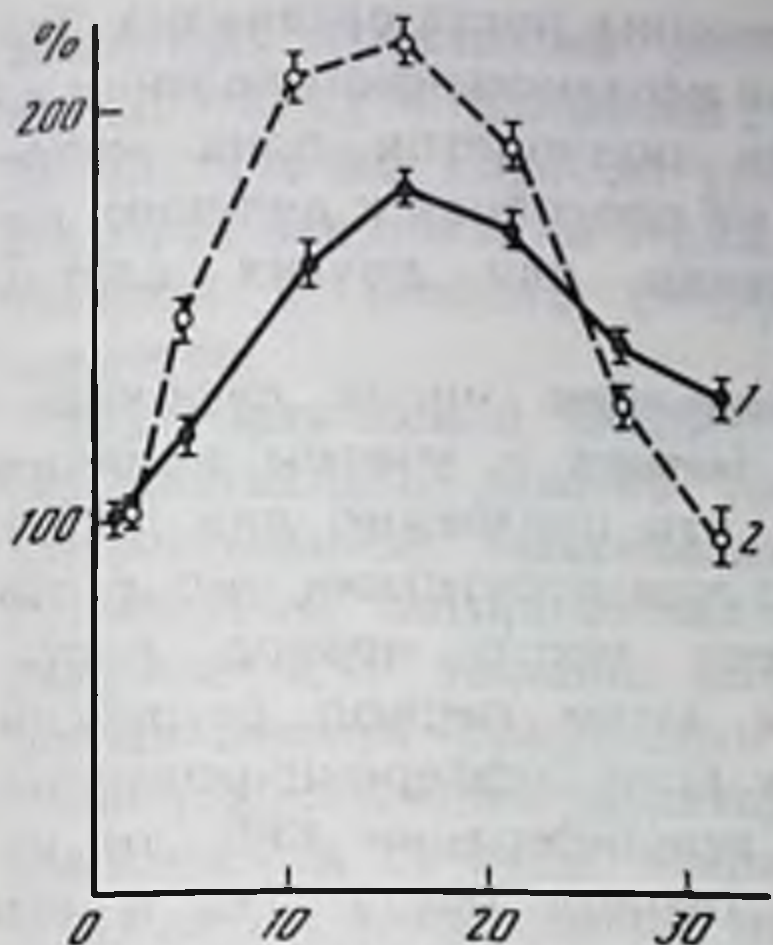


Рис. 26. Изменение изопротеренол-индуцированной гиперплазии слюнных желез и реакции КРП у мышей различного возраста

По оси абсцисс — масса мышей (в г); по оси ординат — параметры (в процентах). 1 — гиперплазия слюнных желез на изопротеренол; 2 — число бластных клеток селезенки через 4 ч после введения изопротеренола мышам

Рис. 27. Расчетная величина интенсивности смертности многоклеточных с системой КРП и внешним регуляторным влиянием на систему КРП

По оси абсцисс — время (в усл. ед.); по оси ординат — параметры (в усл. ед.). 1 — число пролиферирующих клеток М; 2 — число дифференцированных регуляторных клеток Д; 3 — логарифм интенсивности смертности, рассчитанный как обратная к Д величина + некоторая константа

закономерно снижается относительное число в расчете на единицу массы бластных клеток селезенки, которые, видимо, содержат естественным образом активированные в ходе самообновления тканей КРП.

В рамках гипотезы о КРП-системе можно наблюдать характерные особенности кинетики КРП (+) и (-) в течение онтогенеза; при их анализе следует учитывать следующее. Из основной схемы системы КРП видно, что после достижения в результате самоорганизации постоянного соотношения числа клеток-мишеней в случае наличия G_0 -состояния у последних нет потенциальных потребностей для роста всей системы. Приобретение состояния дифференцировки тканями должно было сопровождаться одновременным появлением механизма, обеспечивающего рост всей системы, что может определяться лишь внешними для системы КРП причинами. Для того чтобы существовал феномен роста всего организма, необходимо постоянное наличие в период роста градиента стимулирующего фактора, или, что аналогично, постоянный рост числа клеток, выделяющих такой фактор, с достижением некоторого максимума ввиду необходимости ограничения роста. Известен конкретный биологический механизм, позволяющий достичь как увеличения во времени числа клеток определенного типа, так и их максимума; этот механизм может служить удобной рабочей моделью для рассмотрения феномена роста и его ограничения, а также, возможно,

определяет и реальные процессы ограничения роста организма. Это механизм квантального митоза, когда при неравноценном делении из одной исходной митотической клетки получается одна митотическая и одна дифференцированная, не способная к делению, но выделяющая рост-стимулирующий фактор для других клеток организма.

На рис. 27 показана кинетика увеличения числа дифференцированных клеток при квантальном митозе с учетом наличия некоторой вероятности гибели клеток, что неизбежно для любой реальной сложной системы. Видно, что при отсутствии процессов старения клеточной популяции имеют место период роста, достижение некоторого максимума и затем период регрессии популяции дифференцированных клеток. Если дифференцированные клетки влияли бы на интенсивность пролиферации КРП, то их изменение хорошо отражало бы как период роста, так и его прекращение, а также и обратную инволюцию пролиферативных потенциалов тканей в старости. Такие регуляторные клетки, скорее всего, представлены нейроэндокринными клетками гипоталамуса. Известна чувствительность Т-лимфоцитов к ряду пептидов, выделяемых мозгом. Возможно, регулирующие влияния сказываются опосредованно через неизвестные или некоторые известные гормоны гипофиза.

Изменение числа регуляторных клеток гипоталамуса делает процесс роста пластичным и хорошо отвечает особенностям развития организмов в эволюции — постоянству отношения времени достижения половозрелости к длительности жизни, возможности резкого изменения длительности жизни, темпов роста при минимальных изменениях в геноме, очевидности связи роста, развития и длительности жизни и т.д.

Важным следствием разобранного механизма возможной регуляции роста и развития является необходимость периода инволюции, если регуляторные центральные клетки не обновляются, как в описанной системе. У рыб показана возможность самообновления клеток ядер гипоталамуса за счет камбиальных нервных элементов, что, возможно, определяет их непрекращающийся рост. У млекопитающих самообновления клеток ядер гипоталамуса не происходит и процесс снижения регуляторных влияний оказывается (в пределах данной схемы) неизбежным, а это означает снижение интенсивности самообновления тканей, что является типичной чертой заключительного периода развития — старения.

СТАРЕНИЕ КАК РЕЗУЛЬТАТ ДЕФИЦИТА КРП

Феномен старения подвергся в настоящее время подробному рассмотрению на молекулярном, генетическом, клеточном, организменном и популяционном уровнях. При этом оказалось, что важнейшие закономерности можно получить не применяя качественно новые экспериментальные подходы, а используя углубленный анализ уже имеющегося материала, прежде всего таблиц смертности

животных и человека. Это указывает на ставший уже очевидным вывод, что суть процессов старения можно понять и описать только на достаточно высоком уровне анализа — теоретическом, так как старение как понятие отражает наиболее важные стороны жизни как таковой и связано с фундаментальными принципами живого вещества.

Математический анализ таблиц смертности позволил выявить принципиально важные закономерности старения — отсутствие фиксированной максимальной продолжительности жизни для организмов; историческая стабильность возрастного компонента смертности в течение онтогенеза; экспоненциальное нарастание интенсивности смертности в определенном возрасте по закону Гомперца; сложный характер изменения интенсивности смертности в зависимости от пола, возраста в сроки до наступления полового созревания; прекращение нарастания интенсивности смертности с определенного возраста, а также некоторые другие особенности [8].

В определении самого термина "старение" оказались наиболее эффективны общие подходы, связанные с кибернетическими и термодинамическими взглядами на феномен жизни. Старение рассматривают как закономерный процесс, этап онтогенеза, характеризующийся общим направлением процессов жизнеобеспечения, приводящих к ограничению степени приспособления организма к внешним условиям, упрощением систем, накоплением некомпенсированных последствий действия различных внешних и внутренних воздействий, что приводит к прогрессивному увеличению вероятности смертности организма в этот период.

Давление смертности для различных организмов легко учитывать при достаточно большом количестве наблюдаемых животных по интенсивности смертности, которая, как оказалось, растет с возрастом по определенному закону. Вывод закономерности экспоненциального нарастания интенсивности смертности был сделан Гомперцем теоретически, исходя из предположения, что начиная с определенного возраста происходит потеря резистентности организма к любым воздействиям, причем интенсивность снижения резистентности пропорциональна ей самой, а смертность определяется как величина, обратная резистентности. Вполне соответствуя фактическому материалу, этот вывод, однако, до настоящего времени не имеет четкого биологического объяснения — механизм и причины такого явления не вскрыты.

Хотя нет недостатка в постулированных механизмах старения, нет до сих пор единства даже в описании наиболее существенных характеристик старения. Представляется уместным поэтому остановиться на некоторых достаточно ясных к настоящему времени вопросах.

Сейчас считают достаточно ясным положение о том, что на уровне клеток старение проявляется в том случае, если клетка не делится. Полноценное деление клетки, по-видимому, возможно только при делении, когда идет синтез ДНК на высоком уровне; включение аутосинтетической программы позволяет также резко увеличить

обмен других структурных компонентов клетки [53, 122, 126]. Наиболее ярким примером, связанным с отсутствием клеточного деления, является старение коловраток, у которых все клетки в период жизни взрослого животного не делятся. У этих организмов ярко выражен процесс старения во всех тканях, а продолжительность жизни невелика и детерминирована. У циклопа выраженные признаки старения затрагивают все клетки желудочно-кишечного тракта, кроме делящихся клеток средней кишки. "Омоложение" органов при регенерации, связанной с индукцией деления клеток органа, является хорошо известным классическим примером связи старения с делением клеток [122]. Причиной старения неделящихся клеток является, как считают, не "накопление ошибок", а все больший уход в состояние дифференцировки, связанное с синтезом главным образом дифференцировочных белков и подавлением аутосинтеза, необходимого для полноценного обновления клетки. Этот процесс хорошо иллюстрируется увеличением латентного периода индукции пролиферации для клеток, имеющих длительные сроки культивирования в стационарной фазе [53]. Тогда старение можно рассматривать как гиперкомпенсацию, связанную с остановкой клеточной пролиферации, что является "платой" за дифференцировку. Следует подчеркнуть, что пролиферация и дифференцировка являются координированными, но различными, осуществляющимися разными механизмами, процессами [53, 79].

У млекопитающих большинство тканей являются самообновляющимися — кожа и слизистые, печень, почки, слюнные железы и другие ткани и органы постоянно, хотя и с различной скоростью, обновляются за счет деления составляющих их клеток.

В то же время часть клеток организма менее подвержена подобному типу самообновления, а ряд клеток вовсе не делятся. Классическим примером являются нервные клетки. Однако именно нервные клетки оказались наиболее устойчивыми к старческим изменениям. По-существу, у человека и других млекопитающих изменение нервных клеток нельзя признать в качестве ведущего механизма старения, хотя "церебральная смерть" типична, например, для некоторых насекомых [23]. Так как пределы жизни насекомых и долгоживущих видов сильно различаются, разителен размах приспособительных изменений, противостоящих старению отдельной нервной клетки. По-видимому, высокие потенции самообновления на внутриклеточном уровне не реализуются для делящихся клеток потому, что они не нужны им — самообновление достигается иным способом — замещением клеток при делении. В этом случае, однако, задержка деления и снижение митозов в ткани, подвергшейся самообновлению, оказываются более катастрофическими, чем в мало или вовсе не обновляющихся посредством деления клеток тканях.

В последние годы стало окончательно ясно влияние эволюции на процесс старения. Расчеты эволюционного влияния на вид показали, что старение вообще не подвержено эволюционному влиянию ни в плане появления специального механизма саморазрушения для

ликвидации старых животных, якобы могущих препятствовать эволюции, ни в плане противодействия старению для сохранения возможности увеличения числа потомков. Реальная смертность в большинстве популяций в естественных условиях оказывается независимой от возраста ввиду большой смертности от внешних причин, и большая часть животных гибнет до наступления старости.

Представляется, что эволюция осуществляется за счет удаления менее приспособленных особей многими путями, в подавляющем большинстве случаев никак не связанными со старением. Обращает на себя внимание тот факт, что в пределах далеко отстоящих в филогенезе видов наблюдается внутри классов выраженный разброс по продолжительности жизни отдельных видов — от месяцев до сотен лет, т.е. продолжительность жизни выступает на протяжении всей эволюции, как безразличный для нее параметр, хотя продолжительность жизни и связана различными механизмами с другими параметрами, уже непосредственно подвергающимися эволюционному давлению. Важнейшей характеристикой для вида является прежде всего размер тела, связанный с влиянием гравитации, скорости передвижения, доступностью и характером пищи и т.д. Строго регулируемые для млекопитающих размеры тела связаны с процессами ограничения роста, что определяет и время наступления половой зрелости и принесения потомства — важнейший момент для эволюции. В последние годы все чаще старение связывают с действием ограничителей роста как результата исчерпания программы развития, действия механизма ограничения роста после того, как он закончен, и т.д. Неизвестен, однако, точный механизм такого ограничения, как и сама причина и необходимость развития в результате его действия старения. У ряда рыб, растущих в течение всей жизни, признаков старения отметить не удастся. Классическими примерами являются самка камбалы, а также представители других классов — актинии, гидры, губки.

Для млекопитающих, вышедших из моря на сушу, подверженных действию гравитации и ограниченных возможностями получения пищи, что прямо связано с допустимыми размерами тела, ограничение роста является важнейшим механизмом в их онтогенезе, причем по достижении некоторого возраста фактически наблюдается снижение массы тела. Необязательно снижение массы тела сопровождается снижением линейных размеров, как, например, у крыс. Поэтому считают, что старение связано с вполне определенным типом прекращения роста [82], связанным прежде всего с регуляцией массы тела.

Удивительны примеры резкого изменения продолжительности жизни при нормировании новых видов. Так, известно, что продолжительность жизни гоминид за последние два миллиона лет увеличилась в 2 раза. При этом биологическая организация шимпанзе и человека удивительно сходна по биохимическим и физиологическим параметрам, а продолжительность жизни значительно различается. Все это указывает на то, что старение связано с небольшой группой генов или даже с одним геном. Генетические исследования

показывают, что детерминируется не старение, а продолжительность жизни, причем по сверхдоминантному типу, определяющемуся небольшим числом или даже одним геном.

Оказалось, что эволюция для различных видов смогла реализовать лишь две стратегии: или большую плодовитость, связанную с быстрым ростом и малой продолжительностью жизни, или большую продолжительность жизни при небольшой плодовитости. В обоих случаях между продолжительностью жизни и абсолютной скоростью роста имеется обратная зависимость. Это можно интерпретировать как указание на изменение масштаба развертывания программы онтогенеза. Действительно, кривые выживаемости самых различных видов, представленные в безразмерных координатах, неотличимы. Таким образом, механизмы развертывания программы самых различных организмов изменяются весьма мало в филогенезе, что, в частности, прямо указывает на единство такого механизма и его относительную простоту. В то же время этот механизм развертывания программы онтогенеза может под действием внешних факторов несколько меняться — он оказывается достаточно пластичным. Этим определяется как возможность реализации программы в самых различных масштабах, так и возможность несколько изменять программу на различных этапах онтогенеза. Так, сравнение жизни человека и крысы в эквивалентных показателях показывает, что на различных этапах онтогенеза коэффициент такого соответствия колеблется от 1,8 до 6. В то же время для периода старения, на который эволюционные факторы фактически не действуют, имеет место для самых различных видов монотонность соотношений такого типа.

Для выяснения физиологических механизмов старения интересно проанализировать экспериментальные воздействия и некоторые заболевания, сопровождающиеся симптомами, типичными для старения.

Уже давно обратили внимание на то, что симптомы старения более всего похожи на симптомы голодания при ограничении питания или при снижении поступления кислорода к тканям. Такой подход оказался плодотворным и для выведения формул изменения массы животных в течение онтогенеза с определением максимальной продолжительности жизни [7, 20, 36]. В клинике типичные симптомы старения можно наблюдать при тяжелых расстройствах пищеварения, эндокринных расстройствах, ведущих к повышению катаболизма [169]. Успешное лечение таких больных возвращает им их возраст. Однако улучшение питания, оксигенотерапия, анаболические гормоны принципиально не изменяют естественного старения, т.е. дистрофические явления хотя и лежат в основе старения, но являются результатом, а не первичным механизмом его.

Принципиально важным является наличие синдромов преждевременного старения — прогерий. Есть ряд прогерий с различной выраженностью симптомов, в том числе такие, при которых максимальная продолжительность жизни изменяется мало. В большинстве случаев, однако, резко снижается продолжительность

жизни, а выраженные старческие изменения, включая гипертонию, типичные изменения кожи, атеросклероз, инфаркт миокарда, проявляются уже через некоторое время (несколько лет) после рождения или даже сразу при рождении — "натогерия". Такие больные в детском возрасте умирают от старческих болезней — атеросклероза, инфаркта [219]. При прогериях часто выпадают отдельные этапы развития, однако некоторые формы не могут быть объяснены ускорением программы развития или выпадением отдельных ее фаз. Видимо, в таких случаях речь идет о повреждении механизмов, через которые реализуется программа развития. Так, при синдроме Гилфорда отмечено отсутствие антигенов гистосовместимости на клетках [126]. Если учесть, что при прогериях спленомегалия или лимфопения являются частым явлением, а антигены главного комплекса гистосовместимости играют важную роль для функционирования лимфоцитов, можно думать, что затрагиваются лимфоидные механизмы регуляции роста. И спленомегалия и лимфопения могут указывать на одно — недостаточность лимфоидных механизмов обеспечения роста тканей: в одних случаях лимфопения может быть первичной, а в других — компенсаторной при снижении чувствительности к ним тканей организма. При болезни Дауна, также сопровождающейся снижением длительности жизни и рядом симптомов преждевременного старения, наблюдается увеличение числа лимфоцитов-супрессоров.

В определенных условиях, видимо, возможно обращение программы развития, при этом происходит омолаживание тканей, восстановление роста, в том числе внутренних органов, первичных половых признаков, мозга, восстановление репродуктивной способности и т.д. Это наблюдается в естественных условиях в пределах одного вида — полевок. Осенняя генерация полевок старится к зиме, но весной восстанавливает свою активность в отличие от весенней генерации, погибающей к зиме. Обратимость признаков старения указывает на динамический характер самого процесса старения, который, таким образом, носит все характерные черты регулируемого и направляемого центральными механизмами процесса [31].

Важные данные были получены при анализе биохимии старения. Хотя в различные периоды развития геронтологии многим метаболическим изменениям приписывали первичное значение механизма старения, ни одна метаболическая теория старения не подтвердилась — во всех случаях показано, что метаболические изменения оказываются вторичными, результатом старения. Действительно, масштаб времени для этих процессов несовместим с развертыванием программ развития в течение многих лет. Особенно ясно это видно на клеточных культурах, где четко просматривается и механизм таких изменений: при снижении интенсивности деления клеток в культуре быстро, за часы, развиваются метаболические изменения, типичные для старческих клеток, и столь же быстро исчезают после обновления пролиферации клеток. Рассматривая старение самообновляющихся клеток как результат снижения их клеточного самообновления, увеличения числа дифференцирован-

ных клеток и снижения числа пролиферирующих клеток, а снижение митотического индекса тканей с возрастом — типичный процесс, можно представить старение самообновляющихся тканей как популяционный феномен, связанный с изменением интенсивности физиологической регенерации их [85, 106, 118, 206].

Так как важная роль в поддержании физиологической и репаративной регенераций принадлежит системе КРП, последняя должна играть значительную роль в развитии старения. Действительно, показано выраженное изменение функции лимфоцитов в старости на примере иммунных реакций; более того, иммунная система как никакая другая наиболее рано и выражено изменяется в процессе старения [147].

Важная роль лимфоцитов в старении была показана еще Ф. Бернетом, который сформулировал иммунную теорию старения. Такой подход вызвал значительное количество работ об изменении функции иммунной системы при старении [44, 70, 73, 88, 124, 147, 150, 194].

Основные выводы, к которым пришли иммунологи, состоят в утверждении о значительном снижении интенсивности клеточного иммунитета в старости при сохранении гуморальных иммунных реакций, что ведет к снижению противоопухолевого иммунитета и развитию аутоиммунных болезней. Однако эти явления оказываются не всеобщими, более того, не патогномичными для процесса старения. Как и в отношении других теорий, можно полагать, что многие явления этого плана являются не причиной, а следствием старения, проявляющегося на уровне иммунокомпетентных клеток и органов. Важным наблюдением является обнаруженное снижение массы тимуса с возрастом, что рассматривается как активный процесс, направляемый гипофизом. В опытах с парабиозом было показано, что старый организм оказывает ингибирующее действие на иммунные процессы у молодых мышей [7]. С другой стороны, было показано, что гипофизэктомия отменяет процесс инволюции тимуса, а также увеличивает длительность жизни животных [114, 207]. Интересно, что омолаживающий и предупреждающий старение эффект голодания или содержание животных на холоду также ведут к задержке инволюции тимуса [228, 234]. Восстановление массы тимуса, как и восстановление роста и половой функции, наблюдается весной у перезимовавших полевок [7], что сопровождается признаками "омоложения" самых различных тканей. Наличием выраженного ингибирующего влияния старого организма объясняются, по-видимому, неудачные попытки восстановления иммунитета у старых животных пересадкой иммунокомпетентных клеток: от старых животных костно-мозговые клетки в молодом организме восстанавливают свои потенции, а от молодых — в старом организме становятся "старыми". Таким образом, эффект постарения ткани, в частности иммунной, определяется целостным организмом [147].

Подробные исследования клеточных популяций показали, что общее число лимфоцитов несколько снижается в самых старших возрастах за счет Т-лимфоцитов, при этом страдают главным образом

Ly-2⁺-лимфоциты, что снижает отношение хелперы/супрессоры. Увеличивается количество "нуллеров" — не несущих маркеров клеток, рассматриваемых как незрелые лимфоидные клетки. Особый интерес представляют данные о выраженном (в 2—3 раза) снижении CD4⁺-лимфоцитов у человека с маркером CD45R — их рассматривают как индукторы супрессоров, кроме того, это, по-видимому, клетки ранних стадий дифференцировки; одновременно увеличивается число CD4⁺CDW29⁺-клеток, рассматриваемых как индукторы хелперов. Увеличение супрессорных механизмов, описываемое для определенного возраста, касается неспецифических супрессоров, тогда как антиген-чувствительные клетки различных функций снижаются в течение всего онтогенеза, за исключением периода детства. Не отмечено снижения естественных киллеров: таким образом, повышение частоты опухолей в старости связано с иными механизмами. Выраженной атрофии подвергаются первичные органы лимфопоэза — костный мозг и тимус, хотя количество малодифференцированных клеток может даже увеличиваться в старости — видимо, за счет нарушения созревания их до зрелых клеток.

Исследование тонких механизмов нарушения иммунитета в старости показало, что в основе нарушений лежит недостаточность перехода клеток из G₁-стадии в стадию синтеза ДНК — (G₁/S)-блок. Интересно, что для тканей старого животного такой блок также известен и является типичным, причем эксперименты с клеточными гибридами доказали, что внутриклеточные механизмы регуляции (G₀/G₁)- и (G₁/S)-перехода оказываются у старых животных неповрежденными, т.е. наблюдаемый (G₁/S)-блок является результатом внешних влияний — отсутствия внеклеточных стимулов активации пролиферации клеток [7, 147]. Для иммунной системы известно, что причина (G₁/S)-блока у старых животных — недостаточность Т-хелперов при сохранности или увеличении функции Т-супрессоров. Для других тканей соответственно в связи с развиваемыми взглядами это могло бы быть результатом дефицита КРП (+). Выраженное снижение в старости так называемой сингенной смешанной культуры лимфоцитов — аналога функционирования КРП системы в культурах — подтверждает такое предположение.

Удобной формой изучения влияния лимфоцитов на процесс старения оказались иммунодефициты и аутоиммунные заболевания типа реакции трансплантат против хозяина, которые ряд исследователей рассматривают как экспериментальные модели старения [147, 227]. При этих процессах, как и при врожденном отсутствии тимуса или при неонатальной тимэктомии, прекращается рост, развивается истощение, снижается репаративная регенерация и т.д.

Исходя из ранее приведенного можно полагать, что изменения иммунной системы являются лишь одной, наиболее изученной сейчас стороной при старении. Центральными механизмами для развития старения могут быть нарушения регуляции лимфоцитами "неиммунных процессов", связанных с пролиферацией соматических клеток и ростом различных органов и тканей. Универсальный характер сниже-

ния митотического индекса в старости показывает, что изменения касаются (в соответствии с нашей схемой) главным образом КРП I.

Самообновление тканей у современных многоклеточных представляет собой упорядоченный процесс не только для кожных покровов, где существует, как и в слизистых, четкий пространственный градиент пролиферативной активности клеток от базального уровня делящихся до дифференцированных наружных клеток, но и для паренхиматозных органов — печени, почек и др. Так, в пределах печеночной долики имеется четкий градиент роста, который выявляется при использовании импульсной метки [62]. Движение такой метки замедляется у старых животных. В ходе такого процесса замедление самообновления ткани означает, что среднее время жизни клеток резко, по некоторым подсчетам на порядок, увеличивается; таким образом, орган становится представленным старыми клетками. При этом для клеток кожи, слизистых, где атрофия ткани значимо проявляется в старости, снижение пролиферации клеток при достаточно высоком уровне естественного слущивания клеток может, по-видимому, полностью объяснить процесс. Для паренхиматозных органов изменения должны скорее проявляться в снижении фонового митотического индекса.

Рассмотренный "клеточный гиперцикл" не имеет потенций во времени к снижению своего функционирования — "старению", так как смысл его возникновения и эволюционирования — самоподдержание системы. Можно полагать, что в "клеточном гиперцикле" не происходит и накопления мутаций, ошибок со временем, хотя такие ошибки с неизбежностью появляются в любой сложной системе. Действительно, пусть из любого элемента A клеточного гиперцикла с определенной вероятностью x образуются дефектные элементы AD . За цикл тогда формируется xAD дефектных элементов. Тогда изменение за цикл числа дефектных элементов при воспроизведении, равном таковому для обычных элементов, в соответствии с ранее выведенной формулой

$$AD_t = AD_{t-1} \cdot 2^{\frac{1}{T}} + xA_t - aAD_t.$$

Для неизменных элементов A при том же значении гибели a имеем

$$A_t = A_{t-1} \cdot 2^{\frac{1}{T}} - xA_t - aA_t.$$

Проведя вычитание уравнений и преобразование, получим

$$\frac{A_t(1+2x)}{A_{t-1} - AD_{t-1}} = 2^{\frac{1}{T}} - a.$$

Это означает, что при неизменных a , x и T соотношение дефектных и неизменных элементов системы не меняется. На деле обычно дефектные элементы более подвержены гибели и менее интенсивно самообновляются, что определяет их более быструю потерю, т.е. дефектные элементы в "клеточном гиперцикле" не накапливаются со

временем. Это не удивительно, так как устойчивость клеточного, как и любого иного "гиперцикла", в скрытом виде содержится изначально. Действительно, подверженный накоплению ошибок "клеточный гиперцикл" исчез бы со временем. Из теории систем известно, что для формирования устойчивых иерархических сложных систем на каждом уровне сложности необходимо, чтобы более низкий уровень сложности был устойчив — выступал как элементарная, неизменяющаяся единица. В теории "гиперциклов" прямо доказано, что для определенных условий среды "гиперцикл" является устойчивой системой. Все это является отражением естественного эволюционного процесса, при котором формируются все усложняющиеся, но устойчивые циклы, в каждом из которых устанавливается равновесие между самовоспроизведением и элиминацией элементарных составляющих единиц. Любой "гиперцикл", не устойчивый во времени, должен быстро исчезнуть, он ничего не дает эволюции и не может закрепиться. Метаболические реакции, пролиферирующие клеточные популяции, популяции организмов — все это циклы, где элиминация составляющих единиц не определяется старением единиц, а носит в целом случайный характер. Для целостного организма, однако, имеет место качественно иной процесс — гомеостатический, связанный с развитием, прежде всего с ростом, поэтому естественно предполагать, что старение как период онтогенеза непосредственно связано с реализацией программы развития. С таким взглядом согласны в настоящее время большинство геронтологов.

Ранее было показано, что центральными в развитии млекопитающих должны быть процессы, определяющие регуляцию роста, а также была предложена простая модель регуляции роста и его ограничения. Существенным является то, что регуляторный фактор, определяющий рост, действует через лимфоидные клетки, и после достижения некоторого максимума с неизбежностью следует период снижения концентрации гипотетического фактора и, следовательно, митотического индекса тканей. Представляя резистентность организма как величину, прямо пропорциональную митотическому индексу, а интенсивность смертности — величину, обратную интенсивности самообновления, можно рассчитать изменение интенсивности смертности для такой гипотетической системы (см. рис. 27). Оказывается, что получаемый график фактически полностью моделирует все этапы возрастного изменения интенсивности смертности: сложную кинетику в раннем возрасте, возрастание по закону Гомперца в среднем возрасте и выход на плато в самом позднем возрасте. Следует подчеркнуть, что ни одна теория старения и развития до настоящего времени не описывает все приведенные этапы, как и не показывает конкретные механизмы процесса. Хорошее соответствие с реальностью не только указывает на правомерность теоретических представлений такого типа, но и показывает, что учет старения неделящихся клеток для многоклеточных не необходим, так как он не вносит в модель принципиальных изменений.

В соответствии с изложенным представляется возможным сформулировать новую концепцию старения в следующих положениях.

1. Главным механизмом старения тканей является снижение их клеточного самообновления за счет снижения митотических индексов.

2. Снижение митотического индекса при старении определяется непосредственными изменениями в системе регуляции пролиферации — КРП-системе.

3. Сущностью изменений системы КРП в ходе старения является увеличение доли специфических КРП (—) и общее снижение числа КРП.

4. Прогрессирующее снижение пролиферативной активности тканей ведет к увеличению доли "старых" клеток, что является главной причиной постарения тканей, при этом "старческие" изменения тканей являются проявлением нормальных свойств клеток, углубившихся в состояние дифференцировки, — клеток с длительным периодом жизни.

5. Так как в ткани всегда имеются наряду со старыми клетками и молодые, одновременно с процессами старения формируются процессы гипертрофии, компенсации снижения функций и т.д.

6. Так как изменение соотношения и числа КРП ведет к снижению продвижения клеток из G_1 - в S -фазу цикла, а (G_0/G_1)-переход стимулируется не связанными с системой КРП механизмами, определяющими функциональную активность тканей, то напряженное функционирование тканей в старости ведет к увеличению (G_0/G_1)-перехода одновременно с наличием (G_1/S)-блока, при этом увеличивается число клеток в G_1 -фазе цикла и снижается в S -фазе.

7. Изменения в системе КРП являются следствием действия регулятора роста организма после того, как рост окончен, и осуществляются внешними к системе КРП-факторами. При этом феномен старения возникает на уровне целостного организма как результат действия конкретного механизма ограничения роста. Старение на уровне целостного организма возникает как результат взаимодействия нестареющих его элементов.

8. Феномен старения тканей носит динамический характер, он может быть соответственно вызван различными неспецифическими причинами, снижающими самообновление органов и затрагивающими как систему КРП — иммунодефициты, прогерии, так и собственно метаболизм клеток — эндокринные расстройства, снижение аппетита, питания, гипоксии и др. В соответствии с этим симптомы старения могут проявиться в любом возрасте и могут подвергаться обратному развитию как для отдельных типов клеток, например при регенерации определенного органа, так и для целостного организма, например осенние генерации полевок.

9. Так как развитие старения определяется динамическими процессами, вызванными регуляторными влияниями на ткань, возможно обращение симптомов старения путем воздействия на систему КРП или на системы, регулирующие ее активность.

Разрабатываемая концепция старения имеет ряд преимуществ перед иными существующими. Во-первых, она связана с фундаментальными процессами — ограничением роста, клеточным делением и

самообновлением тканей. В связи с этим она носит всеобщий характер. В то же время эта концепция показывает конкретный механизм процесса старения. Она учитывает эволюционные механизмы, но указывает на относительную независимость старения от эволюции, на опосредованность эволюционного механизма иными процессами: регуляции роста, морфогенеза, плодовитости.

Разрабатываемые положения концепции старения позволяют объяснить большую лабильность проявлений старения для различных индивидов и видов, а также четко показать связь процессов старения с наличием определенного видового возраста и видовых размеров. Предполагаемые механизмы регуляции роста позволяют немногими генами изменять скорость развертки программы онтогенеза, достигаемую массу тела, скорость роста и т.д. При этом единство механизма определяет единство общего плана онтогенеза для различных видов, постоянство соотношения периода роста и скорости роста, а также определяет близкую по форме кривую смертности для самых различных видов в течение всего онтогенеза.

Впервые четко удастся построить кривую интенсивности смертности на протяжении всего онтогенеза, отвечающую реально наблюдаемой, и связать ее форму с конкретными биологическими механизмами, что позволяет экспериментально проверить выдвигаемую концепцию.

Увеличение доли старых клеток в пределах любой ткани позволяет объяснить старение любых видов тканей, а особенности регуляции каждой ткани определяют гетерохронность и гетеротопность старения.

Данная концепция объясняет различные типы прогерий, возможность наступления старческих изменений в любом возрасте под действием факторов внешней и внутренней среды, лабильность процессов и возможность в определенных условиях омоложения тканей.

Эта концепция в явном или скрытом виде содержит многие существенные моменты других теорий и не противоречит им, а включает их как органическую часть.

Она хорошо согласуется со многими экспериментальными данными, объясняет различные наблюдаемые факты и позволяет провести математическую количественную обработку, а также ее экспериментальную проверку. Концепция объясняет и клеточные феномены — "омоложение" тканей при культивировании, регенерации, а также особенности регенерации — гиперкомпенсацию в период роста и декомпенсацию в период старения, так как механизмы роста организма и регенерации перекрываются; связывает старение тканей с изменением соотношения дифференцированных и пролиферирующих клеток в тканях.

Концепция объясняет и различные темпы старения для разных видов, индивидов, тканей, взаимосуществование приспособительных и деструктивных элементов.

Разрабатываемые взгляды хорошо согласуются с данными радиобиологии: так, выбивание достаточно большими дозами пролифери-

рующих клеток, поставляющих дифференцированные регуляторные клетки, должно ускорять старение, а умеренные дозы, воздействуя на быстропролиферирующие КРП (-), должны увеличивать продолжительность жизни, что действительно отмечено как парадоксальный эффект облучения. Аналогичным "выбиванием" быстропролиферирующих КРП (-) можно, по-видимому, объяснить и удлинение срока жизни мышей при длительном введении иммунодепрессантов и цитостатиков [196].

Выраженное увеличение срока жизни карликовых мышей и отмена синдрома истощения, являющегося аналогом старения, у безти-мусных мышей при введении нормальных Т-лимфоцитов — наглядное доказательство участия лимфоцитов этого типа в процессах старения.

В последние годы появились некоторые данные, позволяющие понять центральные механизмы регуляции лимфоидной системы на уровне гипоталамуса и реализующиеся через надпочечники и тимус. Была сформулирована гипотеза о двунаправленной регуляции лимфоидных функций с вовлечением серотонинэргической и дофаминэргической систем мозга. Показано [9], что стимулирование серотонинэргической системы — среднего мозга, шва, гипоталамических и таламических центров — ведет к увеличению супрессорных реакций при индуцировании иммунных реакций, что опосредуется гипоталамусом с передачей эффекта через гипофиз и надпочечники. В то же время стимуляция дофаминэргических механизмов ведет к увеличению продукции тимусом Т-хелперов, что также опосредуется через неизвестный фактор, секретируемый гипофизом. Изменение баланса серотонинэргической и дофаминэргической систем с течением времени могло бы отразиться на уровне иммунных реакций. Действительно, имеются данные о преобладании гибели дофаминэргических нейронов в старости при относительно хорошей сохранности серотонинэргических систем [100, 185]. Это должно приводить к снижению с возрастом Т-хелперных влияний и увеличивать Т-супрессорные влияния, что и имеет место в действительности, как показано при исследовании иммунных реакций у старых мышей [9].

Аналогичным образом эта система могла бы вовлекаться в регуляцию митотического индекса тканей организма в процессе старения. Преобладание супрессорных влияний в старости при увеличении доли супрессоров и абсолютном снижении доли хелперов, если это касается КРП-системы, могло бы определить механизм постарения ткани как результат снижения влияний КРП (+) и снижения митотического индекса. При изменении соотношения КРП (+) и КРП (-) должно наблюдаться и характерное изменение кинетики регенерации и других индуцированных процессов роста: увеличение времени регенерации, снижение ее максимума и отодвигание пика реакции во времени. Все эти черты имеет и иммунный ответ старых животных или реакция лимфоцитов в культуре при измененном соотношении хелперов и супрессоров. Аналогичным образом изменяется и гиперпластическая реакция слюнных желез на изопротеренол (см. рис.

рис. 28. Гиперпластическая реакция на изопротеренол у молодых и старых мышей

По оси ординат — реакция на введение изопротеренола. 1 — молодые мыши; 2 — старые мыши (3 и 12 мес)

26, 28), что сопровождается снижением числа активируемых в ходе этой реакции КРП (+).

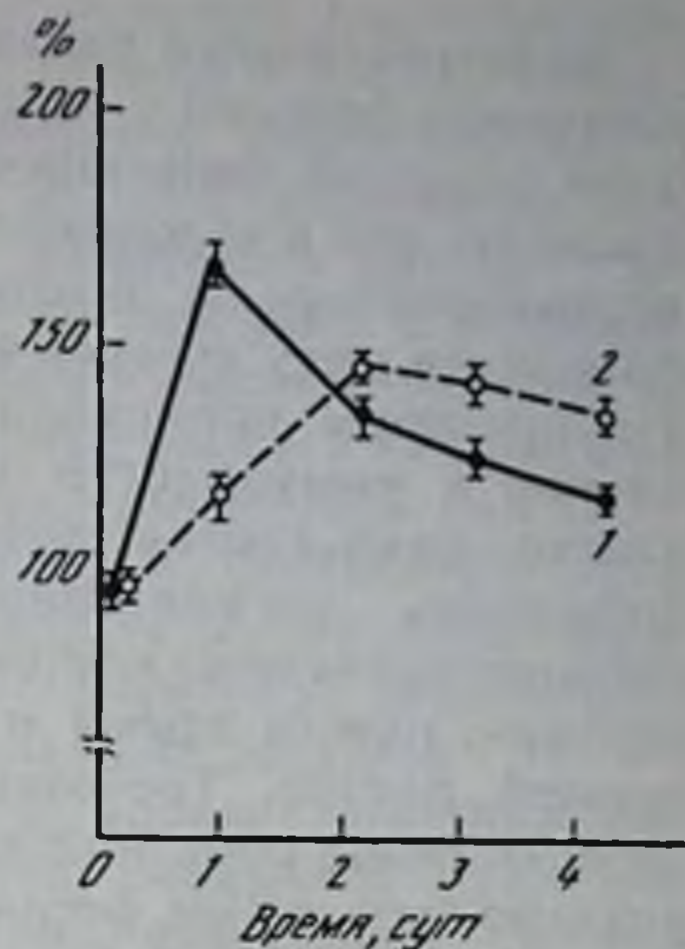
Мы исследовали также возможность восстановления реакции на изопротеренол у старых мышей BAL B/c введением дофамина с питьем. Мышам в течение 1 мес добавляли дофамин до 0,2% в воду. Такая процедура позволила показать статистически значимое увеличение гиперпластической реакции слюнных желез мышей на изопротеренол, а также значимое увеличение массы селезенки и тимуса, как и числа выделяемых при этой реакции из лимфоузлов шеи КРП (+). Сходным образом действовали добавляемый в питьевую воду хлористый литий — до 0,2% и хлористый цинк — до 0,002%. Известно, что хлористый литий при длительном введении снижает активность Т-супрессоров, а хлористый цинк способен стимулировать Т-хелперы.

Возможность влиять на лимфоидную систему КРП через посредство как центральных, так и периферических механизмов позволяет надеяться на возрастную коррекцию нарушений этой системы и обращение возрастных изменений в тканях, регулируемых КРП.

ИММУНИТЕТ КАК ОДНА ИЗ СТОРОН ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ КРП

Центральным моментом в развитии иммунной системы является становление Т- и В-клеточной систем иммунитета и сложных взаимоотношений между ними и внутри Т-системы, связанных с тем фактом, что основу иммунной реакции составляет процесс пролиферации антиген-чувствительного клона лимфоцитов, что обеспечивает иммунный ответ нужной напряженности. Таким образом, в основе иммунной реакции лежат процессы клеточного размножения, что позволяет думать об участии системы КРП в иммунитете.

Возникновение в процессе филогенеза иммунной системы в виде лимфоцитов-эфффекторов, способных к пролиферации, должно привести к включению этих клеток по общим правилам в систему регуляции клеточного деления с участием КРП. На примере В-системы, видимо, такой процесс проявляется в переходе от Т-независимых, IgM-обусловленных, филогенетически древних механизмов к Т-зависимым типам продукции антител IgG-, A-, M-, E-типа. Проллиферация Т-независимых В-лимфоцитов, однако, также оказывается под контролем Т-клеток, но только супрессоров неспецифического типа, что хорошо соответствует гипотезе о КРП-системе.



Филогенетически раньше В-системы складывается клеточный тип иммунных реакций с участием лимфоцитов-эффекторов Т-типа. При этом сходство фенотипических маркеров, механизмов активации, а также то, что в условиях организма эффект Т-киллеров часто может ограничиваться не цитотоксическим, а цитостатическим эффектом, позволили ряду авторов высказать предположение, что Т-киллеры и Т-супрессоры происходят от общего клеточного типа. В таком случае в иммунологии создается ситуация, когда регуляторные клетки оказываются возникшими раньше, чем регулируемые, а сложность регуляторной системы значительно превосходит сложность системы клеток-эффекторов. Для создания такой сложной системы нужны время и потребность организма — системообразующий фактор. Требование регуляции клеточного деления различных типов соматических и иммунокомпетентных клеток и может реально быть таким, формирующим сложную КРП-систему, фактором. Появление иммунокомпетентных клеток в таком случае должно вести к встраиванию их в уже сформированную КРП-систему по уже существующим правилам — сложившимся взаимоотношениям.

Система КРП I еще не имеет всех черт функционирования как собственно иммунная система. Реакция на "чужое" для таких клеток должна быть пассивная — при различиях в узнаваемых клеточных антигенах клетки, несущие последние, будут просто "не замечаться" КРП I; именно такой процесс (на примере ксеногенного трансплантата), видимо, имеет место у гидроидов [59, 83]. Однако уже у коралловых полипов появляются признаки типичного иммунного ответа в реакции на трансплантат с его инфильтрацией лимфоцитами и лизисом [217].

Определяющим моментом иммунной реакции является распознавание "чужого", что является результатом приобретения в эволюции значительного разнообразия антигенов гистосовместимости и наличия клонов лимфоцитов, способных реагировать на них и на иные типы антигенов. Набор антигенов и чувствительных клонов иммуноцитов должен формироваться случайным образом. Со многими антигенами организм не встречается в природных условиях, но они распознаются лимфоцитами.

Для превращения КРП II в иммунные клетки-мишени им необходимо приобретение способности лизировать несущие антиген клетки, способностью же распознавать различные антигены и пролиферировать при контакте с ними эти клетки обладают изначально. Таким образом, превращение КРП II и III в клетки-киллеры, реагирующие в иммунных реакциях, вполне логично, причем такому превращению должны подвергаться, скорее всего, клетки, ингибирующие функцию других клеток, т.е. лимфоциты-супрессоры.

Попавший в организм антиген, однако, обладает одним принципиально важным отличием от клетки, на которую реагируют КРП, — он зачастую представлен отдельной молекулой или клеточным типом, не пролиферирующим в организме, например эритроцитами. Таким образом, сам антиген не может запускать процесс активации

КРП по обычному для последних механизму. Известно, что антигены для превращения в иммуногенную форму должны пройти стадии усиленного фагоцитоза и экспрессии на мембране "своей" клетки — макрофага. Последний не только несет большие количества Ia-антигенов, но и выделяет активирующий лимфоциты фактор, тем имитирует собственную клетку организма, готовящуюся к делению. Это позволяет КРП подключаться к регуляции иммунной реакции. В отличие от обычной для КРП схемы иммунная реакция каждый раз заново формирует для каждого антигена уже имеющуюся для КРП-системы регуляторную сеть, что, видимо, и составляет суть иммунной реакции. Нет основания предполагать, что рецепторы лимфоцитов для "своего" принципиально отличаются от рецепторов, распознающих "чужое", антиген принципиально запускает те же процессы, что и собственные антигены. Это хорошо подтверждает наличие как аллогенной, так и сингенной смешанной культуры лимфоцитов. Для стимуляции иммуноцитов-эффекторов, однако, нужен уже принципиально иной сигнал — антигенный, включающий (G_0/G_1)-переход, и вспомогательный, исходящий из Т-клеток хелперного типа, при этом антиген способствует физическому контакту клеток при кооперации или же последняя может происходить при идиотип-антиидиотипической реакции иммуноцитов и регуляторных клеток. Если антиген несет несколько антигенных групп — сложный антиген, что является правилом, то кооперация посредством "антигенного мостика" может наблюдаться для иммуноцитов-эффекторов и регуляторных клеток, чувствительных к различным участкам сложного антигена. Последний процесс типичен для иммунной реакции и известен как феномен реакции иммуноцитов-эффекторов на гаптен, а Т-регуляторов — на "носитель"; сейчас стало ясно, что такое разделение условно и в другой ситуации гаптен и "носитель" могут меняться местами.

В пролиферативной фазе иммунного ответа, когда имеется значительное число иммуноцитов в G_1 -фазе и в S-фазе цикла, описаны неспецифические хелперы и супрессоры дополнительно к специфическим лимфоцитам, регулирующим ответ. Это очень напоминает предполагаемую реакцию КРП (+) и КРП (-) на любые типы активированных клеток. Хорошо известен в иммунологии и феномен кооперации между различными регуляторными клетками, в том числе между неспецифическими и специфическими супрессорами, когда специфический супрессорный фактор "вооружает" неспецифические супрессоры. Такие типы взаимодействия, как разбиралось ранее, должны быть типичны и для клеток КРП-системы.

Стимулирование в реакции на антиген специфических лимфоцитов определяет формирование иммунной памяти, что сходно с феноменом памяти при регенерационных процессах.

Таким образом, схема КРП позволяет логически непротиворечиво и с необходимостью, исходя из предположения о появлении на КРП II и III специфических рецепторов, объяснить возможность происхождения иммунной системы из КРП-системы, что само по себе опреде-

Таблица 5. Предполагаемые свойства Т-хелперов и супрессоров, выводимые из теории КРП

Типы КРП, дающие начало иммунным клеткам Т-ряда	Предполагаемые свойства	Обнаруженные в эксперименте свойства	Литературный источник
1	2	3	4
КРП I	Неспецифичный хелперный и супрессорный эффекты к любым антигенам, приобретение специфичности под действием "вооружающего" фактора других Т-клеток, реакция на максимуме иммунной реакции — неспецифичного типа, Н-2-ограничение эффекта, эффект через антиген-неспецифическую молекулу	Неспецифический Н-2-ограниченный эффект хелперов и супрессоров, увеличение иммунного ответа в присутствии неиммунных лимфоцитов, эффект "вооружения" Т-супрессоров, неспецифичность действия ИЛ-2 и ингибитора синтеза ДНК — фактора неспецифических супрессоров	[94, 135, 151, 169, 180]
КРП II	Выделение "вооружающего" фактора при отсутствии у них самих свойств хелперов и супрессоров, эффект не ограничен Н-2, в ответ на антиген и идиотип наблюдается пролиферация клеток памяти, преобладание в конце первичного и во вторичном ответе, формирование антигенного репертуара в ходе идиотип-антиидиотипических взаимодействий, наличие у интактных особей функциональной идиотип-антиидиотипической сети, возможность Н-2-неограниченной, антиген-специфической изотип-специфической регуляции	Наличие Т-клеток, выделяющих фактор "вооружения", эти клетки Н-2-неограничены, сами не имеют свойств хелперов и супрессоров; становление репертуара рецепторов в ходе идиотип-антиидиотипических взаимодействий; преобладание Ly-2^+ -Т-хелперов в конце первичного и во вторичном ответе; наличие функциональной идиотип-антиидиотипической сети без антигена; Н-2-неограниченный, антигенне-специфический эффект регуляции изотипа	[180, 218, 225]
КРП III A	Антиген-специфические, Н-2-ограниченные хелперы и супрессоры, пролиферирующие при контакте с антигеном,	Наличие антиген-специфических, Н-2-ограниченных Т-регуляторов, формирующих вследствие	[48, 50, 51, 69, 119, 121, 125, 180, 182, 212, 243]

Таблица 5 (окончание)

1	2	3	4
КРП III B	формирующие "память", сами выполняющие регуляторную функцию через антиген-специфический, H-2-несущий фактор, хелперная помощь возможна: а) через "антигенный мостик" для антигена с несколькими эпитопами; б) через идиотип-антиидиотипическую сеть	пролиферации "память", сами выполняющие хелперный и супрессорный эффекты; наличие H-2-ограниченного, антиген-специфического фактора; наличие двух типов эффекта — через "антигенный мостик" и регуляторную сеть	[32, 144]
	Антиген-специфические, H-2-неограниченные хелперы и супрессоры, пролиферирующие на антиген и формирующие "память", сами выполняющие регуляторную функцию через антиген-специфический, H-2-неограниченный фактор	Наличие антиген-специфических, H-2-неограниченных хелперов и супрессоров, формирующих "память" и пролиферирующих на антиген, самостоятельно оказывающих хелперный и супрессорный эффекты; наличие антиген-специфического, H-2-неограниченного хелперного и супрессорного факторов	

ляет ряд особенностей функционирования иммунной системы. Данный взгляд позволяет объяснить единым механизмом следующие черты иммунной реакции:

анти-ИД-ответ является типичным и существенным моментом иммунной реакции на антиген;

участие Т-хелперов в активации лимфоцитов-эффекторов может осуществляться через "антигенный мостик" или через ИД-анти-ИД механизм;

имеется несколько типов Т-хелперов и Т-супрессоров, осуществляющих параллельную регуляцию иммунного ответа, как независимых, так и взаимодействующих между собой;

иммунный ответ включает активацию как антиген-специфических, так и антиген-неспецифических хелперов и супрессоров;

единый процесс регуляции КРП и иммунной системы позволяет лимфоидной системе быстро включаться в регулирование новых антигенных субстанций в организме, при этом могут быстро формироваться собственно иммунные системы регуляции: изотип-специфическая регуляция, идиотип-антиидиотипическая регуляция на определенный антиген и др.

Ряд других особенностей иммунной реакции, как и взаимо-

действие и интерференция с регенерационным процессом и другими состояниями клеточной пролиферации, отмечены ранее.

Существеннейшим теоретическим моментом является представление об иммунном механизме как о результате специализации части клеток КРП-системы в направлении одной из функций, ею осуществляемых, а именно регуляции появившихся в филогенезе иммуноцитов-эффекторов. Так как функция системы по современным представлениям кибернетики является центральным связующим звеном системы, законом ее функционирования и фактором самоорганизации, то наличие специфической функции — выделения антигена из организма, — отличной от функции самой системы КРП — регуляции пролиферации клеток собственного организма, делает иммунную систему, нормальному на "элиминацию чужого", принципиально отдельной от КРП-системы, направленной на "поддержание своего". Для формирования иммунной системы потребовалось включение макрофагов и лимфоцитов-эффекторов в формирование лимфоидной идиотип-антиидиотипической системы регуляции, что, видимо, отсутствует у собственно КРП-системы. Распространение на КРП-систему чисто иммунных представлений, таким образом, не правомерно. Система КРП как отдельная функционирующая для особой цели система, хотя и входит частично регуляторным механизмом, например за счет КРП I, в иммунную систему, но отлична от последней и должна рассматриваться как особая система организма.

В табл. 5 показано сравнение теоретически выводимых из системы КРП свойств Т-хелперов и супрессоров и реально обнаруженных свойств иммуноцитов. Видно, что теоретические взгляды, характеризующие возникновение и функционирование иммуноцитов из клеток КРП-системы, способны объяснить и предсказать многие реально наблюдаемые особенности функционирования собственно иммунной системы.

ОПУХОЛИ И СИСТЕМА КРП

Выдвинутое Бернетом положение об "иммунологическом надзоре" за опухолями [72] породило традиционный взгляд на систему иммуногенеза как на сформировавшуюся в филогенезе для поддержания генетического постоянства организма за счет элиминации мутировавших клонов, что поддерживается как теоретическое положение вплоть до настоящего времени.

На сегодня, однако, вряд ли найдется в иммунологии другое такое теоретическое положение, подвергшееся многократной всесторонней проверке и не давшее, по существу, никаких подтверждений такому взгляду.

На безтимусных мышах было показано отсутствие значимого увеличения частоты опухолей [237], не удастся также четко связать изменения в иммунной системе при опухолях и клиническую картину заболевания. Все большее число исследователей отводят

основную роль в противоопухолевом иммунитете естественным киллерам и иным механизмам, прямо не связанным с "классической" системой иммунитета — Т-клетками. Особый интерес представляют данные о невозможности индукции у безтимусных животных опухолей химическими канцерогенами и вирусами, тогда как пересадка тимуса восстанавливает их канцерогенный эффект [134, 237]. Последние данные прямо говорят о наличии индуцирующих влияний Т-лимфоцитов на рост опухолей.

Теоретические взгляды на возникновение и рост опухолей сейчас значительно изменились. Путем использования методов гибридизации опухолевых клеток с нормальными было показано, что опухолевая клетка не потеряла своих потенциальных возможностей к дифференцировке и при определенных условиях она может вернуться к нормальному состоянию и даже дать начало целостному организму, т.е. генетическая программа при опухолевом росте не страдает [155]. Эти результаты привели к представлениям об опухолевых клетках как о вышедших из-под контроля ограничения пролиферации [53, 195]. Такие представления находят все большее подтверждение. Так, показано, что некоторые канцерогены способны связывать кейлоны тканей, тем самым снижая ингибирующие влияния на рост клеток. В некоторых случаях чувствительность к кейлонам опухолей снижается [53], хотя введение значительных количеств последних извне может снизить рост опухоли и даже вызвать ее рассасывание [102]. В других случаях снижение концентрации кейлонов в ткани может способствовать растормаживанию роста опухоли, причем так как для синтеза кейлонов необходима нормальная функция органов, а последняя страдает при опухолевой болезни, может создаваться порочный круг при прогрессировании опухолей, что ведет к снижению функции органа и выработке им ингибиторов пролиферации в меньших количествах.

Хорошо известна связь опухолевого роста с состояниями длительной гиперплазии тканей, что показывает зыбкую границу обоих процессов, связанных с клеточным размножением.

Давно известная способность опухолевых клеток в культуре неограниченно делиться без рост-стимулирующих добавок во многих случаях оказалась связана со способностью их выделять аналогичные факторы роста самостоятельно [53, 174].

Наконец, последние опыты с расшифровкой конкретных механизмов малигнизации клеток при вирусном канцерогенезе показали, что за малигнизацию ответствен единственный ген, кодирующий синтез одного фермента, являющегося центральным в процессе индукции клеточной пролиферации — тирозиновой протеинкиназы [161]. В других случаях вирус кодирует выделение веществ, являющихся стимуляторами рецепторов мембран, связанных с этим ферментом [80, 161]. Так как последнее вещество оказалось сходным по строению с белком — фактором роста, выделенным из тромбоцитов, считают, что вирусы способны захватывать часть генома нормальной клетки и

переносить его в другие клетки, причем, попадая в иное окружение, молчащие гены способны к растормаживанию, что ведет к клеточной малигнизации. Другие случаи малигнизации могут быть связаны со стимулирующим влиянием стимуляторов пролиферации или утраты чувствительности к ингибиторам пролиферации.

Так как существует значительное число различных стимуляторов и ингибиторов как внутриклеточной, так и иной природы, конкретная патология системы регуляции пролиферации опухолевой клетки может быть в любом месте такой системы. Отмечены изменения в системе внутриклеточных регуляторов пролиферации при опухолях, нарушения в кейлонной системе, нарушения чувствительности к общему гормональному фону, факторам роста, межклеточным регуляторам пролиферации. В ряде случаев сами вещества-канцерогены становятся такими "факторами роста", увеличивая пролиферацию клеток-мишеней непосредственно или путем влияния на циклические нуклеотиды, систему кальция, иные регуляторные механизмы клеток.

Так как лимфоциты оказались способными к регуляции пролиферации любых типов клеток, исходя из выдвигаемой концепции существования системы КРП последняя не может оставаться безучастной при опухолевом разрастании в организме, а в ряде случаев, видимо, может и индуцировать рост опухоли, что подтверждено данными литературы об опухолегенезе безтимусных животных.

Принципиально важными являются два возможных варианта взаимодействия клеток, подвергшихся опухолевому перерождению, и системы КРП: 1) первичное повреждение, например вирусное, касается клеток определенной ткани, а система КРП реагирует на этот процесс нормальным для нее образом, повышая активность КРП(+) и КРП(—); 2) первичные изменения могут касаться самой системы КРП, что создает благоприятный фон для развития опухолей, том числе множественной локализации.

При вирусном и индуцированном химическими канцерогенами опухолегенезе показано на примере безтимусных мышей стимулирующее влияние Т-лимфоцитов. Действительно, исходя из теоретических представлений, разрабатываемых здесь, канцерогенный фактор, переводя клетку в G_1 -состояние, должен способствовать активации ее по обычной схеме для КРП-системы, а если такая клетка не возвращается в G_0 -состояние, то создается возможность беспрепятственного неограниченного роста тканей. При достаточно большой массе и интенсивной пролиферации опухолевых клеток должны активироваться Т-супрессоры, что является типичным для опухолевого роста и не получило объяснения с классических иммунологических позиций. Принципиально важным здесь является представление о наличии как стимулирующих, так и ингибирующих влияний на рост опухоли со стороны лимфоцитов КРП, причем это влияние реализуется непосредственно, а не через иммунную систему. Активация неспецифических супрессоров, по-видимому, не только ограничивает противоопухолевый иммунитет, что типично для иммунологии опухолей [21, 58], но и может сдерживать рост ткани опухоли.

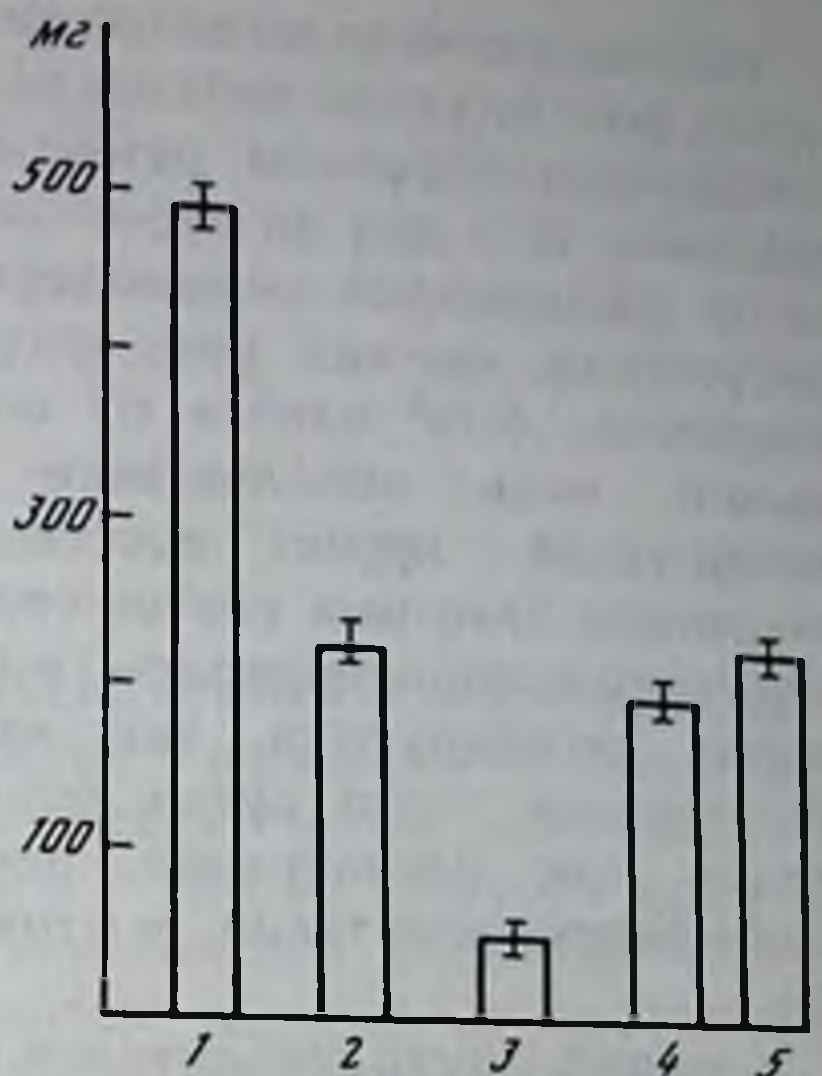
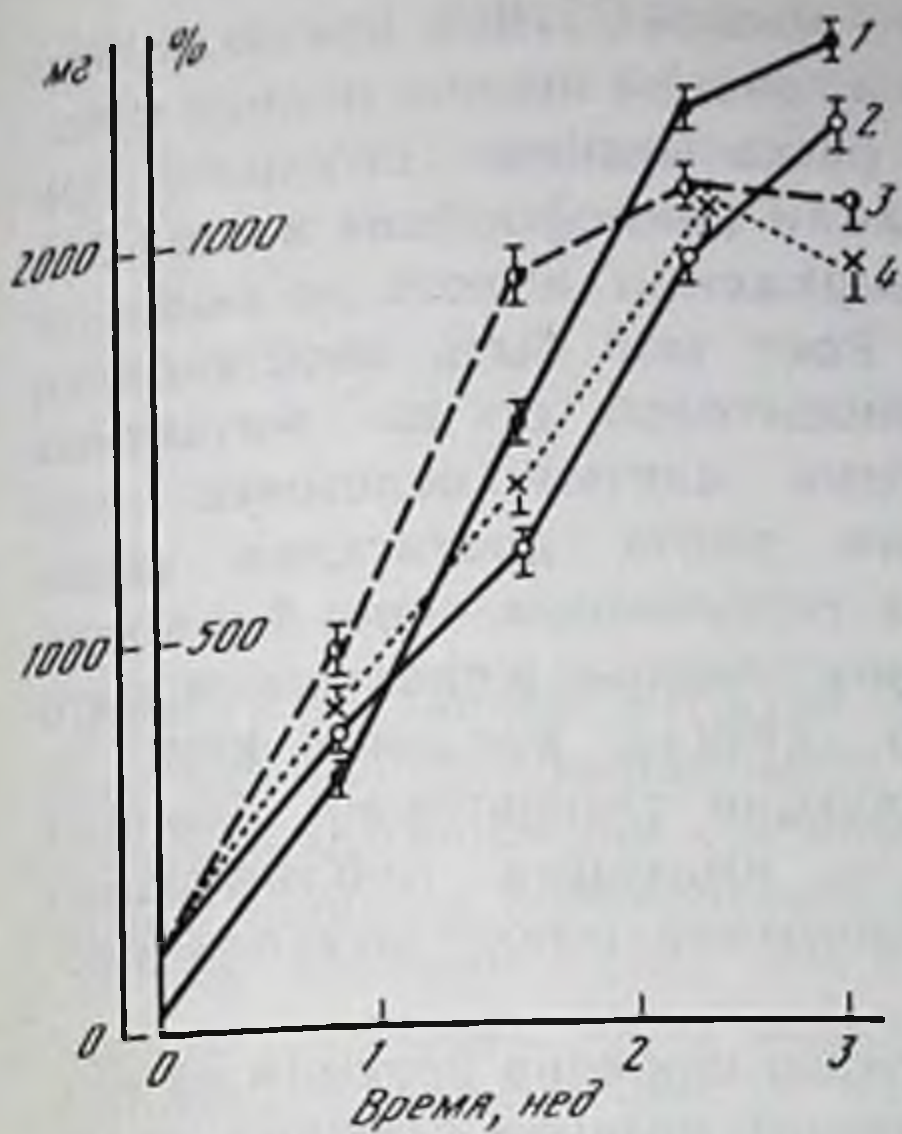


рис. 29. Кинетика роста опухоли АКАТОЛ и реакция лимфоидной ткани у мышей
По оси ординат — параметры в процентах или миллиграммах (для массы опухоли).
1 — масса опухолевой ткани; 2 — масса селезенки; 3 — число бластных клеток селезенки; 4 — включение ^3H -тимидина в клетки селезенки

рис. 30. Регуляция роста опухоли АКАТОЛ у мышей лимфоидными клетками
По оси абсцисс — условия реакции; по оси ординат — масса опухоли через неделю после перевивки интактным реципиентам. 1 — рост в сингенной системе; 2 — рост в аллогенной системе (C57Bl/6); 3 — то же, при введении аллогенным реципиентам циклофосфана; 4 — при переносе циклофосфан-обработанным животным бластных клеток от изопротеренол-обработанных мышей (6-й час после введения изопротеренола); 5 — при переносе циклофосфан-обработанным животным бластных клеток от BALB/c-опухоленосителей

Наличие постоянного роста опухолевых клеток должно способствовать стимулированию КРП(+) и (—) типов постоянно. Для проверки высказанного положения представилось удобным взять для исследования опухоль АКАТОЛ, являющуюся аденокарциномой толстого кишечника. Полученная эмбриональная ткань кишечника при перевивках на сингенных мышах явилась основой получения этого типа опухоли. Опухоль АКАТОЛ проявляет умеренную злокачественность, метастазирует и обладает инвазивным ростом, хотя обычно имеется капсула. При перевивках 30 мг ткани опухоли, взятой в период интенсивного роста (14—18-й дни, на мышах BALB/c), нами было отмечено увеличение массы опухолевой ткани на 2 порядка в течение 4 недель (рис. 29). При этом параллельно наблюдалось увеличение массы селезенки на порядок, отмечалось наличие гиперпластической реакции лимфоузлов, особенно региональных к опухоли, постоянно повышенное число бластов в селезенке и включение ^3H -тимидина в спленоциты.

При исследовании бластных клеток селезенки было показано, что в течение всего периода роста 30—40% клеток реагируют с анти-Thy-1-сывороткой, количество же клеток, реагирующих с анти-Ly-1-сывороткой, снижалось по мере роста опухоли.

Исследование аллогенной системы — мышей C57Bl/6 показало, что у них рост опухоли наблюдался лишь в течение первой недели с последующим обратным развитием и рассасыванием опухоли. При введении за 3 дня до перевивки опухоли циклофосфана в дозе 300 мг/кг развившийся иммунодефицит выражено, вплоть до полного отсутствия, снижал рост опухоли. Рост мог быть восстановлен введением $5 \cdot 10^6$ клеток от опухоленосителей, но не интактных мышей, если использовали бластные клетки селезенки или лимфоузлов. Эффект восстановления роста достигался также введением бластных клеток селезенки, полученных через 6 ч после индукции изопротеренолом гиперплазии слюнных желез мышей: в это время активируются, как известно, КРП(+). Введение КРП(—), полученных через сутки после индукции гиперплазии слюнных желез или регенерации печени — индукция пролиферации неспецифической ткани, — отчетливо подавляло рост опухоли (рис. 30).

У мышей-опухоленосителей была резко снижена реакция на изопротеренон при оценке гиперпластической реакции слюнных желез, что хорошо согласуется с представлениями об активации у таких животных КРП(—) в результате пролиферации большой массы опухолевых клеток.

Таким образом, при опухолевом росте у мышей-опухоленосителей активируются лимфоциты системы КРП как (+), так и (—) типа.

В целом можно полагать, что рост-регулирующие функции Т-клеток, принадлежащих к системе КРП, играют важную роль в патогенезе опухолевого роста и его ограничения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В 1952 г. А.Тьюринг в статье "Химические основы морфогенеза" высказал важное принципиальное положение о возможности самопроизвольной организации сложных химических смесей, что и может явиться основой возникновения нового — биологического уровня развития материи [222]. Им было теоретически доказано, что в сложных системах химических реагентов, далеких от состояния химического равновесия, — открытые системы — можно ожидать самопроизвольное расслоение реагентов, иначе, самоупорядочивание, самоорганизацию. При этом поведение системы в окрестностях порога спонтанного расслоения оказывается независимым от конкретной природы молекулярных протекающих реакций, т.е. принцип самоорганизации является универсальным. Это означает, что принцип самоорганизации работает в любых достаточно сложных и открытых для обмена веществ, энергией и информацией системах и может, таким образом, вести к формированию устойчивых самовоспроизводящихся биохимических циклов реакций еще до формирования клеточного уровня живого.

Исследование принципов формирования конкретных циклов биохимических реакций с блестящим подтверждением экспериментальными данными для расчетных и структурных реальных макромолекул выполнено Эйгеном и Шустером, распространившими принципы, подробно разработанные для теории самоорганизации — синергетики И.Пригожиным, на элементарные самоорганизовавшиеся химические реакции — "гиперциклы". Ими было предсказано, что общие принципы организации и функционирования "гиперциклов" должны работать и на более высоком уровне организации живой материи — клеточном.

Нами была осуществлена попытка анализа самоорганизации пролиферирующих клеточных систем различного типа с целью выявить закономерности такого процесса, характерные для клеточного уровня живого, а также показать важность этого процесса для формирования многоклеточного уровня живого в филогенезе и для современных высокоорганизованных организмов.

Мы хотели здесь показать, что, начиная с трех типов взаимодействующих между собой клеток, имеется возможность самоорганизации пролиферирующих клеточных популяций в единый организм — систему, отвечающую на внешние воздействия как единое целое, восстанавливающую свою целостность при повреждении любо-

го элемента и не требующую никаких дополнительных условий, кроме случайного характера взаимодействия различных типов клеток с наличием взаимовлияния на пролиферацию друг друга, для самостановления. Таким образом, с необходимостью и самопроизвольно при взаимодействии различных типов пролиферирующих клеток должна формироваться система типа "клеточного гиперцикла", регулирующая пролиферацию всех входящих в эту самовозникшую систему элементов.

Дальнейшая эволюция такой самовоспроизводящейся системы должна осуществляться в соответствии с общими представлениями теории "гиперциклов" в сторону увеличения числа типов взаимодействующих клеток и их специализации — накопления количественных и качественных изменений. Аналогичные процессы должны были идти и для клеток КРП-системы с накоплением специфических клеток и формированием разветвленной саморегулирующейся сети из пролиферирующих клеток-мишеней и регулирующих, также пролиферирующих, клеток. При возникновении более высоких уровней регуляции — нервной, эндокринной — во многих случаях регуляция, клеточного деления, а иногда и иных функций, связанных с ростом клетки, как можно видеть на многочисленных примерах, оказалась опосредована древней системой клеток-регуляторов пролиферации, что соответствует представлениям кибернетики об иерархии систем управления.

Для выполнения своей функции клетки-регуляторы (КРП) должны обладать определенными функциями: они должны рециркулировать, узнавать "свои" клетки-мишени, пролиферировать в ходе выполнения функций, выделять регулирующие пролиферацию факторы. Все эти свойства, как и способность тонко распознавать "свои" и "чужие" клетки, органически присущи в наибольшей степени Т-лимфоцитам, являющимся специализированными клетками, очень рано появившимися в эволюции.

Взгляд на Т-лимфоциты, особенно на те из них, которые способны реагировать пролиферацией на "свои" типы клеток, как на клетки, возникшие в филогенезе для осуществления прежде всего функции регуляции клеточного деления, позволяет понять многие факты участия этих клеток в регуляции пролиферации нелимфоидных клеток разного типа, а также выдвинуть предположение об эволюционном факторе, ведущем к формированию Т-клеточной системы лимфоцитов, так как концепция "иммунологического надзора" за опухолями оказалось не способной объяснить и предсказать возможности самоорганизации сложной системы Т-клеточного иммунитета.

Сейчас экспериментальный материал, накопленный в различных областях биологии, позволяет однозначно подтвердить участие Т-лимфоцитов во многих процессах, требующих присутствия пролиферирующих клеток разного типа, а также выдвинуть предположение об эволюционном факторе, ведущем к формированию КРП-системы и иммунной системы — это потребность многоклеточного организма в

межклеточной системе регуляции пролиферации составляющих его делящихся клеток.

Разработанные в данной книге теоретические модели самозарождения и эволюции "клеточного гиперцикла" позволяют подойти к вопросу выделения специализированных для регуляции соматических клеток лимфоцитов-регуляторов, выделению ими продуцируемых факторов регуляции, их использованию в целях диагностики и коррекции пролиферативного гомеостаза в организме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адо А.Д., Донцов В.И., Гольдштейн М.М. Регуляция клеточного цикла лимфоцитов мышью веществами, увеличивающими уровень внутриклеточного циклического АМФ и ГМФ // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1985. № 44. С. 455—458.
2. Ажгихин И.С. Простагландины. М.: Медицина, 1978. 416 с.
3. Бабаева А.Г. Клеточные основы регенерации у млекопитающих. М.: Медицина, 1984. 212 с.
4. Бабаева А.Г., Шубникова Е.А. Структура, функции и адаптивный рост слюнных желез. М.: Изд-во МГУ, 1979. 191 с.
5. Бабаева А.Г., Нестеренко В.Г., Юдина Н.В. Усиление способности мышей с повторными резекциями печени к переносу "регенерационной информации" // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1982. № 6. С. 98—99.
6. Бердышев Т.Д. Изменение структуры и функции генной регуляторной системы в процессе развития и старения организмов // Цитология и генетика. 1971. № 6. С. 372—376.
7. Биология старения /Под ред. В.В. Фролькиса. Л.: Наука, 1982. 616 с.
8. Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.С. Биология продолжительности жизни. М.: Наука, 1986. 168 с.
9. Девояно Л.В., Ильюченко Р.Ю. Моноаминэргические системы в регуляции иммунных реакция. Новосибирск: Наука, 1983. 232 с.
10. Долгушин И.И. Ускорение ожоговой регенерации кожи при переносе лимфоцитов от ожоговых больных // Патол. физиология и эксперим. терапия. 1978. № 6. С. 30—33.
11. Донцов В.И., Томилец В.А. Индукция иммунологической толерантности веществами, увеличивающими уровень внутриклеточного циклического 3'5'-аденозинмонофосфата // Иммунология. 1980. № 2. С. 55—57.
12. Донцов В.И. Циклические нуклеотиды и иммунный ответ // Экспресс-информ. Клини. иммунология. 1981. № 5. С. 1—20.
13. Донцов В.И. Влияние лимфоцитов на первичную и вторичную пролиферативную реакцию клеток слюнных желез грызунов, индуцированную изопротеренолом // Сравнительные аспекты изучения регенерации и клеточной пролиферации. М., 1986. Т. 1. С. 87—88.
14. Донцов В.И. Применение теории гиперцикла для анализа процессов межклеточной регуляции пролиферации тканей // Успехи соврем. биологии. 1986. Т. 101. С. 18—29.
15. Донцов В.И. Влияние Т-лимфоцитов на пролиферацию клеток слюнных желез крыс и мышей под действием изопротеренола // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1985. № 7. С. 65—68.
16. Донцов В.И. Регуляция индуцированной изопротеренолом гиперплазии слюнных желез молодых и старых мышей веществами, влияющими на серотонин- и дофаминэргические системы // Там же. 1986. № 4. С. 479—480.
17. Ельцина Н.В. Роль негистоновых белков хроматина в регуляции генетической активности // Успехи соврем. биологии. 1979. Т. 87. С. 3—15.
18. Зеленин А.В., Куш А.А., Прудовский Н.А. Реконструированная клетка. М.: Наука, 1982. 208 с.
19. Зинзар С.И., Лятина Б.И., Тумян Б.Г., Свет-Молдавский Г.Я. Злокачественные опухоли, возникающие из сингенного трансплантата эмбрионального желудочно-кишечного тракта // Вопр. онкологии. 1972. Т. 18. С. 89—92.
20. Зотин А.И., Зотина Р.С., Прокофьев Е.А. и др. Использование уравнений роста для определения максимальной продолжительности жизни млекопитающих и человека // Изв. АН СССР. 1978. № 1. С. 87—96.

21. Кадагидзе З.Г. Субпопуляции лимфоцитов при злокачественном росте // *Вопр. онкологии*. 1984. Т. 30. С. 90—97.
22. Козлов В.А., Журавкин И.Н., Цырлова И.Г. Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ. Новосибирск: Наука, 1982. 222 с.
23. Кульберг А.Я. Антиммуноглобулины. М.: Медицина, 1978, 182 с.
24. Куш А.А., Колесников В.А., Зеленин А.В. Ранние изменения хроматина печени в ответ на частичную гепатэктомию // *Молекуляр. биология*. 1975. С. 138—144.
25. Лиознер Л.Д. Регенерация и развитие. М.: Наука, 1982. 168 с.
26. Мамонтов С.Г., Кремли С.М. Роль лимфоидной системы в регуляции клеточного размножения в тканях мышей // *Медиаторы иммунного ответа в эксперименте и клинике*. М., 1983. С. 189—191.
27. Мартыненко Ф.П., Шостақ И.Н. Влияние соматостатина на образование аутологических розеток тимоцитами гипотиреоидных крыс // *Докл. АН СССР*. 1982. № 5. С. 65—67.
28. Математическая биология развития. М.: Наука, 1982. 254 с.
29. Маянский Д.Н., Щербаков В.И. Растворивание пролиферации гепатоцитов при изменении функционального состояния ретикулоэндотелиальной системы // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 1983. № 9. С. 106—108.
30. Нагорный А.В., Никитин В.Н., Буланкин И.Н. Проблема старения и долголетия. М.: Медгиз, 1963. 752 с.
31. Оленев В.Г., Гуляева И.П. О механизмах адаптации рыжей полевки при смене условия существования // *Информационные материалы Института экологии растений и животных*. Свердловск, 1977. С. 35—38.
- 31а. Пархон К.И. Возрастная биология. Бухарест, 1960. 472 с.
32. Петров Р.В. Иммунология. М.: Медицина, 1982. 368 с.
33. Петров Р.В., Сеславина Л.С. Взаимодействие лимфоцитов с кроветворными стволовыми клетками // *Журн. микробиологии*. 1977. № 11. С. 28—52.
34. Полищук А.Л. Особенности пролиферации гепатоцитов в растущей и регенерирующей печени // *Успехи соврем. биологии*. 1983. Т. 95. С. 451—469.
35. Пригожин И. Введение в термодинамику необратимых процессов. М.: Изд-во иностр. лит., 1960. 360 с.
36. Сиротинин Н.Н. Старость и гипоксия // *Клин. медицина*. 1960. Т. 38. С. 72—74.
37. Советов Б.Я., Яковлев С.А. Моделирование систем. М.: Высш. шк., 1985. 272 с.
38. Струков А.И., Серова В.В., Серникова Д.С. Общая патология человека. М.: Медицина, 1982. 656 с.
39. Токин Б.П. О сопряжении в эволюции явления размножения, старения и смерти организмов // *Тр. ЛОЕ*. Т. 83. С. 3—47.
40. Федоров Н.А. Биологическое и клиническое значение циклических нуклеотидов. М.: Медицина, 1979. 184 с.
41. Фонталин Л.Н., Певницкий Л.А. Иммунологическая толерантность. М.: Медицина, 1978. 312 с.
42. Хрущов В.Г. Роль лейкоцитов в восстановительных процессах в тканях. М.: Медицина, 1945. 220 с.
43. Шилова Л.Я., Полторакин В.С., Суслов А.Г. Влияние лимфоцитов селезенки доноров, обработанных четыреххлористым углеродом, на митотическую активность печени и продукцию α -фетопротейна у сингенных мышей // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 1982. № 6. С. 99—101.
44. Шхипек Э.Н., Достоевская Л.П., Бирюков В.Д. О роли глюкокортикоидов в развитии гуморального иммунного ответа в целостном организме // *Пробл. эндокринологии*. Т. 28. С. 67—70.
45. Эмануэль Н.М. Некоторые молекулярные механизмы и перспективы профилактики старения // *Изв. АН СССР. Сер. биол.* 1975. № 4. С. 503.
46. Ярилин А.А. Источники и механизмы восстановления Т-лимфоцитов после повреждающих воздействий // *Итоги науки и техники: Иммунология*. М.: ВИНТИ, 1986. Т. 15. С. 155—175.
47. Allen R.W., Moskovitz M. Arrest of cell growth in the G₁ phase of the serine deprivation // *Exp. Cell Res.* 1978. Vol. 116. P. 127—137.
48. Altman A., Katz D.H. Production and isolation of helper and suppressor factors // *J. Immunol. Meth.* 1980. Vol. 38. P. 9—41.

49. Antony C., Patterson J.A.K., Goldstein G. et al. Thymopoietin-like substance in human skin // *J. Invest. Dermatol.* 1983. Vol. 81. P. 194—197.
50. Asano J., Hodes R.J. T cell regulation of B cell activation: MHC-restricted T augmenting of B-cell enhance responses mediated by MHC-restricted cloned T helper cells // *J. Exp. Med.* 1982. Vol. 132. P. 1151—1157.
51. Asano J., Hodes R.G. T cell regulation of B cell activation: Cloned $Lyl^{+}2^{-}$ T suppressor cells inhibit the major histocompatibility complex-restricted interaction of T helper cells with B cells and for accessory cells // *J. Exp. Med.* 1983. Vol. 158. P. 1178—1190.
52. Ashworth J.M. Control of cell differentiation in the cellular slime *Dictyostelium discoideum* // *Biochem. Soc. Trans.* 1976. Vol. 4. P. 33—39.
53. Balazs A., Blazsek I. Control of cell proliferation by endogenous inhibitors. Budapest: Acad. Kiado, 1979. 282 p.
54. Barka T. Stimulation of DNA synthesis by isoproterenol in the salivary gland // *Exp. Cell Res.* 1965. Vol. 39. P. 355—364.
55. Bata J., Deviller P., Vallier P. et al. Modification of lymphocytes DNA synthesis by α -1-anti-trypsin // *Annu. Immunol.* 1981. Vol. 132. P. 275—286.
56. Berle A.B. Cyclic AMP stimulation of calcium efflux from kidney liver and heart mitochondria // *J. Membrane Biol.* 1974. Vol. 16. P. 221—236.
57. Barnes B., Sote G. Serum-free cell culture: An unifying approach // *Cell.* 1980. Vol. 22. P. 649—655.
58. Behferanz M., Eardley D.D., Gerny J. Nonspecific immunoenhancing T cells in tumor-bearing mice include anti-idiotypic subsets // *J. Immunol.* 1983. Vol. 131. P. 2576—2579.
59. Bibb G., Campbell R.D. Cell affinity determining heterospecific graft intolerance in *Hydra* // *Tissue and Cell.* 1969. Vol. 5. P. 199—205.
60. Bichel F. Self-limitation of ascities tumour growth: A possible chalone regulation // *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 1973. Vol. 38. P. 197—203.
61. Bidder G.P. The mortality of plaice // *Nature.* 1925. Vol. 115. P. 495—500.
62. Blikendaal-Lieftinck L. Cell kinetics in the liver // *Exp. Mol. Pathol.* 1977. Vol. 26. P. 184—192.
63. Borhetti A.F., Kay J.E., Wheeler K.P. Enhanced transport of natural amino acids after activation of pig lymphocytes // *Biochem. J.* 1979. Vol. 82. P. 27—32.
64. Bowne H.R., Melmon K.L., Lichtenstein L.M. Histamine augments leukocyte adenosine 3'5'-monophosphate and block antigen induced histamine release // *Science.* 1971. Vol. 173. P. 743—745.
65. Bradshaw R.A. Nerve growth factor // *Annu. Rev. Biochem.* 1978. Vol. 47. P. 191—197.
66. Brunton L.L., Maver S.N. Extrusion of cyclic AMP from pigeon erythrocytes // *J. Biol. Chem.* 1979. Vol. 254. P. 9714—9720.
67. Bulough W.G., Lawrence E.P. The lymphocytic chalone and its antimitotic action on a mouse lymphoma in vitro // *Europ. J. Cancer.* 1970. Vol. 6. P. 525—531.
68. Bullough W.G. The chalones: a review // *Nat Cancer Inst. Monogr.* 1973. Vol. 38. P. 5—16.
69. Burakoff S.J. The role of the CD4(L3T4) molecule in T cell activation // *Ann. Inst. Pasteur. Immunol.* 1987. Vol. 138. P. 125—126.
70. Burch P.R., Burwell R.G. Autoimmunity, aminoacids and codons // *Lancet.* 1966. Vol. 1. P. 767—768.
71. Burciel S.W., Bankhurst A.D. PGI_2 and PGD_2 effects on cyclic AMP and human T cell mitogenesis // *USA-prostaglandines Med.* 1979. Vol. 315. P. 315—320.
72. Burnet F.M. Immunological surveillance. N.Y.: Pergamon press, 1970. 322 p.
73. Burnet F.M. An immunological approach to aging // *Lancet.* 1970. Vol. 5. P. 358—360.
74. Burtin C., Sceinman P., Salomin J.C. et al. Increased tissue histamine in tumour-bearing mice and rats // *Brit. J. Cancer.* 1981. Vol. 43. P. 684—688.
75. Byrne R.R., Store P.R., Kidwell G.R. Effect of polyamines and divalent cations on histone H1-poly (adenosine diphosphoriboses) complex formation // *Exp. Cell Res.* 1978. Vol. 115. P. 277—283.
76. Carafoli E. The calcium cycle of mitochondria // *FEBS Lett.* 1979. Vol. 104. P. 1—5.
77. Callard R.E., Basten A., Wasters K. Immune function in aged mice. 5. Role of suppressor cells // *Immunology.* 1980. Vol. 124. P. 52—58.
78. Carlson B.M. Patten's foundations of embryology. N.Y. etc.: McGraw-Hill, 1981. 350 p.
79. Chace S. DNA synthesis, mitosis and differentiation in cardiac mitogenesis // *Develop. Biol.* 1973. Vol. 35. P. 1—8.

80. *Chinker S.M.* Purified EGF receptor-kinase interacts specifically with antibodies to Rous sarcome virus transforming gp proteins // *Nature*. 1981. Vol. 290. P. 516—519.
81. *Cohn M.* The T cell receptor mediating recognition on antigen // *Cell*. 1983. Vol. 33. P. 657—669.
82. *Comfort A.* Ageing: The biology of senescence. N.Y. etc.: Holt, Rinehart and Winston, 1964. 380 P.
83. *Cooper E.L.* Comparative immunology (N.J.): Prentice-Hall, 1976. 410 p.
84. *Curtain C.C.* Lymphocyte surface modulation and glycosphingolipids // *Immunology*. 1979. Vol. 36. P. 805—810.
85. *Cristofale V.J.* Animal cell cultures as a model system for the study of aging // *Adv. Gerontol. Res.* 1972. Vol. 4. P. 45—79.
86. *Dayer J.M., Passwel S.H., Schneeberger E.B.* et al. Interaction among rheumatoid synovial cells and monocyte-macrophages: Production of collagenase-stimulating factors by human monocytes exposed to concanavalin A or Ig Fc fragments // *J. Immunol.* 1980. Vol. 124. P. 1712—1720.
87. *Deuklu V.D.* The role of pituitary and thyroid glands in the decline of minimal O₂ consumption with age // *J. Clin. Invest.* 1974. Vol. 53. P. 572—578.
88. *Dogell D.L., Chang M., Makinodan T.* et al. Cellular and molecular aspects of immune system aging // *Mol. and Cell Biochem.* 1981. Vol. 37. P. 137—156.
89. *Dominegues J.H., Mundy G.H.* Monocytes mediate osteoplastic bone resorption by prostaglandine production // *Calcif. Tissue Intern.* 1980. Vol. 31. P. 29—34.
90. *Dorf M.E., Okuda K., Minani M.* et al. Dissection of supressor cell cascade // T cell hibridomas. 1982. P. 61—67.
91. *Dulak N.C., Shing Y.W.* Large scale purification and further characterization of rat liver cell conditioned medium multiplication stimulating activity // *J. Cell Physiol.* 1977. Vol. 90. P. 127—138.
92. *Duepcel M., Bonno J.C., Sautiere P.* et al. Identification of single-DNA-binding protein from rat liver with high mobility group protein // *J. Biol. Chem.* 1982. Vol. 257. P. 2722—2725.
93. *Dustin P.* Cell differentiation and carcinogenesis: A critical review // *Cell and Tissue Kinet.* 1972. Vol. 5. P. 519—533.
94. *Eidelrtein F.K., Ben-Sassen S.Z.* The role of non-specific lymphocytes in antigen-specific proliferation in vitro // *J. Immunol. Meth.* 1982. Vol. 70. P. 218—222.
95. *Eigen M., Schuster P.* The hypercycle: A principle of natural self-organization. B. etc.: Springer, 1979. 250 p.
96. *Ek B., Heloin Ch.* Characterization of tyrosyne-specific kinase activity in human fibriblast membrane stimulated by platelet-derived growth factor // *J. Biol. Chem.* 1982. Vol. 257. P. 10486—10492.
97. *Everitt A.V.* The role of pituitary growth hormone in the aging male rat // *J. Gerontol.* 1959. Vol. 14. P. 415—424.
98. *Fabris R., Pierpaoli W., Sorkin E.* Lymphocytes, hormones and ageing // *Nature*. 1972. Vol. 240. P. 557—559.
99. *Fada M., Kirchberger M.A., Perke D.J.* et al. The stimulation of calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum by adenosine 3'5'-monophosphate-dependent protein kinase // *J. Biol. Chem.* 1974, Vol. 249. P. 6175—6180.
100. *Finch C.E.* Catecholamine metabolism in the brain of aging male mice // *Brain Res.* 1973. Vol. 52. P. 261—276.
101. *Fontana A., Weber E., Grob F.J.* et al. Dual effect of glia natural factor on astrocytes: Differentiation and release of interleukin-1 like factors // *J Neuroimmunol.* 1983. Vol. 5. P. 261—269.
102. *Frankfurt O.S.* Epidermal chalone: Effect on development of hyperplasia // *Exp. Cell Res.* 1971. Vol. 64. P. 140—144.
103. *Fulton R., Jerrold H.D.* Characterization of lymphoid cell surface proteases // *J. Supramol. Struct.* 1979. Vol. 3. P. 264—270.
104. *Galtsoff F.S.* Regeneration after dissociation: (An experimental study in sponges) // *J. Exp. Zool.* 1925. Vol. 42. P. 183—187.
105. *Gallien-Lartigne O.* Differential effects of external agents on the G₁=S transit rate of murine pluripotent stem cells (CFFUS) after release from G₀ // *Stem. Cells.* 1982. Vol. 2. P. 218—228.

106. *Glinos A.D., Barlett E.G.* The effect of regeneration on the growth potential in vitro of rat liver at different ages // *Cancer Res.* 1951. Vol. 11. P. 164—168.
107. *Gerish G., Malchow D.* Cyclic AMP receptors and control of cell aggregation in *Dictyostelium* // *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* 1976. Vol. 7. P. 49—60.
108. *Gellete R.V., McKenzie G.O., Swanson M.H.* Modification of the lymphocyte response to mitogens by cyclic AMP and GMP // *J. Reticuloendothelial Soc.* 1974. Vol. 16. P. 289—299.
109. *Gospodarowicz D.* Purification of fibroblast growth factor from bovine pituitary // *J. Biol. Chem.* 1975. Vol. 250. P. 2515—2520.
110. *Gutowski J.K., Cohen S.* Induction of DNA synthesis in isolated nuclei by cytoplasmic factors from spontaneously proliferating mitogen-activated lymphoid cells // *Cell. Immunol.* 1983. Vol. 75. P. 300—311.
111. *Hadden J.W., Coffey R.G., Ananthakrishna R. et al.* Cyclic nucleotides and calcium in lymphocyte regulation and activation // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1979. Vol. 332. P. 241—254.
112. *Hadden J.W., Hadden E.M., Mectz G. et al.* Cyclic GMP in cholinergic and mitogenic modulation of lymphocytes metabolism and proliferation // *Fed. Proc.* 1973. Vol. 32. P. 1022—1028.
113. *Hall D.A.* The aging of connective tissue. N.Y., 1976. 520 p.
114. *Harrison D.E., Archer J.R., Astie G.M.* The effect of hypophysectomy on thymic age in mice // *J. Immunol.* 1982. Vol. 129. P. 2673—2677.
115. *Hatchcock K.S., Hodes R.J.* Regulatory mechanisms in cell-mediated response. 5. Distinct Lyt subsets mediate antigen-specific and antigen-nonspecific suppression // *Transplantation.* 1983. Vol. 36. P. 298—303.
116. *Hammerstrom L., Smith E.* Mitogenic properties of polyene antibiotics from murine B cells // *Scand. J. Immunol.* 1976. Vol. 5. P. 37—44.
117. *Hausnam P.B., Moady Ch.E., Innes J.P. et al.* Studies on the syngenic mixed lymphocytes reaction. 2. Development of a monoclonal antibody with specificity for autoreactive T cells // *J. Exp. Med.* 1983. Vol. 158. P. 1307—1318.
118. *Hayflick L.* The limited in vitro life of human diploid cell strains // *Exp. Cell Res.* 1965. Vol. 37. P. 614—636.
119. *Herzenberg L.A., Tokuhisa T., Hayakawa K.* Epitop-specific regulation // *Annu. Rev. Immunol.* 1983. Vol. 1. P. 609—632.
120. *Hirata F., Axelrod J.* Phosphorylation, methylation and biological signal transmission // *Science.* 1980. Vol. 209. P. 1082—1092.
121. *Holan V., Mitchison N.A.* Allospecific suppression without requirement for participation of Ly-2 cells // *Immunology.* 1984. Vol. 51. P. 469—475.
122. *Horton A.A., Spencer J.A.* Reversal of age-dependent decline in respiratory control ratio by hepar regeneration // *FEBS Lett.* 1981. Vol. 133. P. 139—141.
123. *Indervery F., Barabine B., Pierry I. et al.* Human autologous mixed lymphocyte reaction // *Ric. clin. a lab.* 1983. Vol. 13. P. 397—400.
124. *Jeejeebhoy H.F.* Decreased longevity of mice following thymectomy in adult life // *Transplantation.* 1971. Vol. 12. P. 525—526.
125. *Jerne N.* The generative grammar of the immune system // *Science.* 1985. Vol. 229. P. 1057—1059.
126. *Kanungo M.S.* Biochemistry of ageing. N.T. etc.: Acad. press, 1977. 270 p.
127. *Katz S.P., Kierzenbaum F., Waksman B.* Mechanisms of action of "lymphocyte-activating factor". 3. Evidence that LAF acts on stimulated lymphocytes by raising cyclic GMP in G₁ // *J. Immunol.* 1978. Vol. 121. P. 238—239.
128. *Kishimoto T., Kikutani R., Nishizawa J.* Involvement of anti-Ig activated serine protease in the generation of cytoplasmic factors, that are responsible for the transmission of Ig-receptor-mediated signals // *Ibid.* 1979. Vol. 123. P. 1504—1510.
129. *Kishimoto T., Nishizawa J., Kikutani H. et al.* Biphasic action of cAMP production on IgG production and on the changes of nonhistone nuclear proteins, induced with anti-immunoglobulin and enhancement soluble factor // *Ibid.* 1977. Vol. 118. P. 2027—2033.
130. *Klee C.B., Crouch T.H., Pichman P.C.* Calmodulin // *Annu. Rev. Biochem.* 1980. Vol. 49. P. 489—515.
131. *Kletzien R.F.* Nuclear-membrane-associated protein kinases and substrates: The role of growth state on activity and specificity // *Biochem. J.* 1981. Vol. 196. P. 853—859.

132. Kohn R. Effect of administration of rat serum on rat liver regeneration // *Exp. Cell Res.* 1958. Vol. 14. P. 228—233.
133. Kornberg A. DNA synthesis. San Francisco: Freeman, 1974. 340 p.
134. Koutab N., Lutilla J.W. The role of the thymus in the leukemic process // *Mont. Acad. Sci.* 1973. Vol. 33. P. 56—66.
135. Lachman D.B., Maizel A.L. Human immunoregulatory molecules: interleukin-1, interleukin-2 and B cell growth factor // *Contemp. Top. Mol. Immunol.* 1983. Vol. 9. P. 147—167.
136. Lacombe M.-L., Hanoune J. Activation of rat liver guanylate cyclase by proteolysis // *J. Biol. Chem.* 1979. Vol. 254. P. 3696—3699.
137. Lattime E.C., Gillis S., Stutman O. IL-2 production by Lyt-1 thymocytes in response to self Ia antigens // *Behring. Inst. Mitt.* 1982. Bd. 70. S. 27—31.
138. Leith J.T. Comparison of the effects of epidermal chalone in young and aging mice // *Cell and Tissue Kinet.* 1978. Vol. 11. P. 433—440.
139. Levy J., Rabinowitz R., Schlesinger M. Implication of the Thy-1 antigen on mouse cells in the recognition of "self" structure // *Thymus.* 1985. Vol. 7. P. 85—93.
140. Loncourt F., Wang Y., Kristensen F. et al. Receptors for glucocorticoids and insulin on human T lymphocytes: Changes during the cell cycle // *Immunobiology.* 1983. Vol. 165. P. 287—290.
141. Lorber M.I., Leken M., Atall A. et al. I-A antigens on cloned alloreactive murine T lymphocytes are acquired passively // *J. Immunol.* 1982. Vol. 128. P. 2798—2803.
142. MacManus J.P., Whitfield J.F. Cyclic AMP binding sites on the cell surface of thymic lymphocytes // *Life Sci.* 1972. Vol. 11. P. 837—845.
143. MacManus J.P., Whitfield J.P. Cyclic AMP stimulation of thymocyte proliferation by calcium // *Exp. Cell Res.* 1971. Vol. 69. P. 281—288.
144. Martinez A., Pereira P., Bernabe R. et al. The internal complementarities of helper T cell idiotypes // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1984. Vol. 81. P. 4520—4523.
145. Marx I.L. The T cell receptor family is growing // *Science.* 1987. Vol. 236. P. 1187—1188.
146. Manshot W.A. Overprogeronanie. Amsterdam, 1940. 120 p.
147. Makinodan T., Yunis E. Immunology and ageing. N.Y. etc.: Plenum press, 1977. 278 p.
148. Mate T., Ruddle N. Suppressor cells induced by total lymphoid irradiation affect proliferation and lymphokine production of murine T helper cell clones // *Intern. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1987. Vol. 13. P. 61—68.
149. McCarthy S.A., Singer A. Recognition of MHC class I allodeterminants regulates the generation of MHC class-specific II CTL // *J. Immunol.* 1986. Vol. 137. P. 3087—3092.
150. McIntire K.R., Sell S., Miller J.P. Pathogenesis of the postneonatal thymectomy wasting syndrome // *Nature.* 1964. Vol. 204. P. 151—155.
151. McNamara M., Kohler H. Idiotypic-recognizing T helper cells that are rat idiotypic specific // *J. Exp. Med.* 1983. Vol. 158. P. 811—821.
152. Medawar P.B. Old, age and natural death // *Mod. Quart.* 1945. Vol. 1. P. 30—35.
153. Mengle-Gaw L., McDevitt H.O. Genetics and expression of mouse Ia antigens // *Annu. Rev. Immunol.* 1986. Vol. 38. P. 387—396.
154. Mihaund G., Labat M.J. Thymus and osteopetrosis // *Clin. Orthopaed. Rel. Res.* 1978. Vol. 135. P. 260—271.
155. Mintz B., Illnensee K. Normal genetically mosaic mice produced from malignant tetracarcinoma cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1975. Vol. 72. P. 3585—3589.
156. Miura Y., Iwai H., Sakata R. et al. Involvement of cyclic GMP in initial stage of hepatocytes proliferation // *J. Biochem.* 1978. Vol. 80. P. 291—297.
157. Miyahara S., Yakomura K., Takahashi H. et al. Regeneration and immune system. 1. In vitro and in vivo activation of lymphocytes by liver regeneration and the role of Kupfer cells in stimulation // *Europ. J. Immunol.* 1983. Vol. 13. P. 878—883.
158. Mole R.H. Shortening of life by chronic irradiation: The experimental facts // *Nature.* 1957. Vol. 180. P. 456—460.
159. Morell A., Skvaril F., Barandun S. Terminal differentiation of PWM-stimulated human B cells // *Cell. Immunol.* 1979. Vol. 42. P. 384—393.
160. Moya E.Y. Inhibition of growth by post-hepatectomy blood serum: Effect on regenerating liver and on tissue culture // *Exp. Cell Res.* 1963. Vol. 31. P. 457—462.
161. Newmark P. Tyrosine phosphorylation and oncogenesis (news) // *Nature.* 1981. Vol. 292. P. 15—16.

162. *Nishikawa Y., Yamamoto Y., Kaji K. et al.* Reversible G₁ arrest of human Burkett lymphoma cell line (Raji) induced by tunicamycin // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1981. Vol. 97. P. 1296-1303.
163. *Nerris J.L., Blonchard J., Pelevny C.* Regeneration of rat liver at different ages // *Arch. Pathol.* 1942. Vol. 34. P. 208-212.
164. *Nykyforick Ch.J., Yang R.B., Phillips T.* Changes in intracellular Ca²⁺ distribution during the transition of fibroblasts from the proliferation to the stationary state // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1980. Vol. 93. P. 583-587.
165. *Otani S., Mizogushi Y., Matsui I. et al.* Inhibition of DNA synthesis by methylglyoxal bis (guanilhydrazene) during lymphocytes transformation // *Mol. Biol. Rep.* 1974. Vol. 1. P. 431-436.
166. *Ouda H., Yashikawa J.* Presence of hepatocyte-specific mitotic inhibitor in normal rat plasma // *Gann.* 1973. Vol. 64. P. 139-149.
167. *Panda J.M., Turner C.W.* Effect of advancing age on thyrotroping content of the pituitary and blood of the rat // *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 1967. Vol. 124. P. 711-714.
168. *Pandian M.R., Talwar G.F.* Effect of growth hormone on the metabolism of thymus and on the immune response against sheep erythrocytes // *J. Exp. Med.* 1971. Vol. 134. P. 1095-1113.
169. *Paran M.I., Chikawa Y., Sechs L.* Feed back inhibition of the development of macrophage and granulocyte colonies // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1969. Vol. 62. P. 81-87.
170. *Pardi R., Zochi M., Ferrera E. et al.* In vivo effects of a single infusion of theophyllin on human peripheral blood lymphocytes // *Clin. and Exp. Immunol.* 1984. Vol. 57. P. 722-728.
171. *Payan D.G., Hess K.A., Geetzi E.J.* Inhibition by somatostatin of the proliferation of T lymphocytes and Molt-4 lymphocytes // *Cell. Immunol.* 1984. Vol. 84. P. 433-438.
172. *Paukovits W.R.* Control of granulocyte production: Separation and chemical identification of a specific inhibitor (chalone) // *Cell and Tissue Kinet.* 1971. Vol. 4. P. 539-547.
173. *Perrez-Tomage R., Romer J.* Role of the spleen in regeneration of the liver // *Lab. Invest.* 1958. Vol. 7. P. 248-252.
174. *Pierpaoli W., Sorkin E.* Relationship between thymus and hypophysis // *Nature.* 1967. Vol. 215. P. 834.
175. *Pipkin J.L., Hinson W.G., Hudson J.L. et al.* The modulation effect of isoproterenol on DNA replication and protein synthesis: Synthesis patterns of the HMG proteins from electrostatically sorted salivary gland nuclei during the in vivo cell cycle // *Biochim. et biophys. acta.* 1981. Vol. 655. P. 421-423.
176. *Pitsuko O., Keike J., Yoshimitsu A. et al.* Effect of prostaglandins on calcium-stimulated adenosine-triphosphatase in microsomes of rat submandibular glands // *J. Dental Res.* 1980. Vol. 58. P. 76-80.
177. *Phillips C.A., Girit E., Key J.* Changes in intracellular prostaglandins content during activation of lymphocytes by PHA // *FEBS Lett.* 1978. Vol. 94. P. 115-119.
178. *Prehn R.T.* The immune reaction as a stimulator of tumour growth // *Science.* 1972. Vol. 176. P. 170-171.
179. *Puzek Z.* Seasonal and age changes in the weight of internal organs of shrews // *Acta theor.* 1965. Vol. 10. P. 10-27.
180. *Rajewsky K., Takemori T.* Genetics, expression and function of idiotypes // *Annu. Rev. Immunol.* 1983. Vol. 1. P. 569-607.
181. *Rasmussen H., Goodman D.B.* Relationship between calcium and cyclic nucleotides in cell activation // *Physiol. Rev.* 1977. Vol. 57. P. 421-509.
182. *Reshe-Kunz A.B., Steldern D.W., Rude E.* Expression of IL-2 receptors on cultured Lyt-2 cells is dependent on signals provided by antigen-presented cells // *Immunobiology.* 1983. Vol. 165. P. 336-337.
183. *Rive S., Clivio A., Valentini O.* DNA-binding proteins from calf thymus with enhanced ability to stimulate DNA polymerase- α in vitro // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1980. Vol. 96. P. 1053-1062.
184. *Rixon R.H., Whitfield J.F., MacManus J.P.* Stimulation of mitotic activity in rat bone marrow and thymus by exogenous adenosine-3'5'-monophosphate (cyclic AMP) // *Exp. Cell Res.* 1970. Vol. 63. P. 110-116.

185. *Robinson D.S.* Changes in monoamine oxidase and monoamines with human development and aging // *Fed. Proc.* 1975. Vol. 34. P. 103-107.
186. *Reck H.L., Barnes M.C.* The role of Ia molecules in the activation of T-lymphocytes // *J. Immunol.* 1983. Vol. 130. P. 457-462.
187. *Rocklin R.E., Habarck-Davidson A.* Pharmacologic modulation in vitro of human histamine-induced suppressor cell activity // *Intern. J. Immunopharmacol.* 1984. Vol. 6. P. 179-186.
188. *Rocklin R.E., Bendtzen H., Greineder S.* Mediators of immunity: lymphokines and monokines // *Adv. Immunol.* 1980. Vol. 29. P. 56-137.
189. *Rese S.M.* Failure of self-inhibition in tumors // *J. Nat. Cancer Inst.* 1958. Vol. 20. P. 653-664.
190. *Rosenfeld R., Thorsson A.V., Hintz R.I.* Increased somatomedin receptors in newborn circulating mononuclear cells // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* 1977. Vol. 48. P. 456-461.
191. *Rudland P.S., Soiferi W., Gospodarowicz D.* Growth control in cultured mouse fibroblasts: Induction of pleiotropic and mitogenesis responses by a purified growth factor // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1974. Vol. 71. P. 2600-2604.
192. *Ringertz N.R., Savage R.E.* Cell hybrids. N.Y.: Acad. press, 1976. 420 p.
193. *Rytomaa T.* Chalone of the granulocyte system // *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 1973. Vol. 38. P. 143-146.
194. *Ryggard I.* Thymus and self. Copenhagen: FADL, 1973. 210 p.
195. *Sache L.* Control of normal differentiation and the phenotypic reversion of malignancy in myeloid leukaemia // *Nature.* 1978. Vol. 274. P. 535-539.
196. *Sacher G., Trucce E.* A theory of improved performance and survival produced by small doses of radiation and other poisons // *Biological aspects of aging.* L.: N.Y., 1962. P. 244-251.
197. *Saetren H.A.* A principle of auto-regulation of growth: Production of organ-specific mitosis-inhibitors in kidney and liver // *Exp. Cell Res.* 1956. Vol. 11. P. 220-232.
198. *Salas J., Green H.* Protein-binding to DNA and their reaction to growth in cultured mammalian cells // *Nature.* 1971. Vol. 229. P. 165-169.
199. *Salisbury J.C., Graham J.M., Pasternak C.* A rapid method of separation large and small thymocytes for study of their surface properties // *Brit. J. Cancer.* 1979. Vol. 40. P. 307-308.
200. *Samner A.T., Bostock C.I.* The eukaryotic chromosome. Amsterdam etc.: North-Holland, 1978. 600 p.
201. *Scaife J.F.* Liver homeostasis: An in vitro evaluation of a possible specific chalone // *Experientia.* 1970. Vol. 26. P. 1071-1072.
202. *Schimpl A., Wecker E.* Replacement of T cell function by a T cell products // *Nature.* 1972. Vol. 237. P. 15.
203. *Schulman R., Greengard P.* Ca²⁺-dependent protein phosphorylation system in membranes from various tissues // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1978. Vol. 75. P. 5432-5436.
204. *Schudeletti M., Torrielli F., Fende D.* Human T cells in cord blood: Abnormalities in Ia antigens induction by phytohemagglutinin and autologous mixed lymphocyte reactions // *Cell. Immunol.* 1984. Vol. 88. P. 521-530.
205. *Schumacher K., Maerker-Alzer G., Wenmer U.A.* A lymphocytes inhibitory factor isolated from normal human liver // *Nature.* 1974. Vol. 251. P. 655-656.
206. *Schneider E.L., Chase G.A.* Relationship between age of donor and in vitro life span of human diploid fibroblasts // *Interdiscipl. Top. Gerontol.* 1976. Vol. 10. P. 62-69.
207. *Scott W., Bolld R., Deukla W.D.* Age-related changes in immune function of rats and the effect of long-term hypophysectomy // *Mech. Age Develop.* 1979. Vol. 11. P. 127-130.
208. *Sell S., Becker F.F.* Alpha-fetoprotein // *J. Nat. Cancer Inst.* 1978. Vol. 60. P. 19-26.
209. *Scharth M., Barnewhew A.* The expression in eukaryotes of tyrosine kinase which is reactive with pp60 virus antibodies // *Differentiation.* 1982. Vol. 231. P. 109-114.
210. *Schin T., Mayumi H., Himene K. et al.* Drug-induced tolerance to allografts in mice. I. Difference between tumor and skin allografts // *Transplantation.* 1984. Vol. 37. P. 580-584.
211. *Scholman K., Howard V., Teale J. et al.* Antigen-initiation of B lymphocyte differentiation // *J. Immunol.* 1979. Vol. 122. P. 2465-2472.

212. Singer A., Hodes R.L. Mechanisms of T-cell-B-cell interact // Annu. Rev. Immunol. 1983. Vol. 1. P. 211-241.
213. Stein G.S., Baserga H. The synthesis of acidis nuclear proteins in the prereplicative phase of isoproterenol-stimulated salivary gland // J. Biol. Chem. 1970. Vol. 245. P. 6097-6105.
214. Szent-Gyorgyi A. On retine // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1967. Vol. 57. P. 1642-1643.
215. Tada M., Kirchberger M.A., Perke D.J. et al. The stimulation of calcium transport in cardiac sarcoplasmis reticulum by adenosine 3'5'-monophosphate-dependent protein-kinase // J. Biol. Chem. 1974. Vol. 249. P. 6174-6180.
216. Takai Y. Calcium and phosphatydylinositol turnever as signalling of protein phosphorylation // Adv. Cancer Nucleot. Res. 1981. Vol. 14. P. 301-313.
217. Theeder J. Distinction between self and non-self in lower invertebrates // Nature. 1970. Vol. 227. P. 690-692.
218. Thomas D.B., Colderen R.A. T helper cells changes their Lyl-1,2 phenotype during immune response // Europ. J. Immunol. 1982. Vol. 12. P. 16-20.
219. Thomson J., Fortar J.O. Progeria (Hutchinson-Gilford syndrom): Report of a case and review of the literature // Arch. Disease Childhood. 1950. Vol. 25. P. 224-230.
220. Thomson S.P., McManus L.J., Nugent Ch.A. Endogenous cortisol: A regulator of the number of lymphocytes in peripheral blood // Clin. Immunol. and Immunopathol. 1980. Vol. 17. P. 506-514.
221. Thorssen A.V., Hintz R.J. Specific ^{125}I -somatomedin receptors on circulating human mononuclear cells // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1977. Vol. 74. P. 1566-1573.
222. Turing A. The chemical basis of morphogenesis // Trans. Roy. Soc. 1952. Vol. 237. P. 32-72.
223. Ting Chou Chick, Yang S.S., Hargrave M.E. Induction of supressor T cells by interleukin-2 // J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 261-266.
224. Tutton F.G.V. Control of epithelial cell proliferation in the small intestinal crypt // Cell and Tissue Kinet. 1973. Vol. 6. P. 211-216.
225. Urbain J. Is the immune system a functional idiotypic setwork? // Immunoregul. proc. workschop, Urbine, 8-10 July, 1981. N.Y.; 1983. P. 1-11.
226. Verby W.G. The control of liver growth // Chalones. N.Y., 1976. P. 401-428.
227. Walford R.L. Auto-immunity and aging // J. Gerontol. 1962. Vol. 17. P. 281-285.
228. Walford R.L. Immunological theory of aging: current status // Fed. Proc. 1974. Vol. 33. P. 2020-2027.
229. Walton G.M., Spiess J., Gill G.A. Phosphorilation of HMG₁₄ protein by cyclic nucleotides-dependent protein kinase // J. Biol. Chem. 1982. Vol. 257. P. 4661-4668.
230. Watanabe T., Eda J., Ohara J. Restricted nucleocytoplasmic relationship in activation of T and B lymphocytes // J. Exp. Med. 1982. Vol. 156. P. 312-317.
231. Watson J. Cyclic nucleotides as intracellular mediators of B cell activation // Transplant. Rev. 1975. Vol. 23. P. 223-249.
232. Wedner H., Danker R., Parker C. Cyclic GMP and lectin-induced lymphocyte activation // J. Immunol. 1975. Vol. 115. P. 1682-1985.
233. Weiss P., Kavanau J.L. A model of growth and growth control in mathematical terms // J. Germ. Physiol. 1957. Vol. 41. P. 1-47.
234. Weindrudi R.H., Suffin S.C. Quantitative histological effects on mouse thymic of controlled dietary restriction // J. Gerontol. 1980. Vol. 35. P. 525-531.
235. Williams A.F. The immunoglobulin superfamily takes shape // Nature. 1984. Vol. 308. P. 12-13.
236. Whitfield J.F., Boynton A.J., MacManus J.P. et al. The regulation of cell proliferation by calcium and cyclic AMP // Mol. and Cell. Biochem. 1979. Vol. 27. P. 155-179.
237. Wortis H. Immunological studies of nude mice // Contemp. Top. Immunobiol. 1974. Vol. 3. P. 243-263.
238. Yamamoto J., Patts J.T., Segre G.V. Circulating bovine lymphocytes contain receptors for parathyreoid hormone // J. Clin. Invest. 1983. Vol. 2. P. 404-407.
239. Yasudu H., Hawaii W., Hurata M. et al. Cyclic GMP methabolism in relationship to the regulation of cell growth in BALB/c 3T3 cells // Exp. Cell Res. 1972. Vol. 114. P. 111-116.

240. Yates L., Kanama Th.C. Studies on the role of calmodulin in T-lymphocyte mitogenesis // Fed. Proc. 1980. Vol. 39. P. 1626-1630.
241. Yeh J., Fisher H.W. A diffusable factor which sustains contact inhibition of replication // J. Cell Biol. 1969. Vol. 40. P. 382-388.
242. Yokomuro K., Miyahane S., Takahashi H. et al. Regeneration and the immune system. 2. Suppressor activities of lymphocytes activated in vivo by liver regeneration and their genetic control // Europ. J. Immunol. 1983. Vol. 13. P. 883-888.
243. Zaudere M., Campbell H., Johnson D.R. et al. Helper function of antigen-induced specific and autoreactive T cell colonies // J. Mol. and Cell. Immunol. 1984. Vol. 1. P. 65-73.
244. Zeeman E.C. Differentiation and pattern formation // Annu. Rev. Biophys. and Bioenerg. 1975. Vol. 4. P. 210-215.
245. Zeilig Ch.E., Goldberg N.D. Cell-cycle-related changes of 3'5'-cyclic GMP levels in Novikoff hepatoma cells // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1977. Vol. 74. P. 1052-1056.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
Глава I	
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ	5
Некоторые общие вопросы биологии клеточного цикла	5
Механизм включения клеточного деления (G_0/G_1 -переход)	7
Подготовка клеток к пролиферации (G_1 -фаза)	12
Фаза синтеза ДНК — основа клеточного деления (S -фаза)	16
Премитотическая фаза и митоз	17
Критические точки в клеточном цикле	19
Глава II	
УРОВНИ РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ	21
Формирование различных уровней регуляции пролиферации — отражение филогенетической эволюции	21
Внутриклеточные стимуляторы и ингибиторы пролиферации	23
Внутриклеточная регуляция пролиферации (клеточные клоны)	26
Межклеточные регуляторы пролиферации	29
Постоянство размеров многоклеточного организма как результат интеграции систем регуляции пролиферации	31
Глава III	
НЕИММУННЫЕ ФУНКЦИИ ЛИМФОЦИТОВ И КОНЦЕПЦИЯ СИСТЕМЫ КЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССА ПРОЛИФЕРАЦИИ (система КРП)	34
Участие лимфоцитов в процессах, требующих пролиферации клеток	34
Концепция существования специализированной системы клеточной регуляции процесса пролиферации тканей	36
Глава IV	
КИБЕРНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ФОРМИРОВАНИЯ, ЭВОЛЮЦИИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ	44
Самоорганизация пролиферирующих клеточных систем и формирование элементарной самовоспроизводящейся клеточной ячейки	44
Направления дальнейшей эволюции элементарного „клеточного гиперцикла“	50
Некоторые особенности функционирования „клеточного гиперцикла“	54
Глава V	
КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ КРП	60
Общие свойства клеток—регуляторов пролиферации	60
Обнаружение и характеристика клеток—регуляторов пролиферации соматических тканей в эксперименте	67
Управление процессом пролиферации соматических клеток при воздействии на систему КРП	76

Глава VI		
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ КРП		79
Молекулярные механизмы распознавания "своего" и "чужого" — основа специфичности функционирования системы		79
Молекулярные механизмы активации КРП		89
Медиаторы КРП		95

Глава VII		
УЧАСТИЕ СИСТЕМЫ КРП В РЕГУЛЯЦИИ ОТДЕЛЬНЫХ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА		99
КРП в физиологической и репаративной регенерациях тканей		99
Функционирование соединительной и костной тканей		102
КРП и система стволовых клеток		104
КРП в регуляции роста и развития организмов		108
Старение как результат дефицита КРП		114
Иммунитет как одна из сторон функционирования системы КРП		127
Опухоли и система КРП		132
ЗАКЛЮЧЕНИЕ		137
ЛИТЕРАТУРА		140

Научное издание

Донцов Виталий Иванович

**ИММУНОБИОЛОГИЯ
ПОСТНАТАЛЬНОГО
РАЗВИТИЯ**

Утверждено к печати

Московским обществом испытателей природы

Редактор *С.П. Одинцова*

Художественный редактор *И.Ю. Нестерова*

Технический редактор *Л.В. Русская*

Корректор *З.Д. Алексеева*

Набор выполнен в издательстве
на компьютерной технике

ИБ № 47046

Подписано к печати 06.09.90

Формат 60 × 90 1/16. Бумага офсетная № 1
Гарнитура Сов. Кириллица. Печать офсетная
Усл.печл. 9,5. Усл.кр.-отт. 9,6. Уч.-изд.л. 11,2
Тираж 1000 экз. Тип зак. 716. Цена 2 р. 30 к.

Ордена Трудового Красного Знамени
издательство "Наука"

117864 ГСП-7, Москва В-485,

Профсоюзная ул., д. 90

Ордена Трудового Красного Знамени
1-я типография издательства "Наука"
199034, Ленинград В-34, 9-я линия, 12



2 р. 30 к.



• НАУКА •