

Учебная литература
для студентов медицинских вузов

Р.М.Хаитов,
Г.А.Игнатъева, И.Г.Сидорович

ИММУНОЛОГИЯ

Рекомендовано Департаментом
научно-исследовательских
и образовательных медицинских учреждений
Министерства здравоохранения
Российской Федерации в качестве учебника
для студентов медицинских вузов



Москва
"Медицина"
2000

УДК 616-092:612.017.1(075.8)

ББК 52.5

X19

Федеральная программа книгоиздания России

Рецензенты:

В.Н.Ярыгин — профессор, академик РАМН, ректор Российского государственного медицинского университета;

В.А.Черешнев — академик РАМН, председатель Уральского отделения РАН.

Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г.

X19 Иммунология: Учебник. — М.: Медицина, 2000. — 432 с: ил. (Учеб. лит. Для студ. медвузов).

ISBN 5-225-04543-X

В учебнике рассмотрены практически все аспекты строения и функционирования иммунной системы в норме и при патологии. Кроме фактической информации, приведены теоретические концепции, которые, по мнению и опыту авторов, а также рецензентов, будут способствовать формированию правильных представлений о строении и функционировании иммунной системы, а также о возможностях и ограничениях врачебного вмешательства в иммунную систему.

ББК 52.5

ISBN 5-225-04543-X

© Р.М.Хайтов, Г.А.Игнатъева,
И.Г.Сидорович, 2000

Все права авторов защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

| | |
|-------------------|---|
| Предисловие | 9 |
|-------------------|---|

Часть I

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

| | |
|--|----|
| Глава 1. Определение биологического явления «иммунитет» | 15 |
| 1.1. Введение в предмет..... | 15 |
| 1.2. Определение понятия «иммунитет»..... | 19 |
| 1.2.1. Резистентность к инфекциям и продуктам повреждения тканей. Физиологические защитные системы организма. Место иммунитета..... | 23 |
| 1.2.2. Антигены..... | 28 |
| 1.2.3. Определение иммунитета. «Формула» иммунного ответа..... | 31 |
| 1.3. Исторические теории иммунитета..... | 33 |
| Глава 2. Анатомия и цитология иммунной системы | 34 |
| 2.1. Органы, ткани и клетки иммунной системы | 34 |
| 2.2. Тимус..... | 42 |
| 2.3. Лимфатические узлы..... | 44 |
| 2.4. Селезенка..... | 47 |
| 2.5. Печень..... | 47 |
| 2.6. Неинкапсулированная лимфоидная ткань слизистых оболочек. Иммунные подсистемы слизистых оболочек, кожи и других тканей. | 48 |
| Глава 3. Доиммунные биологические механизмы резистентности к инфекциям. Система комплемента. Белки острой фазы. Фагоцитоз | 50 |
| 3.1. Система комплемента..... | 51 |
| 3.2. Белки острой фазы (С-реактивный протеин и маннансвязывающий лектин)..... | 60 |
| 3.3. Фагоцитоз..... | 61 |
| 3.4. Эндогенные пептиды-антибиотики..... | 67 |
| Глава 4. Антитела. В-лимфоциты | 71 |
| 4.1. Антитела..... | 72 |
| 4.2. Структура молекул иммуноглобулинов..... | 74 |
| 4.3. Биохимические свойства иммуноглобулинов | 76 |
| 4.4. Гены иммуноглобулинов..... | 81 |

| | | |
|-----------------|---|------------|
| 4.5. | Изотипы, аллотипы и идиотипы иммуноглобулинов..... | 90 |
| 4.6. | Дифференцировка В-лимфоцитов..... | 92 |
| 4.7. | Рецептор В-лимфоцитов для антигена..... | 95 |
| 4.8. | Стадии лимфопозеза В-лимфоцитов..... | 98 |
| 4.9. | Конститутивные иммуноглобулины (нормальные антитела)..... | 106 |
| Глава 5. | Т-лимфоциты. Главный комплекс гистосовместимости | 108 |
| 5.1. | Дифференцировка Т-лимфоцитов..... | 108 |
| 5.2. | Строение рецептора Т-лимфоцитов для антигена (TCR)..... | 109 |
| 5.3. | Гены α - и β -цепей рецептора Т-лимфоцитов для антигена..... | 112 |
| 5.4. | Коррецепторные молекулы Т-лимфоцитов — CD4 и CD8..... | 115 |
| 5.5. | Дифференцировка Т-лимфоцитов в тимусе. Позитивная и негативная селекция тимоцитов..... | 116 |
| 5.6. | Главный комплекс гистосовместимости..... | 126 |
| 5.7. | Механизмы образования комплексов пептидов-антигенов с молекулами главного комплекса гистосовместимости..... | 131 |
| 5.8. | Суперантигены..... | 136 |
| 5.9. | Генетический полиморфизм главного комплекса гистосовместимости..... | 137 |
| 5.10. | Антигенпредставляющие молекулы «не МНС» - CD1..... | 140 |
| 5.11. | Т-лимфоциты с рецептором $\gamma\delta$ для антигена ($T\gamma\delta$)..... | 141 |
| 5.12. | Субпопуляции нормальных киллеров..... | 143 |
| Глава 6. | Активация Т-лимфоцитов | 146 |
| 6.1. | Что такое активация лимфоцита..... | 146 |
| 6.2. | Апоптоз и торможение активации..... | 151 |
| 6.2.1. | Апоптоз..... | 151 |
| 6.2.2. | Торможение активации..... | 156 |
| 6.2.3. | Иммунорецепторы: активирующие рецепторы и негативные коррецепторы лимфоцитов..... | 157 |
| Глава 7. | Иммунный ответ | 161 |
| 7.1. | Определение иммунного ответа. Этапы иммунного ответа..... | 161 |
| 7.2. | Иммунологическая память..... | 164 |
| 7.3. | Взаимодействия клеток в иммунном ответе... .. | 169 |
| 7.3.1. | Молекулы межклеточной адгезии..... | 170 |
| 7.3.2. | Антигенпредставляющие клетки..... | 176 |
| 7.3.3. | Цитокины..... | 177 |
| 7.3.3.1. | Хемокины..... | 183 |
| 7.3.3.2. | Рецепторы для цитокинов..... | 186 |
| 7.3.3.3. | Биологические свойства пар цитокин—клетка-мишень..... | 189 |
| 7.3.4. | Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов..... | 202 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 7.4. | Тимуснезависимые антигены..... | 205 |
| 7.5. | Дихотомия (иммунное отклонение) в дифференцировке CD4 ⁺ ThO-лимфоцитов в процессе индукции иммунного ответа: развитие субпопуляций Th1 и Th2..... | 207 |
| 7.6. | Супрессия иммунного ответа..... | 212 |
| 7.7. | Иммунологическая толерантность..... | 216 |
| 7.8. | Отторжение трансплантата..... | 219 |
| 7.9. | Иммунная система и опухоли..... | 224 |
| Глава 8. | Эффекторные механизмы иммунитета..... | 227 |
| 8.1. | Антителозависимые механизмы защиты от патогена..... | 233 |
| 8.1.1. | Fc-рецепторы..... | 234 |
| 8.1.2. | Антителозависимая клеточная цитотоксичность..... | 236 |
| 8.1.3. | Сосудистые и миоконстрикторные реакции, опосредованные медиаторами тучных клеток и базофилов. Гиперчувствительность немедленного типа..... | 237 |
| 8.1.4. | Реликтовые свойства антител..... | 242 |
| 8.2. | T-лимфоцитзависимые антителонезависимые эффекторные механизмы иммунитета..... | 243 |
| 8.2.1. | Цитотоксические T-лимфоциты..... | 244 |
| 8.2.2. | Другие механизмы лимфоцитарной цитотоксичности..... | 246 |
| 8.2.3. | Гиперчувствительность замедленного типа..... | 246 |
| 8.2.4. | Эффекторные механизмы работы нормальных киллеров..... | 250 |
| Глава 9. | Взаимосвязи иммунной системы с нервной и эндокринной системами..... | 256 |

Часть II

ИММУННАЯ СИСТЕМА И ПАТОЛОГИЯ

| | | |
|-----------|--|------------|
| Глава 10. | Классификация патологических процессов с участием иммунной системы..... | 261 |
| Глава 11. | Первичные (врожденные) иммунодефициты..... | 267 |
| 11.1. | Первичные иммунодефициты с дефектами иммуноглобулинов..... | 273 |
| 11.2. | Первичные иммунодефициты с дефектами T-лимфоцитов..... | 277 |
| 11.3. | Заболевания с дефектами фагоцитов..... | 281 |
| 11.4. | Дефекты растворимых белков сыворотки крови (маннозосвязывающего протеина и комплемента)..... | 283 |
| Глава 12. | Вторичные иммунодефициты..... | 285 |
| 12.1. | Этиологические факторы..... | 287 |

| | |
|--|-----|
| 12.2. Синдром хронической усталости..... | 288 |
| 12.3. Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), вызванный ретровирусами иммунодефицита человека (ВИЧ)..... | 289 |
| 12.3.1. Этиология..... | 291 |
| 12.3.2. Клиническая картина..... | 295 |
| 12.3.3. Лабораторная диагностика..... | 300 |
| 12.3.4. Лечение..... | 301 |

| | |
|--|------------|
| Глава 13. Аутоиммунные болезни и болезни с синдромами иммунного воспаления..... | 308 |
| 13.1. Этиология и патогенез..... | 308 |
| 13.2. Заболевания эндокринных желез..... | 316 |
| 13.3. Заболевания желудочно-кишечного тракта.... | 317 |
| 13.4. Заболевания крови..... | 320 |
| 13.5. Заболевания нервной системы с компонентом иммунного воспаления..... | 322 |
| 13.6. Первичные системные васкулиты..... | 325 |

| | |
|---|------------|
| Глава 14. Аллергические болезни..... | 332 |
| 14.1. Определение терминов..... | 332 |
| 14.2. Аллергены..... | 335 |
| 14.3. Замедленные реакции гиперчувствительности | 335 |
| 14.4. Эпидемиология аллергических болезней..... | 336 |
| 14.5. Бронхиальная астма..... | 339 |
| 14.6. Системная анафилаксия..... | 346 |
| 14.7. Пищевая аллергия..... | 349 |
| 14.8. Крапивница и ангиоэдема..... | 351 |
| 14.9. Аллергические и неаллергические реакции на медикаменты..... | 354 |

| | |
|---|------------|
| Глава 15. Иммунокорректирующая терапия и вакцинация..... | 362 |
| 15.1. Принципы иммунокорректирующей терапии | 362 |
| 15.2. Иммунодепрессивная терапия..... | 363 |
| 15.3. Вакцинация..... | 365 |
| 15.4. Иммуностимулирующая терапия..... | 367 |

Приложение

| | |
|---|-----|
| Избранные методы исследования в иммунологии | 368 |
| I. Клонирование..... | 368 |
| I.1. Клонирование животных: инбредные линии мышей..... | 368 |
| I.2. Клонирование клеток..... | 369 |
| I.3. Клонирование генов. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)..... | 369 |
| I.4. Трансгенные мыши..... | 372 |
| I.5. Генетический нокаут (knock-out), или направленный мутагенез..... | 373 |
| II. Методы иммуноанализов..... | 377 |
| II.1. Прямые иммуноанализы..... | 380 |
| II.2. Непрямые иммуноанализы..... | 382 |

| | |
|-------------------------------|-----|
| Таблица CD-маркеров..... | 386 |
| Краткий словарь терминов..... | 407 |
| Рекомендуемая литература..... | 417 |
| Предметный указатель..... | 420 |

СОКРАЩЕНИЯ, ЧАСТО ВСТРЕЧАЮЩИЕСЯ В ТЕКСТЕ

| | |
|--------------|--|
| АЗКЦТ | — антителозависимая клеточная цитотоксичность |
| ВИД | — вторичные иммунодефицита |
| ГЗТ | — гиперчувствительность замедленного типа |
| ГНТ | — гиперчувствительность немедленного типа |
| ЖКТ | — желудочно-кишечный тракт |
| ЛПС | — липополисахарид |
| МСЛ | — маннансвязывающий лектин |
| ПИД | — первичные иммунодефициты |
| СКК | — стволовая кроветворная клетка |
| СРП | — С-реактивный протеин |
| ЦТЛ | — цитотоксический Т-лимфоцит |
| ТКИН | — тяжелая комбинированная иммунологическая недостаточность |
| BCR | — B-cell receptor — рецептор В-лимфоцита для антигена |
| CSF | — colony-stimulating factor — колониестимулирующий фактор |
| CD | — cell differentiation antigens или cluster definition — антигены кластеров дифференцировки клеток |
| CDR | — complement-determining region — область молекулы иммуноглобулина, непосредственно участвующая в формировании комплементарных связей (ионных, водородных, ван-дер-ваальсовых, гидрофобных) с молекулой антигена |
| CR | — complement receptor — рецептор для компонентов комплемента |
| DAG | — diacyl glycerol — диацил глицерол |
| DC | — dendritic cells — дендритные клетки |
| FcR | — Fc-receptor — рецептор для Fc-фрагмента молекулы иммуноглобулина |
| FR | — framework region — каркасные области молекулы иммуноглобулина |
| FDC | — follicular dendritic cells — фолликулярные дендритные клетки |
| HLA | — human leukocyte antigens — антигены лейкоцитов человека |
| IEL | — intra epitelial lymphocytes — внутриэпителиальные лимфоциты |
| ICAM-1, 2, 3 | — inter cellular adhesion molecules — молекулы межклеточной адгезии 1, 2 и 3 типов |
| IFN | — interferon(s) — интерферон(ы) |
| Ig | — immunoglobulin — иммуноглобулин |

| | |
|-----------------------|---|
| Ig α | — полипептид α , входящий в состав рецептора В-лимфоцитов для антигена (BCR) |
| Ig β | — полипептид β , входящий в состав рецептора В-лимфоцитов для антигена (BCR) |
| TL — inter- ITAM | leukin(s) — интерлейкин(ы) — immunoreceptor-tyrosin-based activation motif — последовательности остатков аминокислот, включающие тирозин, в молекулах иммунорецепторов, индуцирующих процессы активации функций клетки |
| ITIM | — immunoreceptor-tyrosin-based inhibition motif — последовательности остатков аминокислот, включающие тирозин, в молекулах иммунорецепторов, индуцирующих процессы ингибиции функций клетки |
| LFA-1,2,3 | — leukocyte function-associated antigen(s) — антигены лейкоцитов, ассоциированные с функциями |
| MHC | — major histocompatibility complex — главный комплекс (генов или белков) гистосовместимости |
| NK | — normal killer — нормальные киллеры |
| TAPA-1 | — target of antiproliferative antibody — мишень для антипролиферативных антител |
| TCR | — T-cell receptor — рецептор Т-лимфоцитов для антигена |
| TGF | — transforming growth factor — трансформирующий фактор роста |
| Т1, 2, 3 | — T-helper-1, 2, 3 — субпопуляции CD4 ⁺ Т-лимфоцитов (хелперов) |
| TNF | — tumor necrosis factor — фактор некроза опухолей |
| RAG | — recombination-activating genes — гены, активирующие рекомбинацию ДНК. Гены RAG-1 и RAG-2 кодируют гетеродимерные эндонуклеазы |
| RANTES | — Regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted — хемокин, который вырабатывается нормальными иммунными Т-лимфоцитами на 3—5-е сутки от начала активации лимфоцита. (Кроме Т-лимфоцитов, RANTES продуцируют активированные фибробласты и клетки эпителия кровеносных тканей.) |
| SCID | — severe combined immunodeficiency — тяжелый комбинированный иммунодефицит |
| VCAM | — vascular cell adhesion molecule(s) — молекула(ы) адгезии клеток к стенке сосуда |
| VDJ-реком- бинация | — перестройка ДНК генов иммуноглобулинов или TCR варибельной области (V — от variable), области дополнительного разнообразия (D — от diversity) и связующей области (J — от joining) |
| VJ-реком- бинация | — перестройка ДНК генов иммуноглобулинов или генов TCR областей V и J |
| VLA | — very late antigen — антиген, экспрессирующийся на клетке в поздние сроки от начала развития иммунного ответа |
| ZAP | — ζ -associated protein — протеин (киназа), ассоциированный с ζ -цепью комплекса при TCR |

ПРЕДИСЛОВИЕ

В нашей стране более 20 лет, после замечательного учебника Что иммунологии Р.В.Петрова, сыгравшего важную роль в организации преподавания иммунологии в СССР и России, не издавались новые, отражающие актуальное состояние предмета учебники по иммунологии для высшего медицинского образования. Одна из очевидных причин такого положения — чрезвычайно быстрое накопление фактической информации. Поэтому профессионалов, занятых в области иммунологии, не покидало ощущение, что какой учебник не напиши, он устареет прежде, чем он будет напечатан. Это опасение не напрасно, но оно сыграло серьезную отрицательную роль в деле развития медицины в нашей стране в целом. Действительно, иммунология отличается от многих медицинских дисциплин быстрым накоплением новых фактов. Например, кто бы и в каком бы веке не написал учебник по анатомии человека, он опишет 17 мышц предплечья, 12 черепно-мозговых нервов и т.д. Наш предмет не таков. Но как и в любой медицинской специальности, в иммунологии не только ставят эксперименты и рассуждают теоретически, но и действуют практически, назначая иммунотропную терапию. Пособия, издаваемые без солидного рецензирования, краткие курсы повышения квалификации по клинической иммунологии, к сожалению, подчас приносят по существу не столько пользу, сколько вред, потому что создают иллюзию, что все просто, известно, уверенно отработано со времен Л.Пастера. Но это не так. Естественные науки руководствуются не авторитетными именами, а соответствием знаний объективной реальности. Луи Пастер (Louis Pasteur, Франция) — талантливейший исследователь, химик по образованию, привнес в микробиологию и иммунологию химическую идею о специфичности взаимодействий, а также открыл экспериментальный феномен аттенуации. Однако суть его открытия — аттенуацию возбудителей инфекционных заболеваний (искусственное ослабление патогенности микробов лабораторными манипуляциями) — наше время не то, чтобы «закрыло», но уже очевидно обязывает признать лабораторным феноменом, на основании которого нельзя делать исключительно положительные клинические прогнозы в от-

ношении последствий вакцинации, так как аттенуированный в лаборатории вакцинный штамм микроорганизма, будучи привитым in vivo, «имеет право забыть об аттенуации» и эволюционировать в «свою пользу».

Наше время ставит *новые* вопросы, появились *новые* болезни и нужны *новые* решения. Например, в деле вакцинопрофилактики прогресс связан с разработкой *новой* идеологии и созданием вакцин *нового* поколения. Кроме того, пробелы (вплоть до отсутствия) в фундаментальном, серьезном и современном преподавании иммунологии в системе высшего медицинского образования имеют следствием такие явления, как невозможность для подавляющего большинства клиницистов разумно использовать данные иммунологического исследования и даже просто понять их. Еще - серьезнее то, что клиницисты разных специальностей нередко легко решаются на назначение незарегистрированных «иммуностимулирующих» препаратов или назначение заместительной терапии препаратами из человеческой крови либо биотехнологического производства с использованием тканей животных, исходя из, к сожалению, неоправданно упрощенной точки зрения, «чем больше иммунитета, тем лучше».

Но и это еще не все. Как бы быстро ни появлялась в иммунологии новая фактическая информация, а на самом деле именно в силу этого, иммунология в настоящее время оказалась на передовой всей современной медицины, и прогрессивное развитие, обновление, даже пересмотр многих традиций всей практической медицины XX в. будут иметь (в мире уже начал иметь) двигателем — именно иммунологию. Происходит это потому, что *глобальные* медицинские проблемы сохранения здоровья всего населения Земли в настоящее время касаются *новых* болезней, «пришедших» к нам только во второй половине XX в. Эти болезни как минимум — ретровирусные инфекции (пример — СПИД) и прионные инфекции (пример — губчатый энцефалит). По своей природной сути они оказались напрямую предметом иммунологии. Кроме того, «старые» инфекции одна за другой «уходят» из-под контроля антибиотиками. Аллергические болезни, которые характеризуются более неотложными ургентными состояниями, чем острый живот в хирургии, к концу XX в. охватили 20—40 % населения развитых стран, тогда как в начале века врачи наблюдали их менее чем у 1 % людей. Поэтому в какой частной медицинской специальности не работай, иммунологические проблемы не обойти. Таким образом, жизнь заставляет неупрощенно, а» крайне заинтересованно и ответственно относиться к такому предмету, как иммунология.

Данный учебник написан авторами, отдавшими иммунологию всю свою профессиональную жизнь. Он основан на са-

мых современных фактических данных. Но это не самое главное. Новые данные будут появляться и после выхода учебника. Основное достоинство нашего учебника в том, что он предлагает *систему знаний* и ряд *принципов* профессионального мировоззрения, включая *определения фундаментальных понятий*, которые наверняка помогут читателю соизидательно, творчески и критически воспринимать в дальнейшем любую конкретную информацию по иммунологии.

На первый взгляд некоторых студентов может «испугать» молекулярный уровень материала. Этого ни в коем случае не надо бояться. Раз уж все мы состоим из молекул, то лучше знать о них. Иммунологию можно понять только на молекулярном уровне. Вторая часть учебника — иммунная система и патология — содержит клинический материал, не противоречащий, а, напротив, способствующий более глубокому и обоснованному пониманию «молекулярного уровня».

При работе над учебником авторы внимательно прочли лучшие современные западные учебники и руководства для профессионалов по иммунологии, рецензированные ведущими специалистами мирового уровня. Это гарантирует взвешенное и проверенное представление фактического материала и в нашем учебнике. Но наш учебник содержит (и немало) *приоритетных* концепций, которые, мы надеемся, позволят думающему читателю сделать шаг вперед даже по сравнению с высокоразвитой западной наукой. В 1999 г. вышло несколько книг по иммунологии отечественных авторов, среди них самая значительная по объему представленного материала и фундаментальности изложения — «**Основы иммунологии**» А.А.Ярилина (Москва, «Медицина», 1999).

Тем студентам, которые привыкли отдавать предпочтение справочной, фрагментированной учебной литературе, возможно, потребуется сделать над собой некоторое усилие, так как данный учебник представляет из себя цельный текст. Но только такой текст является отражением «цельных» мыслей, учит думать не «осколочно», а системно и соизидательно. При первом знакомстве желательно читать учебник *с начала и без пропусков*, тогда в дальнейшем проще будет возвращаться к конкретным разделам.

* * *

Перечислим имена лауреатов Нобелевской премии по физиологии и медицине за иммунологические работы. Напомним, что Нобелевская премия учреждена с 1901 г. и за исключением нескольких первых премий, как правило, ее не присуждают раньше чем через 15—20 лет после первой публикации авторов. Эти 15—20 лет отводят для проверки и перепроверки заявляемого открытия.

*Нобелевские премии по физиологии и медицине,
присужденные за работы в области иммунологии*

Эмиль Беринг [Emil A. von Behring (1854-1917), Германия] — премия 1902 г. за открытие антитоксинов, впоследствии антител.

Роберт Кох [Robert Koch (1843—1910), Германия] — премия 1905 г. за исследования туберкулеза.

Илья Ильич Мечников (1845—1916, Россия) — премия 1908 г. за открытие защитной роли фагоцитоза и клеточную теорию иммунитета.

Пауль Эрлих [Paul Ehrlich (1854—1915), Германия] — премия 1908 г. (совместно с И.И.Мечниковым) за гуморальную теорию иммунитета.

Шарль Рише [Charles Richet (1850-1935), Франция] — премия 1913 г. за работы по анафилаксии.

Жюль Борде [Jules Bordet (1870—1961), Бельгия] — премия 1919 г. за экспериментальные работы по комплементзависимому бактериолизу, специфическому гемолизу, за разработку метода фиксации комплемента для диагностики инфекционных болезней.

Карл Ландштейнер [Karl Landsteiner (1868—1943), Австрия] — премия 1930 г. за открытие групп крови и фундаментальную книгу «The Specificity of Serologic Reactions».

Макс Тэйлер [Max Theiler (1899—1972), ЮАР, Англия, США] — премия 1951 г. за создание вакцины против желтой лихорадки.

Даниэль Бовэ [Daniel Bovet (1907), Швейцария] — премия 1957 г. за открытие роли гистамина в патогенезе аллергических реакций и разработку антигистаминных препаратов для лечения аллергических болезней. Кроме того, он разработал курареподобные релаксанты, транквилизаторы и ряд анестетиков.

Фрэнк Бернет [F. Macfarlane Burnet (1899—1985), Австралия] и **Питер Медавар** [Peter B. Medawar (1915—1987), Великобритания] — премия 1960 г. за исследования по искусственной индукции иммунологической толерантности.

Родни Портер [Rodney R. Porter (1917—1985), Великобритания] и **Джеральд Эдельман** [Gerald M. Edelman (1929), США] — премия 1972 г. за установление химической структуры антител.

Розалин Ялоу [Rosalyn Yalow (1921)] — премия 1977 г. за разработку радиоиммунологического анализа для определения нано- и пикограммовых количеств пептидных гормонов.

Бару Бенацераф [Baruj Benacerraf (1920), США], **Жан Доссе** [Jean Dausset (1916), Франция] и **Джордж Д. Снелл** [George D. Snell (1903), США] — премия 1980 г. за открытие генов и структур поверхности клеток главного комплекса гистосовместимости.

Нильс Йерне [Niels K. Jerne (1912—1994), Великобритания] — премия 1984 г. за разработку теории идиотипических сетей. Кроме того, он разработал всемирно применяемый метод количественного подсчета антителообразующих клеток. Именно Н.Йерне является первым, кому принадлежит самая фундаментальная и по сей день основная идея иммунологии — идея клональности лимфоцитов, следовательно, клональности любого иммунного ответа.

Георг Келлер [Georges F. Köhler (1946—1995), Германия] и **Цезарь Мильштейн** [Cesar Milstein (1927), Великобритания] — премия 1984 г. за разработку революционного биотехнологического метода — получения гибридом и моноклональных антител.

Сузуму Тонегава [Susumu Tonegawa (1939), Япония] — премия 1987 г. за работы по молекулярной биологии генов иммуноглобулинов, обеспечивающих огромное разнообразие антигенсвязывающих участков молекул антител.

Питер Дохерти [Peter Doherty (1940), США] и **Рольф Цинкернагель** [Rolf Zinkernagel (1944), Швейцария] — премия 1996 г. за открытие двойного распознавания в иммунологии — природной функции молекул главного комплекса гистосовместимости.

Стенли Прусинер (Stenly Prusiner, США) — премия 1997 г. за открытие прионов — возбудителей инфекций нового типа, непохожих на ранее известные в медицине. К прионным инфекциям относят возбудителей губчатого энцефалита — бешенства коров, заразного и для человека (в том числе по пищевым путям), «всколыхнувшего» Европу в 1996—1997 гг. Первые публикации С.Прусинера на эту тему были сделаны в 1982 г.

Вспомним и наших соотечественников и современников, отдавших не одно десятилетие своей жизни иммунологии. Это Ф.Я.Чистович, Н.Ф.Гамалея, А.А.Богомолец, П.Ф.Здродовский, В.И.Иоффе, А.Д.Адо, А.А.Сморозинцев, Л.А.Зильбер, П.М.Косяков, М.М.Капичников, Р.В.Петров, Л.С.Сеславина, Г.И.Абелев, Б.Ф.Семенов, А.А.Воробьев, В.М.Мань-

ко, А.А.Михайлова, А.Н.Чередеев, В.А.Козлов, Б.Б.Мороз, Б.Б.Фукс, И.В.Константинова, А.А.Ярилин, Н.В.Медуницин, Л.П.Алексеев, И.С.Гущин, Б.В.Пинегин, Л.Н.Фонталин, Р.И.Атауллаханов, В.Г.Нестеренко, А.Я.Фриденштейн, Н.А.Краскина, А.Я.Кульберг, И.Л.Чертков, И.Н.Майский, Е.А.Зотиков, Д.Р.Каулен, В.И.Говалло, А.С.Шевелев, А.Г.Бабаева, Ю.М.Зарецкая и многие другие, а также их коллеги и ученики.

* * *

Особую благодарность авторы выражают коллективу первой в нашей стране кафедры иммунологии, основанной более 25 лет назад во 2-м Московском медицинском институте им. Н.И.Пирогова (ныне Российский Государственный медицинский университет) Р.В.Петровым. Одна из авторов, Г.А.Игнатьева, является выпускницей и сотрудником данной кафедры и знает, с каким энтузиазмом и вдохновением коллектив кафедры — заведующий, профессор Л.В.Ковальчук и сотрудники Е.В.Соколова, Л.В.Ганковская, А.С.Павлюк, М.В.Хорева, Э.И.Рубакова, а также молодые сотрудники кафедры преподают наш трудный предмет студентам всех факультетов РГМУ на самом современном мировом уровне.

Мы очень надеемся, что в отечественной медицине иммунология со временем будет занимать более достойное место, но, главное, будет способствовать более трезвому и жизнеспасающему прогрессу всей медицины нового тысячелетия, сохранению телесного и генетического здоровья, а значит, и здоровья в целом населения нашей страны и всего мира.

Глава 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО
ЯВЛЕНИЯ «ИММУНИТЕТ»

1.1. Введение в предмет

Иммунология — наука об иммунитете. В настоящее время есть официальная медицинская специальность «аллергология и иммунология». Тем не менее в иммунологии как науке и медицинской специальности до настоящего времени еще не устоялись до однозначно понимаемых основные понятия и термины, начиная с первого, называющего собственно предмет данной науки — «иммунитет». Причина этого в недостаточности наших знаний.

""Главные события иммунитета происходят на молекулярном и клеточном уровне, который начал становиться доступным исследованиям, удовлетворяющим современные запросы науки в последние 25—30 лет. Самые эффективные гносеологические методы — генетический нокаут (knock-out) и трансгенные модели на животных — в воспроизводимом и широко применяемом варианте стали применять в 90-х годах.

Иммунология — наука преимущественно экспериментальная, но на самые трудные для понимания вопросы пути к поиску ответов все больше помогает найти клиника. Как современная наука иммунология начала складываться в конце XIX — начале XX в. Она связана с именами (в примерном хронологическом порядке) Л.Пастера, Э.Беринга, И.И.Мечникова, П.Эрлиха, Ш.Рише, Ж.Борде, К.Ландштейнера, Ф.Бернета, П.Медавара, Д.Эдельмана, Б.Бенаццерафа, Д.Снелла, Н.Йерне, С.Тонегавы, П.Дохерти, Р.Цинкернэгеля и др. В соответствующих главах книги мы отметим конкретные открытия этих выдающихся ученых. За исключением Л.Пастера, названные имена — это имена лауреатов Нобелевской премии по физиологии и медицине. Мы не считаем, что не являются великими те работы, за которые не присуждают премий. Весьма вероятно, что как раз самые великие работы — среди неотмеченных премиями или даже среди незаме-

ченных. Но есть основания полагать, что некоторые премии, например Нобелевскую, все же не присуждают за малозначимые труды хотя бы потому, что между датой присуждения премии и временем первых публикаций в большинстве случаев проходит около 20 лет. За эти годы и сами авторы, и многие исследователи в мире экспериментально подтверждают воспроизводимость и достоверность наблюдаемых феноменов, легших в основу сделанного открытия или теоретического обобщения.

Каждому, кто сам работает в науке, известно, что в основе выводов и обобщений, которые составляют формулы открытий, удостоенных Нобелевских премий, лежат клинические наблюдения, трудоемкие экспериментальные работы и идеи гораздо большего числа исследователей и врачей (десятков, сотен или больше) с менее известными именами, а также, безусловно, работы древних ученых, которые нередко читают не до, а после современных наблюдений и находят там старинные подтверждения своим новым открытиям.

Несмотря на перечисленные выше достижения, общей теории иммунитета в настоящее время нет, и в данном предмете (в отличие от многих медицинских специальностей, например анатомии) мы пребываем в периоде интенсивного накопления новой информации. Тем не менее, медицинская практика нетерпелива и подчас смело вмешивается в организмы больных людей иммунокорригирующей терапией и здоровых людей вакцинацией, не дожидаясь появления общей теории иммунитета. Теории иммунитета такой, которая бы имела не предположительно-описательный характер (свойственный теориям иммунитета начала и середины века), а предсказательный, прогностический, в законченном виде нет, но мы уже очень близко подошли к ней. В наше время реальный спрос есть только на такую теорию, которая бы умела на основании знаний о предмете рассчитать последствия от иммуотропной терапии «на конце иглы», через сутки, месяцы, годы и пожизненно, причем не только для индивидуальной особи, но и для популяции или биологического вида в целом.

Есть и еще ряд конкретных, исторически обусловленных причин, которые побуждают нас постараться привлечь новое внимание к иммунологии. Эти причины по крайней мере следующие.

Первая. Особенностью времени, в которое мы живем, являются возникновение и эпидемическое распространение новых заразных болезней. Ретровирусные инфекции, к которым относятся ВИЧ и СПИД, а также прионные инфекции (к которым относится губчатый энцефалит) — примеры таких болезней.

В настоящее время их квалифицируют как неконтролируемые медициной (т.е. неизлечимые) и при этом дебилитирующие (прогредиентно ослабляющие жизнеспособность) и смертельные. Понимание механизмов патогенеза этих болезней, возможностей диагностики являются непосредственным предметом иммунологии.

Вторая. К концу XX в. отмечается заметное возрастание заболеваемости инфекционными болезнями, в том числе в развитых странах. В 1997 г. в мировом масштабе среди причин смертности от инфекций на первом месте был туберкулез, на втором — легочные инфекции, на третьем — СПИД (в некоторых регионах планеты СПИД уже на первом месте среди причин смертности людей в возрасте 20—45 лет), на четвертом — малярия и т.д. Естественно, возникает желание понять, почему это происходит, и соответственно причинам, что с этим делать? Не претендуя на исчерпывающий анализ (что и невозможно), выскажем лишь несколько положений. Не исключено, что массовое, почти тотальное, применение антибактериальных и иных противоиных лекарственных средств за 5 десятилетий способствовало «уходу» из-под давления отбора организмов с ослабленной иммунной системой и, следовательно, накоплению в популяции большей доли иммунодефицитных генотипов. В то же время микроорганизмы эволюционируют настолько быстрее, чем люди синтезируют противоиные препараты, что микробы в целом выигрывают это соревнование. Для распространения инфекционных болезней не могут не иметь значения и небывалая скученность населения в больших городах, связанные с этой проблемы санитарного состояния городских систем жизнеобеспечения, кроме того, конечно же, резко усилившиеся трансконтинентальные перемещения в связи с успехами транспортных технологий огромного числа людей, переносящих с собой и инфекции. Технологии массовой пищевой промышленности поставили почти всё население Земли в зависимость от качества продуктов, которые оказались в коммерческой упаковке, включая инфекционную угрозу (например, говядина, зараженная возбудителем губчатого энцефалита, или молочные продукты от тех же зараженных коров и т.д.), т.е. человек в настоящее время практически не имеет возможности сам отвечать за свою пищевую безопасность.

Третья причина, по которой к иммунологии стоит привлечь новое внимание, обусловлена весьма значительным числом больных аллергиями. Аллергология — не синоним иммунологии, но это «сестринская» специальность, и более того, понять аллергологию невозможно без опоры на знания, добытые фундаментальной иммунологией. В развитых странах, как и в больших городах России, до 20 % населения, а местами и больше, страдают от аллергий. Нетрудно привести

ряд аргументов, показывающих, что причины столь широкого распространения аллергий в значительной мере также антропогенны. Чтобы эти аргументы были понятны, мы приведем их в соответствующих специальных разделах учебника.

Четвертая причина необходимости внимательного отношения к иммунологии — упрощенное отношение к вакцинации, практически не изменившееся с XVII в., когда во всей Европе, включая Россию, начала распространяться практика инокуляции оспы против оспы. С тех пор принято думать, что от вакцинации одна только польза. Но это, к сожалению, не во всех случаях так, особенно в наше время, когда появились новые инфекции.

Пятая причина заключается в подчас неоправданно «легком» обращении с препаратами иммуностимулирующего или иммуномодулирующего действия. Современная иммунология не дает оснований думать, что «чем больше иммунитета, тем лучше». Иммуностимуляторы — не чистая вода.

Шестая причина привлечь внимание к иммунологии состоит в следующем. Несмотря на то что иммунология — наука суть экспериментальная, тем не менее мы не знаем ни одного примера любой из (вылоть до самых узких клинических) медицинских специальностей, в которых бы не нашлось места иммунологическим идеям в понимании патогенеза конкретных нозологии — иди/и хотя бы иммунологическим методам в диагностике. Такое положение вполне объяснимо природной сутью иммунитета и базисными функциями иммунной системы в организме: она одна из интегрирующих систем общеорганизменного назначения (наряду с нервной, кровеносной и эндокринной системами) со своими особыми физиологическими задачами и способами их решения.

Первый научный периодический журнал по иммунологии «*Journal of Immunology*» издается в США с 1914 г. и по сей день. В настоящее время в более чем 50 международных рецензируемых научных журналах печатают оригинальные работы по иммунологии — по несколько сот в месяц в мировом масштабе. Каждая из них сообщает какую-то новую фактическую информацию, т.е. по сравнению с другими медицинскими специальностями иммунология — быстроразвивающаяся дисциплина. Наша книга не ставит и не решает задачу как можно более широкого обзора самых современных данных по иммунологии. Это, как нам кажется, вовсе не книжная задача, а скорее задача компьютерных баз данных для тех, кого не устраивают библиотеки с научной периодикой. По нашему мнению, систематизация знаний, несмотря на их быстрое развитие, необходима хотя бы для того, чтобы оказать проясняющее и как следствие сдерживающее влияние в отношении энергичного и массового внедрения иммунотропных ме-

тодов лечения во имя соблюдения первого врачебного принципа «не навреди». Вот для того, чтобы «не навредить» или сделать как можно меньшим риск непредсказуемых вредных последствий, имеющихся знаний уже хватает. Довести их до будущих врачей в систематизированном и понятном виде — главная задача этого учебника. В какой-то небольшой мере эта книга, как мы думаем, — вклад в приближение к общей теории иммунитета.

1.2. Определение понятия «иммунитет»

Латинское слово *im-munis* в современном словаре имеет порядка 10 значений. В медицинском смысле этот термин употребляли еще до нашей эры в значениях: *неприкосновенный, чистый, незатронутый болезнью, невредимый, находящийся под хорошей защитой, устойчивый к заразной болезни*. Защита от инфекций — главное природное предназначение иммунитета и в нашем понимании. Но иммунитет не единственный биологический механизм защиты организма от инфекций. Есть и другие. Определить именно иммунитет, значит выделить его среди других защитных механизмов как особый, показать его строго уникальные признаки, найти и описать его место и взаимосвязи с другими защитными системами организма. Как термин *im-munis* употребляется в письменных работах врача из Афин V в. до н.э. *Thucydides* для характеристики людей, не болеющих чумой в очаге эпидемии. Человеческая практика иммунизации известна более 3000 лет. Относится она, правда, только к оспе. В столь давние времена такая врачебная практика была известна в Китае и называлась по-китайски «тшангу». Постепенно через Индию, Египет и Западную Азию к началу XVIII в. практика прививок оспы под названием инокуляции или вариоляции (от лат. *variola* — оспа) дошла до Европы. В Константинополе начали прививать оспу в 1701 г. В Лондоне в 1746 г. был открыт специальный госпиталь, в котором всем *желающим* жителям прививали оспу. Надо сказать, что эта практика отнюдь не была лишена и неблагоприятных последствий в ряде случаев уже тогда. С 1756 г. практика вариоляции имела место и в России.

Таким образом, иммунитет — некое *защитное* биологическое свойство живых многоклеточных организмов, предохраняющее эти организмы от инфекционных болезней (и не только от них).

Несмотря на то что как медицинский термин «*im-munis*» употребляли врачи до нашей эры, принципиально в том же смысле, что и сейчас, в современной иммунологии как науке и медицинской специальности отнюдь нет ясного и общепринятого понимания, что же такое именно иммунитет. Все ли защитное биологическое свойство — иммунитет?

Сразу скажем — нет. Какие еще есть защитные биологические свойства и чем иммунитет отличается от них и как с ними взаимосвязан? Нередко иммунитету приписывают то, что по сути иммунитетом не является, а относится к другим биологическим свойствам защитного назначения. Иммунитет, как мы сейчас покажем, особое свойство. Есть определенные признаки, по которым иммунитет можно отличить от других защитных свойств того же организма, сосуществующих с иммунитетом и находящихся с ним также в весьма определенных взаимоотношениях. От чего необходимо защищаться многоклеточному организму в целях сохранения своей жизни как целостности? Во-первых, от проникновения во внутреннюю среду травмирующих собственные клетки субстанций из внешней среды. Во-вторых, от внешних веществ, уже проникших во внутреннюю среду. В-третьих, от собственных поврежденных клеток или выполнивших свою биологическую программу клеток.

Существует несколько биологических механизмов защиты многоклеточных организмов от патогенов внешней среды. Из множества этих механизмов лишь один является *иммунитетом*. Поскольку организм — единое целое, разные защитные механизмы взаимосвязаны и дополняют друг друга, но это не значит, что они не отличимы один от другого. Мы неоднократно привлекаем внимание к четкому выделению понятий потому, что в подавляющем большинстве специальной литературы по иммунологии термин «иммунитет» применяют к разным, подчас любым проявлениям защиты организма от внешних патогенов. И тогда возникает простой вопрос «бактерицидное мыло или автоклав (также способы защиты организма от инфекций) — это тоже иммунитет?». Это побуждает упорядочить наши понятия и определить иммунитет так, чтобы его можно было отличить от любого другого защитного механизма (поведенческих реакций, покровных тканей, сосудистых реакций, ~~бактерицидных компонентов жидких секретов, белков острой фазы, фагоцитоза — все это существует и у организмов, у которых нет иммунной системы, следова-~~
МНОГО-клеточных появились особые клетки — лимфоциты, с ними и особый новый механизм защиты — иммунитет.

Собственно иммунитетом мы будем называть только и исключительно те защитные процессы, которые реализуются с участием лимфоцитов. Остальные защитные механизмы связаны и с иммунитетом, и между собой в едином организме, работают вместе. Но они различимы и каждый характеризуется особыми признаками, позволяющими отличать один от другого.

Иммунитет — эволюционно самое новое и самое тонконастраивающееся из подсознательных защитных свойств мно-

гоклеточных. Носителем нового свойства стали тоже новые, особые дифференцированные клетки — лимфоциты. Появившись последним, иммунитет опирается и вписывается, сопрягается со всеми остальными защитными системами многоклеточных, работает не отдельно от них, а исключительно вместе с ними.

Считается, что *лимфоцитарный иммунитет* появился, начиная с челюстных рыб. Таким образом, лимфоцитарный иммунитет существует всего у 1,4 % видов многоклеточных организмов, но именно у тех видов, особи которых оставляют относительно малое количество потомков и поэтому для сохранения вида существенны выживание и здоровье каждой особи.

Поскольку наш курс иммунологии целенаправлен на медицину, мы не будем отвлекаться на конкретные свойства иммунной системы у животных разных видов: все, о чем мы будем говорить, относится только к человеку и млекопитающим. Из млекопитающих исключительным «иммунологическим» видом являются мыши — непревзойденные и незаменимые экспериментальные животные в иммунологии. Удобство мышей как экспериментальных животных в иммунологии объясняется 3 главными причинами. Первая — высокая степень гомологии биологических свойств иммунной системы у человека и мыши. Вторая — короткий срок беременности у мышей (21 сут) по сравнению с периодом трудоспособности естествоиспытателя и число потомков у одной самки от 5 до 7 позволили вывести множество инбредных линий мышей с теми или иными заданными свойствами. Третья — малые размеры и неприхотливость в еде обуславливают относительно невысокую стоимость их содержания, т.е. экономическую рентабельность.

Итак, что же такое иммунитет как защитное свойство многоклеточных организмов? От чего защищает иммунитет многоклеточных? Что нового появилось у многоклеточных по сравнению с одноклеточными, от чего многоклеточных надо защищать в целях выживания и сохранения собственной целостности единого организма? Многоклеточный организм надо защищать (очищать) в первую очередь от агрессивных ин защитить от онтогенетически отживших и поврежденных, травмированных собственных клеток, от агрессивного проникновения во внутреннюю среду через барьерные ткани (желудочно-кишечный тракт, слизистые оболочки дыхательной и выделительной систем, кожу) пищевых веществ и ингаляционных и аппликаторных веществ из окружающей среды.
- *Распознавание* и элиминация из организма *собственных, но ненужных клеток* (в первую очередь поврежденных инфекцией, травмированных), т.е. *некое уникальное самораспознавание* и явилось тем новым эволюционным приобретением много-

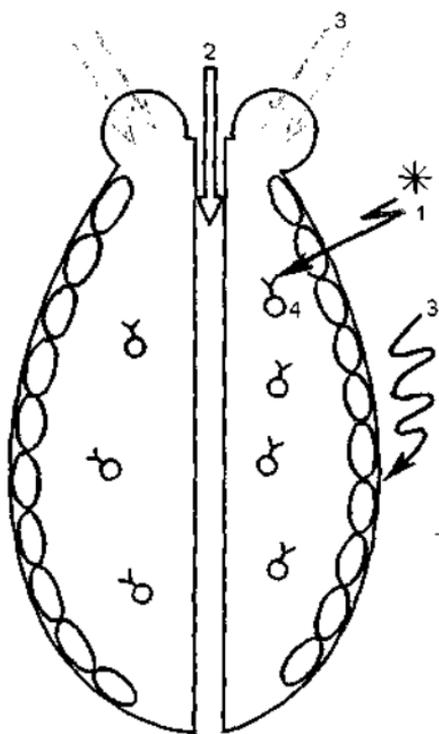


Рис. 1.1. Многоклеточный организм: защита внутренней среды от факторов внешней среды.

Многоклеточному организму необходимо защищать свою внутреннюю среду от деструктивного проникновения следующих веществ и объектов из внешней среды: 1 — инфекции; 2 — нерасщепленных пищевых веществ; 3 — ингаляторных и аппликаторных веществ; 4 — лимфоциты, специализированные клетки, «антимикробы» внутри организма с самым большим популяционным разнообразием поверхностных «распознающих» рецепторов.

~~клеточных, которое стало и~~
~~продолжает быть важной функ-~~
~~цией новой системы клеток~~
~~многоклеточных — иммунной~~
~~системы.~~ Возник и прочно за-
 репился в эволюции некий оп-
 ределенный механизм молеку-
 лярного распознавания. В осно-
 ве этого механизма — уни-

кально устроенные гены и синтезированные по их программе уникальные белки. Работают эти уникальные гены только и исключительно в единственном типе дифференцированных клеток многоклеточных — в лимфоцитах. Более того, поиск сходным образом устроенных и работающих генов (процесс соматической рекомбинации ДНК) в самых разных эукариотических клетках, начиная с грибов и простейших, пока не выявил ни одного аналога.

Таким образом, иммунитет защищает организм от 3 внешних типов объектов, так или иначе преодолевших барьерные ткани и внедрившихся на ту или иную глубину во внутреннюю среду и вступивших в прочные физико-химические связи с клетками и/или веществами межклеточного матрикса (рис. 1.1):

- ▲ от инфекций;
- ▲ от пищевых, ингаляционных и аппликаторных внешних веществ, проникающих во внутреннюю среду.

Третья функция иммунитета — реакция на трансплантат — в отличие от 2 первых неестественная, неприродная, но «предложенная» иммунной системе антропогенными действиями по трансплантациям, переливаниям крови и введениям кровепродуктов. В естественной природе нет процессов, при которых рожденные дефинитивные особи обмениваются меж-

ду собой органами, кровью (парентерально). Это существенно, а не просто констатация ситуации. Отсутствие природных процессов в эволюционном «анамнезе» обязывает иметь в виду, что в эволюции многоклеточных в их иммунной системе не мог идти отбор приспособительных защитных механизмов в отношении факторов, связанных с трансплантацией тканей других организмов во внутреннюю среду данной особи. Принципиальная неспособность иммунной системы млекопитающих контролировать ретровирусные инфекции (а это кровяные инфекции) связана, весьма вероятно, в значительной мере как раз с тем, что широкое распространение среди людей этих инфекций пошло неприродными путями, но ятрогенно и фармакогенно (с переливаниями крови и введением кровепрепаратов).

1.2.1. Резистентность к инфекциям и продуктам повреждения тканей. Физиологические защитные системы организма. Место иммунитета

Биологической основой освобождения многоклеточного организма от продуктов повреждения соотнесенных клеток и от инфекций стали биохимические механизмы пищеварительной функции одноклеточных, т.е. ферментативные системы расщепления (протеазы, гидролазы), перекисного окисления, нитрования природных макромолекул до низкомолекулярных продуктов распада, которые клетка способна выбросить через мембрану во внешнюю среду. У многоклеточных во внутренней среде появились специализированные для расщепительно-литических процессов клетки (в первую очередь фагоциты, затем и все остальные лейкоциты общевоспалительного назначения), а также особые гуморальные ферментативные системы литического назначения в сыворотке крови и тканевых жидкостях (комплемента, лизоцим и др.). Это доиммунные механизмы физиологической резистентности к инфекциям и продуктам повреждения собственных клеток. Литические биохимические механизмы агрессивны по сути. Поэтому в норме они не могут быть в постоянно активном состоянии или даже в близкой готовности к активизации, иначе будут лизировать «все подряд». Вот для того чтобы распознать, в каком месте в организме и в какой момент времени надо «включить» санирующие литические механизмы, природа и создала новые клетки — лимфоциты с новой функцией — молекулярного распознавания. С лимфоцитами появился новый механизм биологической защиты от поврежденных клеток и от инфекций — иммунитет.

Одна из причин, по которым в иммунологии как научной дисциплине распространены разное толкование терминов и не всегда точное их употребление даже специалистами, лингви-

стическая. Основной поток научной информации в этой области знаний в XX в. идет на английском языке, который по сравнению с латинским и русским языками меньше «заботится» о взаимно однозначном соответствии термина и явления природы или объекта. Поэтому то что привычно устраивает англоязычное мышление, не всегда удовлетворяет русскоязычной логике. Например, в английском языке используется термин «врожденный иммунитет» (innate or natural immunity). Под этим понимают то, что мы назвали доиммунными механизмами резистентности, а именно это вполне определенный перечень клеток, молекул и физиологических механизмов (бактерицидные ферменты биологических жидкостей, фагоцитоз, система комплемента и т.п.). Но не эта материя, однако, лежит в основе практики античных китайцев, греков, опоинокуюляторов, работ современных иммунологов. То, что лежит в основе практики античных китайцев и остальных перечисленных выше исследователей, в современном английском называют приобретенным иммунитетом (acquired immunity).

Для удовлетворения потребностей русскоязычной логики, а также следуя понятиям древних, мы предлагаем называть материя, которая в английском названа innate immunity, не иммунитетом, а резистентностью с указанием конкретного определения (прилагательного) — системы комплемента, лизоцима, фагоцитоза, эозинофильной цитотоксичности и т.д. А иммунитетом называть то биологическое свойство, которому соответствуют глагол — *иммунизировать*, существительное — *иммунизация*, прилагательное — *иммунный*. За этим свойством «стоит» особая система особых клеток, развившихся в эволюции позже тех клеток и их продуктов, которые обеспечивают врожденную резистентность (к инфекциям и инвазиям).

Эта система и есть иммунная система, Анатомический синоним иммунной системы — лимфоидная система. И эти особые, эволюционно новые клетки с новым уникальным свойством — молекулярного распознавания — лимфоциты и только они. Кстати, лимфоциты и их свойства также *врожденные*, т.е. генетически предопределенные. То, что попадание патогена в организм индуцирует размножение лимфоцитов и усиленный (вторичный) ответ при повторном попадании того же патогена, есть биологический механизм функционирования системы лимфоцитарного иммунитета, а не свойство генетической врожденности/приобретенности.

Лимфоциты взаимодействуют со всеми клетками системы крови, сосудов, по которым и через стенку которых лимфоциты попадают в ткани. Лимфоциты способны вступать в контакты со всеми клетками организма. Лимфоциты через специальные рецепторы воспринимают информацию от нервной

системы, эндокринной системы, об уровне глюкозы в крови и т.д.

Но это не значит, что иммунная (лимфоцитарная) система сливается до неразличимости со всем организмом в список иммуноцитов надо включать клетки эндотелия венул, фибробласты рыхлой соединительной ткани и т.д. У лимфоцитарного иммунитета есть вполне конкретные и ясные свойства, по которым он может быть идентифицирован как особое биологическое свойство многоклеточных организмов. Лимфоциты функционируют не сами по себе, где-то вне организма, следовательно, их взаимосвязи с другими клетками, тканями и органами в целостном организме — единственно возможная реальность. Более того, лимфоцит, специально дифференцированный для уникальной функции распознавания, все свои клеточные «силы» отдает именно этой функции, а доведение дела защиты организма от того, что распознал лимфоцит, он «передает» другим клеткам [за исключением только цитотоксических лимфоцитов — Т и NK (нормальных киллеров)].

Эти конкретные взаимосвязи мы проследим в той мере, в которой они известны в настоящее время.

Чтобы понять место иммунитета, еще раз вспомним и рассмотрим способы (механизмы, уровни) защиты от инфекций, имеющиеся у человека.

- Покровные ткани (кожа, слизистые оболочки).
- Микробицидные экзосекреты (соляная кислота желудка, бактерицидные компоненты слюны, литические пищеварительные ферменты кишечника и т.п.).
- Сосудистые реакции с целью не пропустить во внутреннюю среду внешние факторы (быстрый локальный отек в очаге повреждения).
- Доиммунный (или первичный) фагоцитоз микробных тел нейтрофилами и макрофагами. Этот способ клеточной защиты происходит от пищеварительной функции одноклеточных организмов. *Одна и та же* клетка — фагоцит будет пытаться поглотить с целью переваривания *разные* предложенные ей объекты.
- Белки острой фазы — С-реактивный протеин и маннансвязывающий лектин. Их синтезируют клетки печени (гепатоциты). Эти белки обладают способностью (и предназначены для этого) связывать широко распространенные бактерии и одноклеточные грибы, попавшие в кровь. На фагоцитах есть специальные рецепторы, связывающие комплексы микроорганизмов с белками острой фазы, т.е. белки острой фазы являются опсонинами.
- Лимфоцитарный иммунитет.

- Ментальная поведенческая защита (избегать контактов с зараженными, мыть руки, правильно стерилизовать медицинские инструменты, одеваться по погоде и т.п.).

Предметом иммунологии как отдельной науки являются не все перечисленные способы защиты организма от инфекций, а в первую очередь лимфоцитарный иммунитет и тесно связанные с ним филогенетически, онтогенетически и морфологически фагоцитоз, белки острой фазы и сосудистые реакции, которые совместно осуществляют такую объединенную защитную реакцию, которую называют воспалением. Каждый отдельный способ защиты от инфекций является предметом изучения других наук (психологии, психиатрии, социологии, педагогики, юриспруденции, дерматологии, гастроэнтерологии и т.д.). При этом, имея дело с конкретным пациентом, врачу следует твердо помнить, что организм един и поэтому в каких-то ситуациях полезен, необходим, а подчас и единственно возможен только системный анализ.

Чтобы понять, чем лимфоцитарный иммунитет отличается от других (доиммунных) биологических защитных механизмов, например от фагоцитоза (гидролитических ферментов, радикалов-окислителей и т.п.), необходимо понять, чем отличается *распознавание антигенов лимфоцитами* от распознавания объектов воздействия фагоцитами (ферментами, радикалами и т.п.). В подробностях это описано в главах 3—7 и др. Отличия лимфоцитов в их отношениях с антигенами от других клеток и молекул защитного назначения количественные и уже вследствие этого имеют особое качество. Любое биологическое распознавание — это *комплементарные взаимодействия* двух молекул. *Комплементарными* называют нековалентные взаимодействия молекул, в котором участвуют 4 типа известных химических связей — *ионные, водородные, ван-дер-ваальсовы и гидрофобные*. Сила связи молекул характеризуется константой диссоциации. *Сильные комплементарные взаимодействия называют специфичными, слабые — неспецифичными*.

— Все клетки многоклеточных организмов, кроме лимфоцитов, претерпевают в онтогенезе *консервативную* дифференцировку от клетки-предшественницы (зиготы или стволовых клеток регенерирующих тканей) до зрелой функционирующей специализированной клетки. При этом, например, разные макрофаги в одном организме отличаются друг от друга возрастом (стадией развития), степенью активации, макрофаги разной локализации имеют особенности тканевой морфологии. Но если учесть эти различия и «привести их к общему знаменателю», то все макрофаги потенциально способны *распознавать одно и то же*, так как на поверхности всех макрофагов потенциально экспрессируется *одно и то же множество рецепторов* (см. главу 3).

И только лимфоциты дифференцируются так, что на разных лимфоцитах (и их митотических потомках, совокупность которых называется клоном лимфоцитов) экспрессируются разные антигенраспознающие рецепторы. Общее число вариантов антигенраспознающих рецепторов лимфоцитов оценивают по-разному — от 10^{18} до 10^9 на организм млекопитающего, возможно меньше. Сколько разных антигенов потенциально может связать один вариант рецептора лимфоцита для антигена? Сколько вариантов рецепторов для антигена на одном лимфоците? В течение последних примерно 50 лет исходили из постулата, что для каждого варианта рецептора лимфоцита потенциально существует *один свой* антиген. Это соотношение идеализировали до «один к одному» с оговоркой о перекрестной реактивности, в основе которой предполагают гомологию структуры молекул разных антигенов. Полагали также, что на единичном лимфоците имеется единственный вариант рецептора для антигена. Именно этим объясняли суть иммунологической специфичности.

Явление иммунологической специфичности не «отменяют» и сейчас. Но в последние годы появились новые методы исследования вопроса о специфичности рецептора лимфоцита для антигена, и в работах 1996—1999 гг. нескольких солидных* научных коллективов (лауреата Нобелевской премии P.C.Doherty, а также G.Belz, K.J.Flynn, D.Mason, S.V.Kaveri и др.) было показано, что специфичность лимфоцита по АНТОГЕНУ «один к одному». Рецептор живой и гибкий и способен устанавливать комплементарные контакты ионными, водородными, ван-дер-ваальсовыми и гидрофобными связями со множеством антигенов. Подсчитать число конкретных антигенов, которые может связать конкретный рецептор, в *принципе невозможно*, как невозможно опытным путем перебрать все вещества на Земле и в Космосе. Поэтому оценки расчетные и колеблются от 10^3 до 10^7 разных антигенов на один вариант рецептора. Но в каждом конкретном случае исследователи и врачи имеют дело с конечным и небольшим числом различных веществ, по отношению к которым оценивают реактивность антигенраспознающих рецепторов лимфоцитов. Например, при получении моноклональных гибридомных антител исследуют их связывание, кроме целевого антигена, еще всего лишь с несколькими посторонними молекулами и отбирают только такие антитела, которые связывают заданный антиген и не связывают несколько других. Поэтому в «локальных» работах с конкретным материалом можно исходить из привычных представлений — «одному антигену одно антитело» (или Т-лимфоцит). Но при анализе более сложных систем адекватным является как раз современное представление о специфичности антигенраспознающих рецепторов лимфоцитов.

1.2.2. Антигены

Самое простое и по сути точное определение антигена — это определение его как некоего вещества, которое по своей химической природе способно связать какие-либо антигенраспознающие рецепторы лимфоцитов — Т или В. Тем не менее оно недостаточно удовлетворяет прикладным интересам биологов, иммунологов и врачей разных специальностей. Чтобы лимфоциты имели возможность что-либо распознавать во внутренней среде, человек сначала должен нечто *ввести* в организм или констатировать самопроизвольное попадание этого нечто в организм. Процедура введения антигена в организм называется иммунизацией. В патологическом аспекте аллергологи иммунизацию называют сенсibilизацией. Ту форму вещества, которую вводят в организм с целью индукции иммунного ответа, называют иммуногеном или, что бывает чаще, тоже антигеном. Таким образом, *в прикладном смысле антигенами называют вещества или те формы веществ, которые при введении во внутреннюю среду организма способны индуцировать ид. себя иммунный ответ в виде выработки специфических антител и/или иммунных Т-лимфоцитов*. Это не те же самые формы, которые способны связывать, например, рецепторы Т-лимфоцитов для антигена. Как мы узнаем из дальнейшего, другие клетки, антигенпредставляющие, предварительно перерабатывают внутри себя иммуноген, превращая его в «видимую» для Т-лимфоцита форму — комплекс пептида с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС — от англ. Major histocompatibility complex). Иммуноглобулины (антитела) же в отличие от Т-лимфоцитов способны распознавать, т.е. связывать, эпитопы на нативных, непеработанных молекулах веществ.

Какие же формы *внешних* веществ способны индуцировать иммунный ответ в организме млекопитающих, т.е. являются антигенами в прикладном смысле? Опыт показывает, что иммуногенны достаточно крупные молекулы с молекулярной массой в несколько десятков тысяч дальтон, но в конкретных случаях можно индуцировать иммунный ответ и на относительно небольшие молекулы с относительной молекулярной массой порядка сотен. По химической природе иммуногенны белки, полисахариды, фосфолипиды и их комбинации. Можно получить специфические антитела, связывающие малые молекулы, например ароматических веществ, но для этого перед введением в организм животного эти малые молекулы необходимо конъюгировать с какой-либо макромолекулой. Малую молекулу в данном случае называют (вслед за К.Ландштейнером) *гаптенем*, макромолекулу — *носителем*.

Главным свойством, определяющим, может или не может то или иное вещество быть антигеном для данного организ-

ма, является способность этого вещества прочно связываться с клетками или/и межклеточным матриксом (т.е. тканями) данного организма и при этом быть доступным для распознавания лимфоцитами.

В прикладных аспектах антигены (точнее, иммуногены) классифицируют в соответствии с теми свойствами, которые важны для конкретного прикладного аспекта. Например, аллергологи классифицируют антигены (аллергены) на пищевые, пыльцевые, эпидермальные, бытовые, инсектные и т.п., т.е. в соответствии с источником происхождения и путями попадания в организм человека. Врачи, занимающиеся профессиональными болезнями, выделяют иммуногенные вещества «на рабочем месте»: латекс, красители, ксенобиотики и т.д. Трансплантологи классифицируют тканевые антигены на алло-, ксено- или сингенные, ткане-, органоспецифичные. Микробиологи классифицируют антигены микроорганизмов в соответствии с таксономической классификацией последних на видо-, типоло-, субтипо- и группоспецифичные и т.д. Онкологи выделяют опухольспецифичные антигены, раково-эмбриональные антигены, маркерные антигены. Биологи, занимающиеся морфогенезом, выделяют стадиоспецифические тканевые антигены, эмбриоспецифические антигены. И так в любой частной специальности вещества, способные индуцировать иммунный ответ, классифицируют по признакам, имеющим наибольшее значение именно для данной специальности.

Индукция иммунного ответа — сложный физиологический процесс. На одну и ту же форму иммуногена в одном и том же организме можно индуцировать иммунный ответ разной интенсивности в зависимости от применения или неприменения неких сопутствующих воздействий. Речь идет об адьювантах — веществах, способных усиливать иммунный ответ на заданный иммуноген. Как правило, адьювантными свойствами обладают вещества, способные индуцировать доиммунное воспаление в тканях, а медиаторы доиммунного воспаления — цитокины макрофагов, фибробластов, кератиноцитов (TNF- α , IL-1, IL-12 и др.) способствуют развитию реакций лимфоцитарного иммунитета, т.е. собственно иммунного ответа. Классическими адьювантами являются адьювант Фрейнда (смесь вазелиновых масел с инактивированными микобактериями туберкулеза — это полный адьювант или без микобактерий — это неполный адьювант), гидроокись алюминия (алюминиевые квасцы), мурамил-ди- или трипептиды — синтетические аналоги компонентов бактериальных стенок. Широкое распространение в экспериментальной иммунологии имеют адьюванты ISCOM (immune stimulatory complexes). Большое количество работ выполнено отечественными исследователями в Институте иммунологии МЗ РФ по разработке новых полимерных синтетических адьювантов или носителей

на основе поливинилпиридинов, полиоксидония и других соединений полиэлектролитной/полиионной природы.

Как будет понятно из дальнейшего изложения (см. главы 4, 5, 13 и др.), антигены вовсе не только чужеродные, но в той же, если не в большей мере антигенами для распознающих лимфоцитов являются молекулы своего собственного организма. Антигенраспознающий рецептор лимфоцита формируется в процессе дифференцировки, которая называется *иммунопозом*. Иммунопоз большинства лимфоцитов происходит во внутренней среде организма, без доступа экзогенных субстанций, на территории лимфопоэтических органов (костного мозга, тимуса, барьерных слизистых оболочек). Таким образом, дифференцировка и отбор антигенраспознающих рецепторов, в том числе предназначенных для связывания потенциальных чужеродных антигенов, проходят при взаимодействиях исключительно со своими, эндогенными антигенами.

Конкретные исследования показывают, что по природе антигены, т.е. то, что распознает иммунная система, а именно антигенраспознающие рецепторы лимфоцитов — это молекулы наружных мембран клеток и клеточные продукты, секреты

По биохимической природе антигены относятся к белкам, производным — гликопротеинам, липопротеинам. Кроме того, антигенами бывают чистые углеводы, липополисахариды, фосфорилированные производные различных органических молекул.

В 30-е годы К.Ландштейнер сделал большое открытие: в экспериментах на животных он получал высокоспецифичные антитела к искусственно синтезированным, неприродным химическим соединениям, которые он называл гаптенами. Отсюда следуют два важных вывода. Первый: объекты, которые могут связать антигенраспознающие рецепторы лимфоцитов (суть антигены по определению), *не подвержены воздействию естественного эволюционного отбора*, но являются случайными. Второй вывод следует из первого: можно получать антитела теоретически к чему угодно и использовать их как специфические реагенты, способные связывать это «что угодно». Последнее широко и давно используют в практике иммуноанализов. Молекулярные механизмы формирования *случайности* антигенраспознающих свойств лимфоцитов мы разберем в разделах о дифференцировке В- и Т-лимфоцитов. Опишем также и *ограничения*, которые наложила природа на эти случайности в виде по крайней мере молекул главного комплекса гистосовместимости.

Иммунитет не контролирует собственно генетический гомеостаз организма. Геном как таковой — не объект действия для иммунитета. Иммунная система по своей природе распознает то, что в классической генетике называют *фенотипом*, т.е. молекулы поверхности клеток и межклеточного матрикса.

1.2.3. Определение иммунитета. «Формула» иммунного ответа

Иммунитет — особое биологическое свойство многоклеточных организмов, в норме предназначенное для защиты от инфекций и иных внешних патогенов, способных при попадании во внутреннюю среду вступать в прочные связи с клетками и/или межклеточным веществом. Носителями этого свойства служат специализированные клетки — лимфоциты. Уникальным и отличительным свойством лимфоцитов как множества клеток является способность распознавать большое множество ($\sim 10^{18}$) разнообразных и эволюционно незапланированных молекулярных объектов (антигенов). Распознавание есть физическое связывание. После распознавания лимфоцит инициирует и мобилизует как собственные, так и общевоспалительные механизмы деструкции поврежденных патогеном тканей, после чего наступает их ликвидация из организма. Таким образом, кратко: *Иммунитет = распознавание + деструкция поврежденных тканей*.

Иммунитет — по предназначению защитное свойство и по сути относительное (относительно факторов, от которых надо защищаться). Иммунитет как процесс и результат реализуется только *относительно* внутренних свойств организма и свойств антигена(ов), на которые реагирует иммунная система.

Ниже, подробно разбирая, что же представляет из себя поэтапно иммунный ответ, мы увидим, что до того, как будет возможно распознавание антигена лимфоцитом, происходят процессы, «подготавливающие» эту возможность лимфоцитарного распознавания. И эти процессы — *доиммунные воспалительные реакции в тканях, в первую очередь покровных, если внешний агент проникает в организм через покровные ткани*. Это сосудистые реакции, реакции клеток покровных тканей, реакции лейкоцитов крови общевоспалительного назначения — нейтрофилов, моноцитов, базофилов, тучных клеток, эозинофилов. Это естественно, ибо иммунная система входит в состав целостного организма, «вплетена» в него не как посторонняя и опирается в своем функционировании на другие системы клеток и тканей своего организма. Иммунный ответ как процесс можно определить и представить следующей лог.

Такое понимание иммунитета помогает ясно разобраться в связях иммунной системы с различными патологическими процессами в организме. В итоге любого правильного, *нормального*, иммунного ответа должна произойти деструкция, т.е. *альтерация* собственных клеток, поврежденных инфекцией, травмой или любыми другими факторами. Альтерация всегда

СХЕМА ИММУННОГО ОТВЕТА

Иммунный ответ = доиммунное воспаление + распознавание антигена лимфоцитом + деструкция антигена (иммунное воспаление) + выведение продуктов распада антигена

Иммунный ответ

=

доиммунное воспаление в покровных тканях (выделяются цитокины и хемокины, активирующие дендритные клетки и эндотелий сосудов)

+

распознавание антигена лимфоцитом в периферических лимфоидных органах (начало иммунного ответа — пролиферация лимфоцитов и дифференцировка эффекторных механизмов лимфоцитов)

+

деструкция антигена в тканях (иммунное воспаление, при котором лимфоциты «нанимают») для деструкции себя и/или лейкоциты общевоспалительного назначения — нейтрофилы, моноциты, базофилы, тучные клетки, эозинофилы или гуморальные литические системы типа комплемента)

+

выведение продуктов распада антигена общепериферическими системами выделения

сопровождается сосудистыми реакциями, рассчитанными на тампонаду или рассасывание очага, и активным действием клеточных и внеклеточных ферментативных расщепительных систем, что и называют термином «воспаление», т.е. иммунный ответ в норме обязательно и начинается и заканчивается воспалением. Доиммунное воспаление организуют эпителиальные и соединительнотканые клетки покровных тканей, а именно кератиноциты, фагоциты (нейтрофилы и макрофаги) и тучные клетки, активируемые, например, белками компонента (C5a), которые в свою очередь приобретают активное состояние от контакта с широко распространенными в земной биосфере микробными компонентами. Иммунное воспаление организуют лимфоциты, распознавшие свой антиген. На деструкцию лимфоциты «нанимают» лейкоциты — все существующие их разновидности. Разные типы лимфоцитов имеют в качестве партнеров разные типы лейкоцитов, что мы подробно разберем дальше.

Если количество антигена относительно невелико, то его
тот или поро
ности анализаторов центральной нервной системы и организм не чувствует боли, отека, потепления, покраснения и нарушения функции того или иного органа. Если же количество распознаваемого и удаляемого антигена относительно велико, то организм начинает чувствовать *rubor, tumor, color, dolor et functio laesa*. Так же «с болью» проходит иммунный ответ на любое количество антигена, но при нарушенных пропорциях или «неправильном» качестве компонентов иммунной системы. Так происходит при аллергических и истинных аутоиммунных заболеваниях. К патологии мы вернемся в соответствующей главе. Теперь же перейдем к морфологии и физиологии иммунной системы.

1.3. Исторические теории иммунитета

Наблюдения и эксперименты естествоиспытателей конца XIX — начала XX вв. показывали, что сыворотка крови от животного, переболевшего конкретной инфекцией и выздоровевшего, способна инактивировать инфекционность именно данного конкретного возбудителя, но не другого патогена. Отсюда следовало предположение, что в процессе борьбы организма с определенной инфекцией в крови *появляются* специфические защитные антитела, которых нет в крови животного, не болевшего данной инфекцией. Эти наблюдения и их толкование, а также опыты К.Ландштейнера по получению специфических антисывороток против искусственно синтезированных веществ явились предпосылкой для формулировки гипотетической *инструктивной теории иммунитета*, или теории прямой матрицы. Согласно этим представлениям, все имму-

ноглобулины в организме исходно одинаковы, но при контактах с разными антигенами приобретают различия во вторичной структуре — «приспосабливаются» по форме к молекуле антигена. Эти представления разделяли К.Ландштейнер, Л.Полинг, Ф.Гауровиц.

На основании того же фактического материала допускали иную гипотезу, предполагавшую, что в организме здорового животного содержатся некие элементы специфических защитных веществ в отношении разных инфекций, но в минимальных количествах. Когда реальный патоген проникает в организм, он стимулирует выработку защитных веществ в отношении себя уже в значимых количествах, которые могут быть зарегистрированы и в экспериментах. Такая гипотеза получила название селективной теории иммунитета. Вероятно, впервые она была сформулирована П.Эрлихом (P.Ehrlich) в 1898 г. под названием теории боковых цепей. Глубоко осмысленное представление о естественном отборе факторов иммунитета антигенами содержится в работах Н.Йерне (N.Jerne) 1953—1955 гг. В дальнейшем в развитие идей Н.Йерне Ф.М.Бернет (F.-M.Burnet) в 60-х годах сформулировал клонально-селекционную теорию иммунитета, что общепризнанно соответствует действительности и по сегодняшний день, и мы еще будем возвращаться к обсуждению соответствующего фактического материала.

Защитные противоиnфекционные свойства сыворотки крови от выздоровевших животных были настолько очевидны, что соответствующий фактический материал послужил основой для формулировки в конце XIX в. П.Эрлихом гуморальной теории иммунитета. В те же годы И.И.Мечников открыл защитную функцию фагоцитоза в «интересах» целостного организма и сформулировал клеточную теорию иммунитета. Как мы уже знаем, оба великих ученых получили в 1903 г. Нобелевскую премию за теории иммунитета.

В настоящее время термины «гуморальный» и «клеточный иммунитет» имеют уже иной по своей конкретности смысл, что мы будем разбирать в главах 7 и 8.

Глава 2. АНАТОМИЯ И ЦИТОЛОГИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

2.1. Органы, ткани и клетки иммунной системы

Анатомический синоним иммунной системы — лимфоидная система. Однако понять устройство и функционирование иммунной системы можно, только проследив конкретные взаимо-

связи лимфоидной системы с другими системами организма, но крайней мере с системой клеток крови и кровеносных сосудов, а также покровными тканями (слизистыми оболочками и кожей). Эти системы — ближайшие партнеры, на которые в своей работе опирается система лимфоцитарного иммунитета. Более того, гистогенетически собственно лимфоциты — компонент системы крови: лимфоциты происходят из общей для всех клеток крови стволовой кроветворной клетки. Как мы увидим дальше, нельзя избежать рассмотрения иммунных подсистем барьерных тканей — кожи и слизистых оболочек и даже печени, что и понятно, учитывая такие функции иммунитета, как защиту от инфекций и реакции на пищевые и ингаляционные внешние вещества.

В организме взрослого здорового человека содержится около 10^{13} лимфоцитов, т.е. примерно каждая 10-я клетка тела — лимфоцит. Как они расположены в организме? *Анатомо-физиологический принцип устройства иммунной системы — органно-циркуляторный.* Это значит, что есть ряд специализированных органов с организованной внутренней структурой. При этом лимфоциты не «сидят» в лимфоидных органах постоянно (в отличие от, например, гепатоцитов в печени), а интенсивно рециркулируют между лимфоидными органами и нелимфоидными тканями через лимфатические сосуды и кровь: через один лимфатический узел в 1 ч проходит $\sim 10^9$ лимфоцитов. Из общего количества лимфоцитов организма в каждый момент времени в крови находится только 0,2—2 %. Миграция лимфоцитов из крови в ткани и из тканей в кровь происходит сквозь стенку сосудов, и механизм этой миграции включает в себя специфические взаимодействия определенных молекул на мембране лимфоцита с определенными молекулами на мембране клеток эндотелия стенки сосудов (такие молекулы называют адгезинами, селектинами, интегринами, *homing-рецепторами* от англ. home — «дом» в смысле — место, предназначенное данному лимфоциту природой). Эти взаимодействия происходят не в каком-либо месте сосуда, а в определенных местах, например в лимфатических узлах — это эндотелий посткапиллярных венул. Процесс миграции лимфоцитов, конечно же, не носит характер случайного передвижения, а строго регулируется рядом факторов, зависящих от местных тканевых и системных физиологических «задач» организма (это мы разберем в разделе об иммунном ответе).

Выделяют следующие органы и ткани иммунной системы (рис. 2.1).

1. Кроветворный костный мозг — центральный орган всего кроветворения, место обитания пула стволовых кроветворных клеток.

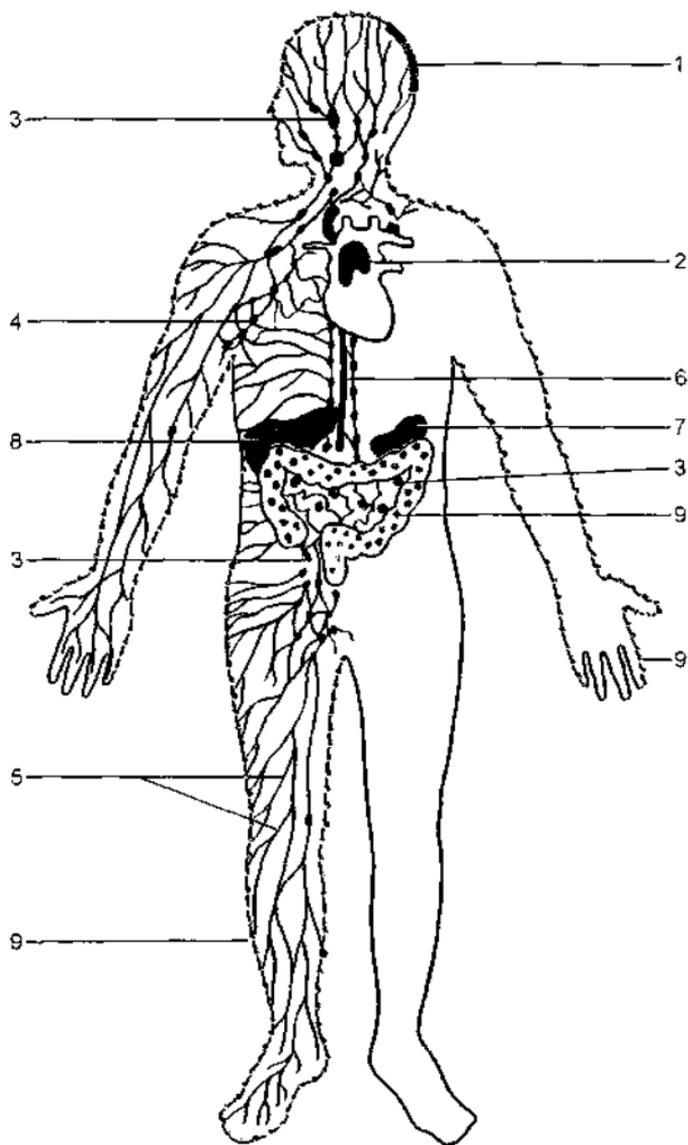


Рис. 2.1. Локализация иммунной (лимфоидной) системы в организме человека.

1 — кроветворный костный мозг; 2 — тимус; 3 — неинкапсулированная лимфоидная ткань слизистых оболочек; 4 — лимфатические узлы; 5 — сосуды лимфодренажа покровных тканей (афферентные лимфатические сосуды); 6 — грудной лимфатический проток [впадает в системную циркуляцию (кровь) через верхнюю полую вену]; 7 — селезенка; 8 — печень; 9 — внутри-эпителиальные лимфоциты.

Инкапсулированные органы.

2. Тимус.
3. Селезенка.
4. Лимфатические узлы.



Неинкапсулированная лимфоидная ткань слизистых оболочек.

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

Кроветворный костный мозг и тимус называют *центральными органами* иммунной системы потому, что на их территории происходит дифференцировка лимфоцитов из стволовой кроветворной клетки, так называемый *лимфопоэз*. *Лимфопоэз* — это дифференцировка лимфоцитов от стволовой кроветворной клетки до *зрелого неиммунного лимфоцита*. Зрелые неиммунные лимфоциты локализуются в *периферических лимфоидных органах* и циркулируют между ними через кровь. На территории периферических лимфоидных органов зрелые неиммунные лимфоциты вступают в контакты с антигенпредставляющими клетками. Если антигенраспознающий рецептор лимфоцита связывает комплементарный антиген на территории периферических лимфоидных органов, где в норме создаются все необходимые условия (корцепторные взаимодействия) для начала развития иммунного ответа, то лимфоцит вступает на путь додифференцировки в режиме иммунного ответа, т.е. начинает *пролиферировать* и *продуцировать эффекторные молекулы* (цитокины, перфорин, цитолизины, гранзимы и др. в зависимости от субпопуляции лимфоцита). Дифференцировку лимфоцитов на периферии после распознавания антигена называют *иммуногенезом*. Зрелые неиммунные лимфоциты по-английски называют naïve (*неопытный*) или virgine (*девственные*).

Обязательным процессом в начале иммуногенеза лимфоци-

тов в периферических лимфоидных органах является *пролиферация клонов* лимфоцитов, распознавших антиген. В результате иммуногенеза развиваются клоны иммунных или эффекторных лимфоцитов, которые в англоязычной литературе называют *armed (вооруженные)* или *effector (эффекторные)* лимфоциты. Иммунные лимфоциты распознают антиген и организуют деструкцию в различных периферических тканях организма, где этот антиген присутствует.

В костном мозге проходит дифференцировка всех лейкоцитов крови. По выходе из костного мозга в периферические ткани лейкоциты в норме уже никогда не будут пролиферировать (в отличие от лимфоцитов). В ответ на адекватные сигналы извне они лишь будут активированы к выполнению своих предназначенных в процессе дифференцировки функций.

Строма костного мозга поддерживает пролиферацию и ~~дифференцировку эритроидного (в итоге: эритроциты), миелоидного (лейкоциты) и мегакариоцитарного~~ ростков кроветворения. На территории костного мозга из стволовой кроветворной клетки образуется общая клетка — предшественник всех лимфоцитов, из которой также на территории костного мозга проходят по 3 из 4 ее потомков: В-2-лимфоциты, нормальные киллеры (NK) и дендритные клетки (DC). Четвертый потомок, коммитированный (запрограммированный) к дифференцировке в Т-лимфоциты, мигрирует для прохождения по 3 из 4 ее потомков: В-2-лимфоциты, нормальные киллеры (NK) и дендритные клетки (DC). Четвертый потомок, коммитированный (запрограммированный) к дифференцировке в Т-лимфоциты, мигрирует для прохождения по 3 из 4 ее потомков: В-2-лимфоциты, нормальные киллеры (NK) и дендритные клетки (DC). Четвертый потомок, коммитированный (запрограммированный) к дифференцировке в Т-лимфоциты, мигрирует для прохождения по 3 из 4 ее потомков: В-2-лимфоциты, нормальные киллеры (NK) и дендритные клетки (DC). Схема кроветворения и лимфопоэза представлена в табл. 2.1.

Из табл. 2.1 видно, какие клетки входят в состав иммунной системы. Истинные иммуноциты — это все варианты лимфоцитов — Т, В, NK и DC. Непосредственные клетки — сотрудники лимфоцитов — все варианты лейкоцитов — нейтрофилы, моноциты/макрофаги, эозинофилы, базофилы, тучные клетки. И даже эритроциты вносят свой вклад в деструктивное завершение иммунного ответа — транспортируют иммунные комплексы антигена с антителом и с комплементом (на эритроцитах есть рецепторы для комплемента) в печень и селезенку для фагоцитоза и разрушения.

Кроме названных клеток мезенхимального происхождения, в состав лимфоидных органов входят клетки стромы, это преимущественно эпителиальные клетки эктодермального и энтодермального происхождения, а также эндотелий сосудов, с которым взаимодействуют все клетки — участники иммунного ответа как целого и сквозь который происходит экстравазация лимфоцитов и лейкоцитов при их миграциях.

Помимо клеток, «иммунологическая материя» представлена растворимыми молекулами — *гуморальными факторами*. Это

Таблица 2.1. Схема кроветворения из стволовой кроветворной клет

Стволовая кроветворная кле

ростки

| | | | | | |
|----------------------------|---|--|--|-----------------------------|-----------------|
| Эритроид- ный | Миелоидный | | | Мегака- риоци- тарный | |
| | Общая клетка- предшественник фагоцитов-нейтро- филов и моноцитов | Общая клетка- предшест- венник эозинофи- лов и ба- зофилов | Клетка- предшест- венник тучных клеток | | |
| Зрелые клетки в перифериче | | | | | |
| Эритро- циты | Нейтро- филы | Моно- циты | Эозино- филы. Базофилы | ? | Тромбо- циты |
| Оседлые потомки в тканях | | | | | |
| | Нет | Макро- фаги | Нет | <u>Тучные клетки</u> | |

СХЕМА ЛИМФОПОЭЗА

Стволовая кроветворная клетка (костный мозг)



Коммитированная к лимфопоэзу клетка-предшественник
(общая для всех лимфоцитов)

| | | | | | |
|---|-----------------------------|-------------------|------|---|------------------------------|
| ← | | I | I | → | |
| 1 | 2 | 3 | | | 4 |
| DC крови, стромы тимуса, клетки Лан- герганса | B-2 | T-лим- фоциты | | | Нормаль- ные кил- леры |
| ← | | ← | | | → |
| Антиген- представля- ющие клетки | B-2 (в костном мозге) | Tαβ (в тимусе) | | Tγδ (в слизис- той ЖКТ преимуще- ственно) | |
| | | CD4+ | CD8+ | CD4- CD8- | ЦТЛ Th(?) |

Функционально зрелые субпопуляции иммунных лимфоцитов и DC

| | | | | | | |
|---|--|--|-----|--|--|--|
| Активирован- ные антиген- представля- ющие клетки | Продуценты IgM IgG IgA IgE | NK1.1 ⁺ Th0 Th1 Th2 (Th3) | ЦТЛ | Ран- ние про- ду- цен- ты IL-4 | ЦТЛ; [Th0, Th1, Th2, (Th3)] (?) | Клетки- эффе- кторы IgG-опос- редован- ной АЗКЦТ |
|---|--|--|-----|--|--|--|

продукты В-лимфоцитов — антитела (они же иммуноглобулины) и растворимые медиаторы межклеточных взаимодействий — цитокины. Цитокины — это та молекулярная «материя», посредством которой лимфоцитарный иммунитет «встроен», интегрирован в организм в целом. Цитокины вырождены относительно тканевой дифференцировки клеток-продуцентов, т.е. одни и те же гены цитокинов могут экспрессироваться в клетках разной дифференцировки. Цитокины (от греческих корней *cyto* — клетка, *kinos* — движение) — молекулы, секретируемые клетками во внеклеточную среду с целью воздействовать на другие клетки или на себя же, подать сигнал к запуску тех или иных процессов в клетках-мишенях. Цитокины — молекулярный «язык» межклеточного общения, для большинства цитокинов — локального, близкого действующего взаимодействия, еще один «язык» наряду с

нейромедиаторами и эндокринными гормонами (последние два — ~~дистантного действия~~).

Кроветворение — дифференцировка клеток крови, или гемопоэз, в раннем эмбриогенезе млекопитающих начинается в кровяных островках мезодермы, затем «перемещается» в печень, селезенку и костный мозг эмбриона. После рождения гемопоэз поддерживается в течение всей жизни в костном мозге плоских костей — грудине, ребрах, крыльях подвздошной кости, костях черепа и в позвонках. Все клетки крови происходят из общей клетки-предшественницы — *стволовой кроветворной клетки* (СКК). Относительно параметров состояния пула СКК есть две гипотезы. Строгие доказательства правильности какой-либо одной из них отсутствуют, и получить их, очевидно, не просто. Одна из гипотез подразумевает, что популяция стволовых клеток делится в течение всей жизни. Вторая гипотеза предполагает, что у взрослых организмов пул истинно стволовых клеток не пополняется за счет их пролиферации, а только расходуется в течение всей жизни на гемопоэз. Пролиферируют уже коммитированные потомки СКК на определенных этапах своей дифференцировки. Если принять вторую гипотезу, то можно сделать один рабочий вывод: следует быть осторожным с терапевтическими вмешательствами, способными несоборазмерно стимулировать гемопоэз или отдельные его ростки (они, кстати, регулируются независимо друг от друга, кроме точек ветвления на альтернативную дифференцировку, например, нейтрофилы и моноциты, эозинофилы и базофилы), чтобы не израсходовать досрочно «золотой запас» СКК.

На территории костного мозга проходит полный «курс» эритропоэза (заканчивается эритроцитами), миелопоэза (заканчивается нейтрофилами, моноцитами, эозинофилами, базофилами), мегакариопоэза (заканчивается тромбоцитами), дифференцировки дендритных клеток и, вероятно, НК, а также лимфопоэза В-2-лимфоцитов («классических», в смысле «давно известных»). Для дефинитивных потомков В-2-лимфоцитов — плазматических клеток костный мозг является и «периферическим» лимфоидным органом. Значительная часть В-2-лимфоцитов, пройдя «курс» иммуногенеза в периферических лимфоидных органах (лимфатических узлах, пейеровых бляшках, селезенке) и превратившись в плазмоциты, возвращается на территорию костного мозга и там плазмоцит вырабатывает свой ресурс по продукции больших количеств антител в течение периода от нескольких дней до месяца.

Клетки — предшественники второй субпопуляции В-лимфоцитов — В-1 еще в периоде эмбриогенеза отселяются из костного мозга в брюшную и плевральную полости и там поддерживают дифференцировку этих «полостных» В-1-лимфоцитов в течение всей жизни уже автономно от СКК костного

мозга. Если по какой-то причине предшественники В-1-лимфоцитов повреждаются, то регенерация популяции В-1-лимфоцитов не поддерживается за счет СКК костного мозга.

Другие ветви дифференцировки общей лимфоидной клетки — предшественницы, а именно предшественники Т-лимфоцитов, для прохождения своего лимфопоеза выселяются из костного мозга в другие органы и ткани (тимус и слизистую оболочку ЖКТ).

2.2. Тимус

Тимус (thymus) — специализированный лимфоидный орган, в котором проходит лимфопоез бóльшая часть Т-лимфоцитов организма (аббревиатура «Т» от слова «тимусзависимый»). Тимус расположен в переднем верхнем средостении, за грудиной, над сердцем. Тимус состоит из двух больших долей, которые фрагментированы на множество долек, разделенных фиброзными перегородками. Эти *дольки* и являются структурными единицами строения тимуса. В каждой дольке четко различимы две гистологические зоны: по периферии — корковая, в центре — медуллярная. Строма тимуса эпителиальная. Особенностью тимуса является то, что эпителий разных его зон происходит из различных зародышевых листков. Эпителий корковой зоны эктодермального происхождения, в эмбриогенезе закладывается из 3-го и 4-го бронхиальных выпячиваний эктодермы. Эпителий мозговой зоны энтодермального происхождения и закладывается из 3-го и 4-го глоточных карманов энтодермы. Есть в тимусе и такие необычные клетки, как *миоидные*. Они происходят, вероятно, из нейрального гребешка. В норме их немного. Эти клетки содержат белки, характерные для мышечных клеток (актин, миозин и др.). У мышцей морфогенез тимуса различимо проходит с 9-х по 11-е сутки эмбрионального развития.

Эпителиальные клетки тимуса имеют особую морфологию. Эпителиальные клетки коры своими отростками «обнимают и баюкают» лимфоциты тимуса (timoциты), поэтому они названы *nurse cells* (клетки-сиделки, медсестры, нянечки).

Эпителиальные клетки тимуса продуцируют цитокины IL-1, 3, 6, 7, LIF (leukocyte inhibitory factor), GM-CSF. На клетках эпителия тимуса экспрессированы такие молекулы адгезии, как LFA-3 и ICAM-1, которые комплементарны молекулам адгезии на тимоцитах — соответственно CD2 и LFA-1. Эти взаимодействия и удерживают развивающиеся тимоциты на территории тимуса на необходимое для дифференцировки время.

Клетки мезодермального или костномозгового происхождения в тимусе представлены тимоцитами (это лимфоциты тимуса), а также дендритными клетками (DC) тимуса и макрофагами.

ДС расположены преимущественно в зоне, переходной между корковой и медуллярной. Макрофаги присутствуют в корковой зоне, пограничной и медуллярной.

Тимоциты дифференцируются из общей стволовой кроветворной клетки. На клетках — предшественниках тимоцитов еще вне тимуса у человека экспрессированы известные молекулы клеточных мембран CD7, CD2, CD34 и цитоплазматическая форма CD3. У мыши на претимоцитах обнаружены маркеры Thy-1, HSA (heat-stable antigen), Pgp-1, H-2, Sca-1 (Ly-6 A/E), немного CD4. Клетки-предшественники приходят в тимус через стенку больших венул в кортико-медуллярной области и оттуда мигрируют в субкапсулярную зону.

У молодой мыши в возрасте 5—8 нед в тимусе содержится $\sim 2 \cdot 10^8$ тимоцитов. При этом ежедневно в результате митозов вновь образуется $5 \cdot 10^7$ тимоцитов. Но в периферические лимфоидные органы выходит около 10^6 зрелых неиммунных Т-лимфоцитов, т.е. меньше 1 % от общего числа тимоцитов. Остальные 99 % тимоцитов погибают в тимусе по механизму апоптоза и устраняются фагоцитозом макрофагами. Правда, гистологических признаков столь массивной гибели клеток именно на территории тимуса нет. Поэтому более вероятным представляется предположение, что запрограммированные на гибель тимоциты еще живыми уходят из тимуса и попадают напрямую в органы, специализированные на катаболизме и выведении из организма, — в печень, селезенку, кишечник. Там эти клетки и разрушаются. Таковы закономерности дифференцировки Т-лимфоцитов. (Подробно мы разберем ее в соответствующем разделе.)

В мозговой зоне долек имеются плотные образования из скрученных эпителиальных клеток — *тельца Гассала* (тельца вил очковой железы — по новой классификации). Вероятно, это места компактного скопления дегенерирующих клеток.

Тимус интенсивно васкуляризован. Стенки капилляров и венул — это гематотимический барьер на входе в тимус и, возможно, на выходе из него. Выход зрелых лимфоцитов из тимуса либо свободен (каждая долька имеет эфферентный лимфатический сосуд, выносящий лимфу в лимфатические узлы средостения, откуда в грудной лимфатический проток и через него в системную циркуляцию), либо происходит путем экстравазации через стенку посткапиллярных венул с высоким эндотелием в кортико-медуллярной области и/или через стенку капилляров в русле транкапсулярных артерий (рис. 2.2).

От других лимфоидных органов тимус отличает особая постнатальная динамика его морфогенеза в зависимости от возраста. К моменту рождения тимус полностью сформирован. Он густо заселен лимфоцитами (тимоцитами) в течение всего детства и до момента полового созревания. После пу-

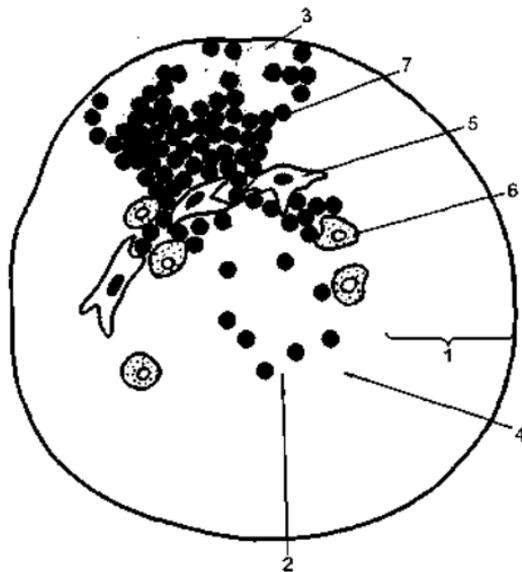


Рис. 2.2. Строение доли тимуса (схема).

1 — корковая зона; 2 — мозговое вещество; 3 — эпителиальные клетки коры (nurse cells) (эктодермального происхождения); 4 — эпителиальные клетки мозгового вещества (энтодермального происхождения); 5 — дендритные клетки (костномозгового происхождения); 6 — макрофаги (костномозгового происхождения); 7 — тимоциты — лимфоциты тимуса (костномозгового происхождения).

бертатного периода тимус начинает уменьшаться в размерах, сморщиваться. Удивительно, но тимэктомия у взрослых не приводит к серьезным дефектам в иммунитете, как если бы в детстве и подростковом возрасте был создан необходимый и достаточный пул Т-лимфоцитов на всю оставшуюся жизнь. Казалось бы, анатомия тимуса и его возрастная инволюция давно известны, но где хранится, как расходуется и как регенерирует множество Т-лимфоцитов на протяжении жизни человека — это некоторая загадка.

2.3. Лимфатические узлы

Лимфатические узлы — множественные, симметрично расположенные по телу, инкапсулированные периферические лимфоидные органы бобовидной формы, размером от 0,5 до 1,5 см в длину (вне воспаления). Лимфатические узлы через афферентные лимфатические сосуды (которых несколько на один узел) дренируют тканевую жидкость из всех барьерных тканей. Лимфатические узлы расположены регионарно и называются в соответствии с частью тела, которую они «обслуживают»: околоушные, заднешейные, подмышечные, подколennые, паховые, брыжеечные и т. д. Таким образом, лимфа-

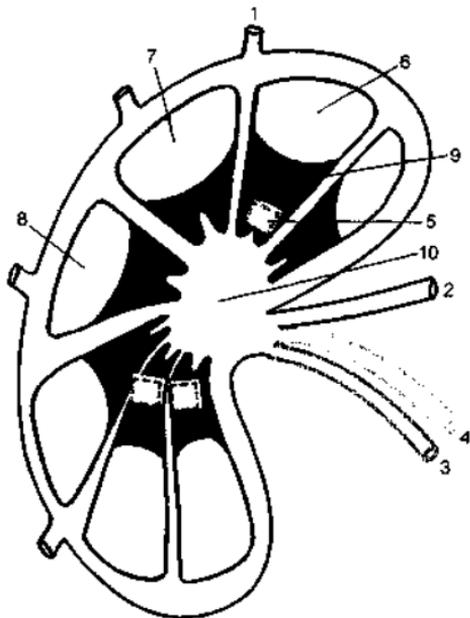


Рис. 2.3. Строение лимфатического узла (схема).

1 — афферентные лимфатические сосуды; 2 — эфферентный лимфатический сосуд; 3 — артерия; 4 — вена; 5 — посткапиллярная венула в паракортикальной зоне; 6 — первичный фолликул; 7 — герминативный центр; 8 — вторичный фолликул (фолликулы первичные, герминативные центры и вторичные — это В-клеточная зона); 9 — паракортикальная зона — Т-клеточная (здесь локализованы посткапиллярные венулы с высоким эндотелием); 10 — мозговое вещество.

Лимфатические узлы — это «таможня» для всех веществ (антигенов), попадающих во внутреннюю среду организма через покровные ткани.

Афферентные лимфатические сосуды впадают в субкапсулярный синус лимфатического узла. Из анатомических ворот узла параллельно с артерией и веной выходит единственный эфферентный сосуд, несущий лимфу в грудной лимфатический проток, который впадает в нижнюю полую вену и таким образом лимфа вливается в системный кровоток.

Внутреннее строение лимфатического узла показано на рис. 2.3.

Лимфатический узел имеет корковую и медуллярную зоны. Корковая зона разделена трабекулами на радиальные сектора. В этой зоне располагаются лимфоидные фолликулы — В-лимфоцитарная зона. Строма фолликулов содержит уникальные фолликулярные дендритные клетки (FDC), являющиеся тем особым микроокружением, на котором происходит уникальный для В-лимфоцитов процесс соматического гипермутагенеза вариабельных сегментов генов иммуноглобулинов и отбор наиболее аффинных вариантов антител («созревание аффинности антител»). Лимфоидные фолликулы проходят 3 стадий развития, которые называют по-разному. Первичный фолликул — мелкий фолликул, состоящий из неиммунных В-лимфоцитов. После того как В-лимфоцит распознает антиген, получит все необходимые костимулирующие сигналы, он вступит в иммуногенез, строго необходимым этапом которого является пролиферация клона В-лимфоцитов. Фолликул,

содержащий интенсивно пролиферирующие В-лимфоциты, называют *герминативным центром*. Первичный фолликул преобразуется в герминативный центр в течение примерно 1 нед после активной иммунизации.

После завершения процесса иммуногенеза фолликул существенно уменьшается в размере, в этот период его называют *вторичным фолликулом*.

В *паракортикальной* зоне лимфатического узла локализованы Т-лимфоциты и посткапиллярные венулы, через стенку которых происходит миграция лимфоцитов из крови в лимфатический узел. Это Т-зависимая зона. В активном состоянии посткапиллярные венулы имеют особый по морфологии эндотелий — высокий. Поэтому эти венулы называют термином — **HEV** — high endothelial venules.

В *Т-зависимой* зоне содержится много интердигитальных дендритных клеток. Это совсем другие дендритные клетки, чем фолликулярные дендритные клетки.

Интердигитальные дендритные клетки — это клетки костномозгового происхождения, мигрировавшие в узел с тканевой жидкостью по афферентным лимфатическим сосудам из покровных тканей (в коже эти клетки называют клетками Лангерганса, белыми отростчатыми эпидермоцитами — по новой классификации), они являются антигенпредставляющими для Т-лимфоцитов.

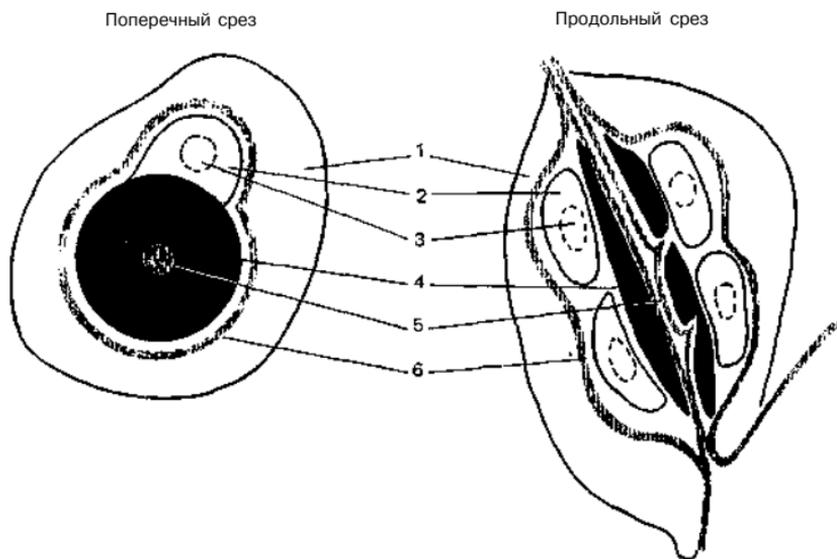


Рис. 2.4. Строение периаартериолярной лимфоидной муфты в селезенке (схема).

1 — маргинальная зона белой пульпы; 2 — В-клеточная «корона» в маргинальной зоне; 3 — фолликул; 4 — Т-клеточная «муфта»; 5 — артериола; 6 — маргинальный синус.

Под паракортикальной зоной расположены *медуллярные тяжи*, в которых много макрофагов, и если узел находится в состоянии активного иммунного ответа, в медуллярных тяжах можно видеть плазматические клетки. Медуллярные тяжи впадают в медуллярный синус, из которого выходит эфферентный лимфатический сосуд.

2.4. Селезенка

Селезенка — относительно большой непарный орган, с массой в среднем 150 г у взрослого человека. Лимфоидную ткань селезенки называют *белой пульпой*. Селезенка — лимфоцитарная «таможня» для антигенов, попавших в системную циркуляцию в кровь. Лимфоциты селезенки локализованы вокруг артериол в виде так называемых *периартериолярных муфт*. Поперечный и продольный срезы периартериолярной муфты показаны на рис. 2.4.

T-зависимая зона муфты непосредственно окружает артериолу. В-клеточные фолликулы расположены ближе к краю муфты. Артериолы селезенки впадают в синусоиды (это уже красная пульпа). Синусоиды заканчиваются венулами, которые собираются в селезеночную вену, несущую кровь в *v. portae* (портальную вену печени).

2.5. Печень

Печень имеет свои особые функции в иммунитете. Именно в печени, в синусоидах у человека локализована большая часть особых лимфоидных клеток — нормальных киллеров (NK). Кроме того, в печени есть особые субпопуляции T-лимфоцитов, о которых мы скажем подробнее в соответствующих разделах. Есть обоснованное предположение, что лимфоциты печени обеспечивают постоянное поддержание иммунологической толерантности к пищевым веществам и иммунная система, таким образом, не тратит себя на ежедневные иммунные ответы на «котлеты из кенгуру». Хотя, конечно, в какой-то мере иммунные ответы на пероральные вещества есть, но они более выражены при патологии в ЖКТ или/и аллергической патологий, но не в норме. И, наконец, в печени находится едва ли не половина массы всех тканевых макрофагов организма.

В синусоидах печени, так же как и в синусоидах селезенки, макрофаги фагоцитируют и расщепляют иммунные комплексы (комплексы антигенов с антителами и белками комплемента), которые приносят сюда на себе стареющие эритроциты (см. главу 8).

2.6. Неинкапсулированная лимфоидная ткань слизистых оболочек. Иммунные подсистемы слизистых оболочек, кожи и других тканей

Неинкапсулированная лимфоидная ткань слизистых оболочек — это глоточное лимфоидное кольцо Пирогова, пейеровы бляшки тонкой кишки, лимфоидные фолликулы аппендикса, лимфоидная ткань слизистых оболочек бронхов и бронхиол, слизистых оболочек мочеполовой системы и всех остальных слизистых оболочек.

Для примера рассмотрим строение *пейеровой бляшки* (рис. 2.5).

Пейеровы бляшки (по новой номенклатуре — групповые лимфатические фолликулы) располагаются в lamina propria тонкой кишки. Каждая бляшка примыкает к эпителию кишки под так называемыми М-клетками («М» от membranous, эти клетки в отличие от ~~энтероцитов~~ не имеют ворсинок), являющимися «входными воротами» в пейерову бляшку. Основная масса лимфоцитов бляшки — это В-клеточный фолликул с зародышевым центром посередине. Т-клеточные зоны окружают фолликул ближе к слою энтероцитов. В-лимфоциты составляют 50—70 %, Т-лимфоциты — 10—30 % всех клеток пейеровой бляшки. Основная функциональная нагрузка пейеровых бляшек — поддержание иммуногенеза В-лимфоцитов и их дифференцировка в плазмоциты, продуцирующие антитела — иммуноглобулины секреторных классов А и Е. Продукция IgA в слизистой оболочке кишки составляет более 70 % общей ежедневной продукции иммуноглобулинов в

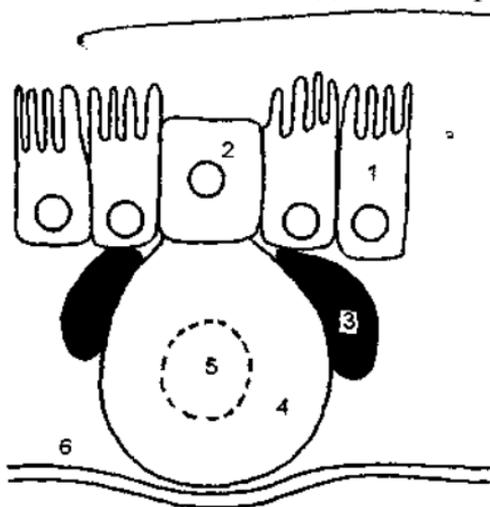


Рис. 2.5. Строение пейеровой бляшки в стенке кишки (схема).

1 — энтероциты (эпителий кишки); 2 — М-клетки; 3 — Т-клеточная зона; 4 — В-клеточная зона; 5 — фолликул; 6 — серозная оболочка кишки.

организме: у взрослого человека около 3 г IgA каждый день. Более 90 % всего синтезируемого организмом IgE, оказывается, тоже экскретируется через слизистую оболочку кишки.

Организованная лимфоидная ткань слизистых оболочек, пусть даже и без капсул, это не единственное место пребывания лимфоцитов в слизистых оболочках. Есть еще (и немало) лимфоциты, диссеминированные по одному среди эпителиальных клеток. Их назвали внутриэпителиальными лимфоцитами — IEL (intra-epithelial lymphocytes). Это Т-лимфоциты. На

их поверхности экспрессирована особая молекула, обеспечивающая адгезию этих лимфоцитов к энтероцитам — HML-1 (human mucosal lymphocyte antigen-1). У мышей большинство, а у человека не менее 10—50 % IEL составляют $T\gamma\delta/CD8\alpha\alpha^+$ (см. ниже).

~~В lamina propria присутствует много диссеминированных активированных (иммунных) $CD4^+$ -Т-лимфоцитов, мигрировавших сюда из мезентериальных лимфатических узлов для осуществления эффекторных реакций. Здесь много и иммунных В-лимфоцитов, и плазматических клеток, иммигрировавших сюда из пейеровых бляшек и мезентериальных лимфатических узлов для осуществления массовой продукции секреторных ИММ ГЛОБУЛИНОВ.~~

— Таким образом, вполне оправдано понятие *тканевой, местной иммунной подсистемы слизистых оболочек*, так же как и печени, и кожи, и лимфатического узла. В каждой ткани популяции лимфоцитов имеют свои особенности. Более того, чтобы лимфоциту мигрировать в определенную ткань, ему необходимо экспрессировать на мембране определенный так называемый *homing-рецептор* (home — дом, место «прописки» лимфоцита). Для IEL лимфоцитов слизистой оболочки кишки это HML-1, для IEL лимфоцитов кожи это CLA-1 (cutaneous lymphocyte antigen-1 — антиген-1 лимфоцитов кожи). Чтобы зрелому неиммунному Т-лимфоциту, вышедшему из тимуса, попасть на территорию Т-зависимой зоны лимфатического узла, ему необходимо экспрессировать на своей поверхности особую молекулу — L-селектин. Это важно понимать и в теоретическом аспекте, и в прикладном. В рутинных клинико-иммунологических анализах в качестве биологического материала используют периферическую кровь из вены. Так вот, если патологический процесс затронул *тканевые* лимфоциты и их клетки-партнеры (эндотелий, макрофаги, другие лейкоциты), то лимфоциты, циркулирующие в крови, лишь в минимальной мере могут нести на себе ~~(или не нести совсем)~~ признаки *тканевой патологии*, и неадекватность такого анализа на практике часто дискредитирует в целом то, что называют анализом иммунного статуса.

Миграция лимфоцитов между лимфоидными органами и нелимфоидными тканями, несмотря на свою высокую интенсивность, ни в коем случае не напоминает «броуновское движение» — она строго и тонко регулируется экспрессией определенных молекул адгезии и их лигандов. В результате в каждой ткани, в каждом органе имеется свой особый субпопуляционный состав лимфоцитов и их клеток — партнеров по иммунному ответу.

Глава 3. ДОИММУННЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ИНФЕКЦИЯМ. СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА. БЕЛКИ ОСТРОЙ ФАЗЫ. ФАГОЦИТОЗ

Любой живой организм превращает компоненты внешней среды в «себя», в «свою индивидуальную материю» путем биохимического «пищеварения». Своими литическими ферментами (протеазами, гидролазами), а также биохимическими окислителями (перекисными и оксидазотными радикалами) особь расщепляет *чужое*, органическое вещество до мелких метаболитов и использует их в реакциях синтеза *своего* органического вещества, а лишнее выводит назад во внешнюю среду. Так же протеазы, гидролазы и окислительные радикалы расщепляют и проникающие в организм инфекционные микроорганизмы. Только для трофических функций существует система пищеварения, а для расщепления и окисления инфекционных микроорганизмов у многоклеточных предназначены особые дифференцированные клетки — это фагоциты и определенные растворимые белки сыворотки крови: система комплемента, С-реактивный протеин (СРП), маннансвязывающий лектин (МСЛ). СРП и МСЛ благодаря своим биохимическим свойствам способны связывать некоторые бактерии и «отправлять» их на «съедение» фагоцитам. Такое явление, когда связывание микроорганизма обеспечивает в комплексе с неким растворимым белком возможность поглощения этого микроорганизма клеткой-фагоцитом, называют *опсонизацией* (от лат. *opsonin* — усиливающий). Растворимые белки, способные одной своей областью связать микроб, а второй областью — специальный рецептор (к себе) на клетке-фагоците, называют *опсонинами*.

У млекопитающих в сыворотке крови известно несколько различных по биохимической природе опсонинов: это СРП, МСЛ, компонент комплемента С3 и самые многочисленные в отношении разнообразия связываемых микроорганизмов — иммуноглобулины — антитела — продукты биосинтеза В-лимфоцитов.

СРП и МСЛ синтезируются клетками печени, вероятно, гепатоцитами. Ниже мы опишем их подробнее. Белки комплемента синтезируются также гепатоцитами и часть — макрофагами.

3.1. Система комплемента

Комплемент был открыт в начале века Charles Bordet вскоре после открытия антител как феномен, т.е. «что-то», что присутствует в нормальной сыворотке крови, может быть инактивировано прогреванием сыворотки при 56 °С, обладает свойствами опсонизировать бактерии для фагоцитоза и содействовать лизису бактерий в присутствии антибактериальных антител, т.е. это «что-то» дополняет антитела в процессах лизиса и фагоцитоза бактерий (to complement — дополнить).

В дальнейшем выяснили, что комплемент — это целая система сывороточных белков и нескольких белков клеточных мембран. Определение состава и свойств белков комплемента является примером блестящих разработок классической биохимии середины XX в.

Девять первых открытых белков системы комплемента обозначают буквой «С» (по первой букве слова «complement») с цифрой: С1, С2, С3, С4, С5, С6, С7, С8, С9. В процессе реализации своей биологической активности первые пять белков комплемента расщепляются в определенной последовательности на активные действующие продукты «запланированного» расщепления. Эти продукты обозначают «С» с номером и малой латинской буквой, например С1_q, С5_a, С2_b. Букву «b» присваивают большему по размеру фрагменту, букву «a» — малому фрагменту. Часть из них является ферментами протеазами, часть выполняет другие функции: связывание с микроорганизмами и мембранами клеток, связывание с комплексами антитело — антиген, активация тучных клеток и, следовательно, сосудистых реакций воспаления, перфорация мембран бактериальных клеток. Остальные компоненты обозначают каждый своей аббревиатурой (табл. 3.1).

Всего вместе с ингибиторами и регуляторами в табл. 3.1 перечислено 30 компонентов системы комплемента.

Таблица 3.1. Компоненты комплемента, их функции и обозначения

| Функции | Обозначения |
|---|--|
| Связывание с комплексом антиген — антитело | С1 _q |
| Связывание с мембраной бактерий и опсонизация к фагоцитозу | С4 _b С3 _b |
| Протеазы, активирующие другие компоненты системы путем расщепления | С1 _r С1 _s С2 _b B _b D |
| Медиаторы воспаления (дегрануляция тучных клеток, сосудистые реакции) | С5 _a С3 _a С4 _a |

| Функции | Обозначения |
|---|-------------|
| Комплекс протеинов атаки на мембрану (перфорация мембраны клеток-мишеней) | C5b |
| | C6 |
| | C7 |
| | C8 |
| | C9 |
| Рецепторы для белков комплемента на клетках организма | CR1 |
| | CR2 |
| | CR3 |
| | CR4 |
| | ClqR |
| | Clinh |
| | C4bp |
| Комплементрегулирующие белки (ингибиторы активации, блокаторы активности) | CR1 |
| | MCP |
| | DAF |
| | H |
| | I |
| | P |
| | CD59 |

- В и D — белки системы комплемента, обнаруженные позже компонентов под аббревиатурой «С», и получившие «имя» по соседним с «С» буквам латинского алфавита. Номера при букве «С» присваивали по мере обнаружения конкретных белков, и их порядок (1, 2, 3 и т.д.) не соответствует физиологической очередности вступления в действие в процессе активации всей системы.
- CR — complement receptor — это названия рецепторов (которых как минимум 5), связывающих определенные белки комплемента на мембране собственных клеток организма (фагоцитов, В-лимфоцитов, небольшой части Т-лимфоцитов и в меньшей степени других клеток).
- Clinh — C1-inhibitor — ингибитор компонента C1.
- MCP — мембранный белок, связывающий C3b, что делает C3b доступным для деградации протеазой — фактором I.
- DAF — decay accelerating factor — белок мембраны клеток млекопитающих, ускоряющий деградацию (инактивацию) компонента C2b.
- H — фактор H — сывороточная протеаза, деградирующая C3b.
- I — фактор I — протеаза, деградирующая компоненты C3b и C4b.
- P — фактор P (или пропердин) — стабилизатор активного комплекса C3b/Bb.
- CD59 — белок мембраны клеток млекопитающих, препятствующий вызванному комплементом лизису собственных клеток.

Подробная характеристика белков комплемента приведена в табл. 3.2.

В норме, когда внутренняя среда организма «стерильна» и нет патологического распада собственных тканей, система комплемента находится в «спящем состоянии», т.е. уровень спонтанной активности без «спроса» на нее невысок. «Спрос» на работу системы комплемента возникает при появлении во внутренней среде определенных раздражителей, а именно микробных продуктов. Известно 3 пути активации системы комплемента, называемых классическим, альтернативным и лектиновым.

Альтернативный путь активации инициируется непосредственно клетками микроорганизмов.

Компоненты комплемента, которые, будучи в активной форме, являются протеазами и работают как с субстратами с

Таблица 3.2. Система комплемента

| Компонент | Мол. масса, ×1000 | Концентрация в сыворотке крови, мкг/мл | Число полипептидных цепей до активации | Ферментативная активность после активации (субстрат) | Локализация гена в хромосоме |
|-----------|-------------------|--|--|--|------------------------------|
|-----------|-------------------|--|--|--|------------------------------|

Компоненты классического пути

| | | | | | |
|-----|-----|--------|----------------------------|-----------|-----------|
| C1q | 460 | 80 | 18(6A+6B+6C) | — | 1p34-1p36 |
| C1r | 166 | 50 | 2(гомодимер) | +(C1s) | 12p13 |
| C1s | 166 | 50 | 2(гомодимер) | +(C4, C2) | 12p13 |
| C4 | 200 | 600 | 3($\alpha+\beta+\gamma$) | — | 6p21.3 |
| C2 | 102 | 20 | 1 | +(C3) | 6p21.3 |
| C3 | 185 | 13 001 | 2($\alpha+\beta$) | — | 19 |

Компоненты альтернативного пути

| | | | | | |
|----------|----|-----|---|-------|------------|
| Factor D | 24 | 1 | 1 | +(FB) | Неизвестно |
| Factor B | 92 | 210 | 1 | +(C3) | 6p21.3 |

Терминальные компоненты комплекса атаки на мембрану

| | | | | | |
|----|-----|-----|---------------------------|-----|--|
| C5 | 191 | 70 | 2($\alpha+\beta$) | Нет | 9q32-9q34 |
| C6 | 120 | 60 | 1 | Нет | 5h |
| C7 | 110 | 50 | 1 | Нет | 5h |
| C8 | 151 | 553 | ($\alpha+\beta+\gamma$) | Нет | 1p34 (α и β), 9q(y) |
| C9 | 71 | 60 | 1 | Нет | 5p13 |

Растворимые факторы контроля комплемента в плазме

| | | | | | |
|--------------|-----|-----|---|-----|-------------|
| C1-ингибитор | 110 | 200 | 1 | Нет | 11p11-11q13 |
|--------------|-----|-----|---|-----|-------------|

| Компонент | Мол. масса, ×1000 | Концентрация в сыворотке крови, мкг/мл | Число полипептидных цепей до активации | Ферментативная активность после активации (субстрат) | Локализация гена в хромосоме |
|-----------------------------|-------------------|--|--|--|------------------------------|
| С4-СВЯЗЫВАЮЩИЙ протеин | 557 | 250 | $8(7\alpha+1\beta)$ | Нет | 1q |
| Фактор Н | 150 | 480 | 1 | Нет | 1q |
| Фактор I | 88 | 352 | $(\alpha+\beta)$ | +(C4b, C3b) | 4q24—26 |
| Инактиватор анафилатоксинов | 310 | 35 | $6(2\alpha+2\beta+2\gamma)$ | +(C3a, C4a, C5a) | Неизвестно |
| Пропердин | 106—112 | 20 | 2; 3 или 4 (одинаковых) | Нет | Xp11.23 |
| S-протеин SP-40 | 83 80 | 500 — | 1 1 | Нет Нет | 17q11 8p21 |

другими компонентами комплемента, называют конвертазами с обозначением объекта конверсии (т.е. превращения). Например, С3-конвертазы — это протеазы, способные расщеплять белок С3 на функционально активные компоненты С3b и С3а.

Опишем альтернативный путь активации комплемента микробными клетками.

В сыворотке крови всегда имеется небольшой, но значимый уровень спонтанного расщепления С3 белка с образованием С3b и С3а. Из всех белков системы комплемента в сыворотке крови больше всего именно С3: его концентрация в норме составляет 1,2 мг/мл. Компонент С3b способен **ковалентно** связываться с поверхностными молекулами не всех, но некоторых микроорганизмов. Для С3b есть **рецепторы на фагоцитах, и С3b, таким образом, является самым «энергичным» опсонин**ом в системе комплемента.

~~Кроме того, связанный с поверхностью~~ микробных клеток С3b активирует другие компоненты системы следующим образом. С3b связывает фактор В (который, кстати, структурно

и функционально гомологичен белку С2). Будучи связанным, фактор В становится субстратом для сывороточной сериновой протеазы — фактора D. Она расщепляет белок В на фрагменты Ва и Вb. Вb является активной протеазой. Он остается связанным с С3b на поверхности микроба, образуя активный комплекс С3b/Вb, который по функциональной активности есть С3-конвертаза — самая значимая при альтернативном пути активации системы комплемента. Комплекс С3b/Вb является структурным и функциональным гомологом главной С3-конвертазы классического пути — С4b/С2b. Гены гомологичных белков С2 и фактора В локализованы рядом в области МНС-Ш. В сыворотке крови млекопитающих есть белок, стабилизирующий комплекс С3b/Вb — это пропердин, или фактор Р.

В результате нарабатывается много С3b: одна единица С3-конвертазы «высаживает» на поверхность микробной клетки около 1000 молекул С3b, который выполняет противомикробную работу. Кроме названной выше опсонизации для фагоцитоза, комплекс С3b₂/Вb является активной С5-конвертазой, т.е. расщепляет С5 до фрагментов С5a и С5b. Малые фрагменты С5a₁ (самый сильный) и С5a₂ служат медиаторами воспалительной реакции, т.е. создают условия для экстравазации из сосудов в очаг жидкости и клеток крови. Эти компоненты называют анафилатоксинами комплемента. Для них существуют специальные рецепторы, по крайней мере на тучных клетках (выбрасывающих в качестве реакции содержимое своих гранул) и на гладких мышцах (реагирующих сокращением). С5a действует также прямо на нейтрофилы и моноциты (т.е. фагоциты), повышая их адгезию к стенке кровеносного сосуда, их экстравазацию и фагоцитарную активность. Кроме того, С5a вызывает повышение экспрессии на фагоцитах рецепторов CR1 и CR3.

С С5b начинается реакция белков комплемента С6, С7, С8 и С9, завершающаяся формированием неспадающихся пор в мембране микробных клеток (перфорацией мембраны) и как следствие лизисом микробных клеток. Результат этих реакций на молекулярном уровне называют комплексом атаки на мембрану — MAC (membrane-attack complex). Одна молекула С5b связывает одну молекулу С6. Образовавшийся комплекс С5b/С6 присоединяет одну молекулу С7. У молекулы С7 есть гидрофобный домен, через который весь комплекс С5b/С6/С7 встраивается в фосфолипидный бислой мембраны микробной клетки. К этому комплексу своими гидрофобными доменами пристраиваются белки С8 и С9. С8 представляет собой комплекс двух белков: С8β присоединяется к С5b, а С8α_у встраивается в фосфолипидный бислой. Будучи встроенным, С8α_у катализирует полимеризацию 10—16 молекул С9. Данный полимер и формирует неспадающую пору в мембране диаметром около 10 нм.

В реальной защите от инфекций этот, казалось бы, мощный деструктивный механизм имеет более чем ограниченные возможности. При генетических дефектах в компонентах C5—C9 единственный фенотипический дефект в противомикробной защите у человека — повышенная восприимчивость к инфекции *Neisseria spp.*, вызывающей такие заболевания, как гоноррея и бактериальный менингит.

Классический путь активации комплемента инициируется комплексами антиген — антитело. На молекулах IgM, IgG3 и в меньшей мере IgG1 есть специальные реакционно-способные места, которые после формирования комплекса антиген — антитело способны связывать компонент C1 комплемента, а именно субкомпонент C1q. Молекула C1 состоит из 8 субъединиц, 6 из которых одинаковые: C1q (имеющий глобулярную головку и коллагеноподобный хвост), по одной C1r и C1s. Реакция связывания C1q с иммуноглобулинами не происходит в растворе, но требует концентрации на твердой фазе — на поверхности микробных клеток. Каждая головка C1q вступает в связь с одним Fc-участком молекулы иммуноглобулина. Активация молекулы C1 требует связывания более двух головок C1q. Ферментом протеазой является C1r. Будучи активированной, C1r отщепляет C1s, которая является активной сериновой протеазой. Протеаза C1s расщепляет компоненты системы — сначала C4, C2. C4b способен ковалентно связываться с поверхностью микробных клеток (важно, что не собственных эукариотических клеток) и там присоединять к себе C2. Здесь C2 расщепляется той же протеазой C1s. Большие фрагменты C4b и C2b объединяются и становятся главной C3-конвертазой классического пути — комплексом C4b/C2b. В этом комплексе протеазной активностью обладает C2b. C3-конвертаза нарабатывает большие количества C3b. Дальнейшие процессы по механизму совпадают с процессами альтернативного пути активации системы комплемента. Кстати, классический и альтернативный пути активации действуют параллельно, более того, амплифицируя (усиливая) друг друга, а не «или, или».

Рассмотрим рецепторы для компонентов комплемента на клетках (CR — complement receptors) организма и их функциональные роли. Известно 5 типов CR (табл. 3.3).

CR1, экспрессированный на фагоцитах (макрофагах, нейтрофилах), связывает C3b. Однако только одно это связывание не стимулирует фагоцитоз, но оказывает перmissive действие при наличии других стимулов к фагоцитозу — связывание комплексов антиген — антитело через Fc γ -рецептор или стимуляции γ -интерфероном (продуктом иммунных Т-лимфоцитов). CR1 есть на эритроцитах. После многих инфекций в крови накапливается немало растворимых иммунных комплексов. Их пребывание в циркуляции неблагоприятно для

Таблица 2.3. Клеточные рецепторы для компонентов комплемента

| Рецептор (мол. масса ×1000, хромосома) | Связываемый компонент комплемента | На каких клетках экспрессирован | Функциональные последствия связывания |
|---|-----------------------------------|---|---|
| CR1 (CD35) (250, 222, 190, 160; 1q32) | C3b, C4b, iC3b | Моноциты, макрофаги, полиморфно-нуклеарные лейкоциты. В-лимфоциты, фолликулярные дендритные клетки. Эритроциты | Опсонизированный фагоцитоз. Активация В-лимфоцитов. Транспорт иммунных комплексов на эритроцитах. Способствуют разрушению C3b, C4b |
| CR2 (CD21) (145; 1q32) | C3d, C3dg, C3bi, EBV | В-лимфоциты. Фолликулярные дендритные клетки (FDC) | Компонент рецепторного комплекса для антигена на В-лимфоцитах. Рецептор для EBV |
| CR3 (CD11b/cd18) (165/95; 16p/21q) | C3bi | Моноциты, макрофаги, полиморфно-нуклеарные лейкоциты. Фолликулярные дендритные клетки (FDC) | Опсонизированный фагоцитоз. Нефагоцитируемое связывание комплексов антиген — антитело на FDC |
| CR4 (CD11c/CD18) | C3bi | Моноциты, макрофаги, полиморфно-нуклеарные лейкоциты | Опсонизированный фагоцитоз |
| C1qR | C1q (коллагеноподобная часть) | В-лимфоциты. Макрофаги, моноциты. Тромбоциты. Эндотелий | Связывание иммунных комплексов |
| C5a-рецептор (50) | C5a | Макрофаги. Тучные клетки | Активация макрофагов. Дегрануляция и активация тучных клеток |

стенки сосудов. Активные компоненты комплемента C4b и C3b ковалентно связывают растворимые иммунные комплексы и через CR1 привязывают их к эритроцитам, которые уносят их с собой к макрофагам селезенки и печени, обеспечивая тем самым клиренс крови от иммунных комплексов. При этом макрофаг «снимает» иммунный комплекс с эритроцита, не повреждая сам эритроцит. Если этот механизм клиренса крови от иммунных комплексов оказывается недостаточным, то «неубранные» комплексы выпадают в осадок. Этот процесс особенно заметен в базальных мембранах сосудов клубочков по-

чек (CR1 есть и на подоцитах клубочков почек). где он вызывает патологический синдром гломерулонефрита.

C5a-рецептор состоит из 7 доменов, пенетрирующих мембрану клетки. Такая структура рецептора характерна для лигандов из группы так называемых G-протеинов (белков, способных связывать гуаниновые нуклеотиды).

CR2, CR3 и CR4 связывают C3bi — инактивированную форму C3b, которая остается связанной с поверхностью микробной клетки и служит, таким образом, в качестве опсонина. Более того, в отличие от связывания активной формы C3b с CR1 само по себе связывание C3bi с CR3 достаточно для стимуляции фагоцитоза.

Еще один продукт деградации C3b—C3dg связывается только с CR2. Рецептор CR2 является существенным корцептором В-лимфоцита. CR2 связывает C3bi и/или C3dg, и это связывание увеличивает в 100—10 000 раз восприимчивость В-лимфоцита к своему антигену. К сожалению, эту же мембранную молекулу — CR2 — выбрал в качестве своего рецептора вирус Эпштейна — Барр (EBV) — возбудитель инфекционного мононуклеоза.

У людей с генетическими дефектами в C3 или молекулах, обеспечивающих выпадение C3b на поверхности микробных клеток, клинически имеется уязвимость ко многим внеклеточным бактериальным инфекциям.

Собственные клетки организма защищены от деструктивных воздействий активного комплемента благодаря так называемым регуляторным протеинам системы комплемента. Часть этих протеинов — мембранные белки (табл. 3.4), часть — сывороточные. Один из сывороточных регуляторов — C1-ингибитор (C1inh). Он связывает активный ферментный комплекс C1r/C1s, отрывает его от C1q, который остается связанным с Fc-фрагментом антитела на поверхности микробной клетки. Тем самым C1inh ограничивает время, в течение которого C1s катализирует активационное расщепление C4 и C2. Кроме того, C1inh ограничивает спонтанную активацию C1 в плазме крови. При генетическом дефекте C1inh у человека имеется заболевание, называемое наследственным ангионевротическим отеком. Патогенез заболевания состоит в хронически повышенной спонтанной активации системы комплемента. Избыточное накопление в том числе фрагментов C2a приводит к повышенному образованию пептида-derivата C2a—C2-кинаина. Этот кинин, а также избыточно образующийся брадикинин (тот же ингибитор C1inh регулирует и другие протеазы плазмы) вызывают отеки. Заболевание полностью излечивается заместительной терапией препаратом C1inh.

C2b инактивируется двумя белками: сывороточным C4-связывающим протеином — C4BP (C4-binding protein) и мембранным белком DAF (decay-accelerating factor — фактор, ус-

Таблица 3.4. Мембранные молекулы — регуляторы активности компонентов комплемента

| Название | Относительная мол. масса ×1000, хромосома | Специфичность к фрагментам | На каких клетках экспрессирован |
|--|---|----------------------------|---|
| Мембранный кофакторный протеин—MCP (CD46) | 45-70, 1q32 | C3b, C3a | Тромбоциты, моноциты, В- и Т-лимфоциты |
| Фактор, ускоряющий распад (decay acceleration factor) — DAF (CD55) | 70, 1q32 | C4b2a, C3bBb | Тромбоциты, эритроциты, лейкоциты |
| Протектин (Cp59) | 20, 11p13 | C5b—C8 | Эритроциты, клетки почки |
| P150/95 | 150(α) 95(β) | iC3b | Макрофаги, моноциты, нейтрофилы |
| Рецептор для C3a/C4a | ? | C3a, C4a | Тучные клетки, гранулоциты |
| Рецептор для C5a | 50 | C5a, C5a-des-arg | Тучные клетки, гранулоциты, моноциты, макрофаги, тромбоциты |
| Рецептор для C3e | ? | C3e | Нейтрофилы, моноциты |

коряющий деградацию). Оба эти ингибитора конкурируют с C2b за связывание с C4b. В комплексе с C4BP C4b становится высокочувствительным к деградации с участием сывороточной протеазы (фактора I), расщепляющей C4b на C4c и C4d. Подобным образом два других регуляторных белка — сывороточный фактор H и мембранный CR1 «поступают» с C3b: они вытесняют собой C2b из комплекса с C3b, делая тем самым C3b доступным для деградации фактором I. Фактор H имеет также химическое сродство для связывания с сиаловыми кислотами, которых много на поверхности клеток млекопитающих, но которых не бывает у большинства бактерий.

Еще один регуляторный мембранный белок MCP (membrane-associated cofactor of proteolysis) связывает C3b и делает его доступным для деградации фактором I.

У всех регуляторных белков системы комплемента, связывающих C4b и C3b, в первичной последовательности аминокислот присутствуют общие (консенсусные) короткие повторы, характерные именно для комплементконтролирующих белков.

Активность белков комплекса атаки на мембрану также сдерживается мембранными белками собственных клеток CD59 и DAF. Оба они связаны с мембраной клетки через

фосфатидил-инозитол-гликолипид. Есть наследственное заболевание человека с *дефектом* именно в *формировании* такой *фосфатидил-инозитол-гликолипидной* связи — *пароксизмальная ночная гемоглобинурия*. У таких больных эпизодически возникают приступы внутрисосудистого лизиса собственных эритроцитов активированным комплементом и соответственно происходит экскреция гемоглобина почками.

Лектиновый путь активации комплемента описан в следующем разделе.

3.2. Белки острой фазы (С-реактивный протеин и маннансвязывающий лектин)

С-реактивный протеин (СРП) относится к семейству пентраксинов. *Пентраксинами* называют белки, сформированные из 5 одинаковых субъединиц. СРП имеет химическое сродство к фосфорилхолину. Последний входит в состав клеточных стенок ряда бактерий и одноклеточных грибов, поэтому СРП способен связывать соответствующие микробные клетки. Фосфорилхолин, входящий в состав фосфолипидов мембран клеток млекопитающих, находится в такой форме, с которой СРП не связывается. Связавши бактерии, СРП осуществляет два действия: первое — опсонизирует бактерии для фагоцитоза, второе — активирует каскад комплемента, так как связывает надлежащим образом компонент C1q — первый иницирующий компонент классического пути активации комплемента. Таким образом, не будучи иммуноглобулином и ни в коей мере не проявляя специфических антигенраспознающих свойств, по разрушающим микробную клетку эффекторным механизмам СРП действует по типу антител. Однако это подобие весьма ограничено. СРП связывает молекулу C1q даже за иное место, чем иммуноглобулины: СРП — за коллагеноподобную часть молекулы, иммуноглобулины — за глобулярные структуры молекулы C1q. Но каскад комплемента запускается тот же самый.

Маннансвязывающий, или маннозосвязывающий, лектин (МСЛ) — кальцийзависимый сахарсвязывающий протеин (лектинами по определению называют именно белки, способные с высокой аффинностью связывать углеводы). МСЛ относят к семейству *коллектинов*. Этот белок связывает остатки маннозы, которые экспонированы на поверхности многих микробных клеток, но экранированы, если присутствуют, в поверхностных углеводах клеток млекопитающих. МСЛ опсонизирует микробные клетки для фагоцитоза моноцитами, которые в отличие от более зрелых макрофагов еще не экспрессируют собственный рецептор для маннозы. Как ни странно, не имея гомологии в аминокислотной последовательности, по вторичной структуре МСЛ похож на C1q. Похож он

на C1q и по функции, а именно, связав микробную клетку, МСЛ приобретает способность активировать протеазы, производящие активационное расщепление C4 и C2, что инициирует каскад комплемента. Это и называют *лектиновым путем активации системы комплемента*.

Кроме МСЛ, к семейству коллектинов принадлежат также сурфактантные протеины легких — SP-A и SP-D (surfactant proteins A, D). Эти протеины, вероятно, имеют существенное значение в опсонизации такого легочного патогена, как *Pneumocystis carinii*.

В крови здорового организма СРП и МСЛ мало. Определенные количества этих белков появляются в крови при тяжелых системных воспалительных процессах, поэтому их называют *белками острой фазы*. Эти белки синтезируются в печени в аварийном режиме по сигналу, подаваемому цитокинами — TNF, IL-1, IL-6. Значительные количества белков острой фазы появляются в крови в течение первых 2 дней развития острого процесса, когда специфических антител еще нет, последние смогут появиться лишь спустя 5—7 дней. В этот ранний период СРП и МСЛ связывают широкий спектр бактерий и «пытаются» опсонизировать их для фагоцитоза и/или лизировать с помощью комплемента.

Лектиновый путь активации комплемента начинается со связывания с углеводами поверхностных структур микробных клеток, а именно с остатками маннозы, такого нормального белка сыворотки крови, как МСЛ. У млекопитающих имеется специальная МСЛ-ассоциированная сериновая протеаза, которая аналогично C1s классического пути катализирует активационное расщепление C4. Дальнейшие реакции лектинового пути активации полностью тождественны классическому пути активации.

3.3. Фагоцитоз

И.И.Мечников, занимаясь сравнительной эмбриологией и гистологией млекопитающих, в 1882 г. открыл особые клетки среди белых клеток крови (лейкоцитов), которые, как амёбы, поглощали микроорганизмы и переваривали их внутри себя. Подобные процессы описывали другие исследователи и до И.И.Мечникова. Но новая мысль И.И.Мечникова состояла собственно в осознании защитного значения этого процесса для всего организма, а не пищеварительного для данной единичной клетки. Коллеги — современники И.И.Мечникова оценили эту его мысль ни много ни мало как гиппократовскую. И.И.Мечников назвал эти клетки пожирателями клетками. Гроббен и Гейдер подсказали ему греческие корни, составившие прижившийся термин — фагоциты. До И.И.Мечникова врачи считали лейкоциты крови болезнетворными

клетками, поскольку наблюдали их в избытке в очагах гнойного воспаления.

Любая живая клетка (в том числе и организма млекопитающих) поглощает вещества из внешней среды через специальные каналы для метаболитов в мембране, эндоцитозом отдельных молекул. Но *фагоцитоз — это особый процесс поглощения клеткой крупных макромолекулярных комплексов или корпускулярных структур*. Фагоцитами у млекопитающих являются всего два типа дифференцированных клеток — нейтрофилы и моноциты/макрофаги. Фагоцит обхватывает своей мембраной корпускулярный объект (бактериальные или собственные поврежденные клетки), заключает его в мембранную везикулу, которая оказывается внутри фагоцита. Такие везикулы называют *фагосомами*. Цель фагоцитоза — полное биохимическое расщепление до мелких метаболитов содержимого фагосомы. Для этого у фагоцита есть специальные ферменты.

Нейтрофилы и моноциты созревают в костном мозге из стволовой кроветворной клетки и имеют общую промежуточную клетку-предшественницу. Нейтрофилы циркулируют в периферической крови и составляют большую часть лейкоцитов крови — 60—70 %, или $2,5-7,5 \times 10^9$ клеток в 1 л крови. В норме нейтрофилы не выходят из сосудов в периферические ткани, но они первыми «бросаются» (т.е. подвергаются экстравазации) в очаг воспаления. Моноциты, напротив, являются «транспортной формой», в крови их 5—10 % от общего числа лейкоцитов. Их предназначение — стать и быть оседлыми макрофагами в периферических тканях. Макрофаги локализуются в рыхлой соединительной ткани, подстилающей все покровные ткани, а также в паренхиме органов и по ходу кровеносных сосудов. Макрофаги печени называют купферовскими клетками (звездчатые ретикулоэндотелиоциты — по новой классификации), макрофаги мозга — микроглией, макрофаги легких — альвеолярными и интерстициальными. В печени суммарная масса макрофагов составляет, возможно, более 50 % массы всего органа.

Как фагоциты «узнают», что им следует фагоцитировать? На доиммунном этапе защитных реакций распознающие возможности фагоцитов ограничены. И только иммунный механизм в виде синтеза антител «приводит» к макрофагу доступное антителам разнообразие распознаваемых антигенов.

Известно 5 структур — *рецепторов на клеточной мембране макрофагов*, связывающих то, что макрофаг потенциально способен поглотить по механизму фагоцитоза (рис. 3.1).

- Рецепторы для комплемента — CR3 (интегрин CD11b/CD 18) и CR4 (интегрин CD11c/CD18). Эти интегрины мембраны макрофагов, кроме компонентов комплемента, имеют химическое сродство и, следовательно, свя-

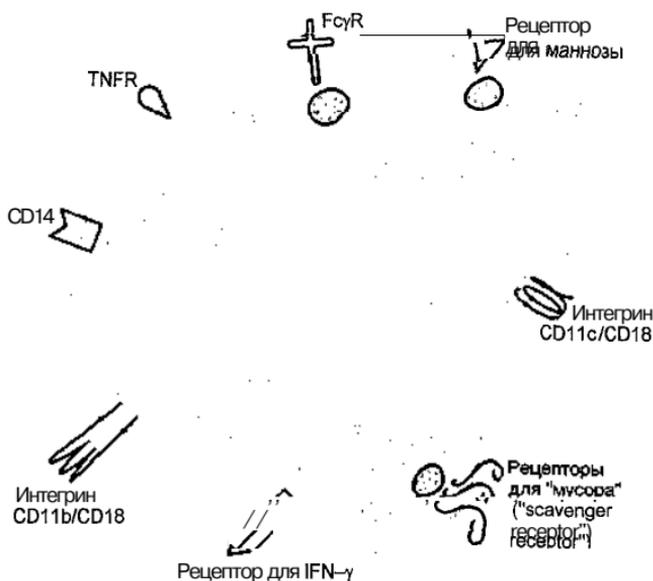


Рис. 3.1. Рецепторы клеточной мембраны макрофага.

На мембране макрофага есть рецепторы по крайней мере 5 типов: для прямого связывания определенных продуктов микробного происхождения (рецептор для маннозы и рецептор CD 14 для комплекса ЛПС с ЛПС-связывающим белком сыворотки); для связывания компонентов фосфолипидных мембран поврежденных и умирающих клеток [рецептор для «мусора» («scavenger» receptor)]; рецепторы для определенных цитокинов (для IFN- γ , TNF), обеспечивающих возможность активации макрофагов при взаимодействии с факторами лимфоцитарного иммунитета и в особых физиологических и патологических состояниях; рецепторы для Fc-фрагментов иммуноглобулинов класса G, обеспечивающие возможность фагоцитоза макрофагами иммунных комплексов; интегрины (CD11b/CD18, CD11c/CD18), обеспечивающие интеграцию макрофагов в ткани организма и взаимосвязи с сосудистой стенкой.

зывают ряд бактериальных продуктов: липополисахариды, липофосфогликан *Leishmania*, гемагглютинин из филаментов *Bordetella*, поверхностные структуры дрожжевых клеток родов *Candida* и *Histoplasma*.

- ▲ На тканевых макрофагах (не на моноцитах крови) есть рецептор, связывающий маннозу. Такого рецептора нет на других фагоцитах — нейтрофилах.
- ▲ Молекула CD14 на макрофагах — рецептор для комплексов бактериальных липополисахаридов (ЛПС) с липополисахаридсвязывающим протеином сыворотки.
- ▲ Рецептор для производных лигандов сиаловых кислот (углеводов, характерных для клеток млекопитающих). Его называют «scavenger receptor» — рецептор для «уборки мусора» (погибающих и деградирующих собственных клеток).
- ▲ Рецептор для «хвостов» (Fc-фрагментов) иммуноглобулинов класса G — Fc γ RI — Fc γ -рецептор 1-го типа.

Это как раз место сопряжения лимфоцитарного разнообразного по антигенам иммунитета с эволюционно более древним механизмом защиты — фагоцитозом. В CD-номенклатуре эту поверхностную молекулу макрофагов называют CD64, и поскольку она экспрессирована только на моноцитах/макрофагах, она является мембранным маркером клеток этой линии дифференцировки. Субклассы IgG по силе связи с FcγRI располагаются в следующем порядке: IgG3 > IgG1 > IgG4 >> IgG2.

Второй механизм сопряжения лимфоцитарного иммунитета с фагоцитами состоит в том, что на мембране фагоцитов есть молекулы — рецепторы для активных цитокинов, вырабатываемых иммунными лимфоцитами. Через них фагоцит воспринимает сигнал от лимфоцита, и в результате происходят существенные сдвиги во внутренней «энергетике» фагоцита. Через рецепторы к у-интерферону и к фактору некроза опухолей (TNF) после связывания с лигандом макрофаг претерпевает сильную активацию всей своей внутренней «биохимической машины». Через рецептор для IL-10 макрофаг, напротив, инактивируется. Есть на макрофагах (но не на нейтрофилах) и мембранные молекулы для контактов с комплементарными мембранными молекулами лимфоцитов, т.е. для непосредственных межклеточных взаимодействий (это CD40, B7, MHC-I/II*).

Назовем еще два маркера моноцитов/макрофагов: это CD115 — рецептор для фактора роста моноцитов M-CSF (моноцит-колониестимулирующий фактор) и CD163 (функциональное предназначение этой молекулы неизвестно).

На нейтрофилах идентифицированы эксклюзивные маркеры наружной мембраны — CD66a и CD66d. Функциональные «нагрузки» этих молекул пока неизвестны. По биохимическим свойствам они попадают в семейство так называемых CEA (cancer-embryonic antigens) — раково-эмбриональных белков.

Что происходит после того, как фагоцит поглотил объект извне в виде заключенного в мембрану пузырька — фагосомы? Происходят по крайней мере три процесса: расщепление поглощенного материала внутри фагоцита, продукция и секреция в межклеточное пространство литических ферментов и окислительных радикалов, продукция и секреция цитокинов.

Первый из них — расщепление того, что фагоцитировано до мелких продуктов метаболизма, которые клетка и вслед за ней организм способны вывести через природные системы

* Молекулы MHC I или II класса (далее MHC-I и MHC-II и др., подробнее см. в главе 7).

выделения (почки и ЖКТ). Этот процесс идет по одинаковым биохимическим механизмам и в нейтрофилах, и в макрофагах. Для этого у фагоцитов есть специальный «аппарат» литических ферментов (кислых протеаз и гидролаз), заключенных в особые замкнутые органеллы — *лизосомы*; рН в лизосомах около 4. Мембрана фагосомы сливается с мембраной лизосомы, предоставляя лизосомным ферментам доступ к фагоцитированному веществу.

В гранулах нейтрофилов содержатся литические ферменты, которые активированный нейтрофил в очаге выбрасывает в межклеточное вещество. Это коллагеназа, катепсин G, желатиназа, эластаза, фосфолипаза A_2 .

Кроме этого, у фагоцитов есть специальные системы ферментов, генерирующие образование реакционно-способных свободных радикалов кислорода (супероксидного аниона O_2^- , синглетного кислорода O), а также перекиси водорода. Фермент NO-синтаза генерирует образование радикала оксида азота (NO \cdot). Эти радикалы осуществляют деструктивные реакции применительно к фагоцитированному объекту. Но, кроме того, фагоцит секретирует их в окружающую межклеточную среду, где они оказывают травмирующее действие, в том числе и на собственные ткани.

Макрофаги и нейтрофилы, активированные микробными продуктами, начинают продуцировать цитокины и другие биологически активные медиаторы. Макрофаги продуцируют IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , а также простагландины, лейкотриен B_4 (LTB $_4$), фактор, активирующий тромбоциты (PAF — platelet-activating factor). Нейтрофилы продуцируют TNF- α и IL-12, а также хемокин IL-8. Кроме того, нейтрофилы вырабатывают LTB $_4$ и PAF.

Названные медиаторы из фагоцитов создают в очаге внедрения внешних субстанций доиммунное воспаление в барьерной ткани, которое обеспечивает активацию кровеносных сосудов, дендритных клеток и лимфоцитов, «подготавливающую» возможность развития лимфоцитарного иммунного ответа.

Только в макрофагах (в нейтрофилах — нет) происходят «плановое» образование внутри клеток комплексов из продуктов расщепления фагоцитированного вещества с собственными молекулами МНС-II и экспрессия этого комплекса на поверхность клетки с «целью» представления антигенов для распознавания Т-лимфоцитами. Таким образом, макрофаги, кроме того, осуществляют функции антигенпредставляющих клеток.

Без лимфоцитарного иммунитета, т.е. без лимфоцитов и их продуктов — цитокинов и антител, защитные saniрующие возможности фагоцитоза ограничены. Во-первых, узок спектр консервативных бактериальных продуктов, для которых на фагоцитах есть связывающие рецепторы. Во-вторых, фагоциты

только расходуется в конкретной защитной реакции, они не пролиферируют и им не дано «запоминать» патогена, т.е. никакой усиленный «иммунитет» в отношении повторного проникновения того же патогена в организм на уровне фагоцитов не создается. Это уникальное свойство приобрели в эволюции только лимфоциты. В-третьих, реальные микроорганизмы земной биосферы эволюционировали (и продолжают эволюционировать) таким образом, что многие из них «не боятся» фагоцитов, а многие способны жить и размножаться именно в макрофагах. Это микобактерии, сальмонеллы, лейшмании, листерии, трипаносомы, легионеллы, криптококки, гистоплазмы, иерсинии, простейшие, риккетсии, вирусы, в том числе вирус иммунодефицита человека. Поэтому позвоночным для выживания «понадобилась» более сильная система защиты от инфекций, чем фагоцитоз. Самая сильная и самая эволюционно новая система защиты — система *лимфоцитарного иммунитета*.

— Однако в ряде ситуаций нельзя недооценивать, например, патофизиологические последствия доиммунной активации нейтрофилов непосредственно микробными продуктами. Так, при инфекции *Toxoplasma gondii* летальный некроз печени в первые 24—48 ч обусловлен «цитокиновым взрывом» именно из нейтрофилов. На нейтрофилах, как и на макрофагах, экспрессирован рецептор CD 14, который связывает комплексы ЛПС с ЛПС-связывающим протеином сыворотки (LBP), а также комплексы ЛПС с другими микробными продуктами (например, с эндотоксинами).

Нейтрофилы — самые многочисленные из белых клеток в циркулирующей крови. Они первыми мигрируют из сосудов в очаг поражения в ткань [за счет быстрой экспрессии нужных молекул адгезии — VCAM-1 (лиганд на эндотелии VLA-4) и CD11b/CD18 (лиганд на эндотелии ICAM-1)]. Например, всего за 1 ч после введения в перитонеальную полость мыши сублетальной дозы *Toxoplasma gondii* число нейтрофилов в перитонеальной полости возрастает с 2 до 25 % от общего числа лейкоцитов. В очаге они быстро активируются и секретируют радикалы кислорода и литические ферменты. Связывание лиганда с рецептором CD 14 на нейтрофилах активирует довольно интенсивную выработку нейтрофилами TNF- α и IL-12.

Недавно были получены моноклональные антитела RBC6.8C5 к молекуле Gr-1, экспрессированной на нейтрофилах и эозинофилах мыши. Эти антитела при введении *in vivo* обладают свойством эффективно элиминировать гранулоциты, что позволяет использовать их в модельных экспериментах, предназначенных ответить на вопрос, что будет происходить в организме в той или иной ситуации в отсутствие нейтрофилов. Так вот, есть такая модель на мышах. Если мышам

ввести D-галактозамин, то он индуцирует экспрессию на клетках печени рецепторов для TNF- α (почему-то таково свойство этого галактозамина). Если таким образом пред обработанным мышам затем ввести надлежащую дозу лизата *Toxoplasma gondii*, то через 24—48 ч мыши погибнут и вскрытие покажет массивную гибель ткани печени. Эта гибель происходит по механизму TNF- α -индуцированного апоптоза. Если мышам перед введением лизата *Toxoplasma gondii* ввести антинейтр офильные антитела, то печень останется цела и мыши будут живы. Это свидетельствует о том, что нейтрофилы являются источником «взрывного выброса» TNF- α в ответ на попадание в организм больших количеств антигенов *Toxoplasma gondii*. Вообще же нейтрофилы прямо реагируют на продукты следующих возбудителей инфекционных заболеваний: *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium* spp., *Leishmania* spp., *Trypanosoma cruzi*, *Pneumocystis carinii*, *Cryptosporidium parvum*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans*.

3.4. Эндогенные пептиды-антибиотики

Это одно из самых новых направлений исследований — изучения особых веществ — пептидов, состоящих из 13—80 аминокислот, которые синтезируются с неких генов эукариотических клеток и обладают активностью антибиотиков, т.е. способны убивать бактерии. В базе данных о пептидах-антибиотиках на начало 1999 г. содержалось около 400 наименований. Функциональные пептиды образуются в клетке путем процессинга более крупных молекул белков-предшественников. Пептиды-антибиотики обнаружены в клетках растений, насекомых, лягушек, а также млекопитающих животных (кроликов, свиней, коров) и человека. По структуре пептиды-антибиотики пока разделяют на 3 группы:

- I группа — линейные пептиды α -спиральной структуры, не содержащие цистеина. К ним относят цекропины (cecropins) высших насекомых, оболочечников и свиней, магаинин (magainin) и темпорины (temporins) лягушек;
- II группа — пептиды, содержащие несколько цистеинов, между которыми установлены 1—4 дисульфидные связи. К ним относят пептид из кожного секрета лягушки, тахиплезины (tachyplepsins) краба, протегрины (protegrins) свиньи, а также дефензины (defensins) млекопитающих (включая человека), содержащие 3 дисульфидные связи. α -Дефензины синтезируют и содержат в гранулах не езируют клет-
ки покровных тканей — эпителий дыхательных путей и ЖКТ;

- III группа — пептиды, в составе которых содержится необычно много какой-либо одной или двух аминокислот, чаще всего пролина или аргинина либо триптофана и глицина. Примером пептидов этой группы являются апидецины (apidaecins) пчелы медоносной. Сюда же относятся 39-членный пептид (PR-39) нейтрофилов свиньи и его более крупные аналоги из нейтрофилов коровы.

Генетические дефекты пептидов-антибиотиков или необходимых для их функционирования кофакторов (например, ионных каналов, так как активность пептидов-антибиотиков «высокочувствительна» к ионной силе), возможно, коррелируют с развитием прогрессивно-текущей хронической патологии с инфекционными факторами в этиологии. Например, есть основания предполагать (хотя еще необходимы воспроизводимые доказательства), что развитие пузырчатого фиброза (cystic fibrosis) обусловлено дефектом β -дефензина в эпителии дыхательных путей.

Сводная характеристика факторов доиммунной резистентности к инфекциям приведена в табл. 3.5.

Таблица 3.5. **Факторы доиммунной резистентности к инфекциям (innate immunity)**

| Молекулы, вовлеченные в реакции резистентности | Конститутивный (К) или индуцибельный (И) биосинтез | Физиологическое место действия | Мишень (лиганд) | Функции |
|---|--|--------------------------------|------------------------------|---|
| I. Лектины: Маннозосвязывающий лектин (МСЛ) | К, И | Плазма | Карбогидраты микроорганизмов | Опсонизация; активация фагоцитов; активация комплемента (лектиновый путь) |
| SP-A, SP-D (сурфактантные протеины легких) | К, И | Дыхательная поверхность легких | То же | Опсонизация; активация фагоцитов; активация комплемента (лектиновый путь) |
| Рецепторы для маннозы на макрофагах | К | Макрофаги | » » | Фагоцитоз, активация макрофагов |

| Молекулы, вовлеченные в реакции резистентности | Конститутивный (К) или индуцибельный (И) биосинтез | Физиологическое место действия | Мишень (лиганд) | Функции |
|---|--|---|--|--|
| Рецептор для β -глюканов | ? | Моноциты, макрофаги | То же | Фагоцитоз |
| II. LPS-реактивные белки: LPS-связывающий протеин | К, И | Плазма | LPS микроорганизмов | Присоединяет микроорганизмы к CD14 на макрофагах, активирует фагоцитоз и выработку цитокинов макрофагами |
| Интегрин Mac-1 | К | Моноциты | LPS микроорганизмов | Фагоцитоз, активация МОНОЦИТОВ |
| Рецептор для «мусора» («scavenger receptors») | К | Макрофаги | LPS и другие липиды микроорганизмов | То же |
| III. Активаторы комплемента: C3b | К, И | Плазма | Поверхность микроорганизмов | Альтернативная активация комплемента |
| Коллектины (collectins): MBL, SP-A, SP-B | К, И | Плазма, поверхность легких | Карбогидраты микроорганизмов | Активация комплемента по лектиновому пути |
| IV. Цитокины: Интерфероны α и β | И | Инфицированные вирусом клетки, моноциты/макрофаги | Любые клетки, имеющие рецепторы для интерферонов | Активируют нормальные киллеры; антипролиферативное и антивирусное действие на любые клетки |

| Молекулы, вовлеченные в реакции резистентности | Конститутивный (К) или индуцибельный (И) биосинтез | Физиологическое место действия | Мишень (лиганд) | Функции |
|--|--|---|--|--|
| Фактор некроза опухолей (TNF α) | И | Моноциты/макрофаги | Макрофаги, эндотелий, печень, гипоталамус | Локальное воспаление, активация фагоцитов, индукция синтеза ЦИТОКИНОВ (IL-1, IL-6, хемокинов), реакция острой фазы, лихорадка |
| IL-1 | И | Моноциты/макрофаги и другие клетки | Моноциты , эндотелий, печень, гипоталамус | Локальное воспаление, индукция ЦИТОКИНОВ (IL-6, хемокинов), реакция острой фазы, лихорадка |
| IL-6 | И | Моноциты | Печень | Реакция острой фазы |
| Хемокины (>30) | И | Моноциты , эндотелий, фибробласты, тромбоциты | Лейкоциты | Хемотаксис и активация лейкоцитов |
| V. Липидные медиаторы: Простагландины | И | Тучные клетки, МОНОЦИТЫ , эндотелий, фибробласты | Гипоталамус, эндотелий | Лихорадка, возрастание проницаемости сосудов |
| Лейкотриены (LTB $_4$) | И | Тучные клетки, МОНОЦИТЫ | Нейтрофилы, МОНОЦИТЫ | Хемотаксис лейкоцитов, дегрануляция нейтрофилов |
| Фактор, активирующий тромбоциты — PAF (platelet-activating factor) | И | Моноциты, эндотелий | Тромбоциты, лейкоциты | Активация тромбоцитов и лейкоцитов, локальное воспаление |

| Молекулы, вовлеченные в реакции резистентности | Конститутивный (К) или индуцибельный (И) биосинтез | Физиологическое место действия | Мишень (лиганд) | Функции |
|--|--|--------------------------------|-----------------------------|--|
| VI. Реактанты острой фазы: Пентраксины (СРП); МСЛ; СЗ; LPS-связывающий протеин | И | Плазма | Поверхность микроорганизмов | Опсонизация, активация комплемента, активация лейкоцитов |

Глава 4. АНТИТЕЛА. В-ЛИМФОЦИТЫ

Антитела стали первой «иммунологической материей», которую открыли для себя современные люди. Точнее говоря, был открыт феномен специфического противодействия ядам со стороны сыворотки крови животных. Впервые белок иммуноглобулиновой природы был выделен из тела человека Вепсе Jones в 1845 г., хотя автор ничего еще не знал об антителах. Кстати, последний из известных изотипов иммуноглобулинов — иммуноглобулин Е — был выделен 100 лет спустя независимо шведскими и японскими учеными: в 1960 г. Kishizaka и T.Ishizaka и в 1965 г. S.G.OJohansson и H.Bennich.

Впервые термин «антитоксическая сыворотка» ввели Эмиль Беринг (Emil von Behring) и Шибасабура Китасато (Sbibasaburo Kitasato) в 1890 г. для обозначения открытого ими феномена нейтрализации токсических свойств дифтерийного токсина сывороткой крови животных, переболевших дифтерией и выздоровевших. Справедливости ради напомним, что факт наличия противомикробных свойств у крови млекопитающих был описан первыми «микроскопистами», наблюдавшими стерильность препаратов из крови здоровых животных и людей. Персидский врач Рази (IX в.) предлагал после укуса скорпиона вводить сыворотку ослов, укушенных теми же скорпионами. Первое наблюдение того, что сыворотка животных способна убивать бактерии, опубликовано G.Nuttall в 1888 г. Дальше один за одним открывали механизмы санации внутренней среды организма от постоянно пытающихся проникнуть туда микробов.

В 1891 г. термин «антитоксин» использовали итальянские исследователи Д.Тиццони и Д.Каттани применительно к не-

ким факторам, которые появляются в сыворотки крови животного после введения ему несмертельных доз токсина возбудителя столбняка. Эти факторы способны нейтрализовать токсическое действие токсина. Кроме *феномена нейтрализации* токсических свойств, эти исследователи эмпирическим путем нашли способ «дотронуться» до антитоксинов руками: они сумели осадить антитоксин из цельной сыворотки сульфатом магния. На основании этого биохимического свойства в первой же работе антитоксины правильно были отнесены к белкам и, более того, к белкам-глобулинам. И в наши дни самая первая и доступная методика по выделению иммуноглобулинов — осаждение солями серной кислоты (сульфатом аммония, сульфатом натрия).

В том же 1891 г. в статье П.Эрлиха появился термин «*анти-тело*». Первооткрыватели точно поняли ~~суть наблюдаемого явления~~: организм при контакте с вредными внешними веществами способен вырабатывать особые *собственные* вещества, предназначенные для *избирательного (специфического) связывания* попавшего в организм внешнего вещества. Вот эти-то собственные «спасительные» вещества и называют *анти-телами*. Семантически этот термин на первый взгляд не очень корректен, ибо антитела в большинстве ситуаций предназначены для защиты собственного тела, а не для антительного действия. Но в понимании П.Эрлиха «тела» — это не собственное тело, а те внешние субстанции, которые попадают в организм и с 1899 г. с работ Л.Детре (сотрудника И.И.Мечникова) и до сих пор называют *антигенами*. Термин «антиген» логически также небыстречен, поскольку далеко не все, что распознает иммунная система, направлено против (анти) собственного генома, более того, часть — и не малая — является продуктами собственного генома.

Поэтому антиген следует понимать, как любое вещество, которое потенциально может быть распознано иммунной системой организма.

4.1. Антитела

Антитела — это особые растворимые белки с определенной биохимической структурой (иммуноглобулины), которые присутствуют в сыворотке крови и других биологических жидкостях и которые организм вырабатывает для связывания разнообразных антигенов.

Чрезвычайно важное и фундаментальное свойство *пары антиген—антитело* открыл К.Ландштейнер в 30-е годы. Правда, ни он сам и никто другой долгие годы не оценивали фундаментальность наблюдения К.Ландштейнера, пока не достигла надлежащего уровня развития молекулярная генетика иммуноглобулинов. Экспериментальное наблюдение

К.Ландштейнера состояло в том, что млекопитающие способны вырабатывать антитела с одинаковым успехом как на природные антигены, так и на искусственно синтезированные химические соединения, не похожие по химической структуре на природные биомолекулы. Прикладной вывод из этих работ К.Ландштейнера был сделан незамедлительно: по всему миру в лабораториях стали получать иммунные сыворотки против интересующих веществ как *специфические реагенты* для определения заданных веществ. Фундаментальный же вывод состоит в том, что репертуар антигенсвязывающих свойств антител организма формируется на основе неких случайных процессов, а не запрограммирован эволюционным «знанием» (не закреплен отбором) со стороны организма — что является для него антигеном, на который надо вырабатывать антитела, а что нет. В дальнейшем мы увидим, что эволюционные генетические ограничения в отношении того, что может, а что не может быть антигеном для данного организма, существуют и весьма серьезные, но соответствующие гены экспрессируются в основном *не в лимфоцитах*, т.е. *за пределами собственно иммунной системы как таковой*.

Антитела были предметом подробного изучения классической биохимии 50—70-х годов. Фундаментальными признаны работы R.Porter (1920—1985) по исследованию биохимических свойств и вторичной структуры молекул антител. Все без исключения антитела принадлежат к одному типу белковых молекул, имеющих глобулярную вторичную структуру, поэтому и назван этот тип молекул иммуноглобулинами. Первая работа по электрофорезу глобулинов сыворотки опубликована A.Tiselius в 1937 г. Все антитела — иммуноглобулины. Строго говоря, утверждать обратное некорректно. Нельзя сказать, что все иммуноглобулины — антитела. Мы говорим об антителах только относительно антигена, т.е. если знаем антиген. Если мы не знаем антиген, комплементарный некоему иммуноглобулину, который оказался у нас «в руках», то мы имеем только иммуноглобулин. Международная аббревиатура иммуноглобулинов Ig. Заглавная латинская буква рядом с Ig обозначает один из 5 существующих у млекопитающих классов иммуноглобулинов — M, G, A, E, D, последующая арабская цифра обозначает субкласс. Субклассы есть только у иммуноглобулинов классов G (G1, G2, G3, G4) и A (A1, A2). Классы и подклассы, вместе взятые, называют изотипами иммуноглобулинов. Таким образом, изотипов 9. Пять классов иммуноглобулинов* имеются только у млекопитающих, но зато у *всех видов млекопитающих гомологичны все эти 5 классов*. Это говорит о том, что 5 классов иммуноглобулинов сложились в эволюции *до видообразования* млекопитающих. То что они столь консервативно сохранились в период дивергентной эво-

люции, свидетельствует об оптимальности их биологических свойств и необходимости для выживания в условиях земной природы.

4.2. Структура молекул иммуноглобулинов

~~В 1959 г.~~ R.Porter подверг препарат IgG кролика протеолизу под действием фермента папаина и в результате получил разделяемые ионообменной хроматографией три фрагмента. Два из них были одинаковыми и сохраняли способность связывать антиген, поэтому автор обозначил их Fab (fragment, antigen binding). Третий фрагмент отличался от первых двух и имел свойство легко кристаллизоваться, он был обозначен как Fc (fragment, crystallizable). Впоследствии стало известно, что *Fc-фрагменты* иммуноглобулинов *в пределах одного изотипа* у данного организма строго *идентичны* независимо от специфичности антитела по антигену. За эту инвариантность их стали называть константными — fragment, constant — Fc (аббревиатура совпала).

В 1961 г. Edelman и Poulik и независимо от них Fleischman и соавт. сумели диссоциировать не протеолитически цельные молекулы антител на отдельные белковые цепи. Выяснили, что цепи ассоциированы между собой дисульфидными связями. В 1962 г. R.Porter предложил схему строения молекул иммуноглобулинов, которая оказалась совершенно верной: 4 полипептидные цепи — пара одинаковых тяжелых плюс пара одинаковых легких. Тяжелые цепи обозначают буквой «H» от High — тяжелый, легкие — буквой «L» от Light — легкий. Принципиальная схема строения молекулы иммуноглобулина приведена на рис. 4.1.

H-цепь IgG состоит примерно из 450 остатков аминокислот и имеет относительную молекулярную массу около 50 000, а легкая цепь — из 212 остатков аминокислот и имеет молекулярную массу около 25 000. Общая относительная молекулярная масса молекулы IgG составляет 150 000.

Антигенсвязывающие домены обеих цепей имеют сильно варьирующий аминокислотный состав (поэтому и способны связывать разные антигены). Поэтому эти участки (или области) молекулы — как H-, так и L-цепи называют вариабельными и обозначают буквой «V» (variable region). Внутри вариабельных участков выделяют и гипервариабельные. V-область занимает один домен в H-цепи и один домен в L-цепи. Все, что «ниже» вариабельных участков, имеет *строго инвариантный* для каждого изотипа иммуноглобулинов аминокислотный состав и называется C-областью (от constant region). Соответствующие домены в полипептидных цепях называют C-доменами. В тяжелой цепи 3 или 4 C-домена, их обозначают C_H1 , C_H2 , C_H3 , C_H4 . В легкой цепи один C-домен, обозначаемый C_L .

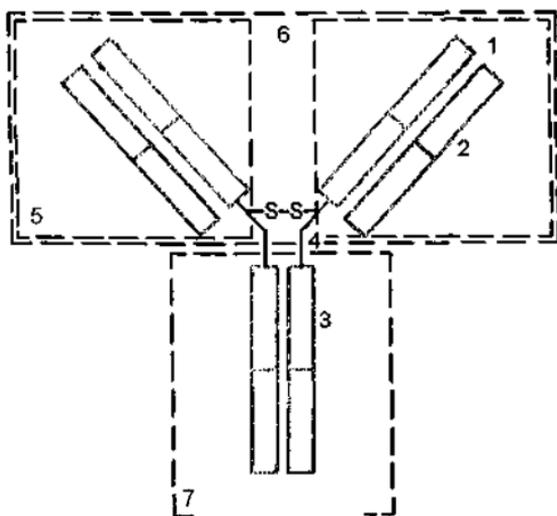


Рис. 4.1. Принципиальная схема строения молекул иммуноглобулинов.

1 — антигенсвязывающие центры молекулы иммуноглобулина; 2 — легкие цепи (L); 3 — тяжелые цепи (H); 4 — шарнирная область; 5 — Fab-фрагмент; 6 — (Fab)₂-фрагмент; 7 — Fc-фрагмент.

Fc-фрагменты молекул иммуноглобулинов (разные у различных изоформ, но тождественные в пределах изоформы) обеспечивают разное взаимодействие комплексов антиген—антитело по санирующим деструктивным механизмам, способным расщепить и вывести антиген из организма — с системой комплемента, фагоцитами, эозинофилами, базофилами, тучными клетками. Каждый класс иммуноглобулинов специализирован по вступлению во взаимодействие (наиму) с определенными «исполнителями» деструкции антигена (лейкоцитами или системой комплемента).

Следующий фундаментальный этап в исследовании антител — работы Г.Келера (Georges Köhler, 1946—1995) и Ц.Мильштейна (Cesar Milstein), которые в 1974—1975 г. применили метод гибридизации соматических клеток к антителообразующим В-лимфоцитам и открыли технологию получения моноклональных антител. Им присуждена Нобелевская премия в 1984 г. Это одна из двух Нобелевских премий по медицине, присужденная за методическую работу. Всемирно признано беспрецедентное прикладное значение этой работы. Но велик и ее фундаментальный смысл. Она стала идеальным экспериментальным доказательством всеобщности клональности биосинтеза иммуноглобулинов в В-лимфоцитах, что точно соответствует клонально-селекционной теории (гипотезе) устройства лимфоцитарного иммунитета вообще, выдвинутой Ф.Бернетом (Frank Macfarlane Burnet, 1899—1985), также лауреатом

Нобелевской премии 1960 г. Ф. Бернет опубликовал свою гипотезу в 1957 г. и сам рассматривал ее как развитие теории Н. Йерне (N. Jerne) о моноспецифичности антителообразующих клеток.

Антитела синтезируют только и исключительно В-лимфоциты. Ниже, разбирая молекулярную генетику дифференцировки В-лимфоцитов и биосинтеза иммуноглобулинов, мы увидим механизм процесса, в результате которого каждый единичный В-лимфоцит оказывается способен к синтезу *единственного варианта* антитела по признаку структуры антигенсвязывающего центра молекулы. В динамике по мере дифференцировки В-лимфоцита, уже распознавшего свой антиген и вступившего в межклеточные взаимодействия, необходимые для развития иммунного ответа, происходит *переключение синтеза изотипа иммуноглобулина* при сохранении неизменной структуры антигенсвязывающего центра.

Все вместе, т.е. совокупность В-лимфоцитов организма, способно синтезировать разнообразие антител — около 10^{16} – 10^9 случайных по специфичности к антигенам вариантов.

Каждому единичному В-лимфоциту и его митотически возникшим дочерним клеткам (это *клон лимфоцитов* по определению) «на роду написано» *обслужить*, если потребуется, некоторое множество антигенов. ~~Никто не может в принципе посчитать точно, сколько разных антигенов потенциально способен связать один иммуноглобулин.~~

4.3. Биохимические свойства иммуноглобулинов

Известно два типа легких цепей Ig — κ (каппа) и λ (лямбда). Соотношение количеств κ и λ — видоспецифичный и строго стабильный генетический признак: у человека оно равно 2:1, у мыши — 20:1, у кошки — 1:20. Отклонение от этого соотношения у отдельных особей имеет диагностическое значение, так как является скорее всего признаком опухолевого процесса — В-лейкоза. Функциональных различий между иммуноглобулинами с легкими κ -цепями или с легкими λ -цепями до сих пор никто не выявил.

Классы иммуноглобулинов различаются между собой по тяжелым цепям. Тяжелые цепи обозначают греческими буквами соответственно латинской аббревиатуре класса: для IgM — μ , для IgG — γ , для IgA — α , для IgE — ϵ , для IgD — δ (рис. 4.2).

Легкие цепи примыкают к N-концу тяжелых цепей. C-конец тяжелых цепей формирует Fc-фрагмент молекулы иммуноглобулина.

Вторично регулярная структура полипептидных цепей представлена, как мы уже упоминали, доменами. Домен составляют ПО остатков аминокислот. Каждая L-цепь состоит из двух

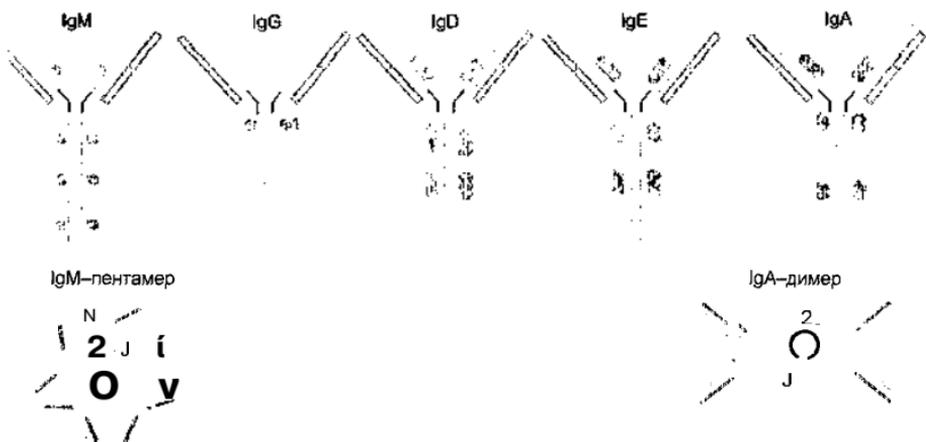


Рис. 4.2. Структура иммуноглобулинов 5 разных классов (схема).

1 — углеводные компоненты молекул иммуноглобулинов; 2 — J-цепь (от joint) — полипептидная цепь, связывающая IgM в пентамер, а IgA в димер. IgA при секреции сквозь слизистые оболочки формирует димерный комплекс; IgM в крови формирует пентамерный комплекс.

доменов — V_L и C_L . Н-цепи молекул IgG, IgD и IgA состоят каждая из 4 доменов V_H и C_H1, C_H2, C_H3 . Н-цепи молекул IgM и IgE имеют по «лишнему» 5-му домену. По первичной структуре С-домены похожи. Это указывает на то, что кодирующие их структурные гены когда-то произошли путем дупликаций из общего предкового гена. По данным электронной микроскопии и рентгеноструктурного анализа кристаллов иммуноглобулинов, цепи сплетены в «косичку». Угол между двумя симметричными антигенсвязывающими центрами молекулы подвижен в диапазоне от 0 до 100° и больше. Антигенсвязывающие участки молекулы способны к ротационному движению. Все это вместе облегчает возможность связывания антигенов обоими активными центрами одновременно. Это существенно: опыт показывает, что в природе устроено так, что «достойный» иммунный ответ развивается лишь в тех случаях, когда (и если) антиген «сшивает» несколько антигенраспознающих рецепторов на поверхности лимфоцита.

IgM и IgA формируют полимерные структуры: IgM из 5 «рогатов» формирует пентамер, находящийся в растворе в крови; IgA из двух «рогатов» формирует димер, но не в крови, а в составе экзосекретов на слизистых оболочках. Для полимеризации IgM и IgA включают в свой состав дополнительную полипептидную цепочку с молекулярной массой 15 000, называемую J-цепью (joint-связь). Эта J-цепь связывает терминальные цистеины на С-концах соответственно тяжелых μ - и α -цепей IgM и IgA.

Секреция IgA через слизистые оболочки наружу происходит в процессе так называемого *транцитоза* через клетки

эпителия слизистых оболочек. Изотип IgA синтезируется главным образом В-лимфоцитами неинкапсулированной лимфоидной ткани слизистых оболочек ЖКТ, дыхательных путей, мочеполовых путей, слезных, слюнных и молочных желез. Димер IgA диффундирует сквозь базальную мембрану слизистых оболочек. На базолатеральной поверхности эпителиальных клеток слизистых оболочек экспрессированы особые рецепторы для молекул иммуноглобулинов, так называемые поли-Ig-рецепторы. Эти рецепторы сорбируют димеры IgA, после чего происходят эндоцитоз комплексов поли-Ig-рецептор — димер IgA, трансцитоз внутри эпителиальной клетки в виде особой везикулы и экскреция этого комплекса наружу в состав слизи. При экскреции от поли-Ig-рецептора отщепляется небольшой фрагмент. Большая его часть остается в связи с димером IgA, ее называют *секреторным компонентом*.

Папаин расщепляет молекулу иммуноглобулина выше дисульфидных связей между тяжелыми цепями, поэтому в результате получаются два Fab-фрагмента и двухцепочный Fc-фрагмент. Пепсин расщепляет молекулу иммуноглобулина ниже дисульфидных связей между тяжелыми цепями и в результате получается (Fab)₂-фрагмент (двухвалентный по связыванию антигена) и одноцепочные Fc-фрагменты.

Во всех доменах молекул иммуноглобулинов есть *одинаковые (общие)* последовательности остатков аминокислот. С наибольшей стабильностью в этих *консервативных* (или, как их еще называют, *гомологичных*) последовательностях присутствует триптофан. Наличие таких консервативных общих последовательностей рассматривают как молекулярное свидетельство генетической общности: гены, кодирующие отдельные домены, произошли из общего предкового гена (путем дубликации, мультипликации и затем дивергентной эволюции). Гомологичные названным последовательности аминокислот присутствуют, помимо иммуноглобулинов, и в молекулах других белков. Эти другие белки экспрессируются в клетках иммунной и по крайней мере нервной систем. Такой общности в структуре соответствует и общность функционального предназначения — участие в процессах молекулярного распознавания и взаимодействия клеток. Белки, содержащие последовательности аминокислот, идентифицированные исходно в иммуноглобулинах, объединяют в одно *суперсемейство* — *суперсемейство иммуноглобулинов IgSF (immunoglobuline superfamily)*. Кроме самих иммуноглобулинов, к этому суперсемейству относят рецептор Т-лимфоцитов для антигена (TCR — T-cell receptor), не все, но ряд рецепторов клеток для цитокинов (для IL-1 тип I и II, IL-6, M-CSF, c-kit), мембранные молекулы межклеточной адгезии (ICAM-2, ICAM-3, VCAM-1), рецепторы клеток для Fc-«хвостов» иммуноглобулинов классов A и G (Fc α R, Fc γ RI,

FcyRII), мембранную молекулу CD80 (второе название B7) — лиганд для CD28, мембранные молекулы CD4, CD8, CD3 и др.

Дальше мы увидим, как фундаментально и дружно задействованы в иммунном ответе все эти *молекулярно-генетические родственники*.

Вариабельные последовательности аминокислот (т.е. *разные* у иммуноглобулинов, являющихся продуктами различных В-лимфоцитов) *не случайно* распределены по V-области, а четко локализованы в определенных участках, называемых гипервариабельными областями — их выделяют от 3 до 4: HV1, HV2, HV3, HV4 (HV — от hypervariable). У обозначений «HV» есть синоним — CDR (complementary determining regions): CDR1, CDR2, CDR3 и CDR4. Именно эти последовательности аминокислот вступают в физическое комплементарное связывание с антигеном. Связывание с антигеном осуществляется следующими типами химических взаимодействий (сил, связей) между молекулой антитела (так же как и рецептора Т-клеток для антигена) и молекулой антигена: ионными, **ван-дер-ваальсовыми**, водородными и гидрофобными. Оптимальная реализация этих связей возможна только при физиологических значениях pH, ионной силы, концентрации солей. Если в лабораторной работе *in vitro* стоит задача диссоциировать комплекс антиген — антитело, то подбирают необходимые и достаточные изменения pH, ионной силы или вводят в систему детергенты.

Имуноглобулины могут связывать лиганды (антигены) разной химической природы: пептиды, карбогидраты, сахара, полифосфаты, стероидные молекулы. Существенным и *уникальным свойством антител*, отличающим их даже от рецептора Т-клеток для антигена, является их способность вступать в связывание с *цельными, нашивными* молекулами антигенов, непосредственно в том виде, в каком антиген проник во внутреннюю среду организма. Для этого не требуется никакая предварительная метаболическая обработка антигенов. Следовательно, не требуется и *время* на предоб *немедленно*.

Антитела — единственный фактор безотлагательной защиты (от сильных ядов (при укусах змей, скорпионов, пчел и др.)). Антигены могут связывать легкие и тяжелые цепи молекул иммуноглобулинов по отдельности, могут и вместе. У цельной молекулы мономерного иммуноглобулина два цельных и потенциально равнодееспособных симметрично расположенных активных центра для связывания антигенов. Сродство между антигенами и антителами количественно и качественно характеризуют такими понятиями, как *аффинность* и *авидность*.

Силу химической связи одного антигенного эпитопа с одним

из активных центров молекулы иммуноглобулина называют *аффинностью* связи антитела с антигеном.

Аффинность количественно принято оценивать по константе диссоциации одного антигенного эпитопа с одним активным центром в моль⁻¹. Так как в цельных молекулах антител классов IgG и IgE в норме по два активных центра, а в молекулах IgA — 4, IgM — 10, скорость диссоциации *цельной* молекулы иммуноглобулина от *цельной* молекулы антигена меньше, чем скорость диссоциации одного из активных центров.

Силу связи цельной молекулы антитела со всеми, которые ей удалось связать антигенными эпитопами, называют авидностью связи антитела с антигеном.

Авидность количественно также измеряют как константу диссоциации соответственно *цельной* молекулы антитела со всеми связанными эпитопами.

Эпитоп — это небольшой участок *цельной* молекулы антигена, который непосредственно вступает в ионные, водородные, ван-дер-ваальсовы и гидрофобные связи с активным центром антитела. Если антиген пептид, то размер эпитопа составляет от 5 до 7 аминокислотных остатков. Площадь связи активного центра с эпитопом равна 70—90 нм². Синоним антигенного эпитопа — *антигенная детерминанта*. Эпитоп может представлять собой участок последовательно связанных аминокислотных остатков.

Такой эпитоп называют *линейный* (continuous). Но эпитоп может быть сформирован во вторичной структуре макромолекулы антигена не из последовательно связанных аминокислот. Такие эпитопы называют *конформационными* (или по-англ. discontinuous epitopes). Современные химики успешно имитируют линейные эпитопы белковых антигенов, синтезируя пептиды любой заданной длины. Воссоздание конформационных эпитопов в синтетических пептидах — гораздо более трудная задача.

Промежутки между CDR обозначают FR (framework regions), т.е. *каркасные области*. Их также 4: FR1, FR2, FR3 и FR4. Последовательности аминокислотных остатков в них весьма консервативны. Исследования самых последних лет показывают, что этим консервативным последовательностям, кроме чисто «скелетной» функции, *случается* выполнять и *другие функции*, отличные и от связывания с антигеном. Связывание с антигеном — функция CDR. Забегая вперед, скажем, что в FR-участках V-области молекул иммуноглобулинов могут локализоваться такие активности, как ферментативная (протеазная и нуклеазная), связывание ионов металлов, связывание с суперантигенами. Ниже мы остановимся на этом подробнее.

4.4. Гены иммуноглобулинов

Индивидуальный организм здорового человека в течение жизни *создает* несколько миллионов вариантов антител по способности связывать разные антигены (потенциально 10^{16} антигенов). Никакой геном физически не несет столько отдельных структурных генов. Наследуемое от родителей количество генетического материала (ДНК), предназначенного для программирования биосинтеза антител, не так уж и велико — всего 120 структурных генов. Это наследуемое множество генов называют *зародышевыми генами* иммуноглобулинов, или *зародышевой конфигурацией* (germline configuration).

Разнообразие генетических кодов для миллионов вариантов вариабельных участков молекул иммуноглобулинов формируется в течение всей жизни в процессе дифференцировки *В-лимфоцитов*: в каждом отдельном В-лимфоците осуществляется своя уникальная *рекомбинация ДНК* из зародышевых генов, и трансляция РНК, и последующий синтез белка уже идет *с персонального для каждого В-лимфоцита* генетического кода V-области.

Феномен *рекомбинации ДНК в соматических клетках*, по крайней мере насколько известно современной науке, строго уникален исключительно для лимфоцитов. Подобного никто не наблюдал не только при дифференцировке каких-либо других клеток млекопитающих, но даже и каких-либо клеток иных эукариот. Соматическая рекомбинация ДНК «ниспослана» только генам антигенраспознающих молекул лимфоцитов — иммуноглобулинов в В-лимфоцитах и рецептора Т-клеток для антигена в Т-лимфоцитах.

Этот уникальный процесс генерации разнообразия антигенраспознающих молекул внутри организма понадобился для того, чтобы многоклеточные сумели выжить под инфекционным давлением разнообразных земных микроорганизмов. Млекопитающие эволюционируют так медленно, что человеку трудно это даже представить. Микроорганизмы, наоборот, эволюционируют в считанные дни — недели. Так вот, *лимфоциты* — специальное уникальное творение природы внутри организма многоклеточных с неслучайной, но запрограммированной изменчивостью только в генах антигенсвязывающих молекул (Ig, TCR) в количественном отношении хоть в какой-то мере сопоставимы с разнообразием микробов. Разнообразие это столь велико (например, относительно общего числа клеток в организме млекопитающего), что механизм генерации разнообразия соответствующих структурных генов мог быть (и стал) в основе *запрограммированно случайным*. Свойство *случайности* при рекомбинации соответствующей ДНК объясняет тот широко известный факт, что иммунная система «в лице» лимфоцитов распознает разные вещества, а

не только инфекционные микроорганизмы. В естественных природных условиях инфекционные микроорганизмы в большей мере, чем другие внешние объекты, способны прорываться сквозь барьерные ткани многоклеточных. Если покровные ткани «подтекают», т.е. в силу каких-либо патологических причин, например, барьеры ЖКТ или слизистые оболочки дыхательной системы пропускают лишнее из пищи или вдыхаемого вещества, то лимфоциты распознают и реагируют на пищевые и ингаляционные антигены. Но вот к чему природа *не готовила* иммунную систему, так это к быстрому внедрению непосредственно во внутреннюю среду, минуя барьерные ткани, чужеродных веществ. Это чисто антропогенные деяния по парентеральным введениям, вливаниям чужой крови, трансплантациям органов. Мы разберем в дальнейшем, что, например, трансплантат чужого органа организм реципиента отторгает, как это не покажется странным, но *по ошибке*, которую совершают примерно 1—10 % Т-лимфоцитов, они принимают антигены главного комплекса гистосовместимости на чужих клетках трансплантата за свои. Если бы все 100 %, а не 90 % Т-лимфоцитов никогда не ошибались, то чужая почка, печень, кожа, кровь и т.п. оставались бы «невидимыми» для иммунной системы.

Примерно 20 лет назад еще методами классической биохимии, а именно аналитическим электрофорезом фрагментированной ДНК, обнаружили, что генетический материал для кодирования белков-иммуноглобулинов структурирован («разорван») на *сегменты*, расположенные друг относительно друга на уловимом расстоянии. Во всех клетках тела, включая стволовую кроветворную, кроме начавших дифференцировку В-лимфоцитов, гены иммуноглобулинов навсегда остаются в «разорванном» состоянии, которое называют зародышевой конфигурацией. И только в В-лимфоцитах на самом раннем этапе их специальной дифференцировки начинается сложный генетический процесс *объединения сегментов ДНК*, предназначенных для кодирования разных частей молекулы иммуноглобулина — V- и С-фрагментов, причем по отдельности для каждой из 3 типов полипептидных цепей — двух типов легких (κ и λ) и тяжелой. Это и есть феномен *рекомбинации ДНК* в соматической клетке. Этот феномен открыли S. Tonegava и его коллеги (1975—1976) при электрофорезе ДНК, выявившем разницу во фрагментах рестрикции ДНК из антителопродуцирующих В-лимфоцитов и из любых других не продуцирующих антитела клеток данного организма (зародышевая конфигурация).

Структура генов иммуноглобулинов подробно изучена (рис. 4.3 и 4.4). Отдельные сегменты молекулярно клонированы, определено их число. Кодированная ДНК для варибельной части каждой из цепей иммуноглобулина собирается из сегмен-

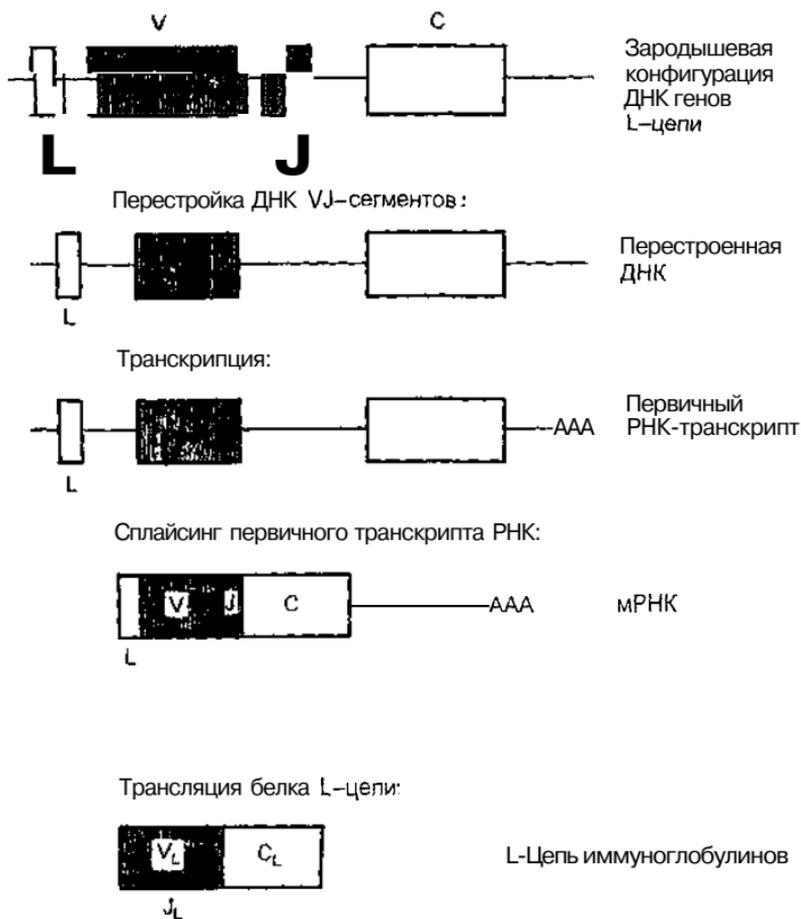


Рис. 4.3. Структура генов легкой (L) цепи иммуноглобулинов (схема).

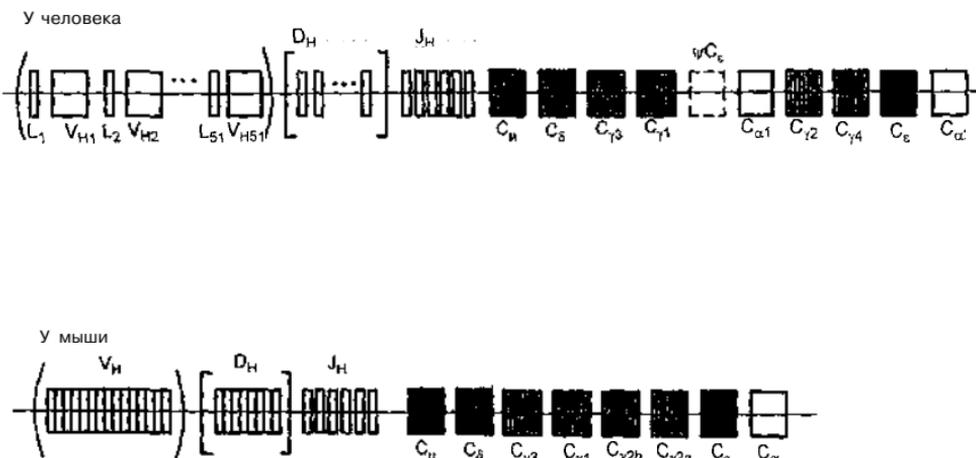


Рис. 4.4. Структура генов тяжелой (H) цепи иммуноглобулинов (схема).

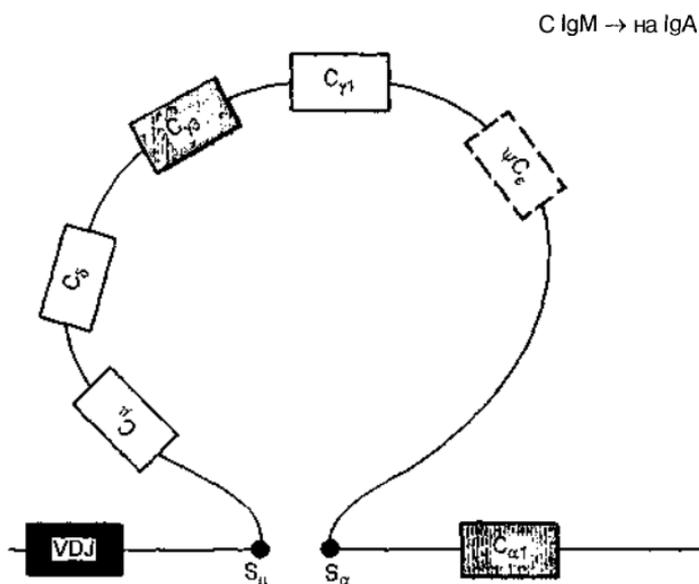
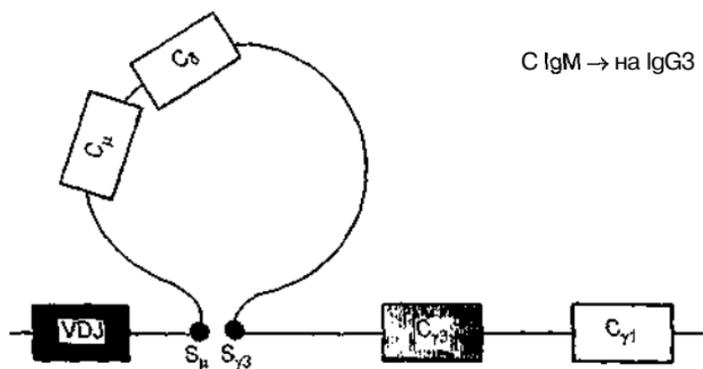


Рис. 4.5. Рекомбинация ДНК при переключении синтеза классов иммуноглобулинов в В-лимфоците.

тов, *извлекаемых* из трех отдельных кластеров: собственно V (вариабельный) (код для 95—101 аминокислоты), а также D (diversity — разнообразие) у тяжелых цепей и J (joining ~ связующий) (код для нескольких аминокислот — до 13). Переключение синтеза изоципов иммуноглобулинов показано на рис. 4.5. Гены для κ -цепи локализованы в хромосоме 2, гены для λ -цепи — в хромосоме 22, гены для тяжелых цепей всех изоципов — в хромосоме 14 (табл. 4.1).

Молекулярные генетики группируют сегменты V-генов в несколько семейств. В одно семейство включают гены, в которых более 80 % последовательности нуклеотидов гомологичны. Выделяют 7 семейств V_H , 7 семейств V_K , 8 семейств V_λ .

Таблица 4.1. Число сегментов генов переменных областей иммуноглобулинов человека*

| Кластер сегментов | Легкие цепи | | Тяжелая цепь |
|-------------------|-------------|--------------|--------------|
| | K | λ | |
| V | 40 | ≈ 30 | ≈ 50 |
| D | Нет | Нет | ≈ 30 |
| J | 5 | 4 | 6 |

* Поскольку метод молекулярного клонирования трудоемок и его выполняют всякий раз для конкретного индивидуального генома, разумно допустить, что у отдельных индивидуумов конкретное число сегментов может варьировать, но в узких пределах; также разным может быть число псевдогенов.

Считают, что члены одного семейства произошли от одного древнего гена путем дупликаций.

Рекомбинацию ДНК иммуноглобулинов катализируют специальные ферменты — *рекомбиназы*. Эти же ферменты катализируют рекомбинацию ДНК генов TCR в Т-лимфоцитах, т.е. рекомбиназы — уникальные ферменты лимфоцитов. Но в В-лимфоцитах эти ферменты не «трогают» гены TCR, а в Т-лимфоцитах не «трогают» гены иммуноглобулинов. Следовательно, до начала процесса перестройки ДНК в клетке уже существуют генрегуляторные протеины — *свои у Т-лимфоцитов* и *свои у В-лимфоцитов*. Гены, кодирующие эти белки, называют *мастер-генами*. Они в большей степени воображаемые, чем изученные, но являются реальным объектом исследования фундаментальной науки. Субстратом для рекомбиназ служат определенные последовательности нуклеотидов в ДНК генов-мишеней (кстати, одинаковые у Т- и В-лимфоцитов). Эти последовательности *фланкируют* (т.е. расположены с какого-либо края) каждый отдельный сегмент генов-мишеней и их называют *сигнальными для рекомбинации* (rss — recombination signal sequence). Rss расположены с 3'-конца V-сегментов, с 5'-конца J-сегментов и с обеих сторон D-сегментов. Последовательность нуклеотидов в rss расшифрована: консервативный гептамер CACAGTG, затем переменный спейсер из 12 или 23 нуклеотидов и консервативный нонамер ACAAAAACC/GGTTTTTGT.

Самый первый акт расщепления цепи ДНК осуществляют два других специальных фермента лимфоцитов — *гетеродимерные эндонуклеазы*, кодируемые генами, называемыми *RAG-1* и *RAG-2* (recombination-activating genes). Последовательность нуклеотидов в гене RAG-1 подобна таковой в гене дрожжей HRP-1 и в генах топоизомераз бактерий, катализирующих разрывы и сшивки ДНК, что свидетельствует о «глубинном» единстве всего живого. Но среди клеток млекопитающих RAG-1

и RAG-2 экспрессируются только в лимфоцитах. Репарацию разрывов ДНК катализируют по крайней мере 3 ядерных фермента: один называют аутоантигеном Ku, второй — ДНК-зависимой протеинкиназой, третий еще недостаточно охарактеризован.

У мышей с генетическим нокаутом по любому из генов ферментов, участвующих в перестройке ДНК антигенрецепторных молекул (Ig, TCR), лимфоциты не развиваются совсем и имеется клинический синдром тяжелой комбинированной иммунной недостаточности — scid (severe combined immunodeficiency).

В результате данной реакции рекомбинации в непрерывную последовательность ДНК соединяются *по одному сегменту* из V-, D- и J-областей — этот процесс называют *VDJ-рекомбинацией*. Вся остальная ДНК V-, D- и J-областей вырезается и выбрасывается из генома в виде кольцевых ДНК. Поэтому приобретение В-лимфоцитом в начале своей дифференцировки специфичности по потенциальному антигену происходит раз и навсегда и строго необратимо на уровне ДНК.

В каждом единичном В-лимфоците *случается* своя уникальная комбинация VDJ для тяжелой цепи и VJ — для каждой из легких цепей. Таким образом и подсчитали возможное число вариантов антител по антигенной специфичности, исходя из правил случайной комбинаторики. Для κ -цепи из 40 V-сегментов и 5 J-сегментов может получиться $40 \times 5 = 200$ вариантов V-области κ -цепи; для λ -цепи — $30 \times 4 = 120$ вариантов; всего для легких цепей 320 вариантов; для тяжелой цепи $50V \times 30D \times 6J = 9000$ вариантов антигенсвязывающих областей тяжелых полипептидных цепей. В цельной молекуле иммуноглобулинов разные легкие и тяжелые цепи объединяются в тетрамер также случайным образом (по крайней мере теоретически). Число случайных сочетаний из 320 и 9000 — около 3×10^6 .

Но это не все, что обеспечивает разнообразие антигенсвязывающих областей антител. Есть еще два молекулярных процесса: *запланированная неточность* связи сегментов V-D-J и *запланированный гипермутационный процесс* именно в V-генах иммуноглобулинов. Последнее свойство — гипермутационный процесс — отличает гены иммуноглобулинов даже от генов TCR: у TCR есть и комбинаторика сегментов, и неточность связи V-D-J, но не выявлен гипермутационный процесс.

Под неточностью связи V-D-J понимают тот факт, что при формировании этих связей происходит *добавление* лишних некодируемых наследуемым генетическим кодом нуклеотидов. Их два «сорта»: P-нуклеотиды и N-нуклеотиды. Нуклеотиды P (от palindromic sequences) возникают на концах сегментов при вырезании одноцепочечных петель ДНК и «достройки хвостов» ферментами репарации ДНК. Нуклеотиды N (от non-

template-encoded) пристраиваются к одноцепочечной ДНК после вырезания петли специальным ферментом лимфоцитов — терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазой (*TdT*). Этот фермент достраивает от 1 до 20 дополнительных нуклеотидов, а ферменты репарации подстраивают комплементарные пары и лигируют (ковалентно продольно состыковывают) двухцепочечную «пристройку» ДНК с двухцепочечными Р-нуклеотидами. *TdT* экспрессируется недолго и на ранних стадиях дифференцировки В-лимфоцитов. Поэтому N-нуклеотиды характерны для тяжелых цепей, поскольку гены тяжелых цепей перестраиваются в первую очередь. Гены легких цепей перестраиваются во вторую очередь и в них N-нуклеотидов уже не находят.

«Платой» за эти попытки увеличить разнообразие антигенсвязывающих областей антител, таким образом, является то, что в $2/3$ случаев добавление некодируемых нуклеотидов сдвигает рамку считывания в матричной (м) РНК так, что трансляция белка становится невозможной. Это называют *непродуктивной рекомбинацией генов* иммуноглобулинов. Зато с учетом присоединения N- и Р-нуклеотидов число *par* V-генов от тяжелой и легкой цепей достигает около 3500 и число вариантов антигенсвязывающих областей цельных молекул иммуноглобулинов, получающихся только в результате комбинаторики сегментов при перестройке ДНК, оказывается порядка 10^{13} . Если учесть врожденные варианты V-, D- и J-сегментов, то мыслимое разнообразие и составляет около 10^{16} , но реально меньше, так как в организме нет такого количества лимфоцитов.

Гипермутация, процесс возникновения точечных мутаций, происходит не под случайным воздействием космических частиц. Он запланирован и имеет место не во время лимфопозеза В-лимфоцитов в костном мозге, а во время иммуногенеза (т.е. после реально состоявшегося распознавания антигена и начавшегося иммунного ответа) и *локализован* в лимфоидных фолликулах периферических лимфоидных органов и тканей (лимфатических узлах, селезенке, NLT). (Мы вернемся к его рассмотрению в соответствующем разделе.) Отметим только, что именно гипермутация генов V-области иммуноглобулинов и *отбор* В-лимфоцитов по силе связи *Ig*-рецептора с антигеном являются механизмом возрастания аффинности антител по мере прогрессивного развития так называемого вторичного иммунного ответа. Интенсивность гипермутаций в V-Ig в В-лимфоцитах оценивают как замену одного нуклеотида из 1000 на один митоз: каждый второй В-лимфоцит клона в зародышевом центре приобретает точечную мутацию в V-Ig. Для всей остальной ДНК явление точечной мутации реализуется с частотой на 9 порядков ниже, т.е. одна замена нуклеотида на 10^{12} пар нуклеотидов на митоз.

Процессы перестройки генов иммуноглобулинов в В-лимфоците отрегулированы так, что из двух родительских хромосом в конечном счете в одном В-лимфоците будет использован только единственный вариант как легкой, так и тяжелой цепи. Это явление называют *аллельным исключением*. А в организме в целом разнообразие удвоено — половина от «мамы», половина от «папы».

Описанные генетические механизмы генерации разнообразия антигенсвязывающих областей антител имеются у человека и мышей. У животных других видов есть иные молекулярные механизмы. Например, у птиц, а также у некоторых млекопитающих (кроликов, овец) нет разнообразия зародышевых сегментов в V-области. Поэтому первично перестроенные гены иммуноглобулинов *одинаковы* у всех незрелых В-лимфоцитов. Такие В-лимфоциты у птиц мигрируют из костного мозга в специализированный орган — сумку Фабрициуса, где они интенсивно пролиферируют. В процессе митозов в *уже перестроенных* генах V-области создается разнообразие по механизму, называемому *конверсией генов*: фрагменты ДНК из перестроенной V-области одной из гомологичных хромосом обмениваются на фрагменты из неперестроенной и ранее не использованной V-области второй из гомологичных хромосом. У овец, например, наибольший вклад в разнообразие антигенсвязывающих областей антител вносят соматические мутации, и процесс их накопления локализован в пейеровых бляшках подвздошной кишки.

Структурные гены константных частей полипептидных цепей иммуноглобулинов расположены в тех же хромосомах, что и V-, D- и J-гены, «ниже по течению», т.е. к 3'-концу от J-сегментов. Для легких K- и λ -цепей существует по одному C-гену — C_K и C _{λ} . «Стыковка» нуклеотидного кода для V- и C-частей легких цепей происходит на уровне не ДНК, а РНК — по механизму сплайсинга первичного транскрипта РНК.

Для каждого изотипа иммуноглобулинов есть свой отдельный C-ген. У человека такие гены расположены в следующем порядке, считая от J-сегмента к 3'-концу: C _{μ} , C _{δ} , C _{γ 3}, C _{γ 1}, ϵ C _{ϵ} (псевдоген ϵ -цепи), C _{α 1}, C _{γ 2}, C _{γ 4}, C _{ϵ} , C _{α 2}; у мыши: C _{μ} , C _{δ} , C _{γ 3}, C _{γ 1}, C _{γ 2b}, C _{γ 2a}, C _{ϵ} , C _{α} .

Завершившие лимфопоэз, В-лимфоциты любого клона по антигенной специфичности (специфичности V-области иммуноглобулина) экспрессируют иммуноглобулины только классов M и D. При этом мРНК транскрибируется в виде непрерывного транскрипта с перестроенных генов VDJ и C _{μ} —C 5. При этом ДНК остальных C-генов других изотипов цела и невредима. В результате альтернативного сплайсинга первичного транскрипта РНК образуются мРНК отдельно для тяжелых цепей IgM и IgD, которые и транслируются в белок. Этим

процессом заканчивается полноценный лимфопоэз В-лимфоцитов.

Переключение же на синтез иммуноглобулинов других изотипов (G, E, A) происходит уже в процессе развития иммунного ответа, т.е. после распознавания антигена и под воздействием *определенных* (в значительной мере известных на сегодня) цитокинов Т-лимфоцитов и молекул клеточной мембраны Т-лимфоцитов (CD40L). Существенно, что такое переключение вдет опять по механизму *рекомбинации ДНК*: в ДНК к ранее и единожды перестроенной комбинации VDJ присоединяется какой-либо *один* из С-генов тяжелой цепи (либо $C\alpha 1$, либо $C\alpha 2$, либо $C\alpha 3$, либо $C\alpha 4$, либо $C\alpha 5$, либо $C\alpha 6$, либо $C\alpha 7$).

ДНК неиспользованных С-генов слева от использованного С-гена на этом этапе развития В-лимфоцита элиминируется в виде кольцевых структур. С этого момента судьба В-лимфоцита определена как по единственной антигенной специфичности, так и изотипу тяжелой цепи. Если из окружений продолжают поступать регулирующие переключение изотипов сигналы, то возможен еще акт переключения на изотип, С-ген которого «правее» в ДНК от уже экспрессированных С-генов. Если с инструкциями «покончено», В-лимфоцит вступает в терминальный этап своего развития: он становится плазматической клеткой — продуцентом больших количеств моноклонального секретируемого иммуноглобулина.

При переключении изотипа тяжелой цепи ДНК разрывается по так называемым *областям переключения* (switch region — SR), расположенных в интронах *перед* каждым С-геном (за исключением $C\alpha 5$). SR перед $C\mu$ состоит из 150 повторов последовательности [(GAGCT)₃₋₇ (GGGGGT)]. SR перед другими С-генами отличаются в деталях, но во всех из них содержатся повторы GAGCT и GGGGGT. При переключении изотипов с ДНК работают физически другие ферменты, чем при рекомбинации VDJ (см. рис. 4.5).

Молекулы иммуноглобулина одной и той же специфичности по антигену присутствуют в организме в двух физических состояниях — в растворе и на мембране клеток и в 3 формах:

- в растворимой форме в крови и других биологических жидкостях (секретируемый клеткой иммуноглобулин);
- на мембране В-лимфоцита в составе рецептора В-лимфоцитов для антигена — BCR (B-cell receptor) (трансмембранная форма иммуноглобулина). Трансмембранные формы всех классов иммуноглобулинов, включая IgM и IgA, мономеры;
- в связи с клетками, но не в трансмембранном варианте, а связанным за Fc-конец Fc-рецептором клетки. В свободном виде только иммуноглобулины класса E

1 Т способны быть связанными с FcεRI на тучных клетках, базофилах, дендритных клетках и некоторых других типах клеток. Для остальных изотипов иммуноглобулинов характерна фиксация на FcR на клетках только после связывания антитела с антигеном, т.е. фиксируется не свободное антитело, а комплекс антиген — антитело через Fc-конец молекулы иммуноглобулина (на макрофагах, нейтрофилах, эозинофилах).

Возвращаясь к трансмембранной и секретируемой формам иммуноглобулинов, отметим, что они различаются по своему С-концу тяжелых цепей: в трансмембранной форме у тяжелых цепей молекулы есть лишние 25 остатков гидрофобных аминокислот, которые «заякоревают» молекулу в фосфолипидном бислое мембраны. Трансмембранная и секретируемые «версии» тяжелых цепей кодируются разными экзонами соответствующих С-генов. В данном случае экзонами называют структурные гены каждого из отдельных доменов полипептидной цепи. Последний экзон каждого С-гена содержит последовательности нуклеотидов для кодирования трансмембранного участка молекулы. Первичный транскрипт РНК дифференцирующего В-лимфоцита содержит все экзоны С-гена. Трансляция белка с полноразмерной мРНК обеспечивает биосинтез тяжелых цепей для трансмембранной формы. Но последний экзон может быть легко удален из первичного транскрипта РНК, и тогда будет транслироваться секретируемая форма иммуноглобулина. В зрелых плазмочитах трансмембранная форма уже совсем не синтезируется, а только продуцируется секретируемая форма.

4.5. Изотипы, аллотипы и идиотипы иммуноглобулинов

В классической серологии для характеристики иммуноглобулинов используют не только понятие *изотипа*, но и такие понятия, как *аллотипы* и *идиотипы* конкретных молекул иммуноглобулинов. Эти понятия обусловлены различиями между молекулами иммуноглобулинов, которые можно выявить по реакции данных белков с *антителами* к ним. Для этого лабораторных животных иммунизируют так или иначе выделенными препаратами иммуноглобулинов и получают антисыворотки.

Во-первых, существует легко выявляемая с помощью антисывороток общность иммуноглобулинов одного изотипа у *всех особей данного вида животных* (видовая антиклассовая/ субклассовая или антиизотипическая специфичность), т.е. *изотипами иммуноглобулинов называют варианты классов и подклассов (вместе взятые) иммуноглобулинов по тяжелым цепям*. У человека есть 9 изотипов: М, G1, G2, G3, G4, A1, A2, E, D. Но *отдельные особи одного вида* продуцируют несколько

отличающиеся варианты иммуноглобулинов в пределах одноименного изотипа — это аллельные варианты, или аллотипы, иммуноглобулинов. Факт существования **АЛЛОТИПОВ** свидетельствует о некотором генетическом полиморфизме внутри вида по локусам С-генов как легких, так и тяжелых цепей.

Антисыворотки против уникальных переменных участков молекул иммуноглобулинов называют **антиидиотипическими**, а соответствующие эпитопы в молекуле антител — **идиотопом антитела** — (*idious* — уникальный, не такой, как другие). Таким образом, **идиотип антитела** — это вариант уникального антигенсвязывающего участка молекулы иммуноглобулина.

Перечислим свойства человеческих иммуноглобулинов разных классов (табл. 4.2).

Таблица 4.2. Свойства человеческих I иммуноглобулинов

| Свойство | IgG1 | IgG2 | IgG3 | IgG4 | IgM | IgA1 | IgA2 | IgD | IgE |
|--|--------------|------------|------------|------------|----------|------------|------------|----------|-----------------|
| | Тяжелая цепь | | | | | | | | |
| | $\gamma 1$ | $\gamma 2$ | $\gamma 3$ | $\gamma 4$ | μ | $\alpha 1$ | $\alpha 2$ | δ | ϵ |
| Молекулярная масса, х 1000 | 16 | 16 | 165 | 146 | 90 | 160 | 160 | 184 | 188 |
| Концентрация в сыворотке крови, мг/мл | 9 | 3 | 1 | 0,5 | 15 | 3 | 0,5 | 0,03 | 0,00003-0,00005 |
| Время полураспада в крови, сут | 21 | 20 | 7 | 21 | 10 | 6 | 6 | 3 | 2 |
| Активация компонента по классическому пути | ++ | + | +++ | — | +++ + | — | — | — | — |
| Связывание с Fc-рецептором фагоцитов | +++ | — | ++ | — | — | — | — | — | + |
| Связывание с FcεRI тучных клеток и базофилов | — | — | — | — | — | — | — | — | +++ |
| Способность нейтрализовать инфекционность вирусов и бактерий | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ | — | — |
| Экзосекреция через эпителий слизистых оболочек | — | — | — | — | + | +++ | +++ | — | ++ |
| Проникновение через плаценту | +++ | +++ | +++ | +++ | — | — | — | — | — |

Примечание. Количественная выраженность того или иного свойства в данном случае представлена в условных знаках: «—» — отсутствие; «+» — немного; «++» — больше, чем «+»; «+++» — больше, чем «++».

Низкие концентрации, например, IgA в крови не означают, что организм продуцирует IgA меньше, чем IgG. Скорее наоборот: суточная продукция IgA возможно максимальна среди прочих изотипов и составляет около 3 г, но его физиологическое место не в крови, он секретируется из внутренней среды во внешнюю — в слизистые экзосекреты и таким образом является фактором специфической иммунной защиты внутренней среды, вынесенным во внешнюю за пределы покровных тканей. Кстати, в работах последних лет появились данные, свидетельствующие о том, что и иммуноглобулины другого изотипа — IgE более чем на 90 % секретируются в слизистый экзосекрет ЖКТ. (Подробнее о функциональных свойствах антител разных классов рассказано в главе 8.)

4.6. Дифференцировка В-лимфоцитов

Дифференцировка В-лимфоцитов из общей лимфоидной клетки-предшественницы — потомка стволовой кроветворной клетки состоит из следующих этапов и процессов:

- развитие молекулярно-генетического аппарата, обеспечивающего биосинтез иммуноглобулинов — это перестройка генов иммуноглобулинов (обеспечивающая разнообразие антигенсвязывающих областей иммуноглобулинов) и настройка этих генов на продуктивную интеграцию в клеточный метаболизм;
- экспрессия генов молекул, обеспечивающих проведение сигнала с иммуноглобулинового рецептора для антигена внутрь клетки;
- экспрессия генов мембранных молекул, необходимых для участия В-лимфоцита во взаимодействиях с другими клетками, в первую очередь с Т-лимфоцитами и фолликулярными дендритными клетками. Это молекулы CD40, MHC-II, CD45, рецепторы для цитокинов-факторов роста (IL-7 во время лимфопоэза, IL-2 во время иммуногенеза);
- для эффективного функционирования В-лимфоцитов существенна экспрессия на мембране корцепторов CD 19, CD20 и CD21. Не случайно именно эти мембранные молекулы используются как маркеры для определения содержания В-лимфоцитов лабораторными методами идентификации клеток.

Прежде чем описать последовательность событий дифференцировки В-лимфоцитов, скажем о существовании двух известных на настоящее время субпопуляций В-лимфоцитов — В-1 и В-2. В-2-лимфоциты — это те лимфоциты, про которые знали раньше. В-1-лимфоциты стали известны относительно недавно и «проявили» они себя при детальном анализе определенных клинических случаев лейкозов. В-1-лимфо-

циты несут мембранный маркер, которого нет на В-2-лимфоцитах, — это молекула CD5. Та же молекула экспрессируется и на некоторой части Т-лимфоцитов.

В-1-лимфоциты поддерживают свою физиологическую регенерацию в течение всей жизни из отдельной клетки-предшественницы, пул которой у взрослых не пополняется за счет общей стволовой кроветворной клетки костного мозга. Эта отдельная клетка-предшественница отселяется из кроветворной ткани на свою анатомическую территорию — в брюшную и плевральную полости — еще в эмбриональном периоде. Итак, место обитания В-1-лимфоцитов — *прибарьерные полости*. В-1-лимфоциты значительно отличаются от В-2-лимфоцитов по антигенраспознавательным способностям продуцируемых антител. Антитела, синтезированные В-1-лимфоцитами, не имеют значительного разнообразия варибельных участков молекул иммуноглобулинов, но, напротив, ограничены в репертуаре распознаваемых антигенов, и эти антигены — наиболее распространенные соединения клеточных стенок бактерий. Все В-1-лимфоциты представляют собой как бы один не слишком специализированный, но определенно ориентированный (антибактериальный) клон. Антитела, продуцируемые В-1-лимфоцитами, почти исключительно IgM; переключение классов иммуноглобулинов в В-1-лимфоцитах не «предусмотрено»! Таким образом, В-1-лимфоциты — «отряд» противобактериальных «пограничников» в прибарьерных полостях, предназначенных для быстрой реакции на «просачивающиеся» через барьеры инфекционные микроорганизмы из числа широко распространенных. В сыворотке крови здорового человека большая часть иммуноглобулинов — продукт синтеза как раз В-1-лимфоцитами, т.е. это относительно полиспецифичные иммуноглобулины антибактериального назначения.

В-2-лимфоциты — это лимфоциты, характеризующиеся широким разнообразием антигенраспознающих участков молекул продуцируемых ими иммуноглобулинов. Они проходят свой лимфопоз в раннем эмбриогенезе на территории печени, затем исключительно на территории костного мозга, а свой иммуногенез — строго в фолликулах периферических J лимфоидных органов. В лимфопозе В-2-лимфоцитов выделяют/6 этапов: [общая лимфоидная клетка-предшественник] → ранняя про-В-клетка → поздняя про-В-клетка → большая пре-В-клетка → малая пре-В-клетка → незрелая В-клетка → зрелая неиммунная В-клетка (выходит из костного мозга в периферическую лимфоидную ткань).

Клетки стромы костного мозга обеспечивают оседлость развивающихся В-лимфоцитов за счет взаимодействия определенных молекул межклеточной адгезии и факторы роста для необходимого числа циклов пролиферации. Как и во всех случаях клеточной дифференцировки, самые ранние механизмы

комитации к данному пути, а не к другому, неизвестны. Но ряд маркеров движения по пути В-лимфопоэза известны.

На ранней лимфоидной клетке-предшественнице экспрессируются несколько молекул адгезии, обеспечивающих оседлость в течение необходимого периода времени в костном мозге, среди них VLA-4 (very late antigen-4 — очень поздний антиген 4), лигандом которого на клетках стромы является VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1 — молекула адгезии 1 к стенке сосуда). На ранней про-В-клетке, кроме молекул адгезии, экспрессируется рецептор, называемый с-kit, для первого фактора роста — мембранной молекулы клеток стромы SCF (stem-cell factor) — стволовоклеточного фактора. Это взаимодействие обеспечивает надлежащее число митозов еще не поделенных на клоны по рецепторам для антигенов предшественников В-лимфоцитов.

На следующей стадии — поздней про-В-клетке — экспрессируется рецептор для IL-7, воспринимающий секретируемый теми же клетками стромы цитокин IL-7. Выявлен и еще один цитокин, продуцируемый клетками стромы костного мозга, нокаут гена которого полностью отменяет развитие В-лимфоцитов — это PBSF/SDF-1. Данные взаимодействия поддерживают пролиферацию про-В- и больших пре-В-клеток, в которых уже произошла перестройка генов тяжелой цепи, но еще не было перестройки генов легкой цепи. Таким образом накапливаются «полуклоны» В-лимфоцитов с уже известной специфичностью по тяжелой цепи, но еще неизвестной — по легкой. Это тоже механизм приумножения разнообразия антигенсвязывающего репертуара цельных молекул иммуноглобулинов: с одной и той же тяжелой цепью будут сочетаться в пары разные варианты легких цепей.

Главные события дифференцировки В-лимфоцитов — перестройка генов иммуноглобулинов — начинаются на стадии ранней про-В-клетки с перестройки D-J в генах тяжелых цепей, причем на обеих гомологичных хромосомах. В поздней про-В-клетке происходит рекомбинация ДНК V-DJ сначала на одной из гомологичных хромосом. Если она окажется непродуктивной, то та же попытка делается на второй гомологичной хромосоме. В случае продуктивной перестройки на первой хромосоме вторая использована не будет.

На следующей стадии в пре-В-клетке происходит перестройка V-J легких цепей, причем сначала одной из цепей — к или λ , на одной из гомологичных хромосом. Если не получится продуктивная перестройка с первой попытки в случае легких цепей, предпринимаются следующие.

Клетки, в которых не получилось ни одной продуктивной перестройки в генах тяжелых и легких цепей, *погибают* по механизму апоптоза — явления, весьма распространенного для лимфоцитов.

4.7. Рецептор В-лимфоцитов для антигена

Экспрессия на поверхности клетки продуктов перестроенных генов иммуноглобулинов, кроме того, что является главным «опорным» параметром конечной цели всей дифференцировки В-лимфоцитов, в динамике служит еще и решающими ориентирами процесса развития этих клеток.

Собственно связывание антигена — функция переменных доменов димера из тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина во всех физических состояниях молекулы этого белка, но чтобы быть рецептором для антигена на клетке «чистой» молекулы иммуноглобулина мало. Кроме того, что мембранная форма иммуноглобулина имеет дополнительный гидрофобный трансмембранный участок полипептида в тяжелых цепях, в формировании BCR участвуют еще два обязательных полипептида, называемые (неудачно) $Ig\alpha$ (CD79a) и $Ig\beta$ (CD79b) (рис. 4.6). Дело в том, что собственный цитоплазматический участок трансмембранной формы тяжелых цепей состоит из остатков всего 3 аминокислот. Этого мало, чтобы иметь эффективные связи с внутриклеточной метаболической «машиной». Рецептор же по определению не только воспринимает сигнал (физически связывает лиганд), но и *проводит его внутрь клетки*. Так вот компоненты BCR $Ig\alpha$ и $Ig\beta$ своими цитоплазматическими участками молекулы связаны с внутриклеточными тирозинкиназами, что и обеспечивает проведение сигнала от связывания антигена внутрь клетки, чтобы та могла изменить свой метаболизм в соответствии с внешними запросами. В цитоплазматических участках $Ig\alpha$ и $Ig\beta$ присутствуют характерные последовательности остатков аминокис-

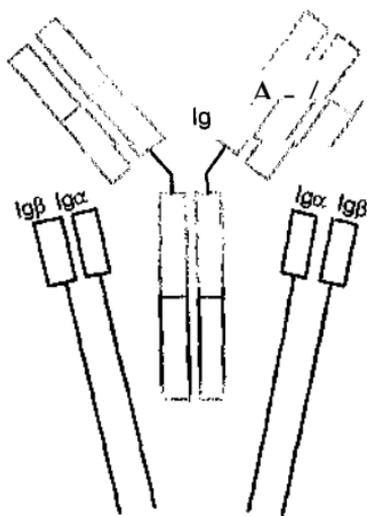


Рис. 4.6. Строение рецептора В-лимфоцита для антигена (схема).

лот, называемые *иммунорецепторными тирозинсодержащими активирующими последовательностями* (ITAM — immunoreceptor tyrosine-based activation motifs). Такие же последовательно присутствуют в проводящих сигнал компонентах рецептора Т-клеток для антигена. Таким образом известно, что первой биохимической реакцией активации внутриклеточных процессов после связывания рецептором антигена является фосфорилирование остатков тирозина в ITAM.

Ig α и Ig β имеют по одному внеклеточному домену, которым они прочно нековалентно связаны с тяжелыми цепями иммуноглобулинового компонента BCR. Экспрессия Ig α и Ig β начинается на стадии про-В-клетки и поддерживается в течение всего онтогенеза В-лимфоцита до самой терминальной стадии — плазмочита, на котором экспрессия BCR прогрессивно уменьшается до полного исчезновения.

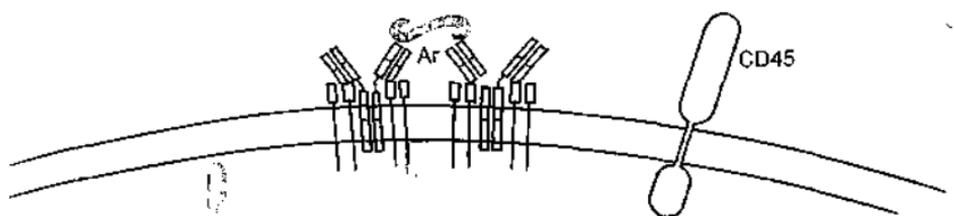
Для того чтобы произошла эффективная активация В-клетки через BCR, *необходима перекрестная шивка* антигеном нескольких BCR. Для этого молекула антигена должна иметь повторяющиеся эпитопы на своей поверхности. Дальнейшие события активации В-лимфоцита показаны на рис. 4.7.

Выявлены 4 тирозинкиназы, ассоциированные с BCR: Fyn, Vtk, Lyn и Syk. Сначала первые 3 обеспечивают фосфорилирование двух остатков тирозина в ITAM Ig α и Ig β . К фосфорилированным тирозинам присоединяется и тем активируется к действию Syk, продолжающая активационный каскад. Тирозинкиназы активируются в результате фосфорилирования в одном месте и ингибируются в результате тоже фосфорилирования, но в другом месте молекулы: так устроено, чтобы процесс активации клетки не принимал характера «вразнос».

Для активации необходимо дефосфорилирование ингибционных участков молекул тирозинкиназ. Такое дефосфорилирование катализирует мембранная тирозинспецифичная фосфатаза CD45. Эта молекула имеет несколько изоформ, экспрессирована на всех белых клетках крови, поэтому у нее есть второе название — *общий антиген лейкоцитов*.

Внутри клетки действует еще одна фосфатаза — SHP, которая дефосфорилирует активационные тирозины, чем ограничивает процесс активации лимфоцита. Мыши, у которых этот фермент отсутствует по причине мутации, реагируют на существенно меньшие дозы антигенов, чем нормальные мыши, у них необыкновенно повышен уровень пролиферации лимфоцитов, и эти мыши умирают через несколько недель после рождения с клиническими признаками разлитой аутоиммунной патологии.

Тирозинкиназа Syk активирует фосфолипазу C- γ (PLC- γ) и Ras. Ras в свою очередь активирует Raf— серин/треонинкиназу, которая фосфорилирует внутриклеточные белки по



Тирозинкиназа Syk

Тирозинкиназы
Blk, Fyn, Lyn

Тирозинфосфатаза CD45
отщепляет ингибирующие
фосфаты от ассоциирован-
ных с BCR киназ, чем
способствует их активации

Связывание BCR с антиге-
ном вызывает активацию
ассоциированных с рецеп-
тором тирозинкиназ.
Активированные киназы
фосфорилируют по остатку
тирозина цитоплазматиче-
ские участки молекул BCR

Тирозинкиназа Syk
связывается
с фосфорилированными
цитоплазматическими
участками молекул Igα и Igβ
и при этом становится
активной

Активированные киназы
фосфорилируют и тем
активируют фосфолипазу
C-γ и Ras.

Фосфолипаза C-γ расщепляет
фосфатидил-инозитолди-
фосфат (PIP₂) с образованием
диацилглицерола (DAG) и
инозитолтрифосфата (IP₃)

Ras активирует серин-
треонинкиназу Raf

DAG активирует
протеинкиназу C
(серин-треонинкиназу).

IP₃ способствует
повышению концентрации
Ca²⁺ внутри клетки

Фосфорилирование белков
клетки по остаткам серина
и треонина

Активация Ca²⁺-зависимых
ферментов

Активная Raf фосфори-
рует белки клетки по остат-
кам серина или треонина

Активация белков, взаимодействующих с ДНК. В результате происходит транскрипция с определенных генов

Рис. 4.7. Активация В-лимфоцита: внутриклеточная передача «сигнала».

остаткам серина или треонина, что вносит свой вклад в активацию ДНК-связывающих белков и тем самым способно инициировать транскрипцию с генов.

Фосфолипаза C-γ катализирует расщепление фосфатидил-инозитола бифосфата на диацилглицерол (DAG) и инозитол трифосфат (IP₃). DAG активирует протеинкиназу C — серии/треонин киназу, которая начинает фосфорилировать белки по остаткам серина или треонина, что, как и при работе Raf, заканчивается активацией транскрипции с генов. Инозитол

трифосфат стимулирует повышение в клетке концентрации свободных ионов Са. В результате активируются кальцийзависимые ферменты, что также действует в направлении активации транскрипции с генов.

На клеточном уровне *активация* представляет собой сочетание двух феноменов — *пролиферации и/или биосинтеза специфических белков*.

О том, что проведение сигнала внутрь клетки — не только конечная цель, но и необходимо для самого процесса дифференцировки, свидетельствует тот факт, что генетический дефект в тирозинкиназе Btk (Bruton's tyrosine kinase) имеет следствием иммунодефицитную патологию с полным отсутствием у человека В-лимфоцитов — X-сцепленную агаммаглобулинемию Брутона (Bruton's X-linked agammaglobulinemia — XLA).

4.8. Стадии лимфопоэза В-лимфоцитов

Введение в зародышевые клетки перестроенного трансгена тяжелой цепи полностью подавляет перестройку одноименных собственных генов клетки. Но если трансген не содержит кода для трансмембранного участка тяжелой цепи, то трансген не мешает перестройке собственного одноименного гена. Следовательно, для того чтобы в конечном счете дифференцированный В-лимфоцит имел строго один вариант тяжелой цепи и один вариант легкой, еще в процессе дифференцировки необходима экспрессия тяжелой цепи на мембране. Так оно и есть. Как только в клетке произошла трансляция полипептида тяжелой цепи, он экспрессируется на мембране в составе так называемого пре-В-рецептора. Чтобы это могло случиться, в про-В-клетке синтезируются два специальных полипептида, которые нековалентно соединяются друг с другом и это соединение называют *суррогатной легкой цепью*. Один из этих полипептидов — $\lambda 5$, второй — $VpreB$. Таким образом, пре-В-клеточный рецептор состоит из $\lambda 5 + VpreB + \mu$ -цепь + $Ig\alpha + Ig\beta$. Его экспрессия транзиторна, но абсолютно необходима для правильной дифференцировки В-лимфоцитов. После экспрессии пре-В-рецептора временно инактивируются белки RAG, и клетки вступают в процесс интенсивной пролиферации, которая прекращается с исчезновением этого рецептора. После завершения этой волны пролиферации вновь экспрессируются RAG1 и RAG2 и начинается перестройка генов легкой цепи. Как только это произойдет, на развивающемся В-лимфоците будет экспрессироваться дефинитивный BCR состава: L-цепь + μ -цепь + $Ig\alpha + Ig\beta$. Эту стадию развития называют *незрелым В-лимфоцитом*.

Маркером завершения В-лимфопоэза — образования зрелого неиммунного В-лимфоцита, готового к выходу из кост-

ного мозга в периферическую лимфоидную ткань, — является коэкспрессия на мембране двух типов BCR — с IgM и IgD (задействуется альтернативный сплайсинг РНК-транскрипта с μ δ -гена тяжелой цепи).

Прежде чем произойдет экспрессия на мембране IgD, но после того как произошла экспрессия BcR с полноценным IgM, в развитии В-лимфоцитов «предусмотрен» существенный и обязательный этап дифференцировки — *селекция (апоптоз) аутореактивных клонов* в местах прохождения лимфопозза, т.е. на территории костного мозга. В природе устроено так, что связывание антигена незрелой В-клеткой, на которой есть антигенраспознающий рецептор с IgM, но еще нет рецептора с IgD, является сигналом для апоптоза, т.е. запрограммированной гибели клетки. Таким образом, из случайного репертуара по антигенсвязывающим рецепторам на исходе лимфопозза убираются В-лимфоциты, несущие рецепторы, способные с высокой аффинностью связывать белки собственных клеток и растворимые белки, присутствующие в достаточных количествах на территории костного мозга. Такой механизм *толерантности к своему* называют *делецией клона* (clonal deletion).

Толерантностью в иммунологии называют отсутствие иммунного ответа конкретной особи на тот или иной (те или иные) антигены, на который(ые) другие особи либо та же особь, но при иных конкретных условиях онтогенеза, потенциально способны развивать иммунный ответ. *Делеция клона* — не единственный механизм установления толерантности к конкретному антигену со стороны В-лимфоцитов. Известно еще два механизма: развитие состояния ареактивности (или *анергии*) и «*редакция*» рецептора по антигенной специфичности. Эти два механизма действуют в периферических лимфоидных тканях.

Реальность механизма делеции клона, специфичного к мультивалентному антигену, который экспрессирован на мембранах собственных клеток, хорошо видна в экспериментах с трансгенными мышами. Например, в таком эксперименте, в котором трансгены — гены легкой и тяжелой цепи молекулы иммуноглобулина, специфичного к молекулам главного комплекса гистосовместимости I класса H-2K^b. У таких мышей благодаря описанным выше закономерностям все В-лимфоциты имеют один и тот же BcR с иммуноглобулином, кодируемым трансгеном. Если мыши-реципиенты такого трансгена в собственном организме не имеют антигена-мишени (т.е. H-2K^b), у них имеется нормальное количество В-лимфоцитов в периферических лимфоидных тканях, только все они с одним и тем же рецептором. Но если мыши-реципиенты сами имеют ген/антиген H-2K^b, то у них находят нормальное количество пре-В-клеток, которые, однако, все погибают на территории

костного мозга апоптозом и в периферических лимфоидных тканях В-лимфоцитов совсем нет. По тому же механизму клональной делеции погибают и В-лимфоциты на периферии, если они несут рецептор, способный связывать молекулы мембран клеток, которые представлены в большом количестве в тех или иных тканях (например, в печени).

Если незрелый В-лимфоцит (с IgM, но без IgD) связывает растворимый антиген (например, в организме дважды трансгенных мышей: один трансген кодирует синтез растворимого белка, второй — антитела к нему), то лимфоцит не элиминируется апоптозом, а остается в организме, но приобретает состояние *анергии*: в результате связывания антигена с рецептором не наступает активация лимфоцита к иммунному ответу, наоборот, развивается блок проведения сигнала.

У зрелых В-лимфоцитов в периферических лимфоидных тканях на большие дозы растворимых антигенов и особенно при отсутствии адекватного взаимодействия с Т-хелперами так же развивается состояние анергии. Такие клетки долго не живут и в течение нескольких дней все равно погибают.

Для полноценной реакции на антиген лимфоциту мало только рецептора для антигена. У лимфоцитов есть еще такой обязательный фактор, как *корцепторный комплекс* мембранных молекул, связанных с внутриклеточными системами проведения сигналов. Не на каждом антигене есть повторяющиеся эпитопы, следовательно, не каждый антиген способен вызвать перекрестную сшивку (или агрегацию) BCR. Вот

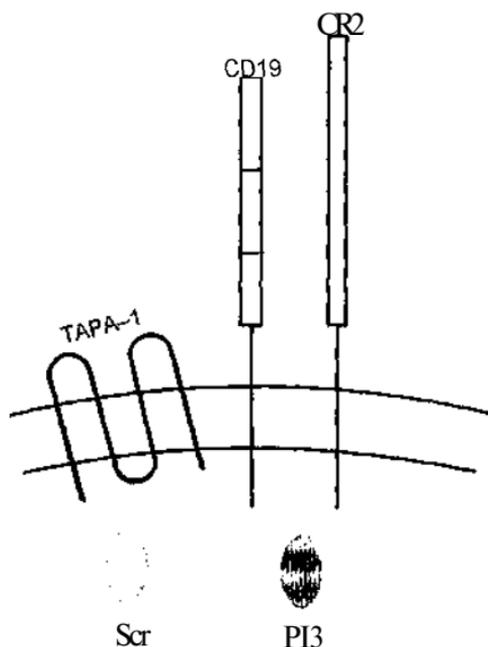


Рис. 4.8. Корцепторный комплекс В-лимфоцита.

Связывание рецептора для компонента (CR₂) с лигандом приводит к фосфорилированию молекулы CD19. Фосфорилированная молекула CD19 связывает тирозинкиназы Lyn (из семейства тирозинкиназ Src) и PI-3 (фосфатидилинозитол-3-киназу), которые вносят свой вклад в фосфорилирование ITAM (тирозинсодержащих последовательностей в цитоплазматическом участке иммунорецептора, обеспечивающих передачу активационного сигнала) BCR, что усиливает активацию В-лимфоцита. TAPA-1 (от Target of anti proliferative antibody) — мембранная молекула, структурно ассоциированная с рецептором В-лимфоцита для антигена; ее функции точно еще не охарактеризованы.

в этих случаях и нужны дополнительные сигналы. В корцепторный комплекс В-лимфоцитов входят по крайней мере такие мембранные молекулы, как *CD19/CR2 (CD21)/ТАРА-1* (рис. 4.8).

Молекула *CD 19* экспрессирована на всех В-клетках, начиная с ранних стадий лимфопоэза. Генетический нокаут мышей по *CD19* приводит к выраженному дефициту В-клеточного иммунного ответа на любой антиген. Точные механизмы участия *CD 19* в активации В-лимфоцита антигеном неизвестны. В мембране *CD 19* физически ассоциирована с рецептором 2-го типа для компонентов комплемента — *CR2 (CD21)*. Связывание *CR2* с компонентами комплемента имеет следствием фосфорилирование молекулы *CD 19* ассоциированными с *BCR* киназами. Фосфорилированная молекула *CD 19* связывает фосфатидилинозитол-3-киназу и молекулу *vac* (многофункциональная молекула проведения внутриклеточных сигналов), которые *усиливают* активационные реакции, инициированные с *BCR*. Физически в мембране к *CD19* и *CR2* примыкает *ТАРА-1 (CD81)*, но роль этой молекулы неизвестна.

В результате только совместной работы *BCR* и корцепторного комплекса возможен запуск в клетке таких процессов, как *пролиферация, экспрессия на мембране молекул, необходимых для взаимодействия с Т-лимфоцитами, экспрессия на В-лимфоцитах молекул МНС-II, необходимых для представления В-лимфоцитом антигена Т-лимфоциту для распознавания.*

Приведем краткие суммированные сведения о динамике приобретения признаков дифференцировки во время развития В-лимфоцитов (лимфопоэза) (табл. 4.3).

После распознавания антигена и вступления в иммунный ответ в периферических лимфоидных органах и тканях В-лимфоцит пройдет еще две стадии додифференцировки, которые называют *иммуногенезом*. На второй из этих стадий произойдет дихотомия: В-лимфоцит станет либо В-лимфоцитом памяти (уйдет в дифференцированный резерв на случай, если тот же антиген попадет во внутреннюю среду организма повторно), либо плазматической клеткой — терминальным продуцентом больших количеств секретируемого иммуноглобулина заданной специфичности. Собственно иммуногенез мы будем разбирать ниже, здесь, забегаая вперед, приведем признаки дифференцировки В-лимфоцитов на разных стадиях иммуногенеза в В-лимфоциты памяти и плазматические клетки (табл. 4.4).

Третий механизм избегания аутореактивности В-лимфоцитов, «редакция» рецептора, — используется, по-видимому, в небольшом проценте незрелых В-клеток, в которых еще активны гены перестройки *RAG-1* и *RAG-2*. В этих клетках связывание *IgM* в составе *BCR* на поверхности незрелого В-лимфоцита с антигеном является сигналом для запуска нового

Таблица 4.3. Стадии (признаки) дифференцировки В-лимфоцитов в лимфопоэзе

| Стадия развития В-лимфоцита в лимфопоэзе | Состояние генов тяжелой цепи | Состояние генов легкой цепи | Экспрессия особых внутриклеточных белков | Маркеры клеточной мембраны |
|---|---|-----------------------------|--|--|
| Общая лимфоидная клетка-предшественник | Зародышевая конфигурация | Зародышевая конфигурация | RAG1/ RAG2 | CD34 CD45 |
| Ранняя про-В-клетка | Перестройка DJ | То же | RAG1/ RAG2 TdT VpreB $\lambda 5$ | CD34 CD45 CD10 CD19 CD38 MHC-II CD45R |
| Поздняя про-В-клетка (интенсивно пролиферирует) | Перестройка V-DJ | » » | TdT VpreB $\lambda 5$ Рецепторы для IL-7 | CD10 CD19 CD38 CD20 CD40 MHC-II |
| Большая пре-В-клетка (интенсивно пролиферирует) | Перестроенный VDJ | » » | RAG1/ RAG2 VpreB M $\lambda 5$ Рецепторы для IL-7 | CD45R MHC-II Pre-BCR CD19 CD20 CD38 CD40 |
| Малая пре-В-клетка | То же | Перестройка V-J | Тяжелая μ -цепь Легкая κ -или λ -цепь | CD45R MHC-II CD19 CD20 CD38 CD40 |
| Незрелая В-клетка | Перестроенный VDJ в μ -цепи в трансмембранной форме | Перестроенный VJ | — | CD45R MHC-II CD19 CD20 CD40 BCR-IgM |
| Зрелая неиммунная В-клетка | Экспрессия IgM и IgD | Экспрессия легкой цепи | — | CD45R MHC-II CD19 CD20 CD21 CD40 BCR-IgM/ BCR-IgD |

Таблица 4.4. Признаки дифференцировки В-лимфоцитов в процессе развития иммунного ответа (иммуногенеза)

| Стадия развития В-лимфоцита в иммуногенезе | Состояние генов/РНК/белка тяжелой цепи | Состояние генов/РНК/белка легкой цепи | Экспрессия особых внутриклеточных белков | Маркеры клеточной мембраны |
|--|---|--|---|---|
| Лимфобласт | Альтернативный сплайсинг РНК, биосинтез секреторируемой формы μ -цепи | Продуктивный синтез легкой цепи | Специфическое антитело | CD45R MHC-H CD19 CD20 CD21 CD40 |
| В-лимфоцит памяти | Произошло переключение класса тяжелой цепи с μ на γ , ϵ или α . В V-генах произошли гипермутирование и отбор наиболее аффинных антител | В V-генах произошли гипермутирование и отбор наиболее аффинных антител | — | CD45? MHC-П BCR-IgG Или IgA, или IgE CD19 CD20 CD21 CD40 |
| Плазмоцит | Массовая продукция тяжелых цепей заданного типа | Массовая продукция легких цепей заданного типа | Массовая продукция цельных иммуноглобулинов в секреторной форме | Антиген плазмочитов-1 (CD38) |

процесса рекомбинации VDJ/VJ на второй из двух гомологичных хромосом: если «повезет», то для второго варианта VDJ/VJ на территории костного мозга не найдется антигена и В-лимфоцит выживет и будет иметь шанс быть использованным на периферии.

В костном мозге молодых здоровых мышей ежедневно вступают в митоз $30-40 \times 10^6$ клеток. Из них только $10-15 \times 10^6$ клеток (меньше половины) выходит на периферию. Столько же периферических В-лимфоцитов ежедневно отмирает. Это ежедневное обновление пула составляет 5—10 % общего числа периферических В-лимфоцитов. Если «новый» В-лимфоцит по каким-то причинам не попал в лимфоидный фолликул периферических лимфоидных тканей, то его время полужиз-

ни не превысит 3 дней. В лимфоидных фолликулах неиммунные В-лимфоциты имеют время полужизни от 3 до 8 нед: все это время они готовы встретить «свой» антиген и вступить в процесс иммуногенеза, т.е. развития иммунного ответа, и стать либо плазмочитом, либо В-лимфоцитом памяти.

Специализированное анатомическое место пребывания В-лимфоцитов в периферической лимфоидной ткани — фолликулы. В фолликулах В-лимфоциты удерживаются связями со специальными клетками стромы — дендритными клетками фолликулов (FDC — follicular dendritic cells). FDC — это не те же самые дендритные клетки, которые присутствуют в покровных тканях [под названием клеток Лангерганса (белых отростчатых эпидермоцитов — по новой классификации)], в тимусе (интердигитальные) и циркулируют в крови. Это другие по гистогенетическому происхождению клетки, по крайней мере FDC не костномозгового происхождения.

На FDC экспрессированы рецепторы для иммуноглобулинов — Fc-рецепторы, отличающиеся двумя особенными свойствами. Первое, самое необычное, заключается в том, что, связав однажды комплекс антиген — антитело через FcR, FDC способны нести его на себе продолжительное время (дни, месяцы, возможно годы). Второе свойство FcR FDC — комплекс антиген — антитело не поглощается внутрь клетки.

Именно в фолликулах в связи с FDC В-лимфоцит, распознавший свой антиген и вступивший еще при прохождении через Т-зависимую парафолликулярную зону лимфатического узла (или другого периферического лимфоидного органа) в адекватное взаимодействие с также распознавшим антиген Т-лимфоцитом, интенсивно пролиферирует. На этой стадии развития В-лимфоциты называют *центробластами*.

В центробластах происходит уникальное даже среди лимфоцитов явление — *возрастание аффинности* антител в отношении своего антигена (по английски это называют affinity maturation). В дифференцировке Т-лимфоцитов аналогичного процесса нет.

Феномен возрастания аффинности антител по мере прогрессивного развития иммунного ответа — пример классического дарвиновского процесса на клеточном уровне. Уникальной особенностью молекулярной генетики В-лимфоцитов является запрограммированность на повышенную частоту соматических мутаций в уже перестроенных V-генах иммуноглобулинов: в центробластах происходит замена одной пары нуклеотидов (п.н.) на каждые 10^3 п.н. на 1 митоз. Во всяком другом участке ДНК такое событие случается с вероятностью 10^{-12} , т.е. на 9 порядков реже. Получается, что каждый второй центробласт несет мутацию в V-области молекулы иммуноглобулина. Чем выше оказывается сила связи иммуноглобулина в составе BcR (больше аффинность) с антигеном, присутству-

ющим в фолликуле на поверхности FDC, тем больше вероятность выживания данного В-лимфоцита, ибо на этом этапе дифференцировки связь с антигеном является антиапоптозным сигналом на выживание — происходит индукция экспрессии антиапоптозного гена bcl-2. Если в результате генетической или эпигенетической аномалии имеет место повышенная экспрессия антиапоптозных генов, то развивается процесс, который называют лимфопролиферативным, т.е. возникают опухоли из центробластов.

В терминальной стадии дифференцировки В-лимфоцита, в плазмоците, сильно развит эндоплазматический ретикулум. Более 20 % всего белкового синтеза плазмоцита составляют секретируемые иммуноглобулины. На мембране плазмоцита иммуноглобулинов уже нет. На плазмоцитах нет и МНС-П; в них невозможно уже переключение классов иммуноглобулинов, невозможно соматическое гипермутирование иммуноглобулиновых генов. Продукция антител плазматической клеткой уже не зависит от контакта с антигеном, не зависит и от взаимодействий с Т-лимфоцитами. ~~Первые плазматические клетки локализуются на территории лимфатического~~ узла, в котором инициирован иммунный ответ, в мозговых тяжах (medullary cords), эти клетки вырабатывают антитела для «внутреннего пользования»: данные антитела связывают антиген в комплекс и фиксируются на фолликулярных дендритных клетках. По мере прогрессивного иммунного ответа прошедшие аффинное созревание В-лимфоциты превращаются в плазмоциты, которые мигрируют из лимфатического узла в костный мозг или в lamina propria эпителиальных тканей, где живут и работают в течение почти 4 нед. Этим сроком и ограничена продолжительность гуморального иммунного ответа.

Для всех описанных стадий развития В-лимфоцитов описаны и соответствующие опухоли, сохраняющие и локализацию, и фенотипические признаки исходной нормальной клетки. Опухоли из лимфоцитов всегда клональны, судя по перестроенным генам иммуноглобулинов, т.е. происходят из одной клетки. Именно на опухолях из В-лимфоцитов была изучена молекулярная генетика иммуноглобулинов. Плазмоцитомы (син. миеломы) локализуются в костном мозге. Хотя они являются опухолями из зрелых клеток, но растут, как правило, агрессивно, так как микроокружение изобилует факторами роста.

В типичных случаях нозологический диагноз лейкоза соответствует той или иной нормальной субпопуляции или стадии развития В-лимфоцитов (табл. 4.5).

В опухолевых лимфоидных клетках часто обнаруживают транслокации, при которых локусы генов иммуноглобулинов оказываются физически приближенными к генам регуляции пролиферации.

Таблица 4.5. В-клеточные лейкозы

| Нозология | Нормальный клеточный эквивалент | Локализация опухоли |
|---|---|--|
| Хронические лимфолейкозы | CD5 ⁺ В-1-лимфоциты | Кровь |
| Острый лимфобластный лейкоз | Ранние лимфоидные клетки-предшественники | Костный мозг и кровь |
| Пре-В-лейкоз | Пре-В-клетки | То же |
| Фолликулярная лимфома Беркитта (Burkitt's) | Зрелые В-лимфоциты | Периферические лимфоидные органы (фолликулы) |
| Макроглобулинемия Вальденстрема (Waldenstrom's) | IgM-секретирующие В-лимфоциты | Периферические ткани |
| Множественная миелома (плазмочитома) | Плазматические клетки (могут быть иммуноглобулины разных классов) | Костный мозг |

Нормальные клеточные гены, контролирующие пролиферацию, называют *протоонкогенами*. Онкогенами в свое время были названы открытые гены РНК-содержащих вирусов, ответственные за опухолевое перерождение инфицированных вирусом клеток.

Позже выяснили, что эти гены вирусы «списывают» с клеточных генов, которые и назвали протоонкогенами. Протоонкогеном является антиапоптозный ген *bcl-2*.

4.9. Конститутивные иммуноглобулины (нормальные антитела)

Если в организм модельного млекопитающего не проникает ни один патоген и ни один антиген иной природы, в крови и биологических жидкостях этого организма тем не менее будут присутствовать (и в немалом количестве) иммуноглобулины. Есть они и у естественно развивающихся организмов. Такие иммуноглобулины называют *нормальными*, или *конститутивно синтезируемыми*. Что это за иммуноглобулины? Это аутоантитела, т.е. антитела, направленные против молекул собственного организма. Они принадлежат к классам М, G и А, у взрослых большинство — к IgG. Антитела полиреактивны, т.е. способны связывать множество антигенов, как ауто-, так и экзогенных. В связывании антигенов этими нормальными антителами, как показывают опыты по направленному мутагенезу, принимает участие область CDR3 в V_H-до-

мене тяжелых цепей и антигенсвязывающий центр кодируется зародышевыми V-генами.

Как правило, эти антитела имеют низкую аффинность, но высокую avidность к аутоантигенам. Константы диссоциации для нормальных иммуноглобулинов колеблются от 10^5 до 10^8 М. Но, например, для нормального аутоантитела к IL-1 α константа диссоциации составляет 5×10^{11} М. Нормальные IgM-антитела обнаруживают уже в пуповинной крови новорожденных, и спектр их реактивности консервативно сохраняется во взрослой жизни. Это говорит о том, что нормальные иммуноглобулины подвержены некоему положительному отбору в онтогенезе. Выявлены следующие антигены — мишени для нормальных иммуноглобулинов: идиотопы переменных областей других иммуноглобулинов; каркасные и невариабельные участки молекул T-клеточных рецепторов для антигенов; молекулы CD4, CD5 и HLA-I; Fc γ -рецепторы; лиганды для молекул межклеточной адгезии и др.

Есть основания полагать, что нормальные антитела выполняют ряд весьма важных для здоровья организма функций:

- первая линия «обороны» против инфекций;
 - удаление из организма отживших клеток и продуктов катаболизма;
 - представление антигенов для T-лимфоцитов (иммуноглобулины на мембране B-лимфоцитов связывают растворимые антигены в крови, лимфоцит интернализует их рецепторопосредованным эндоцитозом, и внутри клетки образуются комплексы пептидов с молекулами главного комплекса гистосовместимости, которые экспрессируются на мембране B-лимфоцита);
 - поддержание гомеостаза аутоиммунной реактивности;
- β противовоспалительное действие (нейтрализация супер-антигенов: индукция синтеза противовоспалительных цитокинов; аттенуация комплементзависимого повреждения тканей и др.).

Например появляются данные о том, что в случае клинической манифестации некоторых патологических аутоиммунных болезней, в патогенезе которых действуют IgG-аутоантитела, имеет место дефект регуляции этих патогенных IgG со стороны нормальных антиидиотипических IgM-антител. Показано, что в периоды ремиссии аутоиммунных васкулитов, в патогенезе которых действуют антинейтрофильные IgG-антитела (ANCA), в крови в достаточных количествах появляются антиидиотипические по отношению к ANCA IgM-антитела. Вероятно, лечебные эффекты от введения людям с разными заболеваниями препаратов донорских иммуноглобулинов объясняются именно комплексным «противовоспалительным» действием нормальных иммуноглобулинов.

Глава 5. Т-ЛИМФОЦИТЫ. ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

5.1. Дифференцировка Т-лимфоцитов

Сущность дифференцировки всякого лимфоцита, как Т, так и В, состоит в *экспрессии антигенраспознающего рецептора* и необходимых дополнительных сервисных молекул, чтобы факт распознавания антигена имел действенные последствия, направленные на санацию организма от мешающих антигенов. Эти сервисные молекулы (мембранные, а также секретируемые цитокины) обеспечивают взаимодействие Т-лимфоцитов с другими клетками организма.

Антигенраспознающий рецептор Т-лимфоцитов обозначают TCR (T-cell receptor). TCR кодируется генами из суперсемейства иммуноглобулинов, т.е. родственниками генов иммуноглобулинов. Молекула TCR представляет из себя как бы $1/4$ молекулы иммуноглобулина — аналог одного Fab-фрагмента. TCR является гетеродимером — состоит из двух равновеликих полипептидных цепей. У млекопитающих известно две разновидности пар цепей в TCR. В одной паре цепи обозначают α и β , соответствующие Т-лимфоциты — $T\alpha\beta$. Вторая пара цепей — γ и δ , соответствующие Т-лимфоциты обозначают $T\gamma\delta$. Каждый индивидуальный Т-лимфоцит несет какой-либо один вариант рецептора — либо $\alpha\beta$, либо $\gamma\delta$.

В отличие от иммуноглобулинов TCR исключительно трансмембранные молекулы, т.е. Т-лимфоцит всегда работает собственным «клеточным телом».

Более того, в отличие от иммуноглобулинов TCR $\alpha\beta$ не способен распознавать (связывать) *растворимые антигены*. Это относится по крайней мере к $T\alpha\beta$ подавляющему большинству антигенов, за исключением патогенных суперантигенов.

Что же тогда распознают Т-лимфоциты? Природой Т-лимфоциты предназначены для распознавания поверхностных структур *собственных* клеток организма. Если что-то на поверхности своих клеток будет «раздражать» Т-лимфоцит (например, примесь вирусных пептидов), то он постарается организовать уничтожение поврежденной клетки.

Т-лимфоцит распознает (связывается с) комплекс МНС-I или МНС-II с неким пептидом, который и есть антиген в общем понимании. Один определенный участок молекулы TCR вступает в химическую связь с молекулой МНС-I/II, второй участок того же TCR в тот же момент времени вступает в связь с пептидом-антигеном. Этот феномен называют *двойным распознаванием*. Он был открыт Р.Цинкернагелем (R.M.Zinkernagel) и П.Дохерти (P.C.Doherty) более 20 лет

назад, в 1996 г. они получили за это открытие Нобелевскую премию. Их первая публикация в журнале «Nature» относится к 1974 г. и занимает половину страницы. Но это открытие многие расценивают как самое великое в иммунологии за последние 100 лет. В англоязычной литературе этот феномен называют еще МНС-рестрикцией Т-лимфоцитов (MHC-restricted T cells).

Существенно, что пептид-антиген присоединяется к молекулам МНС не снаружи клетки, т.е. он не сорбируется на клетке. Пептид-антиген встраивается в комплекс с МНС при формировании конформации молекул МНС после их биосинтеза в клетке и перед их экспрессией на клеточной мембране молекул. МНС без пептидов вообще не бывает на наружной мембране клеток, они просто не могут быть экспрессированы, не примут правильной конформации, если еще внутри клетки не вступят в связь с пептидом определенной длины.

Таким образом, подавляющее большинство Т-лимфоцитов с рецептором $TCR\alpha\beta$ не распознают свободные нативные антигены (еще раз подчеркнем отличие от иммуноглобулинов, которые как раз умеют работать с нативными антигенами в том виде, в каком «судьба забросила» их во внутреннюю среду организма или даже на слизистые оболочки). Другие клетки должны каким-то образом пропустить антиген через себя и выставить его на своей мембране в комплексе с МНС-I/II, чтобы Т-лимфоцит «обратил на антиген свое внимание». Это и есть феномен *представления антигена* (или, как иногда говорят, транслитерацией с английского — *презентации антигена*) Т-лимфоциту. Какие клетки в организме способны быть антигенпредставляющими и механизмы этого процесса мы разберем в отдельном разделе, здесь лишь отметим строгую необходимость представления антигена Т-лимфоциту другими клетками.

5.2. Строение рецептора Т-лимфоцитов для антигена (TCR)

Вторичная и третичная структуры рецепторов $TCR\alpha\beta$ и $TCR\gamma\delta$ принципиально аналогичны. Поэтому мы опишем строение рецептора Т-лимфоцитов для антигена на примере $TCR\alpha\beta$. Т-лимфоциты с $\alpha\beta$ -рецептором — это более «привычные» Т-лимфоциты, которые стали известны на несколько десятков лет раньше, чем $\gamma\delta$; 99 % Т-лимфоцитов, проходящих лимфопоз в тимусе, это $T\alpha\beta$.

$TCR\alpha\beta$

TCR был открыт как особая молекула на клеточной мембране Т-лимфоцитов, с которой связываются моноклональные антитела, полученные как специфично реагирующие с инди-

видуальным клоном Т-лимфоцитов. С помощью таких антител «увидели», что на отдельном Т-лимфоците экспрессировано около 30 000 таких антигенспецифичных молекул. Быстро изучили молекулярную структуру рецептора. Оказалось, что собственно антигенсвязывающая часть его состоит из двух равновеликих полипептидных цепей — α (мол. масса 40 000—60 000, кислый гликопротеин) и β (мол. масса 40 000—50 000, нейтральный или основной гликопротеин). Каждая из цепей имеет по два домена во внеклеточной части, гидрофобную положительно заряженную (за счет остатков лизина и аргинина) трансмембранную часть и короткий (из 5—12 остатков аминокислот) цитоплазматический участок. Между собой цепи соединены одной дисульфидной связью выше мембраны. Каждый из внеклеточных доменов имеет по одному сайту (месту связывания) гликозилирования и соответственно гликозилирован.

Наружные внеклеточные домены обеих цепей имеют переменный аминокислотный состав от рецептора к рецептору (от лимфоцита к лимфоциту), гомологичные V-области молекул иммуноглобулинов и названные одноименно — V-областью TCR. Проксимальные домены обеих цепей гомологичны константным областям молекул иммуноглобулинов и также названы одноименно — C-областью TCR. Соответственно обозначены и гены, кодирующие эти области полипептидов: $V\alpha$ и $C\alpha$, $V\beta$ и $C\beta$.

Именно V-области α - и β -цепей вступают в связь с комплексом MHC-I/II — пептидом. Место контакта с пептидом в α -цепи — участок CDR3, причем с центральной частью пептида вступает в связь участок контакта $V\alpha$ — $J\alpha$.

Короткий цитоплазматический участок как у α -, так и β -цепи физически недостаточен для обеспечения проведения сигнала внутрь клетки. Для проведения сигнала с TCR служат входящие в рецепторный комплекс еще 6 инвариантных (т.е. одинаковых у всех Т-лимфоцитов) полипептидных цепей: γ , δ , две ϵ и две ζ . Цепи γ , δ и две ϵ расположены по паре по бокам от α - и β -цепей. Комплекс $\gamma + \delta + 2\epsilon$, как выяснили, и составляет мембранную структуру CD3, идентифицированную раньше по реактивности с моноклональными антителами, связывающими все без исключения Т-лимфоциты. Цепи γ , δ и ϵ имеют внеклеточный, трансмембранный (отрицательно заряженный за счет остатков аспарагина и поэтому электростатически связанный с трансмембранными участками α - и β -цепей) и цитоплазматический участки. В случае генетических дефектов в комплексе CD3 α - и β -цепи на мембране Т-лимфоцита не появляются. Это свидетельствует о том, что полипептиды γ , δ и ϵ строго необходимы для формирования правильной конформации α - и β -цепей и экспрессии их на мембране.

Рис. 5.1. Строение рецептора Т-лимфоцитов для антигена (TCR $\alpha\beta$) (схема).

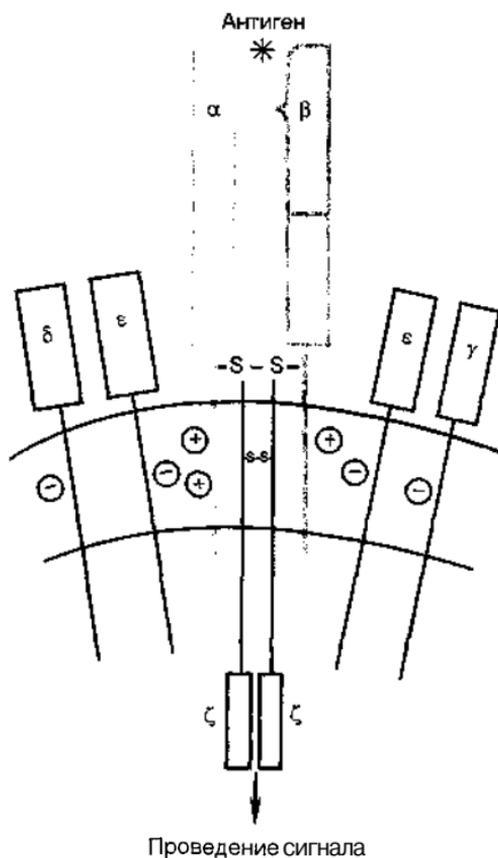
Рецептор состоит из 8 полипептидных цепей. Антигенсвязывающая область рецептора формируется цепями α и β ; цепи γ , δ , ϵ (вместе их называют комплексом CD3) необходимы для экспрессии цепей α и β , их стабилизации и, вероятно, проведения сигнала внутрь клетки; ζ -цепь — самая «внутриклеточная», обеспечивает проведение сигнала внутрь клетки.

Полипептиды комплекса CD3 — γ , δ и ϵ высокогомологичны друг другу. Их гены локализованы рядом, все в хромосоме 11 у человека, и, очевидно, произошли путем дупликации от одного предкового гена. Две ζ -цепи соединены между собой дисульфидной связью, в мембране встроены между трансмембранными участками α - и β -цепей и большая часть полипептидной ζ -цепи уходит в цитоплазму клетки. Там эта цепь и «задействуется» в реакциях проведения сигнала при связывании антигена V-областями α и β на внутриклеточные структуры и процессы.

Во всех цитоплазматических участках полипептидных цепей γ , δ , ϵ и ζ содержатся последовательности аминокислот — ПАМ (immunoreceptor tyrosine-based activation motifs), которыми эти полипептиды взаимодействуют с протеин-тирозинкиназами цитозоля (активация этих ферментов и составляет биохимическую суть реакций по проведению сигнала).

Схематически структура TCR, состоящего из 8 полипептидных цепей, представлена на рис. 5.1.

Рецептор для антигена присоединяет свои лиганды ионными, водородными, ван-дер-ваальсовыми и гидрофобными связями. Рецептор достаточно «жив» и подвижен. При связывании с антигеном его конформация существенно изменяется. Как показывают исследования с применением самых современных методов с использованием трансгенных по TCR мышей (у которых все Т-лимфоциты имеют единственный вариант TCR) и коллекции синтетических пептидов и кон-



тролируемых комплексов пептидов с растворимыми молекулами МНС, один TCR потенциально способен связывать достаточно много разных антигенов (если под антигенами понимать 9-членные пептиды): по минимальным оценкам 10^3 , по максимальным — 10^7 , по наиболее точным оценкам порядка 10^5 . Причем один TCR связывает не только родственные по структуре антигены (их понимают как перекрестно реагирующие), но и антигены, *не имеющие* гомологии в структуре.

5.3. Гены α - и β -цепей рецептора Т-лимфоцитов для антигена

Гены α - и β -цепей (а также γ - и δ -цепей) устроены гомологично генам иммуноглобулинов и претерпевают соматическую рекомбинацию (перестройку ДНК) в процессе дифференцировки Т-лимфоцитов. Это и обеспечивает генерацию разнообразия антигенсвязывающих свойств TCR, оцениваемого так же, как и для иммуноглобулинов: теоретически порядка 10^{16} — 10^{18} вариантов, реально в 1000—10 000 раз меньше соответственно числу лимфоцитов в организме.

Гены «-цепи имеют 70—80 V-сегментов и 61 J-сегмент, комбинации которых по одному из каждой области обеспечивают дополнительное разнообразие антигенсвязывающих свойств TCR. Гены β -цепи имеют 52 V-сегмента, 2 D-сегмента и 13 J-сегментов, а также 2 C-сегмента, расположенных, как показано на рис. 5.2. Между V- и J-сегментами «-цепи находится локус генов δ -цепи второго варианта TCR — $\gamma\delta$. Локус δ состоит из 3 D-сегментов, 3 J-сегментов, 1 C-сегмента.

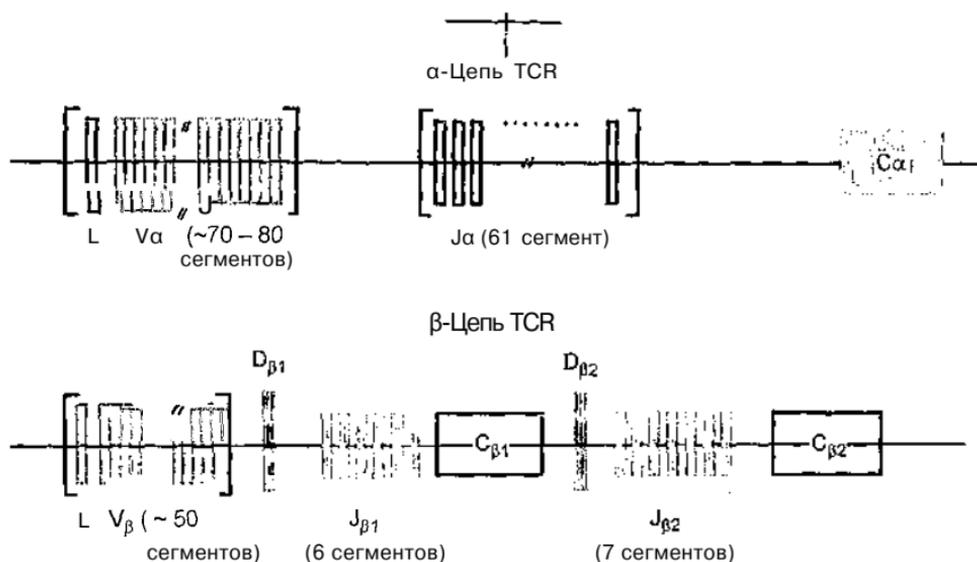


Рис. 5.2. Структура генов α - и β -цепей рецептора Т-лимфоцитов для антигена (схема).

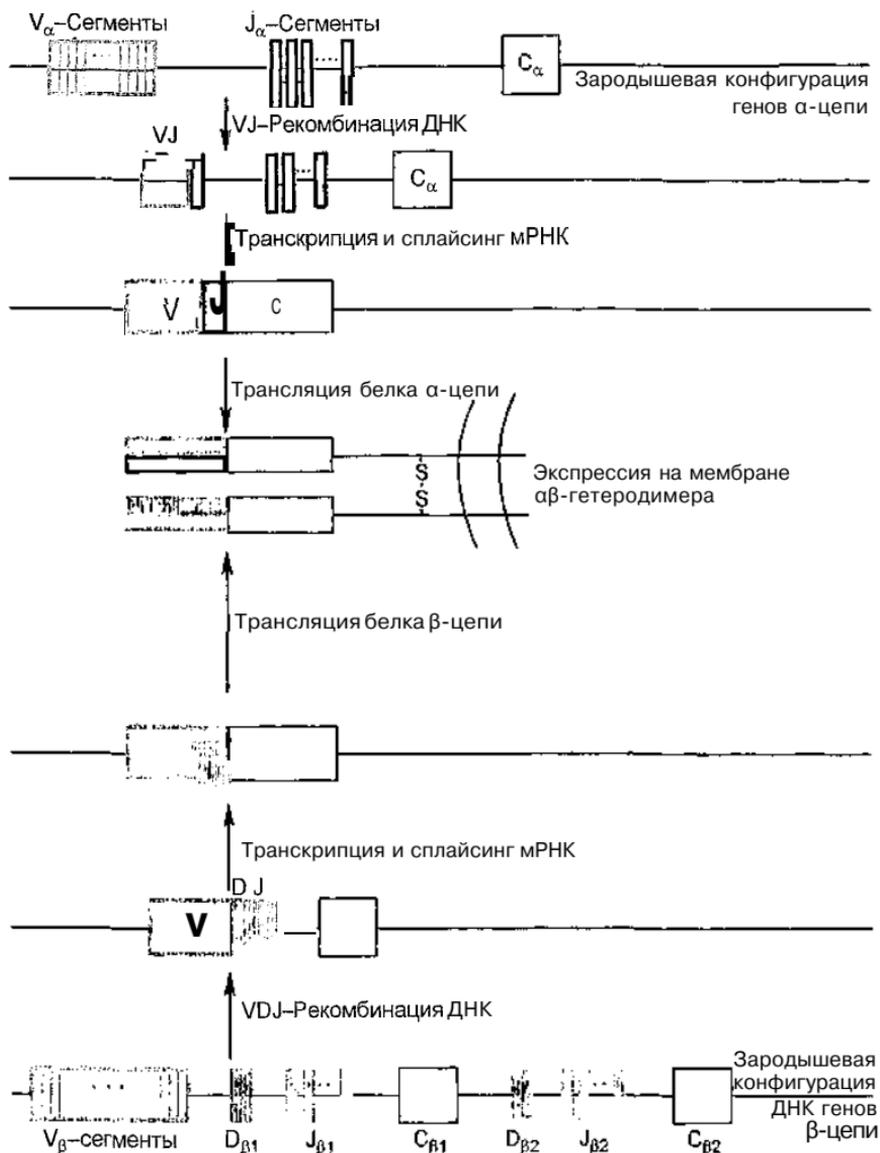


Рис. 5.3. Перестройка и экспрессия генов рецептора Т-лимфоцитов для антигена.

V-сегменты δ -цепи (ориентировочно их всего 4) «вкраплены» среди V-сегментов α -цепи.

Рекombинация ДНК происходит только при объединении V-, D- и J-сегментов и катализируется тем же комплексом рекомбиназ и под контролем тех же генов RAG-1 и RAG-2, которые действуют при дифференцировке В-лимфоцитов. Только субстрат для рекомбиназ — гены TCR, а не гены Ig в Т-лимфоцитах — определяют тканеспецифичные промото-

ры. Рекомбиназы «узнают» определенные гептамерные или нонамерные последовательности, фланкирующие каждый из сегментов V, J, D и называемые recombination signal sequences — последовательностями, сигнальными для рекомбинации. Перед каждым V-экзоном имеется L-экзон (leader sequence — лидерная последовательность), который обязательно транслируется и обеспечивает правильное расположение полипептидной цепи в эндоплазматическом ретикулуме и правильную экспрессию на клеточной мембране (рис. 5.3).

После перестройки VJ в генах α -цепи и VDJ в генах β -цепи, а также присоединения некодируемых N- и P-нуклеотидов с ДНК транслируется РНК. Объединение с C-сегментом и удаление лишних неиспользуемых J-сегментов осуществляются уже на уровне РНК сплайсингом в первичном транскрипте.

Гены α -цепи могут перестраиваться неоднократно при уже правильно перестроенных и экспрессированных генах β -цепи. Параметры разнообразия антигенсвязывающих участков Т-клеточных рецепторов приведены в табл. 5.1.

Программа для соматического гипермутагенеза в генах TCR отсутствует (в отличие от генов иммуноглобулинов).

Столь большое число — от 10^{18} до 10^9 — потенциально возможных вариантов антигенсвязывающих рецепторов на лимфоцитах является попыткой медленно размножающихся и медленно эволюционирующих видов многоклеточных организмов «угнаться» за изменчивостью сверхбыстро размножающихся и эволюционирующих инфекционных микроорганизмов. Природа сделала такой шаг — наделила суперизменчивостью в процессе онтогенеза в рамках одного тела единственный гистотип клеток (только лимфоциты) и единственную категорию молекул в этих клетках (антигенраспознающие рецеп-

Таблица 5.1. Параметры разнообразия антигенсвязывающих областей TCR

| Генетический элемент | Число вариантов | |
|---|-----------------|---------------|
| | α -цепь | β -цепь |
| Зародышевое число V-сегментов | ≈ 70 | ≈ 52 |
| Зародышевое число D-сегментов | 0 | 2 |
| Транскрипция D-сегментов по 3 рамкам считывания | — | Часто |
| Зародышевое число J-сегментов | ≈ 61 | ≈ 13 |
| Присоединение N- и P-нуклеотидов | 1 | 2 |

торы — TCR, Ig). Лимфоцитарный иммунитет есть у очень небольшого числа видов земных многоклеточных животных, напомним — всего у 1,4 %. Следовательно, 98,6 % видов многоклеточных не имеют лимфоцитарной иммунной системы. Лимфоцитарный иммунитет понадобился для спасения от инфекций особей таких видов животных, которые оставляют единичное потомство — рожают редко и мало детенышей, значит, если не каждому, то большинству надо выжить, чтобы сохранился вид. Лимфоциты со своими рецепторами появились 300 млн лет назад, вероятно, у челюстных рыб (jawed fish).

5.4. Корецепторные молекулы Т-лимфоцитов — CD4 и CD8

Как уже отмечали, TCR $\alpha\beta$ распознает антиген-пептид только в связи с молекулами МНС-I или II. Каждый конкретный Т-лимфоцит предназначен для работы с молекулами либо I класса, либо II класса МНС. Собственно в связь с МНС (ионными, ван-дер-ваальсовыми, водородными и гидрофобными связями) вступают вариабельные участки полипептидных цепей α и β . Но со стороны Т-лимфоцита есть еще одна из двух (у индивидуального лимфоцита какая-то одна) мембранных молекул, вступающих в связь с молекулами МНС на антигенпредставляющих клетках или клетках-мишенях для Т-лимфоцитов — это молекулы CD4 и CD8. Молекула CD4 имеет химическое сродство и вступает в связь с инвариантной частью молекулы МНС-II (β_2 -доменом), молекула CD8 — с инвариантной частью молекулы МНС-I (α_3 -доменом). Поэтому молекулы CD4 и CD8 называют корецепторными молекулами Т-лимфоцитов. В экспериментах, моделирующих отсутствие на клетке этих молекул, требуется минимум в 100 раз большие дозы антигена, чтобы активировать Т-лимфоцит.

— Молекула CD4 представляет собой одну полипептидную цепь с молекулярной массой 55 000. Она имеет 4 домена во внеклеточной части и по первичной структуре принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов. Цитоплазматический участок молекулы CD4 связан с тирозинкиназой Lck и, вероятно, вносит свой вклад в проведение сигнала внутрь клетки при состоявшемся взаимодействии рецептора с лигандом. В процессе активации Т-лимфоцита одну молекулу TCR «обслуживают» две молекулы CD4 (происходит димеризация молекул CD4) (рис. 5.4). Молекула CD8 представляет собой гетеродимер из двух цепей, традиционно обозначаемых α и β . В некоторых случаях на клетке обнаруживают гомодимер из двух α -цепей. Такой гомодимер также имеет свойство взаимодействовать с молекулами МНС-I. Во внеклеточной части каждая из α - и β -цепей имеют по одному иммуноглобулин-подобному домену. Между собой цепи соединены дисульфид-

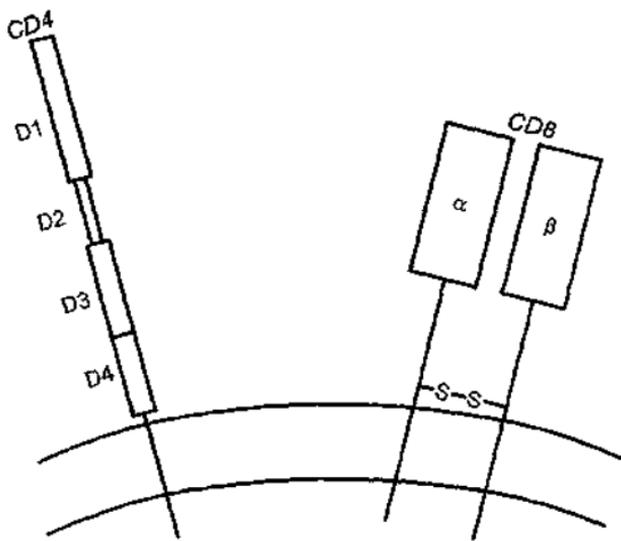


Рис. 5.4. Структура молекул корцепторов Т-лимфоцитов — CD4 и CD8 (схема).

Молекула CD4 представляет собой одну полипептидную цепь и имеет 4 внеклеточных домена. При вовлечении в функциональный процесс молекула CD4, вероятно, димеризуется. Молекула CD8 — гетеродимер из α - и β -цепей.

ной связью. Цитоплазматические участки цепей CD8 также связаны с тирозинкиназой Lck (см. рис. 5.4).

Почти все лимфоциты — 99 %, дифференцирующиеся на территории тимуса в постнатальной жизни, это Т-лимфоциты с $TCR\alpha\beta$ и менее 1 % — Т-лимфоциты с $TCR\gamma\delta$. В периферических тканях содержание $T\gamma\delta$ больше чем 1 % и составляет, возможно, 10—50 % всех Т-лимфоцитов тела. Но дифференцируются большинство $T\gamma\delta$ не в тимусе, а в слизистых оболочках, в первую очередь желудочно-кишечного тракта. Мы вернемся к немногим известным фактам их дифференцировки ниже.

5.5. Дифференцировка Т-лимфоцитов в тимусе.

Позитивная и негативная селекция тимоцитов

Процессы дифференцировки, происходящие в тимусе, описаны достаточно подробно и представляются как следующая последовательность событий (см. также раздел 2.2).

- ▲ Тимоциты дифференцируются из общей стволовой кроветворной клетки. На клетках-предшественниках Т-лимфоцитов еще вне тимуса у человека обнаружены такие мембранные маркеры, как CD7, CD2, CD34 и цитоплазматическая форма CD3. [У мышей Thy-1, HSA (heat-stable antigen), Pgp-1, H-2, Sca-1 (Ly-6 A/E), немного CD4.]

▲ Коммитированная к дифференцировке в Т-лимфоцит клетка-предшественник мигрирует из костного мозга через стенку больших венул в кортико-медуллярной области и оттуда перемещается в субкапсулярную зону коры тимуса. Здесь происходит медленная пролиферация клеток — примерно в течение 1 нед. Характерной особенностью лимфоидных клеток-предшественников является сохранение в них экспрессии уникального фермента стволовой кроветворной клетки — *теломеразы*, репарирующей хромосомы. Это указывает на то, что лимфоциту на его жизненном пути предстоит еще не раз пройти циклы пролиферации. Клетки-предшественники, коммитированные к дифференцировке в другие ростки кроветворения, утрачивают экспрессию теломеразы необратимо. Из этих клеток будут развиваться $T\alpha\beta$ (большинство), $T\gamma\delta$ и дендритные клетки тимуса. На тимоцитах, самыми ранними известными маркерами которых являются молекулы CD2 и CD7, в этот период экспрессированы еще такие мембранные молекулы, как CD44 и CD25.

▲ Затем на клетках исчезают молекулы CD44 и CD25, клетки физически перемещаются несколько в глубь коры тимуса. В них начинаются перестройка генов β -цепи TCR и экспрессия полипептидного комплекса CD3. Экспрессируется инвариантная суррогатная полипептидная цепь, называемая $pT\alpha$ (p — от partner, мол. масса 33 kD), которая заменяет собой настоящую α -цепь и позволяет перестроенной β -цепи в комплексе с CD3 оказаться экспрессированной на наружной клеточной мембране. Это, как мы увидим дальше, существенный момент. На данной стадии деградирует белок RAG-2 и ингибируется транскрипция с генов RAG-1 и RAG-2. Клетки активно пролиферируют и микроскопически выглядят как бласты. При этом накапливается масса клеток с уже известной β -цепью, но с еще неперестроенными генами α -цепи, что внесет свой вклад в будущее разнообразие $\alpha:\beta$ -гетеродимеров.

В это же время экспрессируются совместно молекулы CD4 и CD8 (по этой причине тимоциты на этой стадии развития называют дважды позитивными — double-positive — $CD4^+/CD8^+$).

▲ На следующем этапе клетки перестают делиться, синтезируют RAG-1 и RAG-2 и перестраивают $V\alpha$ -гены, причем несколько раз в течение 3—4 сут. Каждый вариант TCR с разной α -цепью клетка экспрессирует и «пробуется» на связывание с комплексами пептид — MHC, экспрессированными на мембранах эпителиаль-

ных клеток тимуса. Обратим внимание на то, что пептиды в данном случае свои, т.е. являются продуктами катаболизма собственных белков антигенпредставляющих клеток. Тимоциты, которые свяжут какой-либо из комплексов пептид — МНС с *правильной* (т.е. средней по силе) аффинностью, получают *сигнал на выживание* и продолжают дифференцировку. Тимоциты, которые не свяжут никакой из доступных комплексов пептид — МНС, не получают сигнала на выживание, и в них будет инициирована программа на апоптоз, они погибнут. Это и называют *позитивной селекцией тимоцитов*. В результате позитивной селекции в тимусе погибает 95—99 % тимоцитов.

Если какой-то TCR связывает какой-то комплекс «пептид — МНС» со *слишком высокой аффинностью*, то тимоцит также может погибнуть. Это называют *негативной селекцией тимоцитов*. В количественном отношении негативная селекция элиминирует существенно меньше тимоцитов, чем позитивная — от 10 до 70 % клеток, которые прошли позитивную селекцию.

Неоднократная перестройка и экспрессия генов «-цепи при одной и той же β -цепи в одном тимоците оставляет шанс на то, что одна клетка может нести более одного варианта TCR. По крайней мере на моделях мышей, трансгенных по генам β - и α -цепей, закономерно обнаруживают второй вариант рецептора на Т-лимфоцитах с эндогенной α -цепью. (Обратим на это внимание затем, чтобы вспомнить в разделе об аутоиммунных патологических процессах.)

На короткое время с мембраны тимоцитов исчезают обе молекулы корецепторов CD4 и CD8 (double-dull), затем экспрессируется одна из этих молекул: на тимоцитах, TCR которых имеет сродство к молекулам МНС-I, экспрессируется корецептор CD8, и на периферии эти Т-лимфоциты на всю свою жизнь будут иметь «паспортную» характеристику CD8⁺, или Т8. На тимоцитах, TCR которых имеет сродство к МНС-II, экспрессируется корецептор CD4, и на периферии такие Т-лимфоциты будут CD4⁺, или Т4.

Анатомически процессы селекции проходят ближе к границе коркового и мозгового слоев тимуса при взаимодействии развивающихся тимоцитов с эпителиальными клетками стромы тимуса и с дендритными клетками костномозгового происхождения. Напомним, что на клетках эпителия тимуса экспрессированы молекулы адгезии LFA-3 и ICAM-1, а на тимоцитах — комплементарные им молекулы адгезии соответственно CD2 и LFA-1. Эти адгезивные взаимодействия удерживают тимоциты на территории тимуса на необходимый период времени. На эпителиальных и дендритных клетках

Таблица 5.2. Этапы дифференцировки Т-лимфоцитов в тимусе

| Анатомическая зона в тимусе | Мембранный фенотип тимоцитов и их клеточное окружение | Основные процессы, происходящие с тимоцитами |
|--|---|---|
| Кора периферической зоны | CD3 ⁻ /CD4 ⁻ /CD8 ⁻ <i>Эпителиальные клетки коры</i> | Интенсивная пролиферация (митозы) дважды негативных клеток-предшественников |
| | TCR-β ⁺ /pTα ⁺ /CD3 ⁺ <i>Эпителиальные клетки коры; дендритные клетки</i> | Экспрессия β-цепи рецептора и суррогатной α-цепи, а также проводящего сигнал-комплекса CD3. Пролиферация |
| Глубокие слои коры | TCR-β ⁺ /pTα ⁺ /CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /CD8 ⁺ <i>Эпителиальные клетки; дендритные клетки; макрофаги</i> | Дважды позитивные (CD4 ⁺ и CD8 ⁺) тимоциты с экспрессированной β-цепью и суррогатной α-цепью рецептора |
| Граница коркового и мозгового вещества | TCR-αβ ⁺ /CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /CD8 ⁺ <i>Эпителиальные клетки; дендритные/слетки; макрофаги</i> | Дважды позитивные тимоциты с полным αβ-рецептором. Позитивная и негативная селекция |
| Мозговое вещество | TCR-αβ ⁺ /CD3 ⁺ /CD4 ⁺ TCR-αβ ⁺ /CD3 ⁺ /CD8 ⁺ <i>Эпителиальные клетки мозговой зоны</i> | Однопозитивные (либо CD4 ⁺ , либо CD8 ⁺) зрелые неиммунные Т-лимфоциты |

мозговой зоны и на внешних структурах телец Гассалья (телец вилочковой железы — по новой классификации) экспрессирована в большом количестве мембранная молекула CD30L (CD30-лиганд). На тимоцитах же, активированных аутоантигенами, экспрессируется молекула CD30. Полагают, что именно взаимодействие CD30L — CD30 между стромой и тимоцитами, имеющими на мембране набор молекул CD4⁺CD8⁺CD45R0⁺CD30+IL-4R⁺, обеспечивает сигнал на апоптоз для тимоцитов и это и есть негативная селекция аутореактивных клонов тимоцитов.

В кратком виде этапы дифференцировки Т-лимфоцитов в тимусе приведены в табл. 5.2.

Дифференцировка Т-лимфоцитов в тимусе продолжается около 3 нед.

Рассмотрим некоторые подробности дифференцировки Т-лимфоцитов в тимусе.

$T\alpha\beta$ и $T\gamma\delta$ происходят из общей клетки-предшественницы. В развивающемся тимоците практически одновременно начинается перестройка генов β -, γ - и δ -цепей. Если обе γ - и δ -цепи успеют перестроиться «in-frame» (т.е. получится такая ДНК, с которой возможна транскрипция РНК), то лимфоцит будет $T\gamma\delta$. Но если первой успеет перестроиться β -цепь и экспрессироваться на мембране в паре с $rT\alpha$, то это становится сигналом к запрету на продолжение перестройки генов γ и δ , а также сигналом к пролиферации клетки, экспрессии корцепторных молекул CD4 и CD8 и чуть позже к перестройке генов и экспрессии α -цепи. При перестройке генов α -цепи происходит необратимая делеция δ -локуса, который расположен внутри генов α -цепи. Непродуктивная с первой попытки перестройка генов β -цепи не означает, что тимоцит обречен на гибель. Структура генов β -цепи (см. рис. 5.2) позволяет предпринять еще одну попытку и КПД продуктивности перестройки генов β -цепи превышает 80 %.

Вероятный лиганд для комплекса $rT\alpha - \beta$ на мембране тимоцитов — молекула CD81, экспрессированная на эпителиальных клетках стромы тимуса.

Перестройка генов α -цепи происходит неоднократно, пока не получится продуктивный вариант, причем без аллельного исключения (т.е. параллельно на обеих гомологичных хромосомах). До этапа позитивной селекции на тимоцитах могут быть экспрессированы два варианта TCR с одинаковыми β -, но разными α -цепями. Позитивная селекция оставит единственный вариант рецептора, но иногда может быть и не единственный.

Позитивная селекция на удовлетворительное связывание с комплексами своих пептидов со своими молекулами МНС происходит на стадии развития тимоцитов с низкой плотностью экспрессии TCR и совместной экспрессией корцепторов CD4 и CD8. Клетки — партнеры тимоцитов в данном процессе, клетки — носители молекул МНС — это эпителиальные клетки стромы коры тимуса. Напомним, что эпителиальные клетки тимуса продуцируют такие цитокины, как IL-1, 3, 6 и 7, LIF (leukocyte inhibitory factor), GM-CSF. Они же, эпителиальные клетки тимуса, являются продуцентами внутритимического стероидного гормона, а именно прегненолона, участие которого необходимо в регуляции экспрессии генов в дифференцирующихся тимоцитах, в том числе в индукции апоптоза тимоцитов при позитивной и негативной селекции. (В эксперименте, если мыши ввести фармакологические дозы глюкокортикоидных гормонов, то за несколько

часов произойдет «глюкокортикоидная тимэктомия» — более 99 % тимоцитов погибнет апоптозом, от органа останется небольшая «пленочка», содержащая немного стероидрезистентных Т-лимфоцитов.)

В качестве примера экспериментов, ставших источником этих знаний, приведем опыты с мышами — радиационными костномозговыми химерами. Если летально облученным реципиентам одной из родительских линий, например гаплотипа МНС^A, трансплантировать клетки костного мозга интактных доноров-гибридов МНС^{AxB}, то дифференцированные в тимусе реципиента (МНС^A) Т-лимфоциты будут способны распознавать антиген только в комплексе с молекулами МНС^A, но не МНС^B.

Забегаю немного вперед, скажем, что профессиональные антигенпредставляющие клетки — это клетки костномозгового происхождения, а именно дендритные клетки, В-лимфоциты и моноциты/макрофаги. Это поможет понять результаты следующего опыта. Если летально облученным мышам-реципиентам гаплотипа МНС^B трансплантировать костный мозг от доноров гаплотипа МНС^A, то дифференцирующиеся в организме (в тимусе) реципиента Т-лимфоциты оказываются неспособными развивать иммунный ответ в периферической лимфоидной ткани. В тимусе их «отобрали» на распознавание МНС^B, а представляют антиген им в организме антигенпредставляющие клетки генотипа МНС^A, т.е. «своего родного» для Т-лимфоцитов, но они его «не приучены» распознавать: **иммунорецепторы вообще распознают не «свое» и «чужое»**. Что будут, а что не будут распознавать антигенраспознающие рецепторы лимфоцитов, определяется закономерностями динамики морфогенеза, складывающимися в конкретной ситуации процесса развития, а даже и неимманентной генетической программой как таковой.

Описанный выше эксперимент показывает, почему при трансплантации костного мозга у людей с лечебной целью необходимо совпадение по МНС: не столько для избежания отторжения трансплантата реципиентом, сколько для обеспечения возможности дифференцировки иммунокомпетентных Т-лимфоцитов из стволовых клеток костного мозга донора в тимусе реципиента.

У мышей, трансгенных по перестроенному гену TCR, распознающему пептид в комплексе с МНС-I, все Т-лимфоциты будут нести только этот трансгенный рецептор и все Т-лимфоциты в организме будут только CD8⁺. Если трансгенный TCR предназначен для антигена в комплексе с МНС-II, то все Т-лимфоциты в организме такой мыши будут только CD4⁺.

Та же закономерная зависимость распознавательной ориентировки TCR либо на МНС-I, либо на МНС-II и экспрессии

на зрелом лимфоците соответственно или CD8, или CD4 проявляется у людей с наследственным иммунодефицитным синдромом «голых лимфоцитов» (bare lymphocyte syndrome). Есть варианты этого синдрома, когда генетический дефект проявляется в отсутствие экспрессии на эпителиальных клетках тимуса и на лимфоцитах молекул МНС-I. У таких пациентов не обнаруживают CD8⁺ Т-лимфоцитов. При вариантах синдрома с отсутствием экспрессии на клетках МНС-II у больных в периферических лимфодных органах нет Т-лимфоцитов CD4⁺.

Корреляция экспрессии TCR с молекулами CD8 и CD4 в описанном варианте сильная, но не абсолютная. Как мы увидим дальше, в организме есть и иные субпопуляции Т-лимфоцитов, например TCR $\alpha\beta$ /CD4⁻/CD8⁻, TCR $\alpha\beta$ /CD8 $\alpha\alpha$ (молекула CD8 состоит из двух одинаковых «-цепей, т.е. гомодимер, а не гетеродимер из одной α - и одной β -цепи, как в «классическом» варианте молекулы CD8). Кстати, Т-лимфоциты именно с таким фенотипом мембраны являются преобладающей субпопуляцией среди внутриэпителиальных лимфоцитов слизистой оболочки ЖКТ. Не зависит от CD4 и CD8 и экспрессия TCR $\gamma\delta$.

Т-лимфоциты, экспрессирующие CD4, и Т-лимфоциты, экспрессирующие CD8, предназначены для выполнения *разных функций* в предстоящих иммунных ответах. Но во всех случаях независимости TCR от CD4 или CD8 лимфоциты с такими TCR распознают антиген *независимо* от МНС-I/II. Правда, это не означает (по крайней мере не всегда очевидно) независимость распознавания антигена от других молекул, способных представлять антиген, но не являющихся ни МНС-I, ни МНС-II. Примером таких антигенпредставляющих молекул является CD1. Если молекулы МНС-I и II «работают» (т.е. формируют комплексы) исключительно с пептидными антигенами, то «неклассические молекулы МНС» (иногда их так дважды некорректно называют в литературе вместо того, чтобы сказать, что это не МНС-I/II) специализируются на комплексообразовании с антигенами другой химической природы — небелковой (углеводными, липидными, фосфатсодержащими). С молекулами кластера CD1 взаимодействуют особые субпопуляции зрелых Т-лимфоцитов, а именно «дважды негативные» TCR $\alpha\beta$ ⁺/CD3⁺/CD4⁻/CD8⁻ и особая субпопуляция TCR $\gamma\delta$ ⁺/CD3⁺/CD8⁺.

Процессы негативной селекции тимоцитов идут при взаимодействии их с профессиональными антигенпредставляющими клетками — дендритными и макрофагами, что иллюстрируют эксперименты с костномозговыми радиационными химерами мышей. Если реципиентов любой из родительских линий (МНС^a или МНС^b) летально облучить и трансплантировать им костный мозг от гибридов МНС^{a \times b}, то в тимусе таких мышей будут развиваться Т-лимфоциты, не отторгаю-

щие кожный лоскут ни от донора МНС^a, ни от донора МНС^b, т.е. развивается толерантность к антигенам как реципиента, так и донора, которые в тимусе могут быть представлены только на тимоцитах, дендритных клетках и макрофагах. При некоторых комбинациях линий мышей в таких экспериментах кожный трансплантат, однако, отторгается. Это объясняют тем, что для отторжения ткани существенны и *неглавные антигены гистосовместимости* (minor histocompatibility antigens), которые в данном случае присутствуют в ткани донорской кожи, но не присутствуют на донорских антигенпредставляющих клетках в тимусе и на уровне дифференцировки лимфоцитов в тимусе толерантность к ним не возникает. Неглавные антигены гистосовместимости при отторжении трансплантатов у людей иногда имеют большее значение, чем антигены главного комплекса гистосовместимости, что будет проиллюстрировано в соответствующем разделе.

Созревшие в тимусе Т-лимфоциты мигрируют в Т-зоны периферических лимфоидных органов. В разделе 2.2 уже отмечалось, что путей выхода тимоцитов из тимуса на основании гистологических наблюдений можно предполагать 3: а) свободный — через эфферентный лимфатический сосуд в кортико-медуллярной зоне; б) путем экстравазации через стенку посткапиллярных венул с высоким эндотелием там же в кортико-медуллярной зоне; в) путем экстравазации через стенку капилляров в русле транкапсулярных артерий.

Во введении мы сформулировали, что базовым свойством лимфоцитов является *самораспознавание*. Теперь это можно понять несколько лучше: дифференцировка и *отбор* антигенраспознающих рецепторов Т-лимфоцитов в тимусе идут при взаимодействии (комплементарном связывании) исключительно с эндогенными, т.е. со *своими* молекулами МНС в комплексе со *своими*, но разнообразными пептидами. Приведем совпадающее с нашим мнение авторитетного экспериментатора и теоретика Ч.Джейнвэя (Charles A. Janeway) и его коллег. Опыты на мышах, трансгенных по гену β -цепи TCR, а также с knock-out по определенному гену МНС (H-2M^a) в разных аранжировках привели этих авторов к заключению (гипотезе, но обоснованной), что не только в тимусе в процессе лимфопоэза идет отбор Т-лимфоцитов на способность правильно связывать своим TCR комплексы «свои пептиды — МНС», но и на периферии жизнеспособность Т-лимфоцитов в течение длительного времени поддерживается *сигналами на выживание от тех же* комплексов «свои пептиды — МНС», экспрессированными на дендритных клетках в Т-зависимых зонах периферических лимфоидных органов. В отсутствие такого сигнала Т-лимфоцит быстро погибает. Более того, такой *свой* сигнал поддерживает некий «базальный» уровень пролиферации жизнеспособных Т-лимфоцитов на периферии в те-

чение всей жизни организма. Но эта пролиферация отличается от экспансии клона лимфоцитов в процессе развития активного продуктивного иммунного ответа на антиген, подлежащий элиминации из организма. Пролиферация по сигналу от *своего* в норме не сопряжена с синтезами и секрецией активных цитокинов Т-лимфоцитов и индукцией иммунного воспаления. Таким образом можно объяснить и понять то реально существующее явление, что после 15-летнего возраста, когда Т-лимфоциты в тимусе существенно угасают, тем не менее в течение всей взрослой жизни в организме есть, Причем достаточно постоянное (не снижающееся прогрессивно с возрастом) количество яериферических $T\alpha\beta$ -лимфоцитов.

Репертуар распознающих рецепторов периферических Т-лимфоцитов зависит от МНС организма. Исходная биологическая комплементарность рецепторов Т-лимфоцитов рассчитана именно на молекулы МНС всех клеток собственного организма.

В функциональном отношении зрелые неиммунные $T\alpha\beta$ -лимфоциты, выходящие из тимуса, представлены двумя основными субпопуляциями: одна из них несет на мембране молекулу CD8, вторая — CD4. $CD8^+$ Т-лимфоциты дифференцированы для выполнения функций *цитотоксических Т-лимфоцитов* (ЦТЛ). ЦТЛ сами непосредственно, своим «клеточным телом», убивают клетки (поэтому «Ц» — от цито-), на мембране которых они распознали антиген. $CD4^+$ Т-лимфоциты дифференцированы в *продуцентов цитокинов* — секретлируемых из клетки биологически активных молекул, предназначенных для взаимодействия и вовлечения в процесс других клеток-партнеров по иммунному ответу. $CD4^+$ Т-лимфоциты около 30 лет назад называли лимфоцитами-хелперами (helper — помощник), поскольку эксперименты свидетельствовали, что В-лимфоциты не способны продуцировать антитела без *помощи* Т-лимфоцитов, хотя сами Т-лимфоциты не синтезируют иммуноглобулины, но В-лимфоциты без участия Т их тоже не синтезируют либо совсем, либо синтезируют иммуноглобулины только класса М. За $CD4^+$ Т-лимфоцитами закрепилась аббревиатура Th (от T-helper).

Дихотомию дифференцировки $CD4^+$ Т-лимфоцитов в процессе развития иммунного ответа с возникновением либо T_H1 , либо T_H2 называют *иммунным отклонением* (immune deviation) — *отклонение иммунного ответа в сторону той или иной субпопуляции — T_H1 или T_H2* . В генетически здоровом организме отклонение иммунного ответа в сторону T_H1 или T_H2 зависит от внешних факторов: в первую очередь химических качеств антигена, его дозы, пути попадания во внутреннюю среду, сопутствующих факторов типа адьювантов или инфекций, кратности иммунизаций и т.д. Подробно свойства и

функционирование Th1, Th2, ЦТЛ и других субпопуляций Т-лимфоцитов описаны в главе 8.

Хотя опухоли — образования патологические, но они позволяют составить представление о нормальных субпопуляциях клеток той или иной ткани. В клинике известны нозологические единицы опухолей из клеток тимуса (табл. 5.3).

Таблица 5.3. Опухоли тимуса: из Т-лимфоцитов и антигенпредставляющих клеток

| Болезнь | Тип клеток | Маркеры на мембране | Локализация |
|--|---|---------------------------------------|---|
| Острый лимфобластный лейкоз | Ранний предшественник лимфоцитов | CD10 CD19 CD20 | Тимус, кровь, костный мозг |
| Тимома | Эпителиальные клетки стромы тимуса | Цитокератины | Тимус |
| Острый лимфобластный Т-лейкоз | Тимоциты | CD1 | Тимус, кровь |
| Синдром Сезари* (Sezary); Т-лейкоз взрослых (HTL V-1); Mycosis fungoides; Хронический Т-лейкоз | Та или иная субпопуляция зрелых Т-лимфоцитов*** | CD3 ⁺ /TCR; CD4 или CD8 | Периферические лимфоидные органы, кровь |
| Болезнь Ходжкина** (Hodgkin's) | Антигенпредставляющие клетки (моноциты) | CD30 | Периферические ткани |

*Синдром Сезари называют еще эксфолиативным дерматитом. Он характеризуется сильным зудом, инфильтрацией кожи атипичными мононуклеарными клетками, алопецией, отеком, измененной пигментацией кожи, изменениями ногтей.

**Болезнь Ходжкина разнообразна по клиническим формам. В основе патогенеза — опухолевая трансформация антигенпредставляющих клеток, вероятнее всего, моноцитов. Но опухолевые антигенпредставляющие клетки стимулируют пролиферацию Т-лимфоцитов, и их количество может существенно превосходить нормальные показатели в крови и в тканях. Поэтому болезнь называют *лимфомой* Ходжкина. В некоторых случаях лимфопролиферация отсутствует. Проллиферируют ретикулярные стромальные клетки, и клинически эту форму идентифицируют как узелковый склероз — nodular scleriosis. Прогноз более благоприятен при лимфоме Ходжкина, чем при узелковом склерозе.

***Клональность лимфомы диагностируют анализом генов TCR в опухолевых клетках. Если планируют аутотрансплантацию костного мозга после радио- или химиотерапии, то методом цепной полимеразной реакции важно показать отсутствие генов TCR опухолевого клона в ткани костного мозга.

5.6. Главный комплекс гистосовместимости

«Главный комплекс гистосовместимости» (Major histocompatibility complex — МНС) — одно из трудных понятий для начинающих изучать иммунологию. Главная причина этого — оторванность названия от природного предназначения. Эта оторванность объясняется историей развития наших знаний о МНС. Так сложилось, что сначала МНС был выявлен в сугубо искусственной модели трансплантации тканей и органов одного организма во внутреннюю среду другого как некий значительный по размеру комплекс генов, от которых больше, чем от других, зависит скорость отторжения трансплантата. Но поскольку в естественной природе нет процессов трансплантации тканей отдельных особей во внутреннюю среду других особей, много лет имело место молчаливое недоумение — зачем нужны эти гены и продукты, которые они кодируют, организмам, которым не пересаживают и никогда не будут пересаживать чужие органы? Это недоумение разрешили Р.Цинкернагель и П.Дохерти, открывшие в 1973—1974 гг. природные функции белков МНС — представлять для распознавания пептидные антигены для Т-лимфоцитов.

Гены МНС были открыты и был введен этот термин в работах 40-х годов в лаборатории, а затем институте Георга Снелла (George Snell) — знаменитого иммуногенетика. Ранее антигены, от которых в наибольшей степени зависит отторжение трансплантатов у мышей, описал Goger. Иммуногенетики затратили много труда на выведение инбредных линий мышей и описали основные *законы трансплантации*. Главный закон трансплантации, состоящий в том, что природа не рассчитана на смешение органов уже рожденных особей и пересаженные органы от другого организма в норме всегда отторгаются, люди знали, судя по всему, всегда, сколько существует человеческая культура. Давно знали, что пересадки тканей своего организма в пределах своего организма возможны: пластические операции с ауто трансплантацией описывали средневековые хирурги.

Применительно к генетическим отношениям доноров и реципиентов используют следующие *термины*:

- аутологичный — свой собственный;
- сингенный (или изогенный) — полностью генетически идентичный организм (трансплантат). Сингенны мыши одного пола одной инбредной линии. Сингенны однойцевые близнецы;
- аллогенный — другой организм в пределах одного вида. Аллогенны мыши разных инбредных линий;
- конгенный — организм, отличающийся от другого одним (в идеале) геном при одинаковости всех других;

- ксеногенный — организм другого биологического вида.

Из экспериментов по иммуногенетике пересадки органов и тканей следуют 5 законов трансплантации.

- ▲ Аллогенные и ксеногенные трансплантаты всегда отторгаются.
- ▲ Аутологичные и сингенные трансплантаты приживаются.
- ▲ Гибриды 1-го поколения — $F_1 (P_1 \times P_2)$ не отторгают трансплантаты обеих родительских линий (P_1, P_2), но каждая из родительских линий отторгает трансплантат от гибрида (это свидетельствует о кодоминантности в гибридах экспрессии генов, кодирующих продукты, которые являются мишенью отторжения). Кодоминантность означает, что экспрессируются аллели обеих гомологичных хромосом (т.е. от каждого из родителей):

AA x BB

i
AB

- ▲ 50 % потомства от обратного скрещивания ($F_1 \times P_1^{1/2}$) быстро отторгают трансплантат от второй родительской линии (в случае трансплантации кожного лоскута быстрое отторжение наступает на 8-е сутки). Отсюда по законам менделевской генетики следует, что быстрое отторжение контролирует *один локус*. Его-то Г.Снелл и назвал Major histocompatibility complex (МНС).

AB x AA

I

~~AA-AA~~ AB, AB

- ▲ Пятый закон трансплантации открыл в 1922 г. Н. Woglom. Он наблюдал, что если данному реципиенту, один раз отторгнутому трансплантат, пересадить повторно трансплантат от *того же донора*, то во второй раз одноименный трансплантат отторгнется достоверно быстрее. Это свидетельствовало об *иммунных* механизмах отторжения, поскольку феномен *иммунологической памяти* из биологических подсознательных процессов специфичен именно для иммунитета, а не других физиологических реакций.

У мышей локус МНС сегрегируется вместе с геном, кодирующим некий антиген, выявляемый антителами на эритроцитах мышей. Этот антиген в то время называли «антиген-2». Локус, контролирующий гистосовместимость, обозначили H-2 (H — от histocompatibility). Верхний буквенный индекс при H-2

(Н-2^a, Н-2^k, Н-2^d и т.д.) означает гаплотип данного локуса. У различных инбредных линий гаплотип Н-2 может быть разным или одинаковым.

Локус МНС весьма значителен по размеру — порядка 4хЮ⁶ пар нуклеотидов (это 2—3 сантиморгана), что соизмеримо с целым геномом бактерии *Escherichia coli*. Такое количество ДНК у человека содержит около 100 генов. Далеко не все из этих генов и их продуктов описаны и идентифицированы. У мышей выявлены 3 независимых локуса в комплексе МНС — Н-2К, Н-2D и Н-2L. Позже между ними картировали локусы I-A и I-E (I — от immune response genes). В 60-х годах В. Benacerraf, Н. McDevitt и др. в опытах на морских свинках установили, что интенсивность продукции антител к белковым антигенам контролируется аутосомными генами из комплекса МНС. Аналогичное явление ясно обнаруживалось и в опытах на мышах разных инбредных линий.

Гомологичный комплекс локусов у человека идентифицировали уже другие исследователи (J. Dausset и др.) и не в экспериментах по трансплантации, а в исследованиях реактивности антител из крови людей, перенесших трансплантацию, или многорожавших женщин с лейкоцитами из крови других людей. Поэтому комплекс обозначен HLA (от Human leukocyte antigen). Первые 3 антигена, выявленные в этих серологических реакциях (и соответствующие гены), обозначили HLA-A, HLA-B, HLA-C. Следующий локус обнаружили не серологически, а по индукции пролиферации в смешанной культуре лимфоцитов донора и реципиента; его обозначили HLA-D. Следующий идентифицированный серологически локус был близкосцеплен с HLA-D, его обозначили HLA-DR (от D-related). Следующие два локуса обозначили соседними с R буквами P и Q — HLA-DP и HLA-DQ.

Позже, когда выяснили, какие белковые продукты кодируют разные структурные гены из комплекса МНС, комплекс разбили на два класса — I и II — МНС-I, МНС-II. К I классу у человека отнесли локусы HLA-A, HLA-B и HLA-C, у мыши — Н-2К, Н-2D и Н-2L, ко II классу — соответственно HLA-DR, HLA-DP и HLA-DQ у человека, I-A и I-E у мыши. Схема расположения в геноме локусов комплекса МНС человека и мыши показана на рис. 5.5 и 5.6.

Продукты генов локусов МНС-I — мембранные белки, конститутивно экспрессированные на всех ядродержащих клетках тела, но в разных количествах на клетках различных гистотипов: больше всего этих молекул на лимфоцитах и лейкоцитах. МНС-II — тоже мембранные молекулы, но экспрессированы не на всех, а только на некоторых гистотипах клеток — на дендритных клетках, В-лимфоцитах, моноцитах/макрофагах, эндотелии сосудов. Первые 3 типа клеток относятся к так называемым *профессиональным антигенпредставляю-*

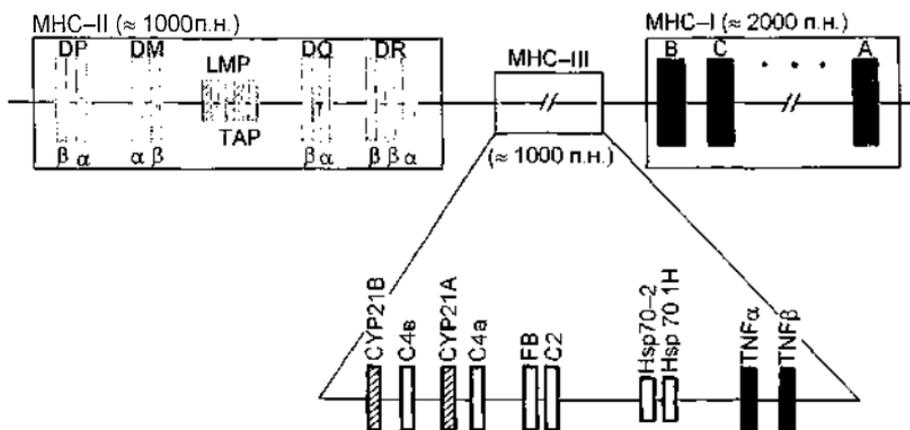


Рис. 5.5. Расположение генов МНС человека в хромосоме 6 (схема).

щим клеткам — это дендритные клетки, В-лимфоциты и макрофаги, поскольку на этих клетках, кроме молекул МНС-II и I, экспрессируются **все** необходимые корецепторные молекулы и цитокины, достаточные для активации Т-лимфоцита к иммунному ответу (табл. 5.4).

Каждый локус МНС-I кодирует полипептидную цепь, обозначаемую традиционно α , с молекулярной массой около 44 000, примерно из 325 остатков аминокислот. Цепь α имеет 3 внеклеточных домена ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$), трансмембранный участок и цитоплазматический участок из 55 аминокислотных остатков. С внеклеточными α -доменами нековалентно ассоциирована легкая полипептидная цепь с мол. массой 12 000, называемая $\beta 2$ -микроглобулином. Микроглобулин $\beta 2$ кодируется геном, не сцепленным с МНС. Домены $\alpha 1$ и $\alpha 2$ формируют углубление размером около 2,5 нм. Именно в этом углублении (cleft) располагается пептид-антиген, предназначенный для распознавания Т-лимфоцитом. Пептид ни в коем случае не сорбируется на МНС извне клетки, а конъюгируется с α -цепью нековалентными связями, но с достаточной аффинностью ($K_d \sim 10^{-6}$ М) внутри клетки при формирова-

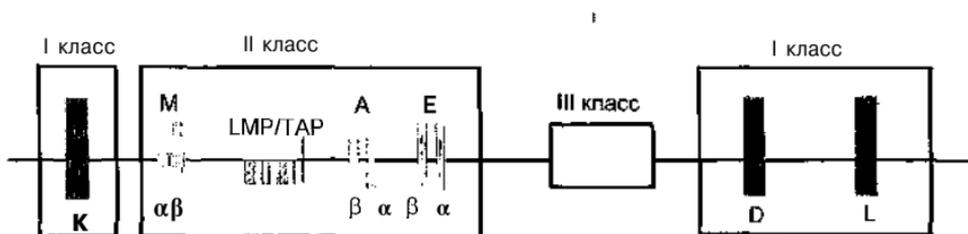


Рис. 5.6. Расположение генов главного комплекса гистосовместимости мыши (H-2) в хромосоме 17 (схема).

Таблица 5.4. Относительные уровни экспрессии МНС-I и II на разных клетках

| Клетки | МНС-I | МНС-II |
|--------------------------------|-------|------------------------------|
| T-Лимфоциты | +++ | + (у человека, не у мыши) |
| B-лимфоциты | +++ | +++ |
| Дендритные клетки | +++ | +++ |
| Макрофаги | +++ | ++ |
| Эпителиальные клетки тимуса | + | +++ |
| Эндотелий | + | + |
| Нейтрофилы | +++ | Нет |
| Гепатоциты | + | Нет |
| Клетки почки | + | Нет |
| Нейроны мозга | + | Нет |
| Эритроциты | Нет | Нет |

Примечание. Количественная выраженность того или иного свойства представлена в условных знаках: «+» — немного; «++» — больше, чем «+»; «+++» — больше, чем «++».

нии конформации (фолдинге) МНС. Как и все трансмембранные белки, МНС-I гликозилированы; места гликозилирования α -цепи — Asn 86, Asn 176, Asn 256.

МНС-I связывает пептиды длиной 8—10 аминокислотных остатков, фиксируя пептид по обоим концам молекулы — С и N. Молекулы МНС *разных аллельных вариантов* связывают пептиды с *определенными* остатками аминокислот в так называемых *якорных* позициях: это С-концевой остаток, 2-й или 5-й с N-конца. Важно, что каждый конкретный аллельный вариант молекулы МНС связывает пептиды с данными, а не другими якорными остатками аминокислот. Другой аллельный вариант МНС имеет химическое сродство к иным якорным остаткам аминокислот. Поэтому важно посчитать, сколько же вариантов МНС имеет каждый отдельный человек, так как *только на те пептиды, которые способны связать МНС особи, данная особь потенциально способна развить защитный иммунный ответ*. Если же некий антиген не связывается ни с одним вариантом МНС из тех, которыми располагает особь, то против этого антигена не будет иммунного ответа, организм *беззащитен* перед таким антигеном. Отсюда понятно, что генетический контроль иммунного ответа сильно зависит не только от генов, специально экспрессирующихся в лимфоцитах и антигенпредставляющих клетках, но и от генов, экспрессирующихся во всех клетках организма, — МНС. Исключение составляют безъядерные зрелые эритроциты: на них нет ни МНС-I, ни МНС-II.

Белки МНС-II (II класса) представляют собой мембран-

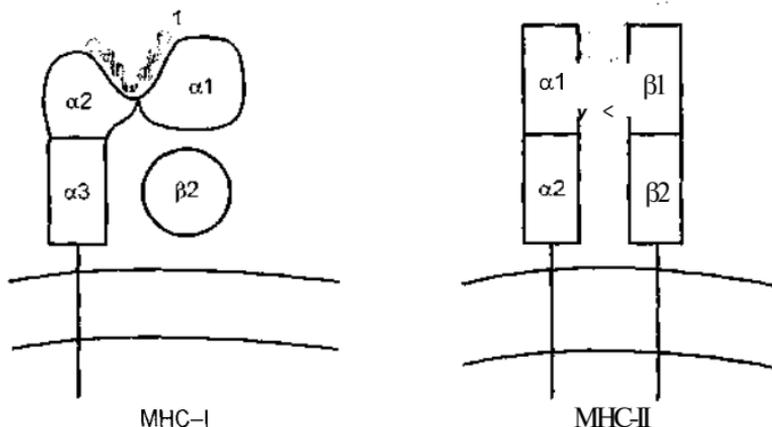


Рис. 5.7. Структура молекул МНС-I и II (схема).

Молекулы МНС-I — трансмембранные гетеродимеры: α -цепь большая, имеет три внеклеточных домена. «Клефт» для связывания пептида формируют два терминальных домена « α -цепи (α_1 и α_2). β -Цепь малого размера, в мембрану не пенетрирует, с α -цепью ассоциирована нековалентно, ее называют β_2 -микроглобулином. Молекулы МНС-II также трансмембранные гетеродимеры. Полипептидные α - и β -цепи равновелики, обе пенетрируют мембрану, у обеих по два внеклеточных домена и «клефт» для связывания пептидов формируют внешние домены обеих цепей. 1 — пептид-антиген в комплексе с молекулами МНС-I; 2 — пептид-антиген в комплексе с молекулами МНС-II.

ные молекулы — гетеродимеры из двух трансмембранных гликопротеинов: α -цепь (мол. масса 34 000) и β -цепь (мол. масса 29 000). Внеклеточная часть каждой цепи имеет два домена. Пептидсвязывающий клефт (cleft) формируют совместно α_1 - и β_1 -домены и в отличие от «клефта» МНС-I «клефт» МНС-II открыт с обеих сторон (рис. 5.7). Стереохимическая открытость «клефта» МНС-II позволяет связывать более длинные пептиды, чем в случае МНС-I, — до 30 остатков аминокислот. Однако чаще всего из комплексов с МНС-II удается диссоциировать пептиды размером 13—17 остатков аминокислот. Якорные остатки для большинства изученных аллельных вариантов МНС-II находятся в позициях 1; 4; 6 и 9.

5.7. Механизмы образования комплексов пептидов-антигенов с молекулами главного комплекса гистосовместимости

В любой эукариотической клетке есть две «зоны», или, как их принято называть от английского, компартменты. Одна зона связана с внешней внеклеточной средой и это зона мембранных структур и везикул, включающая в себя аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум, лизосомы, эндосомы и фагосомы. Пептиды, образующиеся в данной зоне, обслужи-

вают синтезируемые клеткой молекулы МНС-П. Происхождение пептидов везикул внеклеточное: они образуются в результате протеолиза белков, захваченных клеткой посредством эндоцитоза или фагоцитоза. Эндосомы, или фаголизосомы, сливаются с мембранными структурами, на которых фиксируются вновь синтезированные на полирибосомах молекулы α - и β -цепей МНС-П и еще одна так называемая инвариантная полипептидная цепь — П. Эта Ii-цепь «прикрывает» МНС-П от связывания с пептидами внутри эндоплазматического ретикулума и в дальнейшем обеспечивает экспозицию молекул МНС-И внутри везикул — эндосом, или фаголизосом. Комплекс из 3 тримеров $\alpha\beta Ii$ в эндоплазматическом ретикулуме удерживается связью с кальнексином. В мембранных внутриклеточных структурах есть специальный компартмент М-Н-С (МНС class II compartment), в который физически упираются эндосомы и лизосомы с поглощенным внеклеточным содержимым. И только с участием *пептида* молекула МНС-И принимает *правильную конформацию*, продвигается к мембране и экспрессируется на ней. «Чистые» молекулы МНС I и II класса на мембране клетки не экспрессируются. Если клетка не располагает достаточным количеством чужого пептидного материала, то молекулы МНС-П связывают короткий фрагмент, образующийся при протеолитическом расщеплении инвариантной цепи — CLIP (class II linked invariant-chain peptide). В наслоении пептида на МНС-П участвует еще одна молекула — HLA-DM. HLA-DM на какое-то время стабилизирует пустые молекулы МНС-И (без пептида). Отсюда понятно, почему *представление антигена именно молекулами МНС-II* осуществляется при развитии защитных иммунных реакций на *внеклеточные и везикулярные инфекции*. Поскольку комплексы *антигенов-пептидов с молекулами МНС-II* распознают исключительно $CD4^+$ Т-лимфоциты, то и в защите от *внеклеточных и везикулярных инфекций* главную роль играют реакции, обеспечиваемые именно $CD4$ Т-лимфоцитами (рис. 5.8).

Вторая «зона» в клетке — зона цитозоля — неструктурированного мембранами внутриклеточного содержимого. Цитозоль непосредственно сообщается через крупные ядерные поры с содержимым ядра. В ядре идут процессы транскрипции РНК с ДНК (как нормальные клеточные, так и вирусные при вирусных инфекциях клеток). РНК из ядра транспортируется для трансляции белка в цитозоль на полирибосомы, и для фолдинга (принятия правильной конформации) белков под контролем шаперонов («катализаторов» принятия полипептидной цепью биологически значимой конформации) полипептидные цепи направляются в специальные участки эндоплазматического ретикулума. Лишние, испорченные, неправильно конформированные белки постоянно расщепляются в цитозоле так называемыми протеасомами. *Протеасомы* —

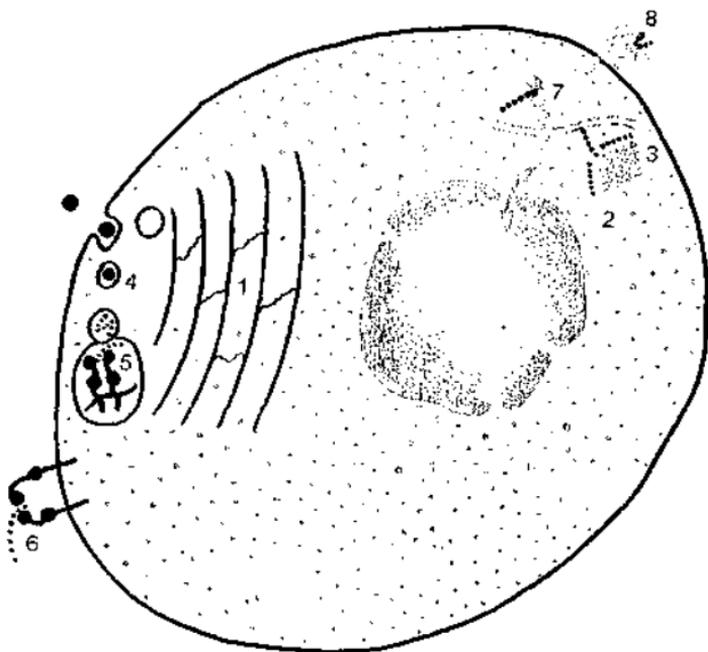


Рис. 5.8. Строение клетки и «зоны обслуживания» молекулами МНС-I и II (схема).

1 — зона (или компартмент) мембранных структур клетки (везикулы, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи), эта зона непосредственно сообщается с внеклеточной средой; 2 — зона (или компартмент) цитозоля непосредственно сообщается с внутриядерным содержимым; 3 — протеасомы в цитозоле; 4 — фагосомы; 5 — фаголизосомы сливаются с везикулами, содержащими несконформированные молекулы МНС-I; 6 — комплекс МНС-II — пептид «внеклеточного» происхождения экспрессирован на мембране клетки; 7 — несконформированные молекулы МНС-I в зоне досягаемости пептидов — продуктов протеасом; 8 — комплекс МНС-I — пептид «внутриклеточного» происхождения экспрессирован на мембране клетки.

это мультипротеазные комплексы из 28 субъединиц, каждая из которых имеет молекулярную массу 20 000 или 30 000. Два из 3 вариантов субъединиц протеасом — LMP2 и LMP7 — кодируются генами, расположенными внутри комплекса МНС.

Протеасомы осуществляют зависимую от убиквитина (ubiquitin) деградацию белков цитозоля. И именно пептиды, образующиеся в результате работы протеасом, поступают в «поджидающие» их в нужном месте эндоплазматического ретикулума еще несконформированные молекулы МНС-I: вступая в связь с пептидом, молекулы МНС-I принимают биологически правильную конформацию и направляются для экспрессии на клеточную мембрану. Исследование мутаций и генетических дефектов, приводящих к иммунодефицитным

состояниям, выявило зависимость представления антигена молекулами МНС-I от двух АТФ-связывающих полипептидов ТАР-1 и ТАР-2 (Transporters associated with antigen processing). В мембране эндоплазматического ретикулаума эти два полипептида формируют гетеродимер, ориентированный гидрофобными участками в полость ретикулаума, а АТФ-связывающими доменами — в сторону цитозоля. Именно они доставляют пептиды для связывания с молекулами МНС-I. ТАР имеют сродство к пептидам с гидрофобными или основными остатками аминокислот на С-конце. Гены ТАР-1 и ТАР-2 расположены внутри комплекса МНС.

Вновь синтезированная «-цепь МНС-I вступает в связь с мембранным протеином эндоплазматического ретикулаума кальнексином (calnexin, мол. масса 88 000), который обеспечивает частичный фолдинг «-цепи. Кстати, тот же кальнексин образует комплексы с вновь синтезированными и частично сконформированными полипептидами МНС-II, TCR, Ig (т.е. всеми иммунологически значимыми пептидами). При присоединении к «-цепи $\beta 2$ -микроглобулина связь с кальнексином диссоциирует, и комплекс $\alpha\beta 2$ присоединяется для дальнейшего прохождения процесса приобретения конформации к кальретикулину (calreticulin) эндоплазматического ретикулаума и ТАР-1-ассоциированному протеину тапасину (tapasin). Таким образом создаются условия для соединения пептида-антигена с принимающим конформацию комплексом МНС-I. При генетических дефектах в ТАР молекулы МНС деградируют внутри клетки, не попадая на клеточную мембрану. В норме в клетке молекулы МНС-I присутствуют в избытке по отношению к пептидам. Поэтому в клетке при вирусных инфекциях довольно быстро пептиды вирусного происхождения оказываются представленными на поверхности зараженных клеток в составе комплексов с МНС-I.

Молекулы МНС-I представляют для распознавания Т-лимфоцитам внутриклеточно синтезированные пептидные антигены. В плане защиты от инфекций этот механизм работает применительно в первую очередь к вирусным, а также цитозольным бактериальным внутриклеточным инфекциям. Поэтому $CD8^+$ Т-лимфоциты «рассчитаны» в первую очередь на обеспечение противовирусной защиты, так как в комплексе с МНС-I именно и только $CD8$ Т-лимфоциты распознают пептидные антигены.

В отсутствие инфекций молекулы МНС-I и МНС-II формируют комплексы с эндогенными (собственными) пептидами. Обратим внимание на то, что дифференцировка Т-лим-

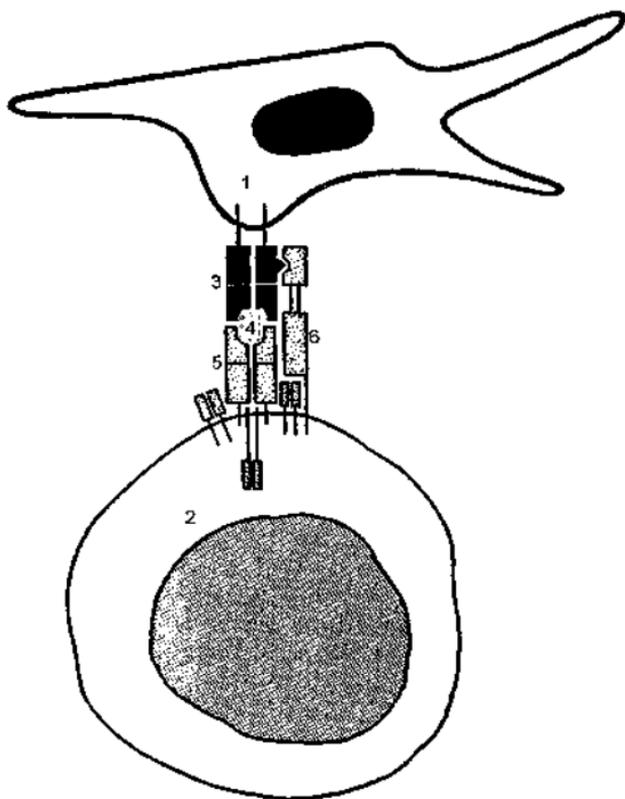


Рис. 5.9. Взаимодействие TCR с комплексом молекулы МНС-пептид на антигенпредставляющей клетке.

1 — антигенпредставляющая клетка (например, дендритная); 2 — $CD4^+$ Т-лимфоцит; 3 — молекулы МНС-II; 4 — пептид (собственно антиген); 5 — α - и β -цепи TCR; 6 — молекула CD4.

фоцитов в тимусе в норме в стерильном внутри организме идет при взаимодействии отбираемых TCR со *своими* пептидами, а не на отборе «своего и чужого». Поэтому естественно, что среди *случайно* формируемого разнообразия вариантов антигенсвязывающих структур даже после позитивной и негативной селекции тимоцитов среди выходящих на периферию Т-лимфоцитов обязательно найдутся TCR, способные специфично связываться, наверное, со всеми собственными «антигенами». Опыт показывает, что так оно и есть. Но деструктивный иммунный ответ на собственные антигены в норме не развивается, и в дальнейшем мы обсудим то небольшое, что известно о механизмах периферической толерантности.

Стабильное связывание антигена молекулами МНС внутри клетки при формировании собственной конформации, а не простая сорбция из раствора антигена снаружи уже экспрессированными на мембране молекулами МНС, обеспечивает направление Т-лимфоцитарного иммунитета на реально ин-

фицированные клетки тела. Иммунное воспаление, управляемое активными Т-лимфоцитами, — это наиболее «энергичное» воспаление по сравнению с другими вариантами и такое воспаление нельзя «натравливать» на ложные мишени, иначе организм будет не направленно избавляться от инфекции, а страдать от неоправданно разлитой альтерации тканей.

Взаимодействие TCR с комплексом пептид — MHC I/II изображено на рис. 5.9.

5.8. Суперантигены

В борьбе за свое существование инфекционные микроорганизмы «научились» синтезировать некие вещества, которые поступают с «нашими» Т-лимфоцитами «не по правилам». Эти вещества называют *суперантигенами*. Когда они попадают в организм, то последний не может встретить их попыткой распознавания специфическим TCR потому, что суперантигены благодаря своим особым химическим свойствам способны присоединяться снаружи клетки (т.е. без процессинга в антигенпредставляющих клетках) с одной стороны к молекулам MHC-I, но не в области «клефта для пептида», а «сбоку», как правило, к «-цепи, и одновременно к V-области β -цепи TCR на Т-лимфоците.

Это связывание вызывает активацию Т-лимфоцитов, но не антигенспецифичного клона, а поликлональную. Обычно суперантигены активируют 2—20 % периферических CD4⁺ Т-лимфоцитов. В результате многие Т-лимфоциты продуцируют и секретируют активационные цитокины, что вызывает синдром общей интоксикации в организме. А затем активированные Т-лимфоциты погибают путем апоптоза. Таков закон лимфоцитарного иммунитета: на свой ли антиген или неспецифически, но единожды активированный лимфоцит обречен на апоптоз (феномен AICD — activation-induced cell death — индуцированной активацией клеточной смерти). (Феномен иммунологической памяти — особое явление, и хотя оно исключительно характерно именно для лимфоцитарного иммунитета, механизмы его непонятны до настоящего времени.) Но фактом является то, что после поликлональной активации лимфоцитов наступает физический дефицит лимфоцитов, следовательно, *иммунодефицит*.

Известны суперантигены бактериального и вирусного происхождения, такие как энтеротоксины стафилококков (SE), токсин синдрома токсического шока (TSST-1 — toxic shock syndrome toxin-1), мембранный протеин вируса опухолей молочных желез мышей, мало охарактеризованные суперантигены вирусов Эпштейна—Барвируса бешенства, вирусов иммунодефицита человека (ВИЧ) и животных и многие другие. Клиника пищевых отравлений, например, обязана глав-

ным образом действию SEs на Т-лимфоциты. Иммунодефицит в ранние сроки (и в поздние тоже) ВИЧ-инфекции в значительной мере объясняется лимфотоксическим действием суперантигенов вируса **ВИЧ**.

5.9. Генетический полиморфизм главного комплекса гистосовместимости

Итак, в случае Т-лимфоцитов пептид-антиген связывается не только с рецептором Т-лимфоцита для антигена, но и (причем по времени «до» Т-лимфоцита) с молекулами МНС антигенпредставляющих клеток. Разнообразие TCR природа создает комбинаторикой сегментов ДНК — уникальным процессом рекомбинации ДНК в соматических клетках. А как молекулы МНС приспособлены к открытому множеству заранее неизвестных антигенов? Иначе, чем TCR и иммуноглобулины. Рекомбинации ДНК в генах МНС нет. Каждый человек наследует определенный набор генов МНС, один и тот же на всю жизнь. Гены МНС кодоминантны. Это значит, что на равных экспрессируются гены обеих гомологичных хромосом — от матери и от отца.

Гены МНС *полигенны*, т.е. существует не один, а несколько локусов как I, так и II класса внутри комплекса МНС. Еще есть и так называемые *неклассические* гены, правильнее их было бы назвать не принадлежащими к ранее охарактеризованным I и II классам МНС. Сколько же генов МНС? Этот участок генома картирован не полностью, но то, что известно о нем, показано на рис. 5.5 и 5.10.

Таким образом, генов МНС-I по 3 на каждой из гомологичных хромосом (A, B, C), следовательно, в сумме их 6. Генов МНС-II также по 3 на каждой из гомологичных хромосом (DP, DQ, DR), следовательно, в сумме их тоже 6. Если у матери и отца нет одинаковых аллелей, то каждый человек имеет 12 генов МНС I и II класса, вместе взятых. Неклассических генов МНС в области расположения генов I класса описано 6 (E, F, G, H, J, X). Возможно, будут открыты и новые гены. Неклассические гены МНС, видимо, неполиморфны или не столь полиморфны, как гены I и II классов.

Известны гены за пределами МНС, кодирующие молекулы, которые обеспечивают представление антигенов Т-лим-

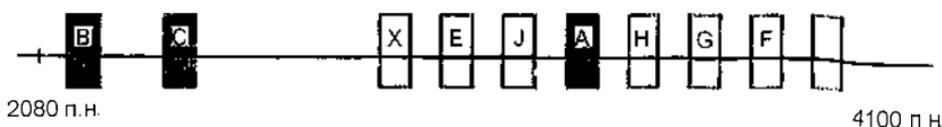


Рис. 5.10. Расположение неполиморфных аллелей области МНС человека (схема).

фоцитам. Примером такой молекулы (и гена соответственно) является CD1, способная связывать и представлять Т-лимфоцитам небелковые антигены (например, миколовую кислоту и липоарабиноманнан оболочки микобактерий).

Описаны неполиморфные молекулы и из области МНС-II — DM и DQ. Функции HLA-DM в какой-то мере известны, и о них мы уже упоминали (стабилизация молекул МНС-II внутри клетки во время «ожидания» смыслового пептида и «катализ» присоединения к МНС-II смыслового пептида, а также генерация «протезного» CLIP-пептида). Гены полипептидных цепей, формирующих молекулу DQ, экспрессируются, по-видимому, только в тимусе и В-лимфоцитах, но функции этой молекулы неизвестны.

Полиморфизм классических генов МНС (I и II классов) означает наличие в популяции множества аллелей — вариантов одноименного гена у разных особей.

Поэтому разные люди, неродственники, имеют различные аллели одноименных генов и, следовательно, разные белки МНС на мембранах своих клеток. Вероятность существования одинаковых аллелей у неродственников, тем более совпадения по всем или многим локусам тем меньше, чем больше полиморфизм в популяции. Полиморфизм генов МНС признан наибольшим из всех известных генов человека.

Полиморфизм этих генов *в популяции* выгоден для выживания вида: не у одного, так у другого человека в популяции организм может быть сумеет представить Т-лимфоцитам своим вариантом молекул МНС антигены того или иного (в том числе и из вновь возникающих) инфекционного микроорганизма. Но вот каждый конкретный человек *либо сумеет, либо нет* воспринять конкретный микробный антиген и если не сумеет, то не сможет защититься от данного микроба иммунным ответом и инфекция может убить его.

Конкретные варианты МНС закрепляются в эволюции естественным отбором (в отличие от TCR и Ig) и каждая отдельная особь оказывается приспособленной к регионарным видам и штаммам инфекционных микроорганизмов, на защиту от которых шел отбор МНС у предков.

Для отдельных локусов МНС известно более сотни аллельных вариантов, и поскольку далеко не каждый человек на Земле типирован по МНС, привести точное число аллелей

нельзя. Международные банки данных располагают сведениями о не менее чем 60 аллелях HLA-A, 111 аллелях HLA-B, 37 аллелях HLA-C, 62 аллелях HLA-DP β , 8 аллелях HLA-DP α , 25 аллелях HLA-DQ β , 16 аллелях HLA-DQ α , 122 аллелях HLA-DR β , 1 аллеле HLA-DR α .

Каждый отдельный аллельный вариант молекулы МНС преимущественно связывает пептиды с определенными якорными аминокислотными остатками.

От 1 до 10 % Т-лимфоцитов любого здорового организма реагируют активацией при контакте с аллогенными по МНС клетками. На любой случайный антиген, однако, реагирует гораздо меньшее число Т-лимфоцитов антигенспецифичных клонов. Столь высокий уровень *аллореактивности* Т-лимфоцитов оставался непонятным (учитывая отсутствие в природе пересадок органов и тканей) до открытия двойного распознавания Р.Цинкернагелем и П.Дохерти. Тогда стало возможным предполагать, что аллореактивность — результат *перекрестной реактивности* с не своими МНС TCR, отобранных при позитивной селекции в тимусе на связывание со своими МНС. Поэтому приходится признать, что отторжение аллогенного трансплантата происходит в результате того, что 1—10 % Т-лимфоцитов реципиента «ошибаются», принимая донорские МНС за свои (перекрестно реагируют), тогда как 99—90 % Т-лимфоцитов реципиента «не видят» чужой трансплантат, поскольку на нем не те МНС, на связывание с которыми прошла позитивная селекция тимоцитов.

Почему же число генов МНС I + II у индивидуума 12 и не больше? Ведь чем больше было бы генов МНС, тем большее разнообразие антигенов могли бы представлять антигенпредставляющие клетки для распознавания Т-лимфоцитам. Ограничение числа генов МНС можно объяснить механизмами позитивной и негативной селекции тимоцитов на связывание с МНС, представленными в тимусе во время и на месте лимфопоеза Т-лимфоцитов.

Исследования показывают, что из каждого подмножества тимоцитов, оставленных живыми при позитивной селекции на связывание с конкретным вариантом молекулы МНС, 5 % будет элиминировано при негативной селекции как слишком аутореактивные, т.е. каждый вариант молекул МНС «стоит жизни» 5 % тимоцитов. На 12 вариантов молекул МНС (если считать только I и II классы) в тимусе должно быть ликвидировано $12 \times 5 = 60$ % тимоцитов. Реально в тимусе погибает более 95 % тимоцитов и лишь менее 5 % выходят в периферические лимфоидные органы. Видимо, в эволюции увеличивать полигенность МНС больше было нельзя.

Есть еще такой термин, как «гены МНС-III». Это область генома внутри комплекса МНС между I и II, в которой картированы гены, кодирующие синтез следующих белков:

1) компонентов системы комплемента C4A и C4B, C2, фактора В;

2) цитокинов — фактора некроза опухолей (TNF- α) и лимфотоксина (LT);

3) гены 21-гидроксилазы — CYP 21A, CYP 21B (фермента, участвующего в биосинтезе стероидных гормонов).

До настоящего времени неизвестно, что кодирует (и кодирует ли) значительная часть ДНК этой области.

5.10. Антигенпредставляющие молекулы «не МНС» — CD1

В организме у человека есть семейство, состоящее из 5 близкородственных генов, которые непалиморфны и кодируют соответственно 5 изоформ мембранных белков, по структуре похожих на МНС-I. Это кластер CD1: CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, CD1e; *a*, *b* и *c* обладают значительной гомологией и составляют одно подсемейство, *d* и *e* — второе. Молекулы CD1 — гетеродимеры, состоящие из α -цепи с молекулярной массой 45 000 и β_2 -микроглобулина. Антигенсвязывающая «впадина» на α -цепи уже и глубже, чем у молекул МНС-I, но главное, что место связывания антигена имеет большое химическое сродство к гидрофобным лигандам. Недавно показано, что антигены, которые связывают молекулы кластера CD1a, *b* и *c*, имеют гидрофобную область (цепи жирных кислот) и гидрофильную область из полярных или заряженных групп (гетерополисахариды). Например, CD1 связывают липогликаны микобактерий, состоящие из гидрофобных липидсодержащих фосфатидилинозитольных групп, связанных с круп-

Таблица 5.5. Экспрессия различных изоформ молекулы CD1 на разных клетках

| Изоформа | На каких клетках экспрессирована |
|----------|---|
| Человек | |
| 1. CD1a | Дендритные клетки; клетки Лангерганса; кортикальные тимоциты |
| 2. CD1b | Дендритные клетки; кортикальные тимоциты |
| 3. CD1c | Дендритные клетки; клетки Лангерганса; кортикальные тимоциты; В-лимфоциты |
| 4. CD1d | В-лимфоциты; эпителиальные клетки кишки; другие нелимфоидные клетки (?) |
| 5. CD1e | Неизвестно |
| Мышь | |
| 6. CD1.1 | Тимоциты; В-лимфоциты; Т-лимфоциты; макрофаги; дендритные клетки; энтероциты; клетки печени |
| 7. CD 12 | Неизвестно |

ными комплексами гидрофильных гетерополисахаридов. Какие Т-лимфоциты распознают такие антигены в комплексе с CD1? Экспериментально показано, что из $T\alpha\beta$ ти антигены распознают лимфоциты, TCR которых содержит сегмент Va24. Эти Т-лимфоциты либо $CD4^+/CD8^-$, либо $CD8^+$, по функции и те, и другие, если взаимодействуют с CD1a, b, c, ЦТЛ. $CD47CD8^+$ Т-лимфоциты, которые взаимодействуют с CD1d, продуцируют большие количества IL-4. Разные изоформы молекулы CD1 экспрессированы на различных клетках (табл. 5.5).

5.11. Т-лимфоциты с рецептором $\gamma\delta$ для антигена (T $\gamma\delta$)

Результаты работ по молекулярному клонированию генов α - и β -цепей TCR были впервые опубликованы в 1983 г. В 1984 г. H.Saito в экспериментах с кольцевыми ДНК перестроенных генов TCR в Т-лимфоцитах обнаружил гомологичные гены, не являющиеся, однако, ни α -, ни β -генами цепей TCR. Таким образом открыли Т-лимфоциты, экспрессирующие молекулу CD3, но не экспрессирующие ни α -, ни β -цепи TCR. Обнаружили TCR, состоящий из двух других полипептидных цепей, их обозначили следующими по алфавиту буквами — γ и δ .

О T $\gamma\delta$ известно следующее. В эмбриогенезе T $\gamma\delta$ появляются раньше, чем T $\alpha\beta$. У мышей первая «волна» T $\gamma\delta$ на 14-е сутки эмбрионального развития (всего у мыши период беременности 21 сут) заселяет эпителий кожи. Эти Т-лимфоциты называют отростчатыми эпидермальными Т-клетками (dETC). У человека таких клеток не находят. В эмбриогенезе T $\gamma\delta$ второй «волны» заселяют эпителий слизистых оболочек репродуктивного тракта. Эти эпидермальные T $\gamma\delta$ имеют *гомогенный* по V-области TCR.

В постнатальной жизни из дифференцирующихся в тимусе лимфоцитов T $\gamma\delta$ составляют меньше 1 %. Также меньше 1 % таких Т-лимфоцитов на территории периферических лимфоидных органов и в периферической крови — это территории T $\alpha\beta$. Но T $\gamma\delta$ в постнатальном периоде вовсе не исчезают, они постоянно дифференцируются, причем из общей клетки-предшественницы с T $\alpha\beta$, только экстратимически, вероятно, в слизистых оболочках преимущественно ЖКТ. T $\gamma\delta$ нормально дифференцируются у бестимусных мышей nude.

Молекулярные механизмы «выбора» дифференцировки клетки-предшественницы в T $\gamma\delta$ или в T $\alpha\beta$ точно неизвестны. Молекулярные генетики подозревают о существовании специальных последовательностей в ДНК — «silencers» — «выключающих» возможность перестройки и экспрессии генов TCR либо $\alpha\beta$, либо $\gamma\delta$. Гены δ -цепи локализованы внутри генов «-цепи — между V α и J α . Поэтому δ -цепи надо

«успеть» перестроить свои сегменты до того, как произойдет перестройка генов «-цепи, поскольку при перестройке генов V-J α -цепи гены δ -цепи необратимо выбрасываются. Как уже отмечалось, гены δ -цепи содержат не менее 4 V-сегментов, диссеминированных среди V-сегментов α -цепи, 3 D-сегмента, 3 J-сегмента и один C-ген. Особенностью перестройки генов δ -цепи является использование двух D-сегментов (VDDJ), при этом с каждого края блока VDDJ добавляются некодируемые нуклеотиды и это существенно повышает разнообразие антигенсвязывающих возможностей δ -цепи.

Гены γ -цепи TCR $\gamma\delta$ имеют два C-сегмента, 3 J-сегмента перед первым C-сегментом и 2 J-сегмента перед вторым C-сегментом, 12 V-сегментов.

В зрелых T $\gamma\delta$ часто обнаруживают продуктивно перестроенные гены β -цепи, а в зрелых T $\alpha\beta$ — перестроенные, но непродуктивно (out-of-frame) гены γ - и δ - цепей.

На мембране T $\gamma\delta$ не выявили экспрессию молекулы CD4. Молекула CD8 на части T $\gamma\delta$ экспрессирована, но не в виде $\alpha\beta$ -гетеродимера, как на CD8⁺ T $\alpha\beta$, а в виде гомодимера из двух α -цепей.

T $\gamma\delta$ распознают антигены иначе, чем T $\alpha\beta$. По своим антигенраспознающим способностям рецептор T-лимфоцитов $\gamma\delta$ напоминает иммуноглобулины в большей степени, чем другой рецептор T-лимфоцитов $\alpha\beta$. CDR3 (complementary-determining region-3) δ -цепи длинная и вариабельная, как у H-цепи иммуноглобулинов, а CDR3 γ -цепи короткая и не слишком вариабельная, как у L-цепи иммуноглобулинов. Как и иммуноглобулины, TCR $\gamma\delta$ способен связывать нашивные антигены и независимо от классических молекул МНС, т.е. для T $\gamma\delta$ необязателен или вовсе не нужен предварительный процессинг антигена в антигенпредставляющих кВТкаждых некоторых экспериментах антигены для T $\gamma\delta$ представляют неклассические молекулы МНС, например CD1. Разнообразие аминокислотного состава CDR3 TCR $\gamma\delta$ больше, чем у TCR $\alpha\beta$, и больше, чем у иммуноглобулинов, т.е. в целом T $\gamma\delta$ способны распознавать немалое множество различных антигенов.

Антигены какого рода распознают T $\gamma\delta$? Они «замечены» в распознавании аутоантигенов, бактериальных суперантигенов, фосфолипидных антигенов микобактерий, карбогидратов, протеинов теплового шока ((hsp — heat-shock proteins)

По функциям T $\gamma\delta$, как и T $\alpha\beta$, могут быть продуцентами цитокинов и/или цитотоксическими T-лимфоцитами.

Предполагают, что T $\gamma\delta$, локализованные в барьерных тканях и имеющие гомогенный по V-области рецептор, распознают hsp или стресс-протеины, выделяемые травмированными кератиноцитами, и начинают продуцировать цитокины, которые «организуют» иммунный ответ на микробы, проникающие в организм при травме покровных тканей.

У мышей с «knock-out» по генам TCR $\gamma\delta$ нет санирующего иммунитета в отношении микобактериальных инфекций: туберкулез. Для них смертелен, и Т-лимфоциты с $\alpha\beta$ -рецептором не компенсируют в данном случае отсутствие Туб. У мышей с «knock-out» по генам TCR $\alpha\beta$, но с сохраненными генами TCR $\gamma\delta$, возможен санирующий иммунный ответ против, например, вируса простого герпеса, *Listeria monocytogenes*, возбудителя малярии.

5.12. Субпопуляции нормальных киллеров

Нормальные киллеры (NK, normal killers, или natural killers) были описаны впервые как большие гранулярные лимфоциты, способные *in vitro* спонтанно (т.е. без предварительной иммунизации) убивать некоторые опухолевые клетки, а также инфицированные вирусами клетки. Позже выяснили, что морфологически НК могут выглядеть и как малые лимфоциты.

НК дифференцируются из общей лимфоидной клетки-предшественницы. НК чем-то отличаются от Т-лимфоцитов (в НК не перестраиваются гены TCR и они распознают свои мишени иначе), но и чем-то похожи (в НК возникает тот же самый цитотоксический аппарат убийства клетки-мишени, что и в ЦТЛ). Кстати, спонтанную цитотоксичность (без предварительной иммунизации) могут развивать и некоторые ЦТЛ.

НК в циркулирующей крови составляют около 15 % от всех мононуклеарных клеток. НК в тканях локализованы в иных местах, чем Т-лимфоциты: в печени (это основное место локализации НК у человека), красной пульпе селезенки, слизистых оболочках (особенно репродуктивных органов). НК не рециркулируют между кровью и лимфой, они циркулируют только в крови.

Эффекторные функции НК — цитотоксичность (в отношении клеток-мишеней) и продукция цитокинов (IFN- γ , TNF, GM-CSF, IL-5, IL-8). Таким образом, будучи сами активированы, НК вносят вклад в immune deviation в пользу Th1 (IFN- γ), стимулируют гемопоэз (GM-CSF), дифференцировку и мобилизацию эозинофилов (IL-5), усиливают воспалительную реакцию в очаге (IL-8).

Какие стимулы активируют НК? На что они реагируют? Как и всякая клетка, НК реагируют на то, для чего у них есть рецепторы на мембране. У них есть рецепторы для цитокинов (по крайней мере для IL-2, 4, 10, 12, 15 и IFN- γ), для антигенов МНС-I, особый рецептор для Fc-концов IgG — Fc γ RIIIA (CD16). Последний рецептор ассоциирован в цитоплазме клетки с ζ -цепью (другие цепи комплекса CD3 в НК не экспрессируются), которая проводит внутрь сигнал, активирующий цитотоксический аппарат НК. Через этот ре-

цептор НК «распознают» то, что распознает IgG (CD 16 свя-жет иммунный комплекс за Fc-конец молекулы иммуноглобулина), т.е. самые разнообразные антигены. Таким образом НК осуществляют *антигенспецифичную* эффекторную иммунную реакцию *антителозависимой клеточной цитотоксичности* (АЗКЦТ). Феномен АЗКЦТ воспроизводим, достоверно наблюдается в экспериментах *in vitro*. Его наличие и значение *in vivo*, однако, подтвердить не просто из-за отсутствия адекватных методов.

Эксклюзивным мембранным маркером НК является мембранная молекула CD56 — изоформа адгезивной молекулы из семейства молекул адгезии клеток нервной системы (NCAM — neural cell adhesion molecule) с молекулярной массой 135 000—220 000 из суперсемейства иммуноглобулинов.

У человека четко различают по крайней мере две функционально разные *субпопуляции* НК: CD56^{много}/CD16⁻ и CD56^{мало}/CD16⁺. Субпопуляция CD56^{мало}/CD16⁺ в АЗКЦТ является эффекторной. Субпопуляция CD56^{много}/CD16⁻ преобладает в печени, локализуется в синусоидах (так называемые Pit-клетки), слизистой оболочке матки и в децидуальной оболочке. Полагают, что именно НК слизистой оболочки матки «не пускают» трофобласт плода «слишком далеко» в тело матери. Процесс инвазии трофобласта контролируется генами HLA-G (неполиморфная, неклассическая молекула I класса). НК в децидуальной оболочке имеют мембранный фенотип активированных клеток. На них экспрессированы, кроме CD56^{много}/CD16⁻, еще и такие мембранные молекулы, как CD69, MHC-II, CD45RO, CD49a(VLA-1), CD54 (ICAM-1).

В крови содержание НК с фенотипом CD56^{много}/CD16⁻ минимальное. Эта субпопуляция НК, кроме того, конститутивно экспрессирует высокоаффинный рецептор для IL-2 и способна пролиферировать в ответ на низкие концентрации IL-2. НК, преобладающие в крови и селезенке, имеют фенотип CD56^{мало}/CD16⁺. В функциональном отношении они являются эффекторами АЗКЦТ — пролиферируют в ответ на комбинации цитокинов (IL-15 + IL-10) или (IL-15 + IL-12), желательна на близком расстоянии от активированных Т-лимфоцитов. Если НК стимулируют комбинацией (IL-15 + IL-12), то они начинают активно продуцировать IFN- γ . Если НК стимулируют комбинацией (IL-15 + IL-10), то они IFN- γ не продуцируют. НК начинают продуцировать IL-5 только при условии их стимуляции IL-2, который, как известно, продуцируют исключительно активированные Т-лимфоциты, т.е. продукция IL-5 нормальными киллерами возможна только после антигенспецифичного иммунного ответа со стороны Т-лимфоцитов.

На НК есть рецепторы, способные связывать молекулы MHC-I собственных клеток. Но эти рецепторы не активиру-

ющие, а ингибирующие киллерную функцию НК, поэтому они обозначены KIR (killer inhibitory gr.p.p.reus). Известны две разновидности KIR, различающиеся по молекулярной массе: легкий KIR состоит из двух внеклеточных доменов и имеет массу 58 000 (обозначен p58). Он «узнает» антигены локуса HLA-C. Более крупный KIR имеет 3 внеклеточных домена и молекулярную массу 70 000 (p70), «узнает» HLA-B и HLA-A.

Гены KIR NK человека локализованы в хромосоме 19. На уровне ДНК они не перестраиваются, но на уровне транскрипта РНК с этих генов имеет место альтернативный сплайсинг, что обеспечивает определенную степень разнообразия вариантов этих рецепторов у каждого отдельного НК. На каждом единичном НК экспрессировано более одного варианта KIR-рецепторов. Кроме того, на НК экспрессирована молекула CD8, имеющая сродство к МНС-I.

Если при контакте с какой-то клеткой эти рецепторы «не находят» достаточного количества своих лигандов (МНС-I), то ингибирующий сигнал с KIR-рецепторов также оказывается недостаточным, и НК развивает в отношении этой клетки цитотоксическую атаку и убивает клетку. Поскольку субнормальная экспрессия МНС-I возникает при патологических процессах в клетках (при вирусных инфекциях, опухолевом перерождении), постольку и НК могут убивать инфицированные вирусами или перерожденные клетки собственного организма.

Ингибирующим киллерную активность рецептором НК является и мембранная молекула CD94 в комплексе с NKG2A. Этот рецептор принадлежит в семейству лектинов С-типа. Еще одним ингибирующим рецептором с неизвестным лигандом служит молекула gp49B.

Контакты с собственными клетками НК осуществляют посредством адгезивных молекул [например, CD2, лиганд CD58 (LFA-3) и CD31 (PTCAM-1)]. Молекула CD31 обеспечивает гомотипную адгезию НК к эндотелию и экстравазацию НК из сосудов в ткани.

Кроме того, на НК экспрессировано множество интегринов. На НК конститутивно экспрессированы такие интегрины, как CD18, LFA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18), VLA-4 (CD49d/CD29), VLA-5 (CD49e/CD29). LFA-1 обеспечивает связь с клетками эндотелия [лиганды - ICAM-1 (CD54) и ICAM-2 (CD102)]. Mac-1 также имеет сродство к лиганду CD54. VLA-4 вступает в связывание с васкулярной молекулой клеточной адгезии VCAM. VLA-5 обеспечивает прилипание НК к фибронектину межклеточного матрикса.

НК отвечают на (т.е. имеют рецепторы для) хемокины семейства «СС»: MIP-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α), IP-10 (interferon-inducible protein-10), RANTES, MCP-1, 2, 3 (monocyte chemotactic protein-1, 2, 3), а также IL-12.

Вероятно, НК, локализованные в синусоидах печени, через которые проходит в первую очередь кровь *vena porta* от слизистой оболочки всего ЖКТ, активно участвуют в убийстве лимфоцитов, активированных пищевыми антигенами, и таким образом обеспечивают иммунологическую толерантность организма в целом к пище (так же как НК слизистой оболочки матки принимают участие — может быть, решающее — в поддержании состояния толерантности организма матери к тканям эмбриона).

Глава 6. АКТИВАЦИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ

6.1. Что такое активация лимфоцита

Активация лимфоцита в периферических лимфоидных тканях — это инициированные внешними сигналами (следовательно, через рецепторы для этих сигналов на клеточной мембране лимфоцита) биохимические реакции внутри клетки, приводящие к активизации транскрипции с определенных генов, что в свою очередь приводит к пролиферации и додифференцировке лимфоцита (т.е. биосинтезу специфических цитокинов и мембранных молекул).

Почему пролиферация — обязательный процесс при активации лимфоцита в начале развития иммунного ответа? Проллиферация в периферических тканях в норме — исключительное свойство именно лимфоцитов. Другие клетки крови, в том числе клетки доиммунных механизмов резистентности к инфекциям, фагоциты, в периферических тканях не пролиферируют, даже будучи активированными к действию после встречи со своим целевым объектом. Обязательность пролиферации для лимфоцитов объясняется все тем же уникальным свойством лимфоцитов — огромным числом вариантов рецепторов для антигена (10^{16} — 10^{18}). Отсюда следует, что численность лимфоцитов с конкретным рецептором — один или мало, если учесть перекрестно-реагирующие с разной аффинностью рецепторы, то несколько тысяч клеток. Для адекватной санации от антигена лимфоцитов нужного клона надо столько, сколько потребуется. Поэтому пролиферация клона заложена в жизненную программу каждого лимфоцита — в периферических тканях после встречи с антигеном.

Запрограммированность лимфоцитов на пролиферацию объясняет еще два явления, характеризующих именно лимфо-

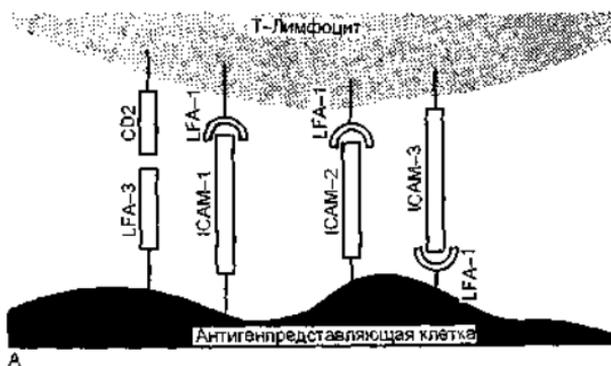
вднуто ткань. Первое — запрограммированность на апоптоз — обязательное как ни в одной другой ткани явление у млекопитающих. Второе: опухолевая трансформация лимфоцитов происходит чаще, чем в клетках других гистотипов, так как в нормальных механизмах пролиферации есть чему и «сломаться» в сторону патологического лимфопролиферативного процесса.

Активация Т-лимфоцита антигеном осуществляется при сочетанном взаимодействии некоторых молекул на поверхности Т-лимфоцита с рядом *комплементарных* молекул на поверхности антигенпредставляющей клетки. Это взаимодействие принимает морфологическую *форму*, получившую название *супрамолекулярных агрегатов*. Недавно на лимфоцитах от трансгенных по генам TCR мышей (у которых все Т-лимфоциты имеют одинаковый TCR, антиген для которого точно известен) люди научились прямо наблюдать эти структуры под флюоресцентным микроскопом высокого разрешения. Взаимодействующие молекулы мембран между двумя клетками называют еще *межклеточным интерфейсом*. Интерфейс между Т-лимфоцитом и антигенпредставляющей клеткой состоит из следующих молекул. Со стороны Т-лимфоцита эти молекулы следующие: TСI o

со стороны ~~антигенпредставляющей клетки комплементарные молекулы-лиганды~~ соответственно след. ующие: «пептид — МНС-Г или II», В-7.1 и В-7.2, CD40 (рис. 6.1).

Биохимические внутриклеточные реакции проведения сигнала на гены — это реакции фосфорилирования молекул белков по остатку тирозина. Внутриклеточные участки молекул TCR и корецепторов физически ассоциированы с определенными тирозинкиназами, и в результате изменения конформации внеклеточных участков рецепторов при связывании с антигеном внутриклеточные тирозинкиназы иницируют цепь реакций фосфорилирования внутри клетки.

В цитоплазматических участках проводящих сигнал цепей рецепторов идентифицированы определенные последовательности остатков тирозина, по которым происходит фосфорилирование. Эти последовательности обозначены ИАМ (от англ. immunoreceptor tyrosine-based activation motifs). Они представляют собой последовательность аминокислотных остатков $YXX(L/I)X_{6-8}(L/I)$. Остатки тирозина фосфорилируются киназами семейства src - Lck, Fyn, blk и Lyn. В Т-лимфоцитах хорошо изучена киназа p56^{Lck}. Она связывается с цитоплазматическими участками молекул корецепторов CD4, CD8, а также цепей ϵ , γ и β TCR. После фосфорилирования ИАМ в этих молекулах они изменяют конформацию и становятся доступны для связывания по SH2-домену с тирозинкиназами цитозоля Zap70 и Syk. Внутриклеточное проведение сигнала в зрелом, завершившем лимфопоэз Т-лимфоците можно представить схемой на рис. 6.2.



А



Б

Рис. 6.1. Межклеточный «интерфейс» между Т-лимфоцитом и антигенпредставляющей клеткой (АПК),

А. Адгезия Т-лимфоцита и АПК до распознавания антигена; эти взаимодействия слабые и если не произойдет связывания TCR с антигеном, то клетки легко диссоциируют. Б. После связывания TCR с комплексом молекулы MHC — пептид изменяется конформация молекулы LFA-1 и связь между клетками становится более сильной и продолжительной.

Молекула CD45 является трансмембранной тирозинфосфатазой. Ферментативной активностью обладает цитоплазматический участок молекулы. Этот фермент катализирует отщепление ингибиторных фосфатных групп от молекул тирозинкиназ Lck и Fyn, ассоциированных с цитоплазматическими участками молекул соответственно CD4 или CD8 и ζ - и ϵ -цепей CD3. Точно реакции, следующие за этим, неизвестны. Известно, что фосфорилированная ζ -цепь присоединяет цитозольную тирозинкиназу ZAP-70 (ζ -associated protein-70) и при этом ее активирует. Активированная ZAP-70 катализирует активацию фосфолипазы C- γ , которая расщепляет фосфатидил-инозитол-4,5-бифосфат (PIP₂) до диацил-глицерола (DAG) и инозитол-трифосфата (IP₃).

В Т-лимфоцитах идентифицированы еще два так называемых

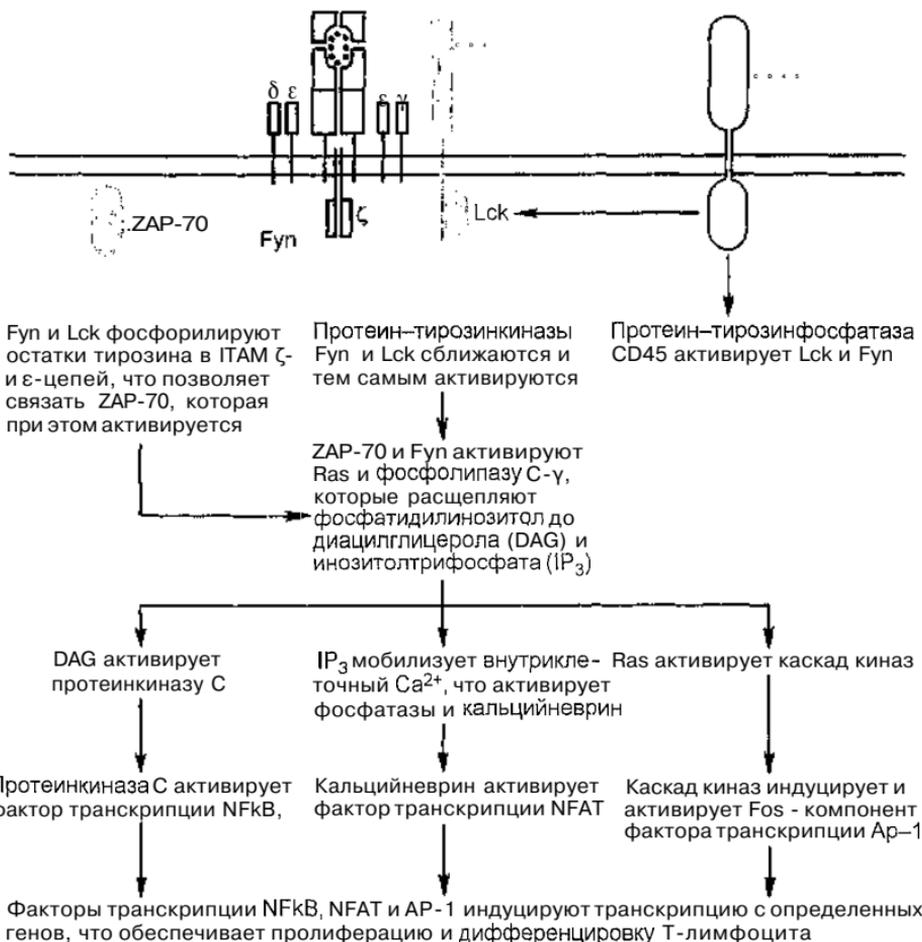


Рис. 6.2. Взаимодействие внутриклеточных молекул, участвующих в проведении внешних сигналов на ядро (гены) CD4⁺ Т-лимфоцита (схема).

CD45 — трансмембранная тирозинфосфатаза, отщепляет ингибирующие фосфаты от ITAM цитоплазматических участков цепей комплекса TCR, чем способствует активации внутриклеточных тирозинкиназ Fyn и Lck; ZAP-70 (ζ -associated protein-70) — тирозинкиназа с молекулярной массой 70 000, ассоциированная с ζ -цепью комплекса TCR; DAG — диацилглицерол; IP_3 — инозитолтрифосфат; NF κ B — ядерный фактор транскрипции каппа-В; NFAT (nuclear factor of activated T cells) — ядерный фактор транскрипции, специфичный для активированных Т-лимфоцитов; AP-1 — фактор транскрипции, представляющий собой комплекс генрегулирующих белков из семейств Fos и Jun.

адаптерных белка — промежуточные участники проведения сигнала — LAT (Linker for activation of T cells) и SLP76 (SH2-domaine containing leukocyte protein of 76 kDa). LAT является мембранным белком, способным связывать фосфолипазу C- γ 1 и тем самым физически подводить ее к липидам мембраны.

SLP76 — цитозольный белок, обеспечивающий связывание тирозинкиназ с фосфолипазой C- γ 1. В В-лимфоцитах нет молекул LAT и SLP76. Вероятно, в В-лимфоцитах есть свои адаптерные молекулы для проведения сигнала (BLNK/SLP65, HS1), но они мало изучены.

DAG активирует протеинкиназу C (серин/треонинкиназу), которая активирует фактор транскрипции NF κ B.

Инозитол-трифосфат высвобождает Ca²⁺ из внутриклеточных депо. Существенно, что в активируемом Т-лимфоците включаются и кальциевые насосы клеточной мембраны для подкачки Ca²⁺ из внеклеточной среды. Свободные Ca²⁺ активируют фосфатазу — кальцийневрин (calcineurin), который удаляет ингибирующие фосфатные группы с цитоплазматического белка — предшественника фактора транскрипции NFAT. Это позволяет данному фактору мигрировать на территорию ядра и связать фактор AP-1. В результате образуется активный фактор транскрипции NFAT, специфичный именно для активированных Т-лимфоцитов.

Третье последствие проявления активности ZAP-70 — активация Ras — GTP-связывающего протеина (молекулярная масса 21 000). Этот белок — широко распространенная внутриклеточная молекула, участвующая в проведении сигналов путем активации каскадов протеинкиназ, направленных на семейство генрегулирующих белков Fos. Белки Fos образуют комплексы с «братьями» из семейства Jun, и вместе с ними представляют собой факторы транскрипции AP-1. Сами по себе факторы AP-1 инициируют пролиферацию клеток. В комбинации с тканеспецифичным фактором NFAT образуется активатор транскрипции именно с генов, продукты которых уникальны для Т-лимфоцитов.

Кстати, знание *тканеспецифичности* факторов транскрипции помогает в поиске целенаправленно действующих лекарственных средств. Так были подобраны два препарата, достаточно избирательно ингибирующие кальцийневрин и тем самым препятствующие образованию активного фактора транскрипции Т-лимфоцитов (NFAT) — циклоспорин А и FK 506. Эти препараты подавляют продукцию цитокинов в Т-лимфоцитах, инициируемых к иммунному ответу антигенным раздражением, увЫ, поликлонально.

После проведения сигнала может произойти (но не обязательно) такое морфологическое событие, как *интернализация рецепторов* с поверхности клетки. Этот феномен называют еще *модуляцией рецепторов*. Всего 100 комплексов пептид — МНС на поверхности антигенпредставляющей клетки способны вызвать интернализацию около 10 000 молекул TCR с поверхности Т-лимфоцитов. При этом у CD4⁺ Т-лимфоцитов на 1 молекулу TCR приходится 2 молекулы CD4 (димеризация корцептора CD4 при активации Т4-лимфоцита).

6.2. Апоптоз и торможение активации

Во всякой живой клетке, естественно, происходят *противоположные* процессы. В лимфоцитах — и Т, и В — в норме есть материальный субстрат (т.е. наружные рецепторы и внутриклеточные механизмы) не только для активации, но и торможения активности клеточной биохимической «машины». Торможение активности происходит по двум вариантам: 1) клетка остается живой, но «не пристает» к другим клеткам (не проявляет активность), 2) активность лимфоцита «гасится» путем запуска внутриклеточного механизма самоуничтожения клетки, называемого *апоптозом* (син.: запрограммированная смерть клетки — PCD — programmed cell death). Запрограммированность апоптоза означает, что в клетке *для активации внешними сигналами* доступны определенные гены («программа смерти»), кодирующие определенные продукты — ферменты, предназначенные для закономерной и необратимой дезинтеграции всей ДНК и остального содержимого клетки. Но в нормальных клетках апоптоз не запускается по сугубо внутриклеточной программе развития отдельно взятой клетки. Нужен внешний сигнал. Для его восприятия на клетках, в дифференцировке которых апоптоз предусмотрен, есть специальные рецепторы, например Fas (CD95).

Следовательно, и сигналы на апоптоз специальные. Но, кроме того, *отсутствие* сигналов с других рецепторов, характеризующих жизненную активность клетки (эти сигналы называют *сигналами на выживание*), также при определенных условиях побуждает клетку выйти в апоптоз. Помощью сигнала на выживание (и, следовательно, предотвращения апоптоза) является связывание TCR с MHC-I или MHC-II при позитивной селекции тимусе. Для периферических Т-лимфоцитов служит связывание IL-2 со своим рецептором на лимфоците.

6.2.1. Апоптоз

Известно два способа смерти живой клетки — некроз и апоптоз. *Некроз* — это травматическая гибель по самым разным причинам: механическое или осмотическое нарушение целостности мембраны, термический или химический ожог, повреждение микробными или иными токсинами и т.д. Некроз приводит к попаданию содержимого клетки в окружающую среду и в норме вызывает *воспалительную реакцию*. *Апоптоз* — это фрагментация содержимого клетки изнутри, осуществляемая специальными внутриклеточными ферментами, индукция и активация которых происходят при получении клеткой внешнего сигнала или при принудительной «инъекции» в

клетку ферментов — активаторов апоптозной «машины» (последнее имеет место при осуществлении эффекторной функции ЦТЛ и НК при убийстве ими клеток-мишеней), или при повреждении клетки внешними факторами, не приводящими к некрозу, но способными инициировать апоптоз (ионизирующая радиация, обратимый перегрев и др.).

Явление «дружной» гибели определенных клеток в многоклеточном организме наблюдали еще в конце XIX — начале XX вв. и именно на лимфоцитах. Физиологи регистрировали, что при голодании в первую очередь организм теряет значительную часть лимфоцитов. Поскольку функции лимфоцитов в те времена были неизвестны, их даже называли иногда трофоцитами как раз за то, что организм «съедает» их при голодании. Наблюдали также безвоспалительную гибель тимоцитов при введении в организм экспериментальных мышей глюкокортикоидных гормонов. Термин «апоптоз» тогда еще не применяли.

Апоптозом более 20 лет назад назвали биологическое явление, описанное зоологами [Kerr J.F.R. et al., 1972] при гистологическом исследовании развития личинок круглых червей нематод (на примере *Caenorhabditis elegans*). У них наблюдали одновременную гибель одного и того же числа клеток в строго определенный момент развития: тело личинки содержит 1076 клеток, а тело взрослого червячка — 945; ровно 131 клетка в нужный момент исчезает. Эта «ровность» навела на правильную мысль о запрограммированности такой клеточной смерти.

Термин «апоптоз» взят из греческого языка (απορροῦσθαι), этим словом называли «то, что должно быть отвергнуто в споре» или «листья, опадающие с деревьев осенью». У нематод идентифицировали два гена *ced-3* и *ced-4*, необходимые для осуществления апоптоза, и ген *ced-9*, подавляющий апоптоз. В 1976 г. при электрофорезе ДНК обнаружили фрагментацию ДНК на регулярные отрезки размером примерно в 180 пар нуклеотидов. Как всякая регулярность и правильность, а не хаос, это также навело на правильную мысль о том, что в данном случае исследователи столкнулись с закономерным явлением природы, имеющим отлаженный биохимический и клеточный механизм развития. Но с феноменом запрограммированной гибели клеток этот факт был «увязан» позже. У млекопитающих клетки всякой ткани, которой свойственна пожизненная физиологическая регенерация, в дифференцировке приобретают программу на апоптоз. Лимфоцитам апоптоз свойствен в мере, превышающей таковую для любых других клеток: лимфоциты — единственные клетки крови, которые мало того, что «излишне» делятся при лимфопозе («под нужды» позитивной и негативной селекции), еще и обязаны делиться на периферии при инициации иммунного ответа.

Примеры морфогенстических событий, при которых происходит апоптоз, как минимум следующие:

- удаление стадиоспецифичных тканей и органов в эмбриогенезе;
- удаление короткоживущих (несколько часов) клеток крови (например, нейтрофилов);
- позитивная и негативная селекция тимоцитов;
- элиминация пролиферирующих клеток в отсутствие их специфических факторов роста;
- индуцированная активацией смерть лимфоцитов (AICD).

Кроме того, апоптоз запускается в клетках-мишенях при работе таких эффекторных механизмов иммунитета, как действие ЦТЛ и НК.

Апоптоз развивается как процесс. Точная последовательность событий строго неизвестна. Возможно первое необратимое действие в клетке — это повышение проницаемости мембран митохондрий.

При апоптозе активируются особые ферменты — цистеиновые протеазы, специфичные по остатку аспарагина и поэтому называемые *каспазами* (caspases). У млекопитающих идентифицировали 10 каспаз. Их обнаруживали путем скрининга клеточной ДНК на последовательности, гомологичные гену нематод *ced-3*.

Позже происходит еще один существенный и характерный для апоптоза процесс, состоящий в том, что специальные ферменты, эндонуклеазы, нарезают всю клеточную ДНК между нуклеосомами на регулярные фрагменты в основном 190—200 пар нуклеотидов (разброс от 50 до 300 пар). Вероятно, эндонуклеазы активируются под действием каспазы-3, известной еще под названиями CPP32 или апроаин.

Каспазы связаны с кислыми и нейтральными сфингомиелиназами, которые будучи активированными, генерируют церамиды и ганглиозиды, меняющие мембраны клетки. В результате ядро постепенно сморщивается и фрагментируется. Клеточная мембрана теряет упругость, местами происходит инверсия фосфолипидов, и наружу «выворачивается» фосфатидилсерин. Его способны распознавать фагоциты. Затем клетка распадается на окруженные мембраной фрагменты — апоптозные тельца. Внутриклеточное содержимое при этом не «вытекает» во внеклеточную среду. Воспалительная реакция в ткани не развивается. Апоптозные тельца, мембранные пузырьки, фагоцитируют макрофаги либо поглощают макроэндоцитозом дендритные клетки. Макрофаги сорбируют апоптозные тельца следующими молекулами своей мембраны: интегрином $\alpha_v\beta_3$, CD36 (молекула адгезии, GPIIb), возможно, рецептором для «мусора» (scavenger receptor). Дендритные клетки сорбируют апоптозные тельца интегрином $\alpha_v\beta_3$ и молекулой CD36.

Макрофаги разрушают вещество апоптозных телец до мелких метаболитов. При этом продукция провоспалительных цитокинов в макрофагах не активируется. А вот дендритные клетки процессируют вещества апоптозных телец (как и любых других антигенов) и в результате экспрессируют на мембране комплексы пептидов с молекулами МНС-I и II, среди пептидов — как экзогенные, например вирусные (если апоптозу подверглась инфицированная вирусом клетка), так и пептиды — фрагменты собственных белков организма. Дендритные клетки способны индуцировать иммунный ответ на компоненты апоптозных телец. Именно такие процессы лежат в основе развития иммунного ответа на собственные поврежденные ткани, а также на тканевые антигены чужеродных трансплантатов.

Точные биохимические механизмы апоптоза еще не изучены. Известны лишь отдельные факты. Известны гены (по крайней мере два), продукты которых предотвращают апоптоз. Это гены Bcl-2 (соответственно белок bcl-2) и Bcl-x. Ген Bcl-2 млекопитающих гомологичен гену ced-9 нематод. С гена Bcl-x в результате альтернативного сплайсинга первичного РНК-транскрипта получают два белка — малый (small) bcl-x_s и большой (large) bcl_L. Малый белок bcl-x_s индуцирует, а большой белок bcl_L предотвращает апоптоз.

Излишняя экспрессия этих антиапоптозных белков происходит при лимфопролиферативных заболеваниях и хронических воспалительных процессах, например при ревматоидном артрите в Т-лимфоцитах синовиальных полостей. В последнем случае полагают, что антиапоптозные сигналы лимфоциты синовиальных полостей получают от разросшихся фибробластов стромы, что в патогенезе заболевания является первичным процессом по отношению к патогенетическим эффектам активированных Т-лимфоцитов.

Сигналы для экспрессии Bcl-2 и Bcl-x_L, вероятно, приходят с у-цепи рецепторов для цитокинов, общей у рецепторов для IL-2, 15, 4, 7 и 13. Кроме того, при анализе механизмов хронического воспаления суставов при ревматоидном артрите установили, что индукция антиапоптозных генов в зрелых Т-лимфоцитах (которым в норме положено было бы «умереть» апоптозом) происходит, вероятно, при взаимодействии молекул интегринов на фибробластах (активный пептид ARg — Gly — Asp — Ser) с молекулой LFA-1 (CD 11a/CD 18) на Т-лимфоцитах.

Известны некоторые пары рецептор — лиганд, связывание которых индуцирует апоптоз в клетке — носителе рецептора:

- рецептор Fas (CD95) на клетке-мишени — Fas-лиганд (FasL) на мембране клетки-«убийцы»;
- рецептор для глюкокортикоидных гормонов в лимфоците — глюкокортикоидные гормоны (этот механизм ин-

дукции апоптоза «работает» на территории тимуса при позитивной селекции, причем глюкокортикоиды синтезируются эпителиальными клетками тимуса. На территории тимуса при негативной селекции тимоцитов апоптоз индуцирует Fas-лиганд, экспрессированный на дендритных клетках тимуса);

- при определенных сопутствующих условиях рецептор для TNF I (p55) и его лиганды TNF или LT. Выделяют до 6 так называемых рецепторов TRAIL (TNF — receptor-related apoptosis inducing ligand) — рецепторов, родственных рецептору для TNF, лиганды которых вызывают апоптоз;
- CD30 (на тимоцитах или Т-лимфоцитах) — CD30L (на эпителии и дендритных клетках мозговой зоны тимуса и других клетках).

В экспериментах с В-лимфоцитами показано, что активация В-лимфоцита через специфический рецептор для антигена (BCR) сопряжена с защитой от апоптоза на несколько дней, необходимых для развития иммунного ответа, тогда как стимуляция В-лимфоцита (например, митогенами), помимо BCR, приводит к их быстрому, опосредованному через Fas-рецептор апоптозу.

Индукция так называемой высокодозовой толерантности (когда в организм парентерально вводят большую дозу специфического антигена) по механизму — это элиминация антигенспецифичного клона лимфоцитов апоптозом как следствие «ударной» активации клона специфическим антигеном. Превышение меры — всегда патология.

В норме факторы транскрипции, образующиеся при нормальном процессе активации Т-лимфоцита, AP-1, NFAT и NFkB, активируют и энхансерные последовательности для Fas-лиганда, что создает перспективу апоптоза у лимфоцитов, «отработавших свое» в иммунном ответе.

Суперантигены индуцируют апоптоз сразу после пролиферации поликлонально «охваченных» Т-лимфоцитов, а также апоптоз в дендритных клетках. Все это объясняет продолжительную иммунодепрессию после воздействия на организм суперантигенов.

Описаны случаи наследственных дефектов в Fas или/и FasL: такие люди с самого рождения страдают тяжелыми формами лимфопролиферативных или/и аутоиммунных болезней, быстро приводящих к летальному исходу.

У млекопитающих описаны и другие гены, кодирующие продукты, которые ингибируют апоптоз: Bcl-w, Mcl-1, ALG-3 и др. Гены, ингибирующие апоптоз «наших» клеток, выявлены у вирусов Эпштейна—Барр, аденовирусов, вируса африканской лихорадки свиней. Клиницисты рассматривают эти вирусы как потенциально онкогенные.

Есть и гены, ускоряющие апоптоз. У млекопитающих выявлены такие гены — *Bax, Bak, Bad, Nbk, Bcl1*.

Иногда в литературе можно отметить, что апоптоз и индуцированную активацией смерть клеток (AICD — activation-induced cell death) считают синонимами. Это не вполне корректно. Явление апоптоза шире, чем AICD. Например, апоптоз запускается в клетках, в которых произошло радиационное повреждение ДНК в большем объеме, чем это могут исправить ферменты репарации ДНК. Некроза клеток при этом нет, есть именно апоптоз. Внутриклеточным фактором, индуцирующим программу на апоптоз, в данном случае является, вероятно, белок с молекулярной массой 53 000, он обозначен p53. Белок p53 — фактор транскрипции. Физиологические функции этого белка малоизвестны, неизвестно даже, функционирует ли он в норме. Однако при дефектах в гене p53 развиваются опухоли. У мышей с *knock-out по гену p53* онтогенез примерно до 10-месячного возраста происходит без видимых отклонений, но после 10 мес практически все такие животные умирают от рака или саркомы. Или, например, если тимоциты *in vitro* поместить в среду с температурой 43 °С, то через некоторое время они погибнут по механизму некроза. Но если те же тимоциты прогреть до той же температуры 43 °С в течение 3 мин, после чего «вернуть» к физиологической температуре 36,7 °С, то тимоциты будут все равно погибать, но по механизму апоптоза. Кроме того, постнатальный апоптоз возможен и не в лимфоидной ткани. Например, апоптоз гепатоцитов происходит при алкогольных циррозах печени, при которых показана экспрессия Fas и FasL именно на гепатоцитах. Правильно ли рассматривать алкогольную альтерацию печени как AICD, сказать трудно.

6.2.2. Торможение активации

Исследования закономерностей взаимодействия TCR со своими лигандами показали, что не всякое связывание приводит к активации лимфоцита. Некоторые комплексы пептидов с МНС связываются с TCR, не вызывают активацию лимфоцита и препятствуют *собой* связыванию с тем же TCR другого комплекса пептид — МНС, который в отсутствие первого вызывает активацию лимфоцита. Такие ингибирующие пептиды называют *пептидами—антагонистами*. Пептиды, вызывающие активацию с TCR, называют *пептидами-агонистами*. Химические исследования показывают, что пептиды-антагонисты получают при замене в пептидах-агонистах аминокислотных остатков, участвующих в связывании с TCR, при сохранении остатков, участвующих в связывании с молекулами МНС.

Вероятно, ингибция активации лимфоцитов пептидами-антагонистами играет определенную роль в патогенезе перси-

стирующих вирусных инфекций. Это показано, например, для ВИЧ-инфекции: мутантные вирусные пептиды-антагонисты способны заблокировать активацию вирусспецифических CD8⁺ ЦТЛ, будучи в количестве в 100 раз меньшем, чем «нормальные» вирусные пептиды-агонисты, т.е. в каких-то случаях по крайней мере аффинность связи с TCR у пептида-антагониста может превосходить аффинность связи пептида-агониста.

6.2.3. Иммунорецепторы: активирующие рецепторы и негативные корецепторы лимфоцитов

Давно известно, например, что введение в кровь животного готовых антител в достаточных количествах блокирует выработку одноименных антител В-лимфоцитами этого животного. Многие другие феномены на клеточном и организменном уровне свидетельствуют, что при определенных воздействиях на лимфоцит чем-то извне внутриклеточные биохимические реакции в лимфоците тормозятся. Это указывает на то, что на мембране лимфоцита есть рецепторы, которые при связывании с внешним лигандом проводят в клетку не активирующий, а *ингибирующий* сигнал.

Понятие «*иммунорецепторы*» включает в себя 3 типа рецепторов лимфоцитов и их партнеров-лейкоцитов: *TCR*, *BCR*, *FcR*. Именно и только эти рецепторы, *каждый по-своему* способны обеспечивать реакцию клеток на антиген. В разделе 6.1 уже упоминалось об активации В-лимфоцитов, о том, что в составе цитоплазматических компонентов этих рецепторов есть так называемые тирозинсодержащие активационные последовательности остатков аминокислот — ИТАМ (immunoreceptor tyrosine-based activation motifs). Они представляют собой двойной повтор 4 остатков аминокислот YxxL, разделенных 7 (12 — в одноцепочечных низкоаффинных рецепторах для IgG — FcγRIIA и FcγRIIC) вариабельными остатками. Эти ИТАМ присутствуют в цитоплазматических участках ассоциированных с BCR полипептидов Igα и Igβ, в ассоциированных с TCR ζ-цепях, а также цепях CD3ε, CD3δ, CD3γ и в ассоциированных с FcR γ (FcRγ) и β (FcRβ) проводящих сигнал субъединицах.

Активационный сигнал с иммунорецепторов развивается в случае гомотипной *агрегации* рецепторов лигандом. Но на одной клетке экспрессированы *разные* рецепторы. Природой устроено так, что возможна и коагрегация *одним* лигандом *разных* рецепторов. При этом проведение сигнала с одного рецептора будет *модулировано* проведением сигнала со второго рецептора. Существуют рецепторы, сигнал с которых *ингибирует* клетку. Например, у человека таковыми являются две изоформы низкоаффинного Fc-рецептора для IgG — FcγRIIB1 и FcγRIIB2. В их цитоплазматических участках нет ИТАМ, и

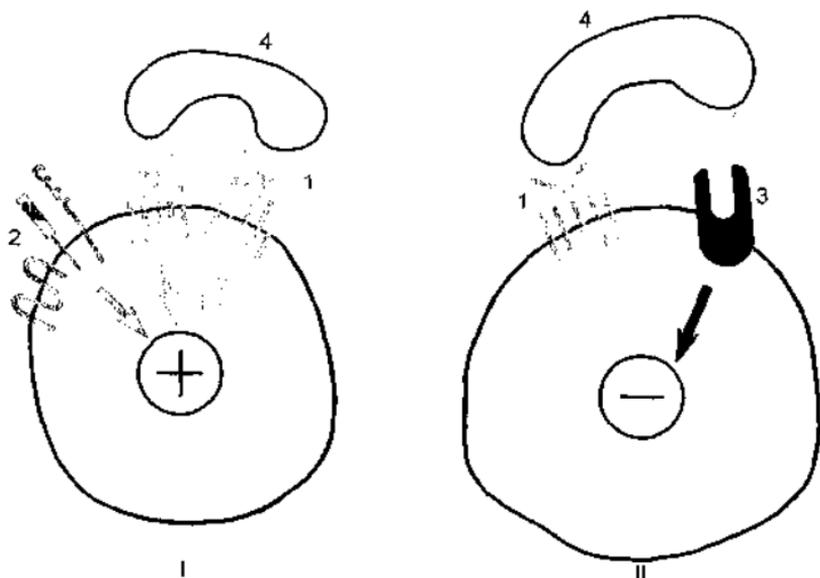


Рис. 6.3. Коагрегация иммунорецепторов на В-лимфоците.

I — агрегация BCR антигеном плюс стимуляция корецепторного комплекса (TAPA-1, CD19, CR2), а также необходимые сигналы от Т-лимфоцитов приводят к индукции в В-лимфоците продуктивного синтеза антител.

II — коагрегация антигеном BCR с антителом класса G, связанным с тормозным рецептором FcγR1 на том же В-лимфоците, приводит к ингибции синтеза антител в этом В-лимфоците.

1 — BCR (рецептор В-лимфоцита для антигена); 2 — корецепторный комплекс В-лимфоцита (TAPA-1, CD19, CR2); 3 — FcγR1 — тормозной рецептор для Fc-фрагментов иммуноглобулинов класса G; 4 — антиген.

сигнал с этих рецепторов не активирует, а, напротив, ингибирует клетку.

FcγRIIB экспрессируется на В-лимфоцитах. Они могут быть *коагрегированы* с BCR антигеном в присутствии антител класса G (иммунными комплексами), а также антиаллотипическими, антиидиотипическими и антиизотипическими антителами (рис. 6.3) и при этом *ингибируют* активацию В-лимфоцита сигналом с BCR. Таким образом антитела (как конечный продукт) ингибируют продукцию самих себя.

FcγRIIB экспрессируются не только на В-, но и на Т-лимфоцитах, на тучных клетках. Будучи коагрегированными, они *ингибируют* TCR-зависимую активацию Т-лимфоцитов и зависимость от FcεRI (высокоаффинный рецептор для IgE) активацию *тучных клеток*.

В цитоплазматическом участке (в 3-м интрацитоплазматическом экзоне) ингибирующего иммунорецептора FcγRIIB идентифицирована последовательность из 13 остатков аминокислот, которую рассматривают как возможный «ингибирующий мотив» — ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif) - AENTITYSLLKHP.

FcγRIIB — не единственный известный на сегодня ингибирующий рецептор. Известно еще несколько, хотя многие детали их функционирования не изучены. Это киллинг-ингибирующие рецепторы NK и ЦТЛ (KIR — killer cell inhibitory receptors), рецептор gp49b1 на тучных клетках и NK, рецептор CD22 на В-лимфоцитах, рецептор CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4) на ЦТЛ, рецептор CD94/NRG2A на NK, рецептор MAFA (mast cell-associated function antigen), ассоциированный с функциями тучных клеток. Часть из них входит в состав суперсемейства иммуноглобулинов (IgSF) (FcγRIIB, KIR p58/p70, CD22, CTLA-4, gp49b1), часть принадлежит к группе лектинов С-типа (CD94/NKG2A, MAFA).

Тканевая экспрессия этих рецепторов следующая. FcγRIIB — самый широко распространенный из всех известных рецепторов для Fc-фрагментов иммуноглобулинов. Он экспрессирован на всех лейкоцитах. На лимфоцитах преобладает изоформа FcγRIIB1, на лейкоцитах миелоидного ряда — изоформа FcγRIIB2. Лигандами для FcγRIIB являются *растворимые* комплексы IgG с антигенами в действующих концентрациях порядка миллиграмм на миллилитр. FcγRIIB способен модулировать (ингибировать) активацию разных лейкоцитов (тучных клеток, базофилов, эозинофилов, нейтрофилов, моноцитов, дендритных клеток), опосредованную антителами разных классов (E, A, G). То, что лигандом этого рецептора являются иммуноглобулины только класса G, придает этому классу особые иммунорегуляторные функции в разных иммунологических реакциях и процессах. Данный рецептор единственный из ингибиторных, работающих с растворимыми лигандами, остальные имеют в качестве лигандов молекулы клеточных мембран.

CD22 экспрессирован только на В-лимфоцитах. Физиологические лиганды для CD22 точно не известны, известно только, что это сialiрированные молекулы, присутствующие на мембранах лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, эритроцитов и клеток, не относящихся к гемопоэтической ткани. Молекула CD22 может быть как позитивным, так и негативным корецептором для BCR на В-лимфоцитах. В цитоплазматическом участке CD22 нашли 1 ITAM и 3 ITIM.

CTLA-4 экспрессирован на ЦТЛ: на неиммунных ЦТЛ экспрессия CTLA-4 минимальна, но возрастает по мере активации лимфоцита с TCR. Лигандами для CTLA-4 являются мембранные молекулы CD80 (B7-1) и CD86 (B7-2). CD80 экспрессирована на В-лимфоцитах, активированных Т-лимфоцитах, моноцитах/макрофагах и дендритных клетках. CD86 экспрессирована только на активированных В-лимфоцитах и моноцитах/макрофагах. В цитоплазматическом домене CTLA-4 присутствует последовательность YxxM.

MAFA экспрессирован только на тучных клетках, причем

конститутивно ассоциирован с высокоаффинным рецептором для IgE — FcεRI. Лиганд точно не известен, предполагают, что молекула лиганда содержит карбогидраты. При коагрегации с FcεRI MAFA ингибирует активацию тучных клеток. В цитоплазматическом участке молекулы MAFA содержит одну последовательность YxxL.

KIR экспрессированы на NK и субпопуляции ЦТЛ. Эти рецепторы связывают различные молекулы MHC-I. Вариант KIR-p58 состоит из двух внеклеточных доменов и связывает антигены локуса HLA-C. Вариант KIR-p70 состоит из трех внеклеточных доменов и связывает антигены локуса HLA-B. Цитоплазматические домены *и* p58 и p70 содержат по два повтора YxxL, разделенных 26 остатками аминокислот. В зависимости от того, с каким активирующим рецептором и на каких клетках происходит коагрегация KIR, выключается тот или иной тип клеточной цитотоксичности: с киллинг-активирующим рецептором (KAR) на NK — NK-цитотоксичность; с FcγRIIIA на тех же NK — антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦТ); с TCR — ЦТЛ-цитотоксичность.

Рецептор gp49b1 экспрессируется на тучных клетках и NK. Возможно, что gp49b1 является KIR-подобной молекулой и лиганды для нее — MHC-I, но точно это неизвестно. В цитоплазматическом участке молекулы gp49b1 содержится два повтора YxxL/V, разделенных 18 остатками аминокислот. Gp49b1 на тучных клетках коагрегирует с активирующим рецептором FcεRI.

Механизмы работы негативных (ингибирующих) корецепторов только изучаются, кратко их пока можно представить следующим образом. В случае гомотипной агрегации негативных рецепторов (гомотипная агрегация — агрегация одинаковых рецепторов) или их коагрегации с активирующими рецепторами происходит фосфорилирование по остатку тирозина ITIM, содержащихся в цитоплазматических участках ингибирующих рецепторов. Фосфорилированные ITIM становятся местами связывания цитоплазматических фосфатаз по их SH₂-домену. В В-лимфоцитах *и* тучных клетках известны по крайней мере три такие фосфатазы: две протеинтирозинфосфатазы — SHP-1 и SHP-2, и инозитол-полифосфат-5-фосфатаза — SHIP. Эти фосфатазы противодействуют фосфорилированию тирозинкиназ, ассоциированных с активационными рецепторами (ZAP-70 и др.) и блокируют проведение активационных сигналов. Вероятно, фосфатазы SHP-1 и SHP-2 способны блокировать начало активации лимфоцитов и тучных клеток, а фосфатаза SHIP «задействуется» при ингибции уже активированных клеток.

В последние годы постепенно идентифицируют внутриклеточные протеины негативной регуляции. Известны уже две

группы таких белков — SOCS (suppressor of cytokine signaling) и PIAS (protein inhibitor of activated STAT). В разных работах они могут быть описаны под другими обозначениями-синонимами.

Глава 7. ИММУННЫЙ ОТВЕТ

7.1. Определение иммунного ответа. Этапы иммунного ответа

Иммунный ответ — это процесс взаимодействия антигена и организма, процесс решения противоречия между антигеном и организмом с участием специализированных клеток — лимфоцитов.

Кратко мы уже определяли:

Иммунный ответ — это распознавание поврежденных патогеном клеток и тканей лимфоцитами с целью деструкции и выведения из организма.

Распознавание открытого множества антигенов — функция исключительно лимфоцитов. На деструкцию и элиминацию антигена лимфоциты «нанимают» лейкоциты общевоспалительного назначения (все известные) и гуморальные протеазы (систему комплемента). Некоторые субпопуляции лимфоцитов сами разрушают распознанный антиген.

Процесс иммунного ответа складывается из длинной последовательности событий, которые могут развиваться с разными продолжительностью и интенсивностью отдельных этапов. Для *первичного иммунного* ответа эти *этапы* следующие.

- ▲ Все начинается с проникновения антигена во внутреннюю среду организма. В природе это происходит при травмировании покровных тканей. При этом в покровных тканях выделяются определенные вещества (стресс-протеины, протеины теплового шока, цитокины кератиноцитов и клеток соединительной ткани) — *медиаторы доиммунного* воспаления, которые готовят почву для развития, если понадобится, лимфоцитарного иммунного воспаления. Попадание антигена без значимой травмы покровов сразу во внутреннюю среду в природе — событие редкое. Это, как правило, искусственное антропогенное явление парентерального введения веществ или трансплантации тканей и органов.

- Доиммунные защитные реакции в отношении антигена направлены на то, чтобы не пустить антиген глубже покровов. В первую очередь это сосудистые реакции: расширение сосудов микроциркуляторного русла, повышенный выпот из сосудов в ткани плазмы или сыворотки (соответственно всех сывороточных факторов доиммунной резистентности к инфекциям) и экстравазация лейкоцитов, в первую очередь фагоцитов — нейтрофилов. Локальный отек препятствует всасыванию антигена в системную циркуляцию.

Проникший в покровы антиген сорбируют и поглощают эндцитозом дендритные клетки, фагоцитируют макрофаги. И те и другие — профессиональные антигенпредставляющие клетки, но только дендритные клетки обладают особыми способностями — мигрируют из покровов с антигеном в регионарные лимфоидные органы. «По дороге» дендритные клетки процессируют антиген, экспрессируют на мембрану комплексы пептидов с МНС-I и МНС-II и необходимые корцепторные молекулы, с помощью которых они смогут вступить в эффективное взаимодействие с Т-лимфоцитами в Т-зависимых зонах периферических лимфоидных органов. Кроме антигенпредставляющих клеток, в покровных тканях антигены встречают внутриэпителиальные лимфоциты (IEL), среди которых много $T_{H}1$, распознающих непептидные антигены без предварительного процессинга и презентации антигенпредставляющими клетками. Под покровами, в плевральной и брюшной полостях, для перехвата широко распространенных микробных антигенов существуют антитела с широкой перекрестной реактивностью — продукты В-1-лимфоцитов.

«Неперехваченный» в барьерных тканях антиген, всосавшийся в системную циркуляцию, если он опасен для организма, сразу начнет приносить вред. Шанс на развитие иммунного ответа на него обусловлен тем, что есть такой лимфоидный орган, как селезенка, через которую проходит весь объем крови за цикл циркуляции, и антигенпредставляющие клетки в синусоидах селезенки (дендритные клетки и макрофаги) будут пытаться сорбировать антиген.

А Пришедшие в лимфатические узлы дендритные клетки с антигеном (их называют *«интердигитальные дендритные клетки»* в отличие от иных, фолликулярных, дендритных клеток) располагаются в Т-зависимых зонах и *представляют* антиген для «рассмотрения» интенсивно мигрирующим Т-лимфоцитам. Среди Т-лимфоцитов рано или поздно найдется такая клетка, у которой рецептор для антигена окажется комплементарным данному антигену (т.е. свяжет антиген/МНС с константой диссоци-

ации по абсолютной величине показателя степени не ниже чем 10^{-6} – 10^{-9} М). Если при этом состоятся все необходимые и достаточные корецепторные взаимодействия с антигенпредставляющей клеткой (см. рис. 5.10), то Т-лимфоцит получит активационный сигнал, и с этого момента начнется собственно иммунный ответ — лимфоцитарный.

- ▲ Т-лимфоцит начнет *пролиферировать* и *дифференцироваться*. В результате образуется клон антигенспецифичных дифференцированных Т-лимфоцитов. Такие Т-лимфоциты уже называют *иммунными лимфоцитами, лимфоцитами-эффекторами*. В процессе дифференцировки Т-лимфоцит экспрессирует в надлежащем количестве мембранные молекулы и цитокины, необходимые для взаимодействия с В-лимфоцитами, лейкоцитами или для атаки на клетки-мишени.
- ▲ В Т-зависимых зонах периферических лимфоидных органов происходит взаимодействие активированных антигеном Т-лимфоцитов с активированными антигеном В-лимфоцитами.
- ▲ Провзаимодействовавший с антигеном и с Т-лимфоцитами В-лимфоцит мигрирует в зону фолликула, где *пролиферирует и дифференцируется* в антителопродуцента — плазматическую клетку. Сюда же, на территорию фолликула, мигрируют и Th2-лимфоциты, на которых в результате взаимодействия с активированными антигеном В-лимфоцитами экспрессируется особый рецептор в хемокину — blr-1, обеспечивающий избирательное движение на территорию фолликула. Первые плазматические клетки остаются в лимфатическом узле, и секретируемые ими антитела в значительном количестве остаются здесь же — на Fc-рецепторах фолликулярных дендритных клеток (FDC). V-области этих антител связывают *свой* антиген. В таком виде, в комплексе с антителами, фиксированными на FDC, антиген может оставаться на территории лимфоидного фолликула в течение продолжительного времени (может быть месяцы и годы). Здесь, в фолликулах, при взаимодействии с этим антигеном пойдет процесс *созревания аффинности антител*, т.е. соматического гипермутагенеза генов V-области иммуноглобулинов и отбора (положительный сигнал на выживание) В-лимфоцитов с наиболее высокоаффинными вариантами антител — только они и будут выживать и пролиферировать при вторичном иммунном ответе.
- ▲ Иммунные В-лимфоциты, дифференцировавшиеся в плазмциты, уходят из фолликулов лимфоидных органов и мигрируют преимущественно в костный мозг или

слизистые оболочки, где и «отрабатывают» массовую продукцию секретируемых в кровь или в слизистые секреты антител. Плазмциты из В-лимфоцитов лимфоидной ткани слизистых оболочек, продуцирующие антитела класса А (а также, вероятно, в определенной мере и Е), предназначенные для экскреции в слизистые экзосекреты, остаются для массовой продукции иммуноглобулинов в слизистой оболочке.

- Иммунные Т-лимфоциты-эффекторы (ЦТЛ, Th1, Th2) выходят из регионарных лимфатических узлов через эфферентные лимфатические сосуды, попадают в грудной лимфатический проток и оттуда в системную циркуляцию. Далее они мигрируют через кровь в очаг воспаления в месте проникновения или диссеминации патогена: молекулы адгезии на иммунном лимфоците иные, чем на неиммунном. Иммунный лимфоцит «узнает» эндотелий сосудов микроциркуляции именно в очагах повреждения тканей и воспаления. Там TCR, если находит, то связывает свой антиген, что активирует лимфоцит. Состояние активации в данном случае заключается в усиленном биосинтезе и секреции эффекторных молекул. В случае ЦТЛ это молекулы, обеспечивающие убийство клеток-мишеней, в случае $CD4^+$ Th1 — это цитокины, «нанимающие» для деструкции антигена te^{-} или иные лейкоциты (макрофаги, эозинофилы, тучные клетки, базофилы, нейтрофилы).
- ▲ Связанный антиген подвергается фагоцитозу и разрушению гидролитическими ферментами, кислородными радикалами, радикалами окиси азота до мелких метаболитов, которые экскретируются из организма через системы выделения (почки, ЖКТ).
- Организм санирован — первый результат достигнут.
- Супрессия иммунного ответа — остановка продуктивного иммунного ответа после санации организма от патогена/антигена.
- ▲ Второй результат лимфоцитарной иммунной реакции — иммунологическая память.

7.2. Иммунологическая память

Доиммунные механизмы резистентности «не запоминают» свою реакцию на антиген (патоген): он попадает в организм первый раз или десятый — реакция будет одинаковой (при одинаковом общем состоянии здоровья организма). Лимфоцитарный иммунитет «запоминает». Феномен *иммунологической памяти* проявляется в том, что в случае успешного иммунного ответа при первом попадании патогена в организм, при его повторных попаданиях санация наступает *существенно*

быстрее и эффективнее и патоген не успевает вызвать патологический инфекционный процесс. Это и называют *протективным*, т.е. защищающим от болезни иммунитетом.

В основе феномена *иммунологической памяти*, по-видимому, лежат два явления:

- ▲ При первом иммунном ответе произошло размножение лимфоцитов антигенспецифичного клона и не все из них израсходованы в текущем иммунном ответе, не все претерпевают апоптоз в результате AICD. Часть лимфоцитов клона «замораживается» и персистирует в организме в течение неопределенного времени (для различных антигенов время очень разное — от нуля до пожизненного).
- ▲ Лимфоциты памяти существенно меньше, чем неиммунные лимфоциты, нуждаются в медиаторах доиммунного воспаления и в костимуляторных сигналах, чтобы начать иммунный ответ на свой антиген, и могут начать его вне воспаления или при минимальных симптомах воспаления.

Несмотря на то что как клинический феномен «иммунологическая память» был известен с древних времен (мы уже писали о практике иммунизации у античных греков и китайцев), клеточные и молекулярно-генетические механизмы им-

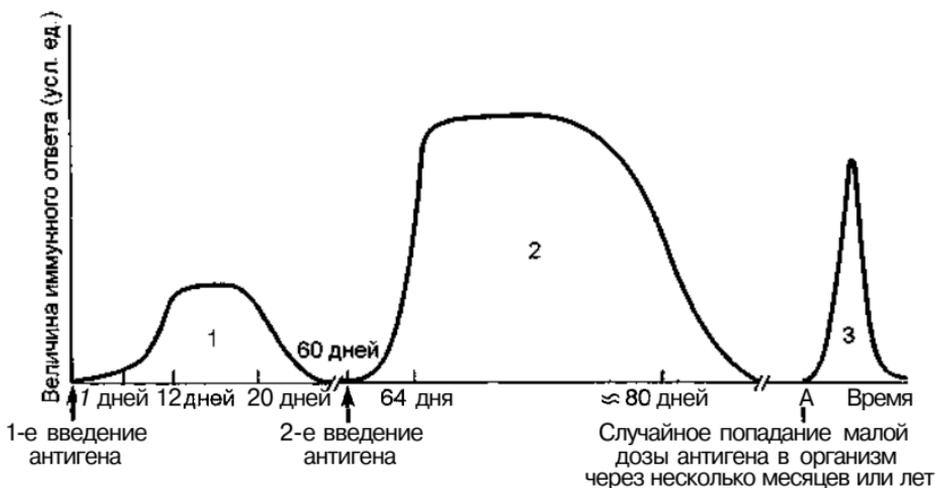


Рис. 7.1. Первичный иммунный ответ, вторичный иммунный ответ и ответ иммунологической памяти.

Такого рода соотношение величин первичного иммунного ответа, вторичного иммунного ответа и ответа иммунологической памяти бывает при введении в организм неразмножающихся антигенов (неживых микробов). Ответ иммунологической памяти возникает не всегда, и интенсивность его весьма различна в разных случаях. 1 — первичный иммунный ответ; 2 — вторичный иммунный ответ; 3 — ответ иммунологической памяти.

Таблица 7.1. Параметры В-лимфоцитов при первичном и вторичном иммунном ответе

| Параметр | При первичном ответе | При вторичном ответе |
|---|----------------------|----------------------|
| Частота встречаемости антигенспецифичных В-лимфоцитов в лимфоидных тканях | $10^{-4}-10^{-5}$ | 10^{-3} |
| Изотип продуцируемых антител | IgM>IgG | IgG, IgA, IgE |
| Аффинность антител | Низкая | Высокая |

Л.С.С.

мунологической памяти до настоящего времени неизвестны. Неизвестно, почему на какие-то антигены иммунологическая память остается, на какие-то нет, на какие-то надолго, на какие-то быстро исчезает, и у различных особей — по-разному. Поэтому в настоящее время прогнозы результатов вакцинации — только эмпирические и статистические, но персонально их нельзя составить разумно при нынешнем уровне знаний. Одно из сомнений заключается в том, что, возможно, продолжительная иммунологическая память сохраняется лишь в тех случаях и на тот период времени, когда и пока в организме остается персистирующий антиген в виде латентной инфекции.

Соотношение первичного иммунного ответа, вторичного ответа и ответа иммунологической памяти схематически показано на рис. 7.1.

Параметры вторичного ответа по В-лимфоцитам в сравнении с первичным иммунным ответом приведены в табл. 7.1.

Т-лимфоциты памяти отличаются от зрелых неиммунных Т-лимфоцитов и по частоте встречаемости антигенспецифичного клона в лимфоидной ткани (больше в 10—100 раз), и по экспрессии ряда мембранных молекул. Главное, что Т-лимфоциты памяти существенно меньше, чем впервые активируемые к иммунному ответу лимфоциты, нуждаются в ксимулирующих воздействиях и поэтому быстрее и легче выходят в продуктивную эффекторную фазу иммунного ответа. Сравнительная экспрессия мембранных молекул на неиммунных зрелых Т-лимфоцитах и на Т-лимфоцитах памяти приведена в табл. 7.2.

Молекула CD45 — это трансмембранная тирозинфосфатаза, состоящая из одной полипептидной цепи. Ген CD45 имеет не менее 7 экзонов, 3 из которых, А, В и С, кодируют часть внеклеточного участка молекулы и могут подвергаться альтернативному сплайсингу на уровне первичного транскрип-

Таблица 7.2. Относительная экспрессия мембранных молекул на зрелых неиммунных Т- лимфоцитах и Т-лимфоцитах памяти

| Мембранная молекула, основные функции | Относительный уровень экспрессии | |
|--|----------------------------------|---------------------------------------|
| | неиммунные Т-клетки | Т-клетки памяти |
| LFA-3 (CD58), лиганд для CD2; участвует в адгезии и подаче сигнала | 1 | ≈ 10 |
| CD2, участвует в адгезии и активации | 1 | ≈ 3 |
| LFA-1 (CD11a/CD18), участвует в адгезии и активации | 1 | = 3 |
| VLA-4, обеспечивает homing в ткани | 1 | ≈ 4—5 |
| CD44, обеспечивает homing в ткани | 1 | ~ 2 |
| CD45RO, изоформа транс-мембранной тирозинфосфатазы CD45 с наименьшей мол. массой | 1 | = 20-50 |
| CD45RA, изоформа транс-мембранной тирозинфосфатазы CD45 с наибольшей мол. массой | 10 | ~ 1 |
| L-селектин, homing в лимфатические узлы | Много | На некоторых много, на некоторых мало |
| CD3, инвариантный компонент TCR | 1 | 1 |

та РНК. Изоформа CD45RA содержит пептидные участки всех 3 экзонов А, В и С, поэтому она имеет наибольшую молекулярную массу. CD45RA экспрессируется на неиммунных зрелых Т-лимфоцитах, и на них этот фермент не ассоциирован в мембране ни с TCR, ни с корецепторами. В иммунных Т-лимфоцитах экзоны А, В и С удаляются альтернативным сплайсингом РНК, и в белок транслируется легкая изоформа CD45RO. Но главное, что в иммунных Т-лимфоцитах эта тирозинфосфатаза уже не независимо присутствует где-то на мембране клетки, а ассоциирована с TCR и корецепторами и способствует существенному снижению (на два порядка и более) порога на активацию лимфоцита антигеном (рис. 7.2).

В описанной выше последовательности событий иммунного ответа не учтен целый ряд параметров: химическая природа антигена (патогена), доза антигена и его способность к размножению внутри организма, входные ворота, влияние антигена на другие системы организма (нервную, эндокрин-

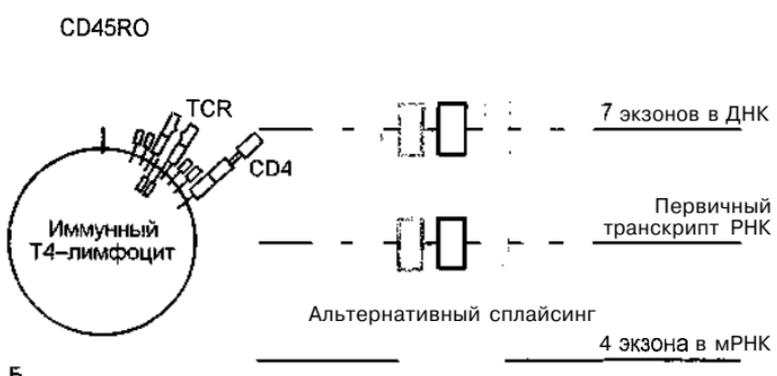
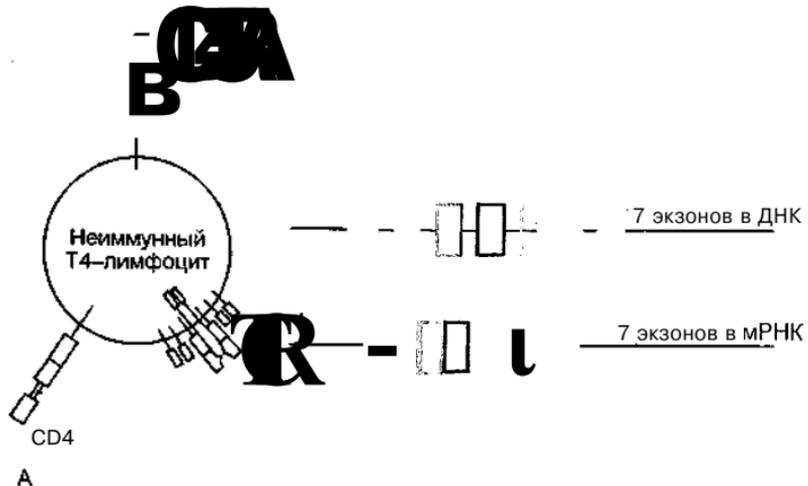


Рис. 7.2. Структура изоформ молекулы CD45 на неиммунных Т-лимфоцитах и Т-лимфоцитах памяти.

А. В зрелом неиммунном Т-лимфоците все 7 экзонов CD45 в ДНК транскрибируются в РНК и транслируются в большой белок (тяжелая изоформа молекулы CD45A на неиммунных лимфоцитах); молекулы TCR, CD45 и CD4 разобщены в мембране клетки. Б. В иммунных Т-лимфоцитах в результате альтернативного сплайсинга РНК CD45 выщепляются 3 экзона и в белок транслируются только 4 оставшихся (легкая изоформа CD45R0 у иммунных лимфоцитов); молекулы TCR, CD45, CD4 приближены друг к другу в мембране клетки.

ную и др.), наличие адьювантов и т.д. В реальной ситуации все это имеет значение и, более того, *определяет* как саму возможность развития иммунного ответа, так и его качество, и преобладание тех или иных эффекторных механизмов иммунитета (антителозависимые процессы, ЦТЛ, макрофагзави-

симые процессы, **эозинофилозависимые** процессы и т.д.). Разнообразие конкретных форм иммунного ответа описано в главе 8. Здесь же подчеркнем два *специфичных* именно для *иммунного ответа* процесса — признака, позволяющего отличить иммунный ответ от других защитных биологических механизмов, несмотря на тесное переплетение и взаимосвязи одного с другим в едином организме: это *пролиферация лимфоцитов и иммунологическая память*.

7.3. Взаимодействия клеток в иммунном ответе

В процессе развития иммунного ответа происходят взаимодействия разных клеток друг с другом: клеток покровных тканей с лимфоцитами, лимфоцитов с эндотелием стенки сосуда, Т-лимфоцитов с антигенпредставляющей клеткой, Т-лимфоцита с В-лимфоцитом, Т-лимфоцитов с лейкоцитами, лимфоцитов и лейкоцитов с межклеточным матриксом и т.д.

Каковы механизмы взаимодействия клеток друг с другом внутри многоклеточного организма? Известны по крайней мере два и их варианты.

- А Межклеточные контакты мембранами — адгезия клеток: мембранные молекулы одной клетки *комплементарно* связываются с мембранными молекулами другой клетки.
- Одна клетка синтезирует и секретирует растворимое вещество, на мембране *другой(их)* клетки(ок) есть молекула, способная *комплементарно* связать именно это вещество (рецептор — по определению). Цитоплазматические связи рецептора обеспечивают проведение сигнала внутрь клетки, вызывающее определенные изменения внутриклеточного метаболизма, которые называют реакцией клетки (или биологическим эффектом).

Во втором варианте есть два существенно разных *подварианта* — *дистантные* и *локальные взаимодействия*.

- Дистантно осуществляются взаимодействия нервной системы с другими клетками организма и взаимодействия эндокринных гормонов с клетками-мишенями.
- Локально осуществляется множество межклеточных взаимодействий, в том числе в процессе развития иммунного ответа. В последнем случае растворимые вещества или медиаторы называют *цитокинами* (от греческих корней цито — клетка и кинос — движение, изменение, т.е. вещества, предназначенные вызывать изменения в клетках-мишенях). В отличие от контактных взаимодействий мембранными молекулами, которые достаточно инертны во времени, взаимодействия с помощью ци-

токинов гораздо более быстрые, оперативные, динамичные.

Уточним понятие *комплементарного взаимодействия*. Это строгое химическое и количественное понятие. Между двумя молекулами устанавливаются химические связи 4 типов: ионные, водородные, ван-дер-ваальсовы и гидрофобные. Сила связи характеризуется константой диссоциации (K_d). Для взаимодействия *иммунорецепторов* с антигенами K_d должна иметь показатель степени по абсолютной величине не ниже 7, т.е. 10^{-7} — 10^{-11} М. Для связи пептидов-антигенов с молекулами МНС-I/II характерна K_d порядка 10^{-6} М. Для связей цитокинов с рецепторами для цитокинов K_d составляет 10^{-10} — 10^{-12} М, приводится и 10^{-15} М. Чем больше по абсолютной величине показатель степени в значении константы диссоциации, тем при меньших концентрациях действующего вещества достигается значимый биологический эффект. Из всех известных биологически активных веществ (по крайней мере из имеющих значение для иммунологии) K_d для цитокинов наибольшие, что свидетельствует о высокой биологической активности низких концентраций цитокинов.

7.3.1. Молекулы межклеточной адгезии

Номенклатура молекул межклеточной адгезии, используемая в настоящее время, не рациональная: для одной и той же молекулы существует более чем одно обозначение. Названия, как правило, отражают экспериментальную систему, в которой молекула была впервые идентифицирована. Это мешает логике классификации. Тем не менее по структурному принципу выделяют 4 семейства молекул межклеточной адгезии (табл. 7.3).

- 1) селектины;
- 2) муциноподобные васкулярные адрессины;
- 3) интегрины;
- 4) молекулы из суперсемейства иммуноглобулинов (IgSF — immunoglobuline superfamily).

Селектины — молекулы на поверхности лимфоцитов и лейкоцитов, а также эндотелия, которые обеспечивают избирательный (селективный) homing определенной клетки через стенку сосуда в *определенной ткани*. Общим в молекулярной структуре селектинов, которые представляют собой одну трансмембранную полипептидную цепь, является наличие во внеклеточной части лектиноподобного домена. Лектины — белки, способные комплементарно связывать сахара.

Лигандами для селектинов являются так называемые *адрессины* — муциноподобные молекулы на поверхности эндотелия. Адрессины CD34 и GlyCAM-1 экспрессированы на клетках

Таблица 7.3. Молекулы адгезии клеток

| Семейство, типичная структура, основное биологическое свойство | Название конкретных молекул | На каких клетках экспрессированы | Лиганд |
|--|--|--|---|
| Селектины <i>Начинают взаимодействие между лейкоцитом и эндотелием сосуда</i> | L-селектин (CD62L) | Неиммунные лимфоциты; некоторые лимфоциты памяти; нейтрофилы. Моноциты; эозинофилы | Карбогидраты: сульфатированный сиалил Lewis ^x ; GlyCAM-1; CD34; MAdCAM-1 |
| | P-селектин (CD62P) | Активированный эндотелий. Тромбоциты | Сиалил-Lewis ^x ; PSGL-1 |
| | E-селектин (CD62E) | Активированный эндотелий | Сиалил-Lewis ^x |
| Муциноподобные васкулярные адрессины <i>Связывают L-селектин при инициации взаимодействия лейкоцита с эндотелием</i> | CD34 | Эндотелий. Стволовые кроветворные клетки | L-селектин |
| | GlyCAM-1 | Высокий эндотелий венул | То же |
| | MAdCAM-1 | Эндотелий венул в слизистых оболочках | L-селектин; $\alpha_4\beta_7$ -интегрин |
| Интегрины <i>Связывают разные молекулы адгезии на клетках и молекулы внеклеточного матрикса. Обеспечивают сильное связывание</i> | $\alpha_L\beta_2$ (LFA-1; CD11a/CD18) | Моноциты, макрофаги, Т-лимфоциты, дендритные клетки, нейтрофилы | ICAM-1; ICAM-2; ICAM-3 |
| | $\alpha_M\beta_2$ (Mac-1; CR3; CD11b/CD18) | Нейтрофилы, моноциты, макрофаги | ICAM-1; iC3b; фибронектин |
| | $\alpha_X\beta_2$ (CR4; CD11c/CD18; p150/95) | Дендритные клетки, макрофаги, нейтрофилы | iC3b |
| | α_A (VLA-4; CD49d/CD29) | Лимфоциты, моноциты, макрофаги | VCAM-1 |

| Семейство, типичная структура, основное биологическое свойство | Название конкретных молекул | На каких клетках экспрессированы | Лиганд |
|--|---|--|--------------|
| | $\alpha_5\beta_1$ (VLA-5; CD49d/CD29) | Моноциты, макрофаги | Фибронектин |
| | $\alpha_4\beta_7$ 4-PAAM-1 | Лимфоциты | MAAdCAM-1 |
| | $\alpha_E\beta_7$ | Интраэпителиальные лимфоциты (IEL) | E-кадгерин |
| Суперсемейство иммуноглобулинов <i>Лиганды для интегринов</i> | CD2 (LFA-2) | T-лимфоциты | LFA-3 |
| | ICAM-1 (CD54) ✓ | -Лимфоциты, дендритные клетки, активированный эндотелий | LFA-1, Mac-1 |
| | ICAM-2 (CD102) | «Спокойный» эндотелий, дендритные клетки | LFA-1 |
| | ICAM-3 (CD50) ✓ | Лимфоциты | LFA-1 |
| | LFA-3 (CD58) ✓ | Лимфоциты, антигенпредставляющие клетки | CD2 |
| | VCAM-1 (CD106) | Активированный эндотелий | VLA-4 |

высокого эндотелия посткапиллярных венул в *лимфатических узлах*. CAM — cell adhesion molecules (молекулы клеточной адгезии). Адрессин MAAdCAM-1 (mucosal addressin cell adhesion molecule-1) экспрессирован на эндотелии сосудов в слизистых оболочках и «ловит» лимфоциты, предназначенные для функционирования в слизистых оболочках. Селектины и адрессины обеспечивают относительно слабую адгезию клеток, достаточную для селективной остановки клетки в нужном органе, но недостаточную для проникновения сквозь стенку сосуда и миграции по межклеточному матриксу (рис. 7.3). Для более сильных взаимодействий нужны интегрины и молекулы IgSF. Молекулы этих же семейств обеспечивают взаимо-

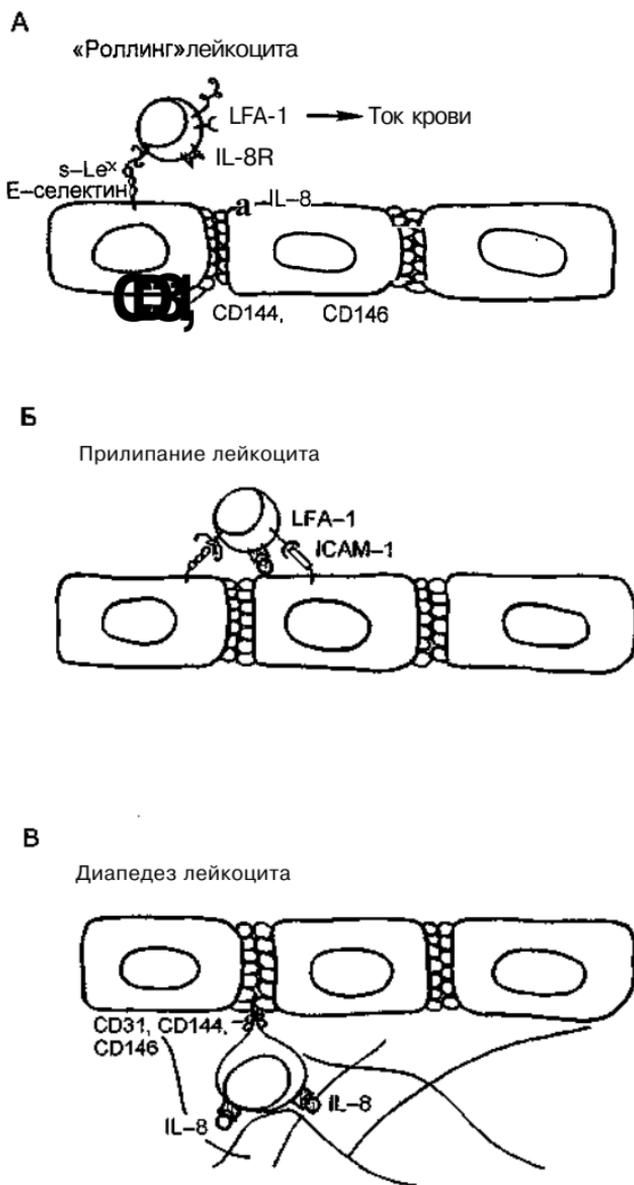


Рис. 7.3. Этапы процесса экстравазации лимфоцитов и лейкоцитов из крови в ткани.

А. Стадия «роллинга»: лейкоцит «причаливает» к эндотелию в результате взаимодействий молекул Е-селектина на эндотелии с молекулами S-Le^x на лейкоците и «катится» вдоль стенки сосуда (rolling). **Б.** Стадия прилипания: между лейкоцитом и клетками эндотелия устанавливаются дополнительные, более сильные взаимосвязи через молекулы IL-8R—IL-8 и LFA-1—ICAM-1. **В.** Стадия диapedеза: на лейкоците экспрессируются молекулы CD31 (те же, что обеспечивают контакт между клетками эндотелия), и лейкоцит с их помощью внедряется в межэндотелиальную связь и проникает сквозь стенку сосуда в ткань (диapedез).

связи лимфоцитов с антигенпредставляющими клетками и в дальнейшем лимфоцитов-эффекторов с их клетками-мишенями или клетками-партнерами.

Все *интегрины* — гетеродимеры, состоящие из более крупной «-цепи и меньшей по размеру β -цепи. Интегрины группируются в подсемейства на основании общей β -цепи. Их два варианта — β_1 и β_2 . К интегринам принадлежат молекулы LFA-1,2,3 (lymphocyte function-associated antigen-1, 2 и 3). LFA-1 — наиболее важный интегрин для активации любого Т-лимфоцита, так как антитела к LFA-1 способны блокировать активацию как неиммунных, так и иммунных Т-лимфоцитов. Однако анализ врожденных генетических дефектов молекул адгезии у человека показывает, что другие интегрины, например CD2 и из подсемейства β_1 , способны компенсировать отсутствие LFA-1. VLA (very late activation antigens) — поздние антигены активации. Эти интегрины экспрессируются на Т-лимфоцитах на 2—4-е сутки от начала активации и имеют наибольшее функциональное значение для проникновения уже иммунного Т-лимфоцита в очаг воспаления, где ему надлежит организовать санацию от антигена.

Суперсемейство иммуноглобулинов включает в себя собственно иммуноглобулины, рецептор Т-лимфоцитов для антигена (TCR), корецепторные молекулы Т-лимфоцитов CD4, CD8 и В-лимфоцитов CD 19, инвариантные домены молекул МНС, а также ряд молекул межклеточной адгезии — ICAM (intercellular adhesion molecules) — ICAM-1, 2 и 3). ICAM-1 и ICAM-2 экспрессированы на эндотелии и антигенпредставляющих клетках. ICAM-3 экспрессирована только на лейкоцитах и играет существенную роль при взаимодействии Т-лимфоцитов с антигенпредставляющей клеткой.

Неиммунные Т-лимфоциты, попав в Т-зависимую зону лимфатического узла (и любого другого периферического лимфоидного органа), активно, но обратимо «прилипают» ко всем доступным антигенпредставляющим клеткам благодаря взаимодействиям LFA-1, CD2 и ICAM-3 на Т-лимфоците с ICAM-1, ICAM-2, LFA-1 и LFA-3 на антигенпредставляющей клетке. Во время этого «прилипания» TCR пытается узнать свой комплекс пептид — МНС. Если узнавание произошло, то сигнал с TCR и корецептора (CD4 или CD8) идет в клетку, и среди прочих последствий этого сигнала ранним является изменение конформации молекулы LFA-1, усиливающее ее связь с ICAM-1 и ICAM-2. Связь между Т-лимфоцитом, узнавшим свой антиген, и антигенпредставляющей клеткой поддерживается несколько дней, во время которых происходит пролиферация клона Т-лимфоцитов. Дочерние клетки клона также прилипают к антигенпредставляющей клетке на все время, пока идет их дифференцировка в лимфоциты-эффекторы.

Существенная закономерность развития иммунного ответа состоит в том, что одного только факта связывания рецептора для антигена с антигеном недостаточно для того, чтобы лимфоцит активировался к иммунному ответу (т.е. начал пролиферировать и дифференцироваться). Недостаточно для активации и описанных выше адгезивных взаимодействий, недостаточно и корцепторных связей CD4 или CD8 с МНС. Все перечисленное необходимо. Но для того чтобы начался процесс пролиферации лимфоцита, необходимо еще одно взаимодействие Т-лимфоцита с той же антигенпредставляющей клеткой: это взаимодействие молекулы В-7 на антигенпредставляющей клетке с молекулой CD28 на Т-лимфоците. Известно две разновидности молекулы В-7: В-7.1 (CD80) и В-7.2 (CD86). Структурно они подобны — это гликопротеины, гомодимеры, принадлежат к IgSF. CD28 тоже гомодимер и принадлежит к IgSF. Таким образом, экспрессия молекул В-7 — важнейший признак профессиональных антигенпредставляющих клеток.

Таблица 7.4. Пары рецептор—лиганд, участвующие в стимуляции при взаимодействии Т-лимфоцитов с антигенпредставляющими клетками

| Рецепторы на Т-лимфоците | Лиганды на антигенпредставляющих клетках |
|--|---|
| CD28 | B7.1 (CD80); B7.2 (CD86) |
| CTLA-4 (CD152) (негативный корцептор) | B7.1 (CD80); B7.2 (CD86) |
| CD40L (CD154) | CD40 |
| OX40 | OX40L |
| HSA (термостабильный антиген) | HSA |
| LFA-1 | ICAM-1 (CD54); ICAM-2 (CD102); ICAM-3 (CD50) |
| CD2 | LFA-3 (CD58) |
| VLA-4 | VCAM-1 (CD 106) |
| CD99 | ? |
| CD95 (Fas) | FasL |

Примечание. CD99 находится в процессе изучения. Поликлональная стимуляция Т-лимфоцитов *in vitro* антителами к CD3 плюс антителами к CD99 индуцирует повышение внутри клеток уровня свободного Ca^{2+} , а также биосинтез TNF- α и IFN- γ , что характерно для Th1. Воздействия на Th2 при этом не выявлено.

Результаты стимуляции Т-лимфоцитов через молекулу Fas зависят от стадии развития Т-лимфоцита: если антителами к CD3 плюс антителами к молекуле Fas воздействовать на неиммунный Т-лимфоцит, то произойдет индукция апоптоза. Если той же парой антител воздействовать на иммунный Т-лимфоцит памяти, то сначала будет индуцирована пролиферация лимфоцита, затем лимфоцит претерпит индуцированную активацией клеточную смерть (AICD). Если на неиммунные Т4-лимфоциты воздействовать указанной парой антител, но в присутствии IL-4, то эти лимфоциты также сначала пролиферируют наподобие лимфоцитов памяти.

Более известные пары **рецептор—лиганд**, вовлекаемые в процессы костимуляции лимфоцитов со стороны антигенпредставляющих клеток, представлены в табл. 7.4.

7.3.2. Антигенпредставляющие клетки

Существенное различие между антигенраспознающими молекулами иммуноглобулинов и антигенраспознающими молекулами рецепторов Т-лимфоцитов состоит в том, что иммуноглобулины (антитела) связывают *нашивные* молекулы антигенов, тогда как **TCR $\alpha\beta$** не связывают нативные антигены, но способны «увидеть» и связать только определенные структуры на поверхности клеток *своего* организма, а именно комплексы молекул МНС с пептидами, т.е. *до* Т-лимфоцита и *для* Т-лимфоцита антиген поглощают, перерабатывают и экспрессируют на своей поверхности *другие* клетки. Эти клетки называют *профессиональными антигенпредставляющими клетками* (АПК). Таких клеток у человека и млекопитающих 3 типа:

- дендритные клетки костномозгового происхождения;
- В-лимфоциты;
- макрофаги.

Таблица 7.5. Свойства профессиональных антигенпредставляющих клеток

| Свойство | Тип АПК | | |
|------------------------------------|--|---|---|
| | дендритная клетка | В-лимфоцит | макрофаг |
| <i>Способ поглощения антигена</i> | Эндоцитоз. Вирусная инфекция | Рецептор-опосредованный (Ig) эндоцитоз | Фагоцитоз |
| <i>Экспрессия молекул МНС</i> | Конститутивная ++++ | Конститутивная, возрастает при активации от +++ до ++++ | Индукцируемая бактериями или цитокинами от - до +++ |
| <i>Костимуляторная активность</i> | Конститутивная ++++ | Индукцируемая от — до +++ | Индукцируемая от — до +++ |
| <i>Какие антигены представляют</i> | Белки. Аллергены (?), вирусные антигены | Растворимые антигены, токсины, вирусные антигены | Фагоцитируемые антигены (партикулярные, бактериальные) |
| <i>Локализация в организме</i> | Барьерные ткани, лимфоидные органы | Лимфоидные органы, периферическая кровь | Соединительная ткань и паренхима всех солидных органов и полостей |

Если лимфоцит свяжет рецептором специфический антиген, но не получит *одновременно и от той же АПК координаторный сигнал «В-7 — CD28»*, то не просто не начнется активация лимфоцита, а произойдет такое изменение состояния лимфоцита, которое называют *анергией*. Лимфоцит в состоянии анергии *рефрактерен* к возможной стимуляции. Эта закономерность лежит в основе так называемой периферической толерантности Т-лимфоцитов к тканям собственного организма.

Характеристика АПК представлена в табл. 7.5.

После того как Т-лимфоцит пройдет несколько циклов пролиферации, на его мембране происходит экспрессия еще одного лиганда для тех же молекул В-7 (мы о нем уже писали в главе 6). Это молекула СТLА-4. СТLА-4 связывает В-7 с существенно большей (примерно в 20 раз) аффинностью, чем молекула CD28, но СТLА-4 посылает в клетку *негативный сигнал* и тем самым останавливает пролиферацию антиген-специфического клона. Мыши с knock-out по гену СТLА-4 погибают от лимфопролиферативных процессов.

7.3.3. Цитокины

Мы уже определили цитокины как *множество* разнообразных биологически активных молекул, секретируемых клетками «с целью» воздействия через специфические рецепторы для каждого из цитокинов на рядом расположенную клетку (или на себя же).

Цитокины отличаются и множественностью, и разнообразием структуры, и еще многими свойствами и от нейромедиаторов, и от гормонов внутренней секреции. В отличие от контактных взаимодействий клеток мембранными молекулами взаимодействия посредством цитокинов более динамичные и оперативные благодаря определенным особенностям синтеза, секреции и рецепции цитокинов. В отличие* от гормонов внутренней секреции в норме цитокины практически не попадают в системную циркуляцию и действуют локально в тканях в месте их выработки.

Для цитокинов характерны следующие *общие свойства*.

- ▲ Цитокины — это как бы «эсперанто» в межклеточном общении. Одноименные цитокины продуцируются клетками разной тканевой дифференцировки. И рецепторы для одноименных цитокинов экспрессированы на клетках различной тканевой дифференцировки. Таким образом клетки разных тканей «говорят» друг с другом и «могут быть услышаны» друг другом. Именно посредством цитокинов в первую очередь система лимфоцитарного иммунитета сращена с другими биологическими системами резистентности к инфекциям и со всем

организмом в целом. Хотя в целостной интеграции участвуют, очевидно, и нервная и эндокринная системы, что мы рассмотрим ниже.

- ▲ Цитокины в подавляющем большинстве случаев — это близкодействующие медиаторы локальных взаимодействий клеток в очагах тех или иных процессов в тканях, даже пары клеток. В зависимости от известных параметров иррадиации эффектов цитокинов выделяют *аутокринные эффекты* (на саму клетку, секретировавшую цитокин) и *паракринные эффекты* (на рядом расположенные клетки). Есть и *эндокринные эффекты*, те дистантные, их еще называют системными, так как при этом цитокин достигает клетки-мишени, циркулируя с кровью. Но эндокринные эффекты выявлены только для 4 цитокинов (TNF- α , IL-1, IL-6, M-CSF) и не у здоровых организмов, а при тяжелой системной патологии типа септического шока. Системные эффекты цитокинов мы опишем особо.
- ▲ Цитокины не депонируются в клетках, а синтезируются импульсно «по запросу», начиная с транскрипции мРНК цитокина с соответствующего гена. Единственное известное исключение - депонирование небольших количеств TNF- α в гранулах тучных клеток. Но TNF- α «претендует» быть исключением и в других отношениях. Возможно еще IL-1 депонируется в некоторых количествах в кератиноцитах.
- ▲ Матричная РНК цитокинов короткоживущая, что объясняет транзиторный характер их продукции клеткой, они вырабатываются вскоре после получения «запроса» на их продукцию и недолго.
- ▲ Для цитокинов характерна взаимосвязь друг с другом по типу «салочек» или «передай другому»: воздействие одного цитокина на клетку вызывает выработку этой клеткой других цитокинов. Это явление называют *цитокиновым каскадом*.

Прежде чем описать биологические свойства цитокинов, а конкретных эффектов цитокинов, мы хотели бы уточнить понятие биологического эффекта цитокина. При рассмотрении биологических эффектов мы увидим, что один и тот же цитокин может вызывать самые разные вплоть до противоположных, эффекты в разных клетках. Вот в этом случае и надо понимать, что понятие биологического эффекта относится не к цитокину. Цитокин для клетки-мишени - это только и всего лишь внешний лиганд для ее рецептора. Что произойдет с клеткой после связывания этого лиганда с рецептором (а это и есть биологический эффект), зависит от внутренней программы дифференцировки клетки-мишени. В дальнейшем мы тоже будем по-

реблять выражения типа «интерферон-гамма активирует макрофаги», чтобы говорить короче, но это надо понимать правильно: для конкретной системы отношений «макрофаг, имеющий рецептор для интерферона-гамма и внеклеточного интерферона-гамма», известно, что наступающее биологическое последствие связи IFN-у с рецептором для IFN-у заключается в существенной активизации внутриклеточной биохимической машины макрофага, индукции определенных ферментов и т.д.

Учитывая сказанное, рассмотрим основные *функциональные группы цитокинов*. По функциональному предназначению с известной долей относительности выделяют 4 группы.

- ▲ *Медиаторы доиммунного воспаления*. Их продуцируют главным образом клетки покровных тканей, в первую очередь тканевые макрофаги в ответ на прямое раздражение микробными продуктами. Это TNF- α , IFN- α и IFN- β , IL-1, 6 и 12, хемокины.
- ▲ *Регуляторы активации, пролиферации и дифференцировки лимфоцитов*. Их продуцируют главным образом сами лимфоциты, начиная с внутриэпителиальных лимфоцитов покровных тканей, а также особые минорные субпопуляции Т-лимфоцитов типа TCR $\alpha\beta$ /CD4⁺/CD8⁻ и на более поздних этапах основные субпопуляции Т-лимфоцитов: IL-4, 13 и 2, TGF- β .
- ▲ *Регуляторы иммунного воспаления*. Их продуцируют зрелые иммунные Т-лимфоциты (некоторые — антигенпредставляющие клетки) и посредством этих цитокинов Т-лимфоциты «нанимают» лейкоциты общевоспалительного назначения на деструкцию *распознаваемого* лимфоцитами антигена. К ним относят IFN-у (активатор макрофагов и NK); LT (активатор нейтрофилов); IL-5 (индуктор и активатор эозинофилов); IL-9 (активатор тучных клеток); IL-10 (ингибитор активности макрофагов); IL-12 (активатор ЦТЛ и NK).
- ▲ *Факторы роста клеток — предшественников гемопоэза*. Их продуцируют как клетки стромы костного мозга, так и активированные лимфоциты и макрофаги. Это: IL-3 (фактор роста ранних предшественников лейкоцитов, его еще называют мульти-CSF); IL-7 (фактор роста пре-B- и пре-T-лимфоцитов при лимфопоэзе); IL-11 (фактор роста мегакариоцитов); GM-CSF (гранулоцит-моноцит-колониестимулирующий фактор — фактор роста клеток — предшественников гранулоцитов и моноцитов/макрофагов); M-CSF (фактор роста моноцитов/макрофагов); SCF (stem-cell growth factor, его второе название — c-kit-лиганд) — основной фактор роста для тучных клеток. Рецептор для него, CD117, или c-kit, был открыт как онкоген.

Таблица 7.6. Биологические эффекты цитокинов Т-лимфоцитов в моделях на мышах

| Цитокин | Т-субпопуляция_продукент | Действие на различные клетки-мишени | | | | | Что происходит при knock-out гена цитокина |
|---------------------------------|--------------------------------------|---|--------------------------|---|-----------------------------|---|--|
| | | В-лимфоциты | Т-лимфоциты | макрофаги | лейкоциты | другие клетки тела | |
| IL-2 | Th1, Th0, некоторые CD8 ⁺ | Стимулирует пролиферацию; стимулирует синтез J-цепи молекулы Ig | Стимулирует пролиферацию | — | Стимулирует пролиферацию NK | — | Снижены Т-клеточные реакции |
| INF- γ | Th1, CD8 ⁺ | Дифференцировка и переключение синтеза Ig на IgG2a | Апоптоз (?) | Активация, возрастание экспрессии MHC-I, MHC-II | Активация функций NK | Ингибция пролиферации, в том числе вирусов; MHC-I, MHC-II | Возрастает уязвимость к инфекциям микробактериями |
| Лимфотоксин (LT, TNF- β) | Th1, некоторые CD8 ⁺ | Ингибирует пролиферацию и дифференцировку | Апоптоз | Активирует; индуцирует NO-синтазу | Активирует нейтрофилы | Апоптоз опухолевых клеток и фибробластов | Отсутствие лимфатических узлов; дезорганизация структуры селезенки |

| | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|---|
| IL-4 | Th2; TCRVCD4 ⁺ /CD8 ⁻ | Стимулирует дифференци- ровку: пере- ключение Ig на классы E и G1; ↑ MHC-II | Выживание и дифферен- цировка Th2 | Ингибирует активацию | Стимулирует дифференци- ровку тучных клеток | — | Полное отсутствие Th2 |
| IL-5 | Th2 | Стимулирует дифференци- ровку и био- синтез IgA | — | — | Стимулирует пролифера- цию и диф- ференцировку эозинофилов | ? | ? |
| IL-10 | Th2 | t MHC-II | Ингибирует дифференци- ровку Th1 | Ингибирует продукцию ЦИТОКИНОВ | Костимулятор пролифера- ции предше- ственников тучных кле- ток | — | ? |
| IL-3 | Th1, Th2, некоторые CD8 ⁺ | — | — | — | Фактор роста ранних пред- шественников всех ростков миелопоэза | — | ? |
| Фактор некроза опухолей (TNF-α) | Th1, неко- торые Th2 и CD8 ⁺ | — | — | Активирует, индуцирует NO-синтазу | — | — | Резистент- ность к септическому шоку, вы- званному грамотрица- тельными бактериями |

| Цитокин | Т-субпопуляция—продукент | Действие на различные клетки-мишени | | | | | Что происходит при knock-out гена цитокина |
|---|--------------------------------------|---|-------------------------|----------------------|---|---------------------------------------|--|
| | | В-лимфоциты | Т-лимфоциты | макрофаги | лейкоциты | другие клетки тела | |
| Гранулоцит-моноцит-колониестимулирующий фактор (GM-CSF) | Th1, некоторые Th2, CD8 ⁺ | Стимулирует дифференцировку | Ингибирует пролиферацию | Активирует | Усиливает пролиферацию и дифференцировку гранулоцитов, макрофагов и дендритных клеток | ? | |
| Трансформирующий фактор роста β (TGF- β) | CD4 ⁺ (Th3) | Ингибирует пролиферацию; переключает синтез иммуноглобулинов на IgA | — | Ингибирует активацию | Активирует нейтрофилы | Стимулирует пролиферацию фибробластов | Смерть в возрасте около 10 нед |

Приведем данные о биологических эффектах в разных клетках-мишенях наиболее охарактеризованных цитокинов Т-лимфоцитов (табл. 7.6).

7.3.3.1. Хемокины

Хемокины — это цитокины специального назначения: они привлекают в очаг воспаления лимфоциты и лейкоциты из циркулирующей крови. Молекулы хемокинов невелики, состоят из 66—76 аминокислотных остатков. Они обладают свойством связываться с молекулами межклеточного матрикса, с одной стороны, и обратимо связывать свои молекулы-лиганды на мембране клетки-мишени, с другой. Хемокин диффундирует от клетки-продуцента по межклеточному матриксу, при этом создается градиент его концентрации, нарастающей по мере приближения к месту продукции хемокина. Нужный лимфоцит или лейкоцит «прыгает» по молекулам хемокина, фиксированным на матриксе, как с кочки на кочку. В настоящее время идентифицировано не менее 40 хемокинов.

По особенностям химической структуры, а именно по конфигурации остатков цистеина (в однобуквенном обозначении С) в N-конце молекулы хемокины делят минимум на 6 групп (семейств):

- CC — содержат два остатка цистеина подряд;
- ELR⁺-СХС — содержат в том же месте два остатка цистеина, разделенных вариабельной аминокислотой (X), перед ними расположены остатки глутамина (E), лейцина (L), аргинина (R) — такие хемокины являются аттрактантами для нейтрофилов;
- ELR⁻-СХС — содержат в том же месте два остатка цистеина, разделенных вариабельной аминокислотой (X), перед ними расположены другие аминокислоты (не Glu—Leu—Arg) — такие хемокины являются аттрактантами для лимфоцитов;
- C — содержит один остаток цистеина в гомологичном месте молекулы;
- CXXXC (или CX3C) — содержат два остатка цистеина, разделенных какими-либо 3 аминокислотными остатками;
- 6-цистеин-CC — содержат, кроме двух остатков цистеина, еще один остаток цистеина в 6-м положении.

Приведем краткую характеристику ряда хемокинов с указанием рецепторов для них, если они известны (табл. 7.7). Рецепторы для хемокинов в последние годы привлекают к себе особое внимание: появились факты, свидетельствующие о том, что вирус иммунодефицита человека (по крайней мере некоторые его квази-виды) «пользуется» некоторыми указан-

Таблица 7.7. Хемокины и их рецепторы

| Семейство | Хемокины | Хромосома, в которой локализован ген | Клетки-мишени | Рецептор(ы) | |
|----------------------------|----------------------|--------------------------------------|---|--|------------|
| С ELR ⁺ -СХС | Лимфо-тактин | 1 | Т-лимфоциты, NK | XCRI | |
| | IL-8 | 4 | Нейтрофилы, базофилы, Т-лимфоциты | CXCR1, | |
| | GRO α | 4 | Нейтрофилы | CXCR2 | |
| | GRO β | 4 | » | CXCR2»1 | |
| | GRO γ | 4 | » | CXCR2 | |
| | ENA-78 | 4 | » | CXCR2 | |
| | LDGF-PBP | 4 | Фибробласты, нейтрофилы | CXCR2 | |
| | GCP-2 | 4 | Нейтрофилы | CXCR2 | |
| | PF4 | 4 | Фибробласты | 9 | |
| | Mig | 4 | Активированные Т-лимфоциты | CXCR3 | |
| ELR ⁻ -СХС | IP-10 | 4 | Активированные Т-лимфоциты (Т _H 1 > Т _H 2) | CXCR3 | |
| | SDF-1 α/β | 10 | CD34 ⁺ клетки костного мозга, Т-лимфоциты, дендритные клетки | CXCR4 | |
| | CC | MIP-loi | 17 | Моноциты/макрофаги, Т _H 1 > Т _H 2, NK, базофилы, дендритные клетки, В-лимфоциты, клетки костного мозга | CCR1, 5, 9 |
| | | MIP-1 β | 17 | Моноциты/макрофаги, Т _H 1>Т _H 2, NK, базофилы, дендритные клетки, клетки костного мозга | CCR1, 5, 9 |
| | MIP-3 α | 2 | Т-лимфоциты памяти, моноклеары периферической крови, дендритные клетки костного мозга | CCR6 | |
| | MIP-3 β | 9 | Неиммунные Т-лимфоциты | CCR7 | |
| | MDC | 16 | Дендритные клетки, моноциты (?), NK, Т _H 2 > Т _H 1 | CCR4 | |
| | TECK | ? | Макрофаги, дендритные клетки, тимоциты | ? | |
| | TARC | 16 | Перевивные линии Т-клеток | CCR4 | |
| | RANTES | 17 | Моноциты/макрофаги, Т-лимфоциты памяти | CCR1, 3, 4, 5 | |

| Семейство | Хемокины | Хромосома, в которой локализован ген | Клетки-мишени | Рецептор(ы) |
|---------------------|--------------------|--------------------------------------|--|---|
| 6-Цистеин СС | НСС-1 | 17 | (Т _H > Т _H 2), НК, | CCR9 9 ? CCR2, 9 CCR2, 9 CCR2, 9 CCR2, 3, 9 CCR3, 9 CCR3 CCR8 CCR1, 3 ? ? CX3CR1 |
| | НСС-4 | 17 | базофилы, эозинофилы, дендритные клетки | |
| | DC-СК1 | 17 | Моноциты | |
| | МСР-1 | 17 | » Неиммунные Т-лимфоциты | |
| | МСР-2 | 17 | Т-лимфоциты, моноциты, базофилы | |
| | МСР-3 | 17 | Т-лимфоциты, моноциты, базофилы, эозинофилы | |
| | МСР-4 | 17 | Т-лимфоциты, моноциты, базофилы, эозинофилы, дендритные клетки | |
| | Эотаксин | 17 | То же | |
| | Эотаксин-2/MIP1F-2 | ? | Эозинофилы | |
| | I-309 | 17 | Эозинофилы, базофилы, Т-лимфоциты | |
| | 6Скine | 17 | Нейтрофилы (только ТСА-3), Т-лимфоциты | |
| СХХХС (или СХЗС) | MIP-5/ НСС-2 | 17 | Т-лимфоциты, моноциты, дендритные клетки, нейтрофилы (?) | |
| | MPIF-1 | 17 | Моноциты, неактивные Т-лимфоциты, нейтрофилы (?) | |
| | 6Скine | 17 | Неиммунные Т-лимфоциты, В-лимфоциты, мезангиальные клетки (?) | |
| | Фракталин | 16 | Т-лимфоциты, моноциты, нейтрофилы | |

Примечание. Расшифруем некоторые аббревиатуры для обозначения хемокинов, но обращаем ваше внимание на то, что в настоящее время в литературе встречается множество синонимов. Это свидетельствует о том, что мы пока не достигли той глубины знания, которая позволяет унифицировать номенклатуру на международном уровне. MIP-1 — macrophage inflammatory protein-1 — воспалительный белок макрофагов; MCP-1 (2, 3, 4) — monocyte-chemoattractant protein-1 (2, 3, 4) — белок-хемоаттрактант для моноцитов-1 (2, 3, 4); RANTES — regulated upon activation, normal T expressed and secreted. RANTES вырабатывается нормальными иммунными Т-лимфоцитами на 3-и — 5-е сутки от начала активации лимфоцита. Кроме Т-лимфоцитов, RANTES продуцируют фибробласты и клетки эпителия покровных тканей после их стимуляции ИЛ-1 и/или фактором некроза опухоли TNF. RANTES является хемоаттрактантом для Т-лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов.

ными рецепторами для проникновения в клетки человека. При всем разнообразии конкретных форм все рецепторы для хемокинов имеют похожую характерную третичную структуру — «гармошку» из 7 трансмембранных слоев G-связывающих протеинов.

7.3.3.2. Рецепторы для цитокинов

По структуре рецепторы для цитокинов делят на 3 семейства:

- рецепторы для гематопоезинов;
- рецепторы для фактора некроза опухолей (TNFR);
- рецепторы для хемокинов.

Кроме того, некоторые вирусные белки на поверхности клеток связывают ряд цитокинов, например белки цитомегаловируса связывают такие хемокины, как RANTES, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β . Молекулы гликозаминогликанов на поверхности клеток эндотелия связывают хемокины, например RANTES. Такое связывание не вызывает проведение сигнала в нутрь эндотелиальных клеток. Его предназначение иное: RANTES на поверхности эндотелия связывает за рецепторы «к себе» лейкоциты из потока крови, что обеспечивает их экстравазацию и попадание в очаг воспаления в ткани.

Рецепторы из семейства гематопоезиновых представляют собой гетеродимерные молекулы. Это семейство включает β - и γ -цепи рецептора для IL-2; рецепторы для IL-3, 4, 5, 6, 7, 9 и 15; рецептор для GM-CSF; рецептор для эритропоэтина; рецептор для гормона роста. У рецепторов для IL-3, IL-5 и GM-CSF одинаковая β -цепь. У рецепторов для IL-2, 4, 7, 9 и 15 — одинаковая γ -цепь. Есть варианты рецептора для IL-2: 1-й — высокоаффинный (связывает лиганд с $k_d 10^{-11}$ М), состоит из 3 цепей: α (мол. масса 55 000), β (мол. масса 75 000, CD122) и γ (мол. масса 64 000). Как гетеротример этот рецептор экспрессирован на Т-лимфоцитах памяти, некоторых В-лимфоцитах и NK; 2-й вариант — низкоаффинный рецептор — это только одна α -цепь $k_d 10^{-8}$ М (CD25). Молекула CD25 экспрессирована на активированных Т- и В-лимфоцитах, моноцитах. Гетеродимер IL-2R $\beta\gamma$ связывает лиганд с $k_d 10^{-9}$ М.

Рецепторы из семейства рецепторов для TNFR представляют собой одну трансмембранную полипептидную цепь. К ним относят: TNFR-I и II, молекулу CD40, Fas (CD95), CD30 и CD27, рецептор для фактора роста нервов (NGF-R).

Рецепторы семейства хемокиновых представляют собой трансмембранную 7-слойную «гармошку» и включают по крайней мере рецепторы для IL-8, MIP-1, MCP-1 и NAP-2.

Схема структуры рецепторов к цитокинам показана на рис. 7.4.

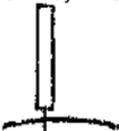
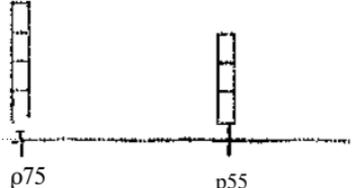
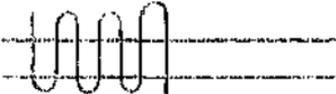
| | |
|---|---|
| <p>Суперсемейство иммуноглобулинов</p>  | <p>IL-1R I типа IL-1R II типа</p> |
| <p>Семейство рецепторов для TNF</p>  <p>p75 p55</p> | <p>TNFR I типа; TNFR II типа; CD40; Fas, CD30; CD27; NGFR (рецептор для фактора роста нервов)</p> |
| <p>Ди- и трицепные рецепторы</p>  <p>α-цепь ρ-цепь γ-цепь</p> | <p>Рецепторы для IL-2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 и 15; GM-CSF; Epo (эритропоэтина); рецептор для гормона роста</p> |
| <p>Семейство рецепторов для хемокинов</p>  <p>7-складчатая трансмембранная "гармошка"</p> | <p>Рецепторы для IL-8, PF4 MIP-1 и др.</p> |

Рис. 7.4. Структурные семейства рецепторов для цитокинов.

Приведем более подробный список известных на сегодня рецепторов для хемокинов семейства CC, а также молекул, не являющихся только рецепторами для цитокинов, но способных связывать те или иные конкретные цитокины (табл. 7.8). Эта информация в определенных аспектах имеет большое не только научное, но и практическое значение. Например, один из вариантов рецепторов для хемокинов CCR5 оказался значимым кофактором для проникновения ВИЧ-1 в клетки. Вероятно, он не единственный.

При проведении сигналов от разных рецепторов для различных цитокинов тем не менее происходят общие внутриклеточные события; цитоплазматические участки рецепторов

Таблица 73. Рецепторы для хемокинов семейства CC

| Рецептор | Лиганды |
|---------------------|--|
| CCR1 | MIP-1 α , RANTES, MCP-3, MIP-5, Lkn-1 |
| CCR2 | MCP-1, MCP-3, MCP-4 |
| CCR3 | Эотаксин, эотаксин-2/MPIF-2, RANTES, MCP-2, MCP-3, MCP-4, MIP-5, Lkn-1 |
| CCR4 | TARS |
| CCR5 | MIP-1 α , RANTES, MIP-1 β |
| CCR6 | Exodus-1/LARC/MIP-3 α |
| CCR7 | ELC/MIP-3 β |
| CCR8 | I-309 |
| CCR10 | MCP-1, MCP-3, RANTES, MCP-4 |
| CMV US28 | MCP-1, RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β |
| DARC | RANTES и другие хемокины семейств CC и CXC |
| Гликозамино-гликаны | RANTES и др. Это «несигнализирующий» рецептор |

Примечание. CCR — рецептор для хемокинов семейства CC; CMV US28 — протеин цитомегаловируса; DARC — антиген группы крови Duffy, эту же молекулу использует малярийный плазмодий для проникновения в эритроциты; DARC связывает многие хемокины не только семейства CC, но и CXC; Lkn-1 — лейкотактин; MPC — моноцитарный хемоаттрактантный протеин; MPIF — миелоидный ингибиторный фактор; TARS — thymus and activation regulated chemokine; LARS — liver and activation regulated chemokine; MIP — макрофагальный воспалительный протеин.

для цитокинов ассоциированы с киназами определенного семейства, называемого *Janus*.

Название *Janus* происходит от имени двуликого древнеримского бога Януса и объясняется тем, что в молекулах киназ этого семейства обязательно присутствуют два домена: один является собственно ферментом — киназой (JH1, в активном центре молекулы содержатся аминокислотные остатки KE/DYY); второй — псевдокиназный домен (JH2), осуществляющий регуляторные в отношении киназной активности функции. Всего в молекуле *Janus* 7 доменов, 5 из которых используются для обеспечения связывания с лигандами.

Известно 4 члена этого семейства, близких по структуре: Jak 1, Jak 2, Jak 3, Tyk 2. Их молекулярная масса составляет от 90 000 до 140 000. Эти киназы в клетке ассоциированы с разными цепями рецепторов для цитокинов. После связывания рецептора с цитокином киназы *Janus* фосфорилируют внутриклеточные участки цепей рецепторов по остатку тирозина, после чего к этим участкам через SH2-домен могут присоединяться молекулы из семейства STAT (signal transducers and activators of transcription) — проводники сигналов и активаторы транскрипции. Затем те же киназы *Janus* фосфорилируют молекулы STAT по остатку тирозина. Фосфорилированные STAT отделяются от внутриклеточных цепей

рецептора для цитокина, димеризуются (гомо- или гетеро-) и в виде димера физически перемещаются в ядро, где вступают в связь с ДНК и активируют транскрипцию. В ДНК димеры STAT находят полупалиндромные последовательности нуклеотидов TTN₅₋₆AA и «сажаются» на них «верхом». Для того чтобы началась транскрипция с ДНК, необходимо участие еще так называемых коактиваторных протеинов, которыми могут быть, например, рецепторы для глюкокортикоидов, протеины N-Мус, СВР/p300 и др. Показано, что онкопротеин аденовирусов E1A способен блокировать функции STAT1 (пример механизма повреждения иммунных функций при аденовирусных инфекциях).

Описано 7 молекул STAT: 1, 2, 3, 4, 5а, 5в, 6. Их молекулярная масса составляет от 84 000 до 113 000. N-концевые домены молекул STAT используются для их димеризации. Существуют также спиральный домен, центральный ДНК-связывающий домен, SH2-домен и C-концевой домен (он обеспечивает собственно активацию транскрипции с ДНК). В молекулах STAT существуют консервативные остатки тирозина. Их фосфорилирование необходимо для димеризации. C-концевой домен фосфорилируется по остатку серина. Ниже при описании отдельных цитокинов мы приведем ряд известных экспериментальных данных о молекулярных механизмах проведения сигналов от конкретных рецепторов для цитокинов.

7.3.3.3. Биологические свойства пар цитокин — клетка-мишень

Приведем краткую феноменологическую характеристику наиболее изученных цитокинов, но еще раз подчеркнем, что биологический эффект не является свойством цитокина, а определяется характером дифференцировки клетки-мишени — носителя рецептора для данного цитокина. Напомним, что семейством называют гомологичные по структуре молекулы, синтезируемые с гомологичных по составу генов, которые когда-то произошли путем дубликаций одного предкового гена и дивергировали в эволюции в той или иной мере.

Семейство цитокинов — гематопоэтинов. Общность их структуры состоит в том, что полипептид формирует 4 спиральных домена.

Еро (эритропоэтин): в молекуле 165 аминокислотных остатков, мономер. Рецептор — ЕроR. Клетки-продуценты — клетки почки и гепатоциты. Биологический эффект: стимуляция эритропоэза. Нокаут гена Еро или гена рецептора для него приводит к гибели организма в эмбриональном периоде.

Интерлейкин-2 (IL-2): в молекуле 133 аминокислотных остатка, мономер. Рецепторы: CD25 (α-цепь), CD122

(β -цепь) и CD132 (у-цепь). α -Цепь связывает лиганд, β - и у-цепи обеспечивают проведение сигнала. β -Цепь в клетке ассоциирована с киназой Jak1, у-цепь — с киназой Jak3. У-Цепь общая у рецепторов для IL-2, 4, 7, 9 и 15. У людей с деструктивной мутацией в гене у-цепи или в гене киназы Jak3 имеется тяжелый комбинированный иммунодефицит с полным отсутствием Т-лимфоцитов и NK и с дефектами В-лимфоцитов. Анализ нокаута соответствующих генов у мышей показывает, что главный компонент в патогенезе иммунодефицита в данном случае — отсутствие сигналов от IL-7. Клетки — продуценты IL-2: активированные Т-лимфоциты (субпопуляция Th1). В проведении сигнала от IL-2 участвуют молекулы STAT5a, 5b, 3 и 1. Они связываются с фосфорилированным остатком тирозина в β -цепи рецептора. Молекула STAT5 образует не только гомодимеры, но и гетеродимеры, в том числе с рецепторами для глюкокортикоидов. Таким образом, глюкокортикоиды на этом этапе развития иммунного ответа способны вызывать *трансактивирующий эффект* (а не иммуносупрессорный). Нокаут гена STAT5 приводит к тому, что $1/3$ животных умирает перинатально от невыясненных пока причин, выжившие особи сильно отстают в росте, самки бесплодны и с дефектом развития молочных желез, отсутствуют NK, нарушена пролиферация лимфоцитов. Нокаут гена STAT3 приводит к ранней эмбриональной летальности (на 6-е сутки развития). STAT3 участвует в проведении сигналов, кроме как от IL-2, еще от IL-6 и 10. Известен и альтернативный путь проведения сигнала от рецептора для IL-2 — через β -цепь и фосфатидилинозитол-3-киназу, которая ассоциирована с Jak1 и индуцирует синтез антиапоптозных протеинов Bcl-2 и с-Мус.

Конкретные гены, которые активируются сигналом от IL-2, неизвестны, кроме гена α -цепи рецептора для самого IL-2 (CD25). Основные биологические эффекты от сигнала IL-2 — стимуляция пролиферации Т- и NK-клеток. Нокаут гена IL-2 приводит к резкому снижению пролиферации Т-лимфоцитов и досрочному апоптозу Т-лимфоцитов. Нокаут гена IL-2R α приводит к недоразвитию Т-лимфоцитов. Нокаут гена IL-2R β приводит к развитию аутоиммунных процессов, зависящих от Т-лимфоцитов. Нокаут гена у-цепи приводит к развитию тяжелого комбинированного иммунодефицита (за счет отсутствия сигналов от IL-7, рецептор для которого имеет ту же у-цепь).

Интерлейкин-3 (IL-3), мультиколониестимулирующий фактор, костимулятор пролиферации и дифференцировки всех ранних ростков гемопоэза. В молекуле 133 аминокислотных остатка, мономер. Рецептор — CD123 (β -цепь). Клетки-продуценты: Т-лимфоциты, эпителиальные клетки стромы тимуса. Нокаут гена IL-3 приводит к нечувствительности тка-

ни костного мозга к воздействиям GM-CSF и IL-5. На клеточном уровне нарушено развитие эозинофилов.

Интерлейкин-4 (IL-4): в молекуле 129 аминокислотных остатков, мономер. Рецепторы: CD124 (α -цепь), CD132 (общая γ -цепь). Клетки-продуценты: Т-лимфоциты с TCR $\alpha\beta$ /CD4⁺/CD8⁻ (NK-T), Th2, тучные клетки. «-Цепь рецептора ассоциирована с киназой Jak1, γ -цепь — с Jak3. IL-4 способен также связываться с α -цепью рецептора для IL-13. Внутри клетки рецепторы для IL-4 активируют главным образом молекулы STAT6. Молекулы STAT6 и Vcl-6 обладают сродством к одним и тем же последовательностям в ДНК (TTN₆AA), но Vcl-6 ингибирует, а STAT6 активирует транскрипцию. Биологические эффекты: иммунное отклонение дифференцировки CD4⁺ Т-лимфоцитов в сторону Th2, активация В-лимфоцитов, переключение синтеза класса иммуноглобулинов на Е (STAT6 индуцирует ϵ -промотор). В макрофагах STAT6 индуцирует биосинтез антагониста рецептора для IL-1 (это единственный известный для сигнала от IL-4 противовоспалительный эффект). Нокаут гена IL-4 или гена рецептора, а также гена STAT6, приводит к отсутствию Th2, снижению биосинтеза IgE. Нокаут гена Vcl-6 приводит к гипертрофии Th2 и патологическому преобладанию Th2-зависимых процессов иммунного воспаления.

Интерлейкин-5 (IL-5): в молекуле 115 аминокислотных остатка, гомодимер. Рецептор — CD125 (β -цепь). Клетки-продуценты: субпопуляция Th2 и тучные клетки. Биологические эффекты: дифференцировка и активация эозинофилов. Нокаут гена IL-5 приводит к снижению уровня эозинофилов, снижению биосинтеза IgE и IgG1, а также биосинтеза IL-9 и 10.

Интерлейкин-6 (IL-6): в молекуле 184 аминокислотных остатка, мономер. Рецепторы: CD126 («-цепь»), CD130. Клетки-продуценты: Т-лимфоциты, макрофаги, клетки эндотелия. Биологические эффекты: локально стимулирует пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов. Системные эффекты: стимуляция продукции печенью белков острой фазы, индукция лихорадки. Поддерживает рост клеток линии ES («эмбриональные стволовые клетки»). Нокаут гена IL-6 приводит к ингибции системных реакций острой фазы, а также снижению биосинтеза IgA.

Интерлейкин-7 (IL-7): в молекуле 152 аминокислотных остатка, мономер. Рецепторы: CD127, CD132 (общая γ -цепь). Клетки-продуценты — строма костного мозга. Поддерживает пролиферацию пре-В- и пре-Т-лимфоцитов. Нокаут гена IL-7 приводит к существенному повреждению пролиферации ранних лимфоидных клеток-предшественников и развитию синдрома тяжелого комбинированного иммунодефицита (SCID).

Интерлейкин-9 (IL-9): в молекуле 125 аминокислотных остатков, мономер. Рецептор — IL-9R (общая γ -цепь CD 132). Клетки-продуценты — Th2-лимфоциты. Биологический эффект — усиление активности тучных клеток.

Интерлейкин-11 (IL-11): в молекуле 178 аминокислотных остатков, мономер. Рецептор — CD130. Клетки-продуценты — фибробласты стромы костного мозга и лимфоидных органов. Биологические эффекты: синергичное поддержание гемопоэза с IL-3 и IL-4. Поддерживает рост клеток линии ES.

Интерлейкин-13 (IL-13) (P600): в молекуле 132 аминокислотных остатка, мономер. Рецепторы: IL-13R (общая γ -цепь CD132), вероятно включает еще и молекулу CD24. Клетки-продуценты — Th2. Биологические эффекты: аналог IL-4 — сдвигает иммунное отклонение в пользу Th2, способствует переключению биосинтеза иммуноглобулинов на IgE; ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов макрофагами; ингибирует дифференцировку Th1; поддерживает пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов.

Интерлейкин-15 (IL-15): в молекуле 114 аминокислотных остатков, мономер. Рецепторы: IL-15R (CD122), CD 132 — общая γ -цепь. Клетки-продуценты — Т-лимфоциты. Биологические эффекты: стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов и NK подобно IL-2; стимулирует пролиферацию эпителия кишки (энтероцитов). Нарушение проведения сигнала с рецептора для IL-15 приводит к тому, что в организме отсутствуют NK.

Гранулоцит-колониестимулирующий фактор (G-CSF): мономер. Рецептор — G-CSFR. Клетки-продуценты: фибробласты, моноциты. Биологический эффект — поддерживает развитие нейтрофилов в костном мозге. При генетическом нокауте — дефекты миелопоэза, нейтропения.

Гранулоцит-моноцит-колониестимулирующий фактор (GM-CSF): в молекуле 127 аминокислотных остатков, мономер. Рецептор — CD116 (β -цепь). Клетки-продуценты: макрофаги, Т-лимфоциты. Биологические эффекты: поддерживает пролиферацию и дифференцировку ростков миелопоэза и моноцитопоэза в костном мозге. При нокауте гена развивается легочный альвеолярный протеинозис.

Онкостатин М (OSM): в молекуле 196 аминокислотных остатков, мономер. Рецептор — CD 130. Клетки-продуценты: Т-лимфоциты, макрофаги. Биологические эффекты: стимулирует пролиферацию клеток саркомы Капоши (Kaposi's sarcoma), но ингибирует пролиферацию клеток меланомы. Поддерживает рост клеток линии ES («эмбриональные стволовые клетки»).

Лейкоз-ингибирующий фактор (LIF): в молекуле 179 аминокислотных остатков, мономер. Рецепторы: LIFR, CD130. Клетки-продуценты — фибробласты стромы

костного мозга. Поддерживает рост клеток линии ES. Нокаут гена *LIFR* приводит к смерти животного при рождении или вскоре после него, при этом наблюдают острое истощение пула стволовых кроветворных клеток.

Семейство **интерферонов** (IFN). Известно 3 типа интерферонов: IFN- α , IFN- β , IFN- γ . Интерфероны были открыты как продукты инфицированных вирусами клеток млекопитающих, обладающие противовирусным действием. *Interfere with* — мешать (репликации вирусов). Хотя интерфероны (все три типа) имеют одно родовое название, между ними есть существенные различия по ряду признаков.

IFN- γ — единственный, который называют еще иммунным интерфероном, так как именно и только его продуцируют иммунные Т-лимфоциты — субпопуляции Th1, CD8⁺ ЦТЛ и НК. IFN- γ , продукт единственного структурного гена, полипептид из 143 остатков аминокислот, мономер. Рецептор для IFN- γ , мембранная молекула CD 119, состоит из α - и β -цепей. Внутри клетки α -цепь ассоциирована с Jak1, β -цепь — с Jak2. Jak1 фосфорилирует тирозин-440 в участке с последовательностью YDKPH, после чего фосфотирозин связывает STAT1, в молекуле которого Jak1 фосфорилирует тирозин-701 и серин-727. Мыши с нокаутом гена STAT1 не отвечают на IFN- γ . Описаны люди с мутациями в генах обеих цепей рецептора для IFN- γ , клинически у них наблюдается иммунодефицит со снижением резистентности к внутриклеточным бактериальным инфекциям. IFN- γ индуцирует также экспрессию супрессорной молекулы SOCS-1. У мышей с нокаутом гена SOCS-1 наблюдают хроническую активацию STAT1, задержку роста, анемию, лимфопению, повышенный апоптоз лимфоцитов и летальный исход через несколько недель после рождения.

Главные биологические эффекты IFN- γ следующие:

- является самым сильным активатором макрофагов. Именно посредством цитокина IFN- γ , Th1, ЦТЛ и НК «нанимают» макрофаги для выполнения деструктивных функций в отношении тканей, поврежденных антигеном в очаге воспаления. В деструкцию вовлекаются и прилегающие клетки окружающих тканей. Активированные макрофаги выделяют кислородные радикалы, радикал окиси азота, гидролитические ферменты, которые, пытаясь разрушить патоген, травмируют и собственные клетки. Очаги «Ты — макрофаг»-опосредованного воспаления в коже и есть то, что называют исторически оставшимся в употреблении термином «гиперчувствительность замедленного типа» (ГЗТ). Мы подробнее опишем ГЗТ в разделе об эффекторных механизмах иммунного ответа;

- активирует также НК к осуществлению ими цитолиза клеток-мишеней;
- индуцирует экспрессию на клетках белков МНС-I и МНС-II, тем самым способствуя представлению антигенов (в том числе и вирусных) для Т-лимфоцитов, следовательно, способствуя прогрессивному развитию противовирусного иммунного ответа;
- IFN- γ , продуцируемый CD8⁺ ЦТЛ, вносит свой вклад в противовирусное действие ЦТЛ;
- является локальным кофактором в направлении дифференцировки CD4⁺ ThO-клеток в Th1;
- участвует в переключении биосинтеза изотипов иммуноглобулинов.

При нокауте гена IFN- γ или рецептора для него наблюдаются сниженную резистентность организма к бактериальным инфекциям, особенно микобактериальным, а также к некоторым вирусам.

Известно, что IFN- γ индуцирует по крайней мере такие гены, как гены интерферонов α и β , хемокина RANTES, молекулы адгезии ICAM-1, NO-синтазы (iNOS), МНС-I, МНС-II, Fas, FasL и каспаз. Внутри клетки сигнал от рецептора для IFN- γ проводят молекулы STAT1. В некоторых опухолевых клетках не находят молекул STAT1. Нокаут гена STAT1 и особенно двойной нокаут генов STAT1/p53 приводят к бурному развитию у мышей спонтанных опухолей. Это наблюдается и при нокауте генов цепей рецептора для IFN- γ . Есть экспериментальные наблюдения, показывающие, что IFN- γ блокирует процессы ангиогенеза в опухолевой ткани.

IFN- α — это семейство из 20 близкородственных полипептидов, состоящих из 166 аминокислотных остатков (мол. масса 18 000), мономеры. Рецептор для них один — CD 118. IFN- α продуцируют лейкоциты, поэтому его(их) еще называют *лейкоцитарным интерфероном*.

IFN- β продуцируют фибробласты, поэтому его называют *фибробластным интерфероном*. IFN- β — продукт одного гена, также состоит из 166 остатков аминокислот, мономер. Рецептор - CD118.

Биологические свойства IFN- α и β , насколько они известны, одинаковы, поэтому мы опишем их вместе. По совокупности эти интерфероны проявляют противовирусное действие и усиливают экспрессию молекул МНС-I.

Естественным индуктором биосинтеза IFN- α и β являются *двуспиральные РНК*, которых в норме не бывает в эукариотических клетках, но которые являются характерным продуктом в жизненном цикле многих вирусов.

При нокауте гена IFN- α наблюдают снижение противовирусной резистентности организма.

Рецептор для IFN- α и β , как и все рецепторы для цитокинов, связан внутри клетки с тирозинкиназами семейства Janus, которые фосфорилируют и тем самым активируют белки STAT (это активаторы транскрипции с определенных генов). IFN- α и β индуцируют транскрипцию с генов, продукты которых способны подавлять репликацию вирусов и редупликацию собственной ДНК клетки и, следовательно, пролиферацию клеток. На этом основано применение интерферонов при онкологических заболеваниях в тех случаях, когда на опухолевых клетках экспрессированы рецепторы для интерферонов.

Один из известных антипролиферативных механизмов действия интерферонов заключается в индукции ими синтеза особого фермента — олигоденилатсинтетазы, которая полимеризует АТФ в 2'-5'-олигомеры, тогда как в нормальных природных нуклеиновых кислотах нуклеотиды связаны по 3'-5'-позициям. Аномальные 2'-5'-олигонуклеотиды активируют эндорибонуклеазы, которые расщепляют РНК, в том числе вирусную. Еще один известный белок, индуцируемый IFN- α и β — серин/треонинкиназа (P1). Эта киназа избирательно фосфорилирует и тем самым инактивирует некий фактор eIF-2, инициирующий синтез белков в эукариотических клетках, в результате чего тормозится трансляция белков, что препятствует в том числе и репликации вирусов в клетке.

IFN- α и β индуцируют экспрессию молекул МНС-I (но не МНС-II в отличие от IFN- γ), а также протеинов TAP (транспортёров пептидов-антигенов) и компонентов протеасом Lmp2 и 7, что способствует распознаванию вирусинфицированных клеток CD8⁺ Т-лимфоцитами (ЦТЛ). IFN- α и β активируют НК к лизису вирусинфицированных клеток. Повышение экспрессии МНС-I на неинфицированных клетках способствует их защите от киллерной атаки НК.

«Бессемейственные» цитокины. Трансформирующий фактор роста- β (TGF- β — transforming growth factor- β): в молекуле 112 аминокислотных остатков, гомо- или гетеротример. Клетки-продуценты: хондроциты, активированные моноциты, активированные Т-лимфоциты. Открыт в экспериментальной тест-системе культивирования клеток *in vitro* как продукт опухолевых клеток, способствующий выживанию *in vitro* неопухолевых клеток — фибробластов. Второй фактор из опухолевых клеток — TGF- α — способствует пролиферации *in vitro* исходно неопухолевых клеток. TGF- β — семейство из нескольких близкородственных молекул (и соответственно генов): TGF- β 1, β 2 и β 3 и др. Т-лимфоциты и моноциты синтезируют главным образом TGF- β 1. Вероятно, в клетках может в каком-то количестве депонироваться биологически неактивный предшественник TGF- β , который активируется протеазами.

Биологические эффекты TGF- β различны при действии на разные клетки-мишени. TGF- β индуцирует синтез белков межклеточного матрикса — коллагенов, индуцирует на клетках экспрессию рецепторов для межклеточного матрикса (тем самым он, вероятно, и способствует выживанию клеток в культуре *in vitro*). *In vivo* TGF- β способствует росту кровеносных сосудов (ангиогенезу) при регенерации и репарации тканей. Его воздействия на лимфоциты и моноциты противоположны: TGF- β является самым сильным ингибитором пролиферации лимфоцитов, ингибирует функциональное созревание ЦТЛ, ингибирует активацию макрофагов и полиморфноядерных лейкоцитов, ингибирует активацию эндотелия другими цитокинами провоспалительной «направленности», т.е. TGF- β 1 — иммуносупрессор. Нокаут гена TGF- β 1 приводит к летальным воспалительным процессам.

Интерлейкин-1 α (IL-1 α): в молекуле 159 аминокислотных остатков, мономер. Рецепторы: CD121a, CD121b. Клетки-продуценты: макрофаги, эпителий покровных тканей. Биологические эффекты: локальные — активация Т-лимфоцитов и макрофагов; системные — лихорадка и другие симптомы септического шока.

Интерлейкин-1 β (IL-1 β): в молекуле 153 аминокислотных остатка, мономер. Рецепторы: CD121a, CD121b.

Структурная гомология между IL-1 α и IL-1 β составляет менее 30 %, но у них не только общий рецептор и, следовательно, известные на сегодня биологические эффекты, но и клетки-продуценты. Однако IL-1 α преимущественно находится в клетке, причем будучи синтезированной в цитоплазме, молекула мигрирует в ядро клетки. IL-1 β в основном секретируется клеткой во вне. Обе формы IL-1 синтезируются в виде белка-предшественника с молекулярной массой 33 000, который расщепляется до активной дефинитивной формы (мол. масса 17 000) под действием особой протеазы, экспрессированной в макрофагах и названной IL-1-конвертирующим ферментом. IL-1 α проявляет биологическую активность и в виде предшественника с молекулярной массой 33 000.

Нокаут гена IL-1 β обуславливает невозможность развития реакций острой фазы.

Интерлейкин-1-рецептор-антагонист (IL-1RA) — единственный известный на сегодня естественный цитокин-антагонист: он связывается с одним из рецепторов для IL-1 — CD121a, но не вызывает активационных эффектов в клетке-мишени. Его синтезируют макрофаги, моноциты, нейтрофилы, гепатоциты.

Интерлейкин-10 (IL-10) (ингибитор синтеза цитокинов F): в молекуле 160 аминокислотных остатков, гомодимер. Клетки-продуценты: Th2, макрофаги и В-лимфоциты, инфицированные вирусом Эпштейна—Барр (один из вирусных

генов кодирует белок, гомологичный IL-10). Он является сильным ингибитором активности макрофагов, в том числе и их функционирования в роли антигенпредставляющих клеток и, следовательно, IL-10 ингибирует Т-лимфоцитарные реакции. Но при этом, по-видимому, тот же IL-10 стимулирует дифференцировку В-лимфоцитов в направлении переключения синтеза изоформа иммуноглобулинов на G4 у человека (аналога IgG1 у мыши). Нокаут (knock-out) гена IL-10 или рецептора для него приводит к развитию у животных тяжелого энтероколита, анемии и задержке роста.

Интерлейкин-12 (IL-12) — гетеродимер: одна цепь состоит из 197 остатков аминокислот, вторая — из 306. Клетки-продуценты: макрофаги, В-лимфоциты. Рецептор состоит из двух субъединиц — β_1 и β_2 . Субъединица β_1 ассоциирована в клетке с Jak2, β_2 — с Tyk2. β_2 -Цепь экспрессирована в Th1, но отсутствует в Th2. В клетке сигнал от IL-12 проводит STAT4, который связывается с фосфорилированным остатком тирозина в участке LPSNID β_2 -цепи. Нокаут гена STAT4 приводит к дефекту развития Th1. Но двойной нокаут STAT4/STAT6 приводит к тому, что у мыши Th1 все-таки есть, но отсутствуют Th2.

Именно субъединица β_2 имеет решающее значение для проведения сигнала внутрь CD4⁺ Th0-лимфоцита для программирования дифференцировки Th0 в направлении Th1. Сигнал с рецептора для IL-12 стимулирует экспрессию генов IFN- γ , а также рецептора для IL-18 и β_2 -цепи рецептора для самого IL-12. Соответственно, главная биологическая активность сигнала от IL-12 — направлять дифференцировку CD4⁺ Th0-лимфоцитов в сторону Th1. Кроме того, IL-12 — сильный стимулятор функций NK. IL-12 стимулирует функциональное созревание CD8⁺ ЦТЛ, т.е. IL-12 — весьма значимый регулятор эффекторных этапов развития иммунного ответа. Нокаут гена IL-12 приводит к развитию дефицита продукции IFN- γ в организме и дефициту Th1. Описан ребенок с гомозиготной делецией генов β_2 -цепи рецептора для IL-12. Клинически у него наблюдали тяжело текущие внутриклеточные бактериальные инфекции.

Интерлейкин-16 (IL-16): в молекуле 130 аминокислотных остатков, гомотетрамер. Рецептор — CD4. Клетки-продуценты: Т-лимфоциты, тучные клетки, эозинофилы. Биологические эффекты: хемоаттрактант для CD4⁺ Т-лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов; защищает от апоптоза Т-лимфоциты, стимулированные IL-2.

Интерлейкин-17 (IL-17) (он же mCTLA-8): в молекуле 150 аминокислотных остатков, мономер. Клетки-продуценты — CD4⁺ Т-лимфоциты памяти. Биологический эффект — индуцирует продукцию цитокинов клетками эпителия, эндотелия и фибробластами.

Интерлейкин-18 (IL-18) (он же IGIF — interferon- γ inducing factor): в молекуле 157 остатков аминокислот, мономер. Рецептор — IL-1Rrp (IL-1R related protein — протеин, гомологичный рецептору для IL-1). Клетки-продуценты: активированные макрофаги, в том числе купферовские клетки печени. Биологические эффекты: индуцирует продукцию IFN- γ Т-лимфоцитами и НК, способствует дифференцировке Th1.

Миграцию ингибирующий фактор (MIF): в молекуле 115 аминокислотных остатков, мономер. Клетки-продуценты: Т-лимфоциты, клетки гипофиза. Биологические эффекты: ингибирует миграцию моноцитов, «высаживая» их в виде тканевых макрофагов, активирует макрофаги.

Семейство молекул TNF. Это семейство включает в себя по крайней мере 8 известных членов, из которых два — секретруемые цитокины (TNF- α , LT), а остальные — молекулы клеточной мембраны. Для молекул этого семейства характерна *гомотримерная структура*. Приведем характеристику их свойств (табл. 7.9).

Фактор некроза опухолей- α : в молекуле 157 аминокислотных остатков, тример. Рецепторы: TNFR-I (CD120a, p55), TNFR-II (CD120b, p75). Клетки-продуценты: активированные макрофаги, активированные нейтрофилы, НК и тучные клетки.

Локальные эффекты TNF- α создают очаг местного воспаления в барьерных тканях при внедрении в них патогена: поверхность эндотелия активируется таким образом, что инициирует свертывание крови в сосудах микроциркуляции, закупоривая их. Это является попыткой «не пустить» патоген в системную циркуляцию. Локальный отек способствует дренажу патогена в регионарные лимфатические узлы, где в норме есть все условия для развития лимфоцитарного иммунного ответа. Насколько существен TNF- α для общеорганизменного контроля инфекции, показывают эксперименты. Если здоровому животному вводят внутривенно определенную дозу бактерий, то процесс ограничивается локальным воспалением в месте введения. Если *ту же дозу* бактерий вводят после инъекции антител к TNF- α , то у животного развивается смертельный сепсис.

Системные эффекты TNF- α наступают при септическом заражении крови, когда доза микробных «раздражителей» настолько велика, что активирует огромную массу тканевых макрофагов во всем теле (в первую очередь в печени), и макрофаги выбрасывают значительные количества TNF- α в кровь. Если животному при этом ввести достаточное количество антител, нейтрализующих TNF- α , то симптомы септического шока удастся отменить (но не инфекционный процесс, который все равно закончится летальным исходом). Таким образом, именно TNF- α в первую очередь и индуциро-

Таблица 7.9. Характеристика молекул семейства TNF

| Член семейства TNF | Число остатков аминокислот в молекуле, молекулярная форма | Клетки-продуценты | Рецептор | Основные биологические эффекты | Результат нокаута гена цитокина или рецептора для него |
|--|---|--|---|--|--|
| TNF- α (кахектин) | 157, тример | Макрофаги, NK, Т-лимфоциты, нейтрофилы | CD120a (p55) — TNFR-I, CD120b (p75) - TNFR-II | Локальное воспаление, активация эндотелия, системная острая фаза | TNFR: резистентность к септическому шоку, чувствительность к инфекции <i>Listeria</i> |
| Лимфотоксин (LT α , TNF- β) секретлируемый | 171, тример | Т- и В-лимфоциты | TNFR-I, TNFR-II | Апоптоз клеток-мишеней, активация эндотелия | LT: отсутствие лимфатических узлов, антитела только класса М, снижение уровня иммуноглобулинов |
| Трансмембранная форма — LT- β | Образует тример с LT α | То же | LT- β R | Необходим для развития лимфатических узлов | Дефекты развития лимфатических узлов, селезенки, пейеровых бляшек |
| CD40L (CD40-лиганд) | Трансмембранный тример | Т-лимфоциты, тучные клетки | CD40 | Активация В-лимфоцитов и переключение классов Ig | CD40L: нет переключения синтеза классов Ig, низкий гуморальный ответ, гипер-IgM-синдром, нет Т-клеток памяти |

| Член семейства TNF | Число остатков аминокислот в молекуле, молекулярная форма | Клетки - продуценты | Рецептор | Основные биологические эффекты | Результат нокаута гена цитокина или рецептора для него |
|-----------------------|---|--|------------|---|--|
| FasL (Fas-лиганд) | Трансмембранный тример | Т-клетки , строматических органов (?) | Fas (CD95) | Апоптоз клеток-мишеней, Ca²⁺-независимая цитотоксичность | FasL или Fas: лимфопролиферативные и аутоиммунные процессы |
| CD27L (CD27-лиганд) | То же | Лимфоциты | CD27 | Стимуляция пролиферации Т-лимфоцитов | 9 |
| CD30L (CD30-лиганд) | » » | » | CD30 | Стимуляция пролиферации Т- и В-клеток | CD30: увеличение размеров тимуса |
| 4-1BBL (4-1BB-лиганд) | » » | » | 4-1BB | Костимуляция Т- и В-лимфоцитов | . |

ванные им **цитокины** IL-1 и 6 ответственны за развитие характерных симптомов септического шока (лихорадка, коллапс, ДВС-синдром и др.).

Системные эффекты TNF- α при септическом шоке или иных тяжелых генерализованных патологических процессах следующие:

- ® системная вазодилатация, следовательно, падение кровяного давления (коллапс);
- β повышение проницаемости сосудов, экстравазация плазмы из сосудов в ткани (отеки);
- β диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови (ДВС-синдром), как следствие — массивная потеря факторов коагуляции и, следовательно, повышенная кровопотеря при травматизации тканей;
- β развитие органной недостаточности почек, печени, сердца и легких в результате нарушения их перфузии;
 - TNF- α , прямо действует на клетки гипоталамуса, индуцируя высокую лихорадку;
 - концентрация глюкозы в крови падает до уровней, несовместимых с нормальным метаболизмом в мозге;
 - TNF- α , действует на эндотелий костного мозга таким образом, что «заставляет» его выбросить в циркуляцию имеющиеся запасы **нейтрофилов**. Если процесс развивается подостро и есть время для наблюдения за организмом, то через несколько дней можно зарегистрировать признаки угнетения кроветворения. При подостром развитии процесса можно также зарегистрировать существенную потерю массы тела (раннее название TNF- α , — *кахектин*) в результате повышенного и несбалансированного катаболизма жиров и белков в жировой и мышечной тканях.

В совокупности названные острые патологические процессы приводят к высокой летальности в случаях септического шока (TNF- α при столь «серьезном» внедрении патогенов во внутреннюю среду, которое бывает при септическом шоке, выполняет роль «индуктора апоптоза» на уровне организма в целом).

TNF- α индуцирует биосинтез и секрецию в циркуляцию теми же макрофагами еще двух цитокинов — IL-1 и 6, которые помогают TNF- α «организовать» индукцию биосинтеза белков острой фазы в печени: СРП (С-реактивного протеина из семейства пентраксинов), МСЛ [маннансвязывающего лектина из семейства коллектинов (collectins)], фибриногена и (у мыши) сывороточного амилоида. Функции белков острой фазы (в общем это связывание бактерий, опсонизация их для поглощения фагоцитами и активация системы комплемента) описаны в главе 3. Белки острой фазы вырабатываются пече-

нию гораздо раньше, чем может состояться лимфоцитарный иммунный ответ и выработаются специфические антитела. Белки острой фазы «пытаются» связать и элиминировать микроорганизмы уже в первые 2 сут после заражения. Антитела могут появиться только спустя почти неделю, если организм до тех пор сможет выжить. Так эволюционно новый и прогрессивный лимфоцитарный иммунитет не заменил собой доиммунные механизмы резистентности, но только «присоединился» к ним со своими новыми возможностями в общем деле защиты организма от инфекций.

7.3.4. Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов

Отдельные факты Т–В-взаимодействия мы уже описали, теперь мы их суммируем.

В-лимфоциты — профессиональные антигенпредставляющие клетки для Т-лимфоцитов. В-лимфоциты своим иммуноглобулиновым рецептором связывают антиген, поглощают его эндоцитозом, подвергают внутри себя процессингу и экспонируют на поверхность пептидные фрагменты (если антиген как целое был белком) в составе комплексов с молекулами МНС-П и МНС-І. Чтобы вступить в контакт с Т-лимфоцитом, В-лимфоцит, нагруженный антигеном, должен мигрировать в Т-зависимые зоны периферических лимфоидных органов (паракортикальную зону лимфатического узла, периартериолярную муфту селезенки и т.д.). Именно и только в *Т-зависимых зонах* периферической лимфоидной ткани происходит *Т–В-взаимодействие*. Антигенраспознающие рецепторы В- и Т-лимфоцита связывают *разные* эпитопы молекулы антигена. В этом плане теоретически можно было бы ожидать, что функциональное взаимодействие может состояться и между В-клеткой, связавшей один антиген (как целое), и рядом оказавшимся Т-лимфоцитом, связавшим пептид, который произошел из другого антигена (как целого) и представленный не этим В-лимфоцитом, а другой антигенпредставляющей клеткой. И действительно, при первичном иммунном ответе, как мы уже разбирали, единственные эффективные антигенпредставляющие клетки для Т-лимфоцитов это дендритные клетки. Но *синхронизированность* Т- и В-ответа на антиген как *целое* (а это факт) указывает на то, что и в случае активации Т-лимфоцита антигеном, представленным, например, дендритной клеткой, в иммунный ответ будут вовлекаться рядом расположенные В-лимфоциты, которым тоже «найдется», что распознать в сложившемся микроокружении. Таким образом, возможны два варианта взаимодействия Т- и В-лимфоцитов в одном микроокружении: при *первом варианте* ТCR Т-лимфоцита свяжет антиген на поверхности В-лимфоцита, как АПК, и, кроме того, установятся все необходи-

Таблица 7.10. Т—В-взаимодействие, при условии, что В-лимфоцит выполняет роль антигенпредставляющей клетки

| Молекулы В-лимфоцита | Комплементарные молекулы Т-лимфоцита | Последствия их взаимодействия |
|--|--------------------------------------|---|
| <u>Мембранные молекулы</u> Пептид в комплексе с молекулами МНС-II/I | <u>Мембранные молекулы</u> TCR | Активация Т-лимфоцита |
| МНС-II/I | CD4 или CD8 | То же |
| B7.1 (CD80), B7.2 (CD86) | CD28, позже CTLA-4 | Активация, затем торможение Т-лимфоцита |
| CD40 | CD40L (лиганд) | Активация Т-лимфоцита, пролиферация В-лимфоцита и возможность переключения классов иммуноглобулинов в В-лимфоците |
| CD30 | CD30L (лиганд) | Пролиферация Т- и В-лимфоцитов |
| 4-1BB | 4-1BBL (лиганд) | Костимуляция пролиферации Т- и В-лимфоцитов |
| <u>Рецепторы для цитокинов</u> | <u>Секретируемые цитокины</u> | |
| IL-2R | IL-2 | Пролиферация лимфоцитов |
| IL-4R | IL-4 | Пролиферация и дифференцировка В-лимфоцита: переключение на IgE |
| TGF- β R | TGF- β | Дифференцировка В-лимфоцита: переключение на IgA |
| IL-13R | IL-13 | Дифференцировка В-лимфоцита: переключение на IgE |
| IL-6R | IL-6 | Пролиферация и дифференцировка В-лимфоцита |

мые и достаточные корецепторные взаимосвязи между Т- и В-лимфоцитами (табл. 7.10).

При *втором варианте* В-лимфоцит распознает свой антиген, но недалеко окажется Т-лимфоцит, распознавший антиген на другой антигенпредставляющей клетке и активированный взаимодействием с другой антигенпредставляющей клеткой. В таком случае Т—В-взаимодействие может быть более «прохладным» и ограничиться взаимодействием цитокинов Т-лимфоцита с рецепторами для этих цитокинов на В-лимфоците, а взаимодействие мембранных молекул между ними

может в какой-то мере наступать или не наступать (по крайней мере в первичном иммунном ответе). Но при вторичном иммунном ответе *обязательно* происходит взаимодействие мембранной молекулы *В-лимфоцита CD40* с мембранной молекулой *Т-лимфоцита CD40L* (кроме Т-лимфоцитов, CD40L обнаружен пока только на тучных клетках), так как без этого взаимодействия, как показывает опыт, не происходит переключение класса иммуноглобулинов с М на другие, а вторичный ответ В-2-лимфоцитов характеризуется *обязательным* переключением класса иммуноглобулинов с М на G, А или Е.

Существенно также взаимодействие мембранной молекулы *OX40L*, экспрессированной на активированном В-лимфоците, с мембранной молекулой *OX40* на *CD4⁺* Т-лимфоците. Возможно, что это взаимодействие необходимо для дифференцировки *CD4⁺* *Th0*-лимфоцитов в направлении именно *Th2* — главных партнеров В-лимфоцитов по антительному иммунному ответу.

Для пролиферации клона В-лимфоцитов (или, как говорят, экспансии клона) перед тем, как начнется продуктивная антителопродукция, необходимо и достаточно двух воздействий со стороны Т-лимфоцита на В-лимфоцит: *CD40L ↔ CD40* и *IL-4 ↔ IL-4R*. *IL-4* из Т-лимфоцитов продуцируют *Th2*, поэтому именно эта субпопуляция *CD4⁺* Т-лимфоцитов отвечает в большей мере, чем другие субпопуляции Т-лимфоцитов, характеристике «классических» Т-хелперов (70-х годов) для В-лимфоцитов. *IL-5* и *IL-6*, продуцируемые теми же *Th2*-клетками, продвигают дифференцировку размножившегося клона В-лимфоцитов в направлении плазматических клеток.

Какие именно молекулы и взаимодействия и на каком точно этапе развития определяют формирование популяции

Таблица 7.11. Отличие В-лимфоцитов памяти от плазматоцитов

| Тип В-клеток | Свойства | | | | | |
|--------------------------------------|------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------------------------|
| | стабильные | | | индуцируемые | | |
| | поверхностные Ig | экспрессия молекул МНС-II | интенсивная продукция Ig | способность к пролиферации | гипермутации в CDR V-Ig | Способность к переключению изотипа Ig |
| Иммунный В-лимфоцит памяти (resting) | Да | Да | Нет | Да | Да | Да |
| Плазматическая клетка | Нет | Нет | Да | Нет | Нет | Нет |

лимфоцитов памяти, неизвестно. Известна только феноменология отличия иммунных В-лимфоцитов памяти от терминальной стадии дифференцировки иммунных В-лимфоцитов — плазмочитов по ряду признаков (табл. 7.11).

Переключение класса иммуноглобулинов в дифференцирующемся в условиях развития иммунного ответа В-лимфоците происходит под влиянием двух воздействий со стороны Т-лимфоцита: контакта мембранных молекул CD40L—CD40 и того или иного цитокина (табл. 7.12).

Таблица 7.12. Влияние **цитокинов** на переключение классов иммуноглобулинов и интенсивность их продукции (у **мышь**)

| Цитокин | Изотип Ig | | | | | | |
|---------------|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----|---------------------|-------------------|
| | M | G3 | G1 | G2a | G2b | A | E |
| IL-4 | Ингибирует | Ингибирует | <u>Индуцирует</u> | Ингибирует | — | — | <u>Индуцирует</u> |
| IL-5 | — | — | — | — | — | Усиливает продукцию | — |
| IL-6 | — | — | — | — | — | То же | — |
| IFN- γ | Ингибирует | <u>Индуцирует</u> | Ингибирует | <u>Индуцирует</u> | — | — | Ингибирует |
| TGF- β | Ингибирует | Ингибирует | — | То же | — | <u>Индуцирует</u> | — |

Примечание. « \leftrightarrow » — отсутствие влияния.

7.4. Тимуснезависимые антигены

Опыт показывает, что в организме людей и животных с большим дефицитом по Т-лимфоцитам тем не менее способны продуцироваться антитела ко многим бактериям. Дело в том, что ряд бактериальных продуктов, а именно полисахариды, полимерные белки, Л ПС могут стимулировать неиммунные В-лимфоциты к пролиферации и продукции антител без участия Т-лимфоцитов. Более того, вещества подобной химической природы и не могут быть процессированы до комплексов с молекулами МНС-I/II из-за своих химических свойств и, следовательно, не могут быть представлены «для» распознавания и распознаны Т-лимфоцитами (по крайней мере с TCR $\alpha\beta$). Такие вещества называют *тимуснезависимыми антигенами*.

Есть и тимуснезависимые Т-лимфоциты — Туб, которые были открыты относительно недавно. Из-за их «внутриканальной» локализации (в циркулирующей крови таких лимфоцитов очень мало) такие клетки гораздо труднее изучать экспе-

риментально. Туб как раз и «специализируются» на небелковых антигенах, которые эти Т-лимфоциты распознают без процессинга и представления классическими молекулами МНС. Поэтому, вероятно, термином «тимуснезависимые антигены» названы разные явления. На какую-то часть таких антигенов В-лимфоциты вырабатывают антитела во взаимодействии с $T\delta$ -лимфоцитами, если это именно *специфичные антитела*.

Однако некоторые вещества, которые называют *тимуснезависимыми антигенами 1-го класса или типа (ТН-1)*, индуцируют поликлональную активацию В-лимфоцитов и продукцию *политональных иммуноглобулинов*. Эти вещества еще называют В-клеточными митогенами. Примером такого митогена является продукт из растения фитолакки американской — PWM (pokeweed mitogen), который широко используют в лабораторных анализах.

Иммунный ответ В-лимфоцитов без участия Т-лимфоцитов характеризуется рядом свойств: антитела только класса М (нет переключения классов), нет иммунологической памяти, нет «созревания» аффинности. Но у подобного ответа есть и преимущество: он значимо развивается уже в первые 2 сут после проникновения антигена и начинает защищать организм в ранние сроки инфекции, пока тимусзависимого ответа в эффекторной форме еще нет в силе у естественной динамики.

Тимуснезависимые антигены 2-го класса или типа (ТН-2) — это полисахариды бактериальных стенок, содержащие много повторяющихся структур. ТН-2 в отличие от ТН-1 способны активировать только зрелые В-лимфоциты. В незрелых В-лимфоцитах повторяющиеся антигенные эпитопы индуцируют анергию или апоптоз. Именно по ТН-2 «специализируются» преимущественно В-1 ($CD5^+$)-лимфоциты. Вероятно, применительно именно к ТН-2-антигенам имеет место взаимодействие В-1-лимфоцитов с $T\delta$ -лимфоцитами или/и Т-лимфоцитами $TCR\alpha\beta/CD4/CD8^-$ (дважды негативными). Обе эти разновидности Т-лимфоцитов связывают (распознают) полисахаридные антигены в комплексе с МНС-I-подобной молекулой CD1. Кстати, судя по данным педиатрической практики, организм детей до 5 лет слабо отвечает на полисахаридные антигены. Это указывает на то, что несмотря на то, что В-1-лимфоциты первыми появляются в эмбриогенезе, в постнатальном периоде, становление их как дееспособной эффекторной популяции лимфоцитов происходит только к 5-летнему возрасту.

Полисахаридная капсула предохраняет имеющих ее бактерий от фагоцитоза макрофагами и нейтрофилами. Нераспознаваемы полисахаридные антигены и для «специализирующихся» по пептидам $T\alpha\beta CD4^+$ или $CD8^+$. Таким образом, найденный природой иммунный механизм «В-1/ $T\delta$ /Т- $CD4^-$

CD8⁺» жизненно важен для защиты от инкапсулированных бактерий, к которым принадлежат пиогенные бактерии, пневмококки, сальмонеллы и такой грозный возбудитель, как *Haemophilus influenzae* B.

7.5. Дихотомия (иммунное отклонение) в дифференцировке CD4⁺ Th0-лимфоцитов в процессе индукции иммунного ответа: развитие субпопуляций Th1 и Th2

В конце 80-х годов Т.Р. Mosmann и R.L. Coffman сформулировали представление о том, что среди выделенных из периферических лимфоидных тканей клеток можно идентифицировать два варианта CD4⁺ Т-лимфоцитов, различающихся в первую очередь по набору продуцируемых ими цитокинов. Авторы назвали их Т-хелперами 1-го и 2-го типов и обозначили соответственно Th1 и Th2. Это представление получило название парадигмы Th1/Th2, а биологическое явление двух вариантов дифференцировки CD4⁺ Т-лимфоцитов в процессе индукции иммунного ответа в периферических лимфоидных тканях — дихотомией дифференцировки, или иммунным отклонением (*immune deviation*) в развитии Т4-лимфоцитов. За несколько лет в мире было проведено немало исследовательских работ (подавляющее большинство в культурах *in vitro*), из которых сложилась некая совокупная характеристика Th1 и Th2 (табл. 7.13).

Таблица 7.13. Сравнительная характеристика субпопуляций Th1 и Th2 иммунных CD4⁺ Т-лимфоцитов

| Свойства | Th1 | Th2 |
|--|--|---|
| Продуцируемые цитокины | IFN- γ , TNF- α , LT, IL-2 | IL-4, 5, 6, 10 и 13; TGF- β |
| | Общие для Th1 и Th2: IL-3, GM-CSF | |
| Эффекторные молекулы клеточной мембраны | FasL, CD40L | CD40L |
| Клетки-партнеры («наемники») из лейкоцитов | 1. Макрофаги 2. NK 3. В-лимфоциты | 1. В-лимфоциты 2. Эозинофилы 3. Через антитела — фагоциты, базофилы, тучные клетки; система комплемента |
| Патофизиологические проявления дисфункционального превалирования | Иммунное воспаление по типу ГЗТ в тканях | Аллергические реакции немедленного типа |

Кратко сформулируем принятое (но не *обще*принятое) в настоящее время представление о различии между Th1 и Th2. Th1 продуцируют IFN- γ , который активирует макрофаги, а активированные макрофаги осуществляют иммунное воспаление по типу гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

В связи с этим в обзорной литературе можно встретить утверждение, что Th1 — это провоспалительные CD4⁺ Т-лимфоциты. Th2 продуцируют IL-4, 5, 6 и 10, не вырабатывают IFN- γ . Соответственно они воздействуют на антителопродукцию в В-лимфоцитах и отвечают критериям для «истинных» Т-хелперов.

На самом деле такая упрощенная картина если и соответствует фактам, то наблюдаемым в каком-то количестве экспериментов в культурах клеток *in vitro*. При экспериментировании *in vivo* на мышинных моделях и тем более при попытках интерпретировать развитие иммунных процессов *in vivo* у человека такое упрощенное представление часто противоречит фактам. *In vivo* взаимодействует множество в принципе исчерпывающе не описываемых «от» и «до» физиологических и патофизиологических факторов. Поэтому попытки «разложить» представления о патогенезе тех или иных вариантов развития иммунного воспаления *in vivo* на две «полки» — Th1- или Th2-зависимые, наталкиваются на противоречия в экспериментах с тем или иным конкретным протоколом. Например, известна хорошо разработанная модель экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ) у крыс, при котором показано участие в патогенезе Th1-лимфоцитов, иммунных к основному протеину миелину. Однако введение IFN- γ предотвращает развитие клиники ЕАЕ, а не наоборот, как можно было бы ожидать, исходя из того, что IFN- γ — продукт и стимулятор развития Th1-клеток. Более того, в эксперименте введение животным моноклональных антител к IFN- γ усиливает клинические проявления ЕАЕ. На другой модели известного как Th1-зависимое аутоиммунное заболевание — инсулинзависимый диабет у мышей линии NOD (Non-obese diabetic) также получены «противоречивые» наблюдения: нокаут гена IFN- γ не защищает от развития клинической картины диабета, хотя введение антител к IFN- γ вызывает лечебный эффект.

Тем не менее данные о различии свойств у разных Т4-лимфоцитов рассматривать как исключительно артефакты пока нет оснований. Существование Th1 и Th2 (по крайней мере в моделях *in vitro*) общепризнанно. Более того, во многих наблюдениях показана *роль определенных факторов* в детерминировании «иммунного отклонения» в сторону Th1 или Th2.

Эти факторы следующие:

- качество и доза антигена;
- экспрессия рецептора для IL-12: на будущих Th2 этого рецептора практически нет, на будущих Th1 он экспрессирован, и IL-12 является стимулятором развития Th1. Главный ген, экспрессия которого индуцируется IL-12 — ген IFN- γ . При этом внутриклеточная молекула, активатор транскрипции — STAT4. У человека (не у мышей) STAT4 активируется через рецептор для IFN- α независимо от IL-12 и IL-12R. Это объясняет известные различия в физиологических и патофизиологических условиях индукции дифференцировки Th1 у человека и мышей;
- известно, что экспрессия ряда мембранных молекул, а именно CD30, CCR3, CCR4 и CCR8, характерна для T4-лимфоцитов, которые развиваются в сторону Th2;
- известно, что экспрессия на антигенпредставляющей клетке значительных количеств молекулы ICAM-1 ингибирует развитие Th2.

Относительно роли качества и дозы антигена есть примеры, когда замена в пептиде всего одного аминокислотного остатка приводит к изменению пути дифференцировки T4-лимфоцитов на противоположный. Кроме того, есть факты, показывающие, что если конкретная молекула МНС-II связывает конкретный пептид-антиген с высокой аффинностью, т.е. сильно, то на этот пептид-антиген в этом организме будет преобладать иммунный ответ Th1-типа. Имеет значение и avidность связи распознающего антиген CD4⁺ Th0-лимфоцита с антигеном на антигенпредставляющей клетке (АПК). Она зависит и от плотности (концентрации) антигена на поверхности АПК. Если источником антигена является внутриклеточная инфекция АПК, то концентрация антигена на данной клетке имеет предпосылки быть высокой. Это способствует иммунной девиации в сторону Th1. Опыт показывает, что такой сдвиг характерен именно для *внутриклеточных* инфекций.

Если конкретная молекула МНС-II связывает конкретный пептид-антиген с низкой аффинностью, т.е. слабо, и, кроме того, низка концентрация антигена на поверхности АПК, то на этот пептид-антиген в данном организме будет превалировать иммунный ответ Th2-типа. Низкие концентрации антигенов на поверхности АПК бывают при *внеклеточных* инфекциях, а также при попадании в организм неинфекционных антигенов, например таких, которые вызывают аллергические реакции (аллергенов).

В настоящее время полагают, что *программирование дифференцировки* Th1 или Th2 происходит следующим образом.

Если TCR Th0 связывает антиген с низкими аффинностью и плотностью на АПК — дендритной клетке и В-лим-

фоците, — то в таком CD4⁺-лимфоците подавляется экспрессия β_2 -субъединицы рецептора для IL-12 (следовательно, такой лимфоцит не будет воспринимать сигнал от IL-12) и, наоборот, экспрессируется молекула OX40. На активированных через CD40 В-лимфоцитах и дендритных клетках экспрессируется мембранная молекула OX40L (OX40-лиганд). Взаимодействие CD4⁺ Т-лимфоцита с активированным В-лимфоцитом и активированной дендритной клеткой через OX—OX40L индуцирует экспрессию в этом Т-лимфоците интерлейкина-4, и такой Т-лимфоцит становится Th2. Кроме того, взаимодействие OX4—OX40L индуцирует экспрессию на Т-лимфоците рецептора для хемокина blr-1, который обеспечивает миграцию Th2 в зону В-клеточного фолликула (герминативного центра), где анатомически локализуются все дальнейшие взаимодействия между Т- и В-лимфоцитами.

На активированных Th2-клетках в отличие от Th1 экспрессируется мембранная молекула CD30. Лиганд для CD30 (CD30L) конститутивно экспрессирован на В-лимфоцитах, эозинофилах, эпителии мозговой зоны тимуса и клетках — предшественниках миелопоэза. Взаимодействие CD30—CD30L усиливает функционирование Th2, а затем индуцирует апоптоз этих лимфоцитов.

Реакция лимфоцитов на антиген требует времени: 4—7 дней от момента проникновения антигена сквозь барьерные ткани. В случае первичного иммунного ответа в течение этого времени в очаге проникновения антигена развивается доиммунное воспаление, в случае вторичного иммунного ответа — иммунное воспаление с участием Т-лимфоцитов памяти. В любом случае какие-то клетки вырабатывают какие-то цитокины в очаге воспаления. Так вот, определенные цитокины обеспечивают иммунное отклонение в сторону Th2 и определенные — в сторону Th1. В сторону Th2—IL-4 и 13, поддерживает функционирование Th2 и IL-6. IL-4 и 13, кроме самих Th2, продуцируют тучные клетки и особые субпопуляции Т-лимфоцитов — CD4⁺ NK1.1⁺ и CD4⁺/CD8⁻ (дважды негативные). В литературе можно встретить обозначение клеток CD4⁺ NK1.1⁺ как НК-Т. Известно, что такие лимфоциты распознают бактериальные липополисахаридные антигены в комплексе с молекулами CD1. Считают, что именно эти Т-лимфоциты являются ранним и достаточным по «силе» источником IL-4, способствующим иммуногенезу Th2. Существуют линии мышей с генетическим дефектом, выражающимся в отсутствии НК-Т-клеток — это линии NOD и SJL. Для мышей этих линий характерны наследственные аутоиммунные процессы с Th1-опосредованным патогенезом.

Про НК-Т-лимфоциты известно немного. Они имеют TCR $\alpha\beta$, но с инвариантной α -цепью (конкретно V α 14). Лимфоциты НК-Т не взаимодействуют с молекулами MHC-II, но

взаимодействуют с молекулой CD1. Молекула CD1 неполи-морфна, но у человека есть 5 генов и соответственно 5 бел-ков CD1 (a—e). CD1 экспрессирована на тимоцитах, антиген-представляющих клетках и энтероцитах. Известно, что моле-кула CD1b представляет миколевую кислоту (бактериальный липид) Т-лимфоцитам с рецептором TCR $\alpha\beta$. Другие вариан-ты молекул CD1 распознают TFN- $\gamma\delta$, вероятно, и NK-Т-лимфоциты. Показано только, что NK-Т-лимфоциты активи-руются в ранние сроки после проникновения антигена в орга-низм и продуцируют большие количества IL-4, отклоняюще-го в дальнейшем дифференцировку классических CD4⁺ T $\alpha\beta$ в сторону Th2.

Дифференцировку T $\gamma\delta$ поддерживает IL-12. IL-12 продуци-руют макрофаги и нейтрофилы на стадии доиммунного вос-паления. IFN- γ рассматривают как кофактор, способствующий развитию Th1 (возможно, за счет стимуляции макрофагов, которые в свою очередь продуцируют больше IL-12). IFN- γ на ранних стадиях развития защитных реакций организма проду-цируют NK-клетки. Затем накопившиеся до значимого коли-чества T $\gamma\delta$ поддерживают себя в аутокринном режиме через IFN- γ . Дифференцировку и активность T $\gamma\delta$ ингибирует цито-кин, синтезируемый Th2, — IL-10 (возможно, не прямо, а через ингибицию активности макрофагов и соответственно из-за недостатка IL-12).

Функциональные нагрузки T $\gamma\delta$ T4-лимфоцитов — это поддер-жка гуморального иммунитета, а также эффекторных функ-ций эозинофилов (эозинофильное иммунное воспаление). Th2 в первую очередь взаимодействуют с В-лимфоцитами. Th2 определяют возможность пролиферации антигенспецифичных клонов В-лимфоцитов (IL-4); дифференцировки В-лимфоци-та, связавшего через BCR свой антиген, в антителопродуцент (CD40L; IL-6); переключение синтеза класса иммуноглобули-нов с исходного M на G4 (IL-4), E (IL-4), A (TGF- β), G2 (TGF- β). Соответственно через антитела перечисленных изо-типов Th2 дают возможность реализоваться всем антителоза-висимым эффекторным реакциям, описанным выше (нейтра-лизация токсинов и снижение инфекционности микроорга-низмов, комплементзависимый клиренс от комплексов анти-ген—антитело, антителозависимая клеточная цитотоксичность NK и эозинофилов, реакции, опосредованные медиаторами базофилов и тучных клеток). Кроме того, IL-5, продуцируемый Th2, непосредственно стимулирует дифференцировку эозино-филов и активирует их. Кстати, в некоторых случаях отторже-ние чужеродного трансплантата (классический пример клеточ-ного иммунитета) осуществляется в первую очередь именно эозинофилами, активированными IL-5-продуктом Th2.

Функциональные нагрузки T $\gamma\delta$ T4-лимфоцитов — это пре-имущественно поддержка антителонезависимого иммунного

воспаления. Их главный клеточный партнер-исполнитель — макрофаги. Th1 тоже взаимодействуют с В-лимфоцитами, но в меньшем объеме. IL-2, вырабатываемый Th1, является митогеном для всех лимфоцитов, в том числе и для В-клеток. IFN- γ переключает синтез иммуноглобулинов в В-лимфоците с исходного класса M на G2 и G3, которые являются эффективными опсонинами, т.е. комплексы антигенов с этими антителами эффективно фагоцитируют нейтрофилы и макрофаги (так как экспрессируют соответствующие Fc γ R).

Деление T-хелперов на «истинные» и «провоспалительные» и отнесение к первым Th2, а ко вторым Th1 в общем виде неправомерно. В каждом конкретном иммунном ответе in vivo развиваются свой конкретный «расклад сил» и свои соотношения «гуморальных» и «клеточных» процессов.

7.6. Супрессия иммунного ответа

Супрессия иммунного ответа в норме развивается как процесс по мере элиминации причинного антигена из организма. Конкретные механизмы супрессии включают несколько компонентов.

- ▲ Элиминация антигена означает устранение исходного причинного фактора активации лимфоцитов через TCR и BCR: новые неиммунные лимфоциты становятся «нечем» активировать.
- ▲ Терминально дифференцированные лимфоциты имеют ограниченное время жизни и погибают по механизму апоптоза, «отработав» свою программу. Плазматические клетки из В-лимфоцитов живут от 3 дней до нескольких недель и не больше. CD8⁺ ЦТЛ и CD4⁺ Th1/Th2, будучи вполне дифференцированными и отработав свою эффекторную программу, погибают тоже по механизму апоптоза. В «продвинуто» дифференцированных лимфоцитах снижается экспрессия антиапоптозных генов, защищающих лимфоцит от апоптоза на время иммуногенеза, и в высокой концентрации экспрессируются рецепторы, связанные внутри клетки с «генами смерти», т.е. с биохимической машиной апоптоза, а именно: молекула Fas (CD95), рецепторы для глюкокортикоидных гормонов, рецепторы для TNF- α . Следовательно, глюкокортикоидные гормоны, TNF- α и FasL в определенное время от начала развития иммунного ответа становятся факторами физиологической иммуносупрессии.

- ▲ Одновременно активированные лимфоциты неантиген-специфичных клонов быстро погибают по механизму апоптоза. Это феномен AICD — феномен индуцированной активацией клеточной смерти.
- ▲ Известно несколько конкретных механизмов *торможения* активности лимфоцитов через определенное время от начала иммунного ответа по принципу *обратной связи*. Например, активированные и додифференцированные CD4⁺ Т-лимфоциты начинают продуцировать в больших количествах цитокин TGF-β1, который является сильным ингибитором пролиферации Т- и В-лимфоцитов, а также подавляет активность макрофагов. Соответственно на активно пролиферирующих лимфоцитах и активированных макрофагах экспрессировано достаточное количество рецепторов для TGF-β. На этой стадии своего развития CD4⁺ Т-лимфоциты (в некоторых публикациях их обозначают Th3) выполняют функциональную роль лимфоцитов-*супрессоров*.
- ▲ IL-4 и IL-13, продуцируемые тучными клетками, CD4⁻/CD8⁻ Т-лимфоцитами, а также дифференцированными Th2, ингибируют дифференцировку Th1 из Th0.
- ▲ IFN-γ — продукт дифференцированных Th1 — ингибирует дифференцировку Th2 из Th0.
- ▲ Антитела класса G, достигнув определенных концентраций в жидких средах организма, через специальный ингибирующий рецептор FcγRIIB, экспрессированный на дифференцированных В-лимфоцитах, подавляют биосинтез иммуноглобулинов в данном лимфоците и его прогрессию в плазмочит. Для реализации ингибирующего эффекта необходимо, чтобы произошла коагрегация рецептора FcγRIIB с BCR, которую могут осуществить либо антиген, либо антиидиотипические антитела (последнее более реально на поздних этапах иммунного ответа). В клинической практике это явление используют для профилактики резус-конфликта: если резусотрицательной женщине ввести антирезус-антитела до того, как эритроциты плода успеют попасть в кровь матери, то иммунный ответ матери на резус-антиген будет подавлен.
- ▲ На В-лимфоцитах есть еще один ингибирующий рецептор — CD22. Это димерная молекула с α-цепью (мол. масса 130 000) и β-цепью (мол. масса 120 000), экспрессирующаяся только на зрелых В-лимфоцитах. В эксперименте ингибирующий сигнал с этого рецептора получают гомотопной агрегацией его антителами анти-CD22. Естественный лиганд неизвестен.
- ▲ На Т-лимфоцитах ингибирующими рецепторами являются *CTLA-4* (лиганды В7.1 и В7.2) и на некоторых

ЦТЛ — *KIR*-рецепторы (killer-inhibiting receptors) (лиганды — молекулы МНС-I). На некоторых Т-лимфоцитах выявляют *FcyRIIB*, несущий, как известно, в цитоплазматическом участке *PII*-последовательности (ингибиторные).

- ▲ В нужное время созревают и в определенных местах в организме функционируют особые Т-лимфоциты-киллеры с признаками НК, на которых экспрессировано много Fas-лиганда. Связывая рецептор Fas на активированных Т-лимфоцитах, эти «аутокиллеры» индуцируют апоптоз активированных Т-лимфоцитов. Таких аутокиллеров много в печени. Вероятно, их природная роль — ликвидировать приносимые кровью воротной вены лимфоциты, активированные в тканях кишки пищевыми антигенами. При экспериментальном анастомозе между *v.porta* и *v.cava inferior* у животного невозможно индуцировать так называемую *оральную толерантность*, которая в норме — закономерное явление. У пациентов с портокавальным шунтом в крови появляются антитела (которых в норме не бывает) к кишечным бактериям-симбионтам.

Печень вообще в определенном отношении *иммуносупрессорный* орган. В печени локализована большая часть всех НК организма, причем преобладает одна из двух больших субпопуляций НК, а именно $CD56^{много} CD16^{-}$, тогда как в крови и красной пульпе селезенки преобладают НК с фенотипом $CD56^{мало} CD16^{+}$. На НК печени экспрессировано много Fas-лиганда. На клетках эндотелия синусоидов печени экспрессировано много особого лектина, называемого *galectin-1*, который, возможно, также является индуктором апоптоза активированных лимфоцитов.

Иммуносупрессорные эффекты, производимые Т-лимфоцитами-киллерами и *модельно* проявляющиеся в определенных экспериментальных системах, в начале 70-х годов послужили предпосылкой для введения понятия «Т-супрессоры» для обозначения отдельной функционально обособленной субпопуляции Т-лимфоцитов. Их «паспортной» характеристикой считали мембранную молекулу $CD8^{+}$. Как таковое это понятие в настоящее время претерпело изменения. $CD8^{+}$ Т-лимфоциты по функции относят к ЦТЛ. Но свойства любого лимфоцита — не статичное понятие: любой лимфоцит непрерывно развивается в соответствии с окружающими условиями. Так вот, по крайней мере два типа лимфоцитов в условиях внешней стимуляции системы начинают в какой-то момент времени в больших количествах продуцировать цитокины, ингибирующие пролиферацию или функциональную активность других клеток, участвующих в иммунном ответе. В таком со-

стоянии их можно называть Т-супрессорами. Один тип таких лимфоцитов CD4⁺, продуцирующий много TGF-β1. Иногда их называют Th3. Второй тип «супрессоров», которые иногда называют Т-регуляторами 1-го типа (Tr1), это Т-лимфоциты (вероятно, субпопуляция CD8⁺), развивающиеся в присутствии IL-10, отличаются тем, что продуцируют большие количества того же IL-10. Последний значительно снижает активность макрофагов, в том числе продукцию макрофагами IL-12, без которого тормозится развитие CD4⁺ Th1 и, следовательно, развивается супрессия иммунного ответа Th1-типа.

Th1-лимфоциты могут убивать В-лимфоциты, активированные на *той же антиген* через взаимодействие FasL — Fas (и тогда такие CD4⁺ Th1 можно назвать Т-супрессорами).

Кроме того, можно считать «профессиональными супрессорами» местные органнне субпопуляции NK и NK-подобных Т-лимфоцитов в печени и децидуальной оболочке плода в беременной матке.

Супрессия активности лейкоцитов — исполнителей деструктивной фазы иммунного ответа достигается теми же двумя путями, что и в случае лимфоцитов: апоптозом по мере «изношенности» и ингибцией активности с определенных рецепторов определенными лигандами. Самые короткоживущие лейкоциты — это нейтрофилы. Они погибают апоптозом через 4—12 ч после выхода из костного мозга в циркуляцию. В очагах воспаления в тканях нейтрофилы погибают еще быстрее. Другие лейкоциты живут дольше, особенно тканевые макрофаги. Поэтому есть биологические механизмы ингибции активности, по крайней мере макрофагов и тучных клеток. Но после активной деструктивной работы погибают и они, а их места занимают свежие одноименные клетки, пришедшие из костного мозга через кровь: в случае макрофагов — это моноциты, в случае тучных клеток — предшественники тучных клеток. Эозинофилы и базофилы развиваются из общей клетки-предшественницы. В норме в крови их мало: эозинофилов около 3 % от общего числа лейкоцитов крови (т.е. около 200 в 1 мкл с разбросом от 0 до 500), базофилов еще меньше — 0,5 % (т.е. около 40 в 1 мкл с разбросом от 0 до 150). Лейкопоэз этих клеток в костном мозге индуцируют цитокины активированных Т-лимфоцитов, а также эозинофилов и тучных клеток в соответствии с текущими запросами организма. Факторы пролиферации клеток — предшественников эозинофилов и базофилов — IL-3 и GM-CSF. Специфическим фактором дифференцировки клеток-предшественников в сторону эозинофилов является IL-5. Дифференцировка клеток-предшественников в сторону базофилов поддерживается, вероятно, цитокином TGF-β в присутствии IL-3. После активации эозинофилов и базофилов адекватными для них стимулами наступает их дегрануляция, при которой их специаль-

ные биологически активные вещества выбрасываются из клетки в окружающую среду, а сами лейкоциты погибают.

Известны следующие *факторы и механизмы ингибции активности лейкоцитов*.

1) IL-10, продуцируемый дифференцированными Th2, ингибирует активность макрофагов.

2) IL-4/STAT6 индуцирует в макрофагах биосинтез антагониста рецептора для IL-1.

3) На тучных клетках выявлено по крайней мере 3 ингибирующих рецептора. Один gp49b1, лиганд неизвестен (возможно МНС-1-подобные молекулы). Второй — уже известный по В-лимфоцитам FcγRIIb, лигандом для которого являются иммунные комплексы антигена с IgG. Третий — MAFA (mast cell-associated function antigen). Лиганд для MAFA неизвестен, но известно, что этот рецептор конститутивно ассоциирован в мембране клетки с FcεRI — высокоаффинным рецептором для IgE.

Вообще в настоящее время описано не менее 15 мембранных молекул, которые выполняют функциональную роль негативных корецепторов. Их объединили в семейство молекул SIRP — signal-regulatory proteins. По структуре их относят к суперсемейству иммуноглобулинов. У всех этих молекул в цитоплазматическом участке содержится 4 модуля ITIM (напомним, что это immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif). Эти негативные корецепторы сопутствуют всем рецепторам для факторов роста, а также обнаружены при рецепторах для гормонов (например, инсулина), взаимодействующих внутри клетки с тирозинкиназами.

7.7. Иммунологическая толерантность

Феномен иммунологической толерантности был открыт в 50-е годы П.Медавара. В эксперименте он ввел новорожденным мышам клетки аллогенного костного мозга. Если наступало приживание трансплантата, а оно наступало в большинстве случаев, то мыши-реципиенты становились полностью *толерантными* к трансплантату кожи (т.е. не отторгали его) от мышей — доноров костного мозга. Это соответствовало гипотезе Ф.Бернета о том, что в процессе дифференцировки Т-лимфоцитов элиминируются аутореактивные клоны. В 1960 г. оба исследователя получили Нобелевскую премию. Толерантность, наблюдаемая П.Медавара, существовала, пока донорский костный мозг персистировал в организме реципиента. Если со временем он отторгался, то исчезала и толерантность к одноименным кожным трансплантатам.

Молекулярные механизмы толерантности оставались загадкой все прошедшее с тех пор время, по сути и до сих пор.

Как мы сейчас понимаем, явление иммунологической толерантности представляет собой отсутствие активации лимфоцитов (и соответственно продукции ими эффекторных молекул) при наличии в доступном им пространстве специфического антигена.

Значительную часть фактического материала по этому вопросу мы уже разбирали в разделах, посвященных дифференцировке и активации лимфоцитов. Теперь же мы систематизируем понятия, которые, как показывает опыт, воспринимаются не всегда легко. Хотя бы потому, что есть по крайней мере два уровня, применительно к которым используют один и тот же термин «иммунологическая толерантность». Один уровень организменный, второй клеточный (наше определение в начале раздела относится к клеточному уровню). Под *иммунологической толерантностью организма* в литературе часто понимают отсутствие иммунного ответа организма на определенный(ые) антиген(ы). Но в таких случаях, чтобы не путать одно с другим, требуется весьма много оговорок и пояснений. Например, отсутствие иммунного ответа на антигены малярийного плазмодия у людей, не имеющих в своем геноме *определенного* аллеля *определенного* гена МНС (а именно HLA-B53), имеет следствием *отсутствие* иммунного ответа на малярийный плазмодий. Но это не иммунологическая толерантность, потому что лимфоцитам таких людей даже и не предоставляется возможность попробовать распознать антигены малярийного плазмодия, поскольку не образуются комплексы *антиген—МНС*, факт распознавания антигена вообще отсутствует. Хотя специфичность отсутствия иммунного ответа по антигену в данном случае есть, но *за пределами иммунной системы*. Поэтому об *иммунологической* толерантности говорить нелогично. По нашему мнению, иммунологическую толерантность правильнее определять на уровне состояния *лимфоцита*, от которого перейти на уровень организма уже проще.

В природе толерантность лимфоцитов (как отсутствие ответа на доступный антиген) нужна только по отношению к веществам, т.е. антигенам собственных тканей организма. Как описано в других разделах, отсутствие ответа лимфоцита на антиген достигается одним из двух механизмов:

- *делецией* клона — апоптозом лимфоцитов, связавших антиген TCR/BCR;
- *анергией* клона — отсутствием активации лимфоцитов, связавших антиген TCR/BCR. Анергия в свою очередь, вероятно, имеет несколько разных механизмов реализации.

Делецию клона представляют себе следующим образом. TCR/BCR связал антиген, но от этого связывания в клетку пошел сигнал на апоптоз, а не на индукцию продуктивного синтеза эффекторных молекул. В результате антигенспецифичный лимфоцит погиб. Это и называют термином «делеция клона». По такому механизму элиминируются аутореактивные В-лимфоциты на «недозрелых» стадиях лимфопоэза, поскольку на этих стадиях они наверняка не получают всех необходимых костимулирующих сигналов. По такому же механизму элиминируются некоторые аутореактивные клоны тимоцитов (что называют негативной селекцией). Делецию аутореактивных клонов на стадии *лимфопоэза* принято называть установлением *центральной толерантности*.

Но вспомним Т-лимфопоэз в тимусе и позитивную селекцию. В настоящее время наиболее авторитетные теоретики и экспериментаторы в иммунологии склоняются к представлению, что во время Т-лимфопоэза как раз осуществляется строгий отбор на выживание только тех лимфоцитов, рецепторы которых правильно связывают комплексы «своих молекул МНС со своими пептидами». И более того, в течение всей жизни в периферических тканях тем же распознаванием *того же своего* поддерживаются жизнеспособность и необходимая экспансия клонов Т-лимфоцитов. Опыты с трансгенными и knock-out-мышами показывают, что если прошедшие позитивную селекцию в тимусе зрелые Т-лимфоциты перенести в периферические ткани организма, лишенного тех «пептидов-МНС», на которых Т-лимфоциты прошли селекцию, то Т-лимфоциты в такой «периферии», по остальным признакам вполне сингенной, долго не живут и быстро погибают.

Таким образом, не всякая пролиферация лимфоцита обязательно сопряжена с активацией в нем синтезов эффекторных молекул. Долгосрочное выживание лимфоцитов в периферических тканях обеспечивается «тихой» базальной пролиферацией без продуктивной активации. Продуктивная же активация лимфоцита развивается если, кроме комплексов «свои пептиды — МНС», он связал может быть не более 1 % от общего количества лигандов для TCR (остальные 99 % — «свои») комплексы «чужих пептидов со своими МНС».

Как мы уже разбирали, факта связывания TCR/BCR с антигеном вообще недостаточно для продуктивной активации лимфоцита. Для продуктивной активации необходима *костимуляция от корецепторных* молекул. Костимулирующие же молекулы экспрессируются, во-первых, не на всех клетках, а только на профессиональных антигенпредставляющих, а во-вторых, и на профессиональных антигенпредставляющих клетках сверхпороговый уровень экспрессии костимулирующих молекул достигается только в условиях их внешней *стимуляции*. Наиболее очевидным фактором такой внешней стимуля-

ции антигенпредставляющих клеток является доиммунное воспаление покровных тканей, поврежденных внедрившимся внешним патогеном (в естественных условиях — инфекционным). Таким образом, если организм *чист изнутри*, ни травма, ни инфекция не инициируют доиммунного воспаления, то *иммунологическая толерантность* лимфоцитов к своим тканям — единственно возможное состояние лимфоцитов.

Есть еще одно явление, от которого следует дифференцировать иммунологическую толерантность или ее *отсутствие*. Это *иммуносупрессия* как супрессия уже состоявшегося иммунного ответа (см. соответствующий раздел). При *толерантности* продуктивная активация антигенспецифичного клона лимфоцитов и *не начинается*. При супрессии продуктивная активация клона начинается, реализуется, затем *подавляется*. Механизмы супрессии *по названию* те же, что и механизмы толерантности — делеция клона апоптозом или ингибция внутриклеточного метаболизма сигналами с тормозных рецепторов (имеющих ITIM), но происходят эти два процесса (толерантность и супрессия) совсем на разных этапах лимфопоэза и иммуногенеза лимфоцитов, следовательно, по крайней мере они нетождественны. Это трудно запомнить, но нужно иметь в виду при попытках трактования патогенеза аутоиммунных заболеваний и заболеваний, которые называют аутоиммунными, хотя они таковыми не являются, а лишь содержат в своем патогенезе компонент хронического иммунного воспаления, протекающего с альтерацией тканей. В главе 13, посвященной аутоиммунным болезням, мы рассмотрим возможные причины инициации лимфоцитами иммунного воспаления, направленного на разрушение антигенов собственных тканей.

7.8. Отторжение трансплантата

Трансплантацией называют пересадку тканей или органов, хирургически изъятых из одного организма (донора), во внутреннюю среду другого организма (реципиента). Если трансплантацию делают между организмами одного вида, то ее называют *аллотрансплантацией*, а антигены тканей — *аллоантигенами*, реакцию иммунной системы — соответственно *ответом на аллоантигены*.

Трансплантации тканей — ятрогенное действие, не имеющее естественных аналогов в природе. Тем не менее в медицинских целях трансплантацию производят не так уж редко. Например, в США в 1992 г. было сделано почти 10 000 пересадок почек (80 % не отторглись в течение 5 лет), 3000 пересадок печени (40 % не отторглись в течение 5 лет), 2000 пересадок сердца (70 % не отторглись в течение 5 лет), 500 пересадок легкого (30 % не отторглись в течение 5 лет), много

(но неучтенных) пересадок костного мозга (из тех, что учтены, 80 % не отторглись в течение 5 лет). Но эти цифры не следует воспринимать как большой успех в победе над природой. Трансплантации производят по витальным показаниям, когда другого способа продлить жизнь человеку нет. Чуть ниже, когда мы поясним то, что известно о механизмах отторжения, станет понятным признание трансплантологов и иммунологов в том, что приживление трансплантированных органов в большей степени зависит от эффективности медикаментозной иммунодепрессии (со всеми побочными эффектами).

Отторжение трансплантата с клинической точки зрения бывает:

- 1) сверхострое — на операционном столе;
- 2) острое — в течение первых месяцев после пересадки;
- 3) отсроченное — через несколько лет после пересадки.

Сверхострое отторжение происходит во время или вскоре после операции. При этом развивается окклюзия кровеносных сосудов, связывающих трансплантат с телом. Это случается, если организм реципиента уже был иммунизирован антигенами донора или антигенами, перекрестно реагирующими с антигенами донора, и у реципиента в крови есть достаточное количество антител к тканевым антигенам стенок сосудов или клеток крови донора. Эти антитела немедленно «сажаются» на стенки сосудов трансплантата, активируют комплемент и систему коагуляции крови, что влечет за собой быстрый тромбоз сосудов и отключение органа.

Острое отторжение — это нормальный первичный иммунный ответ на трансплантат при отсутствии медикаментозной иммуносупрессии. В деструкцию трансплантата могут быть вовлечены все известные эффекторные механизмы иммунного воспаления — антителозависимые (АЗКЦТ, активация комплемента иммунными комплексами и др.) и антителонезависимые ($CD8^+$ ЦТЛ; Th1 \rightarrow макрофаги/ГЗТ; Th2 \rightarrow IL-5 \rightarrow эозинофилы).

Отсроченное отторжение по механизмам аналогично острому, но только в результате эффективной иммуносупрессии индукция иммунного ответа откладывается на несколько лет.

Но вот, что такое *нормальный* ответ в неестественной системе? Описание феноменологии отторжения трансплантатов лет на 100, а может быть и не одну тысячу, опередило хоть какое-то теоретическое понимание механизмов. Отторжение трансплантата зависит как от ведущих от реакций $T\alpha\beta$ -лимфоцитов, поскольку у бестимусных мышей nude аллогенные трансплантаты не отторгаются. Антитела играют *роль в отторжении* только, если ответ на трансплантат уже не первичный (вышеописанное сверхострое отторжение). Однако как понять этот факт, если $T\alpha\beta$ -позитивной селекцией в тимусе отобра-

ны для распознавания любого антигена только в комплексе со *своими* молекулами МНС, а на трансплантате экспрессированы *чужие* МНС. Следовательно, естественно было бы, если бы $T\alpha\beta$ реципиента *не замечали* присутствие трансплантата. Так и есть: 90—99 % Т-лимфоцитов реципиента *не замечают* присутствия трансплантата. Но 1—10 % Т-лимфоцитов *ошибаются* и принимают чужие молекулы МНС за свои (то, что называют перекрестной реактивностью) и активируются на продуктивный иммунный ответ. Именно поэтому эти молекулы клеточных мембран были открыты как *главные*, из-за которых происходит отторжение трансплантата. Если применительно к другим иммунным ответам собственно *антигеном* считают *пептид* (ибо их неограниченно много), а МНС — облигатным объектом распознавания, но всего лишь «рамкой» (ибо их максимум 12 вариантов у каждого организма), то при отторжении трансплантата активация лимфоцита *инициируется* именно связыванием с «рамкой» и уж заодно с пептидом. Молекулы МНС потому *главные* при отторжении, что на них Т-лимфоциты реагируют, как на суперантигены, *поликлонально*: 1—10 % от общего числа — это много по сравнению с *нормальной* частотой антигенспецифичных $T\alpha\beta$ — 10^{-6} .

Методы подбора доноров и реципиентов по похожести их МНС либо несовершенны (если это серотипирование), либо более совершенные по качеству методы генотипирования показывают крайне низкую вероятность совпадения по МНС между неродственниками.

Но даже если на моделях на мышах используют в качестве донора и реципиента особей из линий, несингенных, но *тождественных по МНС*, то трансплантат всегда отторгается. Потому, что есть еще и так называемые *минорные антигены гистосовместимости*. Что это такое? Подробные экспериментальные исследования показали, что на минорные антигены реагируют исключительно $CD8^+$ Т-лимфоциты, следовательно, минорные антигены — это *пептиды*, связанные с молекулами МНС-I, т.е. реакции $CD8^+$ Т-лимфоцитов на минорные антигены вполне *аналогичны* реакциям на вирусные инфекции. Теперь вспомним, откуда берутся пептиды, которые попадают в комплексы с молекулами МНС-I. Они берутся из цитозоля клетки как продукты катаболизма в протеосомах самых разных клеточных белков. Следовательно, минорные антигены гистосовместимости — это практически любые белки организма. Типирование по всем белкам организмов донора и реципиента провести нельзя. Следовательно, в конкретных ситуациях при самом тщательном подборе донора и реципиента по МНС может встретиться такой минорный(ые) антиген(ы), на который разовьется сильный иммунный ответ. Так оно в клинической практике и бывает. Поэтому клинический результат трансплантации реально определяется в

большей степени медикаментозной иммунодепрессией, чем подбором донора и реципиента по генам/антигенам гистосовместимости.

Особым случаем является пересадка костного мозга или органов и тканей, содержащих много профессиональных антигенпредставляющих клеток. Как мы уже говорили в разделе о толерантности, чтобы произошла продуктивная активация Т-лимфоцита, он должен, кроме антигена (лиганда для TCR), связать все необходимые и достаточные костимуляторные молекулы, которые есть только на профессиональных антигенпредставляющих клетках. *В случаях пересадок кроветворных тканей отторжение МНС-совместимого трансплантата может произойти быстрее, чем МНС-несовместимого, потому что Т-лимфоциты реципиента будут эффективнее работать с антигенпредставляющими клетками донорского происхождения (как с «родными» по МНС).*

Опыты на конгенных мышах позволили сделать весьма значимое наблюдение. Если трансплантат совпадает с реципиентом по МНС, но не совпадает по минорным антигенам гистосовместимости и из такого трансплантата *удалить* антигенпредставляющие клетки, то такой трансплантат отторгнется гораздо *быстрее*, чем в аналогичных условиях другой трансплантат, который не совпадает с реципиентом по МНС, но совпадает по минорным антигенам. Это говорит о том, что в организме реципиента вокруг трансплантата идут такие процессы, при которых антигенпредставляющие клетки *реципиента* подхватывают белки из трансплантата, причем более эффективно растворимые белки, чем мембранные (как МНС), и запускают на них иммунный ответ реципиента. Когда антигенпредставляющие клетки *донорские*, то большинство Т-лимфоцитов реципиента «не видят» антигенов из-за несовпадения донора и реципиента по МНС.

Тем не менее в случае солидных тканевых трансплантатов иммунный ответ Т-лимфоцитов реципиента инициируют антигенпредставляющие клетки донора: они покидают трансплантат, мигрируют в регионарные лимфатические узлы, где и инициируют иммунный ответ. В экспериментах, если трансплантат помещают в место, *лишенное лимфатического дренажа* (иммунологически привилегированные места), то иммунного ответа на трансплантат *нет*.

Иммунологически привилегированные места в организме. В интактном организме есть такие анатомические места, что если в них хирургически аккуратно вживляется донорский трансплантат, то реакции отторжения при определенных условиях не развиваются. Эти места называли *иммунологически привилегированными*. У человека такими местами являются мозг, передняя камера глаза, матка (плод), тестикулы. Первоначальное предположение о том, что антигены этих тканей

не покидают своих мест и недоступны для распознавания Т-лимфоцитами, не подтвердилось: антигены тканей из привилегированных мест покидают их, но действительно не совсем так, как из всех остальных мест в организме: во-первых, минуя классический лимфатический дренаж; во-вторых, есть особенность барьеров (причем, вероятно, со стороны не соединительнотканых структур, а функциональной паренхимы), отграничивающих иммунологически привилегированные места, состоящая в том, что их клетки продуцируют иммуносупрессорные цитокины, а именно $TGF-\beta$, и/или экспрессируют много Fas-лиганда, убивающего приблизившийся лимфоцит.

С клинической точки зрения существенно, что именно ткани из иммунологически привилегированных мест статистически чаще прочих становятся объектом аутоиммунного повреждения, например, демиелинизирующие заболевания мозга, включая рассеянный склероз, или симпатическая офтальмия. Что касается рассеянного склероза, при котором антигеном для аутоиммунной атаки является основной протеин миелина (МБР — myelin basic protein), то определенную информацию о его патогенезе позволили получить опыты на мышцах, трансгенных по TCR, который специфичен к МБР. В организме таких мышей все Т-лимфоциты специфичны к МБР, присутствуют в нормальных количествах, но мышцы в «спокойном» состоянии не болеют. Однако если таких мышей проиммунизировать искусственно МБР с адьювантом, то у них быстро разовьется полная клиническая картина энцефаломиелита (модель рассеянного склероза на грызунах). Это говорит о том, что к антигенам из привилегированных мест (в данном случае мозга) не устанавливается иммунологическая толерантность ни по механизму делеции клона, ни по механизму анергии лимфоцитов. Поскольку основным выводом из этих экспериментов состоит в том, что если неиммунные лимфоциты в норме не активируются к иммунному ответу на антигены из привилегированных мест, то иммунные лимфоциты легко проникают в эти места и реализуют эффекторный иммунный ответ с альтерацией тканей.

Столь же показательна симпатическая офтальмия (sympathetic ophthalmia). Это редкое аутоиммунное заболевание глаз: если травмируется один глаз, то в результате может произойти иммунизация лимфоцитов против тканей глаза. Если это происходит, то от аутоиммунной атаки страдает не только ранее травмированный глаз, но и оба глаза одинаково.

Наиболее защищенным от иммунной атаки семи-аллогенным «трансплантатом» является плод в матке беременной женщины. Хотя по иммунологии беременности выполнено много работ, цельного представления об этом нет. Особого «интеллектуального» беспокойства эта проблема не вызывает

потому, что в отличие от антропогенных трансплантаций беременность — природное явление и, следовательно, тут заведомо все «устроено» *правильно*. Беременность совсем не аналогична искусственным пересадкам органов: органы помещают непосредственно во внутреннюю среду организма, а плод отделен от матери *плацентой*, обладающей уникальными свойствами: на синцитиотрофобласте не экспрессированы классические молекулы МНС; экспрессированы неполиморфные неклассические молекулы МНС, которые, возможно, необходимы для «удержания» в правильном режиме работы большого числа НК матери. Клетки плаценты продуцируют несколько высокоактивных иммуносупрессорных цитокинов (TGF- β , IL-10, IL-4). Если в эксперименте беременной самке вводить IFN- γ и IL-12 (индукторы дифференцировки ТЫ), то наступает резорбция плода. Кроме того, и в организме беременной женщины наступают существенные физиологические сдвиги. Например, в опытах на мышах можно наблюдать, что во время беременности самка *не отторгает* кожный лоскут отца своих эмбрионов, но после родов отторгнет его обязательно.

7.9. Иммунная система и опухоли

В 60-х годах Ф.Бернет выдвинул гипотезу *об иммунологическом надзоре* (immune surveillance) применительно к опухолям. Эта теоретически привлекательная гипотеза, однако, за прошедшие годы не нашла твердой фактической опоры ни в клинике, ни в эксперименте. Злокачественные опухоли — весьма распространенные заболевания (на 3-м месте после инфекций и сердечно-сосудистых заболеваний среди причин досрочной смерти человека). Поэтому существует огромный практический материал, показывающий, что иммунологический контроль имеет отношение к опухолям далеко не всегда. У мышей-мутантов, у которых нет лимфоцитов (т.е. совсем нет иммунной системы) частота возникновения опухолей практически такая же, как у мышей с иммунной системой. Аналогично происходит и у людей с врожденными иммунодефицитами. Если у них и встречаются какие-либо опухоли чаще, чем в среднем по популяции, то это вирусиндуцированные опухоли, т.е. по сути инфекции трансформирующими вирусами. Инфекции — действительно основной природный предмет иммунологического надзора. Пример такого заболевания с синдромом иммунодефицита как атаксия-телеангиэктазия, при котором действительно повышена частота новообразований у пациентов, не является свидетельством существования иммунологического надзора за опухолями. Исследование молекулярного патогенеза этой нозологии показало, что при ней имеется мутация в определенном гене, названном

АТМ. Этот ген кодирует фермент, по структуре гомологичный фосфатидил-инозитол-3'-киназе и имеющий прямое отношение к контролю процессов клеточного цикла, т.е. к пролиферации клеток, а также к рекомбинации ДНК. Это и объясняет повышенную частоту клеточных трансформаций при атаксии-телеангиэктазии.

Опухоли настолько гетерогенны по этиологии и конкретным свойствам, что можно сказать они *индивидуальны*, как сам пациент, или даже более, чем пациент. Экспериментальная иммунология более 100 лет работает с опухолями. За эти годы идентифицированы единицы так называемых опухоль-специфичных трансплантационных антигенов или антигенов, которые могут быть распознаны иммунной системой и иммунный ответ на которые может закончиться отторжением опухоли (табл. 7.14). Наиболее охарактеризованные из этих антигенов — антигены меланомы и так называемый **муцин-1 (MUC-1)**, обнаруживаемый на клетках рака молочной железы и поджелудочной железы.

Опухоль развивается из *своих клеток* и с самого начала *во внутренней среде*, поэтому понятно, что иммунному ответу далеко не всегда есть на что развиваться, да и условий для доиммунного воспаления нет. Немногие известные опухоль-ассоциированные антигены представляют из себя следующее:

- вирусные антигены (тогда это злокачественная вирусная инфекция);
- эмбриональные антигены;
- нормальные клеточные белки, но в состоянии оверэкспрессии (over-expression), т.е. в нормальных клетках экспрессия таких белков минимальна, но при опухолевом перерождении клетки белки начинают экспрессироваться в больших количествах, достаточных для того, чтобы быть распознанными Т-лимфоцитами.
- продукты мутантных онкогенов или проапоптозных белков.

Как мы помним, неиммунному лимфоциту, чтобы начать иммунный ответ, недостаточно только связать свой антиген в комплексе с молекулами МНС на той или иной клетке. Нужны еще все необходимые и достаточные молекулы костимуляции. Если опухоль растет не из профессиональных антиген-представляющих клеток, то этих молекул костимуляции на опухоль представляющих лимфоцитом (даже в тех случаях, когда есть что распознавать) не следует иммунный ответ, пока профессиональные антиген-представляющие клетки не процессируют опухоль-специфичные антигены. Обычно условия для этого отсутствуют.

Иногда в культуре опухолевых клеток обнаруживают сильную иммуносупрессорную активность. Один из таких цитоки-

Таблица 7.14. Антигены опухолей, распознаваемые иммунной системой

| Тип антигена | Название | Характеристика | Тип опухолей, на которых такие антигены могут быть экспрессированы |
|---|-------------------------------|---|--|
| Эмбриональные | MAGE-1, MAGE-3 | Нормальный протеин тестикул | Меланома; рак молочной железы; глиома |
| Белки с нарушенной посттранскрипционной модификацией | MUC-1 | Недостаточно гликозилированный муцин | Рак молочной железы; рак поджелудочной железы |
| Белки тканеспецифичной дифференцировки | Тирозиназа Ig | Фермент синтеза меланина Белок клона В-лимфоцитов | Меланома В-клеточные лимфомы |
| Мутантный онкоген | Ras | ГТФ-связывающий белок, участвующий в проведении сигнала внутрь клетки | Многие опухоли |
| Мутантный проапоптозный белок (супрессор опухолевого роста) | P53 | Регулятор митотического цикла | Опухоли легких, молочной железы, желудочно-кишечного тракта, мозга, репродуктивных тканей |
| Fusion-протеин | BCR-ABL | Гибридный белок с активностью тирозинфосфатазы | Продуцируется при транслокации t(9; 22) (филадельфийская хромосома) при хроническом миелолейкозе |
| Белки онковирусов | HPV типа 16 (протеины E6, E7) | Продукты вирусных генов | Рак шейки матки |

нов известен — это TGF- β . Другие охарактеризованы пока недостаточно.

Антигела к опухольспецифичным антигенам как таковые в большинстве случаев не угнетают рост опухолей. Напротив, они вызывают модуляцию антигенов с поверхности клеток.

Однако серьезные разработки ведутся по получению так называемых иммунотоксина — ковалентных конъюгатов опухольспецифичных антител с ядами.

Понятие *иммунотерапии опухолей*, учитывая вышесказанное, в большинстве случаев проблематично (если опухоль — не объект "для иммунного распознавания"). Тем не менее до стадии клинических испытаний в настоящее время доведен ряд предложений по иммунотерапии опухолей. Например, у больного при хирургическом удалении опухоли берут *его* опухолевые клетки. *In vitro* в них трансфицируют гены костимуляторных молекул — B7 и/или GM-CSF — и вводят опять больному. Таким образом опухолевым клеткам пытаются привнести свойства профессиональных антигенпредставляющих клеток в расчете на то, что в организме в таком случае может **произойти** индукция противоопухолевого иммунного ответа. GM-CSF локально стимулирует лейкоциты общевоспалительного назначения.

Что касается методик типа LAK (лимфокинактивированные киллеры), то публикации на эту тему в последние годы практически прекратились в связи со статистически незначимыми результатами. Суть методик такого рода «иммунотерапии» состоит в том, что лимфоциты больного *in vitro* стимулируют большими дозами IL-2 или смеси цитокинов из каких-либо культуральных супернатантов с добавлением клеток или без клеток собственной опухоли (или препаратов антигенов из них). После такой стимуляции *in vitro* аутолимфоциты возвращают внутривенно больному. Если после этого наблюдают ремиссию опухоли, то практическая статистика показывает, что частота ремиссии не коррелирует с LAK-терапией.

Весьма существенны успехи химиотерапии опухолей. Возможно, есть перспективы у генетической терапии в плане активизации проапоптозных генов избирательно в опухолевых клетках.

Глава 8. ЭФФЕКТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУНИТЕТА

Эффекторные механизмы иммунитета состоят в том, что распознавшие (связавшие) антиген рецепторы — TCR на поверхности Т-лимфоцита и/или иммуноглобулины в растворе *физически* подводят связанный антиген к таким клеткам или ферментам, которые специально предназначены для расщепления, окисления антигена до мелких метаболитов, которые организм может вывести через свои системы выделения (почки, ЖКТ) (табл. 8.1).

Таблица 8.1. Взаимосвязи факторов лимфоцитарного иммунитета с лейкоцитами — исполнителями деструкции антигенов

| Факторы лимфоцитарного иммунитета | Молекулярные механизмы, опосредующие взаимодействие лимфоцитов с лейкоцитами — исполнителями деструкции | Клетки крови — исполнители деструкции | Механизмы деструкции антигенов и собственных клеток и межклеточного матрикса, с которыми антигены связаны |
|---|---|--|--|
| <u>Иммуноглобулины (антитела) — продукты В-лимфоцитов</u> | АНТИТЕЛОЗАВИСИМЫЕ ЭФФЕКТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ | | |
| IgM | IgM (а также IgG3 и IgG1) в составе иммунных комплексов фиксируют компоненты компонента C3b и C4b, для которых есть рецепторы на эритроцитах (CR1). Эритроциты связывают иммунные комплексы и несут их на себе в печень и селезенку | Эритроциты (как аффинный сорбент) и макрофаги печени и селезенки | Макрофаги синусоидов печени и селезенки фагоцитируют эритроциты с иммунными комплексами на поверхности или отдельно иммунные комплексы и расщепляют их |
| IgG | На фагоцитах — нейтрофилах и макрофагах — есть Fcγ-рецепторы, которые связывают иммунные комплексы | Фагоциты — нейтрофилы и макрофаги | Фагоциты поглощают и расщепляют иммунные комплексы |
| | На НК есть Fcγ-рецепторы, которые связывают IgG, связавшие в свою очередь антигены на поверхности инфицированных клеток | НК | НК убивают клетку-мишень, индуцируя в ней апоптоз. Мишень для «нашли» антитела (АЗКЦТ) |
| IgE | Высокоаффинные рецепторы для IgE — FcεRI | Дендритные клетки в кровных | Через FcεRI дендритные клетки «улавливают» в |

| Факторы лимфоцитарного иммунитета | Молекулярные механизмы, опосредующие взаимодействие лимфоцитов с лейкоцитами — исполнителями деструкции | Клетки крови — исполнители деструкции | Механизмы деструкции антигенов и собственных клеток и межклеточного матрикса, с которыми антигены связаны |
|-----------------------------------|--|---|---|
| | <p>— есть на дендритных клетках</p> <p>Высокоаффинные рецепторы для IgE - FcεRI — есть на тучных клетках, базофилах и дендритных клетках</p> <p>Низкоаффинные рецепторы для IgE - FcεRII — есть на эозинофилах</p> | <p>тканях</p> <p>Тучные клетки в покровных тканях и сосудистых руслах. Базофилы в крови</p> <p>Эозинофилы</p> | <p>покровных тканях малые количества антигенов (в том числе и растворимых), чем обеспечивают возможность инициировать иммунный ответ на них</p> <p>Связывание через высокоаффинные рецепторы для IgE — FcεRI — антигена приводит к дегрануляции вазоактивных медиаторов из тучных клеток и базофилов, что обеспечивает развитие сосудистых реакций (расширение сосудов, экссудация сыворотки) в тканях или системно и миоконстрикторных реакций (спазмы бронхов и ЖКТ)</p> <p>Эозинофилы связывают Fc-концы IgE, уже связавшие свой антиген. Типичные природные инициаторы IgE-ответа — гельминты. Эозинофил, вступивший в такую связь, начинает синтезировать и секретировать бел-</p> |

| Факторы лимфоцитарного иммунитета | Молекулярные механизмы, опосредующие взаимодействие лимфоцитов с лейкоцитами — исполнителями деструкции | Клетки крови — исполнители деструкции | Механизмы деструкции антигенов и собственных клеток и межклеточного матрикса, с которыми антигены связаны |
|--|--|---------------------------------------|---|
| IgA | <p>Специальные рецепторы для IgA (секреторные компоненты) есть на энтероцитах и эпителиальных клетках других слизистых. Они связывают момеры IgA из крови, димеризуют их и экскретируют их в просвет органа в виде димеров</p> <p>Низкоаффинные рецепторы для IgA — FcαRII — есть на эозинофилах</p> | <p>—</p> <p>Эозинофилы</p> | <p>ковые токсины (ЕСР и др.), которые убивают гельминта (IgE-опосредованная АЗКЦТ)</p> <p>Димеры IgA «пытаются» перехватить антигены еще во внешней среде и не дать им всосаться во внутреннюю среду</p> <p>Эозинофилы связывают Fc-концы IgA, уже связавшие свой антиген. Эозинофил, вступивший в такую связь, начинает синтезировать и секретировать белковые токсины (ЕСР и др.), которые убивают гельминта (IgA-опосредованная АЗКЦТ)</p> |
| <p><u>Субпопуляции Т-лимфоцитов</u></p> <p>CD8⁺ → ЦТЛ</p> | <p>АНТИТЕЛОНЕЗАВИСИМЫЕ ЭФФЕКТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ</p> <p>1. Сами непосредственно связывают антигены на поверхности</p> | | <p>Гибель клеток-мишеней по механизму индуцированного апоптоза</p> |

| Факторы лимфоцитарного иммунитета | Молекулярные механизмы, опосредующие взаимодействие лимфоцитов с лейкоцитами — исполнителями деструкции | Клетки крови — исполнители деструкции | Механизмы деструкции антигенов и собственных клеток и межклеточного матрикса, с которыми антигены связаны |
|-----------------------------------|--|---------------------------------------|--|
| | <p>клеток своего организма (в естественных условиях — вирусинфицированных клеток) и убивают эти клетки</p> <p>2. Продуцируют цитокины, в том числе IFN-у</p> | <p>Макрофаги. NK</p> | <p>1. IFN-у сам по себе ингибирует репликацию ДНК, в том числе вирусной</p> <p>2. IFN-у активирует макрофаги, чем способствует реакции ГЗТ</p> <p>3. IFN-у активирует NK к противовирусной «атаке»</p> <p>4. IFN-у является кофактором, способствующим дифференцировке CD4⁺ Th1</p> |
| CD4 ⁺ Th1 | <p>Продуцируют цитокины, в том числе IFN-у</p> | <p>Макрофаги</p> | <p>Макрофаги, активированные IFN-у, интенсивно продуцируют и секретируют активные формы кислорода, радикал NO, протеазы, которые создают локально очаг воспаления, называемый ГЗТ</p> |
| CD4 ⁺ Th2 | <p>Продуцируют цитокины, в том числе:</p> <p>IL-4</p> | <p>В-лимфоциты</p> | <p>Переключает синтез иммуноглобулинов на IgE и</p> |

| Факторы лимфоцитарного иммунитета | Молекулярные механизмы, опосредующие взаимодействие лимфоцитов с лейкоцитами — исполнителями деструкции | Клетки крови — исполнители деструкции | Механизмы деструкции антигенов и собственных клеток и межклеточного матрикса, с которыми антигены связаны |
|-----------------------------------|---|---------------------------------------|--|
| | IL-5 | Эозинофилы | IgG1 со всеми вытекающими последствиями Стимулирует эозинофилопоэз в костном мозге и активирует эозинофилы в периферических тканях |
| | IL-10 | Макрофаги | Ингибирует функционирование макрофагов |

В соответствии с двумя типами **антигенсвязывающих** рецепторов есть и два *типа эффекторных механизмов*:

- антителозависимые;
- **Т-лимфоцитзависимые/антителонезависимые.**

Выработка антител **В-лимфоцитами** тоже зависит от **Т—В-взаимодействия**, в этом смысле почти все иммунные реакции (кроме биосинтеза антител В-лимфоцитами в ответ на тимуснезависимые антигены 1-го типа) можно рассматривать как Т-лимфоцитзависимые. Но на стадии реализации именно эффекторных механизмов иммунитета разделение их на «антителозависимые» и «Т-лимфоцитзависимые, но антителонезависимые» помогает проще понять конкретные иммунные реакции и процессы.

«По старинке» антителозависимые иммунные реакции называют *гуморальным иммунитетом*, **Т-лимфоцитзависимые** — *клеточным иммунитетом*.

Деструкцию патогена, т.е. собственно то, что и называют эффекторной фазой иммунного ответа, надо осуществлять в тех местах в организме, где он находится — в тканях. Зрелые неиммунные лимфоциты тропны к периферическим лимфоидным органам и тканям и именно и только туда они мигрируют по завершении лимфопоэза. Но иммунные лимфоциты имеют уже совсем иные свойства миграции: они нужны в разных тканях организма, куда проник патоген. Поэтому на

мембране иммунных лимфоцитов есть специальные рецепторы, узнающие эндотелий в очагах поражения (воспаления). Там иммунные Т-лимфоциты останавливаются, претерпевают экстравазацию и достигают мест локализации поврежденных патогеном клеток и межклеточного матрикса. Сюда же цитокины иммунных Т-лимфоцитов (RANTES и др.) привлекают из кровотока лейкоциты, которые и будут исполнителями деструкции патогена. Схема экстравазации лимфоцитов и лейкоцитов показана на рис. 7.3.

8.1. Антителозависимые механизмы защиты от патогена

Таких механизмов по крайней мере 6:

- нейтрализация антителами патогенных свойств антигена самим фактом связывания в комплекс;
- элиминация и деструкция комплексов **антиген—антитело** фагоцитами (нейтрофилами и макрофагами);
- β деструкция комплексов **антиген—антитело** активированной системой комплемента;
- антителозависимая клеточная цитотоксичность НК и эозинофилов;
- сосудистые и гладкомышечные контракильные реакции, инициируемые комплексом **антиген—антитело** с «наймом» тучных клеток и базофилов;
- реликтовые свойства антител (собственная протеазная или нуклеазная активность антител).

Сам по себе факт связывания патогена антителом является защитным по крайней мере в двух случаях:

- если патоген — сильный яд, антитело при связывании нейтрализует токсичность;
- если патоген инфекционен (вирус, прион, бактерия), а антитело, связав его, препятствует инфекции патогена в клетки тела.

Но и в этих случаях, а тем более во всех остальных, образование макромолекулярного комплекса **антиген—антитело** это еще не конец защитной реакции, так как организм не умеет свободно выводить во внешнюю среду из внутренней макромолекулярные комплексы. Их необходимо расщепить до мелких метаболитов. Для этого антитела в составе комплексов **антиген—антитело** «умеют» фиксировать компоненты комплемента и активировать его при этом (IgM>IgG3>IgG1). Комплексы **антиген—антитело—компоненты** комплемента в свою очередь фиксируются на эритроцитах рецепторами для компонентов комплемента, и эритроциты уносят такие комплексы в синусоиды селезенки и печени, где их фагоцитируют и расщепят макрофаги. Кроме того, комплексы с антителами

изотипов IgG1 и IgG3 прямо через соответствующий Fc γ RII на макрофагах и на нейтрофилах будут связаны и фагоцитированы и внутри фагоцитов расщеплены до мелких метаболитов.

8.1.1. Fc-рецепторы

Fc-рецепторы (FcR) — это мембранные молекулы, специфически связывающие иммуноглобулины за их Fc-фрагменты. Это третий тип иммунорецепторов — плюс к TCR и BCR. FcR — *иммунорецептор* потому, что пусть через посредство антитела, но клетка — носитель FcR способна связать *антиген* и прореагировать в ответ на антиген. FcR есть как на лимфоцитах, так и на всех известных лейкоцитах, и FcR — та молекулярная материя, посредством которой факторы лимфоцитарного иммунитета (антитела) «нанимают» лейкоциты на деструкцию и элиминацию распознанного антителами антигена.

Рассмотрим *номенклатуру* FcR. Аббревиатура обычно содержит 3, 4 или 5 «компонентов»: Fc — (γ , ϵ , α , μ) — (I, II, III) — (A, B) — (1, 2, 3, ...). «Fc» означает, что лиганд для связывания — константный фрагмент («хвост») молекулы иммуноглобулина. Греческая буква обозначает связываемый тип тяжелой цепи, т.е. изотип иммуноглобулина. Каждый FcR специализирован по какому-то одному изотипу тяжелой цепи молекулы иммуноглобулинов. Римская цифра I, II или III обозначает тип рецептора, типы различаются по аффинности связи с лигандом. «I» обозначает *высокоаффинные* рецепторы, способные связывать *свободные антитела*, а не уже комплексы *антиген—антитело*. Такие рецепторы известны только для IgE. По этой причине еще «довоенные» физиологи называли реакины (тогда эти антитела еще не были идентифицированы как иммуноглобулины класса E) *гомоцитотропными* антителами. «II» и «III» обозначают *низкоаффинные* рецепторы. Это в свою очередь значит, что такие рецепторы не связывают свободные молекулы иммуноглобулинов, но связывают только комплексы *антиген—антитело* за Fc-фрагмент иммуноглобулина. Заглавная латинская буква A, B, C обозначает тот или иной функциональный вариант FcR. Мы уже писали в разделе об активации лимфоцитов (6.2.3), что последствия связывания разных FcR с лигандами различные — активация или ингибция функций определенной клетки. Арабская цифра или иные обозначения после латинской заглавной буквы обозначают генетическую *изоформу* конкретной молекулы FcR (либо существует более одного гомологичного гена, либо имеет место альтернативный сплайсинг первичного транскрипта РНК).

В табл. 8.2 приведена характеристика известных типов FcR.

Таблица 8.2. Типы Fc-рецепторов

| Свойства | Тип | | | | | | |
|--|---|--|---|---|--|---|---|
| | FcγRI (CD64) | FcγRII-A (CD32) | FcγRII-B2 (CD32) | FcγRII-B1 (CD32) | FcγRIII (CD16) | FcεRI* | FcαRI (CD89) |
| Структура (цепи, мол. масса x 1000) | α (72 000) γ | α (40 000) (есть γ-по- добный домен) | 1 цепь, содержит ITIM | 1 цепь, содержит ITIM | α (50 000 или 70 000); γ или ζ | α (45 000) β (33 000) γ (9000) | α (55 000- 75 000) γ (9000) |
| Изотип связы- ваемого имму- ноглобулина, константа дис- социации | IgG1 (=IgG3> IgG4>IgG2), 10 ⁸ M ⁻¹ | IgG1 (>IgG3=IgG2 >IgG4), 2×10 ⁶ M ⁻¹ | IgG1 (=IgG3>IgG4 >IgG2), 2×10 ⁶ M ⁻¹ | IgG1 (=IgG3>IgG4 >IgG2), 2×10 ⁶ M ⁻¹ | IgG1 (=IgG3), 5×10 ⁵ M ⁻¹ | IgE 10 ¹⁰ M ⁻¹ | IgA1 (=IgA2), 10 ⁷ M ⁻¹ |
| На каких клет- ках экспресси- рован | Макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, дендритные клетки | Макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, тромбоциты, клетки Лан- герганса | Макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы | В-лимфоци- ты, тучные клетки | НК, эозино- филы, мак- рофаги, ней- трофилы, туч- ные клетки | Тучные клет- ки, эозино- филы, базо- филы, денд- ритные клет- ки | Макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы |
| Биологические эффекты при связывании | Стимуляция эндоцитоза, фагоцитоза, дыхательного взрыва, кил- линга | Стимуляция эндоцитоза, дегрануляция эозинофилов | Поглощение рецептора и ингибция стимуляции | Ингибция стимуляции без погло- щения ре- цептора | Стимуляция киллерной активности НК | Дегрануля- ция, эндо- цитоз | Поглощение рецептора и индукция кил- линга |

Примечание. * FcεRI — это высокоаффинный рецептор для IgE, он связывает свободные антитела класса E. Известно еще несколько низкоаффинных рецепторов для IgE (они описаны в разделах, посвященных эффекторным реакциям с участием эозинофилов).

8.1.2. Антителозависимая клеточная цитотоксичность

Если антиген как целое (как мишень) — это клетка, то антитела, но только класса G, привлекут своим FC-ХВОСТОМ НК, имеющих для этого соответствующий FcγRIII. Возникнет комплекс **клетка-мишень** — антитело — НК, в котором НК реализует свою киллерную функцию в отношении клетки-мишени. Это и называют **АЗКЦТ** — антителозависимой клеточ-

Таблица 8.3. Биологически активные продукты эозинофилов

| Тип продукта | Конкретные продукты | Биологические эффекты |
|--------------------|--|---|
| Ферменты | Эозинофильная пероксидаза | Вызывает выброс гистамина из тучных клеток; токсична за счет катализа галогенизации субстратов |
| | Эозинофильная коллагеназа | Вызывает «ремоделинг» межклеточного вещества соединительной ткани |
| Токсичные протеины | Большой основной протеин (МБР — major basic protein) | Токсичен для гельминтов и собственных клеток, вызывает выброс гистамина из тучных клеток |
| | Эозинофильный катионный протеин (ЕСР — eosinophil cationic protein) Нейротоксин эозинофилов (ЕНТ — eosinophil-derived neurotoxin) | Токсичен для гельминтов и нейронов Токсичен для нейронов |
| Цитокины | IL-3, IL-5, GM-CSF | Стимулируют эозинопоэз в костном мозге; активируют эозинофилы на периферии |
| Хемокины | IL-8 | Обеспечивает инфлюкс лейкоцитов в очаг |
| Липидные медиаторы | Лейкотриены C4 и D4 | Сокращают гладкие мышцы; повышают проницаемость сосудов, усиливают секрецию слизи |
| | Тромбоцитаактивирующий фактор (PAF — platelet-activating factor) | Усиливает продукцию липидных медиаторов; активирует нейтрофилы, эозинофилы и тромбоциты; является хемоаттрактантом для лейкоцитов |

ной цитотоксичностью (по английски ADCC). Механизм собственно киллерного действия НК на клетку-мишень такой же, как и киллерный механизм ЦТЛ (порообразование перфоринном и индукция апоптоза), и мы опишем его в разделе 8.2.1.

Если патоген — гельминт, уже проникший во внутреннюю среду, то единственный известный на сегодня механизм санации от гельминтов — это АЗКЦТ, в которой антитела — класса Е или А, а клетки-эффекторы — эозинофилы. На эозинофилах есть специальные низкоаффинные рецепторы для IgE — FcεRII, способные связывать комплексы IgE с антигенами. Связывание такого комплекса в сочетании с сигналом от цитокина IL-5 активирует эозинофил к синтезу и секреции высокотоксичных протеинов, способных убить гельминта. Активированный эозинофил секретирует ряд биологически активных продуктов, свойства которых объясняют симптоматику так называемых эозинофильных воспалительных процессов (табл. 8.3).

Привлечь эозинофилы в очаг могут комплексы антигенов с антителами не только класса Е, но и А: на эозинофилах есть рецепторы для IgA — FcαRII.

8.1.3. Сосудистые и миоконстрикторные реакции, опосредованные медиаторами тучных клеток и базофилов. Гиперчувствительность немедленного типа

Антитела привлекают «к работе» и базофилы, и тучные клетки. На базофилах и тучных клетках есть несколько разных типов рецепторов для FC-ХВОСТОВ молекул иммуноглобулинов.

Рецептор FcγRIIB, связывающий иммунные комплексы антигенов с антителами класса G, является негативным ко-рецептором, сигнал с которого ингибирует биосинтезы активных продуктов и дегрануляцию тучных клеток. Активирующим тучные клетки является иммунорецептор FcεRI — высокоаффинный рецептор для IgE, способный связывать свободные антитела класса Е, до того как они свяжут свой антиген в комплекс. Таким образом тучные клетки с IgE-FcεRI на поверхности и с депонированными внутри гранулами биологически активных веществ находятся «на низком старте» и готовы в считанные секунды — минуты выбросить содержимое гранул в ответ на поступивший на их IgE-FcεRI антиген. Точно такой же FcεRI экспрессирован на базофилах. Гранулы базофилов содержат такие же биологически активные вещества (по крайней мере основные из известных), что и тучные клетки. Тучные клетки локализованы в соединительной ткани lamina propria слизистых оболочек, в подкожной соединительной ткани и соединительной ткани по ходу всех кровеносных сосудов, т.е. «подстилают» барьеры. Благодаря IgE-FcεRI они готовы немедленно выбросить биологически актив-

ные вещества из своих гранул и тем самым обеспечить немедленные сосудистые реакции защитного назначения в барьерных тканях: гистамин из тучных клеток вызывает локальное расширение сосудов, повышение их проницаемости, что способствует отеку ткани и, следовательно, служит попыткой тампонировать антиген в очаге, не пустить его в системную циркуляцию.

Кроме того, гистамин, а также лейкотриен D₄ и простагландины из тучных клеток вызывают интенсивное сокращение гладких мышц. Защитный характер этой реакции можно проиллюстрировать на примере энтеральной инфекции гельминтом *Heligmosomoides polygyrus* на модели на мышах. Организм нормальных мышей saniруется от этого гельминта путем иммунного ответа с преимущественной дифференцировкой Th₂ и выработкой антител класса E. Эти антитела фиксируются на тучных клетках слизистой оболочки кишки, в полости которой обитает гельминт. Антигены гельминта вызывают активацию и дегрануляцию тучных клеток, медиаторы которых обеспечивают интенсивную перистальтику, в результате чего гельминт выбрасывается из полости кишки наружу. Такая санация не осуществляется при экспериментальном заражении мутантных или модельных мышей, имеющих генетические или эпигенетические дефекты в любом из перечисленных выше компонентов защитной реакции [мышь с тяжелым комбинированным иммунодефицитом — SCID; мышь с мутацией w/wv, дефицитные по тучным клеткам; мышь, обработанные антителами к c-kit (рецептор для фактора роста клеток-предшественников тучных клеток); мышь с knock-out по гену липооксигеназы (следовательно, дефицитные по лейкотриенам)].

Медиаторы тучных клеток — биологически активные вещества — делят на 3 группы, которые различаются по срокам выброса из активированной тучной клетки и по предназначению, и биохимическому классу молекул. Одна группа — медиаторы, депонируемые в гранулах тучных клеток. Они первыми выбрасываются из клетки по сигналу на дегрануляцию. В составе гранул находятся так называемые вазоактивные амины (у человека это гистамин, у лабораторных грызунов — серотонин), а также гепарин, ферменты (триптаза, химаза, катепсин G, карбоксипептидаза) и цитокин TNF- α . Вторая группа медиаторов вступает в процесс через несколько часов от начала реакции, это липидные медиаторы (лейкотриены, простагландины, PAF). Третья группа — цитокины (IL-4, IL-13, IL-3, IL-5, GM-CSF). Основные биологические эффекты медиаторов тучных клеток приведены в табл. 8.4.

Тучные клетки — неоднородная популяция. Выделяют по крайней мере две их тканевые разновидности. Одна разновидность локализована в слизистой оболочке ЖКТ, их называют

Таблица 8.4. Медиаторы тучных клеток и базофилов и их биологические эффекты

| Тип медиатора | Примеры | Биологические эффекты |
|--------------------|--|--|
| Ферменты | Триптаза и химаза (сериновые протеазы), катепсин G, карбоксипептидаза | Ремоделинг матриксного вещества соединительной ткани |
| Вазоактивные амины | Гистамин (у человека); серотонин (у грызунов) | Расширение сосудов и повышение проницаемости; сокращение гладких мышц; токсичны для гельминтов |
| Протеогликаны | Гепарин, хондроитинсульфат | Связывают и удерживают ионными силами положительно заряженные молекулы биогенных аминов |
| Цитокины | TNF- α | Провоспалительное действие: активирует эндотелий и коагуляцию крови, стимулирует выработку цитокинов другими клетками в очаге воспаления |
| | IL-3, IL-5, GM-CSF | Стимулируют дифференцировку и активацию эозинофилов |
| Липидные медиаторы | IL-4, IL-13 | Стимулируют дифференцировку субпопуляции Th2 |
| | Лейкотриены C ₄ , D ₄ , E ₄ | Пролонгированное сокращение гладких мышц, повышение проницаемости сосудов, стимуляция секреции слизи |
| | Простагландины (PGD ₂ , PGE ₂) PAF (platelet-activating factor) — фактор активации тромбоцитов | Усиливает продукцию липидных медиаторов; хемоаттрактант и активатор для тромбоцитов, нейтрофилов, эозинофилов |

тучными клетками слизистой оболочки (mucosal mast cells). Их отличает ряд свойств: из сериновых протеаз экспрессируют и триптазу, и химазу, из протеогликанов в них преобладает хондроитинсульфат; секретируют минимум гистамина; из метаболитов арахидоновой кислоты в них преобладает лейкотриен C₄.

Вторая тканевая разновидность тучных клеток — те, что локализованы в серозных оболочках полостей тела и в легких.

Их называют *тучными клетками соединительной ткани* (connective tissue mast cells). Они отличаются по следующим свойствам: из сериновых протеаз экспрессируется преимущественно триптаза, из протеогликанов — гепарин, секреторируют много **гистамина**, из метаболитов арахидоновой кислоты в них преобладает **PGD₂**.

Тучные клетки слизистых оболочек отсутствуют у бестимусных мышей nude. По-видимому, дифференцировка таких клеток зависит от Т-лимфоцитов, а именно от местной стимуляции клеток-предшественников цитокином IL-3. Дифференцировку клеток-предшественников в соединительнотканый фенотип тучных клеток стимулируют фибробласты.

Как соотносятся в плане дифференцировочного «родства» тучные клетки и базофилы, сказать трудно. У них одинаковые существенные функциональные признаки, такие как наличие на мембране высокоаффинного рецептора для **IgE (FcεRI)**, и одинаковый список биологически активных медиаторов. Но базофилы циркулируют в крови и мигрируют в ткани только в очаг воспаления (как нейтрофилы). На базофилах экспрессированы молекулы адгезии, важные для homing в очаг: **LFA-1 (CD11a/CD18)**, **Mac-1 (CD11b/CD18)**, **CD44**. Тучные клетки — тканевая форма, их никто не видел циркулирующими в крови. Вероятно, что тучные клетки дифференцируются из своей собственной клетки-предшественницы, коммитируемой к данной дифференцировке на уровне СКК. Известно, например, что для предшественников тучных клеток специфическим фактором роста является c-kit-лиганд. Про базофилы известно, что они имеют общую клетку-предшественницу с эозинофилами, следовательно, дифференцировка эозинофилов и базофилов альтернативна.

Тучные клетки и базофилы *активируются* следующими сигналами:

- гомотипной агрегацией **FcεRI** (комплексом IgE с антигеном или антителами к рецептору);
- активированными компонентами комплемента — **анафилотоксинами C5a>C4a>C3a**;
- медиаторами из активированных нейтрофилов;
- нейротрансмиттерами (норадреналином, субстанцией P).

Действие гистамина. На разных клетках есть различные рецепторы для гистамина — **H₁**, **H₂** и **H₃**. На клетках эндотелия сосудов экспрессированы рецепторы **H₁**. Вазоактивные эффекты гистамина состоят в следующем: эндотелиальные клетки претерпевают констрикцию, и плазма выходит из сосуда в ткани; гистамин стимулирует синтез в клетках эндотелия простаглицина и радикала окиси азота (NO·), которые вызывают расслабление гладких мышц сосудистой стенки и, следовательно, вазодилатацию. Если процесс происходит в коже,

то клинически это выглядит как симптомы «wheal and flare» — пузыри и покраснения (крапивница). В случае аллергической патологии снять симптомы помогают препараты — блокаторы рецепторов H_1 для гистамина.

Если гистамина выделяется достаточно много, то он вызывает клинически значимые сокращения гладких мышц кишки (перистальтику) и бронхов (**бронхоспазм**), но кратковременные, так как это вещество быстро распадается во внеклеточной среде.

Липидные медиаторы. При стимуляции тучных клеток в них активируются ферменты метаболизма **липидов**, а именно фосфолипаза A_2 . Этот фермент использует в качестве субстратов фосфолипиды клеточных мембран и липиды (в первую очередь арахидоновую кислоту), депонированные в клетке в липидных тельцах. В результате образуются следующие биологически активные медиаторы.

Простагландин D_2 (PGD_2). Он действует как вазодилататор и бронхоконстриктор. В биосинтезе простагландина из арахидоновой кислоты участвует **циклооксигеназа**. Фармакологическими ингибиторами этого фермента являются аспирин и ряд нестероидных противовоспалительных препаратов. Но полная фармакологическая блокада биосинтеза PGD_2 парадоксальным на первый взгляд образом может усугублять приступ бронхоспазма при бронхиальной астме, ибо PGD_2 — не единственный и не ведущий медиатор бронхоспазма.

Альтернативные продукты метаболизма арахидоновой кислоты образуются под воздействием **5-липооксигеназы** — это лейкотриены C_4 , D_4 , E_4 . Комплекс лейкотриенов называют **медленно реагирующей субстанцией анафилаксии**. Именно этот комплекс медиаторов в наибольшей мере ответствен за бронхоконстрикцию при бронхиальной астме. Это объясняет усугубление астматических приступов аспирином: блокируя синтез PGD_2 , аспирин высвобождает метаболический шунт арахидоновой кислоты в пользу лейкотриенов.

Еще один липидный медиатор тучных клеток — **PAF** (фактор, активирующий тромбоциты). Назван он так потому, что в экспериментах, в которых его впервые идентифицировали, наблюдали, что он вызывает агрегацию и активацию тромбоцитов. **PAF** синтезируется в реакции ацилирования лизоглицерилового эфира фосфорилхолина, получающегося из фосфолипидов мембраны в результате работы фосфолипазы A_2 , которая отщепляет жирные кислоты, в том числе арахидоновую. **PAF** вызывает также бронхоконстрикцию, но релаксацию гладких мышц сосудов (следовательно, их расширение) и ретракцию эндотелия. **PAF** продуцируют не только (а может быть и не столько) тучные клетки, сколько клетки эндотелия, стимулированные гистамином и лейкотриенами.

Цитокины тучных клеток. Цитокины, продуцируемые туч-

ными клетками, поддерживают *иммунное отклонение* в дифференцировке субпопуляций CD4⁺ Т-лимфоцитов в пользу Th2 (IL-4, IL-13), а также поддерживают дифференцировку и активацию эозинофилов (IL-5, IL-3, GM-CSF). В случае патологии именно эти клетки составляют «дружный» и самоподдерживающийся ансамбль, ответственный за *реакции гиперчувствительности немедленного типа* (ГНТ): Th2, IgE, тучные клетки, базофилы, эозинофилы — их мишени — гладкие мышцы и эндотелий, следовательно, сосуды, бронхи, ЖКТ. Системная реакция ГНТ — анафилактический шок. Мы опишем клинику такого шока в разделе, посвященном патологическим процессам с участием иммунной системы (раздел 14.6).

8.1.4. Реликтовые свойства антител

Белки иммуноглобулины, очевидно, произошли от каких-то белков, которые раньше иммуноглобулинами не были. Конечно, распознавание антигенов — настолько сильное свойство иммуноглобулинов, что «разглядеть» под ним остатки предыдущих свойств было непросто. Но тем не менее «разглядели», когда заметили, что в некоторых случаях (редко, но бывает) антитела *сами* расщепляют свой антиген, функционируя как *протеазы*. Видимо, на основе именно этих ферментов и развились в эволюции иммуноглобулины как антитела. Одно время была попытка ввести новый термин «abzyme» (antibody-enzyme), но он не прижился в связи с редкостью употребления.

Постепенно у молекул иммуноглобулинов обнаружили еще несколько свойств, «параллельных» свойствам связывать антиген с одной стороны и комплемент или FcR — с другой.

Эти «параллельные» свойства следующие:

- пептидазная активность;
- способность связывать нуклеотиды и способность расщеплять полинуклеотиды;
- способность связывать металлы;
- способность связывать суперантигены.

В настоящее время в некоторых публикациях можно встретить термин «суперантитело» (superantibody activity). Это надо понимать так, что у какого-то конкретного антитела обнаружили ту или иную дополнительную активность, кроме способности связать свой антиген определяющими комплементарными областями (CDR) вариабельных участков молекулы.

Молекулярный анализ конкретных антител с пептидазной активностью показывает, что каталитические функции связаны с не подверженными перестройке ДНК участками V-области L-цепи (germline components). В каких-то случаях фер-

ментативная активность антител имеет патогенное значение. Например, у пациента с недостаточностью функций щитовидной железы обнаружили повышенное расщепление тироглобулина именно аутоантителами к нему. Белки Бенс-Джонса (H. Bence Jones) — это L-цепи иммуноглобулинов — у больных множественной миеломой, кроме прочих патологических эффектов, проявляют еще и пептидазную активность.

Способность связывать нуклеотиды выявлена у доменов V_L и V_H : пуриновое кольцо связывается с остатками триптофана и тирозина. При этом связи с нуклеотидами могут не мешать связыванию с антигеном в антигенсвязывающем центре. Некоторые антитела, связывающие нуклеиновые кислоты, обладают способностью *расщеплять* полинуклеотиды (ДНКазная активность).

Некоторые антитела эффективно связывают металлы, например ртуть и свинец. По-видимому, это свойство — тоже древнее наследие происхождения от ферментов, для которых ионы металлов — необходимые коферменты. В каких-то случаях это свойство антител может иметь отношение к патогенезу заболеваний: антитела, связывая жизненно необходимые ионы металлов-микроэлементов, вызывают дефицит этих металлов во внутренней среде. Подобные подозрения возникли в отношении синдрома склеродермии и антител, связывающих свинец.

Под связыванием антител с суперантигенами следует понимать связывание не по активному центру антител, а другим местом, но с вовлечением именно V-области. Пока что свойства суперантигена для иммуноглобулинов описаны для 3 веществ: протеина А стафилококка (SpA), gp120 ВИЧ-1 и кишечного сиалопротеина. Один такой суперантиген может связать более 80 % всех иммуноглобулинов крови, причем при этом иммуноглобулин теряет способность связывать свой специфический антиген. Вот и еще один компонент патогенеза иммунодефицита при ВИЧ-инфекции: иммуноглобулинов в крови много, но для своих антигенов они недоступны.

8.2. Т-лимфоцитзависимые антителонезависимые эффекторные механизмы иммунитета

Таких механизмов как минимум 3:

- ж убийство клеток-мишеней цитотоксическими $CD8^+$ Т-лимфоцитами (ЦТЛ);
- иммунное воспаление тканей, называемое *гиперчувствительностью замедленного типа* (ГЗТ), которое «организуют» $CD4^+$ Т-лимфоциты субпопуляции Th1, а клетками-исполнителями являются активированные *макрофаги*;

иммунное воспаление тканей, вызываемое токсичными продуктами эозинофилов, активированных лимфоцитами Th2 (IL-5). Такого рода иммунное воспаление характерно для аллергических заболеваний, а также встречается при отторжении трансплантатов чужеродных органов.

8.2.1. Цитотоксические Т-лимфоциты

Для осуществления функции антигенспецифичной цитотоксичности дифференцирована субпопуляция $CD8^+$ $T\alpha\beta$ -лимфоцитов — ЦТЛ. TCR этих лимфоцитов распознает свой антиген в комплексе с молекулами MHC-I на мембране клеток собственного организма, которые в данном случае называют *клетками-мишенями* для киллерной атаки со стороны ЦТЛ. Т-киллеры есть и среди Туб. Тот же молекулярный механизм убийства клеток-мишеней (который мы сейчас опишем) реализуют и НК.

ЦТЛ являются киллерами-специалистами. В иммунной системе есть лимфоциты-киллеры и иного рода (см. ниже). Специализированный механизм киллинга *локализован* в ЦТЛ в *гранулах*. Неиммунные зрелые $CD8^+$ ЦТЛ после выхода из тимуса (или иных мест дифференцировки для ЦТЛ $\gamma\delta$) имеют только *программу* для биосинтеза эффекторных молекул, но не сами молекулы. После вовлечения их в иммунный ответ, распознавания ими своего антигена эта программа начинает действовать: происходит синтез *de novo* определенных веществ, которые называют *цитотоксинами*. В виде функционально неактивных молекул-предшественников эти цитотоксины накапливаются в гранулах, Гранулы с цитотоксинами ни в коей мере не разбросаны по клетке в беспорядке, они сориентированы локально в связи с TCR так, что обеспечивается возможность *строго направленного* киллерного удара Т-лимфоцита по клетке-мишени. Эта строгая направленность ориентирована через TCR цитотоксического Т-лимфоцита на *антиген*. Сами цитотоксины неспецифичны по антигену, они одинаковы для всех антигенов. Однако при работе ЦТЛ не повреждаются ни сами ЦТЛ, ни здоровые клетки тканей организма, а только *больные* клетки, на которых *экспрессированы* антигены вирусов или других внутриклеточных патогенов.

Главное защитное биологическое предназначение ЦТЛ — санация организма от внутриклеточных инфекций.

Такая векторная цитотоксичность особенно существенна при *лечении* от внутриклеточных инфекций тканей, которым

не свойственна физиологическая регенерация (нейронов, желез внутренней секреции и др.). Не все иммунные механизмы санации настолько векторные. Мы увидим пример менее векторного механизма санации — ГЗТ.

В некоторых случаях $CD8^+$ Т-лимфоцит способен активироваться при контакте с антигенпредставляющей клеткой без содействия $CD4^+$ Т-лимфоцитов (это в случае вирусинфицированных дендритных клеток). Иногда $CD4^+$ Т-лимфоциты способствуют такой активации антигенпредставляющей клетки, которая необходима для адекватной работы ЦТЛ. Собственно механизм работы *иммунного* ЦТЛ состоит в том, что ЦТЛ связывает своим ТСР антиген на поверхности клетки-мишени и в области связи быстро формируется межклеточный *интерфейс* — зона контакта. Локально в области этого контакта ЦТЛ *выбрасывает* содержимое гранул. Этот процесс облигатно зависит от Ca^{2+} .

Цитотоксины гранул ЦТЛ — это минимум два типа белков:

- перфорин;
- гранзимы — сериновые протеазы.

Описан и цитолизин, но он недостаточно подробно охарактеризован.

Перфорин в гранулах в виде предшественника представляет собой растворимый белок. Но, будучи высвобожденным из гранул и в присутствии Ca^{2+} он в течение секунд полимеризуется в *мембране* клетки-мишени: липофильные участки молекул перфорина ориентируются наружу, гидрофобные — внутрь клетки. В результате образуется *пора* диаметром 16 нм. Через эту пору внутрь клетки-мишени ЦТЛ *инъецирует гранзимы*. Охарактеризовано 3 гранзима ЦТЛ — А, В и С. Это специализированные сериновые протеазы, внутриклеточными субстратами которых являются специальные ферменты, предназначенные для инициации программы апоптоза. Таким образом, наилучшим способом удалить из организма инфицированную вирусом клетку является именно апоптоз, поскольку ферменты деградации нуклеиновых кислот и белков, активируемые при апоптозе, разрушат ДНК и белки не только клетки, но и вируса. Так и происходит в норме. Но если в клетке-мишени есть какие-то дефекты в механизмах апоптоза или эта программа вовсе не «поставлена», то ЦТЛ все равно разрушит клетку некрозом — осмотическим лизисом через поры, сформированные перфорином. Однако в этом случае неповрежденные вирусные частицы и нуклеиновые кислоты «разбегутся на свободу» по организму и заразят другие клетки. Так тоже происходит в случаях наиболее «коварных» инфекций.

На организацию сигнала на апоптоз для клетки-мишени

ЦТЛ требуется не более 5 мин, после чего он физически переходит к другой клетке-мишени, т.е. ЦТЛ является *серийным киллером*.

$CD8^+$ ЦТЛ еще и *продуцируют цитокины*, что следует обязательно иметь в виду при анализе конкретного иммунопатогенеза того или иного заболевания. Большинство иммунных ЦТЛ продуцирует IFN- γ , TNF- α , TNF- β (он же LT). IFN- γ , во-первых, прямо ингибирует репликацию вирусов. Кроме этого, его вклад в противовирусную защиту состоит еще и в том, что он индуцирует в клетках повышенную экспрессию молекул МНС-I и II, TAP (пептидтранспортных белков, необходимых для представления антигенов в комплексе с молекулами МНС-I), что способствует более эффективному представлению вирусных антигенов для Т-лимфоцитов (и для распознавания, и для киллинга). IFN- γ активирует еще и макрофаги, и НК. И наконец, IFN- γ является кофактором индукции дифференцировки из $CD4^+$ Th0-субпопуляции провоспалительных $CD4^+$ Т-лимфоцитов — Th1. Последнее означает, что $CD8^+$ ЦТЛ вносят свой и *определенный* вклад в развитие других эффекторных механизмов иммунного ответа, а именно варианта с участием Th1.

8.2.2. Другие механизмы *лимфоцитарной* цитотоксичности

Мы уже касались этого вопроса в разделе 7.6. ЦТЛ — *антигеннаправленный* индуктор апоптоза в клетке-мишени. Но вспомним, существует несколько механизмов индукции апоптоза в живой клетке. Есть специальные *рецепторы* сигналов на апоптоз, например рецептор Fas. Он экспрессируется на *активированных* лимфоцитах. Лиганд для этого рецептора, FasL, в повышенных количествах экспрессируется в определенное время и в определенных местах в организме и на $CD8^+$ ЦТЛ, и на $CD4^+$ Th1-лимфоцитах. Но в отличие от антигенспецифичной гранулоопосредованной цитотоксичности ЦТЛ, прямо направленной на санацию организма от патогена, Fas—FasL-цитотоксичность направлена на лимфоциты, следовательно, играет определенную роль в регуляции иммунного ответа в периферических тканях.

8.2.3. Гиперчувствительность замедленного типа

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) — это второй вариант Т-лимфоцитзависимого/антителонезависимого эффекторного механизма иммунитета. Термин «пришел» из патологии. Но вспомним, всякий иммунный ответ по сути — это распознавание антигена и затем его *деструкция*, следовательно, *альтерация тканей*, а значит *rubor, tumor, calor, dolor et functio laesae*. Ощущаем мы это нашими органами чувств или

нет, вопрос дозы антигена, величины очага повреждения и продолжительности процесса. Так что «чистая» норма — это отсутствие патогенов и иммунного ответа на них, а всякий иммунный ответ — это преодоление патологии, успешное или усугубляющее патологию.

Лимфоциты-эффекторы ГЗТ — CD4⁺ Th1-лимфоциты, провоспалительный цитокин-IFN- γ , клетки-партнеры, исполнители воспаления, макрофаги.

Программирование дифференцировки CD4⁺ Th0 в направлении Th1 представляется следующим образом. Если TCR Th0 связал антиген с высокой авидностью, то на таком T-лимфоците устойчиво экспрессируется рецептор для IL-12, содержащий β_2 -субъединицу (экспрессия этой субъединицы специфична именно для Th1). Источником IL-12 для воздействия на рецептор IL-12R β_2 служат дендритные клетки, активированные IFN- γ (у человека и IFN- α). Источником IFN- γ в данном случае являются активированные CD8⁺ T-лимфоциты, т.е. лимфоциты CD8⁺ вносят свой вклад в дифференцировку CD4⁺ Th0-лимфоцитов в Th1.

В обоих случаях («отклонение» в сторону Th1 или Th2) дендритные клетки выполняют роль клеток, интегрирующих сигналы из внешней среды (антиген), и сигналы межклеточных взаимодействий в очаге (с B-лимфоцитами, с CD8⁺ T-лимфоцитами). Но в целом именно взаимодействия нескольких типов клеток определяют конечный результат — Th1 или Th2.

Дифференцировку Th1 поддерживает IL-12; IFN- γ (у человека, но не у мышей, еще и IFN- α) является кофактором. IL-12 продуцируют дендритные клетки, макрофаги и нейтрофилы на стадии доиммунного воспаления, а IFN- γ — CD8⁺ T-клетки и NK. Ингибирует дифференцировку и подавляет активность Th1 цитокин, продуцируемый Th2, — IL-10 (возможно не прямо, а через ингибицию активности макрофагов и соответственно из-за недостатка IL-12).

Макрофаг без поддержки лимфоцитарного иммунитета оказывается недостаточно эффективной клеткой-санитаром в отношении многих инфекционных патогенов, которые он способен фагоцитировать. Микобактерии, грибы и многие типы микроорганизмов, будучи фагоцитированными внутрь макрофага, способны не только в нем выжить, но и эффективно размножаться. Но если макрофаг в очаге инфекции активирован взаимодействием с иммунным CD4⁺ Th1-лимфоцитом, то микробицидные возможности макрофага существенно повышаются и он разрушает патогены. К сожалению, и при учас-

тии лимфоцитов в макрофаге погибают не все патогены (особенно жизнеспособны вирусы, например, ВИЧ).

Для иммунной активации макрофага необходимы два воздействия на него со стороны лимфоцитов:

- контактное — молекула CD40L на **Th1-лимфоците** вступает в связь с молекулой CD40 на макрофаге;
- цитокиновое — IFN- γ , продуцируемый **Th1, CD8⁺ ЦТЛ** или NK, связывает рецептор на макрофаге.

Если в какой-то конкретной ситуации источником интерферона являются только **CD8⁺ ЦТЛ** и отсутствуют ТГ, то реализации стимулирующего действия интерферона на макрофаги может помочь контактное взаимодействие макрофагальной молекулы CD40 с CD40L на иммунном **Th2-лимфоците** или костимуляция макрофага микробными ЛПС через рецептор **CD14**.

Итак, *макрофаг*, активированный взаимодействием с ТГ, приобретает следующие *признаки и функциональные способности*:

β на макрофаге увеличивается число иммунорецепторов **Fc γ R**, которыми он связывает комплексы антиген—антитело и фагоцитирует их;

- IFN- γ в макрофагах индуцирует биосинтез ферментов, генерирующих радикалы активных форм кислорода, которые окисляют фагоцитированный антиген;

β в макрофагах под воздействием IFN- γ , TNF- α и, возможно, IL-1 индуцируется экспрессия NO-синтазы, продуцирующей радикал **NO**, который также окисляет фагоцитированный материал;

- в макрофагах индуцируется синтез липидных медиаторов воспаления — PAF, простагландинов и лейкотриенов (LTE4);

β макрофаг синтезирует тканевый фактор коагуляции (tissue factor). В начавшемся процессе коагуляции активируется сывороточный тромбин — протеаза, которая в свою очередь стимулирует клетки эндотелия сосудов, а также нейтрофилы к синтезу PAF, что еще **больше способствует** прогрессированию воспалительного процесса;

- IFN- γ является самым сильным из известных индукторов синтеза и экспрессии молекул МНС-II. Кроме того, на активированных макрофагах (в отличие от неактивированных) индуцируется экспрессия костимуляторной молекулы B7, что делает активированные макрофаги более эффективными антигенпредставляющими клетками. Кроме того, на активированных макрофагах возрастает экспрессия молекул адгезии ICAM-1 и LFA-3;

Ⓜ активированные макрофаги интенсивно продуцируют свои цитокины и среди них факторы роста, что может

значительно изменить состояние прилегающих к очагу тканей. В защитном режиме возникает очаг воспаления по типу ГЗТ, а в «продвинутом» патологическом режиме именно цитокины из активированных макрофагов вызывают фиброзное перерождение тканей в результате пролиферации фибробластов и повышенной продукции ими коллагенов. Проллиферацию фибробластов стимулирует вырабатываемый макрофагами тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor), а синтез коллагена стимулирует вырабатываемый макрофагами **TGF- β** . Кроме того, факторы роста из макрофагов вызывают миграцию и пролиферацию клеток эндотелия, что приводит к образованию дополнительных кровеносных сосудов — к **ангиогенезу**. Если такого рода воспалительный процесс затягивается во времени и распространяется по территории, то и наступает замещение функциональной паренхимы органа на фиброзную ткань, т.е. *фиброз*.

Свежий очаг ГЗТ в коже представляет собой следующее. Цитокины активированных макрофагов — TNF- α , IL-1 и хемокины — создают очаг воспаления в виде плотных на ощупь узелков разного размера (симптом индурации). Плотность очага обусловлена выпотом из сосудов фибриногена и полимеризацией его в фибрин. Среди клеток, присутствующих в очаге, в первые 6—8 ч преобладают нейтрофилы, затем макрофаги и **Th1**. Плотность клеток в свежем очаге ГЗТ невелика. Существенно, что среди Т-лимфоцитов в очаге доля антигенспецифичных клеток составляет 1/500 — 1/5000. Подобные соотношения характерны для иммунного ответа, как это не покажется странным: большинство лимфоцитов на месте любого иммунного воспаления — это антигеннеспецифичная «толпа», «сбежавшаяся» в очаг по «зову» хемокинов и молекул адгезии и по инициативе антигенспецифичных лимфоцитов.

Активированные макрофаги продуцируют IL-12, который является, возможно, главным «промотором» дифференцировки **Th1**.

ГЗТ названа *замедленной* потому, что между моментом попадания антигена в ткань и развитием характерного очага плотного воспаления проходит не менее 24—48 ч. После связывания антигена TCR **Th1** примерно 1 ч требуется для индукции первых биосинтезов цитокинов, а также синтеза и экспрессии на мембране молекулы CD40L. *Инфицированный* макрофаг имеет больше шансов вступить во взаимодействие с иммунным Т_H1, так как последний своим TCR свяжет антиген именно на поверхности макрофага и на него же направит свои интерферон и CD40L.

Если по каким-то причинам макрофаги не в состоянии

фагоцитировать и расщепить внедрившийся в ткани антиген и процесс иммунного воспаления по типу ГЗТ затягивается, то в тканях формируются так называемые *гранулемы*. Образование гранулем характерно для определенных инфекций, вызванных, например, *Mycobacterium tuberculosis*: при легочной форме туберкулеза гранулемы образуются в легких. В центре гранулемы — фиброзная ткань, по периферии — макрофагальный инфильтрат, можно наблюдать и синцитий из макрофагов. При трофической недостаточности центральные массы гранулем претерпевают некроз и размягчение, что патологи называют казеозным некрозом. Кроме того, гранулематозная болезнь, образование множественных гранулем в разных участках тела, развивается в результате генетических дефектов в макрофагах литических биохимических механизмов, когда макрофаги фагоцитируют, но не могут расщепить то, что фагоцитировали. Заболевание тяжелое, со временем, по мере накопления в макрофагах нерасщепленного «груза» (главным образом инфекционного происхождения — бактериального, грибкового, паразитарного), становится летальным.

Ингибиторами активации макрофагов являются цитокины TGF- β 1; IL-4, 10 и 13, т.е. продукты Th2.

Мыши с knock-out по генам IFN- γ и CD40L (два продукта Th1, необходимых и достаточных для активации макрофагов) и, следовательно, с дефектной активацией макрофагов погибают от сублетальных доз таких возбудителей, как *Mycobacteria* spp., *Leishmania* spp., *Vaccinia* vims.

8.2.4. Эффекторные механизмы работы нормальных киллеров

В разделе 5.12 мы привели характеристику таких лимфоцитов, как нормальные киллеры. По эффекторным функциям они являются киллерами, т.е. способны индуцировать апоптоз в клетках-мишенях, но, кроме того, как и всякие лимфоциты, продуцируют цитокины как минимум следующие: IFN γ , TNF, GM-CSF, IL-5, IL-8. Сами NK пролиферируют в ответ на сигнал от IL-2, функционально активируются в ответ на IL-12 и IFN γ . Кроме того, на NK есть рецепторы по крайней мере еще для IL-4, 10 и 15.

Напомним, что выделяют две субпопуляции NK — циркулирующие в крови и тканевые (в печени и децидуальной оболочке беременной матки). Они различаются мембранным фенотипом и функциональными обязанностями в организме: «кровяные» NK имеют фенотип CD56^{мало}/CD16⁺ и несут рецептор для Fc-фрагментов IgG. Благодаря наличию этого рецептора «кровяные» NK распознают инфицированные вирусом клетки, на поверхность которых сели антитела класса G против вирусных антигенов, и развивают в отношении этих клеток-мишеней антителозависимую клеточную цитотоксич-

Таблица 8.5. Эффекторные механизмы иммунитета при инфекциях разными типами инфекционных микроорганизмов и гельминтов

| Патоген | Примеры | Вызываемое заболевание | Факторы иммунитета, преимущественно обеспечивающие санацию от данной инфекции | | | | | |
|--------------------------|---|---|---|-----|-----|-----|----------------------|----------------------|
| | | | Th2 и иммуноглобулины того или иного класса | | | | ТГ и макрофаги (ТЗТ) | CD8 ⁺ ЦТЛ |
| | | | IgM | IgG | IgE | IgA | | |
| Вирусы | Герпес простой; вирус Эпштейна—Барр; вирус паротита, кори и др. Вирусы гриппа; вирусы полиомиелита | Ветрянка; герпес зостер; мононуклеоз; паротит; корь и др. | | + | | | | + |
| | | Грипп; полиомиелит | | + | | + | | + |
| Бактерии внеклеточные | Staphylococcus aureus | Фурункулез | + | + | | | | |
| | Streptococcus pyogenes | Тонзиллит | + | + | | | | |
| | Streptococcus pneumoniae | Пневмония | + | + | | | | |
| | Neisseria gonorrhoeae | Гонорея | | +/- | | | | |
| | Neisseria meningitidis | Менингит | | + | | | | |
| | Corynebacterium diphtheria | Дифтерия | | + | | | | |

| Патоген | Примеры | Вызываемое заболевание | Факторы иммунитета, преимущественно обеспечивающие санацию от данной инфекции | | | | | |
|-----------------------------|--------------------------|------------------------|---|-----|-----|-----|-----------------------|----------------------|
| | | | Th2 и иммуноглобулины того или иного класса | | | | Th1 и макрофаги (ГЗТ) | CD8 ⁺ ЦТЛ |
| | | | IgM | IgG | IgE | IgA | | |
| Бактерии внутриклеточные | Clostridium tetani | Столбняк | + | | | | | |
| | Treponema pallidum | Сифилис | | + | + | | | |
| | Borrelia burgdorferi | Болезнь Лайма | | + | + | | | |
| | Salmonella typhi | Брюшной тиф | | + | + | | | |
| | Vibrio cholerae | Холера | | | + | | | |
| | Legionella pneumophila | Болезнь легионеров | | + | | | + | |
| | Rickettsia prowazeki | Тиф | | | | | + | + |
| Грибы | Chlamydia trachomatis | Трахома | | | | | + | . |
| | Mycobacteria | Туберкулез; лепра | | | | | + | + |
| | Candida albicans | Кандидоз | | + | | | + | |
| Протозоа | Plasmodium spp. | Малярия | | + | | | + | |
| | Toxoplasma gondii | Токсоплазмоз | | + | | | + | |
| | Leishmania spp. | Лейшманиоз | | | | | + | |
| Гельминты | Trypanosoma spp. | Трипаносомоз | | + | | | | |
| | Schistosoma | Шистосомиаз | | | | | + | |
| | Neigmosomjides polygyrus | Энтерит | | | + | | | |

Примечание. «+» — определяется; +/- — может быть, может не быть.

Таблица 8.6. Протективные эффекторные механизмы иммунитета при различной локализации патогенов в организме

| Показатель | Локализация патогена | | | |
|------------------------------------|---|---|---|--|
| | внутриклеточная | | внеклеточная | |
| | в цитозоле | в везикулах | кровь, лимфа, межклеточное вещество | эпителиальные барьерные ткани |
| Примеры патогенов | Вирусы; протозоа; Chlamydia spp.; Rickettsia spp.; Listeria monocytogenes | Mycobacteria; Salmonella typhimurium; Leishmania spp.; Listeria spp.; Trypanosoma spp.; Legionella pneumophila; Cryptococcus neoformans; Histoplasma; Yersinia pestis | Вирусы; бактерии; протозоа; грибы; гельминты | Neisseria gonorrhoeae; Mycoplasma; Streptococcus pneumoniae; Vibrio cholerae; Escherichia coli; Candida albicans; Helicobacter pylori; гельминты |
| Механизмы протективного иммунитета | ЦТЛ CD8 ⁺ ; NK; Th1/ макрофаги (ГЗТ) | Активированные макрофаги (Th1, ЦТЛ, NK) | Антитела (нейтрализация; активация комплемента; опсонизация к фагоцитозу) | Антитела классов А и Е; воспалительные лейкоциты |

ность (АЗКЦТ). Собственно механизм убийства инфицированной клетки такой же, как у ЦТЛ, т.е. перфорин в месте контакта делает в мембране клетки-мишени поры, через которые впрыскиваются гранзимы, обеспечивающие развитие апоптоза. Значение этого механизма противовирусной защиты на уровне целого организма может быть не столь велико, так как есть наблюдения, хотя и немногочисленные, что у людей с генетически обусловленным полным отсутствием NK практически нет достоверно повышенной восприимчивости к вирусным инфекциям, нет и повышенной частоты злокачественных новообразований. Единственное клиническое наблюдение — несколько более тяжелое течение ранних стадий герпесвирусных инфекций.

NK тканевых субпопуляций имеют мембранный фенотип

Таблица 8.7. Механизмы повреждения тканей при инфекционных болезнях, включая иммунопатогенетический компонент

| Показатель | Прямое повреждение тканей организма продуктами патогена | | | Повреждение тканей организма по иммунопатогенетическим механизмам | | |
|-------------|---|---|--|--|--|--|
| | экзотоксины | эндотоксины | прямой цитопатогенный эффект | растворимые иммунные комплексы | антитканевые антитела | Т1 и/или CD8+ ЦТЛ |
| Патогены | Streptococcus pyogenes; Staphylococcus aureus; Corynebacterium diphtheriae; Clostridium tetani; Vibrio cholerae | Escherichia coli; Haemophilus influenzae; Salmonella typhi; Shigella; Pseudomonas aeruginosa; Yersinia pestis | Вирусы: Variola; Varicella zoster; Hepatitis B; Polio virus; Measles virus; Influenza virus; Herpes simplex | Hepatitis B; Plasmodium malaria; Streptococcus pyogenes; Treponema pallidum; многие другие возбудители острых инфекций | Streptococcus pyogenes; Mycoplasma pneumoniae | Mycobacterium tuberculosis; M. leprae; лимфотропный вирус хорио-менингита; ВИЧ; Borrelia burgdorferi; Schistosoma mansoni; HSV |
| Заболевания | Тонзиллиты; скарлатина; фурункулез; синдром токсического шока; пищевые отравления; дифтерия; столбняк; % холера | Сепсис, вызванный грамотрицательными бактериями; менингиты; пневмонии; тифоид; бациллярная дизентерия; раневая инфекция; чума | Smallpox; Chickenpox; Shingles; гепатит; полиомиелит; корь; подострый склерозирующий панэнцефалит; грипп; простуда | Гломеруло-нефриты; васкулиты | Ревматическая лихорадка; гемолитическая анемия | Туберкулез; лепра; асептический менингит; СПИД; артрит Лима (Lyme); шистоматоз; герпетический кератит |

Таблица 8.8. Основные механизмы биологической защиты от инфекций в разные периоды времени от момента заражения

| Локализация патогена, патоген | Период от момента заражения: | | |
|--|--|---|--|
| | 0-4 ч | до 4 сут | после 5 сут |
| В барьерных тканях | Выброс доиммунных цитокинов кератиноцитами; выброс факторов травмы (стресс-белков и heat-shock протеинов) и активация IEL, $T\gamma\delta$, макрофагов, нейтрофилов | Индукция локального воспаления $TNF-\alpha$ и $C5a$ | IgA ; IgE (в желудочно-кишечном тракте активизирует тучные клетки — контракильные и сосудистые реакции) |
| Во внутренней среде внеклеточные патогены | Фагоцитоз нейтрофилами и макрофагами; активация комплемента по альтернативному пути | Белки острой фазы (CRP, MBL); антитела $B-1$ -лимфоцитов; $T\gamma\delta$ | Антитела IgM (активация комплемента по классическому пути); антитела класса G (опсонизация к фагоцитозу) |
| внутриклеточные бактерии и грибы | Фагоцитоз макрофагами | Активированные макрофаги и активированные NK (факторы активации — микробные продукты и доиммунные цитокины: $TNF-\alpha$, $IL-1$, $IL-12$) | Макрофаги, активированные $IFN-\gamma$ из $Th1$ |
| вирусы | NK | $IFN-\alpha$ и $IFN-\beta$; NK, активированные $IL-12$ | $IFN-\gamma$ из $Th1$; $CD8^+$ ЦТЛ |

$CD56^{много}/CD16^-$. Возможно, что их главная физиологическая функция — киллерная в отношении активированных лимфоцитов. В печени эти NK убивают лимфоциты, принесенные из кишечника с кровью по *v. portae* и активированные на пищевые антигены. В результате обеспечивается иммунологическая толерантность к пищевым антигенам. В децидуальной оболочке беременной матки NK, возможно, убивают лимфо-

циты матери, которые оказались активированными в отношении аллоантигенов плода, что является одним из нескольких механизмов предотвращения иммунологических реакций матери, направленных против полуаллогенного плода.

Коль скоро санация макроорганизма от инфекций — главная эволюционная функция иммунной системы, приведем примеры эффекторных механизмов иммунитета, преимущественно привлекаемых к «работе» при инфекциях разного рода. В реальном мире разнообразие инфекционных микроорганизмов **неограничено**, они постоянно и быстро изменяются и «находят» способы стать незаметными или неуязвимыми для защитных механизмов многоклеточных. Есть и такие инфекционные патогены, которые в настоящее время «обыграли» защитные способности млекопитающих, считая лимфоцитарный иммунитет, можно сказать, на 100 %. Такие инфекции называют *неконтролируемыми медициной*. Но медицина, как правило, не контролирует как раз те болезни, которые не контролирует и природа человека. Примером таких инфекций в масштабах всего биологического вида «человек» являются ВИЧ-инфекция и, вероятно, прионные инфекции. В этих случаях человеку как единственная дана возможность *ментальной защиты* (табл. 8.5—8.7).

Есть такие микроорганизмы, которые, попав в организм млекопитающих и прижившись там, персистируют пожизненно, т.е. биологические защитные системы млекопитающих *не способны санировать* организм от таких инфектов. Одни из этих инфектов прогрессивно-дебилитирующие и киллерные (ВИЧ), другие инфекции имеют клинически латентные периоды с возможными обострениями, но человек при этом вне обострения трудоспособен [к возбудителям таких инфекций относятся герпес-вирусы (HSV, EBV, CMV), *Toxoplasma*, *Leishmania* и др.].

В табл. 8.8 приведены основные биологические механизмы защиты от разного рода инфекций в различные периоды от момента заражения.

Глава 9. ВЗАИМОСВЯЗИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ С НЕРВНОЙ И ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМАМИ

Взаимосвязи иммунной системы с такими интегрирующими системами, как нервная и эндокринная, с одной стороны, очевидны, с другой — такого рода явления в принципе нельзя изучить с такой степенью молекулярно-генетической детализации, как, например, функционирование лимфоцитов,

потому что лимфоциты можно «вынуть» из организма *in vitro* и *разложить* на составляющие гены и белки. Взаимодействующие же системы — нервную, эндокринную и иммунную — как целое можно изучать только *in vivo*. Организм же как целое содержит много компонентов, взаимно влияющих друг на друга, и желаемые выводы «после этого, значит вследствие этого» делать непросто и всегда остается неопределенная вероятность того, что «после этого — не значит вследствие этого».

Однако не анализировать взаимосвязи нервной и эндокринной систем с иммунной (по крайней мере врачу) еще более рискованно. В западных странах есть официальная врачебная специальность «психонейроиммунология». Но даже и не обязательно быть врачом, достаточно внимательно относиться к общечеловеческому жизненному опыту, чтобы увидеть взаимосвязь защитных возможностей организма человека в отношении инфекций (а это основная функция иммунной системы) с психическим, неврологическим и эндокринным статусом. Во время войн люди, которые в мирное время от «промоченных ног» заболели сразу, могли гораздо дольше выдерживать непогоду, оставаясь на ногах.

Если рассмотреть предмет на физиологическом уровне, то из одного того, что лимфоциты общаются со всеми остальными тканями (и друг с другом) не иначе, как мигрируя *сквозь* стенки *сосудов*, следует, что функционирование системы лимфоцитарного иммунитета зависит от состояния кровеносных сосудов. Ну, а нервная и эндокринная регуляция сосудов — классика общей физиологии, патологии, терапии, неврологии, хирургии и т.д.

Мы приведем лишь немногие факты конкретных морфологических, клеточных и молекулярных взаимодействий иммунной системы с нервной и эндокринной, отчасти такие факты уже рассматривались, например системные эффекты $TNF-\alpha$: в гипоталамусе есть рецепторы для $TNF-\alpha$. Есть и морфологические данные о прямых связях иммунной системы с нервной: на гистологических препаратах лимфоидных органов можно наблюдать окончания по крайней мере адренергических нервных волокон не только в стенках сосудов, но и паренхиме — в межклеточных пространствах и иногда в прямой связи с мембраной лимфоцита. На Т- и В-лимфоцитах и макрофагах выявлены и подсчитаны **холинергические** рецепторы мускаринового типа (блокируемые атропином). На лимфоцитах таких рецепторов около 200, а на макрофагах — 400 на клетку. Это на порядок ниже, чем на нейронах. Но зато константа связывания с лигандом холинергического рецептора на лимфоците около $10^9 M/l$ — на порядок выше, чем принято считать для нервной системы. На макрофагах нашли рецептор для **гипоталамического** кортикотропин-рилизинг-фактора (CRF). В культуре клеток *in vitro*, т.е. без посредни-

ков, CRF индуцирует в макрофагах биосинтез IL-1. Иммуно-ная система сопряжена с нервной еще и общими биосинте-зами нейропептидов. Функциональное значение этой общно-сти для организма в целом непонятно. Но факты таковы, что, например, макрофагальный цитокин IL-1 индуцирует в В-лимфоцитах (и только в них из лимфоцитов) биосинтез та-кого нейропептида, как β -эндорфин.

Взаимоотношения иммунной системы с эндокринной оче-видны «невооруженным глазом». Мы уже кратко, но касались особенностей функционирования иммунной системы у бере-менной самки: во время беременности самка *не отторгает* тканевый трансплантат самца-отца, но как только беремен-ность кончается, этот трансплантат тут же отторгается. Моле-кулярные механизмы этого феномена неизвестны, зато фено-мен природный, следовательно, достоверный. Роль гормонов, регулирующих обмен кальция, более чем существенна для иммунной системы, ибо практически все процессы активации лимфоцита кальцийзависимы.

Более других изучены взаимоотношения лимфоцитов и кортикостероидных гормонов. Не один десяток лет глюкокор-тикоидные гормоны применяют в качестве противовоспали-тельных *медикаментов*, причем при заболеваниях с очевидным вовлечением в патогенез иммунной системы (ревматические, аутоиммунные, аллергические болезни). Кортикостероидные гормоны облигатно вовлечены в лимфопоэз и иммуногенез. Источником этих гормонов, воздействующих на лимфоциты, являются не только *надпочечниковые* железы. Кортикостеро-иды синтезируют и эпителиальные клетки тимуса. Таким об-разом в тимусе создается нужная локальная концентрация этих гормонов, и в тимусе они необходимы для индукции *апоптоза* тимоцитов, отсекаемых позитивной и негативной селекцией (а это $\geq 95-99\%$ тимоцитов).

Главное действие *физиологических* концентраций системных глюкокортикоидов на лимфоциты в периферических тканях — тоже индукция апоптоза, *активированных* лимфоцитов. Глю-кокортикоиды являются исполнителями AICD-индуцирован-ной активацией клеточной смерти лимфоцитов. При нормаль-ном иммунном ответе в ранние сроки от начала его развития происходит активация *гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы* (ГГНС), что можно зарегистрировать лабораторны-ми методами выявления соответствующих гормонов. Наглядно эти процессы видны на экспериментальных моделях на гры-зунах, иммунизируемых суперантигенами. Если мышей двух линий Balb/c и C57B1/6J иммунизировать такими суперанти-генами, как энтеротоксины А и В стафилококка (соответствен-но SEA, SEB), для которых охарактеризованы соответствующие TCR, то можно наблюдать следующее. Известно, что у мышей линии Balb/c есть TCR, связывающий SEB, но нет

TCR, связывающего SEA. У мышей линии C57B1/6J, наоборот, есть TCR, связывающий SEA, но нет TCR, связывающего SEB. Если применить такую дозу энтеротоксина, которая бывает в крови при септическом шоке (т.е. заведомо действенную, но физиологическую), но ввести данный энтеротоксин животному, у которого нет соответствующего TCR, то активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы не будет. Если ту же дозу того же энтеротоксина ввести мышам, у которых есть соответствующий TCR, то произойдет выраженная активация ГГНС, т.е. активация ГГНС при иммунном ответе происходит после, *вторично и зависимо* от распознавания антигена лимфоцитами. Показано, что из лимфоцитов именно $CD4^+$ Т-клетки, *связавшие свой антиген* и получившие все необходимые костимуляторные сигналы, начинают активно продуцировать *TNF- α* . Этот цитокин через циркуляцию достигает гипоталамуса, в котором есть специфические для него рецепторы. Сигнал с этих рецепторов активирует продукцию кортикотропин-рилизинг-фактора, что в свою очередь активирует продукцию АКТГ в гипофизе и дальше «по оси» — кортикостероидов в надпочечниках.

Эксперименты показывают, что именно кортикостероиды вызывают апоптоз, т.е. физически элиминируют из организма активированные суперантигенами лимфоциты и тем самым «останавливают» деструктивный компонент иммунного ответа. Если тот же антиген при тех же условиях вводят адреналэктомизированному животному, то они умирают при явлениях разлитых воспалительных процессов, которые индуцированы цитокинами лимфоцитов, активированных суперантигеном. Смертность от SEB возрастает и в случае, если животному перед введением антигена вводят фармакологический антагонист глюкокортикоидов — препарат RU-38486.

Аналогичный вывод следует из опытов с крысами линии Lewis, у которых имеется генетически детерминированная гипореактивность (недостаточность) ГГНС. Эти крысы генетически предрасположены к хроническим лимфоцитзависимым воспалительным процессам. Гиперактивация иммунной системы (особенно системная), как при септическом шоке, потенциально детальна для их организма. Кстати, напомним, что острую летальность септического шока можно *купировать* одним только введением в адекватной дозе нейтрализующих антител к *TNF- α* (другое дело, если не убрать этиологический фактор — инфекцию, смерть наступит от прогрессивно развивающегося инфекционного процесса). Анализ этих данных обосновывает правильность клинической практики введения экзогенных фармацевтических препаратов глюкокортикоидного ряда при септическом шоке (или сравнимых состояниях). Синтетический аналог кортизола — преднизон (в ароматическом кольце введена одна лишняя двойная связь по

сравнению с природным гормоном) — примерно в 4 раза активнее природного гормона в качестве противовоспалительного средства.

В фармакологических концентрациях кортикостероиды вызывают следующие эффекты:

1) индуцируют в активированных лимфоцитах и эозинофилах эндонуклеазы, разрушающие ДНК в межнуклеосомных участках, что заканчивается апоптозом клеток;

2) ингибируют биосинтез IL-1, 3, 4, 5 и 8, TNF- α , GM-CSF, что соответственно приводит к снижению воспалительных процессов, зависящих от этих цитокинов;

3) ингибируют NO-синтазу, следовательно, снимают зависящую от оксида азота альтерацию тканей, включая стенку сосудов;

4) ингибируют фосфолипазу A_2 и циклооксигеназу 2-го типа, которые необходимы для синтеза простагландинов и лейкотриенов, следовательно, угнетаются воспалительные процессы и спазмы гладкой мускулатуры, зависящие от простагландинов и лейкотриенов;

5) ингибируют экспрессию молекул межклеточной адгезии, что приводит к снижению экстравазации лейкоцитов в очаги воспаления.

На самом деле описанными эффектами роль глюкокортикоидов не исчерпывается. Считают, что эти гормоны регулируют экспрессию не менее 1 % всех генов человека (а это очень много). Рецепторы для глюкокортикоидов локализованы не на наружной мембране клетки, а в цитоплазме, где они присутствуют в комплексе с белком теплового шока Hsp90. После того как стероид проникнет в цитоплазму и свяжет комплементарный рецептор, Hsp90 диссоциирует от комплекса, а гормон с рецептором транспортируется в ядро. В молекуле рецептора есть такие последовательности аминокислотных остатков, которые связываются со специфическими последовательностями в ДНК (генрегуляторными последовательностями), что приводит к активации транскрипции с определенных генов.

Наиболее очевидные побочные эффекты терапевтических доз глюкокортикоидов состоят в задержке в организме натрия, а следовательно, и воды, увеличении массы тела, симптомах диабета, потере минеральных веществ из костей, истончении кожи, следовательно, ухудшении ее барьерных свойств.

Эта часть неразрывно связана с частью I и, читая про патологию, имеет смысл все время возвращаться к одноименным и близкородственным рубрикам из части I. Часть II написана кратко в расчете на то, что устройство иммунной системы и даже многие моменты иммунопатогенеза заболеваний описаны в части I.

Глава 10. КЛАССИФИКАЦИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ С УЧАСТИЕМ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Вообще говоря, мы не знаем (и даже не можем себе представить) какого-либо патологического процесса в организме человека без вовлечения в него иммунной системы, поскольку она (лимфоциты) в организме «вездесуща». Иммунный ответ по сути всегда наступает только в случае нарушения целостности внутренней среды организма, при проникновении туда *патогена*, т.е. в патологической ситуации. Заметим, и позже к этому вернемся, что земная природа нестерильна и иммунная система в норме рассчитана на нестерильный образ жизни особи. Современный цивилизованный образ жизни значительной части городского населения развитых стран чересчур санирован, и это приводит к ненормальному *онтогенезу* иммунной системы и повышенной (причем значительно) частоте таких серьезных болезней, как аллергии.

Иммунный ответ опять-таки по сути — это ответ организма на патологический фактор, иммунный ответ — попытка преодолеть патологический фактор и элиминировать его из организма, т.е. *в норме* иммунный ответ начинается *всегда* в патологической ситуации, но является *стремлением к норме*. Однако так бывает только у здоровых людей (это со стороны организма) и только тогда, когда патогенный фактор (обобщенно говоря, *антиген*, или *патоген*, это с другой стороны)

по своим биологическим патогенным свойствам *не выходит за пределы* биологических защитных возможностей иммунной системы макроорганизма. Например, за пределы видовых биологических возможностей иммунной системы человека вышли ретровирусы из «породы» ВИЧ, поэтому заболеть ВИЧ-инфекцией может *каждый* человек (дай Бог, чтобы на самом деле были исключения), каким бы здоровым он не был до факта контакта с этой инфекцией. То же относится и к другим патогенным эпидемическим инфекциям. Отнюдь не является следствием иммунодефицита то обстоятельство, что конкретный человек в городской толпе заразился гриппом или гепатитом при медицинских манипуляциях или половом контакте и т.д., и т.д.

Понятие «иммунодефицит» у большинства населения и практикующих врачей отнюдь не четкое, но более расплывчатое, чем нужно для корректной и хотя бы не наносящей вреда терапевтической тактики. Считать ли иммунодефицитом отклонения лабораторных параметров от среднестатистических показателей, если при этом клиническое состояние человека как раз среднестатистическое для его возраста и образа жизни? Каковы особые клинические показания для выполнения лабораторных анализов параметров именно иммунной системы? Практически ответы на эти вопросы не столь очевидны, но все-таки они есть.

Современная иммунология уже может по крайней мере систематизировать знания по этому вопросу, что само по себе до некоторой степени проясняет ситуацию.

При постановке диагноза синдрома «иммунодефицита» в большинстве случаев на *первом плане* следует рассматривать клиническое состояние пациента и при этом в первую очередь обращать внимание на наличие или отсутствие так называемого *инфекционного синдрома*.

Инфекционный синдром — это рекуррентные и/или оппортунистические инфекции у пациентов вне очагов эпидемических инфекций. Преимущественная локализация проявлений инфекционного синдрома — система органов дыхания, затем ЖКТ, потом кожа (т.е. барьерные ткани). При контактах с возбудителями заразных болезней (туберкулез и др.) у людей с иммунодефицитом, очевидно, с повышенной частотой будут встречаться и такие болезни.

При определенных заболеваниях возможна доклиническая лабораторная диагностика иммунодефицита, например в случае ретровирусных синдромов иммунодефицита — СПИД. Более того, в таких случаях правильная лабораторная диагностика — единственный способ дифференциального диагноза.

Лабораторными методами это заболевание можно выявить (и начать правильно лечить) за 5—10 лет до клинической манифестации каких-либо симптомов.

Иммунодефициты — не единственный патологический процесс, касающийся состояния иммунной системы. В иммунной системе могут быть дефекты. Но и бездефектная иммунная система может участвовать в развитии патологических процессов. В последнем случае патологические процессы не следует рассматривать как болезни иммунной системы. Собственно *болезнь* — вне иммунной системы, но иммунная система, борясь с этой болезнью, «делает больно» организму. При этом в общем патогенезе заболевания можно и нужно выделять компонент *иммунопатогенеза*, ибо он нуждается и в специальной диагностике, и в специальной терапевтической коррекции — тактической и нередко медикаментозной.

Рассмотрим *варианты патологических процессов с участием иммунных реакций*. В «крупном» масштабе их 5.

- I. Собственно иммунная система здорова (полноценна)
 - II. В клетках иммунной системы есть генетические дефекты (первичные иммунодефициты)
 - III. Организм в целом подвергается тяжелому системному патогенному воздействию (шок, вирусные и бактериальные инфекции, психический дистресс, облучение и т.д.). → В иммунной системе развиваются дисфункции, в том числе возможен иммунодефицит (вторичный)
 - IV. Аутоиммунные болезни
 - V. Аллергические болезни
-

Проанализируем вариант I — собственно иммунная система *полноценна*. Под полноценностью иммунной системы мы понимаем то, что все ее органы анатомически нормально развиты, нормально экспрессированы молекулы адгезии, что обеспечивает нормальную рециркуляцию лимфоцитов, нормально проходят лимфопозы Т- и В-лимфоцитов и лейкопозы, все кроветворение в целом: все субпопуляции лимфоцитов и варианты лейкоцитов присутствуют в достаточных количествах и в правильных пропорциях. Следовательно, никаким лабораторным анализом «на иммунный статус» не выявить отклонений от нормы. Но человек при этом может болеть по причине (или с явлениями) именно болезненного или несостоятельного иммунного ответа.

Причины такого положения могут быть следующими.

1. Ни один человек, каким бы здоровым он сам себя не считал, не может иметь специфические антигенраспознающие рецепторы лимфоцитов ко всем «на свете» антигенам. Разно-

образии рецепторов велико, но, *конечно*, и *случайно*. Разнообразие патогенов еще более велико, контролируется отбором и развивается гораздо быстрее, чем эволюционирует биология человека. Если учесть еще и ограниченную емкость пептидсвязывающих возможностей молекул МНС (у отдельного человека есть *максимум* 12 вариантов молекул МНС-I и II вместе взятых), то станет понятной принципиальная уязвимость *любого человека* не к одной, так другой инфекции, т.е. возможности лучшей из биологических защит — иммунной системы — настолько очевидно ограничены, что не пристало нам бросать вызовы природе, а надо обращаться с ней и с собой с великой осторожностью.

Приведем известный молекулярно изученный пример с заболеваемостью малярией приезжих в районы центральной Африки. Инфекция эндемична для этих мест в течение длительного времени. Местные жители, однако, болеют, но в большинстве случаев выздоравливают. Среди приезжих смертность от малярии оказалась неожиданно (по сравнению с таковой у местных жителей) высока. Молекулярно-иммунологическое исследование, проведенное у населения и больных, выявило следующий факт. Среди местного населения с высокой частотой (следовательно, не случайно) встречается определенный аллель МНС-I — **HLA-B53**. Оказалось, что белок HLA-B53 благодаря своей биохимической структуре способен образовывать комплексы с пептидами малярийного плазмодия, которые являются протективными антигенами, т.е. на них у человека развивается иммунный ответ, обеспечивающий выздоровление. С другими вариантами молекул HLA протективные пептиды малярийного плазмодия комплексы не образуют, поэтому иммунного ответа на инфекцию нет. У местного населения аллель **HLA-B53** закрепился естественным отбором под давлением летальной малярии. Если приезжий человек, предки которого не испытывали давления малярии, не имеет аллеля HLA-B53, то, заразившись малярией, он будет болеть как *иммунодефицитная особь*, хотя в иных местах и в отношении других инфекций он отнюдь не иммунодефицитен. Это весьма существенный пример, так как дает возможность понять: иммунокомпетентность каждого конкретного человека *регионарно* адаптирована в ряду поколений (наследственно) к тому инфекционному давлению, которое веками было и остается характерным для регионарной природной среды обитания.

По микробной флоре в наибольшей степени различаются регионы, разделенные океанами, а также регионы с наиболее отличающимися климатическими характеристиками.

Прикладной медицинский вывод из этих данных состоит в том, что при такого рода иммунологической недостаточности особи *бессмысленна* вакцинация, бесполезна (и вред-

на) иммуностимуляция. Этиологически обоснованная терапевтическая тактика может состоять только в **ПРОТИВОМИКРОБНОЙ** химиотерапии, профилактическая — в **ПРАВИЛЬНОМ** поведении (взвесить «за» и «против» прежде, чем ехать в дальние края).

Непредставимость антигенов молекулами МНС проявляется и в случаях новых, быстро эволюционирующих инфекций (например, таких как ретровирусные), и в случаях нагрузки на организм слишком искусственных *неоантигенов* антропогенного происхождения, *отбор* на связывание с которыми идти *не мог*. К последним относятся синтетические химические соединения, продукты разложения мусора и сгорания топлива, неестественная экология жилища, искусственные пищевые добавки, лекарственные препараты и т.д. В таких условиях проявляется *несоразмерность* биологической природы организма (МНС, TCR, Ig) и антропогенных неовеществ внешней среды. **Философию не переспоришь: отсутствие соразмерности — патология по сути.** Если не реализуется природная программа развития иммунного ответа или даже развития иммунной системы как целого, то возникают дисфункции, в том числе такие варианты реакций иммунной системы, при которых преобладают не защитные процессы, а бессмысленное (не защитное) повреждение тканей. Современные врачи наблюдают эту ситуацию у значительного числа пациентов, например при аллергиях, при которых на биологически *безвредные* вещества (типа пыльцы березы, белков молока или рыбы) организм человека развивает *реакции*, от которых (не от пыльцы березы, а именно от *своей реакции* на нее) может погибнуть.

2. Вспомним, что финальная фаза *любого иммунного ответа* в норме деструктивная, т.е. на языке патологов — альтерация тканей и по сути воспаление того или иного рода. Поэтому на уровне эффекторных деструктивных процессов, которыми по смыслу заканчивается любой иммунный ответ, *переход нормы в патологию* может происходить по двум причинам.

Первая: количество антигена больше того *порога*, деструкция которого происходит «незаметно» для анализаторов центральной нервной системы, и мы в «норме» не **ВИДИМ**, а при «патологии» начинаем видеть *rubor, tumor, calor* и чувствовать *dolor et functio lesae*, т.е. передозировки патогенов (антигенов) болезненны для организма при самой сильной и здоровой иммунной системе. **Нарушение меры есть отклонение от нормы (патология) по сути.** Иммуностимуляция и в этом случае не только не показана, а противопоказана.

Вторая причина перехода «нормы в патологию» — это та же первая, только проявляющаяся в более поздние сроки: по мере прогрессирования первичного заболевания (инфекцион-

ного или лимфопролиферативного) в иммунной системе возникают сбои и со временем они могут нарастать, появляются и закрепляются «порочные круги» — нарушения в соотношении субпопуляций лимфоцитов, цитокинов, превышение износа лейкоцитов общевоспалительного назначения над их физиологической регенерацией. Нарушение «правильных» характеристик лимфоцитов и лейкоцитов может происходить системно, и тогда это можно выявить анализом периферической крови из вены. Но нарушения могут происходить и локально в той или иной ткани, например, на уровне изменений экспрессии молекул адрессинов на сосудах микроциркуляции в очаге.

В таких случаях при выраженной клинической симптоматике в очаге неадекватно анализировать субпопуляции лимфоцитов в венозной крови.

Таким образом, осмысленная оценка иммунного статуса человека возможна при тесном взаимодействии и взаимопонимании опытного клинициста и квалифицированной специализированной лаборатории. На кафедре иммунологии и в научно-исследовательском отделе иммунологии Российского государственного медицинского университета Л.В.Ковальчук, А.Н.Чередеев и их коллеги более 20 лет назад разработали логичную и экономически рентабельную тактику лабораторного анализа иммунного статуса. Эта тактика предлагает двухэтапное (или двухуровневое) обследование. Тесты 1-го уровня просты, немногочисленны и экономически доступны любому лечебному учреждению:

1) определение формулы крови (микроскопия на мазке и подсчет клеток в камере Горяева);

2) общеклинический анализ крови;

3) определение содержания иммуноглобулинов классов М, G и А в сыворотке крови;

4) в связи с появлением такого нового заболевания, как СПИД, к тестам 1-го уровня следует добавить анализ на ВИЧ-инфекцию.

Тесты 2-го уровня — это более детальное и углубленное исследование разных параметров:

1) мембранных маркеров тех или иных субпопуляций лимфоцитов и лейкоцитов;

2) пролиферативных свойств лимфоцитов в культурах in vitro с митогенами или аллоантигенами;

3) продукции тех или иных цитокинов в культуре клеток из периферической крови, пунктата костного мозга или иного биологического материала;

4) активности катаболических ферментов фагоцитов (миелопероксидазы, NO-синтазы, каталазы и др.) или совокупной функции расщепления в фагоцитах поглощенного материала;

5) *продукции биологически активных веществ эозинофилов* (ЕСР — эозинофильного катионного протеина и др.), *тучных клеток* (триптаза, гистамин) в крови, мокроте или смывах со слизистых оболочек;

6) *белков острой фазы* — маннансвязывающего лектина и С-реактивного протеина;

7) *белков системы комплемента*;

8) в случаях *аллергических болезней* — анализ общего и антигенспецифических IgE и дифференциально-диагностический анализ на аллергию (фадиатоп);

9) анализ на наличие тех или иных *аутоантител*;

10) *кожные пробы с антигенами на гиперчувствительность немедленного типа* при аллергодиагностике;

11) *кожные пробы на гиперчувствительность замедленного типа* на широко распространенные или вакцинные микробные антигены (стрептококковый, столбнячный, дифтерийный, туберкулин и т.п.).

Возможно применение и других тестов в зависимости от клинических показаний, наличия материальной базы и квалификации персонала. Но самое главное, что тесты 2-го уровня не надо выполнять все по списку. Их можно и нужно использовать избирательно в зависимости от клинических симптомов у больного. Результаты 1–2 анализов 2-го уровня могут показать, что в 3-м анализе уже нет необходимости или желательно проведение еще какого-нибудь одного определенного анализа.

Глава 11. ПЕРВИЧНЫЕ (ВРОЖДЕННЫЕ) ИММУНОДЕФИЦИТЫ

Первичные иммунодефицита (ПИД) — наследственные заболевания, этиология которых заключается в дефектах (делециях, транслокациях, точечных или блоковых мутациях) тех или иных генов. Если задуматься о генетическом контроле иммунного ответа и попытаться подсчитать, сколько генов контролирует иммунный ответ, то за несколько минут можно насчитать более 1000 генов и тогда поймешь, что конца не видно. Вспомним еще раз формулу иммунитета: иммунитет = распознавание антигена (лимфоциты) + деструкция (лимфоциты, лейкоциты, комплемент). Следовательно, клинические проявления недостаточности иммунитета будут при дефектах как в лимфоцитарном распознавании, так и в механизмах нелимфоцитарной деструкции, «наняемых» лимфоцитами. Суть, однако, в том, что без лимфоцитов, но при

Таблица 11.1. Синдромы первичных иммунодефицитов человека

| Нозология | Молекулярная аномалия | Дефект в иммунной системе | Локализация генетического дефекта в хромосомах | Чувствительность к инфекциям |
|--|---|--|--|------------------------------|
| ТКИН: дефект АДА | Дефицит аденозин-дезаминазы | Отсутствуют Т-, и В-лимфоциты | 20q 13.11 | Ко всем |
| ТКИН: дефект PNP | Дефицит пуридин-нуклеозидфосфорилазы | То же | 14q 11.2 | То же |
| ТКИН: синдром отелл (аминь-синдром) | Дефект генов рекомбинации ДНК Rag 1, Rag 2 | » » | ? | » » |
| ТКИН: аутосомный дефект репарации ДНК | ? | » » | Аутосома | » » |
| ТКИН: аутосомный | Дефект ZAP 70 (?) | » » | 2q 12 | » » |
| ТКИН: аутосомный | Дефект CD3 ε- и γ-генов | Отсутствуют Т-лимфоциты | | » » |
| ТКИН: Х-сцепленный | Дефект γ-цепи рецепторов для цитокинов (IL-2, 4, 7, 9, 13 и 15) | То же | Xq 13.1 | » » |
| Синдром Ди Джорджи (Di George) | ? | Аплазия тимуса, вариабельные количества Т-Н В-лимфоцитов | 22q 11 | » » |
| Синдром «голых» лимфоцитов: дефицит молекул МНС-I | Мутация в TAP (транспортере пептидов-антигенов) | Нет CD8 Т-лимфоцитов | 6 | Вирусным |
| Синдром «голых» лимфоцитов: дефицит молекул МНС-II | Один из вариантов — дефект СИТА | Нет CD4 Т-лимфоцитов | ? | Ко всем |

| Нозология | Молекулярная аномалия | Дефект в иммунной системе | Локализация генетического дефекта в хромосомах | Чувствительность к инфекциям |
|--|---|---|--|---|
| Синдром Вискотта — Олдрича (Wiskott — Aldrich) | Дефект гена WASP | Недостаточное образование антител к полисахаридным антигенам | Хр 11 | Инкапсулированные внеклеточные бактерии |
| Общий вариабельный иммунодефицит | ? Сцеплен с МНС вероятно локализован в МНС-III | Дефекты в антителопродукции | 6p 21 | Внеклеточные бактерии |
| Х-сцепленная агаммаглобулинемия Брутона | Дефект тирозинкиназы В-лимфоцитов (Btk) | Отсутствуют В-лимфоциты | Хq 22 | Внеклеточные бактерии, вирусы типа ЕСНО 19 |
| Х-сцепленный гапер-IgM- синдром | Дефект CD40L | Нет переключения биосинтеза классов иммуноглобулинов с М на другие изоотипы | Хq 26 | Внеклеточные бактерии |
| Селективный дефицит IgA | (?) Возможно, сцеплен с МНС | Отсутствует или мало IgA | 6p 21 | В 50 % случаев бессимптомен, в 50 % - респираторные инфекции |
| Дефициты в системе комплемента: недостаточность компонентов C1, C2, C3, C4 | Недостаточность C1, C2, C3, C4 | Отсутствуют C1—C4 компоненты комплемента | C1q - 1p 34.1; C1r - 12p 13; C1s - 12p 13; C2 - 6p 21.3; C3 - 19; C4 - 6p 21.3 | Пиогенные инфекции; болезни иммунных комплексов; системный васкулит (системная красная волчанка), гломерулонефрит |
| Недостаточность компо- | Недостаточность фак- | Недостаточность фак- | C5 - 9q 32; | Внеклеточные бакте- |

| Нозология | Молекулярная аномалия | Дефект в иммунной системе | Локализация генетического дефекта в хромосомах | Чувствительность к инфекциям |
|--|---|---|---|---|
| нентов компонента C5, C6, C7, C8, C9, пропердина и фактора D | генов C5, C6, C7, C8, пропердина, фактора D | генов C5, C6, C7, C8, пропердина и фактора D | C6 - 5h; C7 - 5h; C8 - 1p 34(α, β; 9q (γ); пропердин — в Xq 11.23; фактор D (?) | рии, чаще других Neisseria spp. |
| Недостаточность фактора DAF | Недостаточность фактора DAF | Недостаточность фактора DAF | ? | Внутрисосудистый гемолитический эритроцитоз, приводящий к пароксизмальной ночной гемоглобинурии |
| Недостаточность ингибитора C1 | Недостаточность ингибитора C1 | Недостаточность ингибитора C1 | 11p 11.2 - 11q 13 | Наследственный ангионевротический отек. Возможны васкулиты и пиогенные инфекции |
| Дефицит NK | ? | Нет функционально дееспособных NK | ? | Герпесвирусные инфекции |
| X-сцепленный лимфопролиферативный синдром | ? | Иммунодефицит, инициируемый вирусом Эпштейна—Барр (EBV) | Xq 25 | EBV |
| Атаксия—телеангиэктазия | Ген, гомологичный гену PI-3-киназы | Снижено количество T-лимфоцитов | 11q 23 | Респираторные инфекции |
| XГБ: X-сцепленная | Ген gp91-phox | | Xp 21.1 | |

| Нозология | Молекулярная аномалия | Дефект в иммунной системе | Локализация генетического дефекта в хромосомах | Чувствительность к инфекциям |
|--|-----------------------|---------------------------|--|------------------------------|
| ХГБ: аутосомная | Ген p47-phox | | 7q 11.23 | |
| ХГБ: аутосомная | Ген p67-phox | | 1q 25 | |
| ХГБ: аутосомная | Ген p22-phox | | 16q 24 | |
| Синдром Чедиака—Хигаси (Chediak—Higashi) | LYST | | ? | |
| Дефицит маннозосвязывающего протеина (МВР) | | | | |
| Дефекты адгезии лейкоцитов | Дефицит CD18 | | 21q 22.3 | |

Примечание. ТКИН — тяжелая комбинированная иммунологическая недостаточность; ХГБ — хроническая гранулематозная болезнь.

полной сохранности лейкоцитов и комплемента никакого иммунного ответа не бывает: одни, без лимфоцитов, механизмы доиммунной клеточной и гуморальной резистентности не справляются с реальным, непрерывно меняющимся множеством инфекционных микроорганизмов и гельминтов, а также искусственными пищевыми добавками и лекарственными веществами. Клиническая симптоматика и адекватные лабораторные анализы позволяют дифференцировать патологию на уровне лимфоцитов и патологию на уровне нелимфоцитарных механизмов деструкции и выведения антигенов.

Частным анализом состояния всех или не всех генов, контролирующих иммунный ответ у конкретных людей, никто в мире не берется заниматься, да это и не представляется осмысленным. За последние 48 лет идентифицировано немного синдромов первичных иммунодефицитов (табл. 11.1).

Частота ПИД в целом составляет 1 случай на 10 000—100 000 живых новорожденных. Селективный дефицит IgA встречается гораздо чаще — 1 на 500—1500 жителей основной популяции.

Главный клинический дефект при ПИД соответствует основной природной функции иммунитета и состоит в *инфек-*

ционных заболеваний. Поскольку до начала второй половины нашего века человечество жило без антибиотиков, то детская смертность от инфекций была обычным явлением и на фоне высокой детской смертности от инфекций врачи не выделяли ПИД, да и иммунология была слабо развита. Только между 1920 и 1930 гг. в медицинской литературе впервые стали появляться описания болезней, которые позже поняли как ПИД. Первая же нозология была идентифицирована в 1952 г. английским врачом Брутоном (**Bruton**), который при электрофорезе сыворотки крови больного ребенка обнаружил полное отсутствие у-глобулинов (т.е. иммуноглобулинов). Заболевание получило название агаммаглобулинемии Брутона. Позже стало ясно, что патология сцеплена с хромосомой X, ее современное название — X-сцепленная агаммаглобулинемия Брутона (XLA — X-linked agammaglobulinemia).

ПИД классифицируют самым простым образом.

1. Синдромы с дефицитом антител.
2. Синдромы с дефицитом Т-лимфоцитов.
3. Комбинированные Т- и В-дефициты.
4. Синдромы с дефицитом компонентов комплемента.
5. Синдромы с дефектами в НК.
6. Синдромы с дефектами фагоцитов.
7. Синдромы с дефектами молекул адгезии.

Главным клиническим «лицом» ПИД является так называемый *инфекционный синдром* — повышенная восприимчивость к инфекциям вообще, рекуррентное течение инфекционных болезней, необычно тяжелое клиническое течение, атипичные возбудители (часто оппортунистические). Большинство ПИД манифестирует в раннем детстве. Подозрение на ПИД возникает, если маленький ребенок болеет инфекционными заболеваниями более 10 раз в год. У детей с ПИД инфекции могут принять *персистирующий* характер. Следует обращать внимание на отставание по возрастным показателям развития, рекуррентные синуситы, отиты, пневмонии, диареи, мальабсорбцию, кандидозы. При физикальном осмотре можно выявить отсутствие лимфатических узлов, миндалин. Если клинические данные наводят на подозрение о ПИД, то выполняют следующие лабораторные исследования:

- 1) анализ на ВИЧ-инфекцию;
- 2) определение формулы крови;
- 3) определение уровней IgG, IgA и IgM в сыворотке крови;
- 4) кожные пробы ГЗТ на банальные антигены, разработаны специальные тест-системы типа СМІ Multitest™ (антигены столбнячный, дифтерийный, стрептококковый, туберкулин, *Proteus mirabilis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans*);
- 5) если надо, подсчет субпопуляций Т- и В-лимфоцитов;

6) по специальным показаниям анализ состояния фагоцитов (наиболее простой и информативный анализ — тест на восстановление тетразолиевого голубого красителя);

7) по специальным клиническим показаниям анализ на содержание компонентов комплемента (начинают с С3 и С4);

8) молекулярно-генетические исследования, если есть смысл (т.е. конкретные перспективы на генную терапию) и средства.

Анализы выполняют не все сразу, а шаг за шагом, по мере того, как врачу удастся или не удастся распознать нозологию. Все анализы дорогостоящи и «лишних» делать не принято.

11.1 Первичные иммунодефицита с дефектами иммуноглобулинов

Х-сцепленная агаммаглобулинемия Брутона. Болеют мальчики, у которых матери — носители дефектной хромосомы X. Дефектен *один* ген в хромосоме X (Xq 22), кодирующий В-лимфоцитспецифичную протеинтирозинкиназу (обозначена в честь Брутона как **Btk**), гомологичную представителям семейства тирозинкиназ Src.

Лабораторные данные. Отсутствуют периферические В-лимфоциты. В костном мозге есть пре-В-клетки с μ -цепью в цитоплазме. В сыворотке **IgM** и **IgA** не определяются, **IgG** может быть, но мало (40—100 мг/дл). Анализ на антитела к соответствующим антигенам групп крови и на антитела к вакцинным антигенам (столбнячному токсину, дифтерийному токсину и др.) показывает их отсутствие. Число Т-лимфоцитов и функциональные тесты на Т-лимфоциты в норме.

Клиническая картина. Если семейный анамнез родителям и врачу неизвестен, то диагноз в среднем становится очевидным к возрасту 3,5 года. Для заболевания характерны тяжело протекающие пиогенные инфекции, инфекции верхних (синуситы, отиты) и нижних (бронхиты, пневмонии) дыхательных путей, могут быть гастроэнтериты, пиодермии, септические артриты (бактериальные или хламидиозные), септицемия, менингиты, энцефалиты. Синопульмонарные инфекции чаще всего вызваны *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*. Диареи вызываются кишечными бактериями или *Giardia lamblia*. Из вирусных инфекций типичны инфекции нейротропными вирусами ЕСНО 19, которые вызывают персистирующий менингоэнцефалит. У больных детей в случае иммунизации их живой полиовакциной, как правило, наблюдают продолжительное выделение через слизистые оболочки вируса полиомиелита, причем с *восстановленной и нарастающей вирулентностью* (т.е. в детском коллективе реальна опасность заражения здоровых детей поли-

омиелитом в результате контакта с вакцинированным иммунодефицитным ребенком). У таких детей при внешнем осмотре обращают на себя внимание отставание в росте, пальцы в виде барабанных палочек, изменение формы грудной клетки, характерные для заболеваний нижних дыхательных путей, гипоплазия лимфатических узлов и миндалин. При гистологическом исследовании лимфоидной ткани — отсутствие герминативных центров и плазматических клеток.

Лечение. 1. Противомикробная химиотерапия. 2. Заместительная терапия: внутривенные инфузии донорских препаратов сывороточных иммуноглобулинов каждые 3-4 нед пожизненно. Дозы препаратов иммуноглобулинов подбирают так, чтобы создать в сыворотке больного концентрацию иммуноглобулинов, перекрывающую нижнюю границу возрастной нормы.

Возможность генетической терапии обсуждается. Ген *Btk* клонирован, но есть данные, что овер-экспрессия этого гена ассоциирована со злокачественной трансформацией гемопоэтической ткани.

X-сцепленная агаммаглобулинемия с синдромом гипер-IgM. Болеют мальчики, матери которых — носительницы дефекта. Молекулярный дефект с некоторой степенью предположительности касается гена *CD40*-лиганда. Недостаточность экспрессии *CD40L* в Т-лимфоцитах приводит к невозможности переключения синтеза классов иммуноглобулинов в В-лимфоцитах с М на все остальные изотипы.

Лабораторные данные. IgG, IgA, IgE не определяются или их очень мало. Уровень IgM повышен, может быть значительно. Как правило, IgM поликлональны, иногда моноклональны. В лимфоидной ткани отсутствуют герминативные центры, но есть плазматические клетки.

Клиническая картина. Рекуррентные бактериальные инфекции, включая оппортунистические (*Pneumocystis carinii*). Могут быть лимфаденопатия и спленомегалия. Похожую клиническую картину описывают для предположительно аутосомного типа наследования патологии, а также для некоторых случаев патологии детей, перенесших внутриутробную инфекцию вирусом краснухи.

Лечение. Аналогично лечению агаммаглобулинемии Брутона, т.е. антимикробная химиотерапия и регулярные пожизненные инфузии препаратов донорских сывороточных иммуноглобулинов.

Общий переменный иммунодефицит. Этот синдром может впервые манифестировать как в раннем детстве, так и подростковом возрасте или у молодых людей. Молекулярный дефект точно неизвестен. Прослеживается его сцепление с МНС-III.

Лабораторные данные. Существенно снижены уров-

ни IgG и IgA, примерно у 50 % больных — и IgM (вплоть до полностью неопределимых количеств). Число В-имфоцитов в крови может быть в норме или снижено. Число Т-лимфоцитов у большинства больных в норме. Способность вырабатывать специфические антитела в ответ на иммунизацию снижена или отсутствует.

Клиническая картина. Рекуррентные бактериальные инфекции, преобладает синопульмонарная локализация. К моменту постановки диагноза пульмонарные инфекции могут прогрессировать до бронхоэктазов и разлитых поражений легочной ткани. Возможны гастроинтестинальные инфекции с диареей, стеатореей и мальабсорбцией (соответственно потеря массы тела). Часто встречается инфекция, вызванная *G.lambliа*. От агаммаглобулинемии Брутона переменный иммунодефицит отличают следующие признаки: более поздний возраст манифестации; равное распределение по полу; возможны тенденции к дефектному функционированию и Т-лимфоцитов; тенденция к развитию аутоиммунной патологии; повышенная частота лимфом; повышенная частота инфекций *Herpes zoster* и *Pneumocystis carinii*.

Лечение. Антимикробная химиотерапия. При неэффективности заместительная терапия внутривенными препаратами донорских иммуноглобулинов (по мере необходимости).

Дефицит IgA. При наличии иммуноглобулинов других классов он встречается с высокой частотой в основной популяции населения: 1 случай на 500—1500 жителей. Естественно, что бывают ассоциации дефицита IgA с другой патологией (с нарушениями в биосинтезе IgG, аномалиями Т-лимфоцитов и др.). Недостаточность IgA может быть частичной (30 % случаев) или полной (70 % случаев). Дефицит субкласса IgA2 приводит к более выраженной клинической патологии, чем дефицит субкласса IgA1. Молекулярный дефект точно не известен.

Клиническая картина. В 50 % случаев никаких специфических клинических проявлений нет, в 50 % — рекуррентные инфекции верхних дыхательных путей. У пациентов с аллергиями дефицит IgA встречается чаще, чем у остального населения. Соответственно у таких пациентов имеется клиническая картина аллергического заболевания.

Лечение. В бессимптомных случаях никакого специального лечения не требуется; в симптоматических случаях — противинфекционная химиотерапия и симптоматическое лечение сопутствующей патологии. При селективном и полном дефиците IgA не показана заместительная терапия донорскими иммуноглобулинами, так как, во-первых, трудоспособность человека может быть поддержана и без этого; а во-вторых, поскольку выработка иммуноглобулинов других изотипов у пациента сохранена, высока вероятность образования у

реципиента антиизотипических анти-IgA-антител и обусловленные этим трансфузионные осложнения.

Селективный дефицит IgM. Редко у пациентов с рекуррентными, тяжело протекающими бактериальными инфекциями при лабораторном анализе обнаруживают отсутствие или существенный дефицит IgM при наличии иммуноглобулинов других классов. Детально эта патология не охарактеризована.

Селективный дефицит субклассов IgG. Иногда при нормальном уровне в крови общего IgG имеется дефицит или полное отсутствие определенных субклассов IgG. Например, с дефицитом IgA бывает ассоциирован дефицит IgG2 и IgG4 или при нормальном уровне IgA есть дефицит пары IgG2 и IgG4. У некоторых людей это клинически не проявляется. Иногда поводом для анализа субклассов IgG являются рекуррентные инфекции. Известна тенденция к биохимическому разделению «обязанностей» антител разных субклассов IgG: в ответ на белковые антигены вырабатываются преимущественно антитела изотипов IgG1 и IgG3, а на полисахаридные антигены (среди которых антигены пневмококков и *H.influenza*) - IgG2.

При молекулярно-генетическом исследовании нескольких семей обнаружены делеции С-генов тяжелых цепей иммуноглобулинов в хромосоме 14.

Отсутствие легкой цепи к. Описано две семьи, у членов которых все иммуноглобулины содержали только легкую цепь λ , цепь к отсутствовала. Обнаружена точечная мутация в хромосоме 2p 11, несущей ген к. Количество В-лимфоцитов у этих людей было в норме, уровень иммуноглобулинов — в норме или снижен. Четкой клинической картины нет.

Дефицит функций антител при нормальном уровне иммуноглобулинов. В некоторых случаях при рекуррентных и бактериальных инфекциях методом Манчини определяют нормальные уровни иммуноглобулинов. Специальные клинические исследования, проведенные в группе таких больных, показали, что если их специально иммунизировать стандартными вакцинными препаратами (например, столбнячным токсидом, полисахаридами пневмококков, дифтерийным токсидом), то индукции синтеза специфических антител не происходит, т.е. в крови присутствуют «бессмысленные», антигеннеспецифичные иммуноглобулины. В тяжелых клинических случаях, не поддающихся интенсивной противoinфекционной химиотерапии, показана инфузия донорских иммуноглобулинов (несмотря на наличие в крови своих иммуноглобулинов, но не антител).

Транзиторная гипогаммаглобулинемия у детей. У здоровых новорожденных минимальный уровень иммуноглобулинов в крови устанавливается к 3-месячному возрасту: к этому времени значительная часть иммуноглобулинов материнского происхождения, попавших к ребенку внутриутробно через

плаценту, распадается, а выработка собственных иммуноглобулинов только начинается. С 3 мес нарастание в крови уровня иммуноглобулинов происходит уже «собственными силами» ребенка. У некоторых детей, однако, выработка собственных иммуноглобулинов может задерживаться и становится определяемой только к 1,5—3 годам. Не все, но некоторые такие дети страдают все от тех же рекуррентных бактериальных инфекций. Тем не менее в терапевтической тактике надо как можно дольше пытаться обойтись без инфузий донорских иммуноглобулинов: *врач не должен забывать, что даже однократное введение* препаратов донорской крови «определяет» пациента *в группу риска* по ретровирусным (ВИЧ и др.) и прионным инфекциям. В случае, если пациент — ребенок, возможность этого ятрогенного риска должна быть обдумана с предельной ответственностью, коллегиально и самым основательным образом, так как действие врача по сопутствующему заражению кровяными инфекциями *необратимо* для пациента.

11.2. Первичные иммунодефициты с дефектами Т-лимфоцитов

Тяжелые комбинированные иммунодефициты (**ТКИД**) (SCID — severe combined immunodeficiencies). Несколько разных известных генетических дефектов приводят к клиническому синдрому ТКИД. Очень важно как можно раньше распознать такую патологию у новорожденных, так как для них фатальна, например, иммунизация живыми вакцинами.

Обычно клинический диагноз становится ясен в первые 6 мес жизни. В клинической картине на первом плане тяжелый инфекционный синдром и отставание в развитии. Возбудители инфекций — из разных таксономических групп: грибы (*Candida*, *Pneumocystis carinii*), бактерии, вирусы. Пневмония часто вызвана *P. carinii*, диареи — ротавирусами, *Campylobacter*, *Giardia lamblia*. Нередко манифестирует вирусный гепатит.

Лабораторные данные. Варибельная, иногда глубокая лимфопения; лимфоциты не способны пролиферировать в ответ на специфический антиген; часто выраженное снижение уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови.

На рентгенограмме грудной клетки отсутствует тень тимуса.

Молекулярные дефекты. В 60 % случаев ТКИД патологический ген — ген α -цепи рецепторов для цитокинов, локализованный в хромосоме X (Xq 13); около 15 % случаев ТКИД — в результате дефекта гена фермента метаболизма пуринов аденозиндезаминазы (АДА); около 2 % случаев — в результате дефекта гена пуриннуклеозидфосфорилазы (**PNP**); в остальных случаях — в результате дефектов генов, регулирующих перестройку ДНК, Rag 1 и Rag 2, генов сигналпро-

водящих полипептидных цепей ϵ и I у комплекса CD3, гена протеинтирозинкиназы ZAP 70, ассоциированной с сигнальным проводящим ζ -пептидом комплекса TCR.

X-сцепленный ТКИД. Болеют, естественно, мальчики. Молекулярный дефект — мутантный ген у-цепи рецепторов для цитокинов (IL-2, 4, 7, 9 и 15), локализованный в хромосоме X (Xq 13). У пациентов мало или отсутствуют Т-лимфоциты, но количество В-лимфоцитов не ниже нормы. При этом, однако, имеется выраженная гипогаммаглобулинемия.

Лечение. Трансплантация HLA-совместимого костного мозга. Выживаемость в случае приживления донорского костного мозга — 50—60 %.

Здесь отметим, но это будет относиться *ко всем вариантам ТКИД*: при трансплантации костного мозга больным с тяжелыми иммунодефицитами, кроме подбора совместимых донора и реципиента по HLA, обязательной процедурой является удаление перед трансплантацией из донорского костного мозга Т-лимфоцитов во избежание такого осложнения, как «реакция трансплантат против хозяина» (РТПХ). Напомним, кстати, что совместимость по HLA необходима не для профилактики отторжения костного мозга реципиентом (ему отторгать нечем), а для достижения цели — создания иммунокомпетентности реципиента: позитивная селекция Т-лимфоцитов в тимусе идет на МНС, экспрессированных на эпителиальных клетках тимуса (т.е. на МНС *реципиента*), а антигенпредставляющие клетки на периферии (дендритные, В-лимфоциты, макрофаги) — костномозгового происхождения (т.е. *от донора*). Если совпадения по МНС не будет, то Т-лимфоциты *не будут* узнавать антигены и, следовательно, иммунодефицит останется и при наличии прижившихся костномозговых клеток донора.

ТКИД с дефицитом аденозиндезаминазы (АДА). В отсутствие этого фермента в клетках накапливается токсичный полупродукт метаболизма пуринов — дезоксиаденозин. Больше других от этого страдают лимфоциты. Клинические признаки ТКИД (рекуррентные респираторные инфекции, диареи, отставание в развитии), как правило, очевидны к 2—3-месячному возрасту младенца. При лабораторном обследовании обнаруживают отсутствие и Т-, и В-лимфоцитов и иммуноглобулинов соответственно. Сохранены NK-клетки. Анализ на наличие АДА проводят в эритроцитах или лимфоцитах.

Лечение. 1. Инъекции 3 раза в неделю препарата АДА крупного рогатого скота, конъюгированной с полиэтиленгликолем (PEG-ADA), могут поддерживать жизнеспособность пациента в течение нескольких лет; 2. Трансплантация костного мозга от HLA-совместимого донора; 3. Регулярные трансфекции гена АДА в лимфоциты периферической крови (есть случаи успеха такой терапии).

ТКИД с дефектом ZAP 70. Клиника этого варианта ТКИД такая же, как и при других ТКИД. Отличительным *лабораторным признаком* является отсутствие $CD8^+$ Т-лимфоцитов, но наличие подчас значительных количеств $CD4^+$ Т-лимфоцитов, которые, однако, функционально недееспособны. Это указывает на то, что при внутритимической дифференцировке субпопуляция $CD8^+$ зависит от работы киназы ZAP 70, тогда как по крайней мере экспрессия молекулы $CD4^+$ может произойти и без работы ZAP 70.

Лечение. Симптоматическое.

Синдром «голых лимфоцитов» (bare lymphocyte syndrome). Так называют патологию, при которой в организме не экспрессируются молекулы МНС-I или II. Мы уже анализировали это явление в разделе, посвященном МНС (раздел 5.5). У больных, у которых не происходит экспрессии молекул МНС-I, полностью отсутствуют $CD8^+$ Т $\alpha\beta$ -лимфоциты, у больных с отсутствием экспрессии молекул МНС-II нет $CD4^+$ Т-лимфоцитов. Охарактеризовано несколько молекулярных дефектов, приводящих к таковой патологии, все эти дефекты — в регуляторных генах.

Клинически синдромы «голых» лимфоцитов — это ТКИД. **Лечение** симптоматическое.

Синдром Ди Джорджи. Этот синдром — компонент комбинированного порока развития, возникающего при делеции в хромосоме 22 (22q 11). Диагностика для опытного врача не представляет затруднений в связи с выраженностью симптомов. Иммунодефицитный компонент как всегда представлен рекуррентными, тяжело протекающими инфекциями. К остальным порокам относятся гипопаратирозидизм (гипокальциемия и как следствие тетания, заметная на 1—2-й день после рождения); кардиоваскулярные пороки (правый разворот дуги аорты, стеноз правого желудочка, дефекты в межжелудочковой и межпредсердной перегородках, тетрада Фалло, атрезия или гипоплазия легочной артерии); гипоплазия или аплазия тимуса; впадина неба; характерное лицо. При лабораторном обследовании количество Т- и В-лимфоцитов у разных больных значительно варьирует.

Лечение симптоматическое.

Иммунодефицит, сцепленный с гипоплазией хрящей (карликовость) и волос. Молекулярный дефект этой патологии не изучен. Клинически больные дети имеют повышенный риск заболевания герпесвирусными инфекциями, некоторые пациенты тяжело страдают от рекуррентных детских инфекций разного рода. Иногда для лечения вынужденно применяют трансплантацию костного мозга.

X-сцепленный лимфопролиферативный синдром. Точный механизм молекулярной патологии неизвестен. В хромосоме X (Xq 25) есть некие гены, «виновные» в тяжелом течении

инфекции, вызванной вирусом Эшптейна — Барр (EBV) у мальчиков, которым досталась такая хромосома от матери-носительницы. Острая первичная EBV-инфекция прогрессирует с развитием тяжелого поражения печени с частыми смертельными исходами. Если мальчик выживает, то в дальнейшем нередко развиваются стойкая гипогаммаглобулинемия, инфильтраты в лимфатических узлах, селезенке, печени, центральной нервной системе. Среди отсроченных последствий — повышенная частота лимфом.

Лечение. Противовирусная химиотерапия (ганцикловир или другие противогерпетические препараты) и симптоматическая терапия.

Атаксия — телеангиэктазия. Это синдром с весьма гетерогенным фенотипом. Молекулярный дефект охарактеризован как мутация гена ATM, кодирующего протеин, гомологичный фосфатидил-инозитол-3'-киназе. Этот протеин имеет отношение к контролю клеточного цикла, рекомбинациям ДНК в мейозе, трансдукции митогенных сигналов. Поэтому при синдроме атаксии — телеангиэктазии необычайно высока частота новообразований, нередко становящихся непосредственной причиной летального исхода.

Симптом атаксии можно обнаружить у ребенка уже в 2—4-месячном возрасте. Телеангиэктазы на носу, ушах, конъюнктиве появляются несколько позже. Иммунодефицит проявляется в виде снижения выработки иммуноглобулинов изотипов IgA, IgE, IgG2, при этом возникает соответствующая инфекционная клиническая симптоматика. Число Т-лимфоцитов у большинства пациентов нормальное.

Лечение симптоматическое.

Синдром Вискотта — Олдрича (Wiskott — Aldrich). Это X-сцепленный синдром комбинированного клеточно-гуморального иммунодефицита, характеризующегося триадой клинических признаков: тромбоцитопенией, экземой и рекуррентными инфекциями.

Молекулярный дефект отчасти охарактеризован. В Xp 11 картирован ген, названный WAS (от Wiskott — Aldrich syndrome). Мутации в WAS ассоциированы с аномальной экспрессией молекулы CD43, про которую известно, что она является лигандом для ICAM-1, но выполняет антиадгезивную функцию. Молекула CD43 имеет длину порядка 45 нм (это очень *длинная* молекула). Она экспрессирована на нейтрофилах и Т-лимфоцитах. Недавно выделен еще один характерный для данного синдрома ген — WASP, который кодирует белок с молекулярной массой 65 000 и необычно большим содержанием пролина. Этот ген экспрессирован в лимфоцитах, ткани селезенки и в тимоцитах. Функция его неизвестна. Гомологий с другими белками пока не выявлено.

Лабораторные показатели. Тромбоцитопения,

тромбоциты меньшего размера, чем у здоровых людей. Уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови снижен в разной степени у различных пациентов (особенно IgM), при этом количество IgE повышено. Число Т-лимфоцитов у разных пациентов варьирует.

Лечение симптоматическое.

11.3. Заболевания с дефектами фагоцитов

Хроническая гранулематозная болезнь (ХГБ). ХГБ развивается в детском возрасте в результате генетических метаболических дефектов в фагоцитах (макрофагах, нейтрофилах). Фагоциты способны фагоцитировать патогены, но не могут убить и расщепить их внутри себя. В результате фагоциты становятся живыми «складами» жизнеспособных инфекционных микроорганизмов. Поскольку нейтрофилы короткоживущие клетки (несколько часов), при их гибели неубитые бактерии «вытекают» в очаг. Макрофаги — долгоживущие клетки, и они (моноциты) стекаются к очагу в повышенных количествах, это и создает *гранулемы*, фагоцитируют, что могут, но убить микроорганизмы они также не в состоянии [дефектный ген(ы) общий у всех клеток организма].

Охарактеризовано несколько генетических дефектов, приводящих к развитию ХГБ. Все они относятся к никотинамидадениндинуклеотидфосфатоксидазной системе генерации активных форм кислородных радикалов (NADPH-оксидаза). NADPH-оксидаза состоит из 4 компонентов, 2 из которых цитозольные — p47-phox и p67-phox, и 2 — мембраносвязанные с флавоцитохромом b558 — gp91-phox и p22-phox. Дефект любого из этих компонентов приводит к развитию ХГБ; 90 % реальных случаев ХГБ связано с мутациями в генах p47-phox и gp91-phox.

Лечение. Антибиотикотерапия (особенно триметопримом и сульфаметоксазолом). Недавно в клинических испытаниях показана эффективность терапии INF- γ : в группе пациентов с ХГБ, получающих этот препарат, 70 % больных не имели тяжелых проявлений инфекций в течение года, в контроле (плацебо) таких наблюдаемых было 30 %.

В редких случаях прибегают к трансплантации костного мозга. Заболевание фатально.

Синдром Чедиака — Хигаси (Chediak — Higashi). Это редкое заболевание. На клеточном уровне патология заключается в аномалии внутриклеточных везикул, в том числе лизосом в нейтрофилах, моноцитах, а также везикул в НК, меланоцитах и тромбоцитах: везикулы сливаются, образуя внутри клеток крупные, но функционально недееспособные гранулы. В результате перечисленные клетки функционально дефектны, что клинически проявляется в следующих симптомах: ре-

куррентные инфекции пиогенными бактериями, частичный альбинизм глаз и кожи (слившиеся гранулы меланоцитов не содержат меланина), склонность к кровоточивости, патологические проявления со стороны нервной системы (в нейронах также могут сливаться везикулы). Функции NK повреждены, но функции ЦТЛ сохранены.

Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Точный генетический дефект неизвестен. Однако недавно выделенный ген, названный *LYST*, подозревают как причинный. Есть мутантная линия мышей *beige* с похожими признаками патологии на уровне клеток и организма.

Лечение симптоматическое.

Болезни с дефицитом молекул адгезии лейкоцитов (LAD — leucocyte adhesion deficiency). Это редкая прижизненная патология. В мире всего описано несколько менее 100 таких больных. Анализ молекулярных дефектов выявил два варианта, обозначенных LAD-1 и LAD-2. Клинически они неразличимы. При LAD-1 имеется дефект гена β_2 -субъединицы интегринов (CD 18) и соответственно недостаточности всех молекул интегринов, в состав которых входит CD18: LFA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18), p150/95 (CD11 c/CD18). Эти интегрины обеспечивают адгезию любого лейкоцита и лимфоцита к клеткам эндотелия сосудов, агрегацию нейтрофи-

Таблица 11.2. Синдромы врожденной недостаточности фагоцитоза

| Синдром (если он есть) и дефект | Ассоциированные инфекции и другие патологические синдромы |
|--|--|
| Хроническая гранулематозная болезнь (дефект системы NADPH-оксидазы) Дефект глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PD) | Внутри- и внеклеточные инфекции; гранулемы |
| Дефект миелопероксидазы (MPO) | Недостаточная эффективность респираторного «взрыва» в фагоцитах, хронические инфекции разного рода Недостаточная эффективность респираторного «взрыва» в фагоцитах, хронические инфекции разного рода |
| LAD-1 (дефект экспрессии CD18) | Диссеминированные инфекции, вызванные пиогенными бактериями |
| LAD-2 (дефект экспрессии сиалил-Lewis ^x) | То же |
| Синдром Чедиака — Хигаси (слияние внутриклеточных везикул в гигантские функционально дефектные) | Внутри- и внеклеточные инфекции, гранулемы, частичный альбинизм глаз и кожи, кровоточивость, неврологические нарушения |

лов, хемотаксис лейкоцитов, фагоцитоз, адгезию Т-лимфоцитов к антигенпредставляющим клеткам, В-лимфоцитам и клеткам-мишеням (в случае ЦТЛ). Таким образом при данной патологии нарушаются все перечисленные процессы. Клинически это проявляется в плохом заживлении любых ран и рекуррентных бактериальных, грибковых, вирусных и паразитарных инфекциях. Степень нарушений может быть разной: от полной до частичной, соответственно используют 5 градаций клинического диагноза.

При LAD-2 существует другой генетический дефект: на клетках отсутствует карбогидрат сиалил-Lewis^x, который является лигандом для взаимодействия с E- и P-селектинами на активированном эндотелии. Вероятно, дефектен ген какого-то необходимого фермента метаболизма фукозы. При таком нарушении становится невозможной миграция лейкоцитов и иммунных лимфоцитов в очаг инфекции и, следовательно, его санация.

Лечение симптоматическое.

Кратко суммируем известные генетические дефекты, приводящие к функциональной недостаточности фагоцитов в табл.

11.2.

11.4. Дефекты растворимых белков сыворотки крови (маннозосвязывающего протеина и комплемента)

Дефицит МВР (маннозосвязывающего протеина). МВР — самый представительный по количеству сывороточный белок острой фазы. Его концентрации в сыворотке крови могут колебаться в интервале 0,1—50 мг/мл. Не так уж мало клинических случаев с картиной иммунодефицита, при которых тем не менее анализ субпопуляций лимфоцитов, лейкоцитов, а также иммуноглобулинов не показывает отклонений, адекватных клиническим симптомам. В одном конкретном клиническом обследовании детей с рекуррентными инфекциями не без удивления обнаружили, что клетки крови 11 из 43 детей не справлялись с фагоцитозом дрожжевых клеток. Оказалось, что у этих 11 больных в сыворотке крови отсутствует МВР. Манноза присутствует в поверхностных структурах многих дрожжей, бактерий и некоторых вирусов. Именно их быстро связывает МВР, чем опсонизирует их для фагоцитоза, а также активирует комплемент.

Популяционные исследования выявили, что дефекты (разные точечные мутации и делеции) в гене МВР встречаются у 17 % людей европеоидной расы. Ген МВР клонирован. Следовательно, не является проблемой получение рекомбинантного белка, который может быть использован как фармакологический препарат для этиопатогенетической заместительной терапии у пациентов с этим наследственным дефектом.

Заместительная терапия рекомбинантным препаратом не несет в себе опасности заразить больного кровяными инфекциями (ретровирусными, прионными и др.). Поэтому дифференциальная лабораторная диагностика этой патологии чрезвычайно важна.

Клинически эта патология выглядит как инфекционный синдром, но в данном случае в патогенезе нет иммунодефицита, следовательно, *не показана* (на самом деле противопоказана) иммунокоррекция иммунотропными средствами.

Инфекционный синдром характерен, но не патогномоничен для истинных иммунодефицитов, т.е. он всегда имеется при иммунодефицитах, но возможен и без иммунодефицита.

Болезни с дефицитом компонентов комплемента. Разные компоненты комплемента кодируются разными аутосомными генами, локализованными в разных хромосомах. С МНС в хромосоме 6 сцеплены только гены С2, С4 и фактора В. Болезни дефицита компонентов комплемента встречаются редко, потому что для манифестации необходимо гомозиготное состояние по аутосомным аллелям. Есть единственное исключение — С1 INH (ингибитор С1-эстеразы): мутация этого гена, приводящая к дефициту продукта, проявляется в *гетерозиготном* состоянии фенотипом, известным под названием наследственного ангионевротического отека (это редкий случай *доминантной* мутации).

Система комплемента предназначена для клиренса (очистки) циркулирующей крови от растворимых иммунных комплексов и корпускулярных — как иммунных комплексов, так и свободных бактерий. Соответственно недостаточность системы комплемента, если она касается первых 4 компонентов (С1 — С4), проявляется в *болезнях иммунных комплексов* — системных васкулитах и повреждениях почек, что обобщенно называют синдромом системной красной волчанки (СКВ). Дефицит С3, а также факторов Н и I ассоциирован с повышенной восприимчивостью к пиогенным инфекциям. Дефицит компонентов, участвующих в альтернативном пути активации комплемента, а также дефицит компонентов С5 — С8 ассоциированы с повышенной восприимчивостью к инфекции, вызываемой *Neisseria spp.* Дефицит С9 клинически бессимптомен.

Полный дефицит С4 встречается крайне редко еще и потому, что есть два гена С4А и С4В. Описано всего 25 случаев полного дефицита по С4. Все они имели клинику тяжелой СКВ. Дефицит С2 встречается часто — 1 случай на 200 человек основной популяции. В 50 % случаев полный дефицит С2 бессимптомен, в 50 % — имеет симптоматику СКВ от слабовыраженной (дискоидная СКВ) до средней степени выраженности и тяжелой форм. Дефицит С3 проявляется также в симптомах СКВ, но еще и в повышенной восприимчивости к

Таблица 11.3. Клинические проявления дефектов отдельных компонентов системы комплемента

| Известные дефекты КОМПОНЕНТОВ | Клинические проявления |
|-------------------------------|--|
| C1q | СКВ с гломерулонефритом |
| C1r | СКВ |
| C4 | » |
| C2 | У 50 % больных СКВ |
| C3 | Пиогенные инфекции, СКВ с гломерулонефритом |
| Фактор D | Инфекция, вызванная <i>Neisseria</i> spp. |
| Фактор Р (пропердин) | (?) Инфекция, вызванная <i>Neisseria</i> spp. |
| Фактор Н | Пиогенные инфекции, СКВ с гломерулонефритом |
| Фактор I | То же |
| C5 | Инфекция, вызванная <i>Neisseria</i> spp. |
| C6 | То же |
| C7 | » » |
| C8 | » » |
| C9 | Бессимптомно |
| C1. INH | Наследственный ангионевротический отек |
| DAF | Гемолиз с пароксизмальной ночной гемоглобинурией |
| CD59 | То же |
| CR3 | Пиогенные инфекции |

пиогенным бактериям. СКВ, как правило, прогрессирует до тяжелых форм нефрита, так как в связи с повышенной чувствительностью к инфекции в крови увеличено и содержание иммунных комплексов.

Дефекты компонентов альтернативного пути активации системы комплемента — фактора В, пропердина и фактора D — клинически напоминают дефицит C3 (что и понятно — см. раздел 3.1).

Кратко суммируем данные в табл. 11.3.

Глава 12. ВТОРИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ

Вспомним существенную *закономерность онтогенеза иммунной системы*: иммунная система растет и развивается в плане и количества лимфоцитов, и разнообразия репертуара антиген-распознающих рецепторов в течение вовсе не всей жизни. Она

часть животного организма и растет только тогда, когда растет организм как целое, т.е. в детстве и до пубертатного возраста — в среднем до 15 лет. Накопленное к 15 годам количество клонов лимфоцитов в течение оставшейся взрослой жизни лишь поддерживается «фоновой» пролиферацией и *расходуется* в процессе продуктивных иммунных ответов на патогены, проникающие во внутреннюю среду организма. То что генерация *новых клонов* лимфоцитов не происходит у взрослых организмов, следует из фактов *невозможности* восстановления разнообразия репертуара антигенраспознающих рецепторов, а часто и количества лимфоцитов после воздействия на организм, приводящих к уничтожению больших количеств лимфоцитов (облучение, лимфотропные вирусные инфекции и др.). То есть после *ампутации* лимфоцитов тем или иным способом они не «отрастают» как новые точно так же, как не «отрастает» заново ампутированная нога или любой солидный орган. То что каждый лимфоцит *запрограммирован* на пролиферацию клона при иммунном ответе, *не означает* пожизненную неограниченность потенциала лимфоцита: он ограничен возрастом — 15 лет. Поэтому существуют вторичные (или приобретенные) иммунодефициты (ВИД)».

Если от рождения здоровый организм со здоровой иммунной системой в постнатальном возрасте подвергается определенным патогенным воздействиям, которые физически повреждают большое количество лимфоцитов, в результате возникает вторичный иммунодефицит. Есть системные патологические состояния, которые вызывают не столько физическую гибель лимфоцитов, сколько функциональный «парез» иммунной системы. Это тоже ВИД. Но в отличие от ВИД с физическим повреждением лимфоцитов функциональный «парез» или дисфункция иммунной системы может быть обратима в случае, если причинное заболевание излечимо и продолжаться не слишком долго.

Исследование иммунной системы у человека при подозрении на ВИД предполагает определение ряда лабораторных показателей в периферической крови, как и при врожденных иммунодефицитах [анализ на ВИЧ-инфекцию; формула крови; уровень IgG, IgA, IgM в сыворотке; кожные пробы ГЗТ на широко распространенные микробные антигены (разработаны специальные тест-системы типа СМІ Multitest™)], если надо — подсчет субпопуляций Т- и В-лимфоцитов; по специальным показаниям — анализ состояния фагоцитов (наиболее простой и информативный анализ — тест на восстановление тетразолиевого голубого красителя); по специальным клиническим показаниям — анализ на содержание компонентов комплемента (начинают с С3 и С4) или иные анализы в зависимости от характера клинических симптомов.

12.1. Этиологические факторы

I. *Факторы, вызывающие обратимые дисфункции (иммунодефицит) иммунной системы (обратимость в данном случае относительная и зависит от силы и продолжительности воздействия патогенного фактора):*

- 1) голодание или дефицит в диете жизненно важных компонентов;
- 2) курабельные болезни метаболизма (диабет, синдром Иценко — Кушинга, дисфункция паращитовидных желез и т.д.);
- 3) психическая депрессия;
- 4) курабельная ожоговая болезнь;
- 5) временный дистресс любой природы.

II. *Факторы, вызывающие физическую «ампутацию» (в той или иной степени) лимфоидной ткани (и следовательно, необратимый иммунодефицит):*

- 1) ВИЧ-инфекция;
- 2) повреждение иммунной системы при других инфекциях (гиперстимуляция иммунной системы суперантигенами при вирусных, грибковых и бактериальных инфекциях, а также по иным механизмам) — корь, гепатиты, цитомегаловирусные инфекции: краснуха, инфекция, вызванная вирусом Эпштейна — Барр, стафилококковые инфекции, туберкулез, лепра, кокцидиомикоз, аспергиллез и др.;
- 3) ионизирующая радиация в запороговых дозах;
- 4) химические вещества с лимфотоксическим действием;
- 5) лимфопролиферативные заболевания, возможно, и некоторые другие злокачественные опухоли.

Рассмотрим только повреждения иммунной системы при инфекциях, потому что инфекции — естественные и главные «партнеры» иммунной системы, она против них создавалась в природе, поэтому они направленно эволюционируют в сторону приобретения самых разных способностей к выведению из строя именно иммунной системы. Поэтому при всякой патогенной инфекции в организме идет борьба между системами резистентности, в том числе иммунной, и патогеном. Патогенных инфекций, не повреждающих иммунную систему так или иначе, не бывает. Распространенный механизм повреждения иммунной системы патогенами — гиперстимуляция иммунной системы суперантигенами патогенов и массовая поликлональная гибель (апоптозом) активированных лимфоцитов. Своими иммунодепрессивными свойствами известны вирусы группы герпес: вирус Эпштейна — Барр (EBV), цитомегаловирусы (CMV), герпесвирусы человека 6-го и 7-го ти-

пов (HHV-6, HHV-7) и др. У герпесвирусов существует много приемов иммунодепрессии.

Вирусные белки обладают прямым сродством к молекулам МНС клеток человека и, «залипая» на молекулах МНС, препятствуют и распознаванию антигена Т-лимфоцитами, и эффекторной работе ЦТЛ и НК. Кроме того, прямые опыты *in vitro* показывают, что, например, CMV и EBV значительно подавляют продукцию цитокинов активированными Т-лимфоцитами, и иммунный ответ не развивается. Кроме того, мы уже писали о факте антиапоптозного эффекта неких белков EBV (гены которых вирус позаимствовал у клеток человека и включил в свой геном — этот механизм характерен для эволюции вирусов вообще) в отношении В-лимфоцитов человека. Но при этом В-лимфоцит не способен к нормальному функционированию: вирус **подчиняет** лимфоцит себе для нужд вирусной репликации, а в качестве отдаленных последствий возникает В-лимфома.

Разные вирусы, оказавшись в одной клетке, способны к активной генетической рекомбинации между собой, что увеличивает шансы каждого из них в борьбе за выживание с нашим организмом. Еще один сильный биологический прием вирусов — образование псевдовирioнов. Псевдовирioны — это вирионы, содержащие геном одного вируса, а оболочку другого. Оболочка обеспечивает тропизм инфекта к тем или иным клеткам. Поэтому, одевшись в чужую оболочку, инфекционное начало вируса, геном, проникает в новые для себя (но свои для оболочки) клетки-мишени.

12.2. Синдром хронической усталости

Любой человек знает, что после инфекционных болезней, особенно тяжелых, организм оказывается *ослабленным*. У некоторых людей после вирусных инфекций, таких как герпес-вирусные (varicella, EBV), краснуха, паротит, энтеровирусные, а также в исходе острого периода токсоплазмоза, бруцеллеза и других инфекций развивается *синдром хронической усталости* (СХУ). Этот синдром может продолжаться до 6 мес и более. Он выражается в резкой утомляемости от минимальных нагрузок (например, от 2—3 простых гимнастических упражнений), ощущении потери трудоспособности уже с утра и до вечера, нарушенном сне, сне, не приносящем ощущения отдыха, заметном ухудшении памяти и способности концентрировать внимание. Это явление иллюстрирует сильные взаимные влияния центральной нервной и иммунной систем. Есть данные о том, что инфузии препаратов донорских иммуноглобулинов способны заметно, но временно, улучшить состояние пациента с СХУ. Этот метод, однако, ни в коем случае не может быть рекомендован для лечения СХУ в свя-

зи с риском заражения смертельной ВИЧ-инфекцией и другими кровяными инфекциями. Но это показывает прямое влияние факторов иммунной системы на состояние центральной нервной системы. О том же свидетельствует существенно повышенная частота **атопии** у людей с СХУ — 50—80 % (по сравнению с 20—30 % в основной популяции).

Принятая в мире тактика лечения СХУ заключается в дозированных систематических нагрузках, оптимальной диете, применении психотропных препаратов антидепрессивного действия, если есть симптоматика (амитриптилин и др.), мягких снотворных, поддерживающей психологической терапии.

В отдельном разделе мы рассмотрим роль инфекций в патогенезе аутоиммунных болезней. В отдельном разделе кратко разберем новую фатальную ретровирусную ВИЧ-инфекцию.

12.3. Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), вызванный ретровирусами иммунодефицита человека (ВИЧ)

В 1981 г. в июне в Центр по контролю за заболеваемостью (CDC) в Атланте (США) поступило два сообщения от двух разных врачей из различных городов о 5 пациентах (в сумме) с заболеванием, которое поразило специалистов в CDC новизной клинической картины и исхода настолько, что по 5 случаям была введена *новая нозология*, названная *синдромом приобретенного иммунодефицита* (AIDS — acquired immunodeficiency syndrome) — СПИД. Заболевшие были молодыми мужчинами-гомосексуалистами, имевшими половые контакты один с другим (это навело на мысль об инфекционности болезни). Они умерли от грибковой пневмонии (возбудитель *Pneumocystis carinii*). При анализе крови у них было выявлено практически полное отсутствие CD4⁺ Т-лимфоцитов, но при этом ничто в анамнезе не указывало на врожденный иммунодефицит. По 5 случаям CDC объявил национальную готовность в отношении нового инфекционного заболевания. К августу 1981 г. в CDC поступила информация еще о 111 подобных больных. С этого момента началась регистрируемая эпидемия СПИД. К 1990 г. стало ясно, что это *пандемия* — первая в известной истории человечества. Заболевание вызывает 100 % летальность.

Здорового вирусоносительства за 19 лет наблюдения за эпидемией обнаружено не было, в связи с чем название нозологической единицы Всемирная организация здравоохранения заменила со СПИД на *ВИЧ-инфекцию*. СПИД — клиническое проявление терминальной фазы ВИЧ-инфекции.

Пандемия означает, что, распространяясь в новые регионы, болезнь не уходит из ранее ею захваченных и не идет там на убыль. За 10 лет она распространилась по всей плане-

те, пока еще неравномерно, но процесс «выравнивания» идет. От нее некуда уехать. Пандемия означает также, что ни отдельные индивидуумы, ни популяция людей (вид) не может санировать себя от ВИЧ природными биологическими механизмами. Собственно поэтому имеет смысл сосредоточить внимание на ментальных механизмах защиты от инфекции.

Мы приведем аргументы в пользу новизны этой болезни, кратко обозначим этиологические факторы, клиническую картину и лечение. Подробное описание заболевания ВИЧ-инфекцией содержится в нашей монографии «СПИД» (1992, Москва), а также в огромном количестве публикаций о ВИЧ и СПИД в научной медицинской периодической печати. Понимание предмета требует глубокого профессионализма, поэтому мы самым серьезным образом предостерегаем от чтения на эту тему газет и журналов из средств массовой информации (опыт показывает, что там преобладает неправда, что опасно для врача). Мы попробуем объяснить точку зрения о том, что это заболевание как эпидемическая инфекция *новое*, такого не было по крайней мере в последние 2000 лет, не было в XIX в., не было в начале XX в., оно начало распространяться среди людей только со второй половины XX в. (может быть, с конца 30—50-х годов, но большинство специалистов полагают, что с начала 70-х годов). Признание факта новизны существенно по двум причинам. Если думать, что это заболевание могло быть и раньше, только диагноз ставить не умели, то это чревато выводом, что можно ничего специального в связи с ВИЧ не предпринимать. Но это не так, этой болезни раньше не было. Второй вывод из признания факта новизны состоит в том, что принятые до того медицинские правила работы могут быть полностью непригодны в отношении нового заболевания. И это так.

- ▲ Первый аргумент в пользу новизны — факт открытия заболевания по *клинической картине* всего 5 случаев. Если бы такая клиника под разными другими названиями была привычна для врачей, никого бы не удивили 5 случаев настолько, что была введена новая нозологическая единица (к сожалению, не ошиблись).
- ▲ Второй аргумент — распределение по полам между мужчинами и женщинами. Несколько лет от начала эпидемии более 90 % заболевших были мужчины. К концу первой декады соотношение между мужчинами и женщинами выровнялось до 1:1. Это значит, что сцепленных с полом ограничений в заболеваемости нет. Но, кроме того, это означает, что инфекция «пошла по людям» недавно. Если бы она персистировала давно, то давно бы установилось «равенство» между мужчинами и женщинами.

- ▲ Третий аргумент — взрывной характер манифестации заболевания во вновь осваиваемых инфекцией регионах: в течение 10—15 лет вирус накапливается в популяции без клинической манифестации. Но 10—15 лет — это средний период от момента заражения *индивидуума* ВИЧ до клинической манифестации. Предпоследний пример взрывного накопления регистрируемых случаев — страны Азии (особенно Юго-Восточной Азии и Индии). Ближайший ожидаемый регион — Россия (мы были последними «в очереди» по накоплению ВИЧ в популяции, но, увы, догоняем остальных).

12.3.1. Этиология

Этиология заболевания как пандемической инфекции человека включает два компонента: 1) вирус-возбудитель; 2) антропогенные факторы эпидемии. Антропогенные факторы эпидемии нельзя не учитывать, иначе наша реакция на эпидемию будет неадекватной. Аналогичные ретровирусы существуют у животных. Зараженные особи, семьи и популяции животных также вымирают, но *пандемии у диких животных нет. А у людей есть*. Следовательно, человеческий фактор существен.

Вирус-возбудитель был выделен в 1983 г. в США коллективом лаборатории Роберта Галло и параллельно их французскими коллегами. На его изучение в связи со смертельной опасностью заболевания западные страны потратили и продолжают тратить большие средства. Вирус изучен как ни один другой, с подробностями «вдоль и поперек» (рис. 12.1). Это ретровирус, его геном — две цепи РНК. Вирус имеет специальный фермент — обратную транскриптазу (RT — reverse transcriptase), который, после того как вирус проникнет в клетку-мишень, синтезирует ДНК по матрице вирусной РНК (т.е. RT — это ДНК-полимераза, использующая РНК в качестве матрицы и затравки). Второй вирусный фермент, интегразы, катализирует *ковалентную интеграцию* вирусной ДНК в несколько разных мест в геноме человека. Интегрированную ДНК вируса называют *провирсом*. С этой ДНК идут синтезы мРНК для трансляции белков вируса и синтез геномной РНК вируса. Оболочка вируса — мембрана клетки человека, «инкрустированная» оболочечными белками вируса gp120 (самый наружный) и gp41 (трансмембранный). Фосфолипидная мембрана легко повреждается, что объясняет заблуждение: «легкая» инактивация вируса происходит под действием разных факторов во внешней среде. Мембрана действительно повреждается легко, но инфекционный потенциал заключается в РНК. А РНК, как хорошо знают биохимики, весьма устойчива к дезинфицирующим обработкам и способна к ренатурации после, например, термоденатурации.

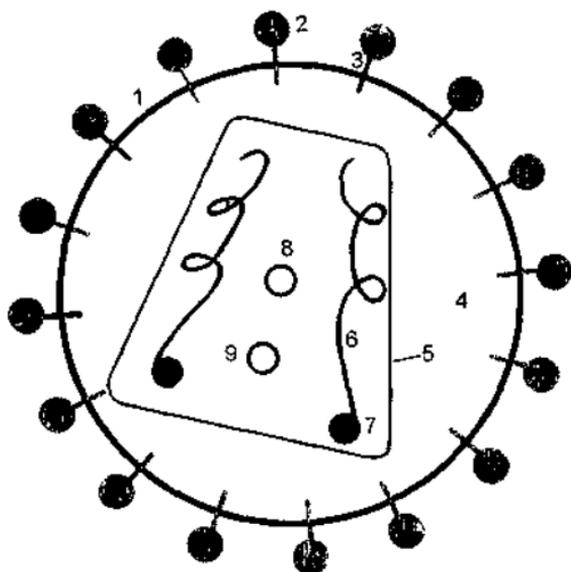


Рис. 12.1. Строение ВИЧ (схема).

1 — мембрана вируса — это мембрана клетки человека; 2 — оболочечный белок gp120; 3 — трансмембранный компонент оболочечного белка gp41; 4 — матриксный белок (p17); 5 — оболочка нуклеоида (p24); 6 — геном ВИЧ — две молекулы одноцепочной РНК. Ферменты ВИЧ: 7 — обратная транскриптаза (RT); 8 — интеграна и РНКазы H; 9 — протеаза.

Приведем список генов и белков ВИЧ (табл. 12.1), чтобы врачи могли ориентироваться в данных лабораторной диагностики инфекции (цифра в обозначениях белков — это молекулярная масса $\times 1000$). На рис. 12.2 показана схема расположения генов ВИЧ.

Размер генома вируса около 10 000 нуклеотидов, частота точечных мутаций около 10^{-4} , т.е. каждый первый дочерний вирион несет хотя бы одну мутацию. Столь высокая генетическая изменчивость характерна для РНК-содержащих вирусов и является их главным биологическим механизмом приспособления к выживанию в сильно меняющихся условиях внешней среды. Ретровирусы — не главные лидеры по изменчивости, но по совокупности своих патогенных свойств они впереди других. Подсчитано, что в теле инфицированного больного на бессимптомной стадии развития болезни содержится до 10^6 генетических вариантов вируса (квазивидов), на стадии манифестировавшего СПИД — около 10^8 вариантов. Цикл репликации вируса занимает порядка 10 ч. Вирус цитопатогенен; это означает, что после выхода вирионов из клетки последняя разрушается.

Инфекция ВИЧ является генерализованной инфекцией всего организма, потому что разные квазивиды вируса со временем осваивают многие типы клеток в организме. У каждого конкретного пациента в те или иные периоды развития

Таблица 12.1. Гены и белки ВИЧ-1

| Ген | Белок | Функции |
|-----|-------|--|
| env | gp120 | Самый наружный белок, обеспечивает связывание с клетками-мишенями. Лиганды — молекула CD4; галактозилцерамиды; рецепторы для цитокинов |
| | gp41 | Обеспечивает интернализацию вириона в клетку |
| gag | p24 | Составляет оболочку ядра вируса (нуклеокапсида) |
| | p17 | Составляет матриксное вещество вируса |
| | p9 | Связан с геномной РНК |
| | p7 | То же |
| pol | p66 | Обратная транскриптаза (синтез ДНК по матрице РНК) |
| | p31 | Интеграза (встраивает ДНК вируса в клеточный геном) |
| | p10 | Протеаза (расщепляет большие белковые трансляты на дефинитивные белки вируса) |
| tat | p14 | Активирует транскрипцию с вирусных генов, стабилизирует вирусную мРНК, усиливает трансляцию с вирусной мРНК |
| rev | p19 | Существен для экспрессии белков оболочки (Env) |
| nef | p27 | (?) Может усиливать и ингибировать репликацию ВИЧ |
| vif | p23 | Необходим для выхода новорожденных вирусов из клетки-мишени (вероятно, участвует в фолдинге белков Env) |
| vpr | p16 | Необязателен для жизненного цикла вируса; усиливает отпочковывание вируса из клетки-мишени |
| vpr | p15 | 9 |
| vpx | p16 | ? |

болезни в клинической картине может преобладать преимущественное поражение вирусом той или иной ткани, но у большинства наблюдается сочетанное поражение разных тканей. Для инфекции в клетку ВИЧ использует молекулу мембран клеток человека CD4, а также рецепторы для хемоки-

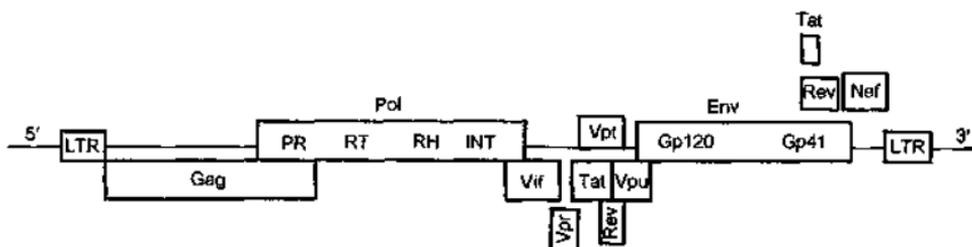


Рис. 12.2. Структура генома ВИЧ (схема).

Гены ВИЧ в значительной степени «накладываются» друг на друга. Разные мРНК и соответственно разные белки образуются в результате действия альтернативных рамок считывания с физически одних и тех же последовательностей ДНК. LTR (long terminal repeat) — длинные концевые повторы в 5'- и 3'-концах провируса; синтезируются в процессе интеграции ДНК провируса в геном клетки. Структурные гены: Gag (group-specific antigens) — группоспецифические антигены вируса — p24 и p17; Pol (polimerase) — гены, кодирующие ферменты вируса (PR — протеазу, RT — обратную транскриптазу, RN — РНКазу Н, INT — интегразу); Env (envelope) — гены белков оболочки вируса — gp 120 и gp41. Регуляторные гены: Tat (transactivator of transcription) — два экзона для белка трансактиватора транскрипции; Vif (virus infectivity factor) — белок-«фактор инфекционного вируса»; Vpr (vims protein R) — вирусный протеин R; Vpu (virus protein U) — вирусный протеин U; Vpt (virus protein T) — вирусный протеин T; Rev (regulator of virus) — белок-«регулятор вируса»; Nef (negative factor) — фактор негативной регуляции вируса.

нов семейства «СС» (RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β) — так называемый рецептор СС-СКR5. Весьма вероятно, что вирус способен инфицировать клетки и через другие молекулы клеточных мембран.

ВИЧ инфицирует нейроны, CD4⁺ Т-лимфоциты, клетки эндотелия, дендритные клетки, моноциты/макрофаги, фибробласты, В-лимфоциты, CD8⁺ Т-лимфоциты (по крайней мере при коинфекции вирусами HHV-6, HTLV-1), стволовые кроветворные клетки, промиелоциты, мегакариоциты, хондроциты. Создается впечатление, что на каждый тип клеток организма человека рано или поздно по мере прогрессирования инфекции найдется квазивид ВИЧ, способный их инфицировать. У инфицированного человека вирус присутствует во всех тканях, включая экзосекреты и продукты выделения (сперма, слизистые секреты, слюна, пот, ушная сера, моча, экскременты и т.д.).

Пути трансмиссии вируса (пути заражения) следующие: парентеральное введение крови или продуктов крови, слизистые контакты, трансплацентарно, грудное вскармливание.

Антропогенные факторы пандемии по крайней мере следующие:

- широкое распространение (практически глобальное) гемотрансфузий и медицинское применение продуктов из человеческой крови;

- обобществленный медицинский инструментарий для манипуляций на слизистых оболочках (эндоскопы и др.);
- массовый трансконтинентальный транспорт;
- высокая концентрация населения в больших городах;
- полигамные сексуальные отношения;
- вероятно массовое введение с вакцинами препаратами людям продуктов, содержащих компоненты тканей животных (занос ретровирусов животных, что создало возможность эволюционирования их в адаптированные к человеку варианты).

12.3.2. Клиническая картина

Клинически болезнь классифицируют на 3 категории (по реестру CDC от 1993 г.) по манифестации индикаторных болезней и числу $CD4^+$ Т-лимфоцитов в периферической крови (табл. 12.2).

Самым ранним проявлением острой ВИЧ-инфекции, которое удается диагностировать приблизительно в 70 % случаев, бывает гриппоподобный синдром. Его симптомы: лихорадка, фарингит, лимфаденопатия, артралгия, миалгия, недомогание (вплоть до летаргии), анорексия. Со стороны нервной системы: головная и ретроорбитальная боль, симптомы менингоэнцефалита, периферическая нейропатия, радикулопатия, брахиальные невриты, когнитивные и аффективные расстройства. Со стороны кожи: эритематозная макулопапулярная сыпь, розеолоподобная сыпь, диффузная крапивница, десквамация, алопеция, кожно-слизистые ulcerации. Со стороны желудочно-кишечного тракта: оральный или орофарингеальный кандидоз, тошнота, рвота, диарея. Со стороны респираторной системы — кашель.

Гриппоподобный синдром саморазрешается и наступает многолетний бессимптомный период.

Таблица 12.2. Классификация клинических стадий (1—3) и категорий ВИЧ-инфекции (по CDC от 1993 г.)

| Концентрация $CD4^+$ Т-лимфоцитов в крови в 1 МКЛ | Клиническая категория | | |
|---|--|--|--------|
| | А | В | С |
| | (бессимптомная или с генерализованной лимфаденопатией) | (симптоматическая, но не такая, как С) | (СПИД) |
| 1. > 500 | A1 | B1 | C1 |
| 2. 200-500 | A2 | B2 | C2 |
| 3. < 200 | A3 | B3 | C3 |

Индикаторные болезни клинических категорий А, В и С по CDC от 1993 г. следующие. Динамика их манифестации приведена в табл. 12.3.

Категория А.

Бессимптомная. Либо персистирующая дольше 3 мес генерализованная лимфаденопатия без видимых признаков других инфекций.

Категория В.

Бациллярный ангиоматоз.

Кандидоз орофарингеальный.

Кандидоз вульвовагинальный, персистирующий, торпидный к традиционной терапии.

Цервикальная дисплазия или цервикальная карцинома.

Лихорадка (38,5 °С) или/и диарея более 1 мес

Оральная лейкоплакия.

Герпес-zoster, более двух эпизодов.

Тромбоцитопения.

Листерииоз.

Воспаление пельвы, часто сопутствующее tuboовариальным абсцессам.

Категория С.

Кандидозы бронхов, трахеи, легких.

Кандидоз пищевода.

Цервикальный рак, инвазивный.

Кокцидиомикоз, диссеминированный или экстрапульмонарный.

Криптококкоз, экстрапульмонарный.

Криптоспориоз, хронический кишечный (более 1 мес).

Цитомегаловирусные инфекции (за пределами печени, селезенки, лимфатических узлов).

Цитомегаловирусный ретинит с потерей зрения.

ВИЧ-энцефалопатия.

Простой герпес: изъязвления более 1 мес, с локализацией в бронхах, легких или пищеводе.

Гистоплазмоз, диссеминированный или экстрапульмонарный.

Изоспориоз, хронический кишечный (более 1 мес).

Саркома Капоши.

Лимфома типа Беркитта (**Burkitt**).

Лимфома иммунобластная.

Лимфома мозга, первичная.

Mycobacterium avium complex, *M.kansasii*, диссеминированные или экстрапульмонарные.

Mycobacterium tuberculosis любой локализации (легочной или экстрапульмонарной).

Микобактерии любых других видов, диссеминированные или экстрапульмонарные.

Пневмония *Pneumocystis carinii*.

Таблица 12.3. Ориентировочная типичная динамика манифестации индикаторных заболеваний при СПИД

| Состояние, система органов | Время после заражения | | | |
|----------------------------|---|--|---|---|
| | первые 10 нед | первые 5 лет | 10 лет | после 10 лет |
| Общее самочувствие | Лихорадка, фарингит, лимфаденопатия, артралгия | | | |
| Кожа | Эритематоз, макулярная сыпь, крапивница, десквамация | Дерматомикоз, себорейный дерматит | Контагиозный моллюск, герпес-zoster, оральная кандидоз, саркома Капоши, | Саркома Капоши |
| ЦНС | Головная боль, менингоэнцефалит, синдром Guillain — Barre | Демиелинизирующая нейропатия, парезы, параличи | | Деменция, лимфома мозга, нейропатии |
| ЖКТ | Изъязвления слизистых оболочек, кандидозы, диарея | Синдром Шегрена (Sjögrens), бактериальные гастроэнтериты, оральная лейкоплакия | Гастроинтестинальные кандидозы, неходжкинские лимфомы | Кандидоз пищевода, персистирующая инфекция HSV, криптоспоридоз, цитомегаловирусный энтерит |
| Глаза | | Синдром Sicca | Микроваскулопатия, HSV-кератит, неврит зрительного нерва | CMV-ретинит, токсоплазмоз |
| Инфекции | | | Туберкулез, саркома Капоши, Pneumocystis carinii, криптоспоридоз, криптококкоз, цитомегаловирусные инфекции, различные микобактериальные инфекции | кандидоз, токсоплазмоз, пневмония P. carinii, криптоспоридоз, криптококкоз, цитомегаловирусные инфекции, различные микобактериальные инфекции |
| Система крови | «Атипичные» лимфоциты | Персистирующая генерализованная лимфаденопатия, CD8 ⁺ -лимфоцитоз | Лимфомы | Анемия, тромбоцитопения |

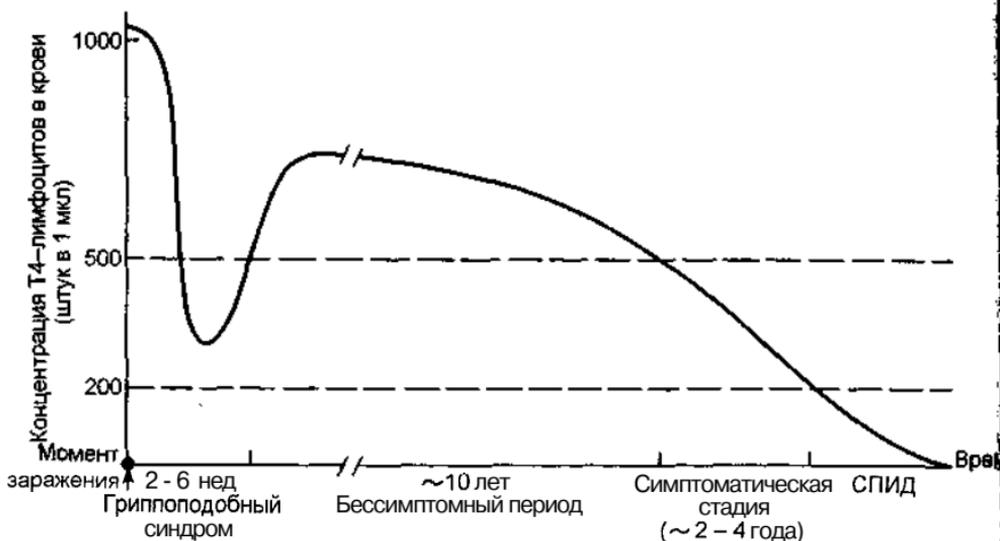


Рис. 12.3. Динамика содержания $CD4^+$ Т-лимфоцитов в крови ВИЧ-инфицированных людей.

Пневмония рекуррентная (> 2 эпизодов в год).

Прогрессивная мультифокальная лейкоэнцефалопатия.

Salmonella septicaemia, рекуррентная.

Токсоплазмоз мозга.

ВИЧ-wasting-синдром (синдром истощения).

Динамика содержания в крови $CD4^+$ Т-лимфоцитов показана на рис. 12.3.

Проявления иммунодепрессии начинаются задолго до клинической манифестации индикаторных болезней. Механизмы иммунодепрессии следующие.

На уровне $CD4^+$ Т-лимфоцитов.

1. Прямое цитопатогенное (разрушительное) действие ВИЧ на $CD4^+$ Т-лимфоциты.
2. Конкурентная блокада корцептора CD4 растворимым белком ВИЧ gp120.
3. Образование синцития.
4. Растворимый gp120, связываясь с неинфицированными Т4-лимфоцитами, превращает их в мишень для ЦТЛ и АЗКЦТ.
5. Суперантигены ВИЧ индуцируют поликлональную активацию и апоптоз Т-лимфоцитов.

На уровне макрофагов.

1. Угнетение хемотаксиса.
2. Ухудшение функций антигенпредставляющих клеток. Показано, что белок вируса Tat, трансактивирующий транскрипцию вирусных генов, значительно ингибирует транскрипцию и биосинтез молекул главного комп-

лекса гистосовместимости **MHC-I**, следовательно, и противовирусные иммунные реакции.

3. «Ухудшение» фагоцитоза, опосредованного через Fc-рецептор.

4. «Ухудшение» всех макрофагальных бактерицидных механизмов.

На уровне CD8⁺ Т-лимфоцитов.

Лимфоцитоз, но постепенное ухудшение функционирования ЦТЛ.

На уровне НК.

Ухудшение функционирования.

На уровне В-лимфоцитов и иммуноглобулинов.

Поликлональная активация самим ВИЧ, а также EBV и CMV. Соответственно гипериммуноглобулинемия (особенно за счет изотипов IgG1, IgG3, IgA, IgE), но снижение антительных функций сыворотки и способности к индукции антигенспецифичного гуморального ответа. Кроме этого, противовирусные антитела, связывая вирусы в комплекс, помогают им инфицировать все клетки, имеющие Fc-рецепторы (феномен усиления вирусной инфекции антителами).

На уровне клеток-предшественников.

ВИЧ инфицирует как стволовые кроветворные клетки, так и тимоциты и предшественники миелопоэза, чем «подсекает» кроветворение «на корню».

Кроме того, цитокины, стимулирующие развитие иммунного ответа, в еще большей степени стимулируют репликацию ВИЧ: самым сильным стимулятором ВИЧ является TNF-α.

Динамика содержания в крови свободных вирионов, вирусных белков, противовирусных антител и специфических анти-ВИЧ-ЦТЛ показана на рис. 12.4.

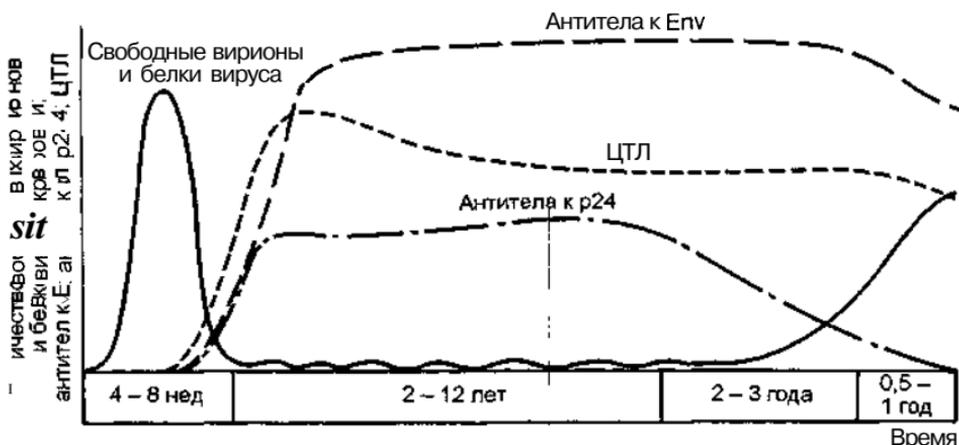


Рис. 12.4. Динамика содержания в крови ВИЧ-инфицированных людей свободных вирионов, антител к ВИЧ, специфических ЦТЛ.

12.3.3. Лабораторная диагностика

Специфическая лабораторная диагностика — это определение в крови или биоптате лимфоидных тканей человека (или в любом биоматериале) следующих компонентов:

- 1) РНК и ДНК вируса (методом цепной полимеразной реакции в различных модификациях);
- 2) противовирусных антител (методами иммунохроматографии или иммуноферментного анализа, в том числе методом иммуноблоттинга);
- 3) белков вируса (ловушечным иммуноферментным анализом);
- 4) высеv живого реплицирующегося вируса в культуру клеток *in vitro*.

Какой из лабораторных методов определения наличия инфекции в организме пациента разумно применять в конкретных случаях — это не простой вопрос и вопрос для специалиста, так как следует учесть, когда произошло заражение, известно ли это или приходится только предполагать, возможные генетические субтипы вируса в зависимости от источника заражения (африканские, североамериканские, азиатские) и их соответствие имеющимся в наличии диагностическим тест-системам. Например, свободные вирусные белки (p24, gp120) можно обнаружить в крови человека в 1-е сутки манифестации гриппоподобного синдрома острой ВИЧ-инфекции. И это единственная возможность специфической лабораторной диагностики, но только в данный момент времени. Антител в этот период в определяемых количествах еще нет.

Через 1–2 сут перестанут определяться и свободные вирусные антигены, так как появляющиеся антитела свяжут их в комплексы. Методы анализов с диссоциацией иммунных комплексов в исследовательских целях применимы, но в диагностических целях могут подвести в силу «капризов» методик.

Если какой-то анализ показал наличие инфекции, то результат необходимо подтвердить на независимом диагностикуме и более чем одним независимым методом. Ложноположительные результаты возможны, но вероятность ошибки уменьшается с увеличением числа применяемых методов анализа. В конце концов по совокупности лабораторных данных можно прийти к определенному заключению о наличии ВИЧ-инфекции. Но обратное утверждение невозможно в принципе, т.е. сколько бы анализов ни было сделано конкретному человеку, *утверждать*, что в его организме отсутствует ВИЧ, *нельзя*. Это объясняется следующими причинами. Во-первых. Каждая конкретная диагностическая тест-система содержит реагенты, специфичные для уже известных ранее выделенных

изолятов ВИЧ. Но ВИЧ быстро эволюционирует в теле каждого пациента и, следовательно, в целом во времени. Значит, всегда есть вероятность, что у конкретного человека может доминировать в организме такой квазивид ВИЧ, который неузнаваем для диагностических тест-систем, имеющихся в распоряжении конкретной лаборатории. Во-вторых. Динамика накопления вируса в организме у каждого человека своя, и сроки сероконверсии (появления в крови специфических противовирусных антител) колеблются от недель до лет от момента заражения. Но самое главное, что в большинстве случаев момент заражения неизвестен и теряется в череде событий жизни, включающих многие контакты и связи, при которых могло произойти (или не произойти) заражение. Поэтому никто не может утверждать, что скрывается за отрицательным анализом на ВИЧ: отсутствие вируса в организме или то, что его (а также антител к нему) количества еще не достигли порога доступности для определения тем или иным методом.

В реальных ситуациях вопрос решается, учитывая эмпирическую вероятность по накопленному эпидемиологическому опыту: с препаратами крови и органных трансплантатов *вероятность заражения 100 %*; трансплацентарно от матери к плоду — 15–20 %; при грудном вскармливании от матери к плоду — 30–40 %; при сексуальных контактах — вопрос сложный и зависит от толщины и целостности эпителиальных покровов. При нормальных слизистых оболочках на один сексуальный контакт вероятность заражения от мужчины мужчины — 1 %, от мужчины женщины и наоборот — 0,1 %. При воспаленных и поврежденных слизистых оболочках вероятность сексуальной трансмиссии существенно и неопределенно возрастает.

12.3.4. Лечение

В мире разработки по медикаментозной терапии ВИЧ-инфекции используют немало финансовых ресурсов. Ежегодно проходят лабораторное тестирование тысячи препаратов. В среднем один препарат в год доводят до стадии клинических испытаний.

В настоящее время пришли к коллективному заключению, что как только поставлен несомненный диагноз ВИЧ-инфекции, так независимо от того, есть или еще нет симптомов индикаторных болезней, следует применять *высокоактивную антиретровирусную химиотерапию* — HAART (highly active antiretroviral therapy), если позволит состояние печени и почек больного. HAART включает один ингибитор протеазы вируса плюс два или более нуклеозидных ингибитора обратной транскриптазы вируса. Используют и нуклеозидные ин-

гибиторы. Такая терапия позволяет снизить уровень продуктов вируса (включая вирусную РНК) в крови до *неопределимых* количеств, что отражает эффективное подавление процесса репликации вируса в клетках тела на период по крайней мере до 1 года. Это дает реальную надежду, что за год подберут новые препараты, к которым будут чувствительны квазивиды ВИЧ, ставшие резистентными к предыдущей комбинации.

К 1997 г. лицензированы антиретровирусные нуклеозидные ингибиторы: зидовудин (zidovudine), диданозин (didanosine), зальцитабин (zalcitabine), ставудин (stavudine), ламивудин (lamivudine) и три ингибитора вирусной протеазы: саквухавит (saquinavir), ритонавир (ritonavir), индинавит (indinavir).

Монотерапия первым и до сих пор имеющим значение антиретровирусным препаратом — *зидовудином* (азидотимидин) эффективна на период времени не больше 6—18 мес. Вообще говоря, при применении любого другого препарата, равно как и комбинаций препаратов, пока не показано *непоявление* резистентных квазивидов ВИЧ. Но есть априорная надежда, что использование меняющихся комбинаций антиретровирусных препаратов будет иметь следствием такой мутация вируса, который в какой-то момент может привести к потере им патогенных свойств: вирус останется в организме, но не будет вызывать болезнь. Эту идею называют *конвергентной терапией*. Пока она чисто умозрительна, но вселяет надежду.

Пневмония, вызванная грибом *Pneumocystis carinii* (PCP).

P. carinii присутствует у 95 % населения западных стран в возрасте старше 5 лет. Пневмония, вызванная этим патогеном (PCP), развивается у 0,5 % ВИЧ-инфицированных в течение 6 мес после того, как у них число Т4-лимфоцитов снизилось до 350—200 в 1 мкл крови. У тех, у кого этот показатель ниже 200 в 1 мкл крови, в течение 6 мес PCP развивается в 8—9 % случаев. У ВИЧ-инфицированных PCP имеет тенденцию манифестировать первой из оппортунистических инфекций.

Гриб *Pneumocystis carinii* не удается культивировать *in vitro*. Диагноз подтверждают микроскопическим обнаружением пневмоцисты в мокроте при окраске метенамином серебра. Поскольку клиническая картина этой пневмонии характеризуется сухим кашлем, «мокроту» получают после ингаляции 3 % солевого раствора.

Всем ВИЧ-инфицированным с числом Т4-лимфоцитов ниже 200 в 1 мкл крови показана профилактика PCP аэрозольным пентамидином. Манифестировавшую пневмонию лечат триметопримом-сульфаметоксазолом (TMP-SMX — trimethoprim-sulphamethoxazole) или пентамидином внутривенно, при непереносимости — дапсоном (dapsone).

Токсоплазмоз. *Toxoplasma gondii* — облигатное внутриклеточное простейшее. Болезнь манифестирует как фокальный эн-

цефалит. Диагноз ставят по клиническим данным, подтверждают посмертно. Прижизненную биопсию мозга в диагностических целях применяют крайне редко. Летальность не меньше 15 %.

Лечение. Пириметамин (pyrimethamine), сульфадиазин (sulphadiazine), клиндамицин (clindamycin). Вторичная профилактика пожизненная.

Цитомегаловирусная инфекция (CMV). У ВИЧ-инфицированных CMV поражает разные органы и ткани, болезнь манифестирует в виде цитомегаловирусного ретинита, CMV-поражения желудочно-кишечного тракта (эзофагит, гастрит, дуоденит, холангит, колит), CMV-энцефалита, радикуломиелопатии.

Лечение: ацикловир, фоскарнет, фамцикловир.

Другие герпесвирусные инфекции. У ВИЧ-инфицированных часто встречаются инфекции вирусами простого герпеса и герпес-zoster. HSV-инфекция манифестирует периорально или генитально, иногда поражает пищевод или вызывает энцефалит.

Лечение: ацикловир, фоскарнет, фамцикловир.

Инфекции Mycobacterium avium complex (MAC), Mycobacterium intracellulare. Эти инфекции, как правило, манифестируют у ВИЧ-инфицированных с числом Т4-лимфоцитов ниже 50 в 1 мкл. Патогенез инфекционного процесса не изучен. Бактерии можно высеять из респираторного и желудочно-кишечного трактов. Клинические симптомы: нарастающая лихорадка, ночные поты, потеря массы тела, панцитопения. Без лечения смерть наступает через 3—4 мес.

Лечение: кларитромицин (clarithromycin), азитромицин (azithromycin).

Туберкулез. Туберкулез занимает 2-е место в мире среди инфекций как причина смерти. Соответственно он является существенной проблемой и у ВИЧ-инфицированных в Африке, Азии, социально и экономически «подавленных» слоях населения западных стран. Диагноз подтверждают микроскопической идентификацией Mycobacterium tuberculosis при окраске по Ziehl — Nielsen в мазках из пораженных процессом тканей или высевом возбудителя в культуру (в течение не менее чем 6 нед).

Лечение: изониазид (isoniazid), рифампицин (rifampicin), пиразинамид (pyrazinamide), стрептомицин (streptomycin), этамбутол (ethambutol), тиациетазон (thiacetazone). Для современных штаммов Mycobacterium tuberculosis характерна мультилекарственная устойчивость (более чем у 50 % пациентов). Ведутся разработки новых препаратов.

Криптококкоз. Cryptococcosis neoformans поражает около 10 % ВИЧ-инфицированных с числом Т4-лимфоцитов ниже 200 в 1 мкл крови. Наиболее характерные места поражения —

мозговые оболочки и легкие. Лабораторно подтвердить диагноз иногда можно по обнаружению криптококков в цереброспинальной жидкости по окраске индийскими чернилами (India ink).

Лечение: флюконазол (fluconazole), амфотерицин В (amphotericin В).

Кандидоз. Орофарингеальные и вагинальные инфекции *Candida albicans* встречаются у ВИЧ-инфицированных еще при небольшой выраженности синдрома иммунодефицита. Диагноз ставят по данным физикального обследования. Манифестация кандидоза является плохим прогнозом приближающейся стадии СПИД.

Лечение: топические формы амфотерицина В, нистатина, кетоконазола (ketaconazole), флюконазола (fluconazole). При тяжелых или торпидных формах — амфотерицин В внутривенно.

Гистоплазмоз. *Histoplasma capsulatum* эндемична для центральных и южных регионов США и Южной Америки. У ВИЧ-инфицированных манифестирует в острой или подострой форме с симптомами лихорадки, пневмонии и ulcerации верхних дыхательных путей, спленомегалии, цитопении. Диагноз ставят по данным обнаружения гистоплазмы в биопсийном материале, в мокроте или костном мозге или по данным посева гистоплазмы *in vitro*.

Лечение: амфотерицин В, итраконазол (itraconazole).

Криптоспориоз. *Cryptosporidium parvum* — простейшее. Эта протозойная инфекция поражает эпителий кишки. У ВИЧ-инфицированных обычно манифестирует уже в поздние сроки развития болезни. Симптомы: боли в животе, частая водянистая диарея, потеря массы тела. Диссеминирует в билиарные протоки, соответственно с симптомами обструкции.

Лекарственная терапия не подобрана.

Другие инфекции желудочно-кишечного тракта. Для ВИЧ-инфицированных характерны множественные суперинфекции и «букеты»: микроспоридиозы *Enterozoon bienusi* и *Septata intestinalis*, а также *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *Giardia lamblia*, *Clostridium difficile*.

Бактериальные респираторные инфекции. Если бактериальные респираторные инфекции *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* вызывают у человека пневмонию 2 раза за год и более, то это должно насторожить врача в отношении наличия ВИЧ-инфекции.

Лечение: обычные антибиотики.

Опухолевые заболевания на фоне ВИЧ-инфекции. Характерные опухоли, сопровождающие ВИЧ-инфекцию, по сути тоже инфекции, поскольку это саркома Капоши и неходжкинские лимфомы - и то и другое вирусного происхождения.

Саркома Капоши. Саркомой Капоши называют полифокальные очаги пролиферации клеток эндотелиального происхождения, локализованные в разных тканях организма: коже, слизистых оболочках (орофарингеальной области, кишечника), легких, печени, лимфатических узлах.

Выделен новый герпес-вирус, ассоциированный с клетками саркомы Капоши. Обозначен KSHV (Kaposi's sarcoma-associated herpes virus). Саркома Капоши в последние годы встречается только у 15 % ВИЧ-инфицированных, раньше было больше. Это объясняется тем, что KSHV распространяется преимущественно через гомосексуальные контакты, а доля гомосексуалистов среди всех ВИЧ-инфицированных в первые годы пандемии составляла до 90 %, в настоящее время она меньше в связи с распространением эпидемии на основную популяцию населения.

Рост клеток саркомы Капоши зависит от их стимуляции tat-белком вируса ВИЧ, а также цитокинами IL-1, IL-6 и TNF- α , онкостатином и, возможно, другими факторами. Диагноз кожной формы саркомы Капоши ставят по данным физикального осмотра. Иногда ее можно спутать с бациллярным ангиоматозом. Висцеральную форму саркомы Капоши диагностировать труднее.

Лечение. Локализованные формы саркомы Капоши хорошо отвечают на радиотерапию и локальную химиотерапию. При генерализованных и висцеральных формах назначают системную химиотерапию блеомицином, винкристином, винбластином, доксорубицином. Эффективен INF- α в больших дозах (9—36 млн ед. в 1 сут), но только у пациентов с числом Т4-лимфоцитов больше 200 в 1 мкл крови.

Неходжкинские лимфомы. Лимфомы развиваются, как правило, у пациентов, получающих своевременную и надлежащую антиретровирусную химиотерапию и эффективную терапию оппортунистических инфекций. Такие пациенты «доживают» до лимфом. Практически все лимфомы у ВИЧ-инфицированных В-клеточного происхождения, «high grade», иммунобластные. Часто это первичная лимфома мозга. В 100 % случаев церебральной локализации в клетках лимфомы обнаруживают вирус Эпштейна — Барр, при периферической локализации, которая встречается реже церебральной, — в 50 % случаев.—

Лечение: радио- и химиотерапия (циклофосфамид, винкристин, эпирубицин, преднизолон).

Чешуйчатый рак. Для пациентов с ВИЧ-инфекцией характерен чешуйчатый рак шейки матки или прямой кишки, ассоциированный с вирусами папилломы человека. У ВИЧ-инфицированных женщин и мужчин рекомендуется каждые 6 мес брать мазки из соответствующих мест для анализа на присутствие вирусов папилломы.

Неврологические заболевания на фоне ВИЧ-инфекции. Для ВИЧ-инфицированных характерны следующие заболевания нервной системы: СПИД-ассоциированная деменция, прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия, вакулярная миелопатия, периферическая нейропатия.

СПИД-ассоциированная деменция (ADC — AIDS-dementia complex). Симптомы ВИЧ-ассоциированной деменции имеют преимущественно субкортикальный характер. Их делят на 3 группы: 1) когнитивные симптомы (снижение способности концентрировать внимание, ухудшение краткосрочной памяти, замедление мыслительных способностей); 2) моторные симптомы (нарушение координации, ухудшение почерка, нестабильность походки); 3) изменение поведения (социальная апатия и самоотстранение от общественной жизни).

ADC может развиваться уже через несколько недель после инфицирования или через несколько или много месяцев. На поздних стадиях болезни ADC прогрессирует до полной деменции с потерей ориентировки, мутизмом, парапарезами, недержанием мочи и кала.

Диагноз ставят по физикальным данным. При патологоанатомическом исследовании регистрируют атрофию мозга, диффузное и субкортикальное повреждение белого вещества мозга, синцитий без признаков воспалительных инфильтратов, атрофию серого вещества, реже церебральные васкулиты.

Лечение. ADC неплохо лечится зидовудином в максимально переносимых дозах. Признаки клинического улучшения обычно наступают через 2 мес от начала лечения. Улучшение наступает и в тех случаях, когда доминирующие изоляты ВИЧ у больного резистентны к зидовудину. Зидовудин используют и для первичной профилактики ADC.

Прогрессивная мультифокальная лейкоэнцефалопатия (ПМЛ). ПМЛ встречается у 4 % ВИЧ-инфицированных, преимущественно на поздних стадиях болезни. Этиологический агент ПМЛ — вирус Creutzfeldt — Jakob (JC).

Лечение не подобрано.

Периферическая нейропатия. ВИЧ-ассоциированная периферическая нейропатия, наиболее частая неврологическая патология у ВИЧ-инфицированных, встречается не меньше чем у 50 % из них. Проявляется в парестезиях и онемениях сначала стоп, затем кистей.

Лечение: мазь капсаицина, вальпроат натрия, клоназепам, малые дозы amitриптилина.

Возможны мононевриты и воспалительные демиелинизирующие полинейропатии, а также нейропатии автономных нервных узлов с соответствующей висцеральной симптоматикой (аритмия сердца, гипотензия, диарея и т.д.).

Другие проявления со стороны нервной системы. Возможны асептический менингит во время острого эпизода гриппопо-

Таблица 12.4. Профилактика оппортунистических инфекций и СПИД-ассоциированной деменции

| Заболевание | Первичная профилактика | Вторичная профилактика |
|--|--|---|
| Пневмония, вызванная <i>Pneumocystis carinii</i> | Trimethoprim-sulphamethoxazole; Dapson; Pentamidine (аэрозоль или внутривенно) | Trimethoprim-sulphamethoxazole; Dapson; Pentamidine |
| Токсоплазмоз | Trimethoprim-sulphamethoxazole; Dapson; Pyrimethamine | Sulphadiazine-Pyrimethamine; Clindamycin/pyrimethamine |
| Цитомегаловирусные инфекции | Ganciclovir (перорально) | Ganciclovir (внутривенно); |
| Туберкулез | Isoniazid ? комбинации | госаппет Isoniazid/rifampicin + ? |
| Инфекция <i>Mycobacterium avium</i> complex | Clarithromycin; Azithromycin; Rifabutin | Clarithromycin; Ethambutol; Rifabutin; Clofazamine (комбинация минимум 3 препаратов) |
| Кандидозы | Fluconazole; Ketoconazole | Fluconazole; Ketoconazole |
| Криптококкозы | Fluconazole; Ketoconazole | Fluconazole; Amphotericin B |
| СПИД-ассоциированная деменция | Zidovudine | Zidovudine |

добного синдрома первичной инфекции, а также эпилептические припадки. Менингизм лечат малыми дозами amitриптилина, эпилептические припадки — антиконвульсантами (фенитоин, карбамазепин, клоназепам).

У 20 % ВИЧ-инфицированных при патологоанатомических исследованиях находят инфаркты в базальных ганглиях мозга.

Принятую лекарственную профилактику наиболее часто встречающихся заболеваний при ВИЧ-инфекции кратко суммируем в табл. 12.4.

Иммунотерапия. Под иммунотерапией понимают воздействия, направленные на лимфоциты, или введение в организм медиаторов иммунного ответа.

При развившейся ВИЧ-инфекции иммунотерапия не показана. Дело в том, что именно гиперстимуляция иммунной системы самой этой вирусной инфекцией в первую очередь и приводит к повреждению иммунной системы задолго до того, как скажется прямое **ЦИТОПАТОГЕННОЕ** действие вируса на ин-

фицированные лимфоциты. Кроме того, многие факторы иммунитета способствуют усилению репликации вируса (TNF- α , IL-1, IL-6 и др.).

Вопрос о поддержке регенерации иммунной системы встанет только в случаях, когда интенсивной антиретровирусной химиотерапией (HAART) удалось подавить репликацию ВИЧ до неопределяемых диагностическими методами количеств. Показано, что у взрослых ВИЧ-инфицированных возможности регенерации иммунной системы после успешной HAART ограничены. Исследования влияния такой терапии на детей проводятся. Известно, что ВИЧ серьезно повреждает тимус у детей. У взрослых после HAART число Т4-лимфоцитов в крови возрастает в разной мере у разных пациентов, но все-таки остается ниже нормы. Отработана схема стимуляции пролиферации лимфоцитов IL-2 (внутривенные инфузии курсом в течение 5 дней каждые 8 нед), которая приводит к заметному повышению в периферической крови числа Т4-лимфоцитов. Но при этом репертуар TCR остается таким, каким он был на момент начала противовирусной терапии, т.е. возможности развития иммунных ответов de novo остаются ограниченными (на «иммунодефицитном» уровне).

На стадии исследования находятся разработки по восстановлению иммунной системы за счет ретрансплантации пациенту собственных, но генетически модифицированных Т4-лимфоцитов. Генетические модификации в данном случае представляют собой трансфекцию в стволовые кроветворные клетки или в периферические Т-лимфоциты *in vitro* неких генов, привносящих невосприимчивость к заражению ВИЧ или свойства, блокирующие репликацию вируса в клетке (например, вектор Rev M10, который кодирует мутантный белок, способный блокировать работу ключевого регуляторного протеина ВИЧ, Rev).

Есть предварительные данные, что иммунная девиация в пользу Th1 повышает возможности иммунной системы ВИЧ-инфицированных (только после HAART) развивать иммунный ответ на неоантигены.

Глава 13. АУТОИММУННЫЕ БОЛЕЗНИ И БОЛЕЗНИ С СИНДРОМАМИ ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ

13.1. Этиология и патогенез

Истинные аутоиммунные болезни — это такие болезни, в патогенезе которых лимфоциты, запускаящие механизмы деструкции, распознают именно *нашивные* молекулы мембран

собственных клеток или межклеточного вещества и инициируют *иммунное воспаление*.

Часто и ошибочно к аутоиммунным относят все патологические процессы, при которых имеется повреждение тканей иммунными механизмами. Но вспомним, что иммунного ответа *вообще* против чужого патогенного антигена без повреждения собственных тканей не бывает потому, что, если патоген проник во внутреннюю среду, то он так или иначе вступил в тесную связь с клетками и межклеточным веществом: разрушая патоген, иммунная система разрушает и окружающие собственные ткани (когда вырывают «зуб», то травма «челюсти» неизбежна), насколько это больно и заметно, зависит от дозы антигена.

Если вирус заразил клетку организма, то ЦТЛ или НК, распознавшие вирусные антигены, разрушат *всю клетку*. Если микробные продукты сорбируются на межклеточном матриксе или стенке сосудов, или на эритроцитах, то противомикробные антитела с комплементом вызовут процессы *деструкции матрикса*, воспаление сосудистых стенок (*васкулиты*), *гемолиз*. Но это будут не аутоиммунные процессы, поскольку и ЦТЛ, и антитела направлены против микробных антигенов и разрушение тканей наступает лишь потому, что микробные продукты оказались тесно связанными с нашими тканями.

Еще одним *внешним* источником повышенной альтерации собственных тканей иммунными механизмами являются химические (иногда природные) вещества (медикаменты, химические добавки к пище, факторы химических производственных процессов и другие вредности подобного рода), которые, проникая во внутреннюю среду организма, в прямом смысле *денатурируют* собственные молекулы организма, превращая их в раздражающие иммунную систему антигены-мишени. И в этих случаях альтерацию собственных тканей иммунными механизмами тоже неправильно называть аутоиммунным процессом, поскольку иммунная система борется с внешними повреждениями на поверхности собственных тканей. Патогенетическим в данном случае будет лечение, направленное в первую очередь на элиминацию внешних повреждающих факторов, а не на супрессию собственной иммунной системы, чтобы она «не мешала» присутствию чужеродных факторов на клетках организма. Хотя, как мы увидим в главе 14, бывают клинические ситуации, когда процесс иммунного воспаления заходит так далеко, что по жизненным показаниям его приходится подавлять в первую очередь. Это лишний раз говорит о том, что с иммунной системой надо обращаться осторожно, особенно при попытках стимулировать ее.

В последние 5 лет эксперименты с трансгенными мышами и мышами с нокаутом генов дали много конкретной фактической информации, которая является для нас интеллектуаль-

ным утешением: пусть фрагментарно, но она позволяет составить представление о том, что такое аутоиммунные процессы. До последних 5 лет по этому вопросу имело место непроницаемое недоумение.

В норме у каждого здорового организма в периферических лимфоидных тканях есть и Т-, и В-лимфоциты с антигенраспознающими рецепторами для «своего», т.е. манифестация аутоиммунных болезней *не является* результатом возникновения аномальных аутореактивных клонов лимфоцитов: они есть всегда как нормальное явление. Поэтому манифестация аутоиммунного деструктивного процесса *иницируется* патогенным *внешним* фактором. Кстати, конкордантность однойцевых близнецов по аутоиммунным болезням *не превышает* их конкордантности по заболеваемости *инфекционными болезнями*.

Как мы уже не раз отмечали в разделах, посвященных дифференцировке лимфоцитов, их активации, иммунологической толерантности и супрессии иммунного ответа, одного факта связывания рецептора с антигеном недостаточно для запуска иммунного ответа, необходимы еще *своевременные ко-стимуляторные взаимодействия*: как минимум «CD40 — CD40L» и «B7 — CD28» (и для Т-, и для В-лимфоцитов — см. главу 7). Если связывание с лигандами антигенраспознающего рецептора и ко-стимуляторных молекул *разобщено* во времени [сначала одно, потом (или никогда) другое], то произойдет не активация лимфоцита к иммунному ответу, а анергия или апоптоз. Это доказано.

Таким образом, молекулы собственных клеток и межклеточного вещества — не объект для распознавания (по крайней мере Т-лимфоцитами) до тех пор, пока они каким-то образом не попадут во внутриклеточную «машину» профессиональных антигенпредставляющих клеток, активированных к экспрессии ко-стимуляторных молекул. В норме они туда не попадают. Это происходит в результате какого-то *предшествующего* патологического процесса (все тех же инфекций или травм), приводящего к альтерации тканей и воспалению.

Иммунный Т-лимфоцит, уже прошедший додифференцировку (иммуногенез), отличается от неиммунного Т-лимфоцита по крайней мере в двух отношениях: 1) для активации эффекторной функции иммунному лимфоциту достаточно только сигнала с TCR (т.е. он не зависит от ко-стимуляторных взаимодействий); 2) молекулы адгезии иммунного лимфоцита позволяют ему мигрировать в любые периферические ткани, тогда как неиммунный лимфоцит рециркулирует строго между «своими» зонами в периферических лимфоидных органах и не заходит в иные периферические ткани. Поэтому полагают, что инфекции способны *иницировать аутоиммунные процессы по следующим механизмам*.

- Антигенная мимикрия патогенов (эволюционно достигаемое уподобление микробных продуктов тканевым компонентам макроорганизма) индуцирует иммунный ответ с *перекрестной реактивностью* со своими антигенами. В дальнейшем аутоиммунный процесс не выходит в режим полноценной иммуносупрессии, поскольку свой антиген не может быть элиминирован и продолжает «раздражать» иммунные лимфоциты. В этом отношении особенно «преуспевают» вирусы; размножаясь внутри клеток организма, они время от времени включают в состав своего генома какие-то из генов этого организма. Это уже не мимикрия, а **прямая генетическая «кража»** и затем **использование «краденого»**.
- Микробные суперантигены вызывают поликлональную активацию. Какие-то из клонов лимфоцитов с реактивностью к своим антигенам могут войти в режим эффекторного иммунного ответа.
- Деструкция тканей патогеном (цитопатогенное действие вирусов, бактерий и др.) приводит к попаданию тканевых антигенов в активированные (тем же патогеном) дендритные клетки, которые транспортируют *все* антигены в периферические лимфоидные органы, где есть особые условия для индукции продуктивного иммунного ответа.
- Индуцированное патогеном локальное доиммунное воспаление сопровождается выработкой провоспалительных цитокинов, которые способны индуцировать экспрессию на клетках тканей (не профессиональных антигенпредставляющих клеток) молекулы МНС-II со своими пептидами, что потенциально создает условия для **инициации** иммунного ответа на свои антигены.
- Два TCR на одном лимфоците. Примерно 30 % периферических T-лимфоцитов несут по крайней мере два разных по специфичности TCR (в связи с «плановой» неоднократной перестройкой V-генов α -цепи при уже перестроенной β -цепи). Есть вероятность, что один из TCR может иметь специфичность к патогену, а второй — к аутоантигену. Активация иммуногенеза лимфоцита патогеном приведет к созданию клона иммунных лимфоцитов, которые будут работать в качестве эффекторов против обоих «своих» антигенов — чужого и своего.

Таким образом, начавшись так или иначе, но *в связи с* инфекцией аутоиммунное воспаление не может нормальным образом **остановиться**, потому что аутоантиген не исчезает, пока вся ткань, его экспрессирующая, не будет разрушена и выброшена из организма (см. раздел 7.6).

Ассоциация аутоиммунных болезней с определенными антигенами МНС (см. табл. 13.1) может быть понята именно с учетом «инфекционного» компонента патогенеза, так как именно МНС представляют антигены (в том числе и микробные) для распознавания Т-лимфоцитам: как представят, такой иммунный ответ и будет.

Вспомним, какие есть *эффектор*ные механизмы нормального иммунного ответа.

- Антитела — комплемент, фагоцитоз, АЗКЦТ, сосудистые и гладкомышечные реакции, опосредованные медиаторами тучных клеток и базофилов. Антительный ответ контролируют и программируют преимущественно либо $CD4^+$ Th2, либо цитокины из Th1 и $CD8^+$ ЦТЛ.
- ГЗТ: клетки-исполнители — активированные макрофаги, клетки-инициаторы и регуляторы — $CD4^+$ Th1.
- Деструкция клеток-мишеней $CD8^+$ ЦТЛ.

Еще в 1969 г. патофизиологи П.Джелл (P.Gell) и Р.Кумбс (R.Coombs) сформулировали представление о 4 *типах иммунологического повреждения тканей* (иногда то же самое называют типами аллергических реакций — не вполне точно, но по привычке):

- I тип — IgE-опосредованные реакции (раньше их называли реактивными);
- II тип — опосредован антителами, связывающимися с поверхностью клеток или матриксным веществом соединительной ткани;
- III тип — опосредован растворимыми иммунными комплексами;
- IV тип — опосредован Т-эффекторами (как мы теперь понимаем, $CD4^+$ Th1 с макрофагами или $CD8^+$ ЦТЛ).

Эти 4 типа соответствуют перечисленным выше конкретным эффекторным механизмам иммунной санации организма от антигенов. Те, кто хорошо знают патологическую физиологию, но меньше современную иммунологию, например, ГЗТ всегда рассматривают как патологический (а то и аллергический) процесс. Между тем ГЗТ — один из нормальных механизмов эффекторного этапа иммунного ответа. И воспринимается ГЗТ (как и любой другой эффекторный иммунный процесс) как *патология* только в случаях, когда доза антигена велика или баланс субпопуляций Th1:Th2 ненормален, или нарушены процессы нормальной супрессии иммунного ответа, устанавливаются порочные круги и т.п. Запуск деструктивного этапа иммунного ответа, направленного на аутоантигены — пример тяжелой, чем-то внешним спровоцированной патологии.

Аутоиммунных болезней как нозологических единиц выделено не так уж много (табл. 13.1). Интересно, что у разных пациентов аутоантигены-мишени (в тех случаях, когда они известны) *одни и те же в пределах нозологии*, а не то, что у каждого человека — свой уникальный аутоантиген. Механизмы повреждения тканей при аутоиммунных болезнях точно те же, что обеспечивают *санирующий* иммунный ответ на чужие антигены. Генетический анализ репертуара TCR у Т-лимфоцитов от лиц с разными аутоиммунными болезнями не выявил никаких особых TCR или доминирования каких-то вариантов над остальными.

Таблица 13.1. Примеры аутоиммунных болезней человека

| Название | Аутоантиген | Основные симптомы |
|--|--|--|
| II тип повреждения тканей — антитела к клеточным или матриксным антигенам | | |
| Аутоиммунная гемолитическая анемия | Rh-антиген эритроцитов | Разрушение эритроцитов комплементом и фагоцитозом → анемия |
| Аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура Синдром Гудпасчера (Goodpasture) | Интегрин тромбоцитов GrIIb/IIIa (рецептор для фибриногена) Неколлагеновый домен молекул коллагена IV типа базальных мембран | Разрушение тромбоцитов → кровоточивость Гломерулонефриты; геморрагии в легких |
| Вульгарная пузырчатка (Pemphigus vulgaris) Острая ревматическая лихорадка | Кадхерин эпидермиса Антигены миокарда, перекрестно реагирующие с антигенами клеточной стенки стрептококков | Отслойка эпидермиса в виде пузырей Миокардит, артриты |
| Пернициозная анемия | Мембранные молекулы париетальных клеток желудка (протонный насос) и внутренний фактор для усвоения витамина B ₁₂ | Гастрит типа А и <i>вдмолатическая</i> B ₁₂ -дефицитная анемия |
| Аутоиммунный гипертиреозидизм [болезнь Грейвса (Graves)] | Рецептор для тиростимулирующего гормона гипофиза (TSH) | Гиперстимуляция щитовидной железы антителами к рецептору для TSH |
| Первичная микседема [болезнь Хашимото (Hashimoto)] | Тироидная пероксидаза (ТРО) | Деструктивное воспаление щитовидной железы, зоб и в 50 % случаев гипофункция |

| Название | Аутоантиген | Основные симптомы |
|--|--|--|
| Инсулиннезависимый диабет (II типа) | Рецепторы для инсулина — антитела блокирующие (антагонисты инсулина) | Гипергликемия, кетоацидоз |
| Синдром гипогликемии | Рецепторы для инсулина (антитела — агонисты инсулина) | Гипогликемия |
| Myasthenia gravis | Рецепторы никотинового типа для ацетилхолина (антитела блокируют рецептор) | Мышечная слабость |
| Гранулематоз Вегенера (Wegener) Хроническая идиопатическая крапивница | Протеиназа-3 гранул нейтрофилов Высокоаффинный рецептор для IgE (FcεRI) | Некротизирующий васкулит Крапивница, не связанная с конкретными аллергенами (антитела класса G к этому рецептору вызывают его перекрестную сшивку и дегрануляцию тучных клеток) |

III тип повреждения тканей — иммунными комплексами

| | | |
|---------------------------------|---|--------------------------------------|
| Идиопатическая криоглобулинемия | IgG (комплексы IgG с ревматоидным фактором) | Системные васкулиты |
| Системная красная волчанка | ДНК, гистоны, рибосомы | Гломерулонефриты, васкулиты, артриты |

IV тип повреждения тканей — Т-эфффекторы (Т_H1, ЦТЛ)

| | | |
|---|---|--|
| Инсулинзависимый диабет (I типа) | Антиген (?) β -клеток панкреатических островков (островков Лангерганса) | Разрушение β -клеток панкреатических островков CD8 ⁺ и/или Т _H 1 Т-лимфоцитами → инсулинзависимый диабет |
| Рассеянный склероз (в эксперименте аутоиммунный энцефаломиелит) | Оснóвный протеин миелина (МБР); протеолипидный протеин нервной ткани | Th1-опосредованное воспаление мозга → параличи и другие нарушения нервной деятельности |
| Синдром Шегрена (Sjögren) | Неизвестный(е) антиген(ы) экзокринных желез | Кератоконъюнктивит, ксеростомы, разрушение экзокринных желез (слюнных, слезных) |

При многих болезнях с явным компонентом иммунного воспаления в патогенезе причинные антигены не известны и задействованы разные эффекторные механизмы иммунного воспаления. Клиницисты такие болезни все равно часто называют аутоиммунными, хотя этиологический антиген(ы) неизвестен(ы) и, вероятно, большинство болезней — не истинные аутоиммунные.

При некоторых заболеваниях этиология иммунного воспаления связана не с конкретными антигенами, а, например, с нарушениями в нормальных механизмах апоптоза лимфоцитов. При этом органная или тканевая локализация зависит от локализации *причинного фактора*, действующего на лимфоциты.

Например, при *ревматоидных артритах*, как показали недавние исследования, иммунное воспаление суставов вызвано тем, что зрелые иммунные Т-лимфоциты в синовиальных полостях своевременно не погибают апоптозом, а продолжают продуцировать провоспалительные цитокины, потому что сами получают *патологический сигнал* на выживание от *измененных* (возможно, инфекцией) фибробластов стромы синовиальных хрящей. В синовиальных Т-лимфоцитах аномально повышена экспрессия антиапоптозных белков Bcl-2 и Bcl-x_L.

Можно наблюдать и системное (во всем организме) нарушение апоптоза всех клонов лимфоцитов. У человека описан генетический дефект в гене Fas (это специализированный рецептор для запуска апоптоза), который клинически проявляется в лимфопролиферативном синдроме с системными «аутоиммунными» проявлениями, точнее, с системным иммунным воспалением. Заболевание летально.

Учитывая трудности в точной диагностике *аутоиммунности*, приведем краткое описание некоторых болезней, в течении которых, очевидно, имеет значение не просто иммунное воспаление, а иммунопатогенез ведущих симптомокомплексов. При этом более чем вероятно, что изначально этиологическим фактором в развитии этих болезней явилась та или иная, распознанная или нераспознанная и скорее всего вирусная инфекция, которую иммунная система не сумела санировать и со временем установились «порочные круги», приводящие к альтерации собственных тканей иммунными механизмами. Мы заведомо не перечислим все подобные болезни потому, что их сотни по всем частным медицинским специальностям.

Для всех заболеваний, называемых «аутоиммунными», характерно длительное, хроническое, прогрессивное течение с периодами ремиссий и обострений, как для хронических инфекционных болезней.

13.2. Заболевания эндокринных желез

Аутоиммунный гипертироидизм [болезнь Грейвса (Grawes)]. Встречается у 0,5 % населения, у женщин в 7 раз чаще, чем у мужчин. Является наиболее частой причиной гипертироидизма. Более чем в 90 % случаев удается обнаружить антитела к рецептору для тиростимулирующего гормона гипофиза. Эти антитела вместо гормона стимулируют функциональную активность клеток щитовидной железы, что и приводит к развитию симптомокомплекса гипертироидизма. Конкордантность по этому заболеванию у гомозиготных близнецов 50 %, у dizиготных — 5 %. Риск заболевания в 4 раза больше среднего у людей, имеющих аллель HLA-DR3.

Лечение. В иммунодепрессантах необходимости нет, кроме тяжелых случаев экзофтальма (тогда применяют высокие дозы стероидов, циклофосфамид, циклоспорин А). Обычно достаточно анти tiroидных блокаторов: метимазола (methimazole), пропилтиоурацила (propylthiouracil). Когда лекарственная терапия перестает поддерживать компенсированное состояние, осуществляют хирургическое удаление части щитовидной железы.

Аутоиммунный зоб [болезнь Хашимото (Hashimoto)]. В начальный период заболевания у 75 % пациентов функциональный статус щитовидной железы в пределах нормы, у 20 % — гипотироидизм, у 5 % — гипертироидизм. Первые признаки обнаруживают, как правило, в подростковом возрасте, но клинически значимое состояние развивается в большинстве (90 %) случаев после 45 лет. По мере прогрессирования болезни у 50 % пациентов развивается гипотироидизм. Более чем у 95 % больных выявляют антитела к тироидной пероксидазе (микросомный антиген), иногда к тироглобулину (протогормон, мол. масса 600 000).

Лечение. Заместительная терапия тироидными гормонами (Т3 и Т4) под контролем уровня гормонов в сыворотке крови.

Инсулинзависимый диабет (ИЗД). ИЗД развивается в результате селективного разрушения β -клеток панкреатических островков (островков Лангерганса) (α - и δ -клетки целы) $CD8^+$ ЦТЛ и $CD4^+$ Th1-опосредованным иммунным воспалением. Иницирующий иммунный ответ антиген — мишень неизвестен. Этиология болезни предположительна. Конкордантность однойцевых близнецов не более 40 %, следовательно, имеют значение факторы окружающей среды. Прослеживаются клинические ассоциации с рядом вирусных инфекций (краснуха, вирус коксаки В4, реовирусы 1-го и 3-го типов и др.), а также с интоксикацией такими химическими соединениями, как N-3-пиридил-метил-N-P-нитрофенилмочевина, стрептозотоцин (2-дезоксиметил-нитромочевина-глюкопиранозид), мезоксалилмочевина.

Клинически болезнь манифестирует «остро» симптомами полиурии, полидипсии и быстрого похудения (дни, недели). Но процесс разрушения β -клеток протекает в течение нескольких лет до этого (о чем свидетельствуют результаты патологоанатомических исследований) и при жизни не диагностируется в связи с компенсированностью клинической картины. В преклинической стадии диагностическое значение имеет определение в сыворотке крови антител к клеточным антигенам β -клеток, антиинсулиновых антител, антител к глютаматдекарбоксилазе (анти-GAD) и антител к тирозинфосфатазе IA-2, а также тесты на толерантность к глюкозе (внутривенный и пероральный).

Поскольку существуют модели на мышах (NOD — non-obese diabetic) и крысах (BB — Bio-Breeding diabetes-prone), то собственно эффекторный механизм иммунной деструкции β -клеток лимфоцитами CD8⁺ ЦТЛ и Th1-эффекторами ГЗТ изучен лучше, чем при многих других болезнях. Но незнание иницилирующего иммунный ответ антигена(ов) и этиологических кофакторов не позволяет осуществлять ни раннюю доклиническую диагностику, ни профилактику.

Лечение. Заместительный инсулин.

Недостаточность надпочечников (болезнь Аддисона). Встречается с частотой 6 на 100 000 населения, у женщин в 2 раза чаще, чем у мужчин. Поражается кора, но не мозговое вещество надпочечников. У 80 % больных обнаруживают антитела к 17 α -гидроксилазе.

Лечение. Заместительная терапия гормонами коры надпочечников.

Болезнь Кушинга (Cushing). Это микронодулярная аденокортикальная гиперплазия. Вызвана антителами к рецептору для адренокортикотропного гормона (АКТГ), которые *стимулируют* надпочечники вместо АКТГ. Как правило, у 50 % больных выявляют множественные эндокринопатии и антитела к другим тканевым антигенам: у 20 % — патология щитовидной железы, у 15 % — диабет, у 8 % — патология яичников, у 4 % — гипопаратирозидизм.

Лечение симптоматическое.

Гипокальциемия. В 95 % случаев гипокальциемии, вызванной нарушениями на уровне почечной недостаточности, обнаруживают блокирующие антитела к рецептору почечных канальцев для паратиреоидного гормона. Гипокальциемия индуцирует вторичный гиперпаратирозидизм.

Лечение симптоматическое.

13.3. Заболевания желудочно-кишечного тракта

Гастрит и пернициозная анемия. Встречаются с частотой 0,1 % в западных странах. Характеризуются атрофией слизистой обо-

лочки желудка с потерей париетальных и chief-клеток. У 90 % больных обнаруживают антитела к мембранному белку париетальных клеток (H^+/K^+ -зависимой АТФазе, мол. масса 114 000 / 60 000—90 000) и у 70 % — к внутреннему фактору для витамина B_{12} . Слизистая оболочка инфильтрирована лимфоцитами ($CD4^+$, $CD8^+$, В).

Лечение симптоматическое.

Целиакия. Описана впервые в 1940 г. врачом Dicke. Хроническое воспалительное заболевание тонкой кишки с атрофией ворсинок, гиперплазией крипт, лимфоцитарным инфильтратом эпителия и lamina propria, мальабсорбцией.

Заболевание развивается при использовании в пище глютена — компонента пшеницы. В 50 % случаев выявляется в раннем детском возрасте, в 50 % — у взрослых. Распространено с частотой 1:300 в Ирландии, 1:2000 в Великобритании, 1:6000 в Швеции и крайне редко встречается в странах Азии и Африки. Болезнь ассоциирована с HLA-DQ2: этот аллель экспрессирован более чем у 95 % больных целиакией, у остальных 5 % экспрессированы HLA-DR4 или HLA-DQ8. Но целиакия развивается далеко не у всех людей, имеющих аллель HLA-DQ2, а лишь у низкого процента из них.

Кроме пшеницы, перекрестную токсичность проявляют в отношении этих людей рожь, ячмень и овес (антигенами являются спирторастворимые проламины эндоспермов этих злаковых растений — глиадин, секалин, хордеин, авенин).

В слизистой оболочке тонкой кишки повышено содержание внутриэпителиальных $CD7^+$ $Ty8$, $CD4^+$ $Th1$, а также плазмочитов, продуцирующих антитела преимущественно классов G и M (в норме в слизистой оболочке ЖКТ преобладает продукция IgA), эозинофилов и тучных клеток. Иммунопатогенез тем не менее неизвестен. Не исключен фактор инфекции каким-то энтеровирусом. Гистологическая картина слизистой оболочки дает основания признать наличие ГЗТ [сначала гипертрофия, затем атрофия ворсин; гиперплазия крипт; увеличенное число внутриэпителиальных лимфоцитов; признаки активации Т-лимфоцитов и макрофагов (DR^+ , $IL-2R^+$, повышенная продукция INF- γ ; дегрануляция тучных клеток в слизистой оболочке). В lamina propria много Т-лимфоцитов, реагирующих на глиадин, представленный в комплексе с HLA-DQ2.

Клиническая картина. У детей отставание в росте, диарея, обильный стул, увеличение живота, анорексия, общая слабость. В подростковом возрасте возможно спонтанное улучшение. У взрослых диарея, потеря массы тела, анемия, герпетический дерматит, у 50 % — гипоспленизм.

Дифференциальный диагноз ставят по данным лабораторного обследования: определяют в сыворотке крови антитела к глиадину, выполняют гистологический анализ био-

птата слизистой оболочки тонкой кишки. Анализ на антиглиадиновые антитела класса G более чувствителен (95 %), класса A — более специфичен (нормальные показатели зависят от возраста и наличия в диете продуктов, содержащих глиадин). В связи с повышенной проницаемостью воспаленной слизистой оболочки в сыворотке крови могут быть антитела к другим пищевым антигенам (β -лактоглобулину, казеину, овальбумину). Роль этих антител в патогенезе, однако, непонятна, вероятно, это эпифеномен.

Лечение. Пожизненное исключение из диеты всех продуктов, содержащих глиадин и перекрестно реагирующие проламины. В тяжелых случаях назначают кортикостероиды и иммунодепрессанты до улучшения клинического состояния и гистологической картины биоптата тонкой кишки.

Некупированная целиакия часто осложняется ассоциированной с энтеропатией T-клеточной лимфомой (из CD7⁺ внутриэпителиальных T-лимфоцитов).

Воспалительные заболевания кишечника (Inflammatory bowel disease). Этим «сборным» термином обозначают *идиопатический язвенный колит* и нечетко отличающуюся от него *болезнь Крона* (Crohn). Встречаются с частотой 10—15 случаев на 100 000 населения в западных странах. Как правило, манифестируют в возрасте 20—40 лет. Этиология неизвестна, но подозревают инфекцию, особенно в случае болезни Крона. Гистологическая картина: трансмуральное воспаление с лимфоидными агрегатами и гранулемами из синцития и эпителиоподобных клеток, характерна гипертрофия нервов и подслизистого мезентериального сплетения. Инфильтрат состоит из нейтрофилов, макрофагов, плазмоцитов и лимфоцитов.

При болезни Крона симптомы зависят от конкретной локализации и размеров воспаления: лихорадка, боли в животе, диарея, потеря массы тела. Возможны симптомы обструкции, фистулы, абсцессы.

В крови больных определяют антитела к пищевым антигенам и кишечным бактериям-комменсалам, но это рассматривают как эпифеномен (результат патологически повышенной проницаемости воспаленного кишечника). Определяют также антитела, связывающиеся с поверхностными структурами эпителиальных клеток толстой кишки. Достоверно показано, что эти антитела перекрестно реагируют с микробными продуктами *E.coli*. Однако, поскольку болезнь Крона и язвенный колит редко сочетаются с другими аутоиммунными расстройствами, более вероятны инфекционная этиология и индуцированное инфекцией хроническое иммунное воспаление.

Лечение. Сульфасалазин, аminosалицилаты (месалазин, олсалазин), в тяжелых случаях кортикостероиды. В 80 % случаев болезни Крона возникает необходимость в хирургическом вмешательстве.

13.4. Заболевания крови

Аутоиммунная гемолитическая анемия. Различают по крайней мере две формы: *тепловую* и *холодовую*.

При *тепловой гемолитической анемии* (протекающей при нормальной температуре внутренней среды организма, 36,8—37 °С) эритроциты человека аномально покрыты антителами преимущественно класса G и компонентами комплемента C3 и C4. В таком виде эритроциты подвергаются повышенной экстравазкулярной деструкции макрофагами печени и селезенки. Этиология неизвестна. Бывают идиопатические случаи, встречаются так называемые вторичные варианты, т.е. ассоциированные с другими заболеваниями, в первую очередь лимфопролиферативными, а также с коллагеновыми болезнями, инфекциями, синдромами иммунодефицитов.

Лечение. В первую очередь лечат основную болезнь. При тяжелой анемии показаны гемотрансфузии; иногда улучшение состояния достигают применением глюкокортикоидов, иммуносупрессивных препаратов, спленэктомии.

Холодовую гемолитическую анемию вызывают антитела класса M, обычно направленные против таких антигенов эритроцитов, как 001, i, P_g. Она бывает также идиопатическая или вторичная. Вторичная ассоциирована с заболеваниями, вызываемыми *Mycoplasma pneumoniae*, и инфекционным мононуклеозом, как правило, в подростковом и молодом возрасте, саморазрешается при выздоровлении от основной болезни. У пожилых пациентов холоддовая гемолитическая анемия чаще всего является осложнением лимфопролиферативных процессов и имеет хроническое длительное течение.

Антиэритроцитарные антитела присоединяются к эритроцитам только в периферических сосудах, где температура крови ниже 32 °С, затем в глубоких сосудах комплекс эритроцит — антитела фиксирует комплемент и развивается внутрисосудистый гемолиз. Гемолиз происходит эпизодами в связи с переохлаждением и ознобами, может сопровождаться (или нет) желтухой и гемоглобинурией.

Лечение. Избегание переохлаждений — это главное. Глюкокортикоиды и спленэктомия улучшения не приносят.

Кратко остановимся еще на 3 видах разрушения эритроцитов, опосредованного иммунными факторами, но не являющихся аутоиммунными процессами:

- гемолиз, связанный с введением в организм лекарственных препаратов;
- гемолитическая болезнь новорожденных;
- гемотрансфузионные осложнения.

Лекарственный гемолиз. Некоторые лекарственные препараты у некоторых людей могут сорбироваться на поверхности

эритроцитов или образовывать комплексы с белками крови, в том числе и иммуноглобулинами. И в той и в другой ситуации эритроциты оказываются под угрозой комплементопосредованного лизиса и/или повышенного фагоцитоза макрофагами печени и селезенки. В клинической практике явления такого рода замечены при применении пенициллина и α -метилдопа. Учитывая количество фармакохимических препаратов, следует иметь в виду возможность подобных осложнений в связи с другими препаратами. Прогноз зависит от размера гемолиза.

Лечение сводится к коррекции осложнений, из которых наиболее опасна почечная недостаточность.

Гемолитическая болезнь новорожденных. Представляет собой экстравазкулярное разрушение эритроцитов плода антиэритроцитарными антителами матери, проникшими через плаценту (IgG). Чаще всего такая ситуация возникает при несовместимости по ABO и группе крови 0 у матери. Степень выраженности патологического процесса у новорожденного сильно варьирует, поскольку антигены ABO к моменту рождения еще недостаточно экспрессированы на эритроцитах, а антитела к антигенам A и B принадлежат преимущественно к субклассу G2, плохо фиксирующему комплемент и слабо опсонизирующему к фагоцитозу. Вопрос об обменном переливании крови или плазмы решают в зависимости от степени анемии, наличия желтухи и общего состояния новорожденного.

Как правило, гораздо сильнее проявляется так называемый резус-конфликт в случае Rh-отрицательной матери и Rh-положительного плода. Антигены Rh(D) хорошо экспрессированы на эритроцитах еще в пренатальном периоде, а антитела к Rh(D) принадлежат к субклассам G1 и G3, которые хорошо активируют комплемент и опсонизируют к фагоцитозу. При сильно выраженном процессе плод может погибнуть еще в матке с явлениями водянки. При рождении живого ребенка часто необходимо обменное переливание крови или плазмы в зависимости от выраженности анемии. Иногда это делают еще in utero. Если у Rh(D)-отрицательной матери при предыдущих беременностях были травмы, геморрагии плаценты, эктопическая беременность, акушерские процедуры, при которых клетки плода могли бы попасть в организм матери, то для профилактики резус-конфликта при текущей беременности женщине вводят анти-Rh(D)-сыворотку [что, напоминаем, через FcyRIIB на B-лимфоцитах ингибирует продукцию антител B-лимфоцитами именно клона анти-Rh(D)].

Гемолиз при трансфузионных осложнениях. В настоящее время известны 22 системы антигенов групп крови (ABO, MNS; P; Rh; Lutheran; Kell; Lewis; Duffi; Kidd; Diego; Cartwright; Xg; Scianna; Dombrock; Colton; LW; Chido/Rogers; H; Kx; Gerbich;

Stromer; Knops) и коллекции антигенов: Indian; Cost; Ii; Er; P₁; LKE; Lewiss-like (Le^c, Le^d); Wright. Системы групп крови имеют порядковые номера от 001 до 022. Чаще всего гемолиз при трансфузиях обязан антителам класса М к антигенам системы АВО, а также антигенам Tj^a, Vel, Le^a.

При гемотрансфузиях активируются процессы интраваскулярного комплементзависимого гемолиза, экстраваскулярного разрушения эритроцитов, а также анафилотоксины из системы комплемента — С5а и С3а, система коагуляции крови и кининовая система. Клинически значимые симптомы могут появиться от вливания всего 30 мл чужой крови. Основные клинические симптомы гемотрансфузионных осложнений: озноб, лихорадка, чувство жжения в месте инфузии, боли в грудной клетке и спине, диспноэ, нервное возбуждение, чувство психического дискомфорта (ощущение обреченности); затем гипотензия, олигурия, гемоглобинурия, анурия, шок, кровоточивость.

Лечение. Интенсивная противошоковая терапия и лечение синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

Идиоматическая аутоиммунная **тромбоцитопеническая** пурпура. Заболевание развивается у взрослых. У 10 % больных наступает спонтанное излечение. Антитела направлены против интегринов тромбоцитов GpIIb/IIIa. С этим заболеванием люди живут долго, если не появляются усугубляющие его обстоятельства. Симптомы: петехии, склонность к синякам, рекуррентные носовые кровотечения, меноррагии у женщин.

Лечение. Глюкокортикоиды, в тяжелых случаях спленэктомия.

Болезнь необходимо дифференцировать с постинфекционной тромбоцитопенией (подобной той, которая бывает у детей после вирусных инфекций), вторичной тромбоцитопенией ВИЧ-инфицированных, больных хроническими лимфопролиферативными заболеваниями, болезнью Ходжкина, системной красной волчанкой, ревматоидным артритом, с тромбоцитопенией, индуцированной лекарственными препаратами (квинином, квинидином, седормидом, солями золота, аспирином, гепарином).

Аналогичные аутоиммунные и не «ауто», но иммуноопосредованные патологические процессы известны в отношении всех других клеток крови.

13.5. Заболевания нервной системы с компонентом иммунного воспаления

Перечислим заболевания нервной системы, в патогенезе которых прослеживаются процессы иммунного воспаления. В периферической нервной системе это полинейропатии (синдром

Guillain — Barré; хроническая демиелинизирующая полирадикулонейропатия; мультифокальная моторная нейропатия; плексопатии; парапротеинемическая нейропатия). Нервно-мышечные нарушения: миастения гравис (myasthenia gravis), синдром Lambert — Eaton. Нарушения спинного мозга: тропический спастический парапарез, синдром Stiff-man. В центральной нервной системе это рассеянный склероз, острый диссеминированный геморрагический энцефаломиелит, подострый склерозирующий панэнцефалит, паранеопластический синдром (дегенерация мозжечка, энцефаломиелит, опсоклонус-миоклонус). Кратко опишем только рассеянный склероз и myasthenia gravis.

Рассеянный склероз. Заболевание описано в 1868 г. врачом Charcot. Иммунное воспаление в патогенезе заболевания заподозрено в работах патофизиологов 50-х годов. Заболевание в западных странах встречается с частотой 1:1000 населения (т.е. весьма распространено).

При этом заболевании происходит диссеминированная демиелинизация аксонов мозга преимущественно в перивентрикулярных областях и в corpus callosum. Бляшки демиелинизации бывают размером от менее чем 1 мм до нескольких сантиметров. Олигодендроциты разрушаются, астроциты избыточно пролиферируют, в области бляшек развивается ацеллюлярный фиброз. В периваскулярных областях отмечается лимфоцитарная инфильтрация.

Экспериментальной моделью этого заболевания считают ЕАЕ — экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит у мышей и крыс. Аутоантиген — МВР — главный основной протеин миелина. Иммунопатогенез состоит в повреждении миелина по механизму ГЗТ, т.е. опосредован ТЫ. Как уже отмечали, факта наличия в организме Т-лимфоцитов с TCR для МВР недостаточно для развития заболевания. Мыши, трансгенные по TCR для МВР, у которых все Т-лимфоциты в организме специфичны к МВР, *здоровы*. Но если таких мышей искусственно иммунизировать МВР с полным адьювантом Фрейнда (содержащим микробные продукты), у них быстро разовьется клиническая картина энцефаломиелита. Спровоцировать клиническую манифестацию можно иначе — инфицировать мышей нейротропным изолятом вируса гепатита мышей, без иммунизации МВР. Тем не менее этиологические факторы рассеянного склероза у человека не идентифицированы.

Клиническая картина. Характерны (в соответствии с локализацией бляшек демиелинизации) симптомы неврита зрительного нерва, офтальмоплегии (нистагм при отведении и невозможность полного приведения глазного яблока), диплопия при попытке пристального взгляда, головокружения, гемистезии, гемипарезы, нарушения координации, спиналь-

ные синдромы у 30 % больных. При прогрессировании — спутанное сознание, депрессия, деменция. Симптомы неврита зрительного нерва практически патогномоничны для рассеянного склероза: у 75 % женщин, обратившихся впервые с жалобами на симптомы неврита зрительного нерва, в дальнейшем оказывается рассеянный склероз.

Диагноз ставят только по клинической картине. Адекватных лабораторных методов дифференциальной диагностики нет.

Лечение. Адекватного лечения нет. У некоторых пациентов отмечают временный эффект от больших доз метилпреднизолона (1 г внутривенно в течение 3 дней). Иммунодепрессанты (азатиоприн, циклоспорин, циклофосфамид), как правило, неэффективны. Клинические испытания INF- α показали, что он усугубляет течение болезни (что и следовало ожидать). Клинические испытания INF- β (рекомбинантного, негликозилированного), возможно, более обнадеживающи, но еще не подтверждены.

В эксперименте на грызунах достоверное улучшение удается достичь пероральным введением (скармливанием) причинного антигена — MBP (ожидаемая индукция толерантности при пероральном пути введения антигена). На людях такой подход не испытывали.

Прогноз. Через 15 лет от момента манифестации 10 % пациентов не могут обходиться без инвалидного кресла, 50 % вынуждены пользоваться палкой или посторонней помощью при ходьбе.

Миастения гравис (*Myasthenia gravis*). Заболевание описано в 1672 г. Th. Willis. Получило название *myasthenia gravis* (слабость «до гробовой доски») в 1895 г. (F. Jolly). Тимэктомия в лечебных целях впервые была сделана в 1911 г. Заболевание встречается в Европе с частотой 2—4 на 100 000 населения, чаще у женщин. Пик манифестации — в возрасте 20—30 лет.

Этиология неясна. Патогенез известен: обусловлен блокирующими антителами к рецептору для ацетилхолина (никотинового типа), обеспечивающему передачу нервного импульса с двигательных нервов на поперечнополосатые мышцы (в нервно-мышечном синапсе). У большинства пациентов с *myasthenia gravis* есть аномалии в тимусе: в 70 % случаев они могут быть выявлены только микроскопически и представляют собой лимфоидную фолликулярную гиперплазию. В 10 % случаев макроскопически обнаруживают доброкачественную тимому. При этом опухолевые клетки тимуса имеют морфологические и биохимические признаки подобия клеткам поперечнополосатых мышц. Степень повреждения постсинаптических рецепторов к ацетилхолину колеблется от 30 до 50 %. Соответственно различается и степень выраженности клинических симптомов: от средней степени птоза только до

тяжелой мышечной дебильности и дыхательной недостаточности при вовлечении в процесс мышц, участвующих в респираторных движениях. Болезнь приходится дифференцировать с множеством неврологических патологий. При генерализованной миастении антитела к ацетилхолиновому рецептору обнаруживают у 75 % пациентов с *myasthenia gravis*, при только окулярной форме — у 50—60 %.

У больных с тимомами обнаруживают антитела не только к рецептору для ацетилхолина, но также антитела к актину, α -актину, миозину, танину, рецептору для райнодина (ryanodine receptor — кальциевый канал в саркоплазматическом ретикулуме поперечнополосатых мышц). Обнаружение антител к рецептору для райнодина коррелирует с наиболее тяжелыми клиническими формами *myasthenia gravis*. В стационаре возможно проведение специального теста с введением эдрофониума (edrophonium) (Tensilon) и регистрацией результатов физикально или электромиографией.

Лечение. Ингибиторы ацетилхолинэстеразы, тимэктомия, стероиды, иммунодепрессанты. При применении ингибиторов ацетилхолинэстеразы (неостигмин, пиридостигмин) требуется подбор доз в стационаре, поскольку побочные эффекты излишней стимуляции мускариновых рецепторов представляют проблему и нуждаются в тщательной коррекции (тошнота, спазмы в животе, диарея, излишнее слюно- и потоотделение). Стероидные препараты, а также иммунодепрессанты (азатиоприн, циклоспорин, циклофосфамид) у некоторых пациентов дают улучшение. Следует избегать применения по другим показаниям (например, анестезии) препаратов, усугубляющих синдром миастении (*D*-tubocurarine, pancuronium, succinylcholine, quinine, quinidine, procainamide, аминогликозиды, местные анестетики, β -блокаторы).

Прогноз. Еще 30 лет назад от *myasthenia gravis* умирал каждый 4-й больной. Риск летального исхода максимален в течение 1-го года после постановки диагноза. Если человек переживает этот срок без признаков быстрой прогрессии, то прогноз благоприятен. Если в первые 2 года после манифестации произведена тимэктомия, то у некоторых пациентов достигается перманентная ремиссия. Если в течение 7 лет заболевание при любом способе лечения не выходит в «режим» быстрой прогрессии, то риск тяжелого релапса невелик.

13.6. Первичные системные васкулиты

Первичными системными васкулитами называют заболевания, при которых развиваются (по неизвестным причинам) воспаление и некроз стенок сосудов, а патологические процессы в окружающих тканях вторичны по отношению к поражению сосудов.

Таблица 13.2. Классификация нозологических форм первичных системных васкулитов

| Калибр кровеносных сосудов | Наличие гранулематоза | Отсутствие гранулематоза |
|----------------------------|--|--|
| Мелкие | Гранулематоз Вегенера (Wegener) | Микроскопический полиангиит (васкулит гиперчувствительности) Пурпура Геноха — Шенлейна (Henoch — Schönlein) |
| Средние | Синдром Churg — Strauss | Узелковый периартериит (polyarteritis nodosa) |
| Крупные | Гигантоклеточный артериит Артериит Такаясу (Takayasu) | Болезнь Кавасаки (Kawasaki) |

В связи с неясностью этиологии васкулиты до настоящего времени классифицируют по морфологическим признакам, а именно по калибру поражаемых сосудов и наличию или отсутствию гранул вокруг пораженных участков сосудов (табл. 13.2).

Системный васкулит был впервые описан как клинический случай врачами Kussmaul и Maier в 1866 г. При патологоанатомическом исследовании они наблюдали множественные узелковые воспаления артерий мышц, которые имели калибр коронарных и печеночных сосудов. Следующее описание полиартериитов с морфологическим исследованием (микроскопический полиартериит с некротическим гломерулонефритом) появилось в медицинской литературе только в 1948 г. (Davson). Затем Zeek в 1953 г. описал ангиит гиперчувствительности, который он связывал с реакцией на лекарства и инфекции. Постепенно ряд синдромов, описываемых в разное время разными врачами, нашли свое место в ряду васкулитов: пурпура Геноха — Шенлейна (1837, 1974), гранулематоз Вегенера (1936), синдром Churg — Strauss (1952), болезнь Кавасаки (1967) и др.

Если этиология ни одного из этих васкулитов неизвестна и можно лишь предполагать инфекционное начало, то механизмы патогенеза, по крайней мере гранулематоза Вегенера (в остальных случаях можно предполагать по аналогии), в какой-то мере изучены. У 85 % больных гранулематозом Вегенера обнаруживают антитела к сериновой протеиназе-3 (Pr3) нейтрофилов. Эти антитела в литературе обозначают как ANCA (anti-neutrophil cytoplasm antigens). Фермент локализо-

ван в гранулах нейтрофилов, но при активации клеток экспрессируется на мембране. Антитела к P_{g3}, связываясь с нейтрофилами, индуцируют выброс из клеток агрессивных метаболитов (активных радикалов кислорода и перекиси водорода, ферментов), которые разрушают стенки сосудов. Кроме того, есть данные, что такой провоспалительный цитокин, как TNF- α , индуцирует экспрессию P_{g3} на клетках эндотелия и они становятся прямой мишенью иммунной атаки и, следовательно, деструкции. Кроме антител к P_{g3}, у больных васкулитом обнаруживают антитела к другим компонентам нейтрофилов: к ферментам — миелопероксидазе (MPO), эластазе, лизоциму, лактоферрину, катепсину G.

Прежде чем дать краткое описание клинической картины отдельных нозологий васкулитов, обращаем внимание на *общие признаки*: цикличность чередования обострений и ремиссий, сезонность обострений (в холодное время года) и общность так называемых конституциональных неспецифических симптомов (общая слабость, лихорадка, потеря массы тела, ночные поты, повышение СОЭ и содержания в сыворотке С-реактивного протеина — СРП).

Лечение. При системных васкулитах оно одинаково, независимо от нозологии, так как неизвестна конкретная этиология отдельных форм, применяют индуктивную терапию на высоте атаки — иммунодепрессанты (циклофосфамид или по подбору на эффективность) и высокие дозы стероидов; поддерживающую терапию — стероиды плюс симптоматические средства в зависимости от локализации процесса и присоединившихся патологий. В периоды ремиссий — отдых от медикаментов. Поскольку при всех васкулитах рано или поздно повреждаются почки, в тяжелых случаях единственным методом спасения жизни становится трансплантация донорской почки.

Гранулематоз Вегенера (Wegener). Заболевание встречается в любом возрасте, одинаково распределено по полу.

Клиническая картина. Некротизирующий васкулит мелких сосудов развивается в первую очередь в верхних и нижних дыхательных путях, поражает почки и в разной степени у разных пациентов может затронуть другие органы. У некоторых пациентов заболевание развивается бессимптомно в течение многих месяцев и даже лет, симптомы нарастают постепенно. У некоторых больных наблюдают молниеносное развитие симптоматики (за несколько недель) с жизнеугрожающим поражением органов. *Верхние дыхательные пути:* выделения из носа с примесью крови, боли в параназальном синусе, изъязвление слизистой оболочки носа, перфорация перегородки и деформация седла носа. Возможно развитие хронического гнойного среднего отита в связи с блокадой слуховой (евстахиевой) трубы, боли по ветвям VIII нерва. Возможны осиплость голоса и стридор, стеноз трахеи. В синус-

сах могут образовываться фистулы с бактериальными суперинфекциями. *Нижние дыхательные пути*: гранулемы в паренхиме легких вызывают симптомы непродуктивного кашля, диспноэ, плеврита, кровохарканья. Возможны окклюзии бронхов и сегментарные коллапсы легких. Васкулит *в почках* начинает проявляться как клинически бессимптомная протеинурия и гематурия. Скорость развития поражения почек непредсказуема. При биопсии почечной ткани наблюдают картину гранулематозного тубулоинтерстициального нефрита. Около 50 % больных гранулематозом Вегенера имеют поражение глаз вплоть до потери зрения (конъюнктивит, увеит, склерит, ишемия зрительного нерва).

Поражения *других органов* (миалгии, артралгии, инфаркты ногтевых валиков, пурпура на коже, мононевриты, менингеальный синдром, инсульты мозга, поражение коронарных артерий, соответственно инфаркты сердца, перикардиты, аритмии и т.д.), как правило, развиваются позже и по-разному у разных пациентов.

Диагноз ставят по клиническим симптомам и данным биопсии. Лабораторным подтверждением является обнаружение антител ANCA. Из неспецифических лабораторных данных характерны нейтрофильный лейкоцитоз, нормохромная нормоцитная анемия, тромбоцитоз, повышение СОЭ и СРП, у 80 % больных увеличено содержание общих иммуноглобулинов в сыворотке крови, у 50 % определяется ревматоидный фактор.

Микроскопический полиангиит. Это воспаление мелких сосудов, которое может затронуть любой орган или несколько органов, но чаще поражаются почки, кишечник и кожа. У многих пациентов обнаруживают антитела к компонентам нейтрофилов, особенно к миелопероксидазе (МРО).

Клиническая картина. Глубокая общая слабость, лихорадка, потеря массы тела, ночные поты. Если затронуты почки, наблюдают протеинурию, гематурию и быстро прогрессирующий нефрит. *Легкие*: кашель с кровохарканьем, диспноэ, симптомы плеврита. Бывают профузные кровотечения. На *коже* пурпурная сыпь, геморрагии в местах мелких травм (типа занозы). *ЖКТ*: боли в животе, диареи, гастроинтестинальные геморрагии.

Диагноз ставят по клиническим признакам и данным биопсии почки. Лабораторные данные, характерные для всех васкулитов: нормохромная нормоцитная анемия, нейтрофилия, повышение СОЭ и СРП, тромбоцитемия, гаперглобулинемия. Дифференциальный диагноз поставить трудно, как правило, только по исключению других причин для вышеназванной симптоматики.

Polyarteritis nodosa. Polyarteritis nodosa — васкулит артерий среднего размера. Встречается в любом возрасте, у мужчин в

2 раза чаще, чем у женщин. Характерно частое образование аневризм в пораженных участках сосудов. Клиническая манифестация зависит от локализации и размеров пораженных сосудов: инфаркты органов (кишечника, почек, мозга, сердца), типична гипертензия средней или высокой тяжести. У некоторых пациентов polyarteritis nodosa сочетается с наличием микроскопического полиангиита. Антитела ANCA обнаруживают редко (только если есть еще микроскопический полиангиит). Часто выявляют вирус гепатита В. Поражение почек у многих является непосредственной причиной смерти. У некоторых пациентов polyarteritis nodosa поражает преимущественно один внутренний орган и манифестирует под видом острого холецистита, панкреатита или аппендицита, иногда некроза печени.

Клиническая картина. На коже polyarteritis nodosa проявляется в виде пурпуры и крапивницы и в более тяжелых случаях в виде подкожных геморрагий, вплоть до гангрены. Пальпируемые узелки по ходу поверхностных артерий являются диагностическим признаком этого заболевания.

Диагноз ставят по клиническим симптомам, подтверждают биопсией и ангиографией. Специфических лабораторных тестов нет. Неспецифические лабораторные данные — те же, что при всех васкулитах: нормохромная нормоцитная анемия, нейтрофилия, повышение СОЭ и уровня СРП.

Синдром Churg — Strauss. Этот васкулит поражает преимущественно легкие и характеризуется эозинофилией ($< 20 \times 10^9/\text{л}$). Проявляется в виде астмы и признаков системного васкулита. Астма чаще имеет тяжелую форму. Со стороны ЖКТ: симптомы абдоминальных болей, при биопсии — эозинофильный инфильтрат, широко распространенный по разным отделам ЖКТ.

Диагноз ставят по клиническим признакам, подтверждают биопсией. Характерны эозинофилия в крови и эозинофильный инфильтрат на биопсии. Дифференцировать с гиперэозинофильным синдромом (эндокардит Loeffler) позволяют лабораторные данные: при гиперэозинофильном синдроме число эозинофилов в крови превышает $20 \times 10^9/\text{л}$, при микроскопическом исследовании эозинофилы имеют аномальную морфологию (потеря гранул, вакуолизация цитоплазмы). При гиперэозинофильном синдроме астма бывает, но редко.

Пурпура Геноха — Шенлейна (Henoch — Schönlein). Это *детский* некротизирующий васкулит, поражающий кожу, ЖКТ и почки. Заболевают в возрасте от 2 до 10 лет, редко — взрослые (тогда средний возраст манифестации 43 года). При этом заболевании есть какая-то патология IgA, потому что в пораженных капиллярах кожи, мезангиума клубочков почек и иных местах откладываются депозиты IgA. Часто уровень IgA повышен и в сыворотке крови.

Клиническая картина. *Клиническая триада* симптомов у детей: сыпь на коже, абдоминальные и почечные симптомы в сочетании с лихорадкой и артралгиями (что указывает на системный васкулит). Сыпь на коже может начинаться как крапивница, но со временем приобретает типичный для васкулитов вид слегка бугристой пурпурной сыпи на разгибательных поверхностях конечностей и на ягодицах. Боли в животе могут быть весьма сильными, обычно после приема пищи, возможна мелена. Боли могут выглядеть как «острый живот». Почки поражаются у 40 % пациентов, у большинства наступает спонтанное излечение и лишь у 10 % нефрит прогрессирует.

Диагноз ставят по клиническим признакам и результатам биопсии, при которой можно обнаружить (методами иммуноцитохимии) депозиты IgA, C3 и фибриногена, преимущественно в посткапиллярных венулах. Специфических лабораторных тестов (без биопсии) нет. В сыворотке крови могут определяться повышенные количества свободного IgA, IgA в составе иммунных комплексов, а также ревматоидного фактора класса IgA (антитела к IgG). Дифференциальный диагноз поставить трудно. Приходится дифференцировать с болезнью Крона и другими формами васкулитов.

Релапсирующий полихондрит. Редкое заболевание пожилых людей (после 60 лет), при котором поражаются мелкие сосуды хрящей наружного уха, носа, гортани, трахеи, что сопровождается лихорадкой, общей слабостью и потерей веса. Специфических лабораторных тестов нет, но как всегда при васкулитах отмечаются нормохромная анемия, лейкоцитоз, повышение СОЭ и уровня СРП.

Васкулиты крупных сосудов. *Гигантоклеточный артериит* — генерализованный артериит крупных артерий. Чаще первым становится очевидным поражение экстракраниальных ветвей сонной артерии. Процесс редко «спускается» ниже шеи. Таких больных учтено около 16 млн, возраст большинства — более 50 лет. Женщины болеют в 3–4 раза чаще, чем мужчины. Патогистологически выявляются сегментарные поражения стенки сосуда с инфильтратом преимущественно из CD4⁺ Т-лимфоцитов и гигантскими клетками-синцитием; гладкомышечные клетки частично подвергаются некрозу, часть их пролиферирует, что может прогрессировать вплоть до окклюзии сосуда.

Клиническая картина. Головная боль, боль в плечах, болезненность участков головы (скальпа), анорексия, тошнота, лихорадка, потеря массы тела. Возможна болезненность в челюстях при жевании и разговоре. У 30 % больных в патологический процесс вовлечена артерия сетчатки, что без лечения чревато необратимой потерей зрения.

Диагноз ставят по клиническим данным, подтверждают биопсией сонной артерии. СОЭ обычно повышена до 100 мм/ч.

Как всегда увеличен уровень СРП и есть нормохромная анемия — около 11—12 г/л.

Лечение. Атаку лечат сначала большими дозами стероидов (40—60 мг/сут), через 4—6 нед их плавно снижают до 5—10 мг/сут. Кортикостероиды обычно принимают около 2 лет, после чего возможна ремиссия в течение нескольких лет. Только в случае неэффективности стероидов назначают азатиоприн или циклофосфамид или подбирают иммунодепрессанты *ex juvantibus*.

Артериит Такаэсу (Takayasu) встречается у молодых людей в 15—20-летнем возрасте, у женщин на порядок чаще, чем у мужчин, преобладает в странах Азии (особенно в Японии).

Клиническая картина. Выделяют 3 *клинические стадии*. Первая преходящая, саморазрешается за несколько недель. Симптомы гриппоподобны: лихорадка, слабость, тошнота, головная боль, ночные поты, потеря массы, миалгии, артралгии. Вторая атака имеет признаки васкулита крупных артерий (подключичных, сонных, почечных, ниспадающей дуги аорты, мезентериальных, легочных и подвздошных артерий), но также саморазрешается, после чего наступает бессимптомный период на 5—10 лет. Третья атака у большинства больных заканчивается вазоокклюзией.

Диагноз ставят по клиническим данным, подтверждают на третьей стадии ангиографией.

Лечение. Сначала применяют кортикостероиды, при их неэффективности — иммунодепрессанты.

Болезнь Kawasaki (Kawasaki) чаще встречается у детей с частотой 60—200 на 100 000 населения.

Клиническая картина. Развивается как острое фебрильное мультисистемное заболевание: в первые 10 дней высокая температура тела и лимфаденопатия на шее. Через 2—4 нед присоединяются симптомы системного васкулита и миокардита (похоже на *polyarteritis nodosa*). С 4-й по 6-ю неделю симптомы васкулита стихают, но появляются симптомы фиброза. В течение времени вплоть до последующих 4 лет происходят процессы образования аневризм, рубцов и организации тромбов. Примерно у 25 % пациентов развиваются аневризмы коронарных артерий. Летальный исход возможен на любой стадии заболевания.

Лечение нетрадиционно: эффективны препараты донорских иммуноглобулинов. Механизм их действия точно неизвестен. Весьма вероятна инфекционная природа заболевания.

Болезнь Бехчета (Behcet) — мультисистемный васкулит, для которого характерны рекуррентные ulcerативные процессы в полости рта и половых органах, также возможны кожный васкулит, воспаление синовиальных оболочек, увеит, менингоэнцефалит. Заболевание ассоциировано с HLA-B51.

Таблица 13.3. Ассоциации аутоиммунных болезней с МНС и полом

| Болезнь | HLA-аллель | Риск заболевания (≈, %) | Соотношение женщин и мужчин |
|---|------------|-------------------------|-----------------------------|
| Острый увеит (воспаление сосудистой оболочки глазного яблока) | B27 | 10 | 1:2 |
| Анкилозирующий спондилит (болезнь Бехтерева) | » | 88 | 1:3 |
| Синдром Гудпасчера (Goodpasture) | DR2 | 16 | 1:1 |
| Рассеянный склероз | » | 5 | 10:1 |
| Болезнь Грейвса (Graves) | DR3 | 4 | 4:1 |
| Myasthenia gravis | » | 2 | 1:1 |
| Системная красная волчанка | » | 6 | 15:1 |
| Инсулинзависимый сахарный диабет | DR3, DR4 | 3 | 1:1 |
| Ревматоидный артрит | DR4 | 4 | 3:1 |
| Пузырчатка вульгарная | » | 14 | 1:1 |
| Тиреоидит Хашимото (Hashimoto) | DR5 | 3 | 4:1 |

Диагноз можно поставить только по клиническим признакам. Специфических лабораторных тестов нет.

Лечение нестандартное: колхицин (0,6 мг 2—3 раза в день), дапсон и нестероидные противовоспалительные средства. На стероиды и иммунодепрессанты ответ не всегда есть, при необходимости иммунодепрессанты подбирают.

В заключение приведем известные ассоциации аутоиммунных болезней с МНС и распределение по полу (табл. 13.3).

Глава 14. АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ БОЛЕЗНИ

14.1. Определение терминов

Термин «аллергия» в 1906 г. ввел австрийский педиатр К.Пирке (Clemens Von Pirquet) для обозначения состояний необычно повышенной реактивности у детей, которые он наблюдал *иногда* при инфекционных болезнях или при сывороточной болезни.

Allos — другой, иной, не такой как все. Синоним аллергии — реакции *гиперчувствительности*. Острое и сильно выраженное проявление гиперчувствительности называют еще *анафилаксией* (anaphylaxis как противоположность prophylaxis).

И если «профилактический» — защитный, то «анафилактический» — противоположный защитному, т.е. разрушающий. Суть аллергических реакций, позволяющая отличать их от других реакций, заключается в том, что они в принципе *не защитные*, так как развиваются *равно* как на биологически *безопасные* воздействия, так и на опасные, т.е. факт опасности воздействия не имеет никакого значения. Поэтому аллергия — *всегда* патология, защитного «смысла» в ней нет. Механизмы развития аллергических реакций — те же (но только с элементом патологии) *эффекторные* иммунные и доиммунные механизмы резистентности млекопитающих к воздействиям факторов внешней среды. При аллергии человек может смертельно задохнуться в ответ на попадание на его барьерные ткани минимальных количеств пыльцы березы или от запаха рыбы и др.

В 1930 г. Р.Кук *классифицировал* реакции гиперчувствительности на *немедленные* (развиваются в пределах 30 мин от момента воздействия) и *замедленные* (развиваются спустя 24—48 ч или позже после воздействия). *Немедленные реакции* — это гладкомышечные и сосудистые реакции: спазмы мускулатуры бронхов и желудочно-кишечного тракта, расширение сосудов, падение давления крови в сосудах, повышение проницаемости сосудистых стенок, выпот сыворотки или плазмы в ткани, увеличение секреции слизи на слизистые оболочки. Эти процессы вызваны «дружным» выбросом в участок тканей (местный процесс) или в кровь (системный процесс) биологически активных медиаторов из гранул тучных клеток и базофилов, что называют *активацией и дегрануляцией тучных клеток и базофилов*.

В главе 8 приведены перечень и характеристика свойств медиаторов тучных клеток и базофилов. Кратко напомним: медиаторов 4 группы — вазоактивные амины и протеогликаны (гистамин, гепарин), липидные медиаторы (лейкотриены, простагландины, PAF) ферменты (триптаза, химаза, карбоксипептидаза, катепсин G), цитокины (TNF- α , IL-4, -13, -3, -5, GM-CSF). На тучных клетках и базофилах есть несколько видов *иммунорецепторов* — рецепторов для Fc-фрагментов иммуноглобулинов. Среди них имеются рецепторы, через которые клетки активируются, и рецепторы, через которые активация клеток подавляется. Активирующий иммунорецептор — высокоаффинный рецептор для IgE (связывающий свободные IgE) — Fc ϵ RI: перекрестное связывание этого рецептора через IgE-антитело антигеном вызывает дегрануляцию тучных клеток и базофилов.

Однако есть и другие факторы, способные вызвать дегрануляцию без участия IgE и антигенов. С точки зрения «чистой» иммунологии, дегрануляция тучных клеток по любому механизму удовлетворяет понятию «аллергия», если порог раз-

дражения у конкретного человека много ниже, чем у большинства людей. Но в классической аллергологии антигензависимую дегрануляцию тучных клеток и базофилов и патофизиологические последствия этого принято называть *истинной аллергией*, а антигеннезависимую дегрануляцию с теми же патофизиологическими последствиями *псевдоаллергией*. Будем придерживаться этого деления. Есть еще один термин, который следует определить без разночтений:

атопия — это IgE-опосредованная аллергия.

Факторы, приводящие к дегрануляции тучных клеток и базофилов, приведены в табл. 14.1.

Хотя в некоторых контекстах термины «аллерген» и «антиген» — синонимы по сути, следует иметь в виду, что *на практике любой аллерген — это антиген, но не наоборот: не всякий антиген — аллерген*. Это означает, что аллергены отличаются некими особыми физическими и химическими свойствами, а также особенностями поступления в организм, т.е. аллергены — как бы подмножество во множестве антигенов вообще. Если аллергены — белки, то чаще всего это ферменты протеазы. Аллергены имеют относительно невысокую молекулярную массу, способны сорбироваться или агрегировать-

Таблица 14.1. Факторы активации и дегрануляции тучных клеток и базофилов

| При истинной аллергии (IgE-опосредованной) | При псевдоаллергиях (IgE-независимая) |
|--|---|
| Перекрестная сшивка FcεRI антигеном | <ol style="list-style-type: none"> 1. Перекрестная сшивка FcεRI аутоантителами к этому рецептору 2. Перекрестная сшивка FcγRIII агрегированными IgG 3. Субстанция Р 4. Продукты деградации коллагена 5. Хемокины (IL-8, MCP-1, MIP-1a, RANTES) 6. Цитокины (IL-3, GM-CSF) 7. Продукты активированного компонента — анафилотоксины — C5a, C3a 8. Лекарственные препараты (опиаты, аспирин, нестероидные противовоспалительные препараты, цитостатики, радиоконтрастные вещества) 9. Физические факторы (физические нагрузки, переохлаждение, инсоляция) |

ся в мелкие частицы и в таком виде проникать (диффундировать) в слизистые секреты и покровные ткани, без видимого *травмирования покровных тканей*. При этом аллергены хорошо растворимы и легко элюируются в жидкие среды организма. Аллергены отличаются химической стабильностью *in vivo* (не метаболизируются, по крайней мере быстро). Если аллергены — не белки, то их отличает способность вступать в химические соединения с собственными белками организма.

Аллерген проявляет свое действие в крайне малых дозах, например патогенно значимая суммарная доза аллергенов амброзии может составлять всего 1 мкг за год.

14.2. Аллергены

Перечислим *группы веществ*, на которые у людей чаще, чем на другие вещества, развиваются *аллергические реакции*.

■ Белки.

Пищевые компоненты (яйца, молоко, орехи, ракообразные, моллюски, бобовые)

Яды пчел, ос

Компоненты вакцин (кори, гриппа, столбнячного токсоида)

Гормоны (инсулин, АКТГ, ТСГ)

Сыворотки и препараты крови

Ферментные препараты (стрептокиназа, химопапаин)

Латекс (хирургические перчатки, эндотрахеальные трубки, презервативы и др.)

Белковые компоненты клещей домашней пыли, пыльцы трав и деревьев, выделений животных

я Гаптены.

Антибиотики (пенициллин, цефалоспорин)

Миорелаксанты

Витамины (тиамин и др.)

Цитостатики (цис-платина, циклофосфамид, цитозин арабинозид)

Опиаты

и Полисахариды.

Декстран

Декстран-железо

Полигелин

14.3. Замедленные реакции гиперчувствительности

Замедленные реакции гиперчувствительности — это иммунное воспаление по любому другому эффекторному механизму, кроме «IgE/тучные клетки или базофилы» [ГЗТ (Th1/

макрофаги); ЦТЛ (CD8⁺); АЗКЦТ и др.] (II, III и IV типы по Джелу и Кумбсу), при котором *интенсивность* воспалительного и деструктивного процесса *неадекватна* биологической опасности и дозе аллергена. Замедленность означает, что патологический процесс развивается в течение от суток до нескольких десятков суток после попадания аллергена в организм.

14.4. Эпидемиология аллергических болезней

Как любой иммунный ответ, аллергический иммунный ответ — это взаимодействие внешнего аллергена и внутренних факторов организма. Ни у кого не вызывает сомнений объективная статистика во всемирном масштабе, показывающая необыкновенно большое возрастание частоты встречаемости аллергических болезней во второй половине XX в. по сравнению с первой половиной и предыдущими периодами. В западных странах количество больных аллергиями в настоящее время составляет в среднем 20 % всего населения, местами — до 40—50 %. Существенно меньше таких больных (единицы процентов) в сообществах, ведущих более «первобытный» образ жизни. Такая быстрая динамика прироста числа больных аллергиями определенно свидетельствует, что в этиологии аллергий имеет значение не генетическая предрасположенность как таковая, а быстро нарастающее несоответствие физиологической нормы реакции биологического вида *Homo sapiens* факторам внешней среды, очевидно антропогенным. Причем проблема не только в загрязнении окружающей среды неоантигенами. Для современных больных аллергией вполне аллергенны пыльца березы, тимофеевки, эпителий кошки — их не отнесешь к экологически новым. Проблемы образа жизни современных людей (особенно в городах) глубоки и многофакторны. Достоверная научная эпидемиология аллергических болезней четко показывает, что людям как обществу, чтобы меньше болеть, *необходимо* не столько делать новые лекарства (а перед этим «наживать» новые болезни), сколько познать законы своего существования в согласии с природой и следовать им, а не нарушать с безумным и массовым упорством.

Недавние исследования по эпидемиологии аллергических болезней в сочетании с исследованиями в области молекулярной иммунологии дали довольно неожиданные результаты. Например, получены данные о закономерностях индукции иммунного ответа в виде синтеза IgE на гельминтные инфекции. Концентрация IgE в крови на пике ответа в среднем едва достигает 30 мкг/мл, что на порядок с лишним **меньше концентрации самого малочисленного из субклассов G — G₄** (его концентрации в сыворотке составляют 600—700 мкг/мл)*. Но *относительно* исходных фоновых концентраций прирост

IgE составляет не менее двух порядков (а то и три), что значительно больше, чем для любого из субклассов G. Самое интересное, что природное место основной массы IgE не в крови (в крови остается менее 1 % синтезированного IgE): более 99 % IgE организм *декретирует* через эпителий ЖКТ в просвет кишки. Просвет кишки — типичное место большинства известных гельминтных *вдвзгий*.

Зоологам известно, что у позвоночных животных гельминтные инфекции являются *самым сильнодействующим* внешним фактором, контролирующим численность и ареалы обитания популяций животных. Вероятно, гельминтные инфекции — мощный фактор естественного отбора защитных структур и функций в иммунной системе позвоночных. И человек по своей природе вряд ли имеет основания быть исключением. Эпидемиологические исследования показали, что у людей прослеживается сильная обратная корреляция между гельминтозами и аллергическими болезнями. — чем меньше гельминтозов, тем больше аллергических болезней. Исследования проводили в экологически однородных регионах, но на группах населения, ведущих значительно различающийся образ жизни (разные социальные слои).

В Венесуэле, в одной стране, на одном экологическом фоне обследовали группу богатых и образованных людей, ведущих санированный образ жизни, и группу аборигенов, ведущих антисанитарный образ жизни. Среди «антисанитарных» аборигенов гельминтозы выявлены у 88 % человек (у детей тотально), средний уровень общего IgE в сыворотке крови у них составил 13 088 МЕ/мл, но при этом аллергические болезни в этой группе выявлены менее чем у 2 % человек. Другая картина у богатых и образованных сограждан: гельминтозы обнаружены менее чем у 10 % человек, средний уровень общего IgE в сыворотке крови 370 МЕ/мл, аллергические болезни — у 43 % человек. Исследование проводили специалисты из США в течение 5 лет, предполагать гипо- или гипердиагностику аллергий нет оснований. Сходную картину выявили при сравнительном обследовании цивилизованных жителей западной Австралии и живущих неподалеку аборигенов из Папуа Новая Гвинея. Среди западных австралийцев бронхиальная астма обнаружена у 28 % взрослого населения и у 7 % детей, среди аборигенов Папуа у взрослых — у 0,3 % населения, у детей астмы не нашли. Мы ни в коем случае не предлагаем сделать отсюда «рабочий» вывод, что для профилактики аллергий детей надо заражать гельминтозами. Но эти данные свидетельствуют об очень большом значении внешних факторов среды и образа жизни для онтогенеза иммунной системы в постнатальном периоде. Естественно приобретаемые гельминтозы в детстве обеспечивают такое развитие пропорций в субпопуляциях лимфоцитов, которое на всю оставшуюся

юся жизнь предохраняет организм, например, от аллергий. Конечно, гельминтозы — не единственный фактор, программирующий постнатальное развитие иммунной системы, но это пример.

Приведем примеры реакций (и соответствующих нозологий) гиперчувствительности немедленного и замедленного типов (табл. 14.2; 14.3).

Кратко опишем бронхиальную астму, системную анафилаксию, крапивницу и синдромы эпидермального некролиза (как осложнения при приеме лекарственных препаратов).

Таблица 14.2. Примеры **IgE-опосредованных** аллергических болезней

| Синдром | Типичные аллергены | Путь поступления («входные ворота») аллергенов | Типичные клинические симптомы |
|--|---|---|--|
| Системная анафилаксия (анафилактический шок) | Продукты крови (сыворотка); лекарственные препараты; яды; арахис | Внутривенно или быстрая абсорбция со слизистых оболочек | Расширение сосудов (коллапс); п о в ы ш е н и е проницаемости сосудов (отеки); окклюзия трахеи и бронхоспазм; спазм гладкой мускулатуры ЖКТ . Высока вероятность летального исхода |
| Крапивница (пузыри и покраснение кожи) | Укусы насекомых; внутрикожное введение разных аллергенов | Внутрикожно; подкожно | Локальное увеличение проницаемости сосудов и кровотока в участках кожи |
| Аллергический ринит (сенная лихорадка) или риноконъюнктивит Бронхиальная астма | Пыльца растений; аллергены клещей, домашней пыли Пыльца растений; аллергены пыли | Ингаляционно » | Отек, раздражение слизистой оболочки носа ; э к с с у д а ц и я жидкости Воспаление дыхательных путей; бронхоспазм ; усиление секреции слизи в бронхах |
| Пищевая аллергия | Аллергены различных пищевых продуктов | Перорально | Тошнота; диарея; зуд кожи; к р а п и в н и ц а (сыпь) ; анафилаксия |

Таблица 14.3. Примеры реакций гиперчувствительности с разными механизмами повреждения тканей

| | Механизм повреждения тканей | | | | |
|---------------------------------|---|---|--------------------------------------|--------------------------------|--|
| | I тип | II тип | III тип | IV-тип | |
| | Th2, IgE | IgG | IgG | Th1 | CD8+ ЦТЛ |
| тип аллергенов | Растворимый | Ассоциированные с мембранами клеток или с матричным веществом | Растворимые | Растворимые | Клеточные |
| Исполнители эффекторных реакций | Тучные клетки и базофилы | Комплемент; FcγR+ клетки (фагоциты, НК) | Комплемент; нейтрофилы; макрофаги | Активированные макрофаги (ГЗТ) | ЦТЛ |
| Примеры | Системная анафилаксия; аллергический ринит; аллергическая астма | Аллергические реакции на некоторые медикаменты (пенициллин) | Сывороточная болезнь; реакция Артюса | Контактный дерматит | Контактный дерматит; синдромы Стивенсона-Джонсона и Лайела |

14.5. Бронхиальная астма

Суть заболевания заключается в *хроническом воспалении* слизистой оболочки дыхательных путей с синдромом *гиперреактивности бронхов* (ГРБ). Определяющие клинические **симптомы**: кашель, «свистящее» дыхание, затрудненный выдох, поверхностное дыхание, возможны диспноэ, потеря голоса, цианоз, синкопальные состояния от физических нагрузок (как следствие гипоксии). Вспомним, что без кислорода мозг может жить малое количество минут, поэтому заболевание, приводящее к затрудненному дыханию, весьма серьезно.

Дифференциальный диагноз требует исключения опухолей в крупных дыхательных путях, попадания туда инородного тела (в том числе пищи при гастроэзофагальной аспирации), недостаточности левого желудочка сердца, рекуррентных **эмболий** малых сосудов легких, васкулита (Churg—Strauss).

Бронхиальная астма бывает *идиопатическая* (intrinsic asthma). Предположительно эту форму относят к **инфекционно-аутоиммунным** процессам. В большинстве случаев бронхиальная

астма (в том числе и аллергическая бронхиальная астма) обусловлена внешними этиологическими факторами (extrinsic asthma).

Из таких факторов имеют значение вирусные инфекции, тропные к эпителию дыхательных путей (рино- и коронавирусы). Большую роль играют профессиональные вредности, наносящие удар по системе дыхания (изоцианаты, соли платины, карбид вольфрама, смолы, мучная и древесная пыль и др.).

При любой этиологии астмы патоморфологическая картина воспалительного процесса в дыхательных путях сходна: обструкция мелкокалиберных дыхательных путей слизью, содержащей фибрин и эозинофилы; эпителий бронхов истончен и слущивается в просвет воздухопроводящих путей; базальная мембрана тоже истончена; в субэпителиальном слое фиброз; слизистая оболочка в целом отечна, кровеносные сосуды расширены; в тканях выраженный клеточный инфильтрат из эозинофилов, Т-лимфоцитов и нейтрофилов. Состояние эозинофилов своеобразно: они не только активированы, но и разрушаются цитолизом с высвобождением кластеров свободных гранул эозинофилов, обозначаемых английской аббревиатурой Cfegs (Clusters of free eosinophil granules). Существенным патоморфологическим процессом в стенке дыхательных путей при бронхиальной астме является выраженная экссудация белков плазмы из сосудов микроциркуляторного русла. Для всех форм заболевания характерно повышение неспецифической реактивности бронхов (НРБ), выражающееся в том, что приступ обструкции дыхательных путей может возникнуть в ответ на разные раздражители типа холодного воздуха, неорганической пыли, табачного дыма, запахов парфюмерии, красок и т.п.

Рассмотрим патогенез *аллергической бронхиальной астмы* (АБА). В последние 10 лет он более или менее изучен, открытым остается все тот же вопрос о первичных причинах начала болезни (почему пыльца березы или мятлика, например, для данного человека так вредоносна?).

Механизм развития хронического воспалительного процесса в дыхательных путях при АБА заключается в патологическом сдвиге дифференцировки аллергенспецифических Т4-лимфоцитов в сторону Th2 именно в лимфоидной ткани слизистой дыхательных путей, а не системно и соответственно локальной гипертрофии Th2-зависящих эффекторных процессов иммунного воспаления с участием IgE, тучных клеток и эозинофилов. При попадании специфического аллергена в дыхательные пути у больного развивается либо только однофазная ранняя реакция бронхоспазма, которая заметна уже через 5—10 мин (с пиком через 15—20 мин) от момента попадания аллергена в дыхательные пути (ОРФ — ответ ранней

Таблица 14.4. **Относительный** вклад отдельных медиаторов тучных клеток в формирование патологических симптомов приступа бронхиальной астмы

| Симптом | Медиаторы | | | |
|---|-----------|--|------|--|
| | гистамин | лейкотриены | PAF | простагландины |
| Бронхоконстрикция | +++ | LTD ₄ > LTC ₄ > LTE ₄ | ++ | PGD ₂ ; PGF ₂ |
| Отек слизистой | +++ | LTC ₄ , LTD ₄ | ++ | PGE ₂ |
| Секреция слизи | — | LTC ₄ , LTD ₄ | ++ | — |
| Хемотаксис и активация лимфоцитов и лейкоцитов в тканях дыхательных путей | — | LTB ₄ | ++++ | — |
| Повышение неспецифической реактивности бронхов (НРБ) | — | LTB ₄ , кратковременно | +++ | PGD ₂ , не более 30 мин |

фазы), либо, кроме ОРФ, через 3—9 ч (с пиком в среднем на 5-м часу) развивается еще ответ поздней фазы (ОПФ). ОРФ разрешается через 1—2 ч, ОПФ продолжается от нескольких часов до нескольких суток. В отличие от ОРФ ОПФ объясняется не спазмом крупных дыхательных путей, а закупоркой множества мелких дыхательных путей. Наличие ОПФ свидетельствует о более тяжелой клинической форме бронхиальной астмы, чем в случаях, когда есть только ОРФ. Механизмы развития ОРФ и ОПФ зависят от аллергенспецифических IgE и тучных клеток. Только ОРФ — результат действия медиаторов гранул тучных клеток, выбрасываемых немедленно после связывания аллергена с IgE на FcεRI, в первую очередь гистамина. Поэтому симптоматика ОРФ может быть купирована антигистаминными препаратами. ОПФ — результат действия медиаторов тех же активированных тучных клеток, но других медиаторов, для синтеза и секреции которых требуется несколько часов, — метаболитов арахидоновой кислоты (лейкотриены, простагландины, PAF) и цитокинов (IL-4, -13, -8, -1, -5, -6 и -3; TNF; GM-CSF). Липидные медиаторы ответственны за длительную обструкцию дыхательных путей за счет как бронхоспазма, так и повышенного отделения слизи. Цитокины ответственны за хемотаксис, экстравазацию, активацию лимфоцитов (в первую очередь Th2), эозинофилов и нейтрофилов (табл. 14.4).

Лейкотриены D₄, C₄ и E₄ в совокупности *патофизиологи называют медленно реагирующей субстанцией анафилаксии.*

Чтобы в дальнейшем были понятны точки приложения лекарственных препаратов, приведем *основные биохимические пути синтеза липидных медиаторов тучных клеток*.

Из фосфолипидов мембран клетки под катализом фосфолипазы A_2 образуется арахидоновая кислота. Из нее как из субстрата под катализом разных ферментов образуются разные продукты: под катализом 5-липоксигеназы — LTA_4 . Из LTA_4 под катализом LTA_4 -гидролазы образуется LTB_4 , а под катализом LTC_4 -синтетазы — LTC_4 , LTD_4 и LTE_4 . Под катализом циклооксигеназы из той же арахидоновой кислоты образуются простагландины.

LTB_4 является весьма сильным хемоаттрактантом для нейтрофилов и эозинофилов.

В патогенезе бронхиальной астмы эозинофилам принадлежит особая роль как клеткам-эффекторам деструкции тканей. $IL-5$, $GM-CSF$ и $IL-3$, продуцируемые в повышенных количествах у больных $Th2$ -лимфоцитами и активированными тучными клетками, являются активаторами как эозинофилопоэза в костном мозге, так и зрелых эозинофилов на месте — в тканях дыхательных путей. Активированные эозинофилы, как мы помним, продуцируют и секретируют по сигналу с IgE на $Fc\epsilon RII$ несколько высокотоксичных белков ($ЕСР$, $МБР$, $ЕРО$), а также LTC_4 . Кроме того, пероксидаза эозинофилов ($ЕРО$) катализирует образование супероксидного аниона и перекиси водорода, а также гипохлорной кислоты. Эозинофилы секретируют эти метаболиты в свое микроокружение, что в совокупности вызывает повреждение тканей, в том числе гибель эпителия. Кроме того, стимулированные $IL-4$ $Th2$ начинают вырабатывать повышенные количества $TGF\beta$, что стимулирует миофибробласты к пролиферации и продукции коллагенов III и V типов в интерстициальных пространствах под базальной мембраной. В результате нарушается водно-солевой обмен и эластичность в тканях воздухопроводящих путей.

Диагноз аллергической бронхиальной астмы ставят по совокупности данных анамнеза, физикально выявляемым симптомам, по данным лабораторного анализа на аллергенспецифические IgE или/и кожных проб с предполагаемыми аллергенами, инструментального обследования параметров функции внешнего дыхания (патогномоничен для астмы параметр объема форсированного выдоха $ОФВ$). Подозрение именно на аллергическую этиологию бронхиальной астмы возникает, если у пациента уже есть диагноз других проявлений атопии, в первую очередь аллергического ринита.

В случае обнаружения «причинных» аллергенов возможно провокационное исследование с вдыханием дозированных количеств аллергена и измерением $ОФВ$, что позволяет выявить ответы ранней и поздней фаз и тем самым подтвердить

диагноз и оценить степень тяжести заболевания. Однако следует иметь в виду, что некоторые тяжелобольные, у которых есть ОПФ, могут в результате такого диагностического обследования войти в *status asthmaticus* и намного недель или месяцев потерять работоспособность.

Лечение. Программа лечения складывается из трех больших направлений:

1) улучшение функции внешнего дыхания и снижение неспецифической реактивности бронхов за счет направленной интенсивной противовоспалительной терапии дыхательных путей;

2) строгий самоконтроль пациента своего поведения с целью избегания контактов с аллергеном, а также неспецифическими факторами раздражения бронхов (холодный воздух, табачный дым, острые запахи, запыленность и т.д.)

3) *кризис-план*. Поскольку заболевание бронхиальной астмой чревато смертельным приступом удушья, у каждого больного в сознании и на бумаге должен быть разработанный врачом план экстренных мер по спасению жизни, которые можно попытаться реализовать вне стационара (там, где случится приступ).

Противовоспалительная терапия. Уже много лет основным (и патогенетически обоснованным) лечением бронхиальной астмы являются кортикостероиды. Нечасто, но бывают случаи стероидрезистентной бронхиальной астмы. Они представляют большую проблему для лечения, чем случаи, курируемые стероидами. Стероидные гормоны давно известны своим противовоспалительным действием. Чтобы дифференцировать случаи стероидрезистентной астмы (если возникли такие подозрения), назначают 2-недельный курс преднизолона перорально: при стероидчувствительной форме наступает видимое улучшение. В последние годы для основного курса лечения применяют ингаляторные лекарственные формы стероидов (топические), например беклометазон дипропионат (**beclomethasone dipropionate**), будезонид (**budesonide**), флутиказон (**fluticasone**). Однако не следует забывать, что и топические стероиды (кроме флутиказона) всасываются со слизистых оболочек и при дозах 1600—2000 мкг в день при длительном применении могут вызывать типичные *побочные эффекты* (остеопороз, истончение кожи, задержку роста у детей и др.). Поддерживающую терапию топическими стероидами обычно проводят дозами 200—1600 мкг 2 раза в день. Эффект оценивают по объему форсированного выдоха и уровню неспецифической реактивности бронхов. Иногда непрерывный курс стероидов продолжается до 6 мес в году, в тяжелых случаях — перманентно. В острой ситуации приступа или в тяжелых хронических случаях назначают перорально преднизолон в дозе 30—40 мг в течение 5 дней с постепенным

уменьшением доз в последующие 10 дней до минимальных клинически значимых (10—20 мг, лучше 7,5 мг). Клинический ответ на ударную дозу преднизолона должен проявиться уже через 2 ч и достигнуть максимума примерно через 16 ч. Такая доза перорально входит в кризис-план. Краткосрочная пероральная терапия преднизолоном вызывает незначительные побочные эффекты (задержка жидкости в организме, головная боль) и не всегда.

Альтернативными противовоспалительными препаратами при бронхиальной астме являются кромогликат (cromoglycate) или недокромил (*nedocromil*) натрия. Кромогликат натрия (*Intal forte*) применяют в виде ингаляции твердого порошка по 10—20 мг 4 раза в день. Препарат не метаболизируется, эффект достигается быстро, продолжается 2—6 ч. Обычно эти препараты назначают на период вынужденной экспозиции с аллергенами (например, на период цветения «причинных» растений), на период физических нагрузок, холодного времени года, после вирусных инфекций. Механизм действия этих препаратов неизвестен. Предполагали, что они являются стабилизаторами мембран тучных клеток, но «молекулярных» доказательств этому предположению нет. Кромогликаты на физиологическом уровне ингибируют активность блуждающего нерва (n.vagus), на клеточном уровне — транспорт ионов хлора.

Бронходилататоры — это средства *симптоматической терапии*. К ним относятся β_2 -агонисты [сальметерол (salmeterol), формотерол (formoterol), бамбутерол (bambuterol) и другие препараты, действующие непосредственно на β_2 -рецепторы гладких мышц, вызывая их расслабление, и, следовательно, бронходилатацию. Обычно их назначают во время приступа бронхоспазма. Эффект наступает уже через 10 мин, достигает максимума через 2 ч, продолжается 6—12 ч (в зависимости от формы препарата и индивидуального ответа). Для β_2 -агонистов типичны серьезные побочные эффекты (гипокалиемия, тремор, тахикардия, возможна сердечная аритмия). При назначении β_2 -агонистов рекомендуют соблюдать следующие правила:

1) монотерапия не показана, за исключением случаев единичных приступов с нормальными показателями функции внешнего дыхания вне приступа;

2) показано сочетание с топическими стероидными препаратами.

β_2 -Агонисты для перорального применения (bambuterol) являются компонентом кризис-плана и рекомендуются для попытки прерывания внезапно возникшего приступа.

Метилксантины — теофиллин (theophylline), аминофиллин (aminophylline) — в настоящее время в лечении астмы отходят на второй план. Они вызывают бронходилатирующую

щий эффект, усиливают мукоцилиарный клиренс бронхов, до некоторой степени улучшают сократительную способность ослабленных воспалением мышц бронхов, но имеют выраженные побочные эффекты (раздражение центральной нервной системы, гипотензия, тахикардия, аритмия сердца). Тем не менее во время острого приступа астмы иногда еще применяют внутривенно аминофиллин. Теофиллин иногда назначают в схеме поддерживающей терапии у пациентов, у которых проявились побочные эффекты β_2 -агонистов.

Антихолинергический препарат — ипратропиум бромид (ipratropium bromide, Atrovent) — относительно избирательно действует (снижает тонус) на ветви блуждающего нерва, иннервирующие дыхательные пути, синергичен с β_2 -агонистами в отношении эффекта бронходилатации. Показан в сочетании с топическими стероидами больным с признаками повышенного отделения слизи в дыхательные пути и мучительным кашлем. Во время острого приступа астмы атровент (500 мкг в аэрозольной форме, каждые 4 ч) добавляют к β_2 -агонистам до снятия приступа.

Адреналин не является средством поддерживающей терапии при бронхиальной астме, но, как при всех аллергических болезнях, он является средством спасения жизни в случае острого состояния с угрозой или явлениями системной анафилаксии: если процесс развития анафилаксии начался, то адреналин начинают вводить внутримышечно по 0,5 мл раствора в разведении 1:1000 каждые 30 мин под контролем основных симптомов общего состояния (артериального давления, явлений бронхоспазма, отеков, спазма гладкой мускулатуры ЖКТ и др.).

Таким образом, аптечка кризис-плана больного астмой должна содержать как минимум адреналин, преднизолон, β_2 -агонисты плюс индивидуальные совместимые препараты для коррекции сопутствующих заболеваний, если таковые имеются. Кроме того, больному следует носить, например, браслет с информацией о своем заболевании и кризис-планом.

В щадящем образе жизни больного астмой имеет значение *исключение* из диеты ряда продуктов, содержащих раздражающие компоненты, которые могут неспецифически спровоцировать приступ:

- 1) пищевые консерванты E220, 221, 222, содержащие двуокись серы и метабисульфит, обладающие прямым раздражающим действием на дыхательные пути;
- 2) пищевые добавки — тартразин и красители (E102);
- 3) пищевые продукты, содержащие гистамин;
- 4) нитриты, глютамат натрия.

Несмотря на современный прогресс в средствах диагностики и в производстве фармакологических препаратов, миро-

вая статистика показывает, что в последние 5 лет во многих странах смертность от астмы возросла. Угрожающие жизни приступы могут развиваться у пациентов, клиническая картина у которых расценивалась как умеренно выраженная, а не только у заведомо тяжелобольных. Выделяют следующие группы повышенного риска среди больных бронхиальной астмой.

1. Больные, имеющие (или имевшие) эпизоды анафилаксии в ответ на:
 - а) пищевые добавки (метабисульфит, глютамат натрия, тартразины);
 - б) лекарства (аспирин и нестероидные противовоспалительные средства);
 - в) ингаляцию двуокиси серы, табачного дыма, специфических химических соединений, бытовых аэрозолей;
 - г) укусы насекомых;
 - д) инъекции пенициллина.
2. Психически лабильные больные с выраженной повышенной неспецифической реактивностью бронхов, плохо понимающие свое состояние и недооценивающие его серьезность, впадающие в панику, не способные применить кризис-план или вовсе не имеющие его.
3. Больные с рекуррентным ангионевротическим отеком гортани и языка, попавшие в специальные клинические ситуации (например, необходимость интратрахеального наркоза при хирургических вмешательствах и т.п.).

14.6. Системная анафилаксия

Системная анафилаксия — наиболее драматическое клиническое проявление массивного высвобождения медиаторов из гранул тучных клеток и базофилов. Она характеризуется *быстрым* наступлением симптомов (в пределах 30 мин от момента воздействия причинного фактора) во *многих* органах и потенциально смертельно опасна.

Собственно *анафилаксией* принято называть патологический процесс, инициация которого происходит через взаимодействие антиген — $IgE-Fc\epsilon RI$ — тучная клетка/базофил. Но, как мы помним, дегрануляция тучных клеток/базофилов может происходить под действием множества других факторов, кроме «антигена-IgE» (см. табл. 14.1). IgE -независимые процессы принято называть *анафилactoидными*. Клинически анафилаксия и анафилactoидные реакции *неотличимы*, но терапевтическая тактика одинакова только в острый период и различна в межприступные периоды. Поэтому дифференциальная диагностика, с одной стороны, нужна, с другой — представляет немалые трудности и посильна клиницистам высокой

квалификации. В дальнейшем при описании клинической картины болезни мы будем говорить для краткости об анафилаксии, но все то же самое применимо к анафилактоидным реакциям.

Клиническая картина. Анафилаксия развивается через несколько минут после причинного воздействия, и смерть может наступить через несколько минут. Но процесс может затянуться и на несколько часов и даже дней. *Патологоанатомически* наблюдают следующее:

1) отек верхних дыхательных путей (включая гортань), что может привести к острому удушью;

2) бронхоконстрикцию, усиленную секрецию слизи в нижних дыхательных путях, субмукозный отек, застой крови, эозинофильную инфильтрацию;

3) отек легких, иногда геморрагии и ателектазы;

4) системную вазодилатацию периферических сосудов, повышение проницаемости сосудов, отеки в тканях и уменьшение объема крови внутри сосудов, соответственно резкое падение кровяного давления, «побледнение» сердечной мышцы (ухудшение кровоснабжения миокарда), ишемию почек и других внутренних органов;

5) застойные явления в печени, селезенке, стенке кишечника;

6) отек кожи;

7) спазмы гладкой мускулатуры мочевыводящих путей и кишечника.

Проявления со стороны *респираторной системы* преобладают в 70 % случаев системной анафилаксии, со стороны *кардиоваскулярной системы* — в 25 % случаев.

Патогенез анафилаксии объясняется системным массивным выбросом медиаторов тучных клеток и базофилов (см. выше).

Клиническая манифестация анафилаксии чаще всего выглядит следующим образом: сыпь, часто в виде крапивницы; симптомы ринита и конъюнктивита; ангиоэдема, особенно в области лица и шеи, верхних дыхательных путей и конечностей; симптомы астмы; рвота, диарея и колики в животе; непроизвольное мочеиспускание, гипотензия. Могут наблюдаться также цианоз, аритмия сердца и потеря сознания.

При *IgE-опосредованной анафилаксии* на пищевые аллергены симптомы могут развиваться во времени двухфазно: после первичной манифестации наступает относительно бессимптомный период, а за ним вновь симптоматический и, как правило, более тяжелый и продолжительный; в некоторых случаях больных поддерживают на искусственной вентиляции легких и на вазопрессорных препаратах в течение нескольких дней и даже недель.

Из «причинных» *аллергенов системную анафилаксию вызывают*, как правило, 3 типа: яды жалящих насекомых (перепончатокрылых — пчел и ос), пищевые аллергены и лекарственные препараты. При этом анафилаксия на укусы насекомых незначительно коррелирует с атопией, на пищевые аллергены — **коррелирует** в высокой степени.

Как всякая пищевая аллергия, системная анафилаксия на пищевые аллергены чаще поражает маленьких детей, но может быть и у взрослых, особенно с тяжелыми воспалительными заболеваниями ЖКТ. В раннем детстве (до 3 лет) наиболее часто «причинными» продуктами бывают яйца, коровье молоко, соя, в более старшем возрасте и у взрослых — арахис, древесные орехи (бразильский, фундук, грецкий), ракообразные. В случае истинной аллергии на пищевые продукты тесты на специфические IgE сильно положительны. Анафилаксию могут вызвать следовые количества специфических аллергенов (запахи, следы на посуде).

Специального внимания при сборе и анализе анамнеза, а также специальных приемов физикальной диагностики требуют случаи анафилаксии, инициируемой физическими факторами: холодовой, связанный с физическими нагрузками (особенно после приема определенной пищи).

Лечение. В остром периоде системная анафилаксия требует экстренных, часто реанимационных мер.

Если ведущим симптомом является бронхоспазм, то в первую очередь применяют аэрозольные формы бронходилататоров (β_2 -агонистов). Если симптоматика тем не менее продолжает нарастать и присоединяются сосудистые явления, то применяют кислородную маску и адреналин внутримышечно [по 0,3—0,5 мл раствора 1:1000 (у детей по 0,01—0,015 мл/кг) с интервалами 5—10 мин под контролем ответа организма]. Внутривенное введение адреналина резервируют на случай развития тяжелого шока или респираторной асфиксии (кроме того, внутривенное введение адреналина может вызвать аритмию сердца). При внутривенном введении применяют метод инфузии раствора в разведении 1:10 000 со скоростью не больше 1 мл/мин. В тяжелых случаях адреналин вливают с большим объемом кровезаместителей (предпочтительны коллоидные растворы типа полигелина) в течение нескольких часов в дозе 5—15 мкг/мин. В остром периоде антигистаминные препараты и кортикостероиды неэффективны, и применять их не имеет смысла. Однако для профилактики поздней фазы стероиды иногда используют.

В межприступном периоде в случае удачной диагностики, выявившей этиологические фактор(ы), главное — строго избегать контактов с аллергеном, холодом и другими провоцирующими воздействиями. В случае анафилаксии на укусы пе-

репонтчатокрылых насекомых эффективна специфическая иммунотерапия в течение 3—5 лет (иммунизация специфическим антигеном в течение 4—6 нед 1 раз в 1 год).

14.7. Пищевая аллергия

~~Кратко обсудим, что такое пищевая аллергия, поскольку она особенно трудна для корректной диагностики: ее необходимо отличать от явлений непереносимости тех или иных продуктов (в основе которой лежит дефицит пищеварительных ферментов или кофакторов пищеварения), а также от проявлений токсичности тех~~

~~ентов пищи.~~
Для диагностики именно ~~аллергий~~ ~~напишу~~ необходимо:

- 1) четко выявить воспроизводимость патологических симптомов в «слепых» провокационных тестах на инкапсулированные пищевые антигены;
- 2) методами лабораторной диагностики показать наличие иммунных механизмов патогенеза.

Пищевая аллергия встречается у 4—6 % детей в возрасте до 3 лет, у 1—2 % детей более старшего возраста и менее чем у 1 % взрослых. Склонность детей младшего возраста к пищевой аллергии объясняется тем, что у детей выше проницаемость кишечного барьера для нерасщепленных пищевых веществ. Если аллергия проявляется в возрасте до 2—3 лет, то, как правило, к подростковому возрасту человек из нее «вырастает» (укрепляется пищеварительный барьер и клинические симптомы аллергии исчезают). Если аллергия проявляется у ребенка после 3 лет, то вероятность того, что он из нее «вырастет», меньше.

Наиболее распространенные пищевые аллергены представляют собой гликопротеиды с молекулярной массой 18 000—36 000. Они устойчивы к термической обработке и кислой среде. Для 80—90 % детей с пищевой аллергией ~~причинные~~ ~~аллергены~~ ~~содержатся~~ ~~в~~ ~~небольшом~~ ~~числе~~ ~~продуктов~~ — это, яйца, молоко, арахис, соя, пшеница. Для большинства взрослых ~~аллергены~~ ~~арахис~~, ~~ракообразные~~, ~~рыба~~.

Непереносимость пищевых продуктов проявляется головной болью, недомоганием, вялостью, миалгией. Нередко отмечают симптомы, неотличимые от аллергии: крапивница и режé ангиоэдема.

Клинические проявления пищевой аллергии у детей — это чаще всего экзема и желудочно-кишечные расстройства. При высоком уровне аллергенспецифических IgE при попадании аллергена per os вероятны острые проявления: отек губ, языка и горла; чувство жжения, затем рвота, спазмы в животе, боль и диарея. По мере всасывания аллергена и распространения его по организму могут развиваться ге-

нерализованная крапивница, бронхоспазм, в тяжелых случаях — системная анафилаксия.

Отрицательные данные лабораторных анализов на IgE-антитела к пищевым аллергенам имеют большое диагностическое значение в плане исключения аллергической природы заболевания. Для подтверждения диагноза пищевой аллергии наиболее информативны слепые, контролируемые плацебо-провокационные тесты. Дифференциальный диагноз поставить трудно, помогает высокоточная лабораторная диагностика.

Лечение. Элиминационная диета, причем исключают не только продукты, в которых выявлены специфические аллергены, но и довольно много продуктов, содержащих факторы неспецифической дегрануляции тучных клеток: природные салицилаты, консерванты (диоксида серы, метабисульфит), пищевые добавки (тартразин, красители и др.). В случае астматических проявлений пищевой аллергии применяют описанное выше противоастматическое лечение, в случае общей анафилаксии — описанную выше интенсивную терапию, в случаях, когда ведущим проявлением служит крапивница, — соответствующее лечение (см. далее).

Анализ значения пищевых продуктов в этиологии заболевания начинают после сбора анамнеза с апробации элиминационных диет. В первую очередь начинают с диеты с пониженным содержанием природных салицилатов, пищевых консервантов и пищевых красителей. Для этого из рациона минимум на 3-4 нед исключают продукты, содержащие в значительных количествах салицилаты, консерванты и красители.

К продуктам со значительным количеством природных салицилатов относятся многие фрукты и овощи (малина, красная смородина, черная смородина, вишня, слива, ананас, апельсины, мандарины, грейпфрут, киви, авокадо, томаты, баклажаны, огурцы, арбуз и др.), травы и приправы (мята, укроп, острые перцы и др.), мед, чай, натуральный кофе, цикорий, вина (портвейны, ликеры, сухие вина, ром), пиво. Не следует также забывать, что салицилаты могут быть в парфюмерных изделиях, зубных пастах, а также в медикаментах (аспирин и др.). Таким образом, на период испытания элиминационной диеты надо тщательно подобрать средства личной гигиены и медикаменты и исключить все, что содержит салицилаты. Кроме того, следует избегать бытовых аэрозолей и прочей бытовой химии.

Консерванты добавляют во все коммерческие продукты питания длительного хранения: во фруктовых соках используют бензоаты, в сухофруктах — сорбат или диоксида серы, в мясных изделиях — нитриты, в продуктах, содержащих дрожжи, — пропионат, в жиросодержащих продуктах — антиоксиданты.

Пищевые красители (тартразин, эритрозин и др.) используются во многих коммерческих продуктах.

Производители обязаны уведомлять на этикетках изделий о содержании конкретных консервантов и красителей.

При первой попытке применения элиминационной диеты исключают все коммерческие продукты длительного хранения (консервированные, сушеные) и составляют меню из основных свежеприготовленных продуктов (говядина, баранина, свинина, домашняя птица без кожи, крольчатина, свежая рыба, яйца, любая крупа, кроме кукурузы, свежее масло без антиоксидантов, бананы, груши, петрушка, чеснок и т.п.), не применяя перечисленные выше продукты с высоким содержанием природных *салицилатов*. Если через 3—4 нед диагностически значимый результат не получен, то еще на 2—3 нед назначают более «узкую» диету. Например, разрешены баранина, телятина, домашняя птица без кожи, яйца, подсолнечное масло без тепловой обработки и антиоксидантов, белый картофель, белый рис, саго, пшеничные хлопья, груша без кожуры, белый сахар, из приправ — соль, петрушка, лимонная кислота. Исключены все виды соленого и обработанного мяса (колбасы, ветчина и т.п.), сыры, все виды маргаринов и масел с антиоксидантами, все фрукты (кроме очищенной груши), другие крупы, мед, заменители сахара, уксус, специи, натуральный лимонный сок. Если и в данном случае диагностически значимый результат не получен, пробуют элиминационные диеты с исключением каких-либо частных продуктов, если об этом есть данные в анамнезе больного. Если **причинный(е) продукт(ы)** не выявлен(ы), то, вероятно, у больного не пищевая аллергия и значение пищевых продуктов в этиологии невелико.

Есть еще такое редкое проявление иммуноопосредованной патологии ЖКТ, как *эозинофильный гастроэнтерит*. Как правило, он бывает у пациентов с тяжелой атопией. Слизистые оболочки желудка и кишечника инфильтрированы эозинофилами. Клинически болезнь проявляется хроническими или рекуррентными желудочно-кишечными симптомами, сопровождаемыми *мальадсорбцией*, железodefицитной анемией, иногда асцитом. **Лечат** кортикостероидами, рег ос кромогликатом натрия и кетотифеном.

14.8 Крапивница и ангиоэдема

Крапивница — четко очерченный процесс в коже в виде *зудящих* папул или *пузырей* размером от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров с *эритематозом* по периферии пузырей и между ними. Крапивница развивается быстро после этиологического воздействия. Острая крапивница самораз-

решается в течение нескольких часов. Встречается рекуррентная хроническая крапивница.

Ангиоэдема — отек подкожных и субмукозных тканей, преимущественно в области головы, шеи, ладоней рук, подошв стоп и половых органов. В 45 % случаев ангиоэдема сочетается с крапивницей, так как они имеют общий патогенез.

Крапивница и ангиоэдема в той или иной форме поражают не менее 15—25 % всех людей.

Крапивница и ангиоэдема представляют собой локализованные в отдельных участках дермы или в подкожных и субмукозных тканях отеки и покраснения, обусловленные расширением сосудов микроциркуляции и повышением их проницаемости для жидких компонентов сыворотки крови под действием на них гистамина, гепарина и нейтральных протеаз, секретированных из тучных клеток. На биопсии кожи больных хронической крапивницей в периваскулярной соединительной ткани выявляют в 10 раз больше тучных клеток и в 4 раза больше **T-лимфоцитов**, чем в норме. В случаях острой крапивницы клеточного периваскулярного инфильтрата нет. Вероятно, фактором, предрасполагающим к крапивнице, является дефицит биохимических механизмов распада гистамина в межклеточной соединительной ткани (клиренс гистамина).

Выброс гистамина из тучных клеток при крапивнице также может зависеть от «аллергена-IgE-FcεRI», но может зависеть и от любых других факторов, способных вызвать дегрануляцию тучных клеток (см. табл. 14.1).

Более 70 % всех случаев крапивницы являются хроническими или рекуррентными. Большинство же случаев хронической крапивницы — не истинная аллергия, т.е. не зависят от каких-либо аллергенов. Как уже отмечалось, в большинстве случаев хронической крапивницы дегрануляцию тучных клеток вызывают аутоантитела к рецептору FcεRI. При отсутствии специальных методов лабораторного выявления таких аутоантител свидетельством их присутствия в крови больного может быть появление пузырей и покраснения кожи при интрадермальном введении небольших количеств собственной сыворотки больного.

У 20—30 % больных с хронической крапивницей имеется и васкулит. В таких случаях кожные симптомы могут держаться не менее 24 ч, обычно 3—7 сут. Зуд может быть, но умеренный, превалирует чувство потепления или жжения в очагах. После исчезновения проявлений крапивницы как таковой на ее месте остаются синяки или окрашенные пятна. У 70 % таких пациентов имеются также симптомы артралгии и артрита, а также возможны боли в животе, тошнота, общая слабость или даже лихорадка. СОЭ обычно повышена и определяется С-реактивный протеин.

Этиологическим фактором *рекуррентной ангиоэдемы без крапивницы* (наследственный ангионевротический отек) может быть генетический дефект компонента системы комплемента — **C1-ингибитора**. Нормальные концентрации C1-ингибитора в сыворотке составляют 18—22 мг/л. C1-Ингибитор является ингибитором сериновых протеаз, причем не только компонентов комплемента C1g и C1s (для них он единственный ингибитор), но также кининовой системы и фибринолиза (факторов XIIa, XIIb). При дефиците C1-ингибитора повышены активность системы комплемента в целом, а также продукция вазоактивного брадикинина. Именно брадикинин и ответствен за незудящую (гистамина нет) ангиоэдему. Для *профилактики и поддерживающей терапии* назначают андрогены, которые, как оказалось, усиливают транскрипцию и трансляцию C1-ингибитора: danazol 400—600 мг/сут или stanozolol 4—6 мг/сут. При острой атаке необходима *заместительная терапия* свежезамороженной плазмой или концентратом C1-ингибитора. Инъекция такого концентрата показана и перед стоматологическими манипуляциями, операциями в области рта и гортани или перед интубацией.

Редко, но встречаются случаи *ангионевротического отека*, в основе которого лежит не дефект гена C1-ингибитора, а появление в организме инактивирующих анти-C1-антител. В этой ситуации показана *иммуносупрессирующая терапия*.

Острая крапивница составляет около 30 % всех случаев крапивницы и, как правило, имеет аллергическую природу, т.е. есть специфический(е) аллерген(ы). Различают крапивницу на пищевые аллергены (чаще других аллергены яиц, молока, орехов, ракообразных), контактные аллергены (латекс, растительные и животные продукты), медикаменты (пенициллин, сульфаниламиды).

Преходящая крапивница характерна для вирусных инфекций, вызванных, например, вирусами гепатита В и вируса Эпштейна — Барр.

При переливаниях крови и введении кровепродуктов (например, иммуноглобулинов) может произойти излишняя активация системы комплемента иммунными комплексами, и анафилатоксины C5a и C3a вызовут дегрануляцию тучных клеток, в том числе в микроциркуляторном русле кожи, что проявится крапивницей. Крапивницу могут вызвать физические факторы: сдавление, холод, перегрев, инсоляция, вибрация, физические нагрузки.

Среди лекарственных веществ есть такие средства, которые способны вызвать дегрануляцию тучных клеток напрямую, без участия IgE-антител и соответственно *лекарственную*, но не аллергическую *крапивницу*: аспирин, нестероидные противовоспалительные препараты (напроксен, индометацин и др.), радиоконтрастные препараты, местные анестетики.

Есть компоненты пищи, способные также без участия IgE, напрямую вызвать дегрануляцию тучных клеток. Это все те же продукты, богатые природными салицилатами, а также консерванты (диоксида серы, метабисульфит) и пищевые добавки (тартразины, бензоаты и др.). Этих продуктов следует избегать всем пациентам, причем как с истинной аллергензависимой аллергией, так и с псевдоаллергией. Выше приведен краткий список нерекомендуемых продуктов.

Бывает и так называемая *холинергическая*, или *нейрогенная*, крапивница (крапивница на нервной почве). Высыпания чаще образуются на туловище и конечностях, отмечается некоторое повышение температуры тела и потоотделения (например, при физических нагрузках). Папулы при такого рода крапивнице мелкие, окруженные интенсивным покраснением.

Лечение. При всех формах крапивницы необходимы элиминация причинного агента или воздействия, диета, «не беспокоящая» тучные клетки, избегание перечисленных выше лекарств, также «беспокоящих» тучные клетки. Подбор диеты требует большого труда от пациента, от семьи и от врача.

Если меры по подбору диеты оказались неэффективными, то крапивницу лечат неседативными антигистаминными препаратами, как правило, антагонистами H_1 -рецептора для гистамина: *astemizole*, *cetirizine*, *loratadine*, *terfenadine*, *telfast*.

Индивидуальный ответ организма больного на разные антигистаминные препараты может быть различен, поэтому целесообразно подбирать подходящий препарат. На метаболизм в печени астемизола и терфенадина значительно влияют антибиотики типа эритромицина и кетоконазола, их совместное применение недопустимо (осложнением может стать аритмия сердца).

В трудных случаях хронической крапивницы может оказаться полезным *doxeripin* — трициклический антидепрессант и сильный блокатор H_1 -рецепторов.

Также в трудных случаях к блокаторам H_1 -рецепторов добавляют блокаторы H_2 -рецепторов (*ranitidine*, *cimetidine*, *famotidine*). Иногда оказываются эффективны *ketotifen*, *nifedipine*, *danazol*.

14.9. Аллергические и неаллергические реакции на медикаменты

IgE-опосредованные аллергические реакции на медикаменты встречаются менее чем в 10 % всех случаев неблагоприятных реакций на медикаменты. Практически все лекарства вызывают побочные эффекты, у многих — весьма серьезные, многие — просто токсичны. Среди неспециалистов-иммунологов словосочетание «аллергия на лекарство» используют гораздо чаще, чем есть именно аллергия, а не иной по механизму

неблагоприятный эффект. Поэтому для дифференциальной диагностики лекарственной аллергии необходимы специальные лабораторные исследования на наличие иммунных механизмов в патогенезе патологического процесса. Не менее чем у 30 % пациентов развиваются какие-либо отрицательные реакции на лекарства, угрожающих жизни из них около 0,2 %.

Аллергию с механизмом I типа подозревают в случае наличия следующих признаков:

1) в анамнезе есть сведения о приеме данного (или перекрестно реагирующих) препарата в прошлом;

2) острая атака возникает при попадании в организм минимальных доз;

3) симптомы развиваются вскоре после приема препарата (в пределах 30—45 мин) и по проявлениям похожи на аллергию немедленного типа любой этиологии (на пищевые антигены, укусы насекомых).

Кожные прик-тесты или их аналог *in vitro* (определение специфического IgE) могут быть информативны, как показывает практика, только в отношении следующих препаратов: пенициллина, цефалоспорины, противотуберкулезных средств, квинидина, инсулинов, антиконвульсантов, мышечных релаксантов, местных анестетиков. Диагностическое значение имеет определение триптазы тучных клеток в сыворотке крови. Тест на высвобождение гистамина практического диагностического значения в данном случае не имеет.

Если результаты лабораторных методов не дают четкого ответа, а какой-то препарат под подозрением, но есть серьезные клинические показания для его применения, то терапевтическую дозу не следует вводить одномоментно: препарат начинают вводить минимальными дозами с интервалами 20—30 мин и, если не возникает осложнений, «добираются» до терапевтической дозы.

Иммуноопосредованные реакции чаще всего встречаются в отношении следующих медикаментов: пенициллина, сульфонамидов, тиазидов, цефалоспоринов, противотуберкулезных средств, мышечных релаксантов, противосудорожных средств, тиопентала, квинидина. Эти препараты способны связываться с белками сыворотки или поверхности клеток и выступать в роли гаптенов. В качестве полных антигенов иммунная система способна распознавать такие препараты, как гормоны и ферменты (инсулин, АКТГ, химопапаин и др.). Антибиотики из группы β -лактамов вызывают 40—50 % всех случаев неблагоприятных реакций, аспирин и нестероидные противовоспалительные препараты (ингибиторы циклооксигеназы) — 17—27 %, психотропные препараты — 10—12 %.

Частый и беспорядочный прием препарата располагает к развитию на него IgE-ответа.

Существенный клинический факт состоит в том, что наличие вирусных инфекций является сильнодействующим фактором для развития тяжелых реакций на лекарства. Например, если обычно в ответ на ампициллин макулопапулезная сыпь развивается примерно у 5 % пациентов, то у пациентов с инфекцией вирусом Эпштейна — Барр — в 70—100 % случаев. При введении пенициллина иммунологические реакции разного рода возникают примерно в 8 % случаев, но у инфицированных вирусом Эпштейна — Барр в 100 % случаев появляется как минимум макулопапулезная сыпь. Аналогично, если обычно на триметоприм-сульфонамиды кожные реакции возникают у 3 % пациентов, то у ВИЧ-инфицированных на бессимптомной стадии — в 12 % и больных СПИД — в 30—70%.

IgE-опосредованные анафилактические реакции развиваются чаще всего в ответ на антибиотики из группы β -лактамов, блокаторы нервно-мышечной передачи, а также, что ожидается, на продукты крови.

Анафилактоидные реакции без участия IgE, но зависящие от выброса медиаторов из тучных клеток и базофилов в результате иного воздействия (а именно, прямого воздействия лекарственного препарата) развиваются в ответ на аспирин, нестероидные противовоспалительные средства, радиоконтрастные препараты. Кроме того, некоторые препараты крови (например, иммуноглобулины) при введении в кровь больного способны активировать систему комплемента, и образующиеся анафилактоксины C5a и C3a, как известно, могут вызвать дегрануляцию тучных клеток.

У некоторых больных образуется значительное количество **IgG-антител** к пенициллину, который способен сорбироваться на эритроцитах. В этой ситуации при введении больших доз пенициллина может развиваться острая гемолитическая анемия.

III тип повреждающих реакций по Джеллу и Кумбсу — образование иммунных комплексов — если развивается, то через 1—3 нед от начала приема лекарства. Проявляется симптомами лихорадки, общей слабости, крапивницы, артралгии. Реакции такого рода бывают на ксеногенные сыворотки, антибиотики из группы β -лактамов, сульфонамиды, стрептомицин, тиоурацил, гидантоин, аминосалициловую кислоту.

Органоспецифическая манифестация неблагоприятных реакций на медикаменты. Кожа. Наиболее частые проявления на коже реакции организма на медикаменты типа β -лактамов, сульфонамидов, антиконвульсантов выглядят как макулопапулезная сыпь, эритематоз или кореподобная сыпь. Но бывают и более травматичные проявления: erythema multiforme, эксфолиативный дерматит, везикулярная (в том числе крупноволдырная) сыпь; фотосенсибилизация. Зуд и крапивница с ангиоэдемой нередко развиваются не по иммунологическим

механизмам, а в результате прямой дегрануляции тучных клеток под действием медикамента (аспирин, нестероидные противовоспалительные).

Редко вслед за erythema multiforme патологический процесс в коже прогрессирует в сторону генерализации, в него вовлекаются слизистые оболочки — развивается фебрильный слизисто-кожный (mucocutaneous) синдром, называемый синдромом Стивенса — Джонсона (Stevens — Johnson). Кроме значительно выраженной erythema multiforme на коже и слизистых оболочках, развиваются лихорадка и явления общей интоксикации. В наиболее тяжелых случаях, которые названы синдромом Лайела (Lyell), патологический процесс охватывает кожный покров totally, слизистые оболочки глаз, гениталий, развивается эпидермальный некролиз, эпидермис отслаивается и сбрасывается. В среднем при синдроме Лайела летальность составляет до 35 % (рис. 14.1). Чаще других указанные проявления вызывают сульфонамиды, триметоприм-сульфаметоксазол, барбитураты, фенитоин, аспирин, нестероидные противовоспалительные средства. Иммунопатогенез мало изучен. Как правило, описанные клинические симптомы развиваются через 1—3 нед от начала приема препарата. В биопсийном материале из очагов поражения кожи находят в повышенном количестве CD8⁺ Т-лимфоциты.

Лечение проводят в режиме реанимации. Защитить обнаженную дерму от инфекции удается в условиях стерильных палаток (типа противоожоговых) и с помощью интенсивной противомикробной медикаментозной терапии. Вводят большие объемы кровезаменителей, глюкокортикоиды. Чрезвычайно важны местное противовоспалительное и эпителизирующее лечение кожи и слизистых оболочек, профилактика их сращения.

Дифференциальный диагноз приходится проводить с буллезной формой пемфигоида, герпетиформным дерматитом, генерализованным герпесом кожи и слизистых оболочек, генерализованными васкулитами, пустулезной формой псориаза.

Легкие. Из реакций легких на медикаменты наиболее известна реакция на нитрофурантоин, выражающаяся сначала в виде интерстициальных инфильтратов, которые затем могут прогрессировать в пульмонарный фиброз. Сходные осложнения связаны с приемом блеомицина, фенитоина, метотрексата.

Печень. Осложнения со стороны печени характерны при приеме эстрогенов, хлорпромазина, фенитоина, галотана, сульфонамидов, ацетоаминофена.

Кровь. Гемолитическая анемия встречается в связи с приемом пенициллина, квинина (quinine), квинидина (quinidine), нитрофурантоина (nitrofurantoin). Тромбоцитопения возможна

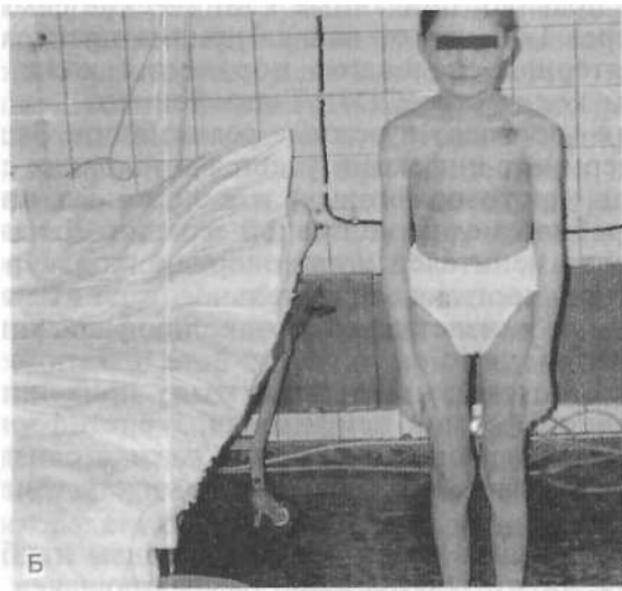


Рис. 14.1. Больной с синдромом Лайела.

А. Острая стадия. Синдром Лайела, или острый тотальный эпидермальный некролиз, развился в ответ на введение в организм терапевтических доз нестероидного противовоспалительного препарата пиразолонового ряда. Как правило, патологический процесс проявляется через 1–3 нед от начала приема препарата. Первым симптомом неблагополучия бывает *erythema multiforme*. Если процесс затрагивает слизистые оболочки, то это состояние называют синдромом Стивенса — Джонсона. Вероятность быстрого прогрессирования его в тотальный острый эпидермальный некролиз велика. Дифференциальный диагноз достаточно сложен и его необходимо проводить по крайней мере с генерализованной герпетической инфекцией кожи и слизистых оболочек, бул-

при приеме квинина, квинидина, седормида (sedormid). Механизм известен: препараты или их дериваты сорбируются на поверхности клеток, в ответ на них, как на гаптены, организм вырабатывает антитела, которые связываются с антигеном на поверхности клеток, активируют комплемент и фагоцитоз, что в свою очередь разрушает клетки.

Рассмотрим отдельные препараты.

Пенициллин. Реальная частота иммунологических реакций на пенициллин неизвестна, предположительно около 8 %, но при наличии инфекции, вызванной вирусом Эпштейна — Барр, она составляет 100 %. Клиническая манифестация может проявляться (в порядке убывания частоты): сыпь на коже, лихорадка, бронхоспазм, васкулиты, эксфолиативные дерматиты, синдром Стивенса — Джонсона, анафилаксия. Если реакции проявляются в первые 3 дня от начала приема препарата, то это чаще всего анафилаксия, крапивница, ангиоэдема, бронхоспазм. В более поздние сроки отмечаются гемолитическая анемия, нейтропения. Анафилаксия развивается в 0,04% случаев, летальность составляет 0,001 %. Выявляемость IgE-сенсibilизации к пенициллину не превышает 80 %. Если у человека аллергия на пенициллин, то вероятность реакций на другие антибиотики у него на порядок выше, чем в среднем в популяции. С течением лет человек может перестать болеть аллергией на пенициллин. Возможна десенсibilизация методом специфической иммунотерапии.

Ампициллин и амоксициллин. Макулопапулезная сыпь на коже в связи с приемом этих препаратов обычно появляется только при инфекции, вызванной вирусом Эпштейна — Барр или цитомегаловирусом, а также у больных хроническим лимфолейкозом. Как правило, IgE-антител нет даже в тех случаях, когда кожные проявления напоминают крапивницу. Сыпь держится около 1 нед.

Цефалоспорины и другие антибиотики группы β -лактамов. Перекрестная реактивность препаратов этой группы с пенициллином составляет 10—50 %. Наименее реактогенны новые препараты этой группы — карбапенем (carbapenem) и монобактам (monobactam).

Сульфонамиды вызывают реакции в виде макулопапулезной сыпи, иногда сопровождающейся лихорадкой примерно у 3 %

лезной формой пемфигоида, генерализованными васкулитами, пустулезной формой псориаза. Лечение возможно, но требует специально оборудованного стационара со стерильными палатками, аппаратами искусственной вентиляции легких, оборудованием и медикаментами для интенсивной терапии, а также специально подготовленного персонала. Б. Тот же пациент после лечения. Фотографии представлены лечащим врачом, заведующим отделением реанимации и интенсивной терапии Института иммунологии МЗ РФ, докт. мед. наук Т.В.Латышевой.

пациентов, при наличии ВИЧ-инфекции — у 30 % или больше в зависимости от стадии инфекции. Перекрестная реактивность противомикробных сульфонамидов ожидаема с препаратами той же природы, но иного назначения — с диуретиками, сахаропонижающими средствами, диаксозидом.

Стрептокиназа вызывает аллергические реакции у 17 % больных. Для предварительной оценки риска рекомендуется проведение кожной пробы.

Химопапаин применяют в составе растворов для контактных линз, добавляют в пиво, используют для смягчения мяса при изготовлении мясных изделий. Анафилактические реакции возникают у 1 % пациентов, которым назначают химопапаин в медицинских целях. Рекомендуется проведение кожных тестов или определения IgE in vitro.

Инсулин может вызвать образование против себя IgG- и IgE-антител. Для диагностики аллергического компонента патогенеза тех или иных неблагоприятных реакций у реципиентов инсулинов показаны кожные тесты и определение IgE/IgG in vitro.

Радиоконтрастные вещества вызывают анафилактоидные реакции примерно у 2 % пациентов. IgE-антитела к ним не определяются. Однако даже при умеренно выраженной клинической симптоматике возможен летальный исход. Поскольку предварительные анализы на чувствительность не разработаны, перед применением этих средств для профилактики рекомендуется дать пациенту антигистаминные препараты и стероиды.

Местные анестетики в большинстве случаев вызывают токсические или вазовагальные реакции и менее чем в 1 % случаев иммунные реакции, которые проявляются в виде дерматита, крапивницы, ангиоэдемы или даже анафилаксии. Диагностический смысл может иметь предварительное тестирование на коже (только надо предусмотреть, чтобы в препарате не содержался адреналин) или определение IgE in vitro.

При общей анестезии крапивница, бронхоспазм, тахикардия, гипотензия и коллапс как реакция на наркотизирующие препараты или миорелаксанты (suxamethium, d-tubocurarine, gallamine, thiopental, amytal sodium, opiates) отмечаются крайне редко (1:10 000), но с летальностью 4—6 %. У чувствительных пациентов рекомендуется перед общим наркозом поставить кожные пробы или провести анализ на специфические IgE.

Кратко подытожим *алгоритм терапии аллергических болезней*.

- Дифференциальная диагностика аллергического патогенеза заболевания: анамнез, поиск аллергена(ов) методами лабораторной диагностики (определение IgE in vitro) и провокационными тестами in vivo (кожные про-

бы; при подкожном введении малых доз аллергена происходит локальная дегрануляция тучных клеток и развивается локальная реакция «wheal-and-flare» — пузыри, покраснение), пер os капсулы с пищевыми аллергенами (если аллерген всасывается в кровь, то типично развитие крапивницы; местно в ЖКТ реакция в виде сокращения гладких мышц приводит к рвоте и диарее), ингаляционные провокационные тесты [аллергический ринит (верхние дыхательные пути), астматический бронхоспазм (нижние дыхательные пути), возрастание секреции слизи и раздражение эпителия].

- Если выявлен(ы) аллерген(ы) экзогенного происхождения, то элиминация аллергена может стать радикальным методом лечения, если патологический процесс еще не вышел в самоподдерживающиеся порочные круги или не наступили необратимые органические изменения.
- При том же условии выявления этиологического(их) аллергена(ов), но невозможности элиминировать его(их) из среды обитания рекомендуется такой эмпирический метод, как специфическая иммунотерапия (СИТ). Она показана при IgE-опосредованных аллергиях и состоит в осторожной курсовой иммунизации больного в течение 3—5 лет или больше малыми дозами «причинного» аллергена вне периодов обострения. У многих больных при этом предположительно происходит либо иммунное отклонение в соотношении субпопуляций CD4⁺ Т-лимфоцитов в сторону Th1, либо супрессия продукции IgE на уровне воздействия на ингибирующие рецепторы В-лимфоцита. Точные механизмы лечебного эффекта СИТ неизвестны.
- Медикаментозная терапия показана во всех случаях атаки аллергического заболевания и не имеет альтернативы при невозможности элиминировать аллерген(ы) и неэффективности СИТ или наличии противопоказаний. Медикаментозная терапия описана выше, в разделе о конкретных нозологических единицах. Назначение каждого препарата объясняется представлениями о ведущих процессах в патогенезе. Традиционным средством алергологов остаются глюкокортикоидные гормональные препараты (стероиды) в связи с их системным противовоспалительным и «лимфоцитусмиряющим» эффектом. Следующий уровень фармакологического противодействия — препараты против медиаторов тучных клеток: кромогликат и недокромил натрия, а также антигистаминные и антилейкотриеновые средства.

Другие назначения зависят от конкретной нозологической формы болезни, локализации ведущего и сопутствующих па-

тологических процессов (при бронхиальной астме — бронходилататоры, при атопическом дерматите — средства, способствующие заживлению кожи, при пищевых аллергиях — препараты пищеварительных ферментов и т.д.).

- В случаях общей анафилаксии и анафилактоидных реакций — cito адреналин, реанимационные меры по показаниям (интубация гортани, искусственная вентиляция легких, дефибриляция сердца), инфузии кровезаменителей, профилактика ДВС-синдрома. После выведения из ургентного состояния показаны интенсивная симптоматическая терапия и по возможности патогенетическая терапия (см. выше).
- При втором типе ургентных состояний, в основе патогенеза которых лежат иммунные механизмы реакций на медикаменты — синдромы обширных некротических поражений кожи и слизистых оболочек (Стивенса — Джонсона или Лайела), проводят реанимационные мероприятия (см. выше): стерильные палатки, противомикробная терапия, глюкокортикоиды, кровезаменители, местная обработка слизистых оболочек для профилактики сращений.

Глава 15. ИММУНОКОРРИГИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ И ВАКЦИНАЦИЯ

15.1. Принципы иммунокорригирующей терапии

Известно по крайней мере 4 *способа воздействия на иммунную систему*.

- иммунодепрессия (антигеннеспецифическая или индукция антигенспецифической толерантности);
- иммуностимуляция (антигеннеспецифическая);
- иммунизация заданным антигеном. Есть две разновидности, применяемые в клинической практике.
 - А. *Вакцинация* (индукция иммунологической памяти путем иммунизации целевым антигеном).
 - Б. *Специфическая иммунотерапия* (СИТ) аллергических заболеваний (иммунизация специфическим аллергеном с целью изменения соотношения факторов лимфоцитарного иммунитета, индуцирующих патофизиологические реакции аллергических процессов);
- Системная адаптация индивидуального организма к условиям внешней среды: тренировка нервно-сосудистых

реакций (процедуры закаливания), качественное и полноценное питание, поддержание или реконструкция в случаях нарушения естественных биоценозов между телом человека, его эпителиальными барьерами и микрофлорой, психологическая адаптация и тому подобное.

15.2. Иммунодепрессивная терапия

С помощью химиотерапевтических препаратов иммунодепрессивного назначения осуществляется наиболее разработанный в прикладном плане фармакологический контроль иммунной системы.

Иммунодепрессивная терапия в современной медицине необходима реципиентам аллогенных трансплантатов, в тяжелых случаях аутоиммунных заболеваний и хронического иммунного воспаления. В экспериментах на животных иммунодепрессию можно вызвать ионизирующим облучением, блокирующими моноклональными антителами к функционально-значимым молекулам лимфоцитов и химиопрепаратами.

В клинической практике используют только медикаментозную иммуносупрессию. Дадим краткую характеристику используемых в клинике *иммунодепрессивных медикаментов*.

Глюкокортикоиды. Они воздействуют на организм как регуляторы экспрессии более чем 1 % генов, являются индукторами апоптоза активированных лимфоцитов, кроме того, активно влияют на клетки эндотелия кровеносных сосудов. Глюкокортикоиды в тучных клетках индуцируют синтез липокортина, который является ингибитором метаболизма арахидоновой кислоты — источника активных провоспалительных липидных медиаторов (лейкотриенов и простагландинов). В целом глюкокортикоиды обладают комплексным противовоспалительным действием на организм. Их широко применяют для лечения аутоиммунных и аллергических заболеваний. В трансплантологии их использование ограничено, так как значимую супрессию отторжения могут обеспечить только весьма большие дозы стероидов, при которых проявляются побочные эффекты.

Антиметаболиты. Азатиоприн сам по себе неактивен, но в печени больного превращается в активное соединение — 6-меркаптопурин. Последний ингибирует биосинтез *de novo* пуриновых азотистых оснований, что приводит к остановке биосинтезов ДНК и РНК. Азатиоприн тормозит функционирование и деление Т-лимфоцитов и гранулоцитов, мало влияет на В-лимфоциты. Его используют главным образом в трансплантологии. Основные побочные эффекты — нейтропения, тромбоцитопения, анемия.

Метотрексат блокирует превращение фолиевой кислоты в тетрафолат, необходимый для синтеза тимидиловой кис-

лоты. Поэтому метотрексат супрессирует биосинтез только ДНК (не РНК) и, следовательно, пролиферацию клеток, в том числе лимфоцитов.

Цитотоксические препараты. К ним относятся алкилирующие агенты, блокирующие синтез ДНК в премитотической фазе клеточного цикла. Циклофосфамид превращается в активное вещество только в печени. Его используют в тяжелых случаях васкулитов (системная красная волчанка, гранулематоз Вегенера и др.) и при трансплантациях костного мозга.

Хлорамбуцил отличается активным воздействием на В-лимфоциты, его применяют преимущественно при лечении злокачественных лимфом.

Иммунодепрессанты из грибов. Циклоспорин (cyclosporin) представляет собой высокогидрофобный циклический пептид из 11 аминокислот. В клетках млекопитающих для него есть рецептор — внутриклеточная молекула (белок с молекулярной массой 17 000), названная циклофилином (cyclophilin). Циклофилин присутствует во многих клетках организма, но эффект циклоспорина наиболее выражен именно в Т-лимфоцитах, где комплекс циклоспорин — циклофилин вступает во взаимодействие с кальмодулином, который в свою очередь связывает *кальцийневрин*. Эти взаимодействия внутри Т-лимфоцита приводят к нарушению процесса конформации (фолдинга) факторов транскрипции, и в результате в Т-лимфоците становятся невозможными биосинтезы цитокинов — IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IFN- γ и др. В итоге подавляется *иммунное воспаление*. В настоящее время циклоспорин используют как обязательный препарат для иммуносупрессии при трансплантациях органов. Его применяют при агрессивных формах аутоиммунных болезней (псориаз, увеит, апластическая анемия, ревматоидный артрит), но следует помнить, что релапс наступает сразу после отмены препарата. Обычно циклоспорин назначают только в случае стероидрезистентных форм заболеваний. На фоне циклоспорина усиленно проявляется онкогенный потенциал герпес-вирусов — Эпштейна — Барр, саркомы Капоши и др. Неходжкинские лимфомы развиваются у 1—10 % пациентов, получающих продолжительные курсы циклоспорина. Все чаще стала манифестировать саркома Капоши у реципиентов органных трансплантатов.

FK506 — это тоже препарат из грибов, но имеющий иную структуру и акцептор в клетках млекопитающих, чем циклоспорин. FK506 в 10—100 раз сильнее, чем циклоспорин, подавляет биосинтез иммуноцитокинов IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IFN- γ и др. Побочные эффекты те же, что у циклоспорина.

Микофеноловая кислота блокирует синтез пуринов (следовательно, синтез ДНК), а также ингибирует гликозилирование молекул адгезии (следовательно, взаимодей-

ствие клеток, в том числе в иммунном ответе) и пролиферацию гладкомышечных клеток.

15-Дезокиспергуалин (15-deoxyspergualin) активно подавляет пролиферацию В-лимфоцитов и синтез иммуноглобулинов.

Рапамицин (гарапусин) нарушает функционирование протеинкиназ, обеспечивающих проведение сигналов внутрь клеток, в том числе лимфоцитов, блокирует пролиферацию лимфоцитов.

Бреквинар натрия (brequinar sodium) ингибирует синтеза пиримидинов, следовательно, ДНК.

15.3. Вакцинация

Вакцинация — целенаправленное введение в организм человека заданного антигена в неагрессивной форме и в неагрессивных, но иммуногенных дозах с целью индукции защитного иммунного ответа и формирования иммунологической памяти для профилактики реального инфекционного заболевания в будущем.

Динамика индукции иммунологической памяти при вакцинации и реализации ее при вторичном иммунном ответе приведена на рис. 7.1.

Вакцинация *теоретически* — самый лучший метод иммунотерапии и иммунопрофилактики. Вакцинация — это антигенспецифичная стимуляция иммунитета. Но при вакцинации есть свои проблемы, наиболее трудные из них мы рассмотрим. Первая проблема — биогенное (биотехнологическое) происхождение вакцинных препаратов, одна из сторон которого — применение живых аттенуированных вирусных вакцин.

В «*аттенуации*» (манипуляциях по ослаблению патогенных свойств микроорганизмов *in vitro* или на животных) скрыта следующая проблема. Дело в том, что «выпуская» аттенуированного в лабораториях, но живого микроба в живые человеческие тела, мы не можем отменить и даже контролировать дальнейшую эволюцию микроорганизма в сторону нарастания его патогенности, генетических рекомбинаций с другими микроорганизмами (а таких фактов много) с образованием новых форм жизни. Поэтому как бы ни хорош был защитный эффект живых вакцин, применяя их, никто не может реально прогнозировать персональный риск неблагоприятных последствий для конкретного человека, даже если большинству других людей такая вакцинация не приносит видимого вреда.

Еще одна проблема уже обсуждалась выше. Она заключается в том, что вакцина — одна на всех людей в популяции, а антигенпредставляющие возможности молекул **МНС-I/II** у

каждого человека свои согласно семейной наследственности. Поэтому закономерным является то, что не каждого человека в принципе может защитить какая бы то ни была стандартная вакцина.

Кроме того, традиционными методами изготовления вакцинных препаратов пока не удалось получить протективных вакцин против многих инфекционных заболеваний (в частности, большинства венерических, паразитарных, многих вирусных). Многие применяемые вакцинные препараты содержат значительное количество (до 90 %) примесей, помимо целевого(ых) антигена(ов).

Более 20 лет в Институте иммунологии МЗ под руководством академика Р.В.Петрова и академика РАМН Р.М.Хаитова идут работы по созданию принципиально новых вакцинирующих препаратов контролируемого содержания. В их основе — определенные высокоочищенные антигены, в том числе синтетические или рекомбинантные аналоги протективных антигенов возбудителей. Но сам по себе антиген — еще не вакцина. Для индукции протективного иммунного ответа существенно молекулярное «сопровождение» антигена или носители. В Институте иммунологии ведут приоритетные работы по созданию особых полимерных молекул-носителей для целевых антигенов. Эксперименты на животных показывают, что определенные полимерные носители в составе вакцинирующих препаратов позволяют индуцировать значимый иммунный ответ у особей (линий животных), которые по генетическим причинам сами по себе слабо отвечают на данный антиген (фенотипическая коррекция иммунного ответа). Прошла успешные клинические испытания и получила разрешение на применение в клинической практике трехвалентная противогриппозная вакцина «гриппол». Эта вакцина уже несколько лет применяется для защиты населения от гриппа. Гриппол — первая в мире вакцина, которая представляет собой химический конъюгат основного антигена вируса гриппа с полимерным иммуномодулятором.

Разрабатываются аналогичные вакцинные препараты против бруцеллеза, брюшного тифа, лепры, туберкулеза. Эти разработки не имеют аналогов в мире.

Делом разработчиков вакцин должны стать разумное решение проблем и создание вакцинирующих препаратов, удовлетворяющих *необходимым критериям*:

- вакцина не должна быть источником побочной биологической опасности;
- вакцина не должна индуцировать патогенные иммунные процессы (типа усиливающих инфекцию антител и др.);
- вакцина должна эффективно индуцировать протективный иммунитет;

- если цель вакцинации, напротив, подавить какой-либо нежелательный иммунный процесс в организме, то вакцинный препарат должен индуцировать антигенспецифичную иммунологическую толерантность (т.е. ареактивность или делецию клона лимфоцитов);
- врач-иммунолог должен уметь контролировать создание заданного иммунитета у человека с помощью лабораторных методов.

Общая задача всей современной медицины и, вероятно, шире — всего общества, но отнюдь не только иммунологии, сосредоточиться, собраться с силами и начать настоящие разработки по созданию биологически безопасных и при этом эффективных в плане защиты от реального инфекционного заболевания вакцинных препаратов.

15.4. Иммуностимулирующая терапия

В результате интенсивных исследований отечественными учеными иммуотропных лекарственных средств стимулирующего назначения в настоящее время в клиническую практику внедрен ряд препаратов:

1) синтетический полимер — полиоксидоний (N-оксидированное производное полиэтиленпиперазина) (авторы: Р.В.Петров, А.В.Некрасов, Р.М.Хайтов, Р.И.Атауллаханов и др.). Механизм действия — стимуляция активности макрофагов, а также Т- и В-лимфоцитов;

2) миелопид (авторы: Р.В.Петров, А.А.Михайлова и др.) — комплекс пептидов из кроветворного костного мозга свиней. В настоящее время ведутся успешные работы по химическому синтезу аналогичных пептидов. Механизм действия «широкомасштабный» — препарат влияет практически на все компоненты иммунной системы;

3) ликопид (авторы: Ю.А.Овчинников, И.Б.Сорокина, Т.М.Андропова и др.) — производное мурамилпептидов. Первоначально препарат выделили из клеточной стенки бактерии *L.bulgaricus*, затем его воспроизвели химическим синтезом. В механизме действия на первый план выступает активация макрофагов.

В отечественных справочниках по лекарственным средствам описан еще ряд препаратов (синтетических и природного происхождения) иммуностимулирующего назначения. Материалы по их составу и механизмам действия приведены в специальной периодической литературе и монографиях.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Избранные методы исследования в иммунологии

Кратко остановимся всего на двух принципах методов исследования в иммунологии, которые являются основными методами «добычи» современных знаний о природе — клонировании и твердофазных иммуноанализах.

/. Клонирование

Клонирование — получение множества одинаковых копий некоторого биологического объекта. Клонируют организмы, отдельные клетки, отдельные гены. Возможность какого бы то ни было клонирования в исследовательских целях основана на использовании фундаментального свойства живого вещества земной природы — способности к репликации, т.е. воссозданию, синтезу себе подобного. Размножение живого основано на свойстве нуклеиновых кислот синтезировать свою копию при участии полимераз, с использованием себя в качестве матрицы. Вслед за ДНК удваиваются клетки. Деление клеток позволяет воссоздать целый дочерний организм.

1.1. Клонирование животных: инбредные линии мышей

Иммунология как экспериментальная наука началась в конце прошлого века с выведения чистых линий мышей. Это пример клонирования организмов. Как уже отмечалось в начале учебника, мышами воспользовались потому, что это мелкие млекопитающие, имеющие продолжительность беременности 21 день, число детенышей в потомстве — 5—7 на роды. Такие количественные параметры репродукции популяции позволяют в приемлемые для человека (относительно периода трудоспособной жизни и творчества исследователя) сроки провести инбридинг и в итоге вывести чистую линию мышей. *Инбридинг* — близкородственное скрещивание родных братьев и сестер, родителей и детей. После нескольких инбредных скрещиваний у потомков начинают взаимно пересаживать кожные лоскуты и для будущих скрещиваний отбирают только те пары, которые дольше других не отторгают трансплантаты друг друга. Напомним, что быстрое отторжение трансплантата зависит от генов/антигенов главного комплекса гистосовместимости, не очень быстрое — от неглавных генов/антигенов гистосовместимости, которыми являются все белки организма. Поэтому понятно, что в результате инбридинга и отбора для скрещивания пар, все хуже и хуже отторгающих и, наконец, не отторгающих кожный трансплантат, получают-

ся мышцы, *генетически одинаковые — сингенные*. Понятно, что сингенные инбредные мышцы одного пола *гомозиготны* по всем генам, самцы отличаются от самок по генам хромосомы Y. Чистоту инбредной линии необходимо контролировать и поддерживать, выбраковывая мутантов по возможности в каждом поколении или с необходимой достаточной регулярностью.

1.2. Клонирование клеток

В начале 70-х годов XX в. научились клонировать клетки. Для этого понадобилось разработать питательные среды, материалы для лабораторной посуды и термостаты-инкубаторы, условия которых смогли бы симитировать для клеток млекопитающих внутреннюю среду организма. В течение 10—12 лет удавалось клонировать только опухолевые клетки, поскольку их собственным свойством является способность неограниченно делиться митозом. Г.Келлер и У.Мильтштейн в 1974—1975 г. разработали методику получения гибридных *клеток*, одна из которых опухолевая (миелома), вторая — нормальный лимфоцит (рис. П.1). Получающиеся гибридные клетки *имели* какую-то часть хромосом (следовательно, и свойств) нормального лимфоцита (другая часть хромосом выбрасывалась из клеток в течение первых делений, пока геном не стабилизировался) и какую-то часть — от опухоли. Росли только клетки, унаследовавшие способность к неограниченному делению. Параллельно в них шел биосинтез тех или иных продуктов нормального лимфоцита, например антител. Неограниченно делящиеся клетки «позволяют» себя клонировать, т.е. физически «рассадить» по одной (каждую в отдельную посуду) и получить клоны клеток — потомков одной клетки. Такие клетки называли *гибридомами*.

Если гибридома синтезирует антитела, то их называют *моноклональными*. Как показал опыт, все клетки клонированной гибридомы синтезируют одинаковые антитела и по специфичности активного центра, и по изотипу тяжелой цепи, т.е. моноклональные антитела не только продукт моноклона, но это и *чистый* препарат одинаковых иммуноглобулинов. В конце 70-х годов научились выращивать *in vitro* и клонировать Т-лимфоциты. Это стало возможным только после открытия фактора роста для Т-лимфоцитов, позже названного ИЛ-2. Именно клонирование Т-лимфоцитов позволило открыть субпопуляции Th1 и Th2 и сделать *множество других открытий*, в том числе идентифицировать ВИЧ (достаточные для исследования количества генов и белков вируса смогли наработать только на Т-лимфоцитах, культивируемых *in vitro* в присутствии фактора роста). В-лимфоциты без превращения их в гибридомы можно заставить делиться (что позволяет их клонировать), если инфицировать их вирусом Эпштейна — Барр (он трансформирует нормальные В-лимфоциты в опухоль из В-лимфоцитов).

1.3. Клонирование генов. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Следующим методическим этапом исследования природы «вглубь» стало клонирование генов. Еще его называют молекулярным клонированием, поскольку где *ген*, там и белок, транслированный с этого гена. Когда говорят о *рекомбинантных белках*, то имеют в виду

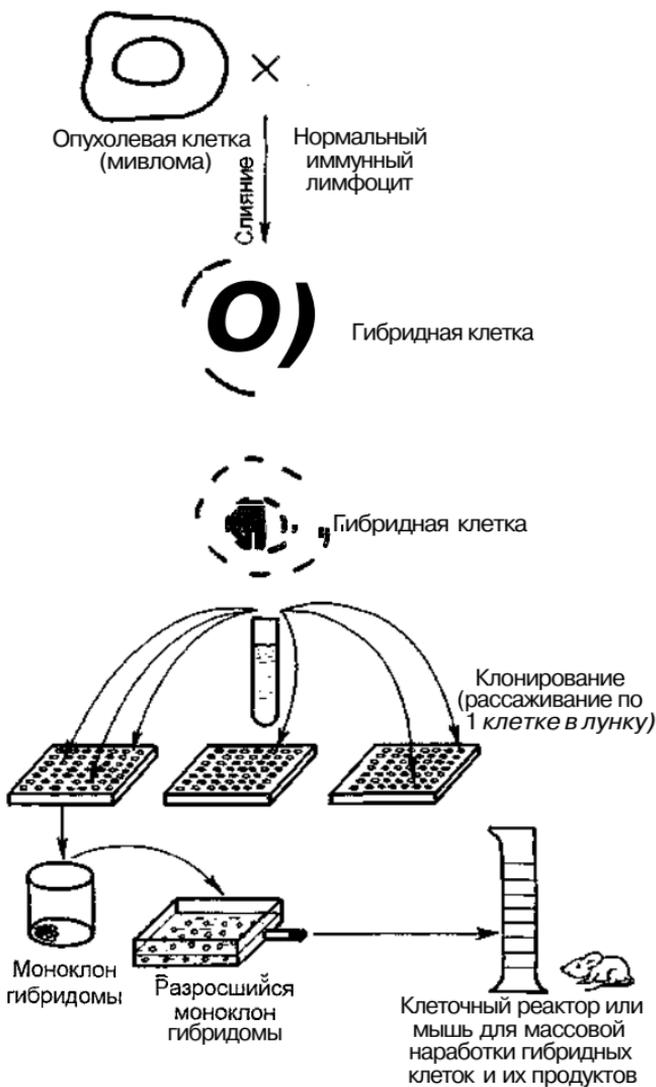


Рис. П.1. Получение гибридом.

именно белки, синтезированные в той или иной *системе экспрессии* (в бактериальных клетках, дрожжевых клетках и др.) с клонированного гена, который *ввели* (трансфицировали) в систему экспрессии. Таким образом, *молекулярное клонирование* — это получение чистого клона гена и вслед за ним чистого клона молекул белка, кодируемого этим геном.

Для того чтобы клонировать конкретный ген, сначала надо узнать *первичную последовательность нуклеотидов* этого гена, если не целиком (что, конечно, лучше всего), то хотя бы последовательности нуклеотидов по краям гена и соседние с ними (фланкирующие последовательности). Таким образом, возможность развития методов молекулярного клонирования появилась после развития методов молекулярной биологии и биохимии нуклеиновых кислот, позволя-

ющих определять первичную последовательность нуклеотидов (так называемый сиквенс, от англ. sequence — последовательность).

Необходимо было также научиться искусственно синтезировать недлинные отрезки ДНК (20—30 нуклеотидов) со строго заданной последовательностью нуклеотидов. Их называют *олигонуклеотидами* и используют в качестве *затравки* (праймера, от англ. primer — инициатор, зачинщик) для синтеза длинных молекул ДНК, пользуясь естественным свойством природы, которое заключается в том, что все ДНК-полимеразы хотя и используют в качестве матрицы одну из цепей двойной спирали ДНК, но начать синтез могут только с двуспирального участка. Двуспиральный участок в нужном месте (в начале искомого гена) создают с помощью олигонуклеотидных праймеров, предварительно вызвав диссоциацию двойной спирали ДНК на одиночные цепи нагреванием до 92—95 °С (термоденатурация). Научившись этому, а также открыв и выделив целый ряд ферментов, работающих с ДНК (рестриктазы — *рестрикционные* эндонуклеазы, которые расщепляют цепь ДНК в специфических точках, термостабильные ДНК-полимеразы), молекулярные биологи разработали новый и очень «мощный» метод получения препаративных количеств копий заданного гена. В 1983 г. Кэри Б.Мюллис описал метод цепной полимеразной реакции (polymerase chaine reaction, PCR) — ПЦР. Он догадался, как можно за один рабочий день биохимика получить 100 млрд копий заданного гена. Если так много не нужно, то за 20 циклов реакции (это «золотая середина», при которой и количество продукта достаточное, и ошибок накапливается в пределах «терпимого»), можно получить 2^{20} копий искомого гена (это примерно 1 млн).

За прошедшие 17 лет этот метод использовали столь широко по всему миру, что возникло большое количество конкретных методик (гнездовая ПЦР, RT/РНК — ПЦР, вырожденная ПЦР, ПЦР с «горячим стартом» и т.д.). Суть и техническое исполнение самой ПЦР просты (рис. П.2). Сложно то, что необходимо сделать перед этим —

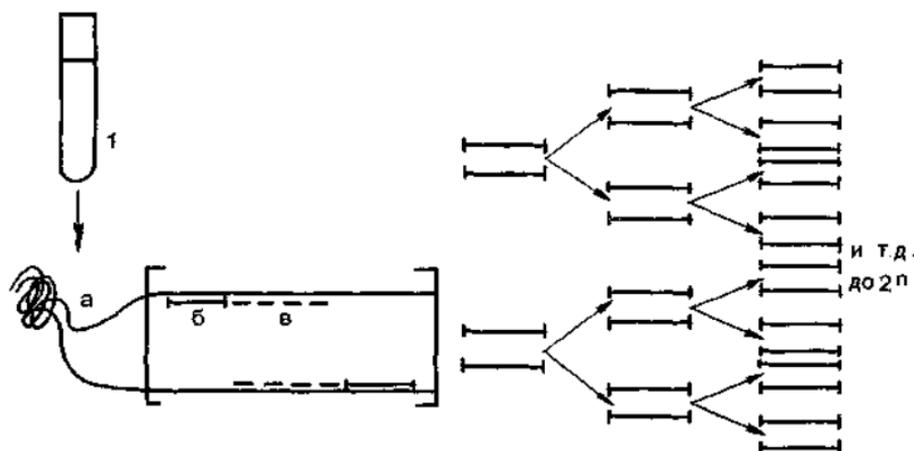


Рис. П.2. Полимеразная цепная реакция (ПЦР).

1 — ДНК биопробы; цикл ПЦР: а — термоденатурация (94—96 °С); б — отжиг праймеров (40—60 °С); в — элонгация цепи (72 °С). Если n — число циклов реакции, то число получаемых в результате копий заданного гена равно 2^n .

не ошибиться в определении сиквенса ДНК искомого гена и/или фланкирующих последовательностей, не ошибиться в синтезе праймеров, запастись высококачественными исходными реагентами.

В самом простом варианте реакция выполняется следующим образом. В одну пробирку вносят все компоненты реакции сразу, т.е. смешивают ДНК (содержащую искомым ген), два вида олигонуклеотидных праймеров, один из которых комплементарен последовательности нуклеотидов одной из цепей ДНК в начале гена (или по соседству с «левого фланга»), второй комплементарен последовательности нуклеотидов второй цепи в конце гена (или по соседству с «правого фланга»), добавляют 4 типа дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (из которых строится ДНК), термостабильную ДНК-полимеразу Taq (из термофильной бактерии *Thermus aquaticus*), солевой буфер (с оптимальным для работы фермента солевым составом). Общий объем реакционной смеси может быть всего несколько десятков микролитров (или по потребности). Пробирку тщательно закрывают плотной пробкой и ни разу не открывают до конца реакции. Один цикл реакции представляет собой следующее. 1. *Термоденатурация*: пробирку нагревают до 94–96 °С в течение 1–2 мин, при этом цепи двойной спирали ДНК несколько расплетаются в количестве, достаточном, чтобы праймеры могли присоединиться к своим комплементарным последовательностям. 2. *Гибридизация (отжиг) праймера*: чтобы это произошло, пробирку охлаждают до оптимальной для отжига температуры 40–60 °С. 3. *Элонгация* — биосинтез двойной спирали ДНК от праймеров и в сторону 5'-конца: пробирку нагревают до оптимальной для элонгации температуры 72 °С. Цель одного цикла достигнута — получены две копии заданного гена. Общее время одного цикла — от 5 до 10 мин (в зависимости от объема реакционной смеси и параметров прибора — термоцикл ера). Можно проводить второй цикл — нагревать пробирку вновь до 94–96 °С и все повторить, и так 20–40 раз (сколько требуется и какое качество воспроизведения гена необходимо). За 20 циклов получают около 1 млн одинаковых копий одного искомого гена. Итоговый продукт анализируют (электрофорезом в геле) и препаративно выделяют из реакционной смеси (разными методами, например аффинной гибридизацией на твердой фазе или препаративным электрофорезом).

Получив столь «мощный» метод биосинтеза отдельных генов в чистом виде, стали «делать» трансгенных мышей и мышей с направленным разрушением определенного гена — мышей с генетическим *knock-out*. Это два самых «сильных» гносеологических метода исследования в современной биологии. Разрешающий уровень — отдельный ген и даже отдельные участки определенного гена. Вероятно, это методически предельный уровень «раскладывания природы по полочкам», ибо дальше дробить некуда — отдельные атомы в молекуле уже не несут признаков биологической специфичности.

1.4. Трансгенные мыши

Трансгенная мышь — это мышь, в геном которой введен посторонний экзоген. Чтобы «сделать» трансгенную мышь, необходимо иметь в качестве препарата чистую ДНК, строго воспроизводящую последовательность заданного экзогена (как минимум). Обычно к ДНК экзогена с определенным смыслом пристраивают еще регуляторные

последовательности ДНК — промоторы и энхансеры. Получают вектор экспрессии.

«Готовят» мышь-самку: ей вводят фолликулостимулирующий гормон и хорионический гонадотропин для индукции суперовуляции. Такую самку спаривают с самцом, после чего из самки быстро извлекают оплодотворенные яйцеклетки. Микроманипулятором в мужской пронуклеус инъецируют ДНК экзогена в дозе несколько сот копий, и такие яйцеклетки имплантируют в матку или яйцеводы другой подготовленной псевдобеременной самки. И ждут от нее потомства. Опыт показывает, что примерно 25 % новорожденных мышат несут экзоген (теперь уже трансген) в своем геноме. Экзогены ковалентно *встраиваются* (интегрируются) в одно или до нескольких десятков мест собственного генома мыши (кстати, как ретровирусы ВИЧ). Если в собственном геноме нет генов, гомологичных экзогену, то встраивание экзогена происходит в случайные места генома.

Встраивание осуществляется очень быстро после ввода экзогенной ДНК в пронуклеус — до первой репликации ДНК зиготы, так как большинство мышей, получивших экзоген (75 %), имеют его в каждой клетке своего тела, включая гаметы. Интересно, но факт, что встраивание чужеродной ДНК в геном в большинстве случаев допускает нормальное развитие и рождение организма, разумеется, если трансген не кодирует синтез токсичного для организма белка. В первом поколении мышей трансген находится в гетерозиготном состоянии. Таких мышей спаривают, и во втором поколении отбирают гомозигот по трансгену. Вот они уже и есть полноценные трансгенные мыши.

Дополнение трансгена тканеспецифичными и/или индуцибельными промоторами позволяет манипулировать экспрессией трансгена по усмотрению экспериментатора (не во всех клетках, а только, например, в Т-лимфоцитах или только в β -клетках островков Лангерганса, не постоянно, а только после введения в организм индуктора). Таким образом можно изучить, как будут проходить развитие и жизнедеятельность организма при излишней экспрессии определенного гена (*overexpression*).

1.5. Генетический нокаут (*knock-out*), или направленный мутагенез

Метод нокаута генов — это метод получения клеток или целых организмов (мышей), в которых целенаправленно разрушен *определенный ген*. Для того чтобы это сделать, необходимо иметь: 1) клонированный заданный ген; 2) два «методических» гена для целей селекции искомым клеток с удачно инактивированным геном и соответствующую селективную среду культивирования; 3) особую уникальную линию перевивных стволовых эмбриональных клеток мышей — ES (*embryonic stem cell line*), которые сохраняют способность дифференцироваться в надлежащих условиях во все без исключения типы клеток организма мыши и, кроме этого, здоровых мышей и трудлюбие примерно на год упорной работы.

Такой метод основан на природном феномене *гомологичной рекомбинации*. При половом размножении живых организмов природа «предусмотрела» мейоз и кроссинговер в мейозе, при котором про-

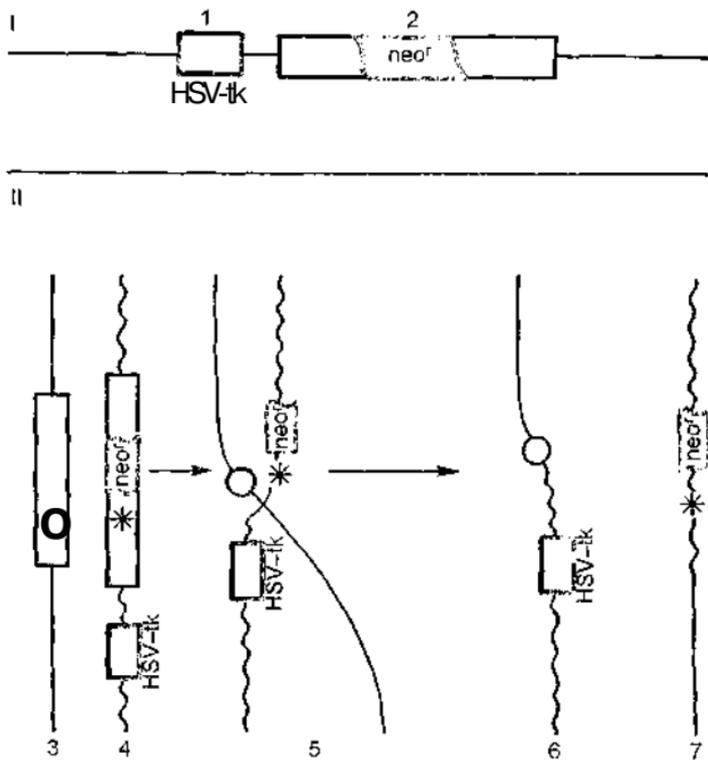


Рис. П.3. Метод генетического нокаута (гомологичной рекомбинации, или направленного мутагенеза).

I — искусственная генетическая конструкция, содержащая разрушенный заданный ген (разрушение достигается встраиванием внутрь данного гена постороннего гена, например *neo^r*) и специальные гены, которые в дальнейшем позволят провести метаболическую селекцию нужных клеток; 1 — HSV-tk — ген тимидинкиназы вируса простого герпеса; 2 — заданный ген, внутрь которого встроен ген резистентности к неомицину *neo^r*.

II — схема собственно гомологичной рекомбинации: 3 — хромосома в клетке ES, несущая нормальный искомым ген; 4 — искусственная генетическая конструкция — трансген (I) находит в клетке именно хромосому (3) благодаря наличию в трансгене некоторого, но недостаточного количества последовательностей нуклеотидов, комплементарных последовательностям в нормальном гене (гомологичные последовательности спариваются); 5 — между последовательностями нуклеотидов нормального гена и последовательностями трансгена происходит обмен — это и есть гомологическая рекомбинация ДНК, в результате на месте нормального гена оказываются мутантные последовательности и клетка-носитель такого гена лишается функций и продукта нормального гена; 6 — хромосома, которой «достался» ген тимидинкиназы вируса простого герпеса. Клетки, имеющие такие хромосомы, погибнут в селективной среде с ганцикловиром; 7 — хромосома, в которую на месте нормального гена встроился мутантный ген с включением гена резистентности к неомицину (*neo^r*), клетки, имеющие такую хромосому, выживут в среде с неомицином, что и позволит их отделить от ненужных вариантов клеток.

Сначала делают искусственную генетическую конструкцию (трансген), содержащую последовательности ДНК, гомологичные ДНК заданного гена. Внутри этой гомологичной последовательности встраивают постороннюю ДНК методического назначения, например ген резистентности к неомицину (*neo^r*). Такая вставка и является «разрушителем» нормальной структуры гена, превращающая его в мутантный. Рядом на коротком, но значимом расстоянии

исходят физическое сближение гомологичных генов в гомологичных хромосомах и *обмен* участками ДНК между гомологичными генами. Оказывается, если в клетку ввести отдельный ген, то он тоже в состоянии *найти* в хромосомах гомологичный *себе* ген (одноименный) и вступить с ним в гомологичную рекомбинацию, т.е. произвести обмен участками ДНК. С целью направленного мутагенеза, или нокаута, заданного гена в клетку вводят не интактный гомологичный ген, а умышленно поврежденный. Дальше все происходит по природным механизмам: поврежденный, но гомологичный экзоген находит одноименный интактный клеточный ген, вступает с ним в гомологичную рекомбинацию и в результате в хромосоме на месте прежнего интактного гена появляется поврежденный «подлог». Цель достигнута.

Учитывая выдающиеся возможности этой методики, опишем ее подробнее (рис. П.3). В качестве «методических» генов используют обычно два — ген резистентности к неомицину neo^r и ген вирусной тимидинкиназы из вируса простого герпеса HSV-tk. Если в некой клетке есть ген neo^r , то такая клетка способна жить в присутствии препарата — аналога неомицина G418. Клетки, не имеющие гена neo^r , погибают в присутствии G418. Если в клетке есть вирусный ген HSV-tk, то такая клетка погибнет при добавлении на среду культивирования противовирусного препарата ганцикловира. Клеткам, не имеющим гена HSV-tk, ганцикловир не страшен.

Сначала в ДНК препарата заданного гена (т.е. *in vitro*) примерно в середину последовательности встраивают ген neo^r . Сбоку на некотором расстоянии пристраивают ген HSV-tk. Это и есть экзогенетическая конструкция, необходимая и достаточная для попытки направленного мутагенеза в какой-либо клетке. Для «создания» целой мыши без заданного гена используют клетки линии ES. В них трансфицируют описанную выше генетическую конструкцию, клетки помещают в селективную культуральную среду, содержащую G418 и ганцикловир.

Возможны 3 варианта внутриклеточной «судьбы» экзогенетической конструкции:

1) она не встраивается в хромосомы и бесследно теряется при делении клетки. Такие клетки, просто ES, погибают в селективной среде от отравления препаратом G418;

присоединяют ген селективного назначения, например тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV-tk). Такой искусственный трансген вводят в клетки линии ES (эмбриональные стволовые клетки мыши). Рассчитывают на то (и так оно и происходит в действительности), что трансген вступит в гомологичную рекомбинацию с гомологичным геном клетки. В результате в культуре образуется 3 типа клеток, которые можно отделить (точнее, выделить единственный искомый) на селективной среде, содержащей неомицин (яд для клеток, не имеющих гена резистентности к неомицину) и ганцикловир (яд для клеток, несущих ген тимидинкиназы вируса простого герпеса).

Клетки, не включившие трансген, погибают под действием неомицина; клетки, встроившие трансген в случайные места в хромосомах, погибают под действием ганцикловира; и только искомые клетки, в которых в результате гомологичной рекомбинации на месте нормального гена встроился разрушенный мутантный ген с включением neo^r , выживают на среде с неомицином и ганцикловиrom, вместе взятыми.

2) экзогенетическая конструкция встраивается в случайные места в геноме. При этом она, как правило, сохраняет свою целостность и несет и ген *neo^r*, и ген HSV-tk. Такие клетки тоже погибают в селективной среде, но под действием ганцикловира;

3) экзогенетическая конструкция находит гомологичный клеточный ген и вступает с ним в гомологичную рекомбинацию. Эти клетки и есть искомые. При этом «хвост» с геном HSV-tk (он вне гомологичной области) выщепляется и теряется при делении клетки. Ген *neo^r*, поскольку он расположен в середине гомологичной последовательности ДНК, как раз оказывается встроенным в хромосому. В результате искомые клетки несут ген *neo^r*, но не несут ген HSV-tk и поэтому способны жить и делиться на селективной среде, содержащей и G418, и ганцикловир. Таким образом их и выделяют из массы ненужных клеток.

В описанном варианте направленный мутагенез, или нокаут гена, произошел на одной из гомологичных хромосом. Его можно выполнить и на обеих гомологичных хромосомах, для чего нужны еще два других «методических» гена для селекции. Но мышью с нокаутом гена можно получить и в случае нокаута одного из гомологичных генов в клетках ES. Для этого поступают следующим образом. От «свежезабеременевшей» мыши выделяют эмбрионы на стадии бластулы (или проводят оплодотворение *in vitro*). В бластулы инъецируют одномоутированные клетки ES и имплантируют подготовленной псевдобеременной самке. Из такой сконструированной бластулы развиваются здоровые эмбрионы, рождаются мышата-мозаики, часть клеток которых во всех тканях, включая половые клетки, происходит из одномоутированных клеток ES. Поскольку половые клетки гаплоидны, то часть из них несет в «чистом виде» нокаутированный ген.

Таких мышат используют для инбредного размножения, и в потомстве второго поколения какая-то часть мышат обязательно получается гомозиготной по нокаутированному (испорченному) гену. Это и есть конечная цель работы. Чтобы удостовериться в правильности полученного результата, выполняют контрольную ПЦР на ген *neo^r*.

Таких мышей можно размножить инбридингом и получить необходимое и достаточное для запланированной работы число особей с заданным генетическим нокаутом (т.е. с отсутствием функционально дееспособного гена).

Получить организм с генетическим нокаутом можно только в отношении генов, отсутствие которых тем не менее позволяет организму развиваться, родиться и начать жить. Если какой-то ген абсолютно необходим для реализации онтогенеза организма, то нокаут по этому гену можно осуществить в перевиваемых *in vitro* клетках и в какой-то мере на моделях *in vitro* исследовать последствия отсутствия гена для жизнедеятельности клетки.

Этим исследовательские возможности метода не исчерпываются. Можно получить библиотеку экзогенов, в которых «методический» ген (а собственно, его внедрение и нарушает генетический код, т.е. является мутирующим фактором) повреждает разные участки исследуемого гена. Одним из генов библиотеки производят нокаут. Затем в отдельные «нокаутированные» клетки трансфицируют интактный ген (если происходит реставрация экспрессии соответствующего белка, то это является доказательством «от противного» того, что исходно сделанный нокаут был истинным), а также по одному разные гены из библиотеки поврежденных. Анализируют, не произой-

дет ли реставрация экспрессии продукта в случае ретрансфекции каких-то генов из поврежденных. Таким образом удастся установить функциональную нагрузку разных *участков* одного гена.

///. *Методы иммуноанализов*

Как Вы помните, еще в 30-е годы после работ К.Ландштейнера по получению антител к искусственно синтезированным гаптенам, к антителам стали относиться как к *специфическим реагентам*, избирательно связывающим то или иное вещество (способное быть антигеном для иммунизации животного), и, следовательно, антитела можно использовать для обнаружения и определения количества этого вещества в тех или иных смесях. *Иммуноанализами* называют различные тест-системы для выявления какого-либо вещества, в которых ключевой специфической реакцией является *связывание антитела с антигеном*. Антитела — растворимые молекулы белков. Антигены бывают разные, но далеко не все видны невооруженным глазом и большинство также растворимые. Связывание двух растворимых молекул часто приводит к образованию также растворимого комплекса, следовательно, невидимого глазом. Поэтому с технической стороны разные тест-системы иммуноанализов различаются между собой средствами *визуализации* факта связывания антитела с антигеном. С 30-х и до конца 60-х годов методы визуализации комплексов антиген — антитело представляли собой *преципитацию в геле* (методы Оухтерлони, Манчини, разнообразные иммуноэлектрофорезы в гелях), — т.е. выпадение этих комплексов в осадок, а также гемолиз или гемагглютинацию, т.е. использовали хорошо видимые эритроциты, на поверхность которых сорбировали либо антиген, либо (реже) антитела. До настоящего времени в некоторых случаях эти методы применяют (например, метод Манчини) для определения содержания иммуноглобулинов классов М, G и А в сыворотке крови. Но для определения уровня IgE метод преципитации в геле уже неприменим, так как не «хватает» его чувствительности (как той наименьшей концентрации искомого вещества, которая еще может быть достоверно определена данным методом).

В фундаментальных исследованиях по иммунологии используют все известные в естественных науках методы. Самые современные методы в иммунологии — это методы молекулярной биологии и молекулярной генетики. В прикладной клинической иммунологии методическая база не столь широка. Применяемые методы можно разделить на 6 категорий. По сути *иммунологическими методами* называют такие методы, в которых так или иначе *визуализируются* реакции антиген — антитело.

- Методы фракционирования — физического разделения гуморальных факторов иммунитета (молекул) или клеток:
 - электрофорезы;
 - проточная микроцитофлуорометрия.
- Методы, использующие партикулярные антигены (непосредственная агглютинация антигена, гемагглютинация, латекс-агглютинация, нефелометрия).
- Методы, использующие технологию гемолиза (тесты фиксации комплемента, метод Йерне).
- Иммуногистохимические методы (иммунофлюоресцентная

микроскопия; микроскопия препаратов тканей или клеток с фиксированными антителами, меченными ферментной меткой).

■ Методы иммуноанализов (радиоиммуноанализ, иммуноферментный анализ).

■ Методы молекулярной биологии [полимеразная цепная реакция; иммуноблоттинг (определяет белки); Southern-блотт (определяет ДНК); Northern-блотт (определяет РНК)].

Кратко рассмотрим только методы *иммуноанализов* как наиболее широко применяемые в клинической диагностике в самых разных областях медицины.

Как правило, термин иммуноанализы используют не вообще в случае любого анализа в иммунологии, а конкретно применительно к *иммуноферментным* и *радиоиммунным* методикам определения тех или иных *растворимых* веществ в самых разных их модификациях.

Иммуноанализами называют такие методы качественного и количественного определения растворимых веществ, в основе которых лежит взаимодействие *антигена с антителом* (т.е. иммунологическое распознавание), которое детектируется (визуализируется) с помощью специальной метки, заранее конъюгированной либо с антителом, либо с антигеном. В качестве *меток* используют вещества, которые при определенных условиях может увидеть либо тот или иной прибор, либо глаз человека. Приборы могут не только «увидеть», но и измерить количество метки.

Метки:

- 1) радионуклид, анализ называют радиоиммунным (РИА);
- 2) ферменты, катализирующие превращение субстрата с образованием цветного или флюоресцирующего продукта. В данном случае анализы называют иммуноферментными (ИФА) или, как разновидности, иммунофлюоресцентными;
- 3) флюоресцирующие или люминесцирующие вещества и др.

В случае РИА результат измеряют на тех или иных счетчиках радиоактивности в зависимости от того, какие частицы или кванты излучает конкретная метка-радионуклид. Результаты РИА нельзя зарегистрировать без приборов. В случае ИФА при образовании цветного продукта результат реакции определяют с помощью спектрофотометра, измеряющего поглощение света с определенной длиной волны. Без прибора на глаз реакцию можно оценить качественно — «да» или «нет». При использовании в качестве метки фермента, катализирующего образование флюоресцирующего продукта, результат реакции определяют на флюориметре, измеряющем излучение в определенном диапазоне длин волн. Без прибора в данном случае не обойтись.

Принцип любого *иммуноанализа* иллюстрирует рис. П.4.

Первыми были разработаны методы РИА в самом начале 70-х годов. За разработку РИА Розалин Ялоу была удостоена Нобелевской премии. Менее чем через год после описания РИА в качестве

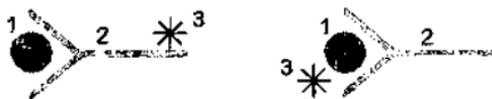


Рис. П.4. Общий принцип иммуноанализов.

1 — антиген; 2 — антитело; 3 — метка (фермент, радионуклид, краситель).

метки стали использовать ферменты, и появились ИФА. По чувствительности и специфичности РИА и ИФА одинаковы, так как эти показатели определяются антителом и антигеном, а не качеством метки. Однако ИФА применяется значительно шире, чем РИА, главным образом потому, что реагенты для ИФА существенно более стабильны во времени и, следовательно, технологию ИФА проще стандартизировать, чем РИА. В РИА используют радионуклиды, которые излучают непрерывно, и радиоактивность их также непрерывно изменяется со временем. Для мечения белков применяют радионуклиды йода, у которых период полураспада весьма короток и реагенты необходимо обновлять примерно раз в 1 мес.

Первые разработки иммуноанализов были в так называемых гомогенных вариантах, или без разделения компонентов, т.е. в растворе. Но вскоре стали использовать твердую фазу, анализы стали называть *твердофазными*, или с разделением компонентов, или иммуносорбентными (по-английски — ELISA — Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Технологически твердофазные анализы несравнимо удобнее гомогенных, и в настоящее время применяют только твердофазные варианты методик ИФА. На твердую фазу сорбируют либо антиген, либо антитело. В качестве такой фазы используют следующие материалы:

1) пластмассу (полистиролы, поливинилхлориды) в виде стандартно штампованных микропанелей с 96 или 60 лунками (или шарики, колпачки и т.п. для постановки единичных проб в пробирках);

2) пористые материалы типа нитроцеллюлозы в виде наполнителей в объеме или в виде плоских листов или полосок (стрипов). Стрипы используют в методиках типа иммуноблоттинга и иммунохроматографии. В пористых материалах часть реагентов фиксировано сорбирована, а другая часть диффундирует по порам.

Принцип сорбентных иммуноанализов заключается в том, что на материале твердой фазы просто в соответствии с физико-химическими свойствами сорбируется либо антиген, либо антитело (рис. П.5). Если заданный антиген в силу своей химической природы плохо сорбируется на выбранной твердой фазе, то подбирают посредника — подложку, которая с одной стороны хорошо свяжет твердую фазу, с другой — антиген. Практически потребность в подложке возникает крайне редко. Все остальные реагенты тест-системы используют в виде растворов. Их добавляют поочередно, и несвязавшиеся реагенты легко удаляют отмывкой твердой фазы (в этом главное технологическое преимущество твердофазных иммуноанализов). Результат реакции «остается» на твердой фазе, на которой его регистрируют количественно.

Существует много вариантов конструкций тест-систем для иммуноанализов. Мы разберем всего несколько базисных, на которых проиллюстрируем значения терминов.



Рис. П.5. Твердофазный иммуноанализ.

1 — на твердой фазе сорбирован антиген; 2 — на твердой фазе сорбированы антитела.

II.1. Прямые иммуноанализы

Прямыми называют анализы, в которых метку присоединяют либо к заданному антигену, либо к специфичному против заданного антигена антителу непосредственно. Прямой вариант используют в гомогенных системах и некоторых гетерогенных: в конкурентном, ингибиторном, сэндвич-ИФА и иммуноферментометрическом анализе.

Конкурентный ИФА (рис. П.6). Если целевой антиген — какое-либо вещество, подлежащее определению в биологических жидкостях, то на твердой фазе сорбируют антитела к этому антигену. Антиген-препарат метят ферментом. При проведении анализа к твердой фазе добавляют испытуемую биологическую жидкость и меченый антиген. Последний конкурирует с антигеном в испытуемой пробе за иммобилизованные на твердой фазе антитела. В результате реакции ферментативная активность на твердой фазе оказывается обратно пропорциональной концентрации определяемого в пробе антигена.

Ингибиторный ИФА (рис. П.7). В ингибиторном ИФА на твердой фазе иммобилизуют антиген. Растворимые антитела как реагент конъюгированы с ферментом. Определяемый антиген в испытуемой пробе конкурирует с иммобилизованным на твердой фазе антигеном за растворимые антитела. В итоге ферментативная активность, измеряемая на твердой фазе, обратно пропорциональна концентрации определяемого вещества в пробе.

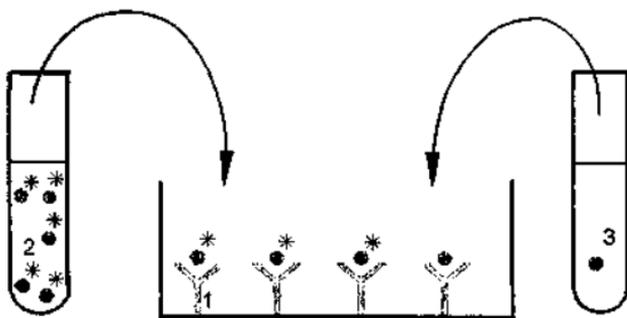


Рис. П.6. Конкурентный иммуноанализ.

1 — антитела иммобилизованы на твердой фазе; 2 — чистый меченый антиген; 3 — биопроба, испытываемая на содержание антигена. Меченый антиген конкурирует с антигеном в испытуемой пробе за иммобилизованные на твердой фазе антитела. Результат реакции на твердой фазе обратно пропорционален концентрации определяемого антигена в пробе.

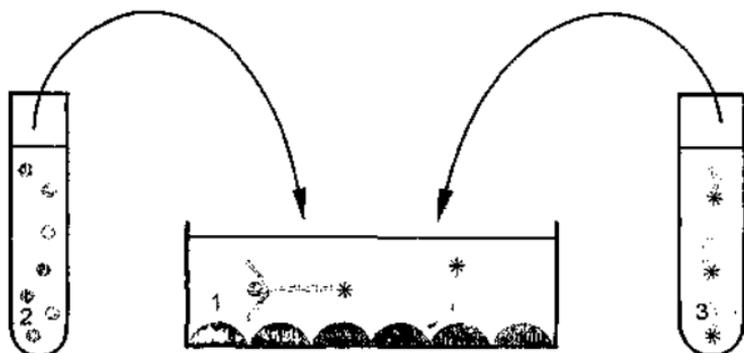


Рис. П.7. Ингибиторный иммуноанализ.

1 — антиген, иммобилизованный на твердой фазе; 2 — биопроба с антигеном; 3 — меченые антитела. Антиген из биопробы конкурирует с антигеном на твердой фазе за растворимые меченые антитела. В итоге результат реакции на твердой фазе обратно пропорционален концентрации определяемого вещества в пробе.

Сэндвич-ИФА (рис. П.8). Сэндвич-ИФА разработан для антигенов, на которых есть не менее двух неперекрывающихся эпитопов. Против обоих эпитопов получают в качестве реагентов специфичные антитела. Антитела к одному из эпитопов сорбируют на твердой фазе. Испытуемую пробу добавляют к твердой фазе, инкубируют, отмывают. После отмывки вносят конъюгат антител ко второму эпитопу с ферментом. *Ферментативная активность, остающаяся на твердой фазе, прямо пропорциональна содержанию антигена в пробе.*

Сэндвич-ИФА не требует препаратов очищенных антигенов, что выгодно отличает его от конкурентных и ингибиторных методик, поскольку чистые антигены всегда дороги. Чувствительность сэндвич-ИФА потенциально выше, чем конкурентных и ингибиторных. Аналогичная технология применима и с использованием одного антитела (и на твердой фазе, и в составе конъюгата с ферментом) в случаях наличия на целевом антигене повторяющихся эпитопов. В современных модификациях ту же технологию называют *ловушечным ИФА* (capture IA) — антитела на твердой фазе *ловят* свой антиген из смеси веществ в биопробе.

Иммунометрические анализы (рис. П.9). При иммунометрических анализах к испытуемой пробе, предположительно содержащей определяемый антиген, в пробирку добавляют заведомый избыток

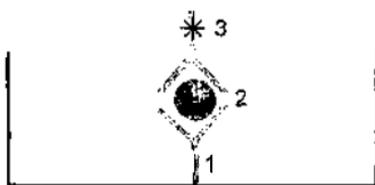


Рис. П.8. «Сэндвич»-иммуноанализ.

1 — антитела к эпитопу № 1 сорбированы на твердой фазе; 2 — антиген в биопробе; 3 — антитела к эпитопу № 2 растворимы и несут метку, их добавляют в систему вслед за биопробой, содержащей антиген. Результат реакции на твердой фазе прямо пропорционален содержанию антигена в пробе.

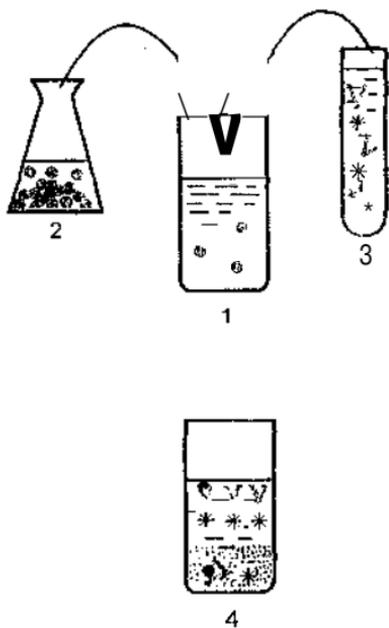


Рис. П.9. Иммунометрический анализ. 1 — пробирка с биопробой; 2 — в пробирку с биопробой вносят заведомый избыток антигена, сорбированного на мелкодисперсном твердофазном носителе; 3 — затем в ту же пробирку вносят заведомый избыток меченых антител; 4 — материал инкубируют, центрифугируют и в супернатанте определяют количество метки. Результат реакции в супернатанте прямо пропорционален содержанию антигена в испытуемой пробе. Иммунометрические анализы наиболее чувствительны по сравнению со всеми другими вариантами иммуноанализов.

инкубации отделяют растворимую фракцию (супернатант) и в ней измеряют ферментативную активность (если метка — фермент). *Ферментативная активность супернатанта прямо пропорциональна содержанию антигена в испытуемой биопробе.* Благодаря использованию избытка реагентов этот метод более чувствителен, чем конкурентный ИФА, и его аналитические возможности приближаются к предельным.

меченых антител. Затем к этой смеси добавляют также заведомый избыток иммобилизованного на мелкодисперсной твердой фазе антигена. После

П.2. Непрямые иммуноанализы

Непрямые методики применяют шире, чем прямые. *Непрямыми иммуноанализами* называют анализы, в которых метку присоединяют не к целевому антигену и не к антителу против целевого антигена, а к так называемым *вторым* антителам — **антивидовым антииммуноглобулиновым антителам**, т.е. антителам к иммуноглобулинам того вида животных или человека, с биологическим материалом которого работают. Таким образом, один и тот же препарат конъюгата антиглобулиновых антител с ферментом используют в качестве проявляющего стандартного реагента в разных тест-системах для определения различных конкретных антигенов или антител. Принцип метода иллюстрирует рис. П. 10.

Вместо антивидовых антиглобулиновых антител для конъюгации с ферментом может быть использован, например, протеин А стафилококка, который по своей природе с высокой аффинностью связывается с иммуноглобулинами класса G некоторых видов млекопитающих, включая человека. Все схемы постановки ИФА, описанные для прямого варианта анализа (конкурентный, ингибиторный, сэндвич, иммунометрический), выполняют и в непрямом варианте. Непрямые варианты ИФА не требуют очистки искомым антигенов или антител. Чистым должен быть только препарат антивидовых антииммуноглобулиновых антител.

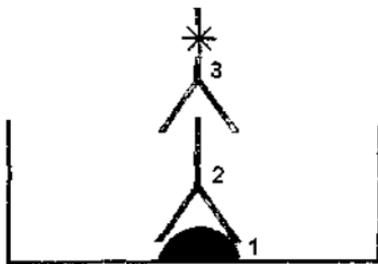


Рис. П. 10. «Непрямые» иммуноанализы.

1 — антиген; 2 — антитело к заданному антигену; 3 — антииммуноглобулиновые антитела, несущие метку (конъюгат). Главное преимущество непрямых иммуноанализов состоит в том, что один и тот же препарат меченых антииммуноглобулиновых антител (конъюгат, хорошо проверенный, охарактеризованный и стандартизованный) используют в анализах с самыми разными парами конкретных антигенов и антител.

В качестве ферментов-меток в ИФА используют следующие ферменты и субстраты для них:

1) пероксидазу из корней хрена [субстраты: орто-фенилендиамин (продукт желто-коричневый, растворимый, поглощает при 420 нм); 3,3'-диаминобензидин (продукт коричневый, нерастворимый); 3-амино-9-этилкарбазол (продукт красный, нерастворимый); 5-аминосалициловая кислота (продукт коричневый, растворимый, поглощает при 405 нм); 2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолин)-6-сульфоная кислота (продукт зеленый, растворимый, поглощает при 405 нм); 4-хлоро-1-нафтол (продукт голубой, нерастворим); 3,3'-диметокси-бензидин (продукт желто-оранжевый, растворимый, поглощает при 405 нм); 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (продукт голубой, растворимый, поглощает при 450 нм); АВТС — 2,2'-азино-ди(3-этилбензтиазолин)-6-сульфоная кислота]. Нерастворимые продукты ферментативных реакций используют в методах иммуногистохимии и иммуноблоттинга, растворимые — в иммуноферментных анализах, в которых результат регистрируют количественно спектрофотометрически;

2) β -галактозидазу (субстраты — дериваты β -галактозида, например, 4-метилумбеллиферил- β -D-галактозин);

3) щелочная фосфатаза [субстраты: 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфат в комбинации с голубым тетразолиевым (продукт голубой, нерастворимый); p-нитрофенил фосфат (продукт желтый, растворимый, поглощает при 405 нм)];

4) уреазу [субстрат — мочевины в комбинации с бромкрезолом пурпурным (продукт образуется очень быстро, пурпурного цвета, растворимый, поглощает при 590 нм)].

Встречаются оригинальные разработки с использованием других ферментов-меток.

Чувствительность иммуноанализов. Термин «чувствительность» применительно к иммуноанализам имеет два разных смысла. Во-первых, как минимально определяемая данным анализом концентрация искомого вещества в пробе. Как правило, для большинства ИФА тест-систем чувствительность в этом понимании составляет нанограммы в миллилитре. Второе понимание термина «чувствительность» попу-

ляционное и относится к диагностическим тест-системам, предназначенным для выявления тех или иных маркеров заболеваний, чаще всего инфекционных. При разработке любой тест-системы пользуются биологическим материалом, например пробами крови, от людей, заведомо больных данным заболеванием (эти пробы называют истинно позитивными), и от людей, заведомо не больных данным заболеванием (эти пробы называют истинно отрицательными).

Параметры рассчитывают по приведенным ниже формулам, где N — число тех или иных результатов конкретных анализов на биологическом материале от пациентов с достоверно известными диагнозами.

$$\text{Диагностическая чувствительность тест-системы} = \frac{N \text{ истинно позитивные}}{N \text{ истинно позитивные} + N \text{ ложнонегативные}} \times 100 (\%)$$

Специфичность иммуноанализов. Специфичность диагностической тест-системы характеризует ее распознавательные возможности в отношении именно данного заболевания, которое она «не путает» с другими.

$$\text{Специфичность} = \frac{N \text{ истинно негативные}}{N \text{ истинно негативные} + N \text{ ложнопозитивные}} \times 100 (\%)$$

Диагностическая эффективность тест-системы. Она характеризует возможности данной тест-системы одновременно правильно определять позитивные пробы как позитивные, а негативные пробы как негативные.

$$\text{Эффективность тест-системы} = \frac{N \text{ истинно негативные} + N \text{ истинно позитивные}}{N \text{ истинно позитивные} + N \text{ ложнопозитивные} + N \text{ истинно негативные} + N \text{ ложнонегативные}} \times 100 (\%)$$

Положительная и отрицательная предсказательная значимость тест-системы. Есть еще и такие характеристики диагностических тест-систем, как положительная предсказательная значимость (ППЗ) и отрицательная предсказательная значимость (ОПЗ). Эти характеристики в отличие от приведенных выше чувствительности и специфичности подразумевают знание реальной распространенности данного инфекционного заболевания в обследуемых популяциях населения.

ППЗ рассчитывают как частоту инфицированных людей среди всех индивидуумов, определенных данной тест-системой как позитивные.

$$ППЗ = \frac{N \text{ истинно позитивные}}{N \text{ истинно позитивные} + N \text{ ложнопозитивные}} \times 100 (\%)$$

Отрицательную предсказательную значимость тест-системы рассчитывают как частоту неинфицированных людей среди всех индивидуумов, определенных данной тест-системой как отрицательные.

$$ОПЗ = \frac{N \text{ истинно негативные}}{N \text{ истинно негативные} + N \text{ ложнонегативные}} \times 100 (\%)$$

Таблица CD-маркеров

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (X 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|----------------------|---|--|---|
| CD1 a, b, c, d | Дендритные клетки, В-лимфоциты (CD1c), тимоциты коры, эпителий кишки, эндотелий (CD1d), гладкие | 43-49 Суперсемейство иммуноглобулинов | Ассоциированы с β_2 -микроглобулином подобно MHC-I. Предположительно представляют липидные антигены |
| CD2 | Мышцы Тимоциты, Т-лимфоциты, нормальные киллеры | 45-58 Суперсемейство иммуноглобулинов | Адгезивная молекула, лиганд для CD58 (LFA-3). Участвует в активации Т-лимфоцитов (связывает тирозинкиназу Lck). На активированных Т-лимфоцитах изоформа CD2R |
| <u>CD3</u> | <u>Т-лимфоциты</u> | γ - 25-28; β - 20; ϵ - 20 Суперсемейство иммуноглобулинов | Ассоциированы с TCR. Необходимы для экспрессии TCR на мембране и проведения сигнала внутрь Т-лимфоцитов. В цитоплазматических доменах содержат ITAM и связывают тирозинкиназы |
| CD4 | Субпопуляция Т-лимфоцитов ($2/3$), моноциты/макрофаги, некоторые нейроны, эозинофилы, возможно, другие клетки | 55 Суперсемейство иммуноглобулинов | Корцептор для связи TCR Т-лимфоцитов с MHC-II, связывает Lck в цитоплазме активируемого Т-лимфоцита |
| CD5 | Тимоциты, часть Т-лимфоцитов, В-1-лимфоциты | 67 Семейство «рецепторов для мусора» (scavenger receptor) | Рецептор для «мусора» |
| CD6 | Тимоциты, Т-лимфоциты, В-лимфоциты при хроническом лимфолейкозе | 100-130 Семейство «рецепторов для мусора» (scavenger receptor) | Рецептор для «мусора» Лиганд для CD 166 |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------|---|---|--|
| CD7 | Стволовые кроветворные клетки, тимоциты, Т-лимфоциты | 40 Суперсемейство иммуноглобулинов | ? Маркер острого Т-клеточного и стволово-клеточного лейкоза |
| CD8 | Маркер субпопуляции Т-лимфоцитов - ЦТЛ | α - 32-34; β - 32-34 Суперсемейство иммуноглобулинов | Корецептор при связывании TCR с МНС-I. Связывает Lck в цитоплазме активированного Т-лимфоцита |
| CD9 | Пре-В-лимфоциты, моноциты, эозинофилы, тромбоциты, нейроны, гладкие мышцы сосудов, активированные Т-лимфоциты | 24 Суперсемейство молекул с 4 трансмембранными сегментами | Участвует в агрегации тромбоцитов, миграции других клеток; возможно — в активации через Fc γ RII |
| CD10 | Клетки стромы костного мозга, клетки — предшественники лимфоцитов (Т и В) | 100 | Фермент Zn-металлопротеиназа. Маркер острого пре-В-клеточного лейкоза (CALLA) |
| CD11a | Лимфоциты, макрофаги, гранулоциты | 180 | Субъединица α^L интегрина LFA-1 (ассоциирована с CD 18). Лиганд для ICAM-1,2,3 (CD54, 102, 50) |
| CD11b | Миелоциты, нормальные киллеры | 170 | Субъединица α^M интегрина CR3 (ассоциирована с CD 18). Лиганды - ICAM-1, iC3b, белки внеклеточного матрикса |
| CD11c | Миелоциты | 150 | Субъединица α^X интегрина CR4 (ассоциирована с CD18). Лиганд — фибриноген |
| CD11d | Лейкоциты | 125 Интегрин α | Субъединица α^D интегрinov, ассоциирована с CD 18; связывает CD50 |
| CD12w | Моноциты, гранулоциты, тромбоциты | 90-120 | ? |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (X 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|----------------------------------|---|---|--|
| CD13 | Миеломоноциты | 150-170 | Zn-металлопротеиназа (аминопептидаза N) |
| CD14 | Миеломоноциты, макрофаги | 53-55 | Рецептор для комплекса липополисахарида связывающего протеина (LBP) с ЛПС |
| CD15 (Lewis X, Le ^x) | Нейтрофилы, эозинофилы, моноциты | ? | Терминальный разветвленный трисахарид в составе гликолипидов и многих гликопротеидов поверхности клеток |
| CD15s (сиалированная форма CD15) | Лейкоциты, клетки эндотелия | ? | Связывает молекулы адгезии CD62F, CD62P |
| CD16 | Нейтрофилы, макрофаги, нормальные киллеры | 50-80 Суперсемейство иммуноглобулинов | Компонент низкоаффинного Fc-рецептора для IgG — FcγRIII. Опосредует фагоцитоз и АЗКЦТ |
| CD17w | Нейтрофилы, моноциты, тромбоциты | ? | Гликофинголипид клеточной поверхности — лактозил церамид " |
| CD18 | Лейкоциты | 95 Интегрин β | Субъединица β ₂ интегринов. Ассоциирована с CD11a,b,c,d |
| CD19 | <u>В-лимфоциты</u> | 95 Суперсемейство иммуноглобулинов | Компонент корцепторного комплекса В-лимфоцитов [совместно с CD21 (CR2) и CD81 (TAPA-1)]. В цитоплазме ассоциирован с тирозинкиназой P1-3 |
| CD20 | <u>В-лимфоциты</u> | 33-37 Суперсемейство молекул с 4 трансмембранными сегментами | Олигомеры CD20 формируют канал для Ca ²⁺ в мембране |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------|---|--|--|
| CD21 | Зрелые В-лимфоциты, фолликулярные дендритные клетки | 145 белок системы контроля комплемента (ССР) | Рецептор CR2 для компонента комплекса C3d, а также для вируса Эпштейна—Барр. Совместно с молекулами CD19 и CD81 формирует корецепторный комплекс В-лимфоцита |
| CD22 | Зрелые В-лимфоциты | α -130 β -140 Суперсемейство иммуноглобулинов | Связывает сиалокоњуаты |
| CD23 | Зрелые В-лимфоциты, активированные макрофаги, эозинофилы, фолликулярные дендритные клетки, тромбоциты | 45 Лектин С-типа | Fc ϵ RII — низкоаффинный рецептор для IgE; регулирует синтез IgE. Связывается также с корецепторным комплексом В-лимфоцитов CD19/CD21/CD81 |
| CD24 | В-лимфоциты, гранулоциты | 35-45 | ? Возможно, гомолог термостабильного антигена (HSA) мышей |
| CD25 | Активированные Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты | α -55 белок системы контроля комплемента (ССР) | α -Цепь рецептора для IL-2 |
| CD26 | Активированные В-лимфоциты, Т-лимфоциты и макрофаги | 110 трансмембранный гликопротеин II типа | Экзопептидаза. Отщепляет с N-КОН-ца дипептиды X-Pro или X-Ala |
| CD27 | Медулярные тимоциты, Т-лимфоциты, нормальные киллеры, некоторые В-лимфоциты | 55 суперсемейство рецепторов для TNF | Связывает CD70. Костимуляция Т- и В-лимфоцитов |
| CD28 | Часть Т-лимфоцитов, активированные В-лимфоциты | 44 Суперсемейство иммуноглобулинов | Активация неиммунных Т-лимфоцитов. Рецептор для костимулирующих сигналов от лигандов CD80(B7.1) или B7.2 |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (X 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------|---|---|--|
| CD29 | Лейкоциты | 130 Интегрин β | тегринов. Ассоциирована с CD49 в VLA-1 |
| CD30 | Активированные Т-лимфоциты, В-лимфоциты, нормальные киллеры и моноциты | 120 Суперсемейство рецепторов для TNF | Связывает CD30 (CD153). Усиливает пролиферацию Т-В-лимфоцитов. Участвует в сигнале к апоптозу |
| CD31 | Моноциты, тромбоциты, гранулоциты, часть Т-лимфоцитов, клетки эндотелия | 130-140 Суперсемейство иммуноглобулинов | Молекула адгезии, обеспечивающая контакты эндотелиальных клеток между собой и лейкоцитов с эндотелием |
| CD32 | Моноциты, гранулоциты, эозинофилы, В-лимфоциты | 40 Суперсемейство иммуноглобулинов | Низкоаффинный Fc γ RII рецептор для агрегированных иммуноглобулинов и комплексов антиген-антитело |
| CD33 | Клетки-предшественники миелопоэза, моноциты | 67 Суперсемейство иммуноглобулинов | Связывает сиалоконъюгаты |
| CD34 | Клетки-предшественники гемопоэза, эндотелий капилляров | 105-120 Муцин | Лиганд для L-селектина CD62L |
| CD35 | Витроциты, В-лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, фолликулярные дендритные клетки | 250 белок системы контроля компонента (ССР) | Рецептор 1-го типа (CR1) для компонентов комплемента - C3b, C4b. Опосредует фагоцитоз |
| CD36 | Тромбоциты, моноциты, клетки эндотелия | 88 | Молекула адгезии тромбоцитов (GPIIb). Рецептор для связывания апоптозных телец |
| CD37 | Зрелые В-лимфоциты, Т-лимфоциты и миелоциты | 40-52 Суперсемейство молекул с 4 трансмембранными сегментами | ? Связывается с CD53, CD81, CD82, MHC-II |

| CD- и гиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000). субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------------------|--|---|--|
| CD38 | Незрелые В- и Т-лимфоциты, В-лимфоциты в герминативных центрах, активированные Т-лимфоциты, плазмоциты | 45 | Никотинамид динуклеотид (NAD) гликогидролаза. Усиливает пролиферацию В-лимфоцитов |
| CD39 | Активированные В-лимфоциты, активированные нормальные киллеры, макрофаги, дендритные клетки | 78 | ? Возможно, участвует в адгезии В-лимфоцитов |
| CD40 | Дендритные клетки, В-лимфоциты, макрофаги, базальный эпителий | 48 Суперсемейство рецепторов для TNF | Связывает CD40L (CD154). Важнейший рецептор для костимуляторных сигналов для В-лимфоцитов; необходим для пролиферации, дифференцировки, переключения изотипов, иммуноглобулинов в В-клетках; необходим для продукции цитокинов в дендритных клетках и макрофагах |
| <u>CD41</u> | <u>Мегакариоциты, тромбоциты</u> | Димер GPIIb _a - 125; GPIIb _b - 22 Интегрин α | Интегрин α в ассоциации с CD61 образует GPIIb, который связывает фибриноген, фибринонектин, фактор Виллебранда, тромбоспондин |
| <u>CD42</u> a,b,c,d | <u>Мегакариоциты, тромбоциты</u> | a - 23, b - 135, 23 c - 22 d - 85 Семейство молекул с повторами, обогащенными по остаткам лейцина | Связывают фактор Виллебранда и тромбин. Существенны для адгезии тромбоцитов в месте повреждения сосуда |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------|--|---|--|
| CD43 | Лейкоциты, за исключением неиммунных В-лимфоцитов | 115—135 (на нейтрофилах); 95-115 (на Т-лимфоцитах) Муцин | Имеет протяженную внешнюю структуру (45 нм). Вероятно, антиадгезивен |
| CD44 | Лейкоциты, эритроциты | 80-95 Link-протеин | Связывает гиалуроновую кислоту, обеспечивает адгезию клеток |
| CD45 | Все кроветворные клетки | 180-240 (несколько изоформ). Семейство фибронектина III типа | Трансмембранная тирозинфосфатаза. Усиливает сигнал с TCR, BCR |
| CD45R0 | Моноциты, макрофаги, иммунные Т-лимфоциты, иммунные В-лимфоциты | 180 Фибронектин II типа | Изоформы CD45, не содержащие экзонов А, В и С |
| CD45RA | Моноциты, неиммунные Т- и В-лимфоциты | 205-220 Фибронектин II типа | Изоформа CD45, содержащая экзон А |
| CD45RB | Некоторые Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты, макрофаги, гранулоциты | 190-220 Фибронектин II типа | Изоформы CD45, содержащие экзон В |
| CD46 | Гематопоэтические и другие ядродержащие клетки | 56/66 (альтернативный сплайсинг). Белок системы контроля комплемента (CCP) | Связывает компоненты комплемента C3b, C4b, способствуя их деградации с участием Factor I |
| CD47 | Все клетки тела | 47-52 | Неизвестно. Ассоциирован с группой крови резус (Rh) |
| CD48 | Лейкоциты | 40-47 Суперсемейство иммуноглобулинов | Неизвестно |
| CD49a | Активированные Т-лимфоциты, моноциты, нейроны, гладкомышечные клетки | 200 Интегрин α | VLA-1. Интегрин α^1 , ассоциирован с CD29. Связывает коллаген, ламинин-1 |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|-------------|---|--|---|
| CD49b | В-лимфоциты, моноциты, тромбоциты, мегакариоциты, нейроны, эпителий, эндотелий, остеокласты | 160 Интегрин α | VLA-2. Интегрин α^2 , ассоциирован с CD29. Связывает коллаген, ламинин |
| CD49c | В-лимфоциты, многие прилипающие клетки | 125, 30 (димер) Интегрин α | VLA-3. Интегрин α^3 , ассоциирован с CD29. Связывает коллаген, ламинин-5, фибронектин, энтактин, инвазии |
| CD49d | В-лимфоциты, тимоциты, моноциты дендритные клетки, гранулоциты | 150 Интегрин α | VLA-4. Интегрин α^4 , ассоциирован с CD29. Связывает фибронектин, MAadCAM-1, VCAM-1 |
| CD49e | Т-лимфоциты памяти, моноциты, тромбоциты | 135, 25 (димер) Интегрин α | VLA-5. Интегрин α^5 , ассоциирован с CD29. Связывает фибронек- |
| CD49f | Т-лимфоциты, моноциты, мегакариоциты, тромбоциты, трофобласт | 125, 25 (димер) Интегрин α | VLA-6. Интегрин α^6 , ассоциирован с CD29. Связывает ламинин, инвазии, мерозин |
| CD50 | Тимоциты, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты, гранулоциты | 130 Суперсемейство иммуноглобулинов | ICAM-3. Связывает интегрин CD11a/CD18 |
| <u>CD51</u> | <u>Мегакариоциты, тромбоциты</u> | 125, 24 (димер) Интегрин α | Интегрин α^v . Ассоциирован с CD61. Связывает витронектин, фактор Виллебранда, фибриноген, тромбоспондин. Является рецептором для апоптозных тел |
| CD52 | Тимоциты, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты, гранулоциты, сперматозоиды | 25 | Неизвестно. Является мишенью для антител, используемых в терапии для удаления Т-клеток из костного мозга |
| CD53 | Лейкоциты | 35-42 Суперсемейство молекул с | Неизвестно |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------|--|---|--|
| CD54 | Гематopoэтические и другие клетки | 4 трансмембранными сегментами 75-115 Суперсемейство иммуноглобулинов | ICAM-1 — молекула межклеточной адгезии, связывает интегрины CD11a/CD18 (LFA-1) и CD11b/CD18. Является рецептором для риновирусов |
| CD55 | Гематopoэтические и другие клетки | 60-70 белок системы контроля комплемента (ССР) | DAF-фактор, ускоряющий распад комплемента. Связывает C3b, разрушая C3/C5-конвертазу |
| CD56 | Нормальные киллеры | 135-220 Суперсемейство иммуноглобулинов | NKH -1. Адгезивная молекула. Изоформа молекул адгезии нейронов (NCAM) |
| CD57 | Нормальные киллеры, некоторые Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты | 9 | HNK-1. Олигосахарид. Найден на многих гликопротеинах |
| CD58 | Гематopoэтические и другие клетки | 55-70 Суперсемейство иммуноглобулинов | LFA-3. Связывает адгезивную молекулу CD2 |
| CD59 | Гематopoэтические и другие клетки | 19 | Связывает компоненты комплемента C8 и C9, чем препятствует формированию комплекса атаки на мембрану и лизису клетки |
| CD60-w | Часть Т-лимфоцитов, моноциты, тромбоциты | ? | 9-О-ацетилированная дисиалил-группа ганглиозидов, преимущественно ганглиозид D3 |
| CD61 | Тромбоциты, мегакариоциты, макрофаги | 110 Интегрин β | Субъединица β_3 интегринов. Образует комплексы с CD41 (GPIIb/IIIa) и CD51 (рецептор для витронектина) |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|--------------|--|--|--|
| <u>CD62E</u> | <u>Эндотелий</u> | 140 Лектин С-типа Суперсемейства EGF и CCR | E-се лектин. Эндотелиальная молекула адгезии (ELAM). Связывает сиалил-Lewis ^x на нейтрофилах и обеспечивает ролинг нейтрофилов по эндотелию |
| CD62L | В- и Т-лимфоциты, моноциты, нормальные киллеры | 150 Лектин С-типа Суперсемейства EGF и CCR | L-селектин. Молекула адгезии лейкоцитов (LAM). Связывает CD34 и GlyCAM и обеспечивает ролинг лейкоцитов по эндотелию |
| CD62P | Тромбоциты, мегакариоциты, эндотелий | 140 Лектин С-типа Суперсемейства EGF и CCR | P-селектин. Молекула адгезии. Связывает PSGL-1 (CD162). Обеспечивает взаимодействие тромбоцитов с эндотелием и моноцитами |
| CD63 | Активированные тромбоциты, моноциты, макрофаги | 53 Суперсемейство молекул с 4 трансмембранными сегментами | Является компонентом мембран лизосом, транслоцируемым на клеточную мембрану при активации клетки |
| <u>CD64</u> | <u>Моноциты, макрофаги</u> | 72 Суперсемейство иммуноглобулинов | Высокоаффинный рецептор для IgG (FcγRI). Сила связи убывает в порядке: IgG3>IgG1>IgG4>>> IgG2. Опосредует фагоцитоз, сорбцию антигенов |
| CD65 | Миелоциты | ? | Олигосахаридный компонент церамида додекасахарида |
| <u>CD66a</u> | <u>Нейтрофилы</u> | 160-180 Суперсемейство иммуноглобулинов | ? Гомологичен раково-эмбриональным антигенам |
| CD66b | Гранулоциты | 95-100 Суперсемейство иммуноглобулинов | ? Гомологичен раково-эмбриональным антигенам |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------|---|---|--|
| CD66c | Нейтрофилы, клетки рака толстой кишки | 90 Суперсемейство иммуноглобулинов | ? Гомологичен раково-эмбриональным антигенам |
| CD66d | Нейтрофилы | 30 Суперсемейство иммуноглобулинов | ? Гомологичен раково-эмбриональным антигенам |
| CD66e | Эпителий толстой кишки, клетки колонокарциномы | 180-200 Суперсемейство иммуноглобулинов | Раково-эмбриональный антиген |
| CD66f | ? | 9 Суперсемейство иммуноглобулинов | ? Гомологичен раково-эмбриональным антигенам. Гликопротеин, специфичный для беременности |
| CD68 | Моноциты, макрофаги, нейтрофилы, базофилы, большие лимфоциты | 110 Муцин | ? Макросиалин |
| CD69 | Активированные Т- и В-лимфоциты, нормальные киллеры и макрофаги | 28, 32 (гомодимер) Лектин С-типа | Ранний маркер активации |
| CD70 | Активированные Т- и В-лимфоциты и макрофаги | 75, 95, 170 Семейство TNF | Лиганд для CD27. Костимулятор Т- и В-лимфоцитов |
| CD71 | Все пролиферирующие клетки | 95 (гомодимер) | Рецептор для трансферрина |
| CD72 | В-лимфоциты (не плазмоциты) | 42 (гомодимер) Лектин С-типа | ? |
| CD73 | Часть Т- и часть В-лимфоцитов | 69 | Экто-5'-нуклеотидаза. Дефосфорилирует нуклеотиды, обеспечивает включение нуклеозидов |
| CD74 | МНС-П-экспрессирующие клетки (дендритные, В-лимфоциты, моноциты, макрофаги) | 33, 35, 41, 43 (альтернативная инициация транскрипции или сайдинг) | Инвариантная цепь (Ii), ассоциированная с МНС-И |
| CD75 | Зрелые В-клетки, часть Т-клеток | ? | Сиалогликан. Лиганд для CD22. Обеспечивает адгезию В-лим- |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (X 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|--|---|--|---|
| CD76 | Зрелые В-клетки, часть Т-клеток | ? | фоцитов с В-лимфоцитами α - 2,6-Сиалированный полилактозамин. Входит в состав поверхностных глико-сфинголипидов и гликопротеинов |
| CD77 | В-клетки в зародышевых центрах фолликулов | ? | Нейтральный глико-сфинголипид ($\text{Gal } \alpha 1 \rightarrow 4 \text{Gal } \beta 1 \rightarrow 4 \text{Glc } \beta 1 \rightarrow$ церамид). Гомотипная агрегация вызывает апоптоз клетки. Связывает токсин шигеллы. Антиген группы крови P^k |
| <u>CD78-W</u> <u>CD79α, β</u> | <u>В-лимфоциты</u> <u>В-лимфоциты</u> | ? α - 40-45 β - 37 Суперсемейство иммуноглобулинов | 9 $Ig\alpha, Ig\beta$ — инвариантные компоненты рецепторов В-лимфоцитов для антигена. Обеспечивают экспрессию рецептора на мембране и проведение сигнала после связывания антигена иммуноглобулином |
| CD80 | Часть В-лимфоцитов | 60 Суперсемейство иммуноглобулинов | В7.1. Лиганд для CD28 и CTLA-4 на Т-лимфоцитах. Участвует в Т-В-взаимодействии и взаимосвязях Т-лимфоцитов с антигенпредставляющими клетками |
| CD81 | Лимфоциты | 26 Суперсемейство молекул с 4 трансмембранными сегментами | ТАРА-1 (мишень для антипролиферативных антител). В комплексе с CD19 и CD21 формируют корецептор В-лимфоцитов |
| CD82 | Лейкоциты | 50-53 Суперсемейст- | 9 |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (X 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|-------------|--|---|---|
| CD83 | Дендритные клетки, клетки Лангерганса, В-лимфоциты | во молекул с 4 трансмембранными сегментами 43 Суперсемейство иммуноглобулинов | ? |
| CD84-W | Моноциты, тромбоциты, циркулирующие В-лимфоциты | 73 | ? |
| CD85 | Моноциты, циркулирующие В-лимфоциты | 120, 83 | ? |
| CD86 | Дендритные клетки, моноциты, активированные В-лимфоциты | 80 Суперсемейство иммуноглобулинов | V7.2. Лиганд для CD28 и CTLA-4 на Т-лимфоцитах. Обеспечивает взаимосвязь Т-лимфоцитов с антигенпредставляющими клетками |
| CD87 | Гранулоциты, моноциты, макрофаги Т-лимфоциты, нормальные киллеры, многие некроветворные клетки | 35-59 | Рецептор для активатора плазминогена — урокиназы |
| CD88 | Гранулоциты, макрофаги, тучные клетки | 43 Суперсемейство рецепторов G-связывающих белков | Рецептор для компонента комплемента C5a (анафилотоксина) |
| CD89 | Моноциты, макрофаги, нейтрофилы, гранулоциты, часть Т- и В-лимфоцитов, энтероциты | 50-70 Суперсемейство иммуноглобулинов | Fc α R — Fc-рецептор для IgA |
| <u>CD90</u> | <u>CD34⁺ протимоциты (V человека), тимоциты, Т-лимфоциты (v мыши)</u> | 18 Суперсемейство иммуноглобулинов | ? (Thy-1 у мышей) |
| CD91 | Моноциты, многие некроветворные клетки | 515, 85 (димер) Суперсемейство рецепторов для LDL, EGF | Рецептор для α_2 -макроглобулина |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------|---|--|---|
| CD92w | Нейтрофилы, моноциты, тромбоциты, эндотелий | 70 | ? |
| CD93 | Нейтрофилы, моноциты, эндотелий | 120 | ? |
| CD94 | Часть Т-лимфоцитов, нормальные киллеры | 43 | ? |
| CD95 | In vivo точно неизвестно. На многих перевивных линиях клеток | Лектин С-типа 43 | Fas или Apo-1. Рецептор для FasL — Fas-лиганда. Индуцирует апоптоз клетки |
| CD96 | Активированные Т-клетки, нормальные киллеры | Суперсемейство рецепторов для фактора некроза опухоли (TNF) 160 | ? |
| CD97 | Активированные Т- и В-лимфоциты, моноциты, гранулоциты | 75-85 | Связывает CD55 |
| CD98 | Т- и В-лимфоциты, нормальные киллеры, гранулоциты, все перевивные линии клеток человека | Суперсемейство рецепторов G-связывающих белков. EGF 80, 45 | Предположительно транспортер для аминокислот |
| CD99 | Тимоциты, периферические лимфоциты | 32 | ? |
| CD100 | Гематopoэтические клетки | 150 | ? |
| CD101 | Дендритные клетки, моноциты, гранулоциты, активированные Т-лимфоциты | (гомодимер) Semaphrin 120 | ? |
| CD102 | Эндотелий (максимум), неактивные лимфоциты, моноциты | (гомодимер) Суперсемейство иммуноглобулинов 55-65 | ICAM-2. Связывает интегрин CD11a/CD18 (LFA-1), но не связывает CD11b/CD18 |
| CD103 | Интраэпителиальные лимфоциты, | 150, 25 Интегрин α | Интегрин α_E |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|--------------------------|--|---|---|
| CD104 | 2—6 % лимфоцитов периферической крови CD4 ⁺ , CD8 ⁺ -тимоциты, нейроны, эпителий, эндотелий, шванновские клетки (леммоциты), трофобласт | 220 Интегрин β | ? Интегрин $\beta 4$. Ассоциирован с CD49f. Связывает ламинины |
| CD105 | Эндотелий, активированные моноциты и макрофаги, часть клеток костного мозга | 90 (гомодимер) | Связывает TGF- β |
| <u>CD106</u> | <u>Эндотелий</u> | 100, 110 Суперсемейство иммуноглобулинов | Молекула адгезии (VCAM-1). Лиганд для VLA-4 |
| CD107a | Активированные Т-лимфоциты, тромбоциты, нейтрофилы, эндотелий | 110 | ? Компонент мембраны лизосом (LAMP-1), транслоцируемый на клеточную мембрану при активации клетки |
| CD107b | Активированные Т-лимфоциты, тромбоциты, нейтрофилы, эндотелий | 120 | ? Компонент мембраны лизосом (LAMP-2), транслоцируемый на клеточную мембрану при активации клетки |
| CD108-W | Эритроциты, циркулирующие лимфоциты, лимфобласты | 80 | ? (антиген GR2 группы крови John Milton-Hagen) |
| CD109 | Активированные Т-лимфоциты и тромбоциты, эндотелий | 170 | ? GR56 — фактор активации тромбоцитов |
| CD110— CD113 CD114 | Недостаточно исследованы Гранулоциты, моноциты | 150 Суперсемейство иммуноглобулинов. Фибронектин III типа | Рецептор для гранулоцит-колониестимулирующего фактора (G-CSE-R) |
| <u>CD115</u> | <u>Моноциты, макрофаги</u> | 150 Суперсемейст- | Рецептор для моноцит-колониестиму- |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------|---|---|---|
| CD116 | Моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, эндотелий | во иммуноглобулинов. Тирозинкиназа 70-85 Суперсемейство рецепторов для цитокинов Фибронектин III типа | лирующего фактора (M-CSF-R). Является тирозинкиназой (c-fms) α -Цепь рецептора к гранулоцит-макрофаг-колониестимулирующему фактору (GM-CSF-R α) |
| CD117 | Гематопоэтические клетки-предшественники | 145 Суперсемейство иммуноглобулинов. Тирозинкиназа | Рецептор для фактора стволовых клеток (CSF-R или c-kit). Тирозинкиназа |
| CD118 | Многие клетки организма | ? | Рецептор для α - и β -интерферонов |
| CD119 | Макрофаги, моноциты, В-лимфоциты, нормальные киллеры, эндотелий | 90-100 Фибронектин III типа | Рецептор для у-интерферона |
| CD120a | Эпителий (максимум), гематопоэтические и другие клетки | 50-60 Суперсемейство рецепторов для TNF | Рецептор для TNF- α и TNF- β (LT) (TNFR-I) |
| CD120b | Миелоциты (максимум), другие кроветворные и некроветворные клетки | 75-85 Суперсемейство рецепторов для TNF | Рецептор для TNF- α и TNF- β (TNFR-II) |
| CD121a | <u>Тимоциты,</u> <u>T-лимфоциты</u> | 80 Суперсемейство иммуноглобулинов | I тип рецептора для интерлейкина-1. Связывает IL-1 α и IL-1 β |
| CD121bw | В-лимфоциты, макрофаги, моноциты | 60-70 Суперсемейство иммуноглобулинов | II тип рецептора для интерлейкина-1. Связывает IL-1 α и IL-1 β |
| CD122 | Нормальные киллеры, часть неактивных T-лимфоцитов, некоторые линии В-лимфоцитов | 75 Суперсемейство рецепторов для цитокинов Фибронектин III типа | β -цепь рецептора для интерлейкина-2 (IL-2R β) |
| CD123 | Стволовая кроветворная клетка, | | |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Молярная масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|------------|---|---|--|
| | гранулоциты, моноциты, мегакариоциты | 70 Суперсемейство рецепторов для цитокинов. Фибронектин III типа | α -цепь рецептора для интерлейкина-3 (IL-3R α) |
| CD 124 | Кроветворные клетки-предшественники, зрелые Т- и В-лимфоциты | 130-150 Суперсемейство рецепторов для цитокинов. Фибронектин III типа | Рецептор для интерлейкина-4 (IL-4R) |
| CD125 | Эозинофилы, базофилы, активированные В-лимфоциты | 55-60 Суперсемейство рецепторов для цитокинов. Фибронектин III типа | Рецептор для интерлейкина-5 (IL-5R) |
| CD 126 | Плазматические клетки (максимум), активированные В-лимфоциты, лейкоциты (слабо) | 80 Суперсемейство рецепторов для цитокинов. Фибронектин III типа | Субъединица α рецептора для интерлейкина-6 (IL-6R α) |
| CD127 | Клетка-предшественник лимфоцитов в костном мозге, про-В-лимфоциты, зрелые Т-лимфоциты, моноциты | 68-79 (гомодимер) Суперсемейство фибронектина III типа | Рецептор для интерлейкина-7 (IL-7R) |
| CD128w | Нейтрофилы, базофилы, часть Т-лимфоцитов | 58-67 Суперсемейство рецепторов для G-связывающих протеинов | Рецептор для интерлейкина-8 (IL-8R) |
| CD129 | Недостаточно изучен | | |
| CD130 | Многие клетки, особенно активированные В-лимфоциты и плазмодиты | 130 Суперсемейство иммуноглобулинов. Суперсемейство рецепторов для цитокинов. Фибронектин III типа | Общая β -субъединица рецепторов для IL-6, IL-11, OSM (онкостатину-М), LIF (лейкемию ингибирующему фактору) |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|--------------|--|--|--|
| CD131W | Миелоидные клетки-предшественники, гранулоциты | 140 Суперсемейство рецепторов для цитокинов. Фибронектин III типа | Общая β -субъединица рецепторов для IL-3, IL-5, GM-CSF |
| CD132 | В- и Т-лимфоциты, нормальные киллеры, тучные клетки, нейтрофилы | 64 Суперсемейство рецепторов для цитокинов | Общая γ -субъединица рецепторов для IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 |
| CD133 | Не исследован | 50 | OX40. Костимулятор в отношении молекул адгезии |
| CD134 | Активированные Т-лимфоциты | | |
| CD135 | Ранние кроветворные клетки-предшественники, клетки-предшественники миелоцитов и В-лимфоцитов | 130, 155 Суперсемейство иммуноглобулинов. Тирозинкиназа | Рецептор для факторов роста. Тирозинкиназа |
| CD136w | Моноциты, эпителий, центральные и периферические нейроны | 180 Тирозинкиназа | Тирозинкиназа. Участвует в процессах хемотаксиса, фагоцитоза, роста клеток и дифференцировки |
| CD137w | Т- и В-лимфоциты, моноциты, некоторые эпителиальные клетки | ? Суперсемейство рецепторов для TNF | Костимулятор в отношении пролиферации Т-лимфоцитов |
| <u>CD138</u> | <u>В-лимфоциты</u> | ? Протеогликан | Протеогликан гепарин-сульфат (Syndecan-1). Связывает коллаген I типа |
| <u>CD139</u> | <u>В-лимфоциты</u> | 209, 228 | ? |
| CD140 a,b | Клетки стромы, некоторые эндотелиальные клетки | a - 180; b - 180 | а- и β -цепи рецептора к фактору роста из тромбоцитов (PDGF-R) |
| <u>CD141</u> | <u>Эндотелий сосудов</u> | 105 Лектин С-типа. EGF | Тромбомодулин. Антикоагулянт, связывает тромбин в комплекс, который затем активирует протеин С |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|--------------|--|--|--|
| CD142 | Кератиноциты, эпителий, астроциты, шванновские клетки (леммоциты). Экспрессируется только при индукции медиаторами воспаления | 45—47 Суперсемейство фибронектина III типа | Главный тканевой фактор коагуляции или тромбопластин. Связывает фактор VIIa. Этот комплекс активирует факторы VII, IX, X |
| CD143 | Эндотелий некрупных сосудов (кроме сосудов почки), эпителий щелочной каймы в почках и тонкой кишке, нейроны, активированные макрофаги, часть Т-лимфоцитов. Есть растворимая форма в плазме крови | 170—180 | Ангиотензин-конвертирующий фермент. Zn^{2+} -металлопептидаза (дипептидил пептидаза). Выщепляет ангиотензин I и брадикинин из молекул-предшественников |
| <u>CD144</u> | <u>Эндотелиальные клетки</u> | 130 Cadherin | Кадгерин-5 (VE-cadherin). Обеспечивает сцепление клеток эндотелия между собой |
| CD145 | Эндотелий сосудов и некоторые клетки стромы | 25, 90, 110 | 9 |
| <u>CD146</u> | <u>Эндотелиальные клетки</u> | 130 Суперсемейство иммуноглобулинов | Молекула адгезии клеток в долгосрочных контактах |
| CD147 | Эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, эндотелий сосудов | 55-65 Суперсемейство иммуноглобулинов | Молекула адгезии |
| CD148 | Гранулоциты, моноциты, дендритные клетки, Т-лимфоциты, фибробласты, нейроны | 240-260 Суперсемейство фибронектина III типа | Контактная ингибция роста клеток. Протеинтирозинфосфатаза |
| CD149 | Не исследован | 75-95 | ? |
| CD150 | Тимоциты, активированные лимфоциты | Суперсемейство иммуноглобулинов | |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|---------------|---|--|---|
| CD151 | Тромбоциты, мегакариоциты, эпителий, эндотелий | 32 Суперсемейство молекул с 4 трансмембранными сегментами | Ассоциирован с β_1 интегринами |
| <u>CD152</u> | <u>Активированные Т-лимфоциты</u> | 33 Суперсемейство иммуноглобулинов | CTLA-4. Негативный регулятор активности Т-лимфоцитов. Лиганд для В7.1 (CD80) и В7.2 (CD86) |
| CD153 | Активированные Т- и В-лимфоциты, макрофаги и нейтрофилы | 38-40 Суперсемейство TNF | CD30L. Лиганд для CD30. Участвует в костимуляции Т-лимфоцитов и в индукции апоптоза |
| <u>CD154</u> | <u>Активированные CD4⁺ Т-лимфоциты</u> | 30 (тример) Семейство рецепторов для TNF | CD40L. Лиганд для CD40. Необходим для активации В-лимфоцитов, их пролиферации, дифференцировки и переключения синтеза классов иммуноглобулинов при Т-В-взаимодействии |
| CD155 | Моноциты, макрофаги, тимоциты, центральные нейроны | 80-90 Суперсемейство иммуноглобулинов | В норме функции не известны. Является рецептором для вирусов полиомиелита |
| CD156 | Нейтрофилы, моноциты | 69 | Металлопротеаза. Возможно, участвует в экстравазации лейкоцитов (дезинтегрин) |
| CD157 | Гранулоциты, моноциты, клетки стромы костного мозга, эндотелий, фолликулярные дендритные клетки | 42-45, 50 (на моноцитах) | АДФ-рибозилциклаза, гидролаза для циклической АДФ-рибозы |
| <u>CD158a</u> | <u>Субпопуляция нормальных киллеров</u> | 50, 58 Суперсемейство иммуноглобулинов | p50.1 и p58.1. Связывают на клетках-мишенях молекулы МНС-I и ингибируют цитотоксическую активность NK |

| CD-антиген | На каких клетках экспрессирован | Мол. масса (x 1000), субъединичный состав, семейство | Что известно о функциях |
|---------------------|---|--|--|
| <u>CD158b</u> | <u>Субпопуляция нормальных киллеров</u> | 50, 58 | p50.2 и p58.2. Связывают на клетках-мишенях молекулы HLA-Cw3 и родственные ИМ, ингибируют цитотоксичность NK |
| CD159 | Не исследован | | |
| CD160 | Не исследован | | |
| CD161 | Нормальные киллеры, Т-лимфоциты | 44 Лектин С-типа | NKRP-1. Регулирует цитотоксичность лимфоцитов-киллеров |
| CD162 | Нейтрофилы, лимфоциты, моноциты | 120 (гомодимер) Муцин | PSGL-1. Лиганд для CD62P |
| <u>CD163</u> | <u>Моноциты, макрофаги</u> | 130 | ? |
| CD164 | Эпителиальные клетки, моноциты, клетки стромы костного мозга | 80 Муцин | ? Мультигликозилированный протеин |
| CD165 | Тимоциты, эпителиальные клетки тимуса, центральные нейроны, клетки островков поджелудочной железы, капсула Боумена (Bowman) | 37 | Адгезия тимоцитов к клеткам эпителия тимуса |
| CD166 | Эпителий тимуса, фибробласты, нейроны, активированные Т-лимфоциты | 100-105 Суперсемейство иммуноглобулинов | Лиганд для CD6. Участвует в росте аксонов нейронов |
| Цепь ζ TCR | Т-лимфоциты, нормальные киллеры | 12 (гомодимер) | Внутриклеточный компонент рецептора Т-клеток и NK. В каждой цепи содержится по 3 ITAM |

Примечание. Подчеркнуты маркеры, которые в настоящее время выявлены на клетках единственного типа дифференцировки. EGF — epidermal growth factor; CCP — complement control protein.

Авидность связи антигена с антителом — это сила связи цельной молекулы антигена, т.е. всех доступных **для** антитела эпитопов, со всеми доступными **антигенсвязывающими** центрами цельной молекулы антитела. Авидность связи количественно оценивают чаще всего по такому измеряемому параметру, как константа диссоциации (k_d , размерность 1/моль) цельной молекулы антигена с цельной молекулой антитела.

Адгезия клеток — взаимосвязи между клетками, как правило, несильные и обратимые, осуществляемые взаимно клеточными молекулами мембранных мембран.

Аллергия — (от греч. *allos* — иной, не такой, как большинство) — патологическая реакция организма в ответ на попадание во внутреннюю среду каких-либо веществ из внешней среды. Суть аллергических реакций, позволяющая отличить их от любых других физиологических или патофизиологических процессов в организме, состоит в том, что аллергическая реакция — это **интенсивная** воспалительная реакция того или иного типа в ответ на **безопасные** для организма вещества и в **безопасных дозах**. То есть при аллергии организм испытывает боль и нарушение функций, главным образом в результате альтерации собственных тканей при воспалительном процессе, а не в результате прямого повреждающего действия аллергена.

Аллогенный — генетически отличный организм в пределах одного биологического вида.

Антигены — любые вещества, которые **могут быть распознаны** рецепторами лимфоцитов (TCR) на Т-лимфоцитах или иммуноглобулинами (в составе BCR на В-лимфоцитах или в растворе). **Вне организма** антигенами называют вещества (в составе микроорганизмов или свободные вещества), которые при введении в организм животного потенциально способны вызвать на себя иммунный ответ, т.е. распознавание, наработку иммунных Т-лимфоцитов и антител, деструкцию и выведение их из организма. В таком **внешнем** аспекте для млекопитающих иммуногенны корпускулярные формы (микроорганизмы), макромолекулярные вещества (белки, полисахариды, гликопротеины, липополисахариды, липопротеины) и **гаптены** (низкомолекулярные вещества, **конъюгированные** с высокомолекулярным носителем). **Внутри организма** для В-лимфоцитов и свободных иммуноглобулинов антигенами являются любые нативные молекулы (растворимые либо в составе мембран клеток или межклеточного матрикса); для Т-лимфоцитов объектом распознавания является только поверхность клеток своего организма, а именно комплексы молекул МНС (I класса, II класса или неклассических) с пептидами. **Туд** способны распознавать небелковые антигены, например фосфолипиды.

Может или не может какой-то цельный исходный белок стать «антигеном» для Т-лимфоцитов того или иного организма, зависит не только от наличия Т-лимфоцитов с соответствующим рецептором, но и от антигенпроцессирующих свойств антигенпредставляющих клеток, а также от сродства конкретных пептидных фрагментов к имеющимся в организме немногочисленным молекулам МНС (максимум 12 вариантов).

Антигенпредставляющие клетки — специализированные клетки, которые поглощают и преобразуют аликвоту антигена до того, как он будет распознан лимфоцитами. Для Т-лимфоцитов антиген представляют *дендритные клетки*, *В-лимфоциты* и *макрофаги*. Эти клетки поглощают антиген, расщепляют его до пептидов размером 9—11 или 11—18 аминокислотных остатков (если антиген белок), **внутриклеточно** формируют комплексы этих пептидов с молекулами МНС-I или II и экспрессируют эти комплексы на клеточную мембрану. Одновременно антигенпредставляющие клетки экспрессируют специальные корцепторные молекулы и синтезируют активационные цитокины, что строго необходимо для индукции лимфоцита, распознавшего целевой антиген в направлении развития иммунного ответа. В-лимфоциты способны распознавать (связывать) свободные нативные антигены. Но для В-лимфоцитов есть специальные антигенпредставляющие клетки — фолликулярные дендритные, которые способны продолжительное время нести на своей поверхности антиген, связанный в комплекс с антителом, который в свою очередь связан с Fc-рецептором мембраны FDC.

Антитела — специальные белки, продуцируемые В-лимфоцитами, имеющие характерную общую структуру (в основе тетрамер — симметричный комплекс из двух легких и двух тяжелых полипептидных цепей) и физико-химические свойства, что отражает их второе групповое название — *иммуноглобулины*. Самым характерным общим свойством антител и их природным предназначением является огромное популяционное разнообразие (10^9 — 10^{16}) связывающих свойств в отношении возможных лигандов (антигенов). Fc-фрагменты молекул иммуноглобулинов, которых у человека 9 разных вариантов (изотипов), предназначены для взаимосвязи комплексов **антиген—антитело** с другими белками сыворотки крови и клетками организма.

Анафилаксия — термин, имеющий значение, противоположное профилактике (prophylaxis — защита), т.е. беззащитность. Его применяют для обозначения такой реакции организма на внешнее вещество, которая не столько защищает организм от внешнего вещества, сколько вызывает повреждение тканей собственного организма. Анафилаксия — вариант аллергии с выраженным проявлением системных или обширных острых патофизиологических процессов.

Апоптоз — биологический механизм гибели клетки по тому или иному сигналу извне, который активирует внутри клетки определенные системы ферментов, обеспечивающих повреждение митохондрий, фрагментацию ДНК на отрезки в 50—300 п.н. и затем фрагментацию ядра и цитоплазмы клетки. В результате клетка распадается на окруженные мембраной апоптозные тельца, которые могут быть фагоцитированы макрофагами или поглощены дендритными клетками. Содержимое погибающей клетки не попадает во внеклеточную среду. В ткани не развивается воспаление.

Артюса реакция — экспериментальный феномен, представляющий собой локальную воспалительную реакцию в коже, вызванную инъекцией антигена в дерму животного, у которого уже есть антитела класса G против данного антигена. Антиген образует комплексы с такими антителами в межклеточных пространствах ткани, иммунные комплексы активируют систему комплемента и макрофаги, что в свою очередь вызывает развитие воспаления.

Аутоиммунные болезни — болезни, в патогенезе которых со временем ведущим компонентом становится иммунное воспаление, направленное на какой(ие)-либо *нативный(е)* антиген(ы) собственных клеток или межклеточного вещества. Полагают, что изначальная инициация данного иммунного воспаления вызвана каким-либо инфекционным патогеном, но в дальнейшем по тому или иному механизму иммунные лимфоциты «переключаются» на собственные ткани.

Аффинность связи антигена с антителом (или иного лиганда с акцептором) — это сила связи *одного* эпитопа на молекуле антигена с *одним* активным центром антитела. Количественно аффинность связи оценивают по величине константы диссоциации одного активного центра с одним эпитопом.

Белки острой фазы — это определенные сывороточные белки защитного антибактериального назначения. У человека это С-реактивный протеин (СРП) и *маннансвязывающий* лектин (МСЛ), у грызунов — еще и сывороточный амилоид. Эти белки синтезирует печень в ответ на соответствующие раздражители в первые часы после повреждения и секретирует их в кровь. Не имея ничего общего по составу и структуре с иммуноглобулинами (СРП — пентраксин, МСЛ — кальцийзависимый сахарсвязывающий белок семейства коллектинов), белки острой фазы связывают бактерии, имеющие соответствующие молекулы-лиганды на клеточной стенке (антигены С-стафилококков, остатки маннозы), и опсонизируют их для фагоцитоза. МСЛ, кроме того, по функции (не по структуре) похож на С1q и активирует протеазы, расщепляющие С4 и С2, чем обеспечивают антибактериальную защиту внутренней среды в первые часы после инфицирования крови, пока антитела еще не успели выработаться.

Вакцины — специально разработанные формы иммуногенов, предназначенные для иммунизации человека или животных с целью индукции *протективного* в отношении определенной болезни иммунитета.

В-лимфоциты — одна из двух больших разновидностей лимфоцитов. В-лимфоциты — единственные продуценты иммуноглобулинов в организме. В-2-лимфоциты дифференцируются в костном мозге из стволовой кроветворной клетки. В-1-лимфоциты дифференцируются в постнатальной жизни из автономной клетки-предшественницы в плевральной и брюшной полостях.

Гиперчувствительность — повышенная по сравнению со среднестатистической реактивность организма на тот или иной фактор внешней среды. Гиперчувствительность тем не менее — не синоним аллергии, так как понятие гиперчувствительности включает в себя компонент нервной реактивности, который может быть «наряду с» или «отдельно от» реакций, инициируемых аллергеном.

Главный комплекс гистосовместимости — МНС (*major histocompatibility complex*) — это понятие, относящееся к двум видам «живого вещества» — к ДНК (генам) и белкам. Термин «МНС» используют для обозначения как конкретного комплекса генов, так и для кодируемых этими генами определенных молекул клеточных мембран, «выносящих» на поверхность клетки в виде комплексов разнообразные пептиды размером от 9—11 до 13—30 аминокислотных остатков, образующиеся при протеолизе в клетке. Именно комплекс пептид-молекулы МНС является лигандом для распознавания

рецептором Т-лимфоцита для антигена. Молекулы МНС-I — гетеродимер из α -цепи и β_2 -микроглобулина. Молекулы МНС-II — гетеродимеры из равновеликих α - и β -цепей. Есть еще и неполиморфные, так называемые неклассические молекулы МНС. Иногда их называют МНС-подобными (например, CD1). Гены, кодирующие белки главного комплекса гистосовместимости, локализованы у человека в хромосоме 6 в виде комплекса генов МНС. Размер этого комплекса около 2—3 сантиморганов, т.е. $4 \cdot 10^6$ пар нуклеотидов ДНК. Такое количество ДНК соответствует примерно 50 генам. Гены β_2 -микроглобулина и инвариантной цепи локализованы в других хромосомах.

Гуморальный иммунный ответ (от лат. humor — жидкость) — иммунный ответ, при котором происходит продукция антител к интересующему(им) антигену(ам). Антитела секретируются в кровь, где они способны связывать растворимые или корпускулярные антигены с образованием иммунных комплексов. Антитела могут проникать в ткани и там связывать свои антигены. Антитела классов А и Е экскретируются через слизистые оболочки на внешнюю сторону барьерных тканей и там способны связывать антигены до их проникновения во внутреннюю среду. Антителоопосредованных механизмов деструкции антигенов существует несколько (см. главу 8), они конкретно зависят от изоформа иммуноглобулина и свойств антигенов.

Г-протеины — белки, способные связывать гуанозинтрифосфат (GTP) и превращать его в гуанозиндифосфат (GDP). Такие белки участвуют в проведении сигналов внутрь клетки. Известно две разновидности. Первая — ассоциированные с рецепторами G-протеины. По структуре они являются гетеротримерами и состоят из цепей α , β и γ . Вторые — мелкие G-протеины, такие как Ras и Raf. Они участвуют в биохимических реакциях проведения сигнала «в глубине» клетки (downstream).

Дендритные клетки (DC) — отростчатые клетки. В организме существует несколько разновидностей этих клеток. К иммунологии имеют отношение два типа:

Первый тип DC — клетки костномозгового происхождения, развивающиеся из общей клетки-предшественницы лимфоцитов. Эти DC — главные антигенпредставляющие клетки. В коже и слизистых оболочках они известны морфологам как клетки Лангерганса. В покровных тканях эти клетки сорбируют антигены и поглощают их эндоцитозом. По путям лимфодренажа они несут процессированный антиген в регионарные лимфоидные органы, в тимус-зависимые зоны и там представляют антиген лимфоцитам. DC того же происхождения в тимусе участвуют в процессах позитивной и негативной селекции тимоцитов.

Второй тип DC — клетки не костномозгового происхождения. Это *фолликулярные дендритные клетки (FDC)* — клетки стромы фолликулов лимфоидных органов, где пролиферируют и проходят иммуногенез В-лимфоциты. FDC облигатно необходимы для процессов созревания аффинности антител по мере развития иммунного ответа. FDC несут на своей поверхности, не поглощая, в течение длительного времени комплексы **антиген—антитело**.

ДНК-вакцины — препараты ДНК, содержащие последовательности нуклеотидов, кодирующие заданные белки-антигены. Такие препараты ДНК предлагают вводить в организм в расчете на то, что

они проникнут в клетки (наподобие вирусов) и с использованием клеточных ферментов произойдет синтез белков-антигенов, в ответ на которые организм должен будет развить иммунный ответ. Некоторые представители медицинской науки рассматривают применение ДНК-вакцин как перспективное направление исследований, другие — как запрещенный подход, поскольку по сути ДНК-вакцины — это «рукотворные» вирусы. Имманентным свойствам всякой нуклеиновой кислоты, в том числе и конструкций ДНК-вакцин, является способность к репликации, мутациям, рекомбинациям, т.е. к *саморазвитию*. Следовательно, как только человек выпустит ДНК-вакцину из рук — в прямом смысле произведет инъекцию препарата в живое тело, в тот же момент он утратит всякий контроль над этой ДНК: она может начать рекомбинировать с нашим геномом либо вирусными или бактериальными нуклеиновыми кислотами, мутировать, размножаться. Последствия для организма в целом и для вида (если технологии ДНК-вакцинации примут массовый характер) принципиально нельзя прогнозировать.

Идиотип антитела — уникальные детерминанты на поверхности молекулы иммуноглобулина, локализованные в области антигенсвязывающих частей молекулы иммуноглобулина или ассоциированных с этой областью. Идиотип антитела — отражение специфичности антитела по антигену.

Изотипы иммуноглобулинов — классы и подклассы иммуноглобулинов. У человека 9 изотипов иммуноглобулинов (IgM, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgE, IgD). Изотипы иммуноглобулинов методически определяют по их реактивности с антиизотипическими антисыворотками, т.е. антителами против детерминант, локализованных в Fc-фрагментах тяжелых цепей иммуноглобулинов. Каждый изотип кодируется отдельным C-геном тяжелой цепи.

Иммуноанализы — методы определения (качественного, количественного, полуколичественного) веществ, в основе которых лежит реакция «антигена с антителом», которую делают видимой или регистрируемой прибором с помощью той или иной метки. Метки заранее конъюгируют либо с антителами, либо с антигенами. Метки бывают радионуклидными, ферментными, флюорохромными, люминесцирующими, соединениями тяжелых металлов. Соответственно наиболее известные варианты иммуноанализов называют радиоиммуноанализами (РИА), иммуноферментными анализами (ИФА), иммунофлюоресцентными анализами, иммунолюминесцентными анализами, иммунохроматографией.

Иммуноглобулины — *у*-фракция глобулярных белков сыворотки крови млекопитающих. Все антитела относятся к этой фракции.

Иммунорецепторы — рецепторы на клетках, которые способны связать антиген и обеспечить реакцию клетки на этот антиген. К иммунорецепторам относят три типа мембранных молекул: TCR на Т-лимфоцитах, BCR на В-лимфоцитах и FcR — разные на разных типах лейкоцитов и тканевых клетках костномозгового происхождения. TCR и BCR связывают антиген непосредственно сами. Для FcR антиген предварительно связывают иммуноглобулины (антитела).

Иммунные комплексы — комплексы антиген—антитело. Как правило, этот термин применяют в отношении растворимых комплексов антиген—антитело, а не, например, к комплексам антител с антигенами клеточной поверхности.

Иммунный ответ — в норме защитная реакция организма в отношении проникающих из внешней среды патогенов, в первую очередь инфекционных. Эта реакция заключается в *распознавании* антигена *лимфоцитами*, синтезе лимфоцитами специальных эффекторных молекул и *деструкции* и *элиминации* поврежденных патогеном клеток с привлечением общевоспалительных механизмов, в первую очередь клеток крови и белков сыворотки крови.

Интегрины — одно из 4 известных семейств молекул межклеточной адгезии. Интегрины — гетеродимеры, состоящие из нескольких разновидностей α - и β -цепей, в связи с чем по составу этих цепей их подразделяют на подсемейства $\alpha_x\beta_y$. Интегрины экспрессируются на лимфоцитах, моноцитах, макрофагах, нейтрофилах, дендритных клетках. Лигандами для интегринов являются либо другие молекулы адгезии на мембранах других клеток, либо молекулы межклеточного матрикса. Интегрины обеспечивают сильные взаимосвязи клеток. Примеры интегринов: LFA-1; CD11a,b,c/CD18; CR3; CR4; VLA-4; VLA-5 и др.

Комплемент — система растворимых сывороточных белков (21) и взаимодействующих с ними молекул мембран клеток (рецепторов для белков комплемента, их 6, а также мембранных ингибиторов — 3), общее функциональное назначение которых заключается в связывании микроорганизмов и комплексов антигенов с антителами и обеспечении либо лизиса микробных клеток, либо фагоцитоза иммунных комплексов с последующей деструкцией патогенов внутри фагоцитов.

Коррецепторы — инвариантные молекулы клеточной мембраны антигенпредставляющих клеток или лимфоцитов, которые экспрессируются либо конститутивно (например, CD4 или CD8 на Т-лимфоцитах), либо только в состоянии активации клетки. Предназначены для связывания с комплементарными молекулами-лигандами на лимфоцитах или их партнерах или с гуморальными факторами (например, с компонентами комплемента). Сигналы с коррецепторных молекул *обязательно* необходимы в дополнение к сигналам от *антигенраспознающих* рецепторов для того, чтобы индуцировать лимфоцит в направлении развития иммунного ответа. Связывание антигенраспознающего рецептора с антигеном при отсутствии связывания коррецепторных молекул с высокой вероятностью приводит к анергии и апоптозу лимфоцита. **Коррецепторный комплекс В-лимфоцита** представлен молекулами CD19, CD21, TAPA-1. Наиболее значимыми *коррецепторными взаимодействиями* Т-лимфоцита с антигенпредставляющей клеткой являются CD28—CD80, CD 154 (CD40L)—CD40. Иногда термин «коррецептор» используют в более широком смысле для обозначения того или иного (не обязательно облигатного) дополнительного рецептора по отношению к какому-то рассматриваемому рецептору.

Ксеногенный — организм другого биологического вида.

Кумбса тест (Combs test) — лабораторный метод, позволяющий выявить неагглютинирующие антитела к эритроцитам. Этот тест используют, например, для определения группы крови по резус-антигенам. Сначала эритроциты инкубируют с *противоэритроцитарными* антителами, затем добавляют антитела к иммуноглобулинам, которые и вызывают видимую агглютинацию эритроцитов.

Лектины — белки, по своей биохимической природе способные связывать те или иные углеводы *комплементарными* связями (ионными, водородными, ван-дер-ваальсовыми и гидрофобными).

Лимфоциты — истинные иммуноциты — особые клетки, *специализированные* на распознавании антигенов в организме. Уникальность дифференцировки лимфоцитов состоит в физической перестройке ДНК генов рецепторов лимфоцитов для антигенов, в результате чего на каждом созревающем лимфоците формируется свой неповторимый рецептор. Поэтому при внешнем морфологическом единообразии малых лимфоцитов (круглое компактное ядро, малый объем цитоплазмы) разнообразие антигенраспознающих рецепторов на лимфоцитах достигает 10^9 — 10^{16} — 10^{18} вариантов. Разнообразие распознающих рецепторов лимфоцитов — эволюционный ответ консервативных многоклеточных организмов быстро эволюционирующим инфекционным микроорганизмам.

Маркер — та или иная биомолекула мембраны клеток, межклеточного матрикса или сыворотки крови, о распределении которых в тканях в норме и при патологии известно достаточно много. К ним получены высокоспецифичные антитела, которые используют в качестве реагентов для детекции данной биомолекулы в испытуемых биопробах.

Митогены — вещества, способные индуцировать митотическое деление лимфоцитов без участия антигенраспознающих рецепторов лимфоцитов. Митогенами для Т-лимфоцитов являются, например, фитогемагглютинин (ФГА), конканавалин А. Митогенами для В-лимфоцитов являются липополисахариды (ЛПС) и митоген из фитоллаки американской (PWM).

Нокаут гена (gene knock-out) — метод получения мышей, у которых физически отсутствует определенный заданный ген. В основе метода получение искусственной генетической конструкции, содержащей запланированную ошибку, введение данной конструкции в особые перевиваемые эмбриональные стволовые клетки (ES) в расчете на гомологичную рекомбинацию экзогена с одноименным эндогеном, имплантация модифицированных ES-клеток в бластулу эмбриона *in vitro*, имплантация бластулы в матку «подготовленной» к беременности самки, отбор искомым мышей с нокаутом заданного гена методами контролируемого размножения.

Нормальные киллеры (NK) — разновидность лимфоцитов, на которых нет антигенраспознающих рецепторов, т.е. ни иммуноглобулинов, ни TCR. По функции NK — киллеры, они способны убивать клетки-мишени. На одной из двух известных субпопуляций NK (преобладает в циркулирующей крови и селезенке) есть рецепторы для Fc-фрагментов IgG. Через эти рецепторы NK присоединяются к клеткам, покрытым антителами класса G, и осуществляют антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦТ). NK второй субпопуляции локализуются в синусоидах печени (Pit-клетки), слизистой оболочке матки и децидуальной оболочке. На NK экспрессированы особые рецепторы, способные связывать молекулы MHC-I класса клеток своего организма, причем это связывание *ингибирует* киллерный потенциал NK, в связи с чем такие рецепторы называют KIR — killer inhibitory receptors.

Некроз — гибель клеток под воздействием случайных травмирующих факторов (механических, химических, осмотических, температурных и т.д.). При некротической гибели клетки внутриклеточное содержимое попадает во внеклеточное пространство и индуцирует воспалительный процесс в окружающих тканях.

Опсонизация — явление усиления поглощения бактерий и других микроорганизмов фагоцитами в присутствии определенных растворимых белков сыворотки крови. Белки, способствующие усилению фагоцитоза, называют **опсонинами**. Опсонинами являются белки острой фазы — С-реактивный протеин и маннансвязывающий лектин; липополисахаридсвязывающий протеин; белки системы комплемента C3b, C4b; сурфактантные протеины легких SP-A, SP-D; антитела класса G. Механизм опсонизации состоит в том, что опсонины имеют химическое сродство к тем или иным компонентам клеточной стенки микроорганизмов, связываются с ними, а с другой стороны на фагоцитах есть специальные рецепторы для молекул опсопинов.

Пентраксины — белки, молекула которых состоит из 5 одинаковых субъединиц. К пентраксинам относится С-реактивный протеин сыворотки крови.

Плазма крови — жидкая составляющая крови, включающая фибриноген.

Полиморфизм генетический — наличие в популяции множества аллелей одноименного гена (у разных особей различные аллели).

РТПХ — реакция «трансплантат против хозяина» — процессы иммунного воспаления в тех или иных тканях реципиентов, получивших донорские трансплантаты кроветворных тканей, которые содержат несингенные лимфоциты, в первую очередь Т-лимфоциты. В клинике РТПХ можно наблюдать у реципиентов костного мозга. Для профилактики РТПХ перед введением реципиенту из суспензии клеток костного мозга стараются удалить Т-лимфоциты. Клинические симптомы РТПХ напоминают те, что бывают при попадании в организм суперантигенов: перемежающаяся лихорадка, разной степени выраженности васкулиты, органная патология.

Рецепторы — молекулы мембран клеток, предназначенные для восприятия клеткой тех или иных химических сигналов, т.е. для комплементарного связывания с внешними для клетки молекулами-лигандами, и проведения сигнала внутрь клетки. В результате в данной клетке инициируются те или иные жизненные процессы (активация или ингибция). На клеточных мембранах экспрессированы и молекулы, предназначенные для комплементарного связывания, за которым не следует проведение сигнала внутрь клетки. Такие молекулы называются **несигнализирующими рецепторами**. Примером могут служить молекулы гликозаминогликанов на поверхности клеток эндотелия сосудов. Они связывают молекулы хемокинов, например RANTES. При этом в эндотелиальную клетку сигнал не проводится. RANTES в свою очередь связывает лимфоциты и лейкоциты из потока крови, чем обеспечивает возможность их экстравазации в очаг воспаления в ткани.

Селектины — одно из семейств молекул межклеточной адгезии. Известны 3 селектина — L, P, E. L-селектин (CD26L) экспрессирован на неиммунных лимфоцитах, некоторых иммунных лимфоцитах, нейтрофилах, моноцитах, эозинофилах. P-селектин (CD62P) экспрессирован на активированном эндотелии и тромбоцитах. E-селектин (CD26E) экспрессирован на активированном эндотелии. Лигандами для селектинов являются карбогидратные молекулы сиалил-Lewis^x, CD34, GlyCAM-1, MAdCAM-1 и др. Селектины начинают взаимодействие между мембраной лейкоцита и эндотелием кровеносного сосуда.

Сингенный — генетически тождественный организм. Сингенны однополовые близнецы и однополые мыши «внутри» одной инбредной линии.

Суперантигены — определенные вещества, как правило, продукты микробного происхождения, которые благодаря своей химической природе способны связывать антигенраспознающие рецепторы лимфоцитов не в местах активных центров, а в других участках рецепторов. Поэтому суперантигены связывают Т-лимфоциты или иммуноглобулины *поликлонально*. Тем самым они блокируют возможный направленный специфичный иммунный ответ, но вызывают поликлональную, индуцированную активацией, гибель Т-лимфоцитов или поликлональную функциональную блокаду иммуноглобулинов, что проявляется симптомами иммунодефицита. Суперантигены для Т-лимфоцитов (энтеротоксины стафилококков, токсин синдрома токсического шока — TSST-1, мембранный протеин вируса опухоли молочных желез мышей, суперантигены ВИЧ, вирусов Эпштейна—Барр, бешенства и др.) связываются с боковыми участками α -цепи TCR и одновременно с V-областью β -цепи того же TCR. В результате суперантиген блокирует возможное связывание с данным TCR специфических антигенов и вызывает бессмысленную активацию лимфоцита. Для иммуноглобулинов пока описаны 3 суперантигена — протеин А стафилококка (SpA), поверхностный gp120 ВИЧ и кишечный сиалопротеин. Один такой суперантиген может связать более 80 % всех иммуноглобулинов крови. При этом иммуноглобулины теряют способность связывать специфичные антигены.

Сыворотка крови — жидкая составляющая крови без фибриногена/фибрина.

Т-лимфоциты — исторически так названы лимфоциты, которые дифференцируются из стволовой кроветворной клетки на территории тимуса. В настоящее время мы знаем, что в тимусе дифференцируются лимфоциты $T\alpha\beta$. Вторая разновидность Т-лимфоцитов — $T\gamma\delta$, вероятно, дифференцируется преимущественно в слизистых оболочках, главным образом в слизистой оболочке ЖКТ. Идентификационными признаками Т-лимфоцитов является наличие TCR ($\alpha\beta$ или $\gamma\delta$), комплекса полипептидов CD3 (цепи γ , δ , ϵ) и ζ -цепей.

Тимоциты — лимфоциты тимуса.

Толерантность иммунологическая — отсутствие активации лимфоцитов к продуктивному иммунному ответу при наличии в доступном им пространстве специфических антигенов.

Трансгенные мыши — экспериментально созданные мыши, имеющие определенный *лишний* ген, называемый *трансгеном*. Искусственно синтезированную генетическую конструкцию вводят *in vitro* в оплодотворенную яйцеклетку, которую затем имплантируют в матку гормонально «подготовленной» к беременности самки.

Фагоцитоз — явление поглощения эукариотической клеткой макромолекулярных соединений и корпускулярных объектов, расщепления их внутри клетки в специальных органеллах — лизосомах с целью выведения мелких метаболитов из организма. И.И.Мечников открыл *защитную, санитарную роль* фагоцитоза в интересах организма в целом.

Фагоциты — клетки, способные к фагоцитозу и содержащие *специальные органеллы* — *лизосомы*, в которых имеются специальные ферменты для расщепления и окисления органических макромолекул

(протеазы, гидролазы, каталазы, NO-синтазы, ферменты генерации свободных радикалов и активных форм кислорода). У человека фагоцитами являются нейтрофилы и макрофаги. Они имеют общую промежуточную клетку-предшественницу при дифференцировке в костном мозге.

Фолдинг (от англ. folding — сворачивание) — принятие молекулой правильной конформации, единственно подходящей для выполнения белком его физиологических функций. Фолдинг белков в клетке обеспечивают специальные белки — *шапероны*. В настоящее время предполагают существование болезней конформации белков, или мис-фолдинг. Вероятно, именно такой патологический процесс существует в патогенезе прионных инфекций (губчатый энцефалит, болезнь Альцгеймера и др.).

Хемоаттрактанты — вещества, которые способны заставить клетку физически передвигаться в тканях организма. **Хемоаттрактанты** объединяет то, что все они воздействуют на определенного типа рецепторы клеточной мембраны, а именно 7TMR — 7-складчатые трансмембранные структуры, ассоциированные в клетке с G-протеинами. К хемоаттрактантам относят хемокины (идентифицировано более 40), компоненты комплемента C5a и C3a, лейкотриен LTB₄, ряд малых пептидов типа fMLP.

Хемокины — цитокины — лиганды для рецепторов типа 7TMR, оказывающие на клетки-мишени хемоаттрактантное действие (см. выше).

Цитокины — медиаторы локальных межклеточных взаимодействий, в большинстве случаев, вероятно, взаимодействия двух клеток. Цитокины — белки, разнообразные по размеру и структуре. Цитокины растворимы и действуют на клетку-мишень через специальные рецепторы на клеточной мембране.

Цитотоксичность иммунологическая — убийство клетки-мишени с участием иммунных факторов — антител или лимфоцитов-киллеров. Известны по крайней мере 4 конкретных механизма иммунологической цитотоксичности: 1) клетка-мишень + антитела + + комплемент (действует против бактериальных клеток); 2) клетка-мишень + антитела + НК (АЗКЦТ, действует главным образом против вирусинфицированных клеток); 3) клетка-мишень + ЦТЛ (действует против вирусинфицированных клеток); 4) клетка-мишень + + антитела класса Е + эозинофил.

Шапероны — специальные белки, которые обеспечивают сворачивание других вновь синтезированных в клетке белков в правильную функциональную конформацию.

Экстравазация — активные процессы выхода из кровеносных сосудов в ткани клеток крови и/или компонентов плазмы или сыворотки.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Петров Р.В.* Иммунология. — М.: Медицина, 1987.
- Ульянкина Т.И.* Зарождение иммунологии. — М.: Наука, 1994.
- Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А.* СПИД. — М., 1992.
- Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И.* Экологическая иммунология. — М.: ВНИРО, 1995.
- Федосеева В.Н., Порядим Г.В., Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н., Лусс Л.В., Гофман Э.Л., Скороход Н.И.* Руководство по аллергологии и клинической иммунологии. — Львов, 1997.
- Abbas A.K., Lichtman A.H., Pober J.S.* Cellular and molecular immunology. — Harcourt Brace & Comp. — 1994.
- Adorini L., Goldman M., Kabelitz D. et al.* Apoptosis, tolerance, and immunoregulation — integrated pathways for immune system homeostasis // *The Immunologist*. — 1998. — Vol. 6, N 2. — P. 92-94.
- Adorini L, Trembleau S.* Autoimmune diabetes as a test for the Th1/Th2 paradigm // *The Immunologist*. — 1998. — Vol. 6, N 4. — P 146—150.
- Bell R.G.* IgE, allergies and helminth parasites: a new perspective on an old conundrum // *Immunol Cell Biol*. — 1996. — Vol. 74, N 4. — P. 337-345.
- Bernardini R. et al.* Adenylate-cyclase-dependent pituitary adrenocorticotropin secretion is defective in the inflammatory-disease-susceptible Lewis rat // *Neuroendocrinology*. — 1996. — Vol. 63, N 5. — P. 468—474.
- Boman E.G., Broekaert W.F.* Peptide antibiotics come of age // *The Immunologist*. — 1998. — Vol. 6, N 6. — P. 234-238.
- Clinical immunology* / Ed. By Bradley J., McCluskey J. — Oxford Univ, Press. — 1997.
- Daëron M.* ITIM-bearing negative coreceptors. Fc.R1IB and the family of ITIN-bearing negative coreceptors // *The immunologist*. — 1997. — Vol. 5, N 3. — P. 79-86.

- Doherty P.C., Belz, Flynn K.J.* The continuing revolution in virus-specific CD8+ T cell-mediated immunity // *The Immunologist*. — 1998. — Vol. 6, N 5. - P. 173-177.
- Gonzalo J.A., Gonzalo-Garcia A., Carlos M.-A. et al.* Glucocorticoid-mediated control of the activation and clonal deletion of peripheral T cells in vivo // *J. Exper. Med.* - 1993. - Vol. 177, N 5. - P. 1239-1246.
- Grewal I.S., Guerder S., Flavell R.A.* Lesson from genetically manipulated animal models. Approaches to study activation of self-reactive T cells in autoimmune diseases // *The Immunologist*. — 1998. — Vol. 6, N3. - P. 106-111.
- Hayakawa S. et al.* Expression of the recombinase-activating gene (RAG-1) in the murine early embryogenesis // *Immunol. Cell Biol.* — 1966. - Vol. 74, N 1. - P. 52-56.
- Hodgkin P.D.* Role of cross-reactivity in the development of antibody responses // *The Immunologist*. — 1998. — Vol. 6, N 6. — P. 223—226.
- Janeway C.A., Travers P., Walport M., Capra J.D.* Immunobiology. The immune system in health and disease. — *Current biology lim.* — 1999.
- Kaveri S.V., Lacroix-Desmazes S., Mouthon L., Kazatchkine M.D.* Human natural autoantibodies: lessons from physiology and prospects for therapy // *The Immunologist*. - 1998. - Vol. 6, N 6. - P. 227-233.
- Janeway C.A., Kupfer C. et al.* T-cell development, survival, and signalling. A new concept of the role of self-peptide: self-MHC complexes // *The Immunologist*. —1998. - Vol. 6, N 6. - P. 5-12.
- Kincade P.W., Medina K., Yamashita Y.* The transition of stem cells to B lymphocytes // *The Immunologist*. — 1998. — Vol. 6, N 2. — P. 43—47.
- MacLennan I.C.M., Gulbranson-Judge A., Toellnek K.-M.* Th1 and Th2 activity rapidly developing in a single node // *The Immunologist*. — 1998. - Vol. 6, N 5. - P. 179-181.
- Mason D.* Antigen cross-reactivity: essential in the function of TCRs // *The Immunologist*. - 1998. - Vol. 6, N 6. - P. 220-222.
- Molecular immunology / Ed. By Hames B.D., Glover D.M.* — Oxford Univ. Press. — 1996.
- Paul W.E.* Fundamental Immunology. — Lippincott-Raven, New York, 1999.
- Romagnani P., Annunziato F., Romagnani S.* Pleiotropic biologic functions of CD30/CD30L Does it contribute to negative selection in thymus? // *The Immunologist*. - 1998. - Vol. 6, N 4. - P. 137-141.
- Salmon M., Pilling D., Borthwick N.J., Akbar A.N.* Inhibition of T-cell apoptosis — a mechanism for persistence in chronic inflammation // *The immunologist*. - 1997. - Vol. 5, N 3. - P. 87-92.

- √ *Schwartz R., Banchereau J.* Immune tolerance // The immunologist. — 1996. - Vol. 4, N 6. - P. 211-218.
- Sieling P.A.* Abroader role for **CDI** in the spectrum of immune responses // The Immunologist. - 1998. - Vol. 6, N 3. - P. 112-115.
- Starr S.E.* Immune reconstitution in HIV-infected individuals — What will it take? // The Immunologist. - 1998. - Vol. 6, N 1. - P. 19-22.
- Progress in Allergy and Clinical Immunology.* Vol. 4 / Ed. By Oehling, Huerta, Lopez J.G. — Hogrefe & Huber Publishers. — 1997.
- √ *Shurin G., Shanks N., Nelson L. et al.* **Hypothalamic-Pituitary-Adrenal** activation by the bacterial superantigen staphylococcal enterotoxin **B**: role of macrophages and T cells // Neuroendocrinology. — 1997. — Vol. 65, N 1. - P. 18-28.
- / *Zinkemagel R.M., Kelly J.* How antigen influences immunity // The Immunologist. - 1997. - Vol. 5, N 3. - P. 114-118.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

- Авидность** связи антитела с антигеном 79
- Адгезия межклеточная при иммунном ответе 170
- Адрессины 170
- Адьюванты** 29
- Активация комплемента 53—61
———**активаторы** 69
— лимфоцита 146
- Аллели МНС человека, схема 137, 138
- Аллельное исключение 88
- Аллергены 29, 335
- Аллергические болезни 332
———**аллергены** 335
— — эпидемиология 336
— реакции на медикаменты 354
- Аллергия 261, 332
— пищевая 349
- Аллергология 17, 28
- Аллоантигены 219
- Алотипы иммуноглобулинов 90, 91
- Аллотрансплантация** 219
- Альтерация клеток 31
- Аминокислоты 67, 78, 130
- Анатомия иммунной системы 34
———**органы** инкапсулированные 36, 42, 44, 47
———**ткань** лимфоидная 37, 48
- Анафилаксия 332, 346
- Анафилатоксины комплемента 55
- Ангионевротический отек наследственный 58, 285
- Ангиоэдема 351, 352
- Анергия лимфоцита 100
- Антигенная детерминанта см. *Эпитоп*
- Антигены 28, 72, 79, 81, 136, 261, 335
— гистосовместимости неглавные 123
— иммунный ответ 161
— опухольассоциированные 225
— пептидные 134
— роль лимфатических узлов 45
— тимуснезависимые 205
- Антисыворотки антиидиотипические 91
— антитоксические 71
- Антитела 30, 71, 79, 91, 107, 242
— аффинность 60, 79, 104
— моноклональные 66
— свойства 79
— — реликтовые 242
— нормальные см. *Имуноглобулины конститутивные*
— функции 107
- Антителозависимая(ые) клеточная **цитотоксичность** 236
— механизмы защиты от патогена 233
———**лимфоцитарного** иммунитета 228
- Антитоксин 71
- Апоптоз** 100, 151, 259
- Артериит гигантоклеточный 330
— Такаясу 331
- Атаксия — телеангиэктазия 280
- Аутоиммунные болезни 308, 313, 322
— ассоциация с МНС 332
——— **полом** 332
- Аффинность антител 60, 79, 104

Б

- Базофилы 41, 237
- Белки, аллергены 335
 - антиапоптозные 154
 - Бенс-Джонса 243
 - ВИЧ 292
 - ДНК-связывающие 97
 - клеточных мембран 51
 - комплементрегулирующие 51, 54
 - — ковалентные связи 54
 - LPS-реактивные 69
 - мембранные 58, 128, 140
 - онковирусов 226
 - острой фазы 25, 50, 60
 - раково-эмбриональные 64
 - системы комплемента 52, 53
 - сывороточные 51, 58
- Беркитта лимфома фолликулярная 106
- Биологические механизмы защиты организма от факторов внешней среды 19, 61
 - резистентности к инфекциям 50
- Болезнь(и) Аддисона 317
 - аллергические(ая) 332, 335
 - бронхиальная астма 340
 - аутоиммунные 308, 313
 - Бехтерева 332
 - Бехчета 331
 - гемолитическая новорожденных 321
 - гранулематозная хроническая 281
 - Грейвса 316, 332
 - Кавасаки 331
 - Кушинга 317
 - с дефицитом компонентов комплемента 284
 - молекул адгезии лейкоцитов 282
 - — синдромами иммунного воспаления 308, 332
 - Хашимото 313, 316, 332
- Бронхиальная астма 339

В

- Вазоактивные амины 239
- Вакцинация 362, 365
- Вальдестрема макроглобулинемия 106
- Вариабельный иммунодефицит общий 274
- Васкулиты крупных сосудов 330
 - системные первичные 309, 325, 328
- Вегенера гранулематоз 314, 327
- Взаимодействие(я) клеток в иммунном ответе 169
 - антигенпредставляющие клетки 176
 - молекулы межклеточной адгезии 170
 - хемокины 183
 - цитокины 177
 - рецепторы 186
 - семейство 189
- молекул комплементарные 26
- Взаимосвязи иммунной, нервной, эндокринной систем 256
 - факторов лимфоцитарного иммунитета с лейкоцитами 228
- Вирус Эпштейна — Барр 58, 356
- Вискотта — Олдрича синдром 269, 280
- ВИЧ-инфекция 262, 289—301
 - анализ иммунного статуса человека 266
- В-лейкозы клеточные 106
- В-лимфоциты 45, 48, 50, 57, 71, 76, 106
 - активация 97
 - анергия 100
 - антигенпредставляющие 176
 - дифференцировка 81, 92, 102
 - коагрегация иммунорецепторов 158
 - клон 76
 - лимфопоз 88, 92
 - — стадии 98
 - отличие от плазмочитов 204

— параметры при иммунном ответе 166
— рецептор для антигена 95
Воспаление 26, 33, 70, 151, 179
— доиммунное 31, 225
— иммунное 308
Вульгарная пузырчатка 313

Г

Гаптены 28, 335
Гассалья тельца 43
Гематопоэтины 189
Гемопоз 179
Генетический нокаут 373
Геном 30
— ВИЧ 294
Гены, аллельное исключение 88
— АТМ 225
— ВИЧ 292
——— **клонирование** 369
— — метод нокаута 373
— гипермутагенез 86
— главного комплекса **гистосовместимости** 126, 129, 137
— дефекты 267
— зародышевые 81, 82
— конверсия 88
— молекулярное клонирование 112, 141
— рекомбинация непродуктивная 87
— эукариотических клеток 67
Гены-мишени 85
Гепагоциты 25, 130
— **апоптоз** при алкогольном циррозе печени 156
Герминативный центр см. *Фолликулы лимфоидные*
Гетеродимерные эндонуклеазы 85
Гипермутагенез 86
Гиперчувствительность типа замедленного 246
——— **немедленного** 237
Гипокальциемия 317
Гистамин 239, 240
Гистоплазмоз 304

Главный комплекс гистосовместимости 28, 126, 140
— — — генетический полиморфизм 137
——— **локусы** 128
——— **механизмы** образования комплексов **пептидов-антигенов*** с молекулами МНС 131
— — — расположение генов в хромосоме 6 129
Гранулематоз **Вегенера** 314, 327

Д

Дезоксинуклеотидилтрансфераза 87
Делеция клона лимфоцитов 217
Деструкция матрикса 309
Дефекты растворимых белков сыворотки крови 283
Дефицит **IgA** 275
— **маннозосвязывающего** протеина 283
— селективный **IgM** 276
——— **субклассов IgG** 276
— функций антител при нормальном уровне иммуноглобулинов 276
Диабет инсулинзависимый 316, 332
Ди Джорджи синдром 268, 279
ДНК 81-89, 242, 291, 300
— кодирующая 82
— нуклеотиды 84—86
— феномен рекомбинации 81, 85, 113, 137
— цепи молекул **Ig** 75, 83, 85
Домены 74, 160
Дифференцировка клеток многоклеточных организмов 26
——— **консервативная** 26
Дихотомия 207

З

Заболевания ЖКТ 317—319
— крови 320
— нервной системы с компонен-

- том иммунного воспаления* — супрессия 212
322 — теории 33
— с дефектами фагоцитов 281
— **болезнь** гранулематозная 281
— **дефицитом** молекул адгезии лейкоцитов 282
— эндокринных желез 316
Законы трансплантации 127
Зародышевые(ая) гены иммуноглобулинов 81, 82
— конфигурация см. *Гены зародышевые*
Защитные системы организма биологические 19, 23, 25
— **физиологические** 23, 138
— **иммунитет** 31, 79
— — — — **иммунный(е) ответ** 161, 165
— **реакции** 132
— — — — конститутивные иммуноглобулины 106
— — — — ответ на аллоантигены 219
Зоб аутоиммунный см. *Болезнь Хашимото*
- И**
- Идиотип(ы)** антитела 91
— иммуноглобулинов 90
Изотипы иммуноглобулинов 72, 76, 84, 90
Иммунизация 19, 24, 28, 46
Иммунитет врожденный 24
— индукция 29
— лимфоцитарный 22—25, 40, 65, 164, 228
— механизмы эффекторные 228, 230
— — — Т-лимфоцитзависимые 243
— определение 19, 23, 30, 79, 103
— отклонение 207
— первичный 161
— приобретенный 24
— протективный 165
- супрессия 212
— теории 33
— функции 15, 21
Иммунный(ая) ответ, взаимодействие клеток 169
— — закономерность развития 175
— — определение 31, 79, 103, 122, 161
— подсистема слизистых оболочек 49
— система 22, 34, 82
— **анатомия** 34
— **взаимосвязи** с другими системами 256
— **влияние** инфекций 287—289
— **закономерность** онтогенеза 285
— **и** опухоли 224
— **локализация** в организме 36
— — патология, классификация 261
— — — болезни аллергические 332
— **аутоиммунные** 308
— **с** синдромами иммунного воспаления 322
— **иммуногенез** 28, 37
— — — иммунодефицита 267, 285
— **вторичные** 285
— **первичные** 267
— **структура** 15
— **функции** 15
— **цитология** 34
— статус человека 266
— этапы 161
Иммуногенез см. *Иммунный ответ*
Иммуногены см. *Антигены*
Иммунодепрессия 298
Иммунодефицит(ы) 136, 224, 262
— **вариабельный** общий 274
— **вторичные** 285, 287
— **первичный(е)** 267
— **с** дефектами Т-лимфоцитов 277

- дефицитом IgA 275
 — — — функций антител при нормальном уровне иммуноглобулинов 276
 — тяжелые комбинированные см. **ТКИД**
 Иммунологическая память 164
 — специфичность рецепторов лимфоцита для антигена 27
 — толерантность 216
 Иммунология, введение в предмет 15
 — методы исследования 368
 —————**иммуноанализы** 377-382
 —————генетический нокаут 377
 —————**клонирование** 368
 —————**мутагенез** направленный 373
 — основные причины нового внимания к науке 16, 262
 Иммунопатогенез 263
 Иммунорецепторы лимфоцитов 121, 157
 — коагрегация на В-лимфоците 158
 Интегрины 171
 Интерлейкины 189—192, 196—198
 Интерфероны 64, **69**, 193
 Инфекция(я) влияние на иммунную систему 287
 — герпесвирусные 303
 — желудочно-кишечного тракта 317-319
 — защитные системы 23, 256
 — пиогенные 285
 — **резистентность** организма 23
 — цитомегаловирусная 303

К
 Кандидоз 304
 Капоши саркома 192, 296, 305
 Карликовость 279
 Каспазы 153
 Клетки(а) антигенпредставляющие 28, 135, 137, 148, 176, 203
 — дендритные 41, 45, 121, 130, 162, 171, 176, 247
 —————**интердигитальные** 46
 —————иммунной системы 34
 — клонирование 369
 — купферовские 62
 — Лангерганса см. *Эпидермоциты белые отростчатые*
 — нормальные киллеры 25, 47, **143**, 250
 — плазматические 204
 — стволовые кроветворные 26, 35, 39, 41, 116
 — тучные 158, 241, 267, 341
 — эпителиальные 130
 — эукариотические 67, 131
 Клетка-мишень 189
 Клетки-предшественники 26, 39-41, **102**, 299
 Клеточные гены нормальные 106
 — В-лейкозы 106
 Клонирование молекулярное 85
 Коллектины 60, 69
 Компонент секреторный 78
 Комплекс(ы) антиген—антитело 51, 56, 75, 79, 233
 —————**авидность** 79
 —————**аффинность** 79
 — бактериальных липосахаридов 63
 — гистосовместимости главный 82, **108**, 123, 126
 —————**неглавный** 123
 — корецепторный лимфоцитов 100
 — макромолекулярные 62
 — пептид - МНС 28, 117, 156
 — пептидов-антигенов 131
 — рекомбиназ ДНК 113
 Комплемент 51, 53, 283
 Комплементарные(ое) взаимодействия молекул 26
 — связывание см. *Т-лимфоциты, дифференцировка*
 Конверсия генов 88
 Корецепторы лимфоцитов 157
 Крапивница 351
 Криптококкоз 303

Криптоспороидоз 304
Кроветворение, схема 37, 39, 41, 42, 62, 99
Кроветворный костный мозг 35, 37, 62

Л

Лейкоз лимфобластный острый 106, 125

———**хронический** 125

Лейкотриены 241

Лейкоцитарный интерферон 194

Лейкоциты 61

— полиморфно-нуклеарные 57

Лектины 50, 60, 68, 170

— **маннозосвязывающие** см. *Белки острой фазы*

Лиганды для интегринов 172

— — селектинов 170

Лимфатические групповые фолликулы 48

— узлы 44

Лимфоидное(ые,ая) глоточное кольцо Пирогова 48

— клетки 47

— система см. *Иммунная система*

— ткань слизистых оболочек 37, 48

— фолликулы 45

Лимфолейкозы хронические 106

Лимфопоз 37, 40—42

— дифференцировка В-лимфоцитов 98, 102

— ограниченность потенциала 286

— схема 39

Лимфоцитарный(ая) иммунитет 20-26, 29, 40, 66, 164, 228

— система 25

Лимфоциты 20—25, 47, 85

— активация 146, 156, 179

— взаимодействие Т- и В-лимфоцитов 202

— вооруженные 38

— зрелые неиммунные 37

— иммунный ответ 161, 172

— клоны 76, 163, 217, 286

———**пролиферация** 38, 45

— миграция 49

— регуляторы дифференцировки 179

— самораспознавание 123

— с функцией молекулярного распознавания 23—26

— феномен рекомбинации ДНК 81

— функционально зрелые субпопуляции 40

— экстравазация из крови в ткани 173

— эффекторные 38

Локусы МНС 127-129

М

Макроглобулинемия Вальдстрема 106

Макрофаги 26, 57, 62, 65, 68, 154, 171, 176, 181, 248, 253

— иммунодепрессия 298

Мастер-гены 85

Мегакариоцитопоз 41

Медиаторы базофилов 239

— доиммунного воспаления 179

— липидные 70, 239, 241, 341

— тучных клеток 238, 341

Медуллярные тяжи 46

Метод(ы) исследования, генетический нокаут 373

———**иммуноанализы** 377—382

— — иммунного статуса человека 266

———**клонирование** генов 369

———**животных** 368, 372

———**клеток** 369

———**мутагенез** направленный см. *Генетический нокаут*

Механизм(ы) апоптоза 153, 154

— биологической защиты от вредных факторов 19, 25, 26

———**антителозависимые** 233

— взаимодействия клеток в иммунном ответе 169

— деструкции 308

— иммунитета **эффektorные** 227, 243, 246

— лимфоцитарной цитотоксичности 236, 244, 246

— молекулярные 88

— образования комплексов пептидов-антигенов с молекулами МНС 191

— при разной локализации патогенов 253

— работы **ингибирующих** корцепторов 160

———**нормальных** киллеров 250

— **резистентности** к инфекции доиммунный 24, 164

— — — продуктам повреждения собственных клеток 23

— супрессии иммунного ответа 212

Миелома множественная 106

Миелопоэз 41

Микроглия 62

МНС см. *Комплекс гистосовместимости главный*

Молекулы адгезии клеток при иммунном ответе 170

— антигенов нативные 79

— — — сила связи 80

— **антигенпредставляющие** 140

— **антигенраспознающие** 81

— иммуноглобулинов, строение 75

— корцепторные Т-лимфоцитов 115

— **костимулирующие** 218

— МНС 64, 126, 134

———**структура** 131

— на поверхности эндотелия см. *Адресаты*

— TNF 198

— эффektorные 37

Мононуклеоз инфекционный см. *Вирус Эпштейна — Барр*

Моноциты 41, 57, 62

— маркеры 64

МСЛ см. *Лектин маннансвязывающий*

Мутагенез направленный 373

Н

Нейтрофилы 41, 62, 66, 130, 171

Некроз 151

Нуклеотиды 84, 86, 114

О

Онковирусы 226

Онкостатин М 192

Опсонины 25, 50, 54

Опсонизация 50, 57, 60, 71

Опухоли см. *В-лейкозы*

— и иммунная система 224

— тимуса 125

Органы иммунной системы 34—47

Ответ иммунный 161, 207, 261

— — взаимодействие клеток 169-204

———**дихотомия** 207

— — иммунологическая память 164

———**толерантность** 216

— — молекулярно-генетические родственники 79

— — отторжение трансплантата 219

———**супрессия** 212

— — тимуснезависимые антигены 205

Отек **ангионевротический** наследственный 58

П

Память иммунологическая 164

Папаин 78

Патогены 233, 253, 261, 286, 311

Патологические процессы с участием иммунных реакций 263

———**первичные** иммунодефициты 267

Пейеровы бляшки см. *Лимфатические групповые фолликулы*

Пентраксины 60, 71

Пептиды 67, 110, 123, 130-132, 156

Пептиды-агонисты 156

Пептиды-антагонисты 156

Пептиды-антибиотики эндогенные 67
 Перфорин 37, 245
 Печень 47, 62
 — макрофаги 62
 Пирогова глоточное кольцо 48
 Плазмоцитома 106
 Плазмоциты 204
 Пневмония, вызванная грибом *P. carinii* 302
 Полиангиит микроскопический 328
 Полимеразная цепная реакция 369
 Полиморфизм генов МНС 138
 Полисахариды см. *Аллергены*
 Полихондрит релапсирующий 330
 Простагландины 65, 70, 241
 Протеаза(ы) сывороточная 52, 54
 — цистеиновые 153
 Пропердин 54, 55
 Протеинкиназа ДНК-зависимая 86
 Протеины внутриклеточные негативной регуляции 160
 — кальцийзависимые сахарсвязывающие 60
 — кофакторные мембранные 59
 — LPS-связывающие 71
 — маннозосвязывающие 283
 — регуляторные 58—60
 — сурфактантные 68
 — токсичные 236
 Протектин 59
 Протоонкогены 106
 Пузырчатка вульгарная 313, 332
 Пурпура Геноха — Шенлейна 329
 — тромбоцитопеническая 313

Р

Распознавание антигенов лимфоцитами 26, 31, 120, 123, 136
 Рассеянный склероз 314, 323, 332

Реакции(я) иммунной системы 31, 237, 354, 369
 — — — аллергические на медикаменты 354
 —————анафилактические 356
 —————воспалительные 31
 — — — гиперчувствительности замедленные 335
 —————неаллергические 354
 —————опосредованные медиаторами базофилов 237
 — — — — тучных клеток 237
 — — — ответ на аллоантигены 219
 — — — полимеразная цепная 369
 Ревматоидный артрит 332
 Резистентность организма к инфекциям 23, 50, 68, 256
 — — — — биологические механизмы 50
 Рекомбиназа 85
 Рекомбинация ДНК 81, 85, 113, 137
 — гомологичная 374
 Ретикулоэндотелиоциты звездчатые см. *Клетки купферовские*
 Рецепторы антигенраспознающие 27, 30, 52, 59, 108, 121, 285
 — вируса Эпштейна — Барр 58
 — В-лимфоцитов для антигена 95
 — для клеточных мембран макрофага 63
 — — комплемента 56, 62
 —————маннозы на макрофагах 68
 — — «мусора» 69
 — — фактора некроза опухолей 186
 —————хемокинов 184, 188
 —————цитокинов 186
 — клеточные 56
 — лимфоцитов 157
 — мембраны макрофага 63
 — нормальных киллеров 144
 — Т- лимфоцитов 109, 113

С

- Саркома Капоши см. *СПИД*
Сахарный диабет инсулинзависимый 316, 332
CD-маркеры 386
Сезари синдром 125
Селезенка 47
Селектины 170
Семейство интерферонов 193
— молекул TNF 198
— цитокинов 189
Сенсбилизация организма 28
Синдром Вискотта — Олдрича 269, 280
— «голых лимфоцитов» 279
— гипогликемии 314
— Гудпасчера 313, 332
— Ди Джорджи 279
— иммунодефицита(ов) тяжелого 191
———первичных 268
———с дефектами иммуноглобулинов 273
— приобретенного 289
— иммунологического воспаления 308
— инфекционный 272
— Лайела 358
— лимфопролиферативный Х-сцепленный 279
— недостаточности фагоцитоза врожденной 282
— Сезари 125
— Churg - Strauss 329
— Чедиака — Хигаси 271, 281
— Шегрена 314
Система белков сывороточных 51
— иммунная, структура, функции 15, 24, 30, 66, 82
———центральные органы 37
— комплемента 50,53, 283
———пути активации 53
— лимфоцитарного иммунитета 66
— ферментативная гуморальная 23
— ферментов фагоцитов 65
— эндокринная 256, 316

- Системная(ые) анафилаксия 346
— васкулиты 325
— красная волчанка 314, 332
СПИД 17, 192, 289, 296, 305
— анализ иммунного статуса человека 266
— геном ВИЧ-инфекции 294
— диагностика 300
— клиническая картина 295
— лечение 301
— факторы пандемии антропогенные 294
— этиология 291
С-реактивный протеин см. *Белки острой фазы*
Субстанция анафилаксии медленно реагирующая см. *Лейкотриены*
Суперантигены 136, 155
Суперсемейство иммуноглобулинов 172
Супрессия иммунного ответа 212

Т

- Тельца вилочковой железы 43
— Гассалья см. *Тельца вилочковой железы*
Терапия иммунокорректирующая, принципы 362
———вакцинация 365
— — иммунодепрессивная 363
———иммуностимулирующая 367
Тимома 124
Тимоциты 42, 44, 116
— селекция негативная 118
———позитивная 118
Тимус, строение 42
— дифференцировка Т-лимфоцитов 116, 119, 125
Типы Fc-рецепторов 234
— — гиперчувствительность организма 237, 246
Тиреоидит Хашимото 313, 316, 332
Ткани(ь) иммунной системы 35, 48
— лимфоидная 37, 48

ТКИД с дефектом LAR 70, 279

— дефицитом аденозиндезаминазы 278

— X-сцепленный 278

T-лейкоз 125

T-лимфоциты, активация 146

— апоптоз 151

— дифференцировка 108, 116

— — в тимусе 116, 119

— иммунный ответ 163

— иммунодефицит 136

— иммунорецепторы 157

— корцепторные молекулы 115

— неиммунные 174

— противовирусная защита 134

— рецептор(а) для антигенов, строение 109

— гены α - и β -цепей 112

— — субпопуляций нормальных киллеров 143

— цитотоксические 244

Токсоплазмоз 302

Толерантность иммунологическая 216

— центральная 218

Трансплантация 22, 218, 222

— иммунитет 22

— иммунологически привилегированные места в организме 222

— отторжение трансплантата 219

— антигены гистосовместимости неглавные 123

Тромбоциты 41, 57, 59

Туберкулез 303

У

Увеит острый 332

Узлы лимфатические 44, 172, 174

Ф

Fab-фрагмент 75

Фагосомы 62

Фагоцит(ы) 25, 50, 62, 65

— дефекты 281

— распознавание объектов воздействия 26

— системы ферментов 65

Фагоцитоз 25, 57, 61, 255

Фактор(ы) гранулоцит-колониестимулирующий 192

— гуморальные иммунной системы 38

— доиммунной резистентности к инфекциям 68

— защиты организма 79

— иммунного отклонения 208

— лимфоцитарного иммунитета 228

— некроза **опухолей- α** 64, 69, 198-201

— пандемии СПИД антропогенные 294

— Р см. *Пропердин*

— системы комплемента 53

— ускоряющий распад 59

Феномен иммунологической памяти 164

— рекомбинации ДНК 81, 85, 113, 137

Фенотип 30

Ферменты рекомбиназы 85

— эндонуклеазы гетеродимерные 85

— ядерные ДНК 86

— цистеиновые протеазы 153

Фибробластный интерферон 194

Фолликулы лимфоидные 45, 48

«Формула» иммунного ответа 31

Фрейнда адьювант 29

Fc-фрагменты 74

Х

Хемокины 183, 236

Хромосомы 84, 88, 94, 111, 129

— аллельное исключение 88

— расположение МНС мышцы в хромосоме 17, 129

— — человека в хромосоме 6, 129

X-сцепленная агаммаглобулинемия Брутона 273

— — с синдромом гипер-IgM 274

Ц

Целиакия 318

Цепи молекул иммуноглобулинов 75, 83, 90, 94, 98, ПО
— полипептидные 115

Циклогеназа 241

Цитокины 37, 40, 64, 69, 177
— «бессемеjственные» 195
— влияние на продукцию иммуноглобулинов 205
— гематопэтины 189
— рецепторы 186
— свойство пар цитокин — клетка-мишень 189
— Т-лимфоцитов, биологический эффект 178, 180
— тучных клеток 241
— функциональные группы 179
— «цитокиновый взрыв» 66
Цитомегаловирусная инфекция 303

Цитолизины 37

Цитотоксины 245

Цитотоксические Т-лимфоциты 244

Цитотоксичность клеточная анти-телозависимая 236

Э

Экстравазация лейкоцитов из крови в ткани 173

Эндонуклеазы гетеродимерные 85

Эозинофилы, биологически активные продукты 41, 232, 236, 267

Эпидермоциты белые отростчатые 46

Эпитоп 80, 91

Эритропоз 41

Эритропэтин 189

Эритроциты 41, 130

Эффекторные молекулы 37

Учебник

Рахим Мусаевич Хаитов,
Галина Алексеевна **Игнатьева**,
Игорь Георгиевич Сидорович

ИММУНОЛОГИЯ

Зав. редакцией *Т.П.Осокина*
Научный редактор *Е.А.Гоголина*
Художественный редактор *С.М.Льшина*
Технический редактор *Т.Н.Жильцова*
Корректор *М.П.Молокова*

ЛР № 010215 от 29.04.97. Сдано в набор 11.05.2000. Подписано к печати 29.06.2000. Формат бумаги 60×90¹/₁₆. Бумага офсетная № 1. Гарнитура **Таймс**. Печать офсетная. Усл. печ. л. 27,0. Усл. кр.-отт. 65,0. Уч.-изд. л. 28,32. Тираж 10 000 экз. Заказ № 544.

Ордена Трудового Красного Знамени
издательство «Медицина».
101000, Москва, Петроверигский пер.,
6/8.

ОАО «Ярославский полиграфкомбинат».
150049, Ярославль, ул. Свободы, 97.

ISBN 5-225-04543-X



9 785225 045432