

Министерство сельского хозяйства РФ

ФГБОУ Брянский ГАУ

Институт ветеринарной медицины и биотехнологии

Кафедра эпизоотологии, микробиологии, паразитологии  
и ветеринарно-санитарной экспертизы

ИВАНОВ Д.В.

## **ИММУНОЛОГИЯ ЕСТЕСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ**

Учебно-методическое пособие  
для студентов института ветеринарной  
медицины и биотехнологии специальности «Ветеринария»

**БРЯНСКАЯ ОБЛАСТЬ 2022**

УДК 619:612.017 (076)

ББК 48.47

И 20

Иванов, Д. В. Иммунология. Естественная резистентность: учебно-методическое пособие для студентов института ветеринарной медицины и биотехнологии специальности «Ветеринария» / Д. В. Иванов. – Брянск: Изд-во Брянский ГАУ, 2022. - 74 с.

В пособии представлены: основные клеточные и гуморальные факторы, осуществляющие неспецифическую защиту организма. Эти вопросы необходимы для усвоения курса по дисциплине "Иммунология" как под руководством педагога, так и в процессе самостоятельной работы.

Пособие содержит 2 таблицы и 6 рисунков.

Учебно-методическое пособие предназначено для студентов очной и заочной форм обучения сельскохозяйственных и аграрных вузов (36.05.01), изучающих иммунологию.

Рецензенты:

*Доктор биологических наук, профессор кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы Брянского ГАУ Е.В. Крапивина.*

Рекомендовано к изданию методической комиссией факультета института ветеринарной медицины и биотехнологии Брянского ГАУ, протокол № 9 от «25» апреля 2022 года.

© Брянский ГАУ, 2022

© Иванов Д.В.

## Введение

В настоящее время общепринятым является представление о том, что в организме человека и животных существует единая нейроэндокринно-иммунная система регуляции, которая выполняет всеобъемлющую функцию по координации деятельности всех органов и систем как единого целого, обеспечивая адаптации организма к постоянно меняющимся факторам внешней и внутренней среды. Результатом этого является сохранение гомеостаза, который необходим для поддержания нормальной жизнедеятельности организма и его резистентности.

Под резистентностью понимают устойчивость организма к действию физических, химических и биологических агентов, способных вызвать патологическое состояние. Термины «резистентность» и «иммунитет» идентичны (невосприимчивость, устойчивость к чему-либо). Но под иммунитетом чаще понимают устойчивость живых организмов к воздействию биологических факторов как способ защиты внутреннего постоянства организма от живых тел и веществ, несущих в себе признаки генетически чужеродной информации.

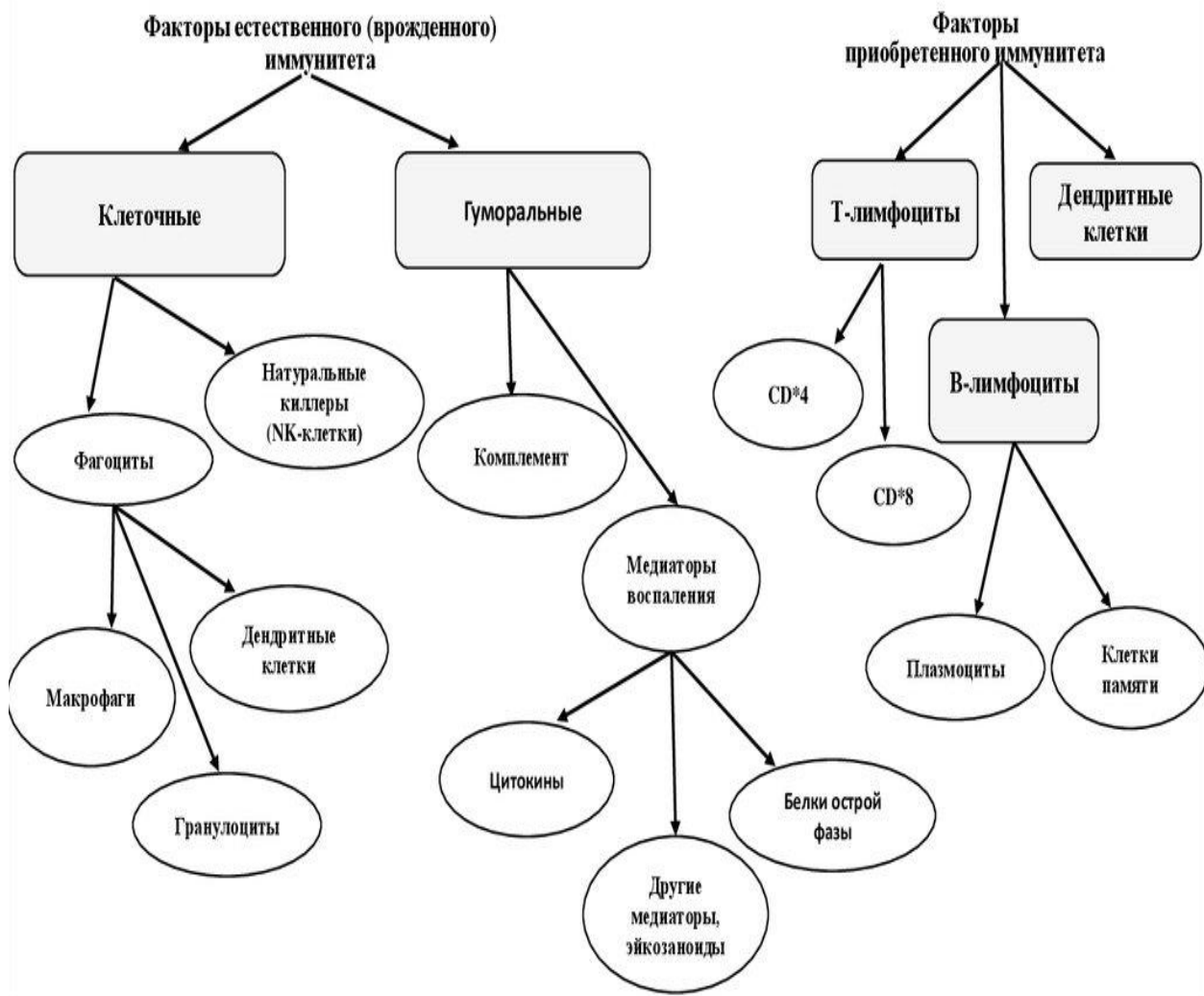
В процессе эволюции в живых организмах возникли три основные системы резистентности: конституциональная, фагоцитарная и лимфоидная. Конституциональная система резистентности (клеточная мембрана, эпителиальные и эндотелиальные покровы, фитонциды, лизоцим, интерферон, комплемент и др.), являясь самой древней по происхождению, включает в себя механические и химические факторы защиты. Она присуща всем живым организмам – от одноклеточных до позвоночных. Конституциональные факторы резистентности возникли в результате мутаций и наследственного закрепления молекулярного устройства организма, препятствующего взаимодействию с неблагоприятными для организма экологическими, физиологическими и химическими агентами.

Растениям, бактериям, вирусам, простейшим, грибам присуща только конституциональная система резистентности. У беспозвоночных и у позвоночных организмов в дополнение к конституциональной появилась фагоцитарная защита – фагоцитоз чужеродных агентов с участием нейтрофилов и макрофагов.

Конституциональные факторы и фагоцитирующие клетки принято называть неспецифическими факторами защиты, факторами естественной резистентности, или факторами неспецифического иммунитета.

У позвоночных животных неспецифическая система резистентности дополнена мощной лимфоидной специфической (специфическим иммунитетом), достигшей наибольшего развития у теплокровных животных, внутренняя среда которых благоприятна не только для собственных клеток. Наличие всех питательных веществ и постоянная температура тела создали благоприятные условия для жизнедеятельности практически непредсказуемого количества возможных чужеродных организмов, что, вероятно, и послужило причиной возникновения у высших животных дополнительной, наиболее совершенной, специальной защиты ко всему генетически чужеродному, проникающему в организм.

Специфическая система иммунитета имеет свои центральные и периферические органы, в которых происходят образование, дифференцировка и созревание иммунных лимфоцитов – основных факторов специфического иммунитета. Каждый клон иммунных лимфоцитов специфически действует лишь против определенного антигена. Лимфоциты по кровеносным и лимфатическим сосудам, межтканевым щелям проникают в самые отдаленные участки тела, распознают и уничтожают чужеродные в генетическом отношении вещества, в том числе и микробной природы, нередко погибая при этом. Специфический иммунитет является приобретенным и не передается по наследству.



**Рисунок 1.** Схема иммунной защиты организма.

## Врожденный (естественный) иммунитет

Реализация врожденного иммунитета обусловлена деятельностью многих типов клеток. Основную роль при этом играют **клетки миелоидного происхождения**, играющие роль классических эффекторов врожденного иммунитета.

К миелоидным клеткам относят, в первую очередь, большинство **лейкоцитов крови** (все лейкоциты, кроме лимфоцитов). Все они развиваются в органах кроветворения (у взрослых млекопитающих, включая человека, – в костном мозге), все проходят стадию циркуляции в составе лейкоцитов крови. Одни клетки (дендритные, тучные) циркулируют настолько кратковременно и в столь малом количестве, что при обычном определении лейкоцитарной формулы их выявить не удастся. Другие клетки (нейтрофилы, моноциты) представляют основной компонент пула лейкоцитов крови. Все разновидности миелоидных клеток спонтанно мигрируют из крови в ткани, где быстро погибают (нейтрофилы) или длительно функционируют, проникая в качестве **резидентных клеток** практически во все органы и ткани, изменяя при этом под влиянием микроокружения свои морфофункциональные особенности (так, к тканевым формам моноцитов относят макрофаги и миелоидные дендритные клетки). Кроме того, кровотоком служит депо, из которого клетки мигрируют в очаги развивающегося воспаления (например, при проникновении патогенов и т.д.), где преимущественно и реализуется их защитная функция. Таким образом, участие миелоидных клеток в обеспечении врожденного иммунитета складывается из экстренной реакции клеток, мобилизуемых из кровотока в условиях воспаления, и постоянной «фоновой» деятельности резидентных клеток. Дендритным клеткам принадлежит другая важная особенность – они обеспечивают запуск адаптивного иммунитета.

## Кроветворные стволовые клетки и миелопоэз

У взрослых млекопитающих, включая человека, миелопоэз происходит в костном мозге. Все клетки крови происходят от гемопоэтических стволовых

клеток. Стволовые кроветворные клетки проходят 3 стадии развития, различающиеся по способности восстанавливать кроветворение при переносе их облученным животным:

- стволовые клетки длительного действия;
- стволовые клетки короткого действия;
- мультипотентные родоначальные клетки

Для всех стадий характерен мембранный фенотип  $\text{Lin}^- \text{Sca-1}^+ \text{c-Kit}^+$  [ $\text{Lin}$  – линейные маркеры;  $\text{Sca-1}$  – антиген стволовых клеток (*Stem cell antigen*);  $\text{c-Kit}$  – лиганд фактора стволовых клеток  $\text{SCF}$  (*Stem cell factor*)]. Стволовые клетки на 2-й и 3-й стадии развития несут на поверхности молекулу  $\text{CD34}$ . Этот маркер чаще всего используют в качестве идентификационного для выявления стволовых клеток и их ближайших потомков. Для гемопоэтических стволовых клеток человека характерно отсутствие линейных маркеров, наличие молекулы  $\text{CD34}$  и отсутствие молекулы  $\text{CD38}$ . Последняя появляется на стадии коммитированных предковых клеток – общих лимфоидного ( $\text{CLP}$ ) и миелоидного предшественников. В костном мозге человека содержится 0,5–5%  $\text{CD34}^+$  клеток, только 1–10% из них лишены  $\text{CD38}$ , т.е. могут рассматриваться как кандидаты в стволовые клетки. Истинных стволовых клеток, т.е. клеток, способных длительно поддерживать гемопоэз *in vitro* или при пересадке в организм, значительно меньше – 1 на  $10^4$   $\text{Lin}^- \text{CD34}^+ \text{Thy-1}^-$  клеток.

Стволовые клетки делятся медленно (около 5% находятся в S и G2 фазах клеточного цикла; каждая клетка делится 1 раз в 30–60 сут). Жизнеспособность стволовых клеток обеспечивается стромальными клетками костного мозга, формирующими их нишу. Большинство стволовых кроветворных клеток расположено в эндостальной части костного мозга, а также в синусоидах (соответственно – эндостальная и сосудистая ниши). Таких клеток мало в центральной части костного мозга. Основную роль в поддержании жизнеспособности и обеспечении функционирования стволовых клеток играют их контакты со специализированными остеобластами ниш. В зонах контакта происходит взаимодействие многих пар молекул, включая молекулы адгезии (интегрины и их ре-

цепторы), мембранные цитокины (SCF и его лиганд, c-Kit), хемотаксические молекулы (хемокины и их рецепторы) и т.д. Роль растворимых факторов (цитокинов) в регуляции жизнеспособности и активности стволовых клеток невелика. Стволовые клетки входят в клеточный цикл и дифференцируются только при ослаблении связи с нишей и утрате контактов с остеобластами. Важная особенность стволовых клеток – сбалансированность процессов пролиферации и дифференцировки: на уровне популяции одна из дочерних клеток продолжает делиться, тогда как другая подвергается дифференцировке, то есть созревает. В результате пролиферирующие клетки образуют как бы ствол, от которого постоянно отделяются клетки, уходящие в дифференцировку.

Дифференцируясь, стволовые кроветворные клетки дают начало двум основным ветвям клеток крови – миелоидной и лимфоидной. Несколько схематизируя, можно сказать, что эти ветви обеспечивают развитие клеток соответственно врожденного и адаптивного иммунитета. Исходные клетки миелоидного пути развития клеток – общие миелоидные предшественники. Они образуются как в эндостальной, так и в сосудистой нишах и отличаются от стволовых клеток отсутствием мембранной молекулы Sca-1, а от CLP – рецептора для IL-7.

Из общего миелоидного предшественника происходят все клетки крови, кроме лимфоцитов. Рассмотрим только развитие клеток врожденного иммунитета по 3 линиям дифференцировки. Наиболее важная из них – гранулоцитарно-макрофагальная, или GM-линия. Она дает начало двум дочерним линиям – моноцитарной (M-линия) и гранулоцитарной (G-линия). Вопрос о развитии эозинофилов и базофилов до конца не решен. Есть данные о наличии у них общего предшественника, дифференцирующегося впоследствии на эозинофильную и базофильную линии. С помощью традиционного морфологического подхода выделяют несколько стадий развития миелоидных клеток: миелобласты, промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты, палочкоядерные и сегментоядерные (зрелые) формы. Клетки на 2 последних стадиях в норме присутствуют в кровотоке. Накапливается все больше свидетельств, что традиционное представление гемопоэза в виде «дерева» не точно, поскольку описаны многочисленные от-



клонения от сложившейся схемы. Так, известны клетки-предшественники, общие для моноцитов и В-лимфоцитов или моноцитов и Т-лимфоцитов. Гемопозезу свойственна значительная степень пластичности.

Для дифференцировки миелоидных (как и любых других) клеток необходима экспрессия определенного набора факторов транскрипции. Эти ядерные белки обладают сродством к конкретным последовательностям ДНК в промоторных участках генов и, соединяясь с ними, обеспечивают экспрессию этих генов. Обычно с промотором соединяется целый комплекс транскрипционных факторов, среди которых есть постоянно присутствующие (конститутивные) и индуцируемые факторы; некоторые из них характерны для различных стадий развития клеток. Так, при миелопоэзе для большинства линий и стадий развития клеток выявлены относительно специфичные для них транскрипционные факторы. Например, экспрессия транскрипционного фактора *Ikaros* характерна для лимфоидной, но не миелоидной ветви гемопозеза. При миелопоэзе высокий уровень экспрессии фактора PU.1 необходим для развития клеток GM-линии, низкий уровень выявляют в клетках эозинофильного ряда, а в базофилах этот фактор отсутствует. Моноцитарный и гранулоцитарный ряды различаются скорее комбинацией транскрипционных факторов, чем наличием одного специфичного; нейтрофилы отличаются от моноцитов экспрессией разных изоформ фактора C/EBP. Спектры дифференцировочных факторов базофилов и других миелоидных клеток крови не перекрываются.

Незрелые кроветворные клетки легко подвергаются апоптозу. Для сохранения жизнеспособности им необходимо присутствие в микроокружении цитокинов. Основным цитокином, общим практически для всех миелоидных клеток, начиная от общего миелоидного предшественника, считают гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF). На ранних этапах миелопоэза сходную роль выполняет IL-3, называемый также полипоэтином. При созревании и специализации клеток для сохранения жизнеспособности им необходимы линейно-специфические цитокины: для моноцитарного ряда – моноцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), а для

нейтрофильного – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF). Подобную роль при развитии эозинофилов играет IL-5. Во всех этих случаях наряду с названными цитокинами роль фактора выживания и колониестимулирующего фактора выполняют GM-CSF и, в меньшей степени, IL-3. Базофилам для развития нужен комплекс факторов, в котором главную роль играет CSF.

Между появлением гранулоцитарно-макрофагального предшественника и его дифференцировкой на моноцитарно-макрофагальный и гранулоцитарный предшественники проходит около 5 сут – это один из самых длительных этапов миелопоэза. Следующий этап – созревание – значительно отличается по продолжительности для моноцитов и гранулоцитов: если для созревания моноцита необходимо 2–3 сут, то для созревания нейтрофильного гранулоцита – 10–12 сут. После созревания моноциты находятся в костном мозге еще сутки и затем покидают его, поступая в кровотоки. При этом клетки сохраняют способность к делению и дальнейшей дифференцировке. Нейтрофилы остаются в костном мозге в течение 1–2 сут и выходят в кровь не просто зрелой, а старой клеткой с ограниченными способностями, неспособной к делению, индуцированной экспрессии генов и синтезу белка. Наиболее короткий промежуток времени требуется для развития в костном мозге эозинофилов (2–4 сут). Аналогичные данные для базофилов отсутствуют.

Выход лейкоцитов из костного мозга в кровотоки происходит вследствие ослабления взаимодействия хемокинов, выделяемых стромальными клетками костного мозга с рецепторами лейкоцитов. Наиболее важный хемокин, удерживающий созревающие клетки в костном мозге, – CXCL12 (SDF-1 – *Stroma derived factor 1*, фактор стромальных клеток 1), распознаваемый рецептором CXCR4. Под влиянием колониестимулирующих факторов (гемопоэтинов) происходит ослабление выработки хемокинов и экспрессии их рецепторов, что позволяет созревшим клеткам покинуть костный мозг. Сегментоядерные (нейтрофильные и эозинофильные) лейкоциты пребывают в кровотоке менее 12 ч; моноциты циркулируют в течение нескольких дней. Затем клетки мигрируют из крови в ткани. Этот процесс регулируется хемокиновыми сигналами и происходит с

участием молекул адгезии (селективных, интегринов) и их рецепторов. В норме экстравазация лейкоцитов осуществляется по тем же законам, что и при воспалении, но менее интенсивно в связи с меньшей проницаемостью сосудистой стенки и более слабой хемокиновой стимуляцией.

Длительность пребывания миелоидных клеток в тканях также существенно варьирует: для нейтрофилов и эозинофилов она значительно меньше, чем для моноцитов. Так, в тканях нейтрофилы живут всего 3–5 сут, эозинофилы – 10–12 сут, тогда как моноциты (точнее, макрофаги, в которые они превращаются в тканевом микроокружении) могут находиться в тканях до нескольких лет (для разных субпопуляций макрофагов этот показатель существенно различается). Нейтрофилы, эозинофилы и базофилы мобилизуются из крови в ткани в особых экстренных случаях (острое воспаление, аллергические процессы). Моноциты/макрофаги, наоборот, играют преимущественно роль клеток, длительное время живущих и функционирующих в различных тканях. В связи с этим нужно отметить значительно более высокую производительность гранулоцитопоеза по сравнению с моноцитопоезом. За сутки в организме человека образуется и поступает в кровотоки около  $10^{11}$  нейтрофилов, что по массе составляет около 100 г, т.е. примерно 0,1% от массы тела; такое же количество гранулоцитов ежедневно погибает. Производительность моноцитопоеза в 20 раз ниже: за сутки образуется и поступает в кровотоки до  $5 \times 10^9$  моноцитов. Это обусловлено значительно большей продолжительностью жизни моноцитов/макрофагов.

Существует ещё по крайней мере 2 разновидности миелоидных клеток, происходящих из костного мозга, но использующих кровяное русло только в качестве кратковременного транзитного участка по пути в ткани – дендритные и тучные клетки. Развитие этих клеток будет рассмотрено отдельно при описании их функций.

## Нейтрофилы

# Сегментоядерный нейтрофил (ЭМФ)

- 1-ядро
- 2-цитоплазма
- 2.1-специфические гранулы
- 2.2-неспецифические гранулы
- 2.3-псевдоподии

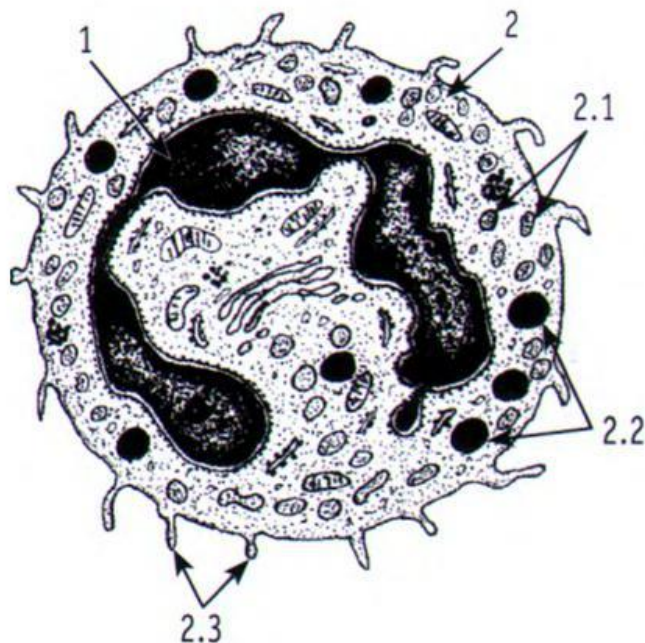


Рисунок 2. Структура сегментоядерного нейтрофила

Нейтрофильные сегментоядерные лейкоциты (нейтрофильные гранулоциты, или нейтрофилы) – преобладающая популяция белых клеток крови. Развитие нейтрофилов контролируется цитокинами, из которых главную роль играет G-CSF, а вспомогательную – GM-CSF, IL-3 и IL-6. Повышение содержания нейтрофилов в условиях воспаления регулируется цитокинами IL-17 и IL-23. IL-23 индуцирует образование IL-17, а он стимулирует выработку G-CSF.

В крови человека содержится  $2,0-7,5 \times 10^9/\text{л}$  нейтрофилов, что составляет 50–70% от общего числа лейкоцитов крови; также в крови присутствует некоторое количество ( $0,04-0,3 \times 10^9/\text{л}$ , т.е. 1–6%) палочкоядерных форм нейтрофилов, не завершивших созревание. Ядро таких клеток не сегментировано, хотя и имеет уплотненную структуру хроматина. В кровотоке присутствует только 1–2% общего числа зрелых нейтрофилов в организме (остальные представлены в тканях, преимущественно в костном мозге). Срок их пребывания в циркуляции составляет 7–10 ч.

После кратковременной циркуляции нейтрофилы покидают кровоток и мигрируют в ткани. Примерно 30% нейтрофилов, выходящих из кровотока, мигрируют в печень и костный мозг; около 20% – в легкие (точнее в их микроциркуляторное русло); около 15% – в селезенку. Основными хемотаксическими факторами для нейтрофилов служат лейкотриен В<sub>4</sub> и ИЛ-8, в небольших количествах вырабатываемые в тканях. Миграция происходит с участием молекул адгезии ( $\beta_2$ -интегрины, Р- и Е-селектины), а также фермента эластазы, секретлируемого самими нейтрофилами. Через 3–5 сут пребывания в тканях нейтрофилы подвергаются спонтанному апоптозу, т.е. запрограммированной гибели, и их фагоцитируют резидентные макрофаги, что предотвращает нанесение ущерба окружающим клеткам. В настоящее время допускается возможность превращения небольшой фракции тканевых нейтрофилов в долгоживущую форму и даже их дифференцировки в макрофаги. В целом функция тканевых нейтрофилов остается невыясненной.

Диаметр нейтрофилов составляет 9–12 мкм. Им свойственна уникальная морфология: ядро сегментированное (обычно состоит из 3 сегментов) с плотно упакованным хроматином (гетерохроматином); цитоплазма содержит нейтральные (по данным окрашивания) гранулы, что и определяет название этих клеток. Особенности хроматиновой структуры ядра (недоступность промоторных участков для дифференцировочных факторов) значительно ограничивает экспрессию генов и синтез макромолекул нейтрофилами *de novo*. Тем не менее, вопреки ранее существовавшим представлениям, нейтрофилы сохраняют способность к биосинтезу, хотя и в ограниченном масштабе.

Поскольку нейтрофилы имеют характерную морфологию, потребность в определении их мембранного фенотипа возникает только при специальном цитометрическом анализе. Для нейтрофилов характерна экспрессия на поверхности клетки ряда молекул: CD13 (аминопептидаза N, рецептор для ряда вирусов), CD14 – рецептора для липополисахарида (ЛПС) (представлен в меньших количествах, чем на моноцитах),  $\beta_2$ -интегринов (LFA-1, Mac-1 и p155/95); Fc-рецепторов [Fc $\gamma$ RII (CD32) и Fc $\gamma$ RIII (CD16)], рецепторов для компонентов ком-

плементы (CR1, CR3 и CR4), рецепторов для хемотаксических факторов (C3aR, C5aR, рецептор для лейкотриена B4). Под влиянием ряда цитокинов (прежде всего GM-CSF) нейтрофилы экспрессируют молекулы МНС класса II (МНС-II); молекулы МНС-I экспрессируются на них конститутивно. Наиболее важные молекулы, определяющие развитие, миграцию и активацию нейтрофилов, – рецепторы для G-CSF (основного фактора, регулирующего их развитие), а также для IL-17 и IL-23, основного хемотаксического фактора – IL-8 (CXCR1, CXCR2) и хемокина, определяющего связь нейтрофилов с тканями – SDF-1 (CXCR4).

Наибольшее своеобразие свойственно гранулам нейтрофилов, представляющим разновидность лизосом. Различают 4 разновидности гранул этих клеток: азурофильные (первичные), специфические (вторичные), желатиновые (третичные) и секреторные везикулы. Специфические гранулы содержат ферменты, проявляющие свою активность при нейтральных и слабощелочных значениях pH: лактоферрин, щелочную фосфатазу, лизоцим, а также белок BPI, связывающий витамин B<sub>12</sub>. Маркерами этой разновидности гранул служат лактоферрин и мембранная молекула CD66.

В специфических гранулах содержится большое количество фермента NADPH-оксидазы, катализирующего «кислородный взрыв» и образование активных форм кислорода – главных факторов бактерицидности фагоцитов. Азурофильные гранулы содержат широкий набор гидролаз и других ферментов, активных при кислых значениях pH: миелопероксидазу, α-фукозидазу, 5'-нуклеотидазу, β-галактозидазу, арилсульфатазу, α-ман-нозидазу, N-ацетилглюкозаминидазу, β-глюкуронидазу, кислую глицерофосфатазу, лизоцим (мурамилидазу), нейтральные протеазы (серпроцидины) – катепсин G, эластазу, коллагеназу, азурацидин, а также дефензины, кателицидины, лактоферрин, гранулофизин, кислые глюкозаминогликаны и другие вещества. Маркерами азурофильных гранул служат фермент миелопероксидаза и мембранная молекула CD63. Желатиновые (третичные) гранулы в соответствии с названием содержат желатиназу. Наконец, четвертый тип гранул – секреторные везикулы – содержат щелочную фосфатазу.

**Таблица 1.** Свойства гранул клеток врожденного иммунитета

Тип клеток	Разновидность гранул	Состав гранул	Функциональное назначение содержимого
Нейтрофилы	Специфические (вторичные)	NAGPH-оксидаза, лактоферрин, щелочная фосфатаза, лизоцим и т.д.	Быстрая фаза бактериолиза
	Азурофильные (первичные)	Миелопероксидаза, кислые гидролазы, лизоцим, дефензины, нейтральные протеазы (серпроцидины) и т.д.	Медленная фаза бактериолиза
	Желатиновые (третичные)	Желатиназа	Обеспечение миграции
	Секреторные везикулы	Щелочная фосфатаза	Взаимодействие с микроокружением
Эозинофилы	Специфические (крупные, вторичные)	Главный основной белок, катионный белок, пероксидаза, нейротоксин, коллагеназа, миелопероксидаза, цитокины: GM-CSF, TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6	Внеклеточный цитолиз
	Мелкие	Арилсульфатаза В, кислая фосфатаза, пероксидаза	Бактерицидность
	Первичные	Лизофосфолипаза (в кристаллах Шарко–Лейдена)	Липидный метаболизм
	Липидные тельца	Арахидоновая кислота, липоксигеназа, циклоксигеназа	Выработка эйкозаноидов
Тучные клетки	Базофильные	Гистамин, протеазы, пептидогликаны, гликозаминогликаны, протеин Шарко–Лейдена, пероксидаза	Предобразованные факторы немедленной аллергии
Базофилы	Базофильные	Гистамин, протеазы, пептидогликаны, гликозаминогликаны, кислые гидролазы, пероксидаза	Предобразованные факторы немедленной аллергии
НК-клетки	Цитотоксические	Перфорин, гранзим В, гранулизин	Осуществление цитолиза

При стимуляции нейтрофилов в первую очередь происходит высвобождение содержимого секреторных пузырьков. Преодолевать базальные мембраны нейтрофилам позволяет секрет желатиновых гранул. Специфические, а затем азурофильные гранулы сливаются с фагосомами в процессе фагоцитоза (через 30 с и 1–3 мин после поглощения частицы соответственно). Комплекс бактерицидных факторов, присутствующих в гранулах, обеспечивает разрушение многих микроорганизмов. Наиболее эффективно содержимое гранул повреждает стрептококки, стафилококки и грибы (включая кандиды). Содержимое гранул, особенно азурофильных, может секретироваться в результате дегрануляции. После дегрануляции восстановления гранул не происходит.

Наряду с моноцитами/макрофагами нейтрофилы рассматривают как основные фагоцитирующие клетки. При этом нейтрофилы мигрируют из крови в очаг воспаления значительно быстрее моноцитов. Скорость мобилизации нейтрофилов дополняется их способностью развивать метаболические процессы («кислородный взрыв») в течение секунд. Все это делает нейтрофилы оптимально приспособленными для осуществления ранних этапов иммунной защиты в рамках острой воспалительной реакции.

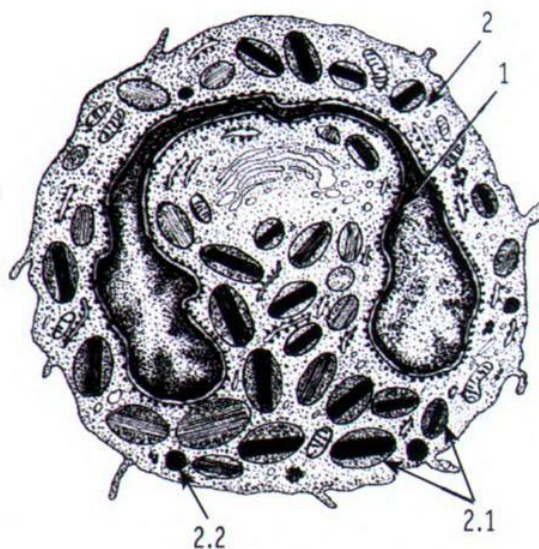
**Таблица 2.** Функциональные различия нейтрофилов и моноцитов/макрофагов

Свойство	Нейтрофилы	Моноциты/макрофаги
Сроки жизни	Короткий (3–5 сут)	Длительный (недели, месяцы)
Темп мобилизации и активации	Быстрый (минуты)	Более медленный (часы)
Длительность активации	Короткая (минуты)	Длительная (часы)
Способность к пиноцитозу	Умеренная	Высокая
Способность к фагоцитозу	Очень высокая	Высокая
Регенерация мембраны	Отсутствует	Происходит
Реутилизация фагосом	Невозможна	Возможна
Нелизосомная секреция	Отсутствует	Имеется
Fc-рецепторы	FcγII, FcγIII; при активации – FcγI	FcγI (спонтанно), FcγII, FcγIII

### Эозинофилы

### Эозинофильный гранулоцит

- **1-ядро**
- **2-цитоплазма**
- **2.1-специфические гранулы**
- **2.2-неспецифические гранулы**



**Рисунок 3.** Структура эозинофила



Эозинофилы составляют небольшую часть клеток крови (у человека – 0,5–2% от числа лейкоцитов). В крови они циркулируют меньше суток (по разным данным, от 30 мин до 18 ч), после чего мигрируют в ткани и пребывают там в течение 10–12 сут. Зрелые эозинофилы представляют крупные клетки (18–20 мкм в диаметре) с сегментированным (двудольным) ядром. Они содержат крупные (до 1 мкм) эозинофильные гранулы. Помимо этих крупных гранул, называемых специфическими, или вторичными, в зрелых эозинофилах присутствуют еще три типа гранул – первичные, мелкие гранулы, а также липидные тельца.

На поверхности эозинофилов присутствуют маркерные молекулы CD9 и CD35 (рецептор для комплемента – CR1), что позволяет отличить их от нейтрофилов с помощью проточной цитометрии. Кроме того, на клеточной мембране эозинофилов содержится ряд функционально важных рецепторов для антител изотипов IgG (FcγRII, FcγRIII – соответственно CD32 и CD16) и IgE (FcεRII, или CD23), цитокинов (для IL-5, GM-CSF, IL-3 и др.) и хемокинов (в особенности рецептор для эотаксина CCR3). На поверхности эозинофилов экспрессированы молекулы МНС, причем не только I, но и II класса, что позволяет эозинофилам в определенных ситуациях выступать в качестве АПК. Наконец, на поверхности эозинофилов представлены разнообразные молекулы адгезии, среди которых преобладают β<sub>2</sub>-, β<sub>1</sub>- и β<sub>7</sub>-интегрины и их рецепторы.

Главный щелочной белок (*MBP – major basic protein*), определяющий эозинофильность гранул; эозинофильный катионный белок (*ECP – eosinophil cationic protein*); эозинофильная пероксидаза (*EPO – eosinophilic peroxydase*) и нейротоксин, происходящий из эозинофилов (*EDN – eosinophil-derived neurotoxin*) – основные компоненты крупных (специфических) эозинофильных гранул. MBP (13,8 кДа) представлен в кристаллической форме и формирует сердцевину гранул. Три других белка содержатся в матриксе гранул. Для MBP и ECP характерна токсичность в отношении гельминтов, обусловленная способностью этих молекул встраиваться в мембрану клеток гельминтов и тем самым нарушать их целостность. ECP и EDN обладают активностью фермента,

расщепляющего рибонуклеиновую кислоту (РНКазы), что определяет их участие в противовирусной защите. Все четыре белка могут быть токсичными для собственных тканей организма. В специфических гранулах присутствуют также цитокины и ферменты (коллагеназа, эластаза,  $\beta$ -глюкуронидаза, катепсин, РНКаза, миелопероксидаза). В мелких гранулах, присутствующих только в тканевых формах эозинофилов, содержатся ферменты (кислая фосфатаза, арилсульфатаза, пероксидаза и ряд других), а в первичных гранулах – кристаллы Шарко–Лейдена, основу которых составляет липофосфолипаза. Липидные тельца содержат все необходимое для синтеза эйкозаноидов: арахидоновую кислоту, липоксигеназу и циклоксигеназу. Секретция содержимого гранул осуществляется за счет экзоцитоза и дегрануляции. При секреции кристаллический МВР переходит в растворимую форму.

Роль эозинофилов в иммунной защите в первую очередь состоит в осуществлении внеклеточного цитолиза, которому принадлежит основная роль в защите от многоклеточных паразитов. Большинство белков эозинофилов повреждают клетки макропаразитов; некоторые (МВР, ЕСР и ЕРО) – также нормальные клетки организма; ЕСР и EDN обладают активностью рибонуклеазы и оказывают противовирусное действие. Основные белки эозинофилов способствуют развитию аллергических реакций (через активацию тучных клеток и базофилов с участием МВР), оказывают регулирующее действие на иммунные процессы (действуя на Т-клетки).

Эозинофилам свойственна слабая фагоцитарная активность. При активации в них образуются и затем секретируются разнообразные бактерицидные вещества – производные «кислородного взрыва»: активные формы кислорода, перекиси, производные оксида азота, цианидов и галогенов.

Эозинофилы секретируют широкий спектр цитокинов: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-18, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , TGF $\beta$ , GM-CSF, а также ряд хемокинов (эотаксин – CCL11, RANTES – CCL5, MIP-1 $\alpha$  – CCL3), эйкозаноиды (лейкотриены, фактор агрегации тромбоцитов – PAF), нейропептиды. Хемотаксическими факторами для эозинофилов служат эотаксины

(CCL11, CCL24, CCL26), RANTES, а также IL-5. Основные хемокиновые рецепторы эозинофилов – CCR1, CCR2 и CCR3, взаимодействующие с RANTES и эотаксинами. Именно эотаксины 1, 2 и 3 обуславливают основное направление спонтанной миграции эозинофилов – в пищеварительный тракт (они локализуются в *lamina propria* слизистых оболочек). Во время менструальных циклов и при беременности усиливается миграция эозинофилов в матку и молочные железы, где они принимают участие в морфогенезе. Ограниченные количества эозинофилов мигрируют в тимус. Привлечение эозинофилов в очаг аллергического поражения осуществляется преимущественно провоспалительным хемокином RANTES (CCL5), лейкотриенами, PAF и IL-5. Из молекул адгезии наиболее важны для миграции эозинофилов в ткани интегрины:  $\beta_7$ - ( $\alpha_4\beta_7$ ),  $\beta_1$ - (VLA-4 –  $\alpha_4\beta_1$ ) и все три  $\beta_2$ -интегрина, экспрессируемые на поверхности эозинофилов.

Функция эозинофилов в норме заключается в регуляции развития тучных клеток и морфогенетических процессов, связанных с беременностью и половым циклом у самок. Малоизученным остается участие эозинофилов в положительной селекции Т-клеток в тимусе. Благодаря механизму внеклеточного цитолиза, основными факторами которого служат белки гранул эозинофилов, при биологической агрессии эти клетки играют ключевую роль в защите от некоторых гельминтов и других патогенов. Являясь источником ряда цитокинов, эозинофилы участвуют в запуске Th2-зависимых иммунных процессов, в частности аллергических.

### Базофильный гранулоцит (ЭМФ)

- 1-ядро
- 2-цитоплазма
- 2.1-специфические гранулы
- 2.2-неспецифические гранулы

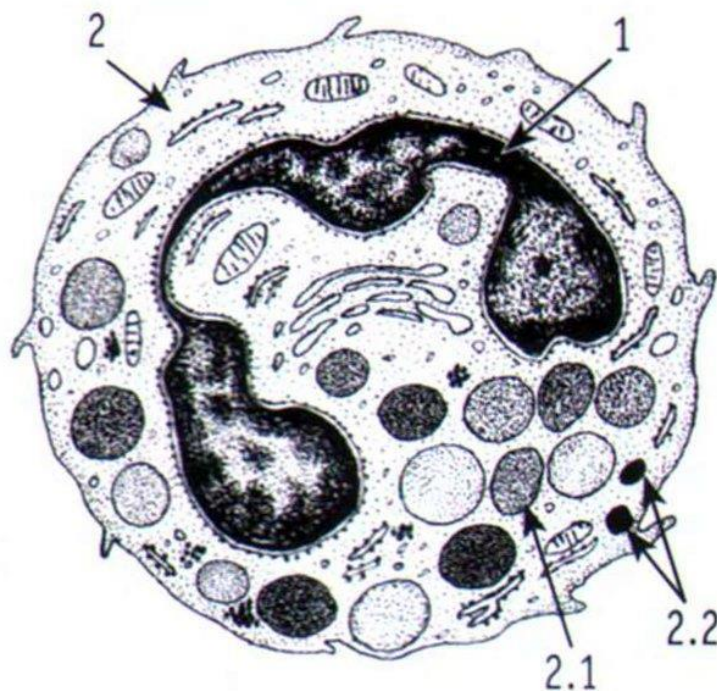


Рисунок 4. Структура базофила

Тучные клетки (мастоциты) и базофилы представляют тканевые клетки, содержащие в цитоплазме базофильные гранулы. Оба типа клеток имеют костномозговое происхождение и принадлежат к миелоидному ряду. Их объединяет ряд других свойств, о которых будет сказано ниже. В отличие от базофилов, относящихся к клеткам крови, тучные клетки не циркулируют в крови и представляют тканевые клетки. Мастоциты реагируют на разного рода повреждающие воздействия, участвуют в развитии воспаления, служат основными эффекторными клетками при гиперчувствительности немедленного типа и входят в первую линию иммунной защиты, обеспечивая в первую очередь защиту от многоклеточных паразитов. Базофилы также могут выполнять аналогичные функции. Однако если тучные клетки, находясь в очагах повреждения, реагируют на него немедленно, вовлечение базофилов в подобные реакции требует

их миграции в ткани, что исключает участие базофилов в инициации и осуществлении ранних этапов реакций врожденного иммунитета.

Предполагают, что у тучных клеток и базофилов есть общий предшественник. Однако неясно, развивается ли он непосредственно из общего миелоидного предшественника или служит ответвлением одного из основных направлений миелоидной дифференцировки (эозинофильно-базофильного). Окончательная дифференциация предшественников этих клеток происходит в селезенке. Базофилы могут созревать как в костном мозге, так и в селезенке, и мигрируют в кровотоки. Дифференцировка тучных клеток проходит иначе: в кровотоки поступают предшественники тучных клеток (у человека эти клетки в циркуляции имеют фенотип  $CD13^+ CD33^+ CD34^+ CD38^+ CD117^+$ ). Из кровотока предшественники тучных клеток мигрируют в ткани (в наибольшем количестве – в слизистую оболочку кишечника), где и завершается созревание мастоцитов. Основные факторы, определяющие дифференцировку тучных клеток – SCF и IL-3; в качестве кофакторов выступают IL-4, IL-9, IL-10 и фактор роста нервов (NGF). В частности, эти факторы обуславливают формирование гранул и пролиферацию клеток. В слизистых оболочках в роли фактора, необходимого для развития тучных клеток, выступает IL-33. Тучные клетки сохраняют способность к делению и имеют длительный срок жизни – месяцы и даже годы.

Диаметр тучных клеток варьирует от 10 до 20 мкм. Они имеют овальную форму с ворсинчатой поверхностью. Мембранный фенотип тучных клеток выражается формулой  $FcεRI^+ CD13^+ CD29^+ CD45^+ CD117^+ CD123^+$ . Среди мембранных молекул тучных клеток наиболее важны для реализации их функции высокоаффинные рецепторы IgE – FcεRI.

Как уже было сказано, главная морфологическая особенность этих клеток – наличие в их цитоплазме большого количества базофильных гранул (10–150 на клетку). Гранулы разновидностей тучных клеток варьируют по составу, однако они всегда содержат вазоактивные амины, главный из которых – гистамин – реализует значительную часть эффектов тучных клеток при аллергических реакциях. Кроме того, в гранулах содержатся хондроитинсульфаты А и С и/или

гепарин, а у некоторых видов животных (например, у кроликов) – серотонин. В состав гранул входят также ферменты: прежде всего протеазы, а также дегидрогеназа, пероксидаза, РНКаза, гистидинкарбоксилаза и кислые гликозамингликаны. Выделяют 3 группы протеаз тучных клеток: триптазы (ферменты со специфичностью, близкой к трипсину; у мышей – 5 разновидностей), химазы (сходны по специфичности с химотрипсином; у мышей – 4 варианта) и карбоксипептидазу А (относится к металлопротеиназам). Перечисленные факторы, содержащиеся в гранулах, – предобразованные вещества. Перекрестное связывание рецепторов FcεRI комплексами IgE-антител с аллергенами обуславливает высвобождение содержимого гранул (дегрануляцию) и проявление всех основных реакций гиперчувствительности немедленного типа. Дегрануляция может быть вызвана также повышением содержания внутриклеточного цАМФ или концентрацией в цитозоле ионов Ca<sup>2+</sup>. Дегрануляция не сопровождается гибелью клеток – гранулы после выброса регенерируют. Тучные клетки несут некоторые патогенраспознающие рецепторы (TLR-2, TLR-3, TLR-4), что позволяет им распознавать патогены и их продукты напрямую.

При стимуляции тучные клетки синтезируют и секретируют эйкозаноиды и цитокины. Из эйкозаноидов в тучных клетках наибольшим количеством вырабатываются лейкотриен С4 и простагландин Е2. Спектр цитокинов, секретируемых тучными клетками, сходен со спектром цитокинов, продуцируемых Т-хелперами 2-го типа (Th2): IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, GM-CSF. Тучные клетки вырабатывают также провоспалительные (IL-1, IL-8, IL-12, IL-18, IL-21, IL-23, TNFα) и гомеостатические цитокины (IL-7 и IL-15), а также TGFβ, некоторые хемокины и интерфероны основных типов. IL-4, TNF и GM-CSF мастоциты вырабатывают спонтанно, образование остальных цитокинов индуцируется стимуляторами. Активированные тучные клетки продуцируют ряд пептидных ростовых факторов (сосудистый – VEGF, фибробластный – FGF, фактор роста нервов – NGF). Спектр секретируемых цитокинов (особенно спонтанная выработка IL-4) определяет иммунорегуляторную функцию тучных клеток, главное проявление которой – участие в индукции дифференцировки Th2-клеток.

Для тучных клеток характерны поверхностные маркеры: CD117 (c-Kit) – рецептор для SCF и CD123 – рецептор для IL-3. SCF и IL-3 (помимо их роли в качестве факторов, определяющих развитие тучных клеток) служат основными факторами роста зрелых мастоцитов. Тучные клетки несут на своей поверхности также высокоаффинные FcγI-рецепторы и рецепторы для компонентов комплемента C3b и C3d (мукозные тучные клетки лишены CR1), что свидетельствует об их участии в реакциях врожденного иммунитета. На поверхности тучных клеток присутствуют молекулы МНС обоих классов; наличие МНС-II, а также костимулирующих молекул CD86 придает мастоцитам способность выполнять функции АПК, особенно при индукции Th2-клеток.

Тучные клетки локализуются в подслизистом слое слизистых оболочек (особенно в кишечнике), соединительнотканном слое кожи (дерме), серозных оболочках, селезенке, периваскулярной соединительной ткани.

В 1 г названных тканей содержится  $10^4$ – $10^6$  тучных клеток. Мастоциты легко идентифицировать по окрашиваемости толуидиновым синим или алциановым синим. Выделяют два варианта тучных клеток: слизистые, или мукозные (тип t), и серозные (тип ct). Названия отражают 2 главных отличительных признака этих клеток – преимущественную локализацию и преобладающий тип протеаз (триптазы – t или хемотриптазы – ct). Оба типа тучных клеток происходят из костного мозга, но только клетки t-типа в своем развитии зависят от тимуса и отсутствуют у генетически бестимусных мышей. Продолжительность жизни серозных тучных клеток выше, чем слизистых. Основным ростовым фактором для клеток обоих типов – SCF; в качестве кофактора для слизистых тучных клеток выступают IL-3 и IL-4, для серозных – только IL-3. Преобладающий тип протеогликана в слизистых тучных клетках – хондроитинсульфат, в серозных – гепарин. На поверхности мукозных мастоцитов экспрессировано больше FcεRI, они содержат больше IgE в цитоплазме, чем серозные. Тучные клетки разных типов различаются также интенсивностью секреции эйкозаноидов: в слизистых тучных клетках больше лейкотриенов, в серозных – простагландина. Несмотря на существенные различия, до конца не известно, являются ли эти разновидности

сти тучных клеток истинными субпопуляциями или представляют фенотипические варианты единой популяции тучных клеток, дифференцирующиеся под влиянием факторов микроокружения. У разных типов тучных клеток микроокружение различается: мастоциты типа *t* локализованы главным образом в подслизистом слое мукозы, а тучные клетки типа *ct* – в серозных полостях, дерме и миндалинах. Участие в защите от паразитов и развитии аллергических реакций доказано только для слизистых тучных клеток (типа *t*), тогда как серозные мастоциты причастны скорее к развитию склеротических процессов.

В противоположность тучным клеткам базофилы в норме представлены в кровяном русле. Их содержание в крови очень невелико – до 0,5% от числа лейкоцитов. По своей морфологии базофилы сходны как с другими типами гранулоцитов, так и с тучными клетками. Однако от других гранулоцитов базофилы отличаются наличием базофильных гранул, а от мастоцитов – сегментированным ядром, округлой формой и меньшей величиной. Для базофилов миграция в очаг аллергии – основное условие выполнения их функций. Базофилы мигрируют из кровотока в очаг аллергического воспаления наряду с эозинофилами и нейтрофилами. На них больше, чем на тучных клетках, экспрессировано рецепторов для хемотаксических факторов – бактериального формилметионильного пептида, анафилатоксинов C3a и C5a,  $\alpha$ - и  $\beta$ -хемокинов (CXCR1, CXCR4, CCR1, CCR2, CCR3). Как и тучные клетки, базофилы несут на своей поверхности высокоаффинные (Fc $\epsilon$ RI) и низкоаффинные (Fc $\epsilon$ RII, или CD23) рецепторы для IgE, H<sub>2</sub>-рецепторы для гистамина. Однако, в отличие от мастоцитов, базофилы не экспрессируют FcR $\gamma$ I. Спектр TLR, экспрессируемых базофилами, значительно беднее, чем у тучных клеток. В отличие от мастоцитов, базофилы не несут на своей поверхности c-Kit. В состав базофильных гранул входят: гистамин, протеазы (химаза и триптаза) и некоторые другие ферменты, пептидогликаны (преимущественно хондроитинсульфаты), гликозаминогликаны. Количество гранул в базофилах меньше, чем в тучных клетках, и они содержат меньше протеаз. Спектр активных веществ, секретлируемых базофилами, ограничен; он включает: лейкотриен C4, IL-4, IL-13 и ряд других цитокинов.

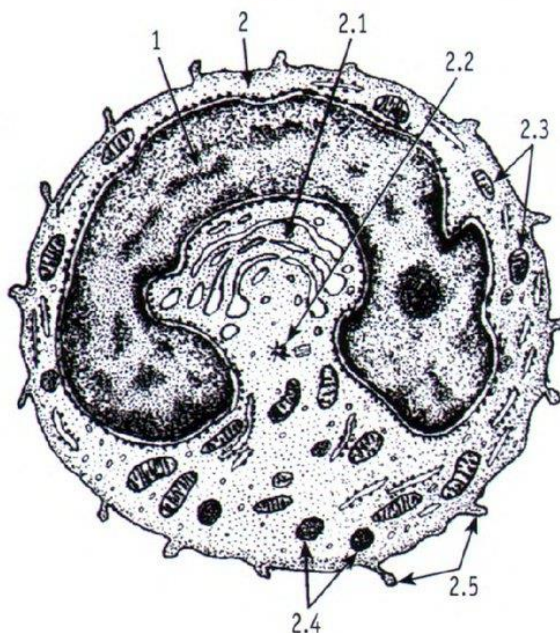


Функция базофилов в тканях сходна с функцией тучных клеток – они поддерживают аллергический процесс, инициированный тучными клетками, высвобождая содержимое гранул в ответ на перекрестное связывание FcεRI. В отличие от тучных клеток, базофилы не способны восстанавливать гранулы.

## Моноциты и макрофаги

### Моноцит (ЭМФ)

- 1-ядро
- 2-цитоплазма
- 2.1-комплекс Гольджи
- 2.2-центриоли
- 2.3-митохондрии
- 2.4-неспецифические гранулы
- 2.5-псевдоподии



**Рисунок 5.** Структура моноцита

Моноциты и макрофаги представляют стадии развития миелоидных клеток. Они образуют мононуклеарную фагоцитирующую систему. Роль макрофагов в качестве одних из основных фагоцитирующих клеток установлена в 1882 г. И.И. Мечниковым, давшим этим клеткам их название. В 20-е гг. XX века Л. Ашоф (L. Aschoff) создал учение о ретикуло-эндотелиальной системе – защитной системе, объединяющей тканевые фагоцитирующие клетки. Позже для обозначения практически той же системы стали использовать термин «мононуклеарная фагоцитирующая система».

Циркулирующий вариант клеток – моноцит, тканевый – макрофаг. Превращение моноцита в макрофаг происходит под влиянием тканевого микроокружения и сопровождается экспрессией новых генов, т.е. может рассматриваться как дифференцировка клеток. Эту дифференцировку регулирует M-CSF. Моноциты представляют довольно крупные клетки (диаметром 9–15 мкм) с ядром бобовидной формы и тонкой структурой хроматина. Макрофаги значительно крупнее моноцитов (диаметр составляет 20–25 мкм) и имеют распластанную форму. В отличие от округлых моноцитов, макрофаги имеют неправильные очертания и морфологически полиморфны.

Часто морфологических признаков оказывается недостаточно для дифференциации моноцитов от макрофагов, а также для определения их разновидностей. В этом случае используют дополнительные приемы, такие как определение ферментов или мембранных молекул-маркеров. Наиболее важные в функциональном отношении мембранные молекулы моноцитов/макрофагов – рецепторы, предназначенные для распознавания PAMP, в первую очередь – толл-подобные рецепторы (TLR). Ни на каких других клетках эти рецепторы не представлены так разнообразно, как на моноцитах и макрофагах. Это обеспечивает макрофагам и моноцитам возможность распознавать фактически все основные группы паттернов. На этих клетках обнаружены все разновидности TLR, для которых характерна экспрессия на поверхности клеток – TLR-1, TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-6, TLR-11. С мембранным рецептором TLR-4 функционально связан один из основных маркеров моноцитов и макрофагов – молекула CD14. CD14 взаимодействует с комплексом бактериального ЛПС с ЛПС-связывающим белком, что облегчает взаимодействие ЛПС с TLR-4. TLR, распознающие чужеродные нуклеиновые кислоты (TLR-3, TLR-7, TLR-8, TLR-9), локализованы внутриклеточно – на мембранах цитоплазматических гранул. К группе мембранных молекул, распознающих паттерны, следует отнести молекулу CD13 (аминопептидаза N), характерную для моноцитов, но не макрофагов. Как уже было отмечено, CD13 обладает сродством к антигенам оболочки ряда вирусов.

Для моноцитов/макрофагов свойственна также экспрессия других рецеп-

торов врожденного иммунитета – лектиновых. Лектиновые рецепторы моноцитов и макрофагов распознают свободные D-гликозильные остатки глюкозы, галактозы, маннозы, фукозы, N-ацетилглюкозамина, N-ацетилгалактозамина. На собственных клетках организма такие остатки экранированы остатками сиаловой кислоты и экспонируются преимущественно на старых клетках, подлежащих элиминации. Патогены (бактерии, грибы, простейшие) несут на поверхности гликоконъюгаты с неэкранированными гликозильными остатками, распознаваемыми лектиновыми рецепторами макрофагов, что облегчает фагоцитоз патогенов.

В результате распознавания происходит эндоцитоз (пиноцитоз, фагоцитоз) образующихся комплексов. Наиболее важный рецептор лектиновой группы – маннозный рецептор (MR, CD206), характерный для макрофагов и слабее экспрессированный на моноцитах. И на моноцитах, и на макрофагах присутствуют лектиновые рецепторы DC-SIGN (CD209) и дектин-1. Экспрессия дектина-1 подавляется при активации макрофагов. Сигналом к фагоцитозу является также связывание с лигандами так называемых *scavenger*-рецепторов («мусорщиков»), к которым относят молекулу MSR (*Macrophage scavenger receptor*, CD36), обладающую сродством к коллагену.

Другая группа рецепторов, разнообразно представленных на моноцитах/макрофагах, – Fc-рецепторы (молекулы, распознающие Fc-участок молекул иммуноглобулинов, обычно в связанном с антигеном состоянии). Эти рецепторы обеспечивают распознавание и облегчают фагоцитоз и разрушение моноцитами и макрофагами опсонизированных антителами клеток (в том числе патогенных), параллельно происходит активация фагоцитов. Моноциты экспрессируют полный набор Fc $\gamma$ -рецепторов – Fc $\gamma$ RI (CD64), Fc $\gamma$ RII (CD32) и Fc $\gamma$ RIII (CD16). На макрофагах присутствуют только Fc $\gamma$ RII и Fc $\gamma$ RIII. Моноциты – единственный тип клеток, спонтанно экспрессирующих Fc $\gamma$ RI, обладающий наиболее высоким сродством к молекуле IgG и способный связывать его даже в свободном состоянии, а не только в составе иммунного комплекса, как это происходит обычно. На моноцитах и макрофагах представлены также рецепторы для Fc-части IgA (Fc $\alpha$ R) и

низкоаффинные рецепторы для IgE – FcεRII (CD23). Эти рецепторы участвуют в регуляции синтеза антител соответствующих изотипов.

Благодаря присутствию на поверхности моноцитов и макрофагов рецепторов для комплемента (CR) эти клетки распознают фрагменты факторов комплемента, прикрепленные к поверхности патогенов. Большинство рецепторов распознает фрагменты C3b и C3d – CR1 (CD35), CR3 (CD11b/ CD18, или Mac-1) и CR4 (CD11c/CD18, или p150,95). Функция этих рецепторов сходна с таковой Fc-рецепторов: они облегчают распознавание клеток-мишеней фагоцитами и поставляют в фагоцитирующие клетки активационные сигналы. Моноциты/макрофаги экспрессируют также рецепторы для фактора C1q и хемотаксических факторов-анафилатоксинов C3a и C5a.

Поскольку для проявления функциональной активности моноцитам/ макрофагам важно взаимодействие с межклеточным матриксом (в процессе миграции) и с другими клетками (при участии в реакциях иммунитета), на их поверхности представлено большое число молекул адгезии. Среди них особенно важны интегрины, например  $\beta_1$ -интегрины, обеспечивающие связи с молекулами межклеточного матрикса (коллагеном, фибронектином, ламинином). Из  $\beta_1$ -интегринов на моноцитах экспрессированы VLA-4, VLA-2, VLA-5 и VLA-6, 3 последних на макрофагах отсутствуют. VLA-2, VLA-5 и VLA-6 взаимодействуют с названными молекулами матрикса, а VLA-4 – еще и с мембранной молекулой лимфоцитов и самих активированных макрофагов VCAM-1. Все 3  $\beta_2$ -интегрина – LFA-1, Mac-1 (CR3) и p150,95 (CR4) – присутствуют на поверхности как моноцитов, так и макрофагов.  $\beta_2$ -интегрины взаимодействуют преимущественно с интегриновыми рецепторами ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102) и ICAM-3 (CD50), присутствующими как на T-лимфоцитах, так и на самих макрофагах (особенно после их активации), а также на активированных эндотелиальных и эпителиальных клетках. За адгезию к эндотелиальным клеткам, необходимую при транссосудистой миграции, отвечает молекула PECAM (CD31). К молекулам адгезии необходимо отнести также CD15 (Lewis X) – углеводный компонент мембранных гликоконъюгатов (разветвленный трисахарид), служащий рецептором для молекул адгезии селектинов, который распознает углеводы.

Функционально важную группу поверхностных молекул моноцитов/ макрофагов образуют молекулы МНС и костимулирующие молекулы. Роль МНС состоит в представлении (презентации) антигенных пептидов ТСR. Если молекулы МНС-I присутствуют на всех ядродержащих клетках организма, то молекулы МНС-II экспрессированы только на специализированных АПК, к которым наряду с дендритными клетками и В-лимфоцитами относят макрофаги. Экспрессия молекул МНС-II усиливается при активации клеток. Презентация антигена – узловое событие иммунного ответа, связывающее реакции врожденного и адаптивного иммунитета. В ходе презентации молекула МНС распознается как самим ТСR, так и корецепторами – CD8 и CD4, обладающими сродством к молекулам МНС-I и МНС-II соответственно. Молекула CD4 в небольшом количестве экспрессирована на некоторых макрофагах, что делает их чувствительными к инфицированию вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), для которого молекула CD4 служит основным рецептором. Помимо презентации антигена, для эффективной активации Т-клеток необходима их костимуляция. Она достигается при взаимодействии пар молекул АПК и Т-лимфоцита, называемых костимулирующими. Со стороны АПК (в том числе макрофага) в роли костимулирующих выступают молекулы CD80 и CD86. Первая из них появляется на поверхности клетки только после активации, вторая экспрессируется конститутивно (даже на покоящихся клетках), но при получении активационного сигнала ее экспрессия усиливается.

Важная группа мембранных молекул моноцитов/макрофагов – рецепторы для цитокинов. Из них наиболее специфичен для моноцитов и макрофагов Fms (CD115) – рецептор для их линейного фактора M-CSF. Наличие Fms позволяет дифференцировать моноциты и их предшественники от клеток гранулоцитарного ряда, на которых этот рецептор отсутствует. Для проявления макрофагами их функций, как эффекторных клеток иммунитета, особенно важны рецепторы для интерферона  $\gamma$  (IFN $\gamma$ RI и IFN $\gamma$ RII – CD119), для провоспалительных цитокинов (которые они сами же и секретируют) IL-1 (CD121a, CD121b) и TNF (CD120a, CD120b), а также рецепторы для IL-6, IL-12, IL-18, колониестимули-

рующего фактора GM-CSF (CD116) и ряда других цитокинов. Высокая подвижность моноцитов и особенно макрофагов требует экспрессии рецепторов для хемотаксических факторов. Некоторые из них (рецепторы для C3a и C5a) уже упоминались. Моноциты и макрофаги располагают широким спектром рецепторов для специализированных хемотаксических цитокинов – хемокинов, особенно провоспалительных: CXCR1, CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR8, CX<sub>3</sub>CR1.

При гистохимической идентификации моноцитов/макрофагов определяют наличие в клетках неспецифической эстеразы, диффузно распределяющейся в цитоплазме. Выявление ряда ферментов позволяет оценить степень зрелости этих клеток. Так, например, миелопероксидаза содержится в значительном количестве в моноцитах, их превращение в макрофаги сопровождается утратой этого фермента. Экспрессия 5'-нуклеотидазы, β-галактозидазы и аминопептидазы при этом, наоборот, возрастает, а трансглутаминазу удается выявить только в зрелых макрофагах. Помимо названных, в макрофагах присутствуют и другие ферменты – коллагеназа, протеиназы, липазы, нуклеазы, фосфатазы и др. Некоторые ферменты макрофагов участвуют в реализации бактерицидной активности: кислородзависимой (NADPH-оксидаза, миелопероксидаза, каталаза), не зависящей от кислорода (лизоцим, катепсины, эластаза, аргиназа, протеазы и другие гидролазы), и в генерации оксида азота (индуцибельная NO-синтаза). Процессы, осуществляемые с участием этих ферментов, описаны далее.

Моноциты и макрофаги секретируют некоторые из указанных выше ферментов, а также цитокины, гормоны (адренокортикотропный (АКТГ) и соматотропный гормоны, β-эндорфин и др.), катионные белки, протеогликаны, метаболиты арахидоновой кислоты, компоненты комплемента, белки межклеточного матрикса (фибронектин, тромбоспондин). Некоторые из них (три последние группы факторов, некоторые ферменты) моноциты/макрофаги секретируют спонтанно, но активация обычно усиливает их выработку. С секреторной активностью связано выполнение макрофагами других функций: поставки ряда гуморальных факторов врожденного иммунитета, иммунорегуляторной роли, а

также участия в обмене липидов и формировании межклеточного матрикса. Особенность моноцитов/макрофагов – быстрая реакция на действие стимулирующих молекул, реализуемая обычно в пределах 1 ч после контакта с молекулой. Однако в этой функции макрофаги значительно уступают нейтрофилам.

В связи со значительными различиями свойств моноцитов/макрофагов и нейтрофилов физиологическая роль этих клеток практически не перекрывается, даже несмотря на то, что основная функция тех и других – фагоцитоз. Если нейтрофилы ответственны за самый ранний этап защиты, осуществляемой с помощью фагоцитоза (проходит интенсивно, но кратковременно), то моноциты/макрофаги, помимо фагоцитоза (реализуется менее интенсивно и более продолжительно), выполняют многочисленные другие функции, в том числе опосредованные секретируемыми ими гуморальными продуктами.

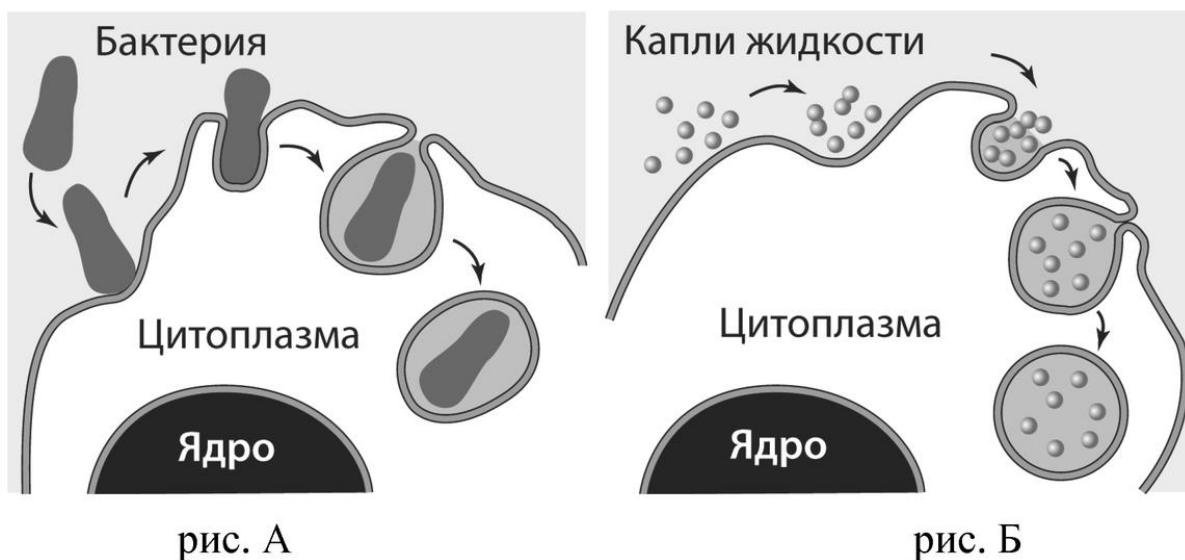


Рисунок 6. А – фагоцитоз; Б – пиноцитоз

Среди секреторных продуктов макрофагов наиболее важную роль в развитии воспаления и реакций врожденного иммунитета играют цитокины. Их секреция, как правило, происходит при активации клеток. Спектр цитокинов, секретируемых моноцитами и макрофагами, очень широк: цитокины семейства IL-1 (IL-1 $\beta$ , IL-18, в меньшей степени IL-1 $\alpha$ , представленный на мембране макрофагов и рецепторный антагонист IL-1) и другие провоспалительные цитокины – TNF $\alpha$ , IL-6, IL-12, IL-23, IL-27. Макрофаги продуцируют все 3 разновид-

ности колониестимулирующих факторов (GM-CSF, G-CSF и M-CSF), интерфероны (особенно  $IFN\alpha$ , но также  $IFN\beta$  и  $IFN\gamma$ ), гомеостатический цитокин IL-15, супрессорные цитокины (IL-10 и трансформирующий фактор роста  $\beta$  – TGF $\beta$ ), ростовые/ ангиогенные факторы (фибробластный – FGF, тромбоцитарный – PDGF, сосудистый эндотелиальный – VEGF). Моноциты/макрофаги образуют большую часть провоспалительных хемокинов: CXCL8 (IL-8), CCL5 (RANTES), макрофагальные воспалительные белки (CCL3, CCL4, CCL9, CCL10, CCL15, CCL18, CCL23), макрофагальные хемотаксические белки (CCL2, CCL7, CCL8, CCL12, CCL13) и др.

Секреторная функция моноцитов и макрофагов (в отличие от гранулоцитов) реализуется в основном по классическому механизму, зависящему от аппарата Гольджи, тогда как дегрануляция, т.е. выброс содержимого лизосом и фаголизосом, играет незначительную роль. Эти формы секреторного процесса отличаются в зависимости от наличия интактных микротрубочек – разрушение микротрубочек колхицином нарушает процесс дегрануляции, но может даже усилить аппарат Гольджи-зависимую секрецию. Дегрануляцией осуществляется выброс продуктов окислительного взрыва, производных оксида азота, кислых гидролаз и других лизосомальных ферментов. Эти факторы обуславливают внеклеточный цитолиз и переваривание клеток и их компонентов, т.е. эффекторные функции врожденного иммунитета, тогда как продукты классического секреторного процесса в большей степени участвуют в регуляции воспаления и реакций врожденного иммунитета.

Есть свидетельства неоднородности популяции моноцитов. На основе мембранного фенотипа и функциональных особенностей выделяют две основные разновидности этих клеток:  $CD14^{hi} CD16^{-}$  и  $CD14^{+} CD16^{+}$ . Клетки первого типа составляют большинство моноцитов крови. Они имеют более крупные размеры и более высокую плотность, чем вторые клетки. Клеткам с фенотипом  $CD14^{hi} CD16^{-}$  свойственна высокая фагоцитарная и бактерицидная активность. Они секретируют полный спектр провоспалительных цитокинов.  $CD14^{hi} CD16^{-}$  клетки экспрессируют в большом количестве Fc $\gamma$ RI (CD64), рецепторы для хе-



мотаксических факторов и  $\beta_2$ -интегрины, особенно Mac-1 (CD11b/CD18). Таким образом, эти клетки имеют необходимые маркеры для эмиграции в очаги воспаления, осуществления фагоцитарной и цитолитической активности и поэтому рассматриваются как предшественники воспалительных макрофагов. Клетки фенотипа  $CD14^+ CD16^+$  экспрессируют большое количество МНС-II и костимулирующих молекул, обладают относительно слабой фагоцитарной активностью, но эффективно презентруют антиген Т-лимфоцитам, и секретируют  $IFN\alpha$ .  $CD14^+ CD16^+$  клетки рассматривают в качестве предшественников резидентных макрофагов.

Миграция моноцитов в ткани сопровождается их превращением в разнообразные формы макрофагов и дендритных клеток. Дифференцировка моноцитов в дендритные клетки будет рассмотрена в следующей главе. Выделяют две основные разновидности макрофагов – резидентные и воспалительные. Резидентные макрофаги возникают в результате спонтанной («плановой») миграции моноцитов из кровотока в ткани, не связанной с воспалением, тогда как воспалительные макрофаги образуются в процессе экстренной миграции в очаги воспаления. Превращение в макрофаги сопровождается увеличением размера и формы клеток (обусловлены перестройкой цитоскелета), изменением экспрессии некоторых мембранных молекул (ослабевает экспрессия CD13, CD14, CD15,  $\beta_1$ -интегринов,  $Fc\gamma RI$ , усиливается экспрессия CD16). Это сказывается на ответе клеток на внешние стимулы. Воспалительные макрофаги обладают высокой фагоцитарной и бактерицидной активностью, выделяют ряд цитокинов и других гуморальных веществ, важных для формирования воспаления и реализации иммунной защиты. Эти свойства позволяют воспалительным макрофагам играть роль эффекторных клеток воспаления и врожденного иммунитета. Резидентные макрофаги выполняют преимущественно гомеостатические и регуляторные функции, участвуя в разрушении старых клеток, регуляции иммунных и воспалительных процессов, а также выступают в роли АПК. Резидентные макрофаги обладают более длительным сроком жизни (годы по сравнению с неделями для воспалительных макрофагов).

Воспалительные и резидентные моноциты мигрируют из кровотока в ткани по-разному, поскольку в первом случае решающая роль принадлежит гуморальным факторам и молекулам адгезии, индуцируемым в процессе воспаления, а во втором – невоспалительным гомеостатическим факторам. В качестве хемокина для резидентных макрофагов выступает фракталкин (CX<sub>3</sub>CL1). Рецепторы для этого хемокина (CX<sub>3</sub>CR1) экспрессированы в большом количестве преимущественно на CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> моноцитах, при миграции в ткани становящихся резидентными макрофагами. CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> моноциты слабо экспрессируют этот рецептор, но несут рецептор CCR2 для провоспалительных хемокинов преимущественно группы MCP (CCL2, CCL7, CCL8, CCL13, CCL16). В связи с этим CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> клетки обладают способностью мигрировать в очаги воспаления и превращаться в воспалительные макрофаги. Наличие рецептора CCR2 – очень важное свойство CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> клеток, поэтому эту субпопуляцию моноцитов иногда обозначают как CD14<sup>hi</sup>CCR2<sup>+</sup>. Эти клетки экспрессируют еще несколько хемокиновых рецепторов, отсутствующих у предшественников резидентных макрофагов: CCR1, CCR4, CCR7, CXCR1, CXCR2. Эти рецепторы распознают практически все провоспалительные и часть гомеостатических цитокинов. В свою очередь, предшественники резидентных макрофагов, помимо рецептора для фракталкина, несут еще несколько хемокиновых рецепторов, отсутствующих или слабо экспрессированных на воспалительных моноцитах – CCR5 и CXCR4 (отметим, что эти рецепторы служат корецепторами для ВИЧ и, следовательно, способствуют инфицированию этим вирусом макрофагов).

Резидентные макрофаги, локализованные в разных органах, могут существенно различаться по морфологии, составу экспрессируемых поверхностных маркеров, спектру секретлируемых цитокинов и функциям. Большинство из них имеют собственные названия. Так, макрофаги печени, называемые клетками Купфера, имеют звездчатую форму; они занимают пространство между сосудами печени и гепатоцитами и участвуют в фильтрации продуктов, поступающих из кровотока в паренхиму печени. Численность этих клеток очень велика: на их долю приходится до 50% клеток мононуклеарной фагоцитирующей си-

стемы. Определенным своеобразием отличаются альвеолярные макрофаги (способны мигрировать в просвет альвеол), перитонеальные макрофаги, макрофаги центральной нервной системы (микроглия), почек (мезангиальные клетки), костей (остеокласты), тимуса (их важнейшая функция состоит в удалении тимоцитов, в массовом порядке погибающих в процессе развития и селекции), макрофаги вторичных лимфоидных органов и т.д. Вариабельность макрофагов проявляется также и на уровне активированных клеток. Однако в этом случае разнообразие обусловлено не только собственными свойствами моноцитов/макрофагов, но и природой стимуляторов.

### **Дендритные клетки**

Уже в начале 60-х годов XX века стало понятным, что макрофаги не являются единственным типом «вспомогательных» или, используя современную терминологию, АПК. Было сформулировано представление об А-клетках – малочисленных адгезивных клетках, обладающих очень высокой способностью обрабатывать антиген, делая его пригодным для стимуляции Т-лимфоцитов. В 1973 г. Р. Стейнман и З. Кон описали древовидные клетки лимфоидных органов и назвали их дендритными клетками. К концу 80-х годов были накоплены данные, позволяющие рассматривать эти клетки как главные «профессиональные» АПК. По эффективности презентации антигена они на 2 порядка превосходят макрофаги, что обусловлено, прежде всего, более высокой экспрессией на дендритных клетках продуктов генов МНС, особенно МНС-II, а также коstimулирующих молекул. В результате только дендритные клетки способны активировать наивные Т-лимфоциты. Презентация антигена, являющаяся основной функцией дендритных клеток, служит сигналом для запуска иммунного ответа.

Для зрелых дендритных клеток характерны 3 фундаментальных свойства, объединяющие все их разновидности:

– отростчатая, древовидная морфология в тканях и наличие псевдоподий и ворсинок (вуалевые клетки) в циркуляции и культуре клеток;

– высокая экспрессия зрелыми клетками молекул МНС не только I, но и II класса в сочетании с костимулирующими молекулами (CD80, CD86);

– способность захватывать (путем пиноцитоза и, в меньшей степени, фагоцитоза) и обрабатывать антиген с последующим его представлением Т-лимфоцитам, что вызывает активацию последних. Дендритная морфология не является исключительной особенностью дендритных клеток. Так, в коже мышей присутствуют дендритные Т-лимфоциты, гистогенетически не родственные дендритным клеткам. Только сочетание перечисленных свойств может служить основанием для отнесения клетки к разряду дендритных.

Дендритные клетки происходят от кроветворных стволовых клеток, т.е. имеют костномозговое происхождение. Главные особенности развития дендритных клеток:

– дендритные клетки происходят как из миелоидных, так и из лимфоидных предшественников;

– способность к дифференцировке в дендритные клетки присуща представителям этих ростков на разных стадиях их развития. Наряду с этим допускается существование специализированного предшественника дендритных клеток;

– в периферической крови присутствуют дендритные клетки на промежуточных стадиях развития, после чего они мигрируют в ткани;

– по крайней мере для некоторых дендритных клеток характерно перемещение из барьерных тканей в лимфоидные, сопровождающееся их созреванием.

Большинство дендритных клеток принадлежит миелоидному ряду. В условиях культуры удастся получить миелоидные дендритные клетки двумя способами: путем культивирования клеток костного мозга, обогащенных CD34<sup>+</sup> стволовыми элементами, в присутствии GM-CSF и других цитокинов (чаще всего – TNF $\alpha$ , иногда – IL-3, SCF, FLT3L или TGF $\beta$ ) или при культивировании выделенных из крови моноцитов в присутствии GM-CSF и IL-4. Культивирование моноцитов *in vitro* в присутствии M-CSF приводит к дифференцировке CD14<sup>+</sup> макрофагов, а культивирование в присутствии GM-CSF (для клеток человека – в сочетании с IL-4) – к дифференцировке CD14<sup>-</sup> дендритных клеток.

Считают, что и *in vivo* миелоидные дендритные клетки могут развиваться как из гранулоцитарно-моноцитарных предшественников, так и из моноцитов.

Сходным образом происходит развитие лимфоидных дендритных клеток – они дифференцируются из CLP, а также из предшественников В- и Т-лимфоцитов, в частности из тимоцитов на самой ранней стадии их развития в тимусе – DN1 клеток. Миелоидные и лимфоидные предшественники дендритных клеток экспрессируют цитокиновый рецептор FLT-3 (*Fms-like tyrosine kinase 3*), что отличает их от предшественников других клеток (в частности моноцитов и лимфоцитов). Таким образом, обычная дендритная клетка может дифференцироваться из 6–7 клеточных источников в пределах двух гистогенетических рядов.

Незрелые дендритные клетки обоих рядов циркулируют в крови, составляя в сумме менее 0,5% от общего числа лейкоцитов крови. В кровотоке присутствуют предшественники как миелоидных, так и лимфоидных дендритных клеток, а также клеток Лангерганса. Маркерами миелоидных предшественников служат молекулы CD11c и МНС-II.

Преобладающая разновидность циркулирующих в крови незрелых дендритных клеток – плазмоцитоидные дендритные клетки, относящиеся к лимфоидному ряду. Их название обусловлено внешним сходством с плазматическими клетками – потомками В-лимфоцитов, секретирующими антитела. Плазмоцитоидные дендритные клетки меньше моноцитов (8–10 мкм), а их ядро имеет менее выраженную выемку. В присутствии IL-3 и бактериальных продуктов они дифференцируются в зрелые лимфоидные дендритные клетки. На плазмоцитоидных клетках человека отсутствуют молекулы, характерные для миелоидных дендритных клеток (CD83, CD11b, CD11c), а также свойственные большинству миелоидных клеток – CD13 и CD14. Однако в них экспрессирован ген RAG, ответственный за запуск перестройки генов антигенраспознающих рецепторов и выражены признаки перестройки генов TCR, характерные для Т-клеток. Если для моноцитов характерна экспрессия CD45RA и рецептора для GM-CSF, то для плазмоцитоидных клеток – CD45R0 и рецептора для IL-3. Молекулы МНС-II на

плазмоцитоидных клетках экспрессированы слабее, чем на миелоидных, и локализируются не только на поверхности, но и в цитоплазме. В спектре TLR, экспрессируемых плазмоцитоидными дендритными клетками, преобладают рецепторы, локализующиеся в цитоплазматических гранулах и распознающие нуклеиновые кислоты. Плазмоцитоидные дендритные клетки – главные источники интерферонов типа I ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\omega$ ) синтез которых запускается в ответ на распознавание TLR специфического паттерна. Это определило их альтернативное название – клетки-продуценты интерферона (IPC – от *Interferone-producing cells*). Они секретируют большие количества этих цитокинов преимущественно в 1-е сутки после стимуляции вирусными нуклеиновыми кислотами.

Не достигнув полной зрелости, миелоидные и лимфоидные дендритные клетки мигрируют в ткани. Этому способствует наличие на поверхности этих клеток хемокиновых рецепторов практически ко всем  $\beta$ -хемокинам. Дендритные клетки широко представлены в различных органах и тканях, однако они присутствуют в них в малом количестве, что и послужило причиной их позднего открытия. По аналогии с макрофагами тканевые дендритные клетки иногда разделяют на резидентные (стационарные) и воспалительные. Резидентные дендритные клетки присутствуют преимущественно в барьерных тканях – коже и слизистых оболочках. Известно несколько разновидностей этих клеток, формирующихся под влиянием микроокружения – дендритные клетки дермы, эпидермиса, слизистой оболочки кишечника, слизистой оболочки легких.

Эпидермальные дендритные клетки обладают наибольшим своеобразием. Большинство из них представлено клетками Лангерганса, относящимися к миелоидному ряду. Эти клетки были описаны гистологами в конце XIX века как отростчатые клетки эпидермиса (по современной гистологической классификации – белые отростчатые эпидермоциты), но их природа и связь с иммунными процессами была установлена только в результате их изучения как дендритных клеток. Клетки Лангерганса имеют ряд существенных особенностей, отличающих их от других дендритных клеток. Прежде всего, это присутствие в цитоплазме слоистых включений – гранул Бирбека. На поверхности клеток Лангер-

ганса присутствует лектиновый рецептор лангерин (CD208) и «неклассическая» молекула МНС – CD1a, предназначенная для презентации липидных антигенов. Лангерин присутствует уже на циркулирующих предшественниках этих клеток. Гистогенез клеток Лангерганса до конца не выяснен. В настоящее время считают, что они развиваются местно из предшественников дендритных клеток, мигрирующих из костного мозга.

В условиях воспаления дендритные клетки барьерных тканей интенсивно поглощают (путем пино- или фагоцитоза) окружающий материал, в том числе чужеродные продукты, активируются патогенами (точнее «образами патогенности» – PAMP, представленными на поверхности патогенов) и подвергаются действию провоспалительных цитокинов. Под влиянием этих стимулов незрелые дендритные клетки покидают ткани и с тканевой жидкостью через лимфатические сосуды поступают в региональные лимфатические узлы. В процессе миграции происходит созревание дендритных клеток: их способность к эндоцитозу значительно ослабевает, они осуществляют переработку поглощенного материала и встраивают пептидные фрагменты белков в молекулы МНС; на поверхности клеток усиливается экспрессия молекул МНС-II и костимулирующих молекул CD80 и CD86. Усиленная экспрессия МНС-II, CD80 и CD86 способствует выполнению дендритными клетками их основного назначения – презентации антигенных пептидов Т-лимфоцитам. В ходе миграции изменяется набор экспрессируемых дендритными клетками мембранных рецепторов для хемокинов, что способствует попаданию их в зоны лимфатических узлов, занимаемые Т-лимфоцитами (Т-зоны). Вместо рецепторов для хемокинов, экспрессируемых клетками барьерных тканей, на созревающих дендритных клетках появляются рецепторы CCR7 и CXCR4. Именно эти рецепторы распознают хемокины, выделяемые стромальными клетками Т-зон лимфатических узлов. Рецепторы CCR7 и CXCR4 экспрессируют также наивные Т-лимфоциты, в результате чего они тоже мигрируют в Т-зоны лимфатических узлов. В Т-зонах происходит презентация антигена. Зрелые дендритные клетки, доставившие антиген в лимфатический узел, становятся частью стромы Т-зон и обозначаются как интерди-

гитальные дендритные клетки, поскольку между их отростками-«пальцами» располагаются Т-лимфоциты. Сходное происхождение имеют интердигитальные клетки Т-зон пейеровых бляшек и селезенки, хотя пути миграции клеток в эти структуры иные (не лимфогенные).

Резидентные миелоидные дендритные клетки также заселяют органы на стадии незрелых и даже клеток-предшественников. Завершая свое развитие местно, они уже не покидают орган. Тканевое микроокружение достаточно сильно влияет на их свойства (сходно с резидентными макрофагами и тучными клетками). Многие из них сосредоточены в лимфоидных органах. Различают дендритные клетки тимуса, зародышевых центров, маргинальной зоны селезенки, печени и т.д.

Судьба плазмоцитоидных дендритных клеток в процессе и после их миграции в лимфоидные органы также изучена достаточно подробно. В отличие от предшественников миелоидных дендритных клеток, попадающих в лимфатические узлы с афферентной лимфой, плазмоцитоидные дендритные клетки проникают в лимфатические узлы тем же путем, что и Т-лимфоциты – через высокий эндотелий посткапиллярных венул. При стимуляции (вирусами или ИЛ-3) плазмоцитоидные дендритные клетки в течение первых суток интенсивно секретируют интерфероны I типа, а затем в течение вторых суток дифференцируются в зрелые лимфоидные дендритные клетки. При этом на них значительно возрастает экспрессия молекул МНС-II, появляются костимулирующие молекулы CD80 и CD86. Клетка продолжает секретировать интерфероны, но в меньшем количестве. При стимуляции вирусами созревающая дендритная клетка способствует дифференцировке Т-клеток-продуцентов  $IFN\gamma$  (Th1-клеток), а при стимуляции ИЛ-3 – Т-клеток – продуцентов ИЛ-4 (Th2-клеток).

Наибольшие возможности для анализа структуры популяции дендритных клеток дает изучение мембранного фенотипа клеток методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител. Как уже отмечалось, характерная и функционально значимая особенность мембранного фенотипа зрелых дендритных клеток – присутствие на их мембране значительного количества молекул



МНС-II (МНС-I присутствуют в более ограниченном количестве), а также ко-стимулирующих молекул CD80 и CD86. Именно этот набор молекул делает дендритные клетки АПК. Во взаимодействии с Т-лимфоцитами (при получении от них стимулирующего сигнала) участвует мембранная молекула дендритных клеток CD40. Общий маркер миелоидных дендритных клеток и у человека, и у мыши – CD11c, т.е.  $\alpha_x$ -цепь интегрина  $\alpha_x\beta_2$  (CD11c/CD18). Маркер зрелых миелоидных дендритных клеток – CD83. Из данных о центральной роли GM-CSF в качестве фактора роста дендритных клеток следует, что присутствие на их поверхности рецептора этого фактора (CD116) является обязательным.

У мышей анализ субпопуляций дендритных клеток облегчает определение экспрессии молекул CD8 и CD4 (обычно рассматриваемых как корецепторы Т-клеток), характеризующих их основные субпопуляции. CD8 маркирует значительную часть лимфоидных дендритных клеток мыши. На некоторых CD8<sup>-</sup> клетках экспрессирована молекула CD4. Для различения субпопуляций дендритных клеток используют также определение лектиновых рецепторов – DEC-205 (CD205) и лангерина (CD208), а также молекулы CD11b –  $\alpha_M$ -цепи интегрина  $\alpha_M\beta_3$  (Mac-1). По наличию и степени экспрессии этих маркеров у мышей выделяют 5 субпопуляций дендритных клеток: лимфоидные (CD4<sup>+</sup> CD8<sup>hi</sup> CD205<sup>hi</sup> CD11b<sup>-</sup>), 3 субпопуляции миелоидных дендритных клеток (CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup> CD205<sup>-</sup> CD11b<sup>+</sup>, CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup> CD205<sup>-</sup> CD11b<sup>+</sup> и CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup> CD205<sup>+</sup> CD11b<sup>+</sup>) и клетки Лангерганса (CD4<sup>-</sup> CD8<sup>lo</sup> CD205<sup>hi</sup> CD11b<sup>+</sup>). Изучение распределения этих субпопуляций в лимфоидных органах показало, что в тимусе присутствуют преимущественно лимфоидные (но есть и миелоидные) дендритные клетки. В селезенке и брыжеечных лимфатических узлах преобладают (в разных соотношениях) субпопуляции миелоидных клеток. В лимфатических узлах, дренирующих кожу, наряду с миелоидными дендритными клетками, высоко содержание клеток Лангерганса. Пока не вполне ясно, являются ли зрелые клетки, развивающиеся из плазмоцитоидных дендритных клеток, единственными лимфоидными дендритными клетками вторичных лимфоидных органов или же часть клеток этой популяции может развиваться из других источников.

У человека CD4 присутствует на некоторых дендритных клетках (делая их одной из мишеней ВИЧ), тогда как CD8 на них отсутствует. В связи с отсутствием экспрессии молекулы CD8 для характеристики мембранного фенотипа субпопуляций дендритных клеток человека используют частично другие маркеры. Для миелоидных дендритных клеток человека характерен фенотип – CD11c<sup>+</sup> CD11b<sup>+</sup> CD45R0<sup>hi</sup>, для лимфоидных дендритных клеток – CD11c<sup>+</sup> CD11b<sup>-</sup> CD45R0<sup>lo</sup>, для клеток Лангерганса – CD11c<sup>+</sup> CD207<sup>+</sup>.

В настоящее время в качестве конечных продуктов дифференцировки миелоидных и лимфоидных дендритных клеток (особенно у человека) рассматривают соответственно субпопуляции DC1 и DC2. Наиболее характерные отличительные черты этих клеток – особенности экспрессии молекул CD11c и рецептора для IL-3 – CD123: миелоидные клетки DC1 имеют фенотип CD11c<sup>hi</sup> CD123<sup>lo</sup> (выявлена минорная разновидность миелоидных дендритных клеток с фенотипом CD11c<sup>lo</sup> CD123<sup>-</sup>), а лимфоидные DC2 – CD11c<sup>-</sup> CD123<sup>hi</sup>. В периферической крови содержится по 0,2% клеток DC1 и DC2. Дифференцировка DC1 и DC2 может регулироваться действием на клетки-предшественники различных комбинаций провоспалительных и противовоспалительных факторов. DC1-клетки обладают сильной способностью активировать T-лимфоциты при презентации антигена, а также индуцируют дифференцировку Th1-клеток, В то же время DC2-клетки при презентации антигена направляют дифференцировку T клеток по Th2-пути. И наконец, можно получить дендритные клетки, избирательно индуцирующие регуляторные T-клетки, т.е. являющиеся толерогенными.

### **Клетки, вовлекаемые в иммунные процессы при воспалении**

Важная особенность функционирования системы врожденного иммунитета – способность вовлекать в развитие реакций, помимо «профессиональных» клеток иммунной системы, клетки других типов, прежде всего сосудистого эндотелия, эпителия слизистых оболочек, кожи, печени и т.д. Для вовлечения в реакции эти клетки должны быть активированы под влиянием стимулов двух типов:

- патогенов и выделяемых ими продуктов;
- провоспалительных цитокинов и других продуктов активированных клеток иммунной системы, прежде всего макрофагов.

В распознавании микроорганизмов и их продуктов участвуют специализированные патогенраспознающие рецепторы (в первую очередь TLR), экспрессируемые на покоящихся клетках сосудистого эндотелия. Так, показано присутствие TLR-2, TLR-4 и других рецепторов, распознающих PAMP на эпителиальных и эндотелиальных клетках. На эндотелиальных и многих эпителиальных клетках конститутивно (спонтанно) экспрессированы рецепторы для цитокинов, например для IL-1, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8 и других.

В ответ на связывание соответствующих цитокинов эндотелиальные и эпителиальные клетки активируются и приобретают некоторые черты клеток врожденного иммунитета, особенно макрофагов: они экспрессируют молекулы адгезии (ICAM-1, ICAM-3, селектины и их рецепторы и другие молекулы), секретируют провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ), колониестимулирующие факторы и хемокины, приобретают способность к фагоцитозу благодаря экспрессии Fc $\gamma$ -рецепторов и рецепторов для комплемента, а также некоторых факторов, обеспечивающих бактерицидность. Наконец, эти клетки экспрессируют молекулы MHC-II и костимулирующие молекулы (CD40, CD80, CD86), что придает им свойства АПК и позволяют «вести диалог» с клетками иммунной системы. Все перечисленные свойства выражены значительно слабее, чем у макрофагов. Тем не менее, они обеспечивают участие этих клеток в защитных реакциях врожденного иммунитета и (пусть и в ограниченном масштабе) позволяют выполнять роль АПК для клеток памяти.

Таким образом, вовлечение различных типов клеток существенно расширяет сферу действия провоспалительных факторов и увеличивает защитный потенциал организма. После завершения воспалительной реакции и прекращения стимуляции со стороны клеток врожденного иммунитета эти «факультативные» иммунциты утрачивают свои макрофагоподобные свойства и восстанавливают исходный фенотип и свойственные им функции.

## Естественные киллеры

Основные эффекторы в системе врожденного иммунитета – миелоидные клетки. Они играют основную роль в распознавании РАР и осуществлении фагоцитоза, обеспечивающего внутриклеточный киллинг. Однако в реализации функций врожденного иммунитета участвуют также и лимфоидные клетки – естественные киллеры, или НК-клетки (от *Natural killer*). Они были открыты позже «классических» популяций лимфоцитов – Т- и В-клеток – в 1974 г. [И. Геллстрём, К.Е. Геллстрём]. Этим клеткам свойствен особый способ выявления чужеродных молекул, отличный от распознавания как образов патогенности миелоидными клетками, так и антигенов лимфоцитами. Естественные киллеры распознают сигналы опасности в виде эндогенных стрессорных молекул, а основная функция этих клеток – контактный цитолиз несущих сигналы опасности клеток. Таким образом, несмотря на формальную принадлежность естественных киллеров к системе врожденного иммунитета, основная их функция значительно отличается от таковой миелоидных клеток.

К клеткам врожденного иммунитета относят также некоторые разновидности лимфоцитов, а именно  $\gamma\delta$ Т-клетки, НКТ-клетки и В1-лимфоциты. Однако их роль в естественной защите пока изучена недостаточно. Кроме того, В1-лимфоциты и  $\gamma\delta$ Т-клетки участвуют также в реакциях адаптивного иммунитета. Эти субпопуляции лимфоцитов обычно обозначают как «подобные клеткам врожденного иммунитета» (*innate-like cells*).

### *Характеристика естественных киллеров*

Естественные киллеры – довольно крупные (10–12 мкм в диаметре) лимфоциты с азурофильной зернистостью в цитоплазме. Их характеризуют как большие гранулярные лимфоциты. Главное отличие НК-клеток от других популяций лимфоцитов – отсутствие на естественных киллерах антигенспецифических рецепторов, кодируемых генами, перестраиваемыми в процессе дифференцировки клеток (как это свойственно другим лимфоцитам). С этим связано отсутствие клональной структуры популяции НК-клеток: все естественные

киллерные клетки идентичны по строению их ключевых рецепторов. Основные маркеры NK-клеток у мышей – молекула адгезии NK1.1, у человека – комбинация молекул CD56 и CD16. CD56 – молекула гомофильной адгезии, она экспрессирована на нервных и мышечных клетках, а также на некоторых Т-лимфоцитах. CD16 – низко-аффинный Fc-рецептор FcγRIII, представленный на нейтрофилах и моноцитах. Ни один из этих двух маркеров не специфичен для NK-клеток.

Характерная особенность естественных киллеров, имеющая прямое отношение к выполнению ими своей основной функции, – наличие цитоплазматических **азурофильных гранул**. Как и гранулы гранулоцитов по своему генезу они представляют разновидность лизосом, хотя и имеют некоторые черты секреторных везикул. Величина гранул варьирует от 100 до 500 нм.

Перфорин, гранзимы и гранулолизин – основные компоненты гранул NK-клеток, связанные с их цитолитической функцией. **Перфорин** – белок с молекулярной массой 66–70 кДа. Это структурный аналог терминального компонента комплемента C9. Перфорин способен полимеризоваться в гидрофобном окружении и формировать поры в мембране клетки-мишени. **Гранзимы** – сериновые протеазы. Выделяют несколько разновидностей гранзимов (А, В, С), из которых гранзим В, проникающий в клетку-мишень через перфориновые поры, индуцирует ее апоптоз. **Гранулизины** (изоформы 15 и 9 кДа, вторая более активна) содержатся только в зрелых гранулах в связанной с липидами форме. Помимо перфорины и гранзимов гранулы NK-клеток содержат амины (гистамин, серотонин), протеогликаны (хондроитинсульфат, гепарин), а также катехоламины (адреналин, норадреналин), ферменты (катепсины, химотрипсиноподобные протеазы, кислые фосфатазы) и ряд пептидных гормонов.

Выделяют 2 субпопуляции NK-клеток, различающиеся соотношением мембранных маркеров и функциями (табл. 2.22): CD56<sup>hi</sup> CD16<sup>-</sup> и CD56<sup>lo</sup> CD16<sup>+</sup> клетки (значки hi и lo – соответственно, высокий и низкий уровень экспрессии маркера). Субпопуляция NK-клеток, слабо экспрессирующая CD56, преобладает в кровотоке (90–95%, против 5–10% CD56<sup>hi</sup> клеток), однако в печени, эндометрии

матки и децидуальной оболочке плода преобладают CD56<sup>hi</sup> естественные киллеры. CD56<sup>hi</sup> клетки преобладают также в лимфатических узлах, составляя 75% от числа NK-клеток. Различия между субпопуляциями NK-клеток связаны не только с особенностями мембранного фенотипа, но и с их функциями. CD59<sup>lo</sup> CD16<sup>+</sup> клетки обладают выраженной цитотоксической активностью и относительно слабо секретируют цитокины, тогда как CD56<sup>hi</sup> CD16<sup>-</sup> клетки – активные продуценты IFN $\gamma$  и других цитокинов (TNF $\alpha$  и  $\beta$ , GM-CSF, IL-10), но проявляют слабую киллерную активность. Только CD56<sup>hi</sup> CD16<sup>-</sup> NK-клетки экспрессируют  $\alpha$ -цепь рецептора IL-2, т.е. несут высокоаффинный рецептор для этого цитокина. Именно поэтому *in vitro* CD56<sup>hi</sup> CD16<sup>-</sup> NK-клетки интенсивно пролиферируют в ответ на IL-2. Рецептор IL-2 CD59<sup>lo</sup> CD16<sup>+</sup> естественных киллеров состоит из  $\beta$ - и  $\gamma$ -цепей и обладает промежуточной аффинностью. Именно поэтому эти клетки слабо пролиферируют и только при действии высоких концентраций IL-2. Таким образом, CD59<sup>lo</sup> CD16<sup>+</sup> клетки можно охарактеризовать как эффекторные, а CD56<sup>hi</sup> CD16<sup>-</sup> – как регуляторные NK-клетки. В настоящее время преобладает мнение, что CD59<sup>lo</sup> CD16<sup>+</sup> клетки представляют терминальную, а CD56<sup>hi</sup> CD16<sup>-</sup> клетки – промежуточную стадию развития NK-клеток.

Наиболее важные функции NK-клеток – цитотоксическая активность отношении измененных (трансформированных, инфицированных вирусами, подвергшихся действию стресса) клеток организма и секреция цитокинов (в первую очередь IFN $\gamma$ ), что играет важную роль в регуляции иммунных процессов. Эти свойства реализуются за счет поликлонального распознавания маркеров клеточного стресса в сочетании с контролем «свой–чужой» (по экспрессии клетками-мишенями молекул МНС-I).

#### *Естественные киллеры и иммунная защита*

Естественные киллеры, присутствующие в органах и кровотоке (особенно субпопуляция CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>lo</sup>) практически готовы к реализации цитолитической активности. Контакт с трансформированными или инфицированными клетками приводит к быстрой активации NK-клеток и мобилизации их цитолитического потенциала. При инфицировании вирусом создаются условия, повы-

шающие готовность НК-клеток к цитотоксической реакции еще до контакта с клетками-мишенями. Такая предварительная активация естественных киллеров происходит в результате воздействия на них цитокинов, продуцируемых в ответ на инфекцию (в наибольшей степени – IL-12).

Цитокины индуцируют особую разновидность активированных цитотоксических клеток – ЛАК-клеток (*Lymphokine-activated killer*). При длительном (обычно 5–6 сут) культивировании мононуклеаров крови в присутствии IL-2 образуются киллеры, обладающие более выраженной цитотоксической активностью и действующие на более широкий спектр клеток-мишеней, включая свежесыведенные опухолевые клетки. Первоначально предполагали, что IL-2 повышает цитолитический потенциал суспензии клеток, стимулируя пролиферацию и повышая активность цитотоксических Т-лимфоцитов. Однако впоследствии выяснили, что, хотя Т-лимфоциты (как  $\gamma\delta$ -, так и  $\alpha\beta$ -типа) и вносят вклад в суммарный цитолитический эффект в суспензиях клеток, основную роль в усилении цитолиза при добавлении IL-2 играли НК-клетки. Таким образом, термин «ЛАК-клетки» в настоящее время применяют к НК-клеткам, стимулированным IL-2.

Образование ЛАК-клеток происходит и под действием других цитокинов (IL-7, IL-1, GM-CSF, IL-4, интерферонов), хотя и менее эффективно. При этом ограничение цитолиза сингенных МНС-I<sup>+</sup> клеток для них сохраняет силу, но роль этого запрета в балансе стимулов, способствующих и препятствующих лизису, снижается.

Молекулярные основы изменения активности НК-клеток при их превращении в ЛАК-клетки под влиянием IL-2 и других цитокинов не выяснены. Известно только, что при этом экспрессируется один из активационных рецепторов группы NCR – NKp44. Считают, что именно этот факт обуславливает усиление активности и расширение спектра мишеней ЛАК-клеток.

ЛАК-клетки, полученные при культивировании мононуклеаров крови опухолевых больных с IL-2, используют в комплексном лечении некоторых видов злокачественных опухолей. В то же время сам факт образования ЛАК-клеток в естественных условиях не доказан.

В современной иммунологии НК-клеткам отводят важную роль в элиминации видоизмененных клеток, утративших признаки принадлежности данному организму (МНС-I) и приобретшие новые признаки, сигнализирующие об опасности (стрессорные молекулы). В наибольшей степени такие изменения проявляются при опухолевой трансформации клеток и инфицировании их вирусами. Действительно, при этом происходит ослабление экспрессии и даже утрата молекул МНС-I. Возможно, биологический смысл прекращения экспрессии клетками МНС-I состоит в попытке «уйти» от цитотоксического действия Т-киллеров. Если это предположение верно, то эволюционно естественные киллеры должны были появиться позже антигенспецифических Т-лимфоцитов.

В конечном счете и при инфицировании вирусами, и при перерождении клеток роль разных типов цитотоксических клеток (НК-клеток и Т-лимфоцитов) определяется балансом экспрессии на пораженных клетках МНС-I и стрессорных молекул. Наличие на клетках МНС-I делает их мишенями для цитотоксических Т-лимфоцитов, но не НК-клеток. При отсутствии или слабой экспрессии МНС-I наличие стрессорных молекул на клетках делает их мишенями для естественных киллеров.

### **Гуморальные факторы врожденного иммунитета**

Гуморальная составляющая врожденного иммунитета представлена несколькими взаимосвязанными системами – системой комплемента, цитокиновой сетью, бактерицидными пептидами, а также гуморальными системами, связанными с воспалением. Действие большинства этих систем подчиняется одному из двух принципов – **каскада** и **сети**. По каскадному принципу функционирует система комплемента, при активации которой происходит последовательное вовлечение факторов. При этом эффекты каскадных реакций проявляются не только в конце активационного пути, но и на промежуточных стадиях. Принцип сети характерен для системы цитокинов и предполагает возможность



одновременного функционирования различных компонентов системы. Основа функционирования такой системы – тесная взаимосвязь, взаимное влияние и значительная степень взаимозаменяемости компонентов сети.

### **Система комплемента**

Система комплемента была открыта раньше других гуморальных систем врожденного иммунитета. В 1898 г. сотрудник Института Пастера в Париже Борде (*J. Bordet*) обнаружил термолабильную составляющую системы факторов, ответственных за иммунный гемолиз, и назвал ее термином «алексин» (термин «комплемент», от лат *complementare* – дополнять, введен П. Эрлихом позже). Вскоре выяснилось, что комплемент – не одиночный фактор, а целая система факторов. Значительно позже, в 70-е годы XX века, на основе работ Л. Пиллемера (*L. Pillemer*), выполненных в 50-е годы XX века, было сформулировано представление о пропердиновой системе, которое вскоре было трансформировано в учение об альтернативном пути активации комплемента (с тех пор классическим путем активации стали называть антителозависимый путь, открытый Ж. Борде). Наконец, в 90-е годы XX века было признано существование 3-го пути активации комплемента – лектинового.

Активация системы комплемента осуществляется в два основных этапа (фазы):

– запуск активации (происходит при участии факторов различной природы, не относящихся к системе комплемента), завершающийся формированием C3/C5-конвертаз;

– лизис клеток-мишеней.

Пути активации кардинально различаются особенностями первой фазы, тогда как фаза клеточного лизиса одинакова для всех трех путей.

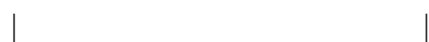
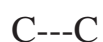
#### *Факторы системы комплемента*

Выделяют факторы, запускающие три основных пути активации комплемента, общие факторы (C3, C5, белки литического комплекса), а также регулирующие и ингибирующие белки. Факторы классического пути активации, так-

же общего для всех путей этапа – атаки клеточной мембраны – обозначают заглавной буквой С с добавлением порядкового номера (например, С3), обычно соответствующего последовательности их вступления в процесс активации (исключение – С4). Фрагменты, образующиеся при расщеплении компонентов комплемента обозначают так же, как «родительский» компонент, с добавлением строчных букв «а» или «b». При этом крупный фрагмент помечают буквой «b», а мелкий – «а» (например, С3а и С3b). Для факторов альтернативного и лектинового путей приняты другие обозначения.

Белки системы комплемента в норме содержатся в сыворотке крови, главным образом во фракции β-глобулинов. Только некоторые регулирующие белки представлены исключительно на мембранах клеток. Факторы комплемента вырабатываются клетками печени – гепатоцитами (до 90% всех факторов системы комплемента), а также моноцитами/макрофагами, клетками почечного эпителия, эндотелиальными клетками. Только С7 и фактор D вырабатываются преимущественно вне печени – соответственно в нейтрофилах и жировой ткани. Хотя факторы комплемента продуцируются постоянно, при воспалении под влиянием цитокинов (IFNγ, цитокины семейства IL-1) их секреция усиливается.

Белки системы комплемента содержат домены (модули), относящиеся к различным семействам. Упомянем три семейства доменов, наиболее широко представленных среди белков комплемента. К **семейству С3/α<sub>2</sub>-макроглобулина**, относят С3, С4 и С5. Для всех этих белков характерна **тиоэфирная связь** между СООН-группой остатка глутаминовой кислоты и SH-группой цистеина (в молекуле С5 она утрачена в ходе филогенеза):



Эта связь играет ключевую роль в активации альтернативного пути и в фиксации компонентов комплемента на клеточных мембранах. В присутствии воды происходит гидролиз этой связи с восстановлением групп SH и СООН:

C---C

| |

SH COOH.

Карбоксил при этом может формировать связь с NH<sub>2</sub>-группами различных молекул, в том числе мембранных белков клеток. Обычно эта тиоэфирная связь экранирована, и окружающие молекулы, в том числе вода, не имеют к ней доступа. Экранирование тиоэфирной связи исчезает только при определенной конформации молекулы, которую компоненты C3 и C4 могут приобретать спонтанно или при частичном расщеплении (активации). Как уже отмечалось, с неэкранированной тиоэфирной связью реагируют молекулы воды или мембранных белков.

Второй тип доменов, распространенных в белках системы комплемента, – короткие **согласительные (*consensus*) повторы**. Они характерны для белков, регулирующих активацию комплемента (фактор H, C4bp, DAF, CR1, CR2) и поэтому их называют также доменами контроля комплемента (доменами ССР – от *Complement control proteins*). Такие домены входят в состав мозаичных (т.е. содержащих домены различных типов) белков – фактора В, C2, C1r, C1s, C6, C7, MASP-1, MASP-2, MASP-3. Третий тип доменов, распространенных в системе комплемента – **модуль сериновых протеаз**, присутствующий в C2, а также факторах В, D, I, MASP-1, MASP-2, MASP-3, C1r, C1s.

Основная молекула системы комплемента – C3. Она представляет собой α-глобулин, состоящий из двух полипептидных цепей, скрепленных дисульфидной связью: α (120 кДа) и β (75 кДа). Тиоэфирная связь располагается в α-цепи; ее экранирование обеспечивается конформацией α-цепи, закрепленной дисульфидной связью.

Пусковые молекулы классического и лектинового путей – соответственно C1q и MBL – принадлежат к семейству **коллектинов**. Они имеют большие размеры и комплексное строение. C1q и MBL образованы тремя типами цепей (А, В и С), скрученных в жгуты. Молекула C1q содержит 6, а молекула MBL – от 2 до 6 таких жгутов (т.е. всего C1q содержит 18, а MBL – от 6 до 18 полипеп-

тидных цепей), что и обуславливает их большую молекулярную массу. В собранном виде молекула C1q и тяжелый вариант молекулы MBL имеют вид «букета тюльпанов»: N-концевые домены молекул, имеющие коллагеноподобную структуру, спирально переплетаясь, формируют ствол «букета», тогда как глобулярные C-концевые части цепей образуют расходящиеся «ветви букета» (в каждой из этих ветвей присутствуют все три типа цепей – А, В и С). Бутонообразные завершения этих «ветвей» участвуют во взаимодействии с естественными лигандами – комплементсвязывающими участками молекул иммуноглобулинов-антител (в случае C1q) и лектинами (в случае MBL). Несмотря на значительное сходство четвертичной структуры C1q и MBL, они обладают низкой гомологией.

Структурное сходство характерно для некоторых белков, относящихся к разным путям активации, но выполняющим сходные функции: факторов В и С2, а также C1r, C1s, MASP-1, MASP-2 и MASP-3. Еще одну группу сходных белков образуют белки литического комплекса – С6, С7, С8 и С9; к ней относят также порообразующий белок цитотоксических лимфоцитов – перфорин. Это амфифильные белки, обладающие как гидрофильными, так и липофильными свойствами, что обеспечивает им возможность встраиваться в клеточные мембраны. Эти молекулы состоят из различных доменов – тромбоспондинового, рецептора липопротеинов низкой плотности, эпидермального фактора роста.

#### *Роль комплементзависимых процессов в иммунной защите*

Комплементзависимый лизис бактериальных клеток – один из факторов противoinфекционной защиты, участвующий в повреждении микроорганизмов при инфекционном процессе. В то же время он обуславливает гемолиз при переливании несовместимой крови и анемии аутоиммунного генеза, участвует в повреждении ядросодержащих клеток при аутоиммунной патологии. Однако литическая функция комплемента в отношении ядросодержащих клеток, проявляется весьма слабо в связи с существованием на их поверхности белков, инактивирующих факторы комплемента. В настоящее время считают, что система комплемента вносит ограниченный вклад в защиту от патогенных микро-

организмов. В частности, комплемент эффективно уничтожает нессерий, поскольку, как уже отмечено, при наследственном дефекте компонентов литического комплекса снижается резистентность именно к этим возбудителям. При этом значимость C9 и, следовательно, комплемент-зависимого цитолиза, подвергается сомнению вследствие полной «безнаказанности» с клинической точки зрения инактивации его гена.

Роль системы комплемента в защите от патогенов заключается, по-видимому, в первую очередь в опсонизации клеток-мишеней, что делает их доступными для действия эффекторных клеток, имеющих рецепторы для компонентов комплемента, – прежде всего фагоцитов (макрофагов и нейтрофилов). Наиболее распространены рецепторы для C3b и его фрагментов C3d, C3bi, что свидетельствует об особой функциональной значимости избыточной фиксации C3b на поверхности клеток. Лимфоциты тоже имеют рецептор для фрагментов C3b (CR2, или CD21). Более того, CR2 в качестве корецептора входит в состав рецепторного комплекса В-лимфоцитов. Полагают, что распознавание опсонизированных клеток лимфоцитами (особенно В-клетками) является одним из механизмов, определяющих их активацию и участие в регуляции иммунных процессов. Иммунорегуляторная роль компонентов комплемента состоит и в солюбилизации (переводе в растворимую форму) иммунных комплексов.

Как уже упоминалось, освобождающиеся при активации комплемента фрагменты C4a, C3a и C5a – активные хемотаксические и сосудорасширяющие факторы, а C5a и C3a обладают анафилактогенной активностью и участвуют в реакциях воспаления и гиперчувствительности (отсюда их название – анафилаксины). Рецепторы для этих фрагментов присутствуют на поверхности нейтрофилов и макрофагов, что обуславливает хемотаксический эффект названных фрагментов, а также на тучных клетках и базофилах, что определяет их анафилактогенные функции. C4a, C3a и C5a играют особую роль в системе комплемента, поскольку факторы, ограничивающие их действие, отсутствуют (у всех остальных компонентов системы комплемента ингибиторы имеются).

Система комплемента взаимодействует с другими гуморальными систе-

мами, активируемыми при воспалительных процессах и способствует вовлечению этих систем в реакцию иммунного воспаления. Наконец, отложение компонентов комплемента в составе иммунных комплексов на биологических мембранах инициирует развитие иммунопатологии в результате привлечения в очаг поражения макрофагов и других эффекторов иммунного воспаления.

### **Белки острой фазы воспаления. Пентраксины**

Некоторые гуморальные реакции врожденного иммунитета по своему назначению аналогичны реакциям адаптивного иммунитета и могут рассматриваться как их эволюционные предшественники. Такие реакции врожденного иммунитета имеют преимущество перед адаптивным иммунитетом в скорости развития, однако недостаток их заключается в отсутствии специфичности в отношении антигенов.

Белки (реактанты) острой фазы представляют группу протеинов, секретируемых гепатоцитами. При воспалении продукция белков острой фазы изменяется. При усилении синтеза белки называют положительными, а при понижении синтеза – отрицательными реактантами острой фазы воспаления. Динамика и выраженность изменений сывороточной концентрации различных белков острой фазы при развитии воспаления неодинакова: концентрация С-реактивного белка и сывороточного амилоида Р возрастает очень сильно (в десятки тысяч раз) – быстро и кратковременно (практически нормализуется к концу 1-й недели); уровни гаптоглобина и фибриногена возрастают слабее (в сотни раз) соответственно на 2-й и 3-й неделях воспалительной реакции.

Согласно выполняемым функциям выделяют несколько групп белков острой фазы. К транспортным белкам относят преальбумин, альбумин, орозо-мукоид, липокалины, гаптоглобин, трансферрин, маннозасвязывающий и ретинолсвязывающий белки и т.д. Они играют роль переносчиков метаболитов, ионов металлов, физиологически активных факторов. Роль факторов этой группы существенно возрастает и качественно изменяется при воспалении. Другую группу образуют протеазы (трипсиноген, эластаза, катепсины, гранзимы,

триптазы, химазы, металлопротеиназы), активация которых необходима для формирования многих медиаторов воспаления, а также для осуществления эффекторных функций, в частности киллерной. Активация протеаз (трипсина, химотрипсина, эластазы, металлопротеиназ) уравнивается накоплением их ингибиторов.  $\alpha_2$ -макроглобулин участвует в подавлении активности протеаз разных групп. Помимо перечисленных, к белкам острой фазы относят факторы коагуляции и фибринолиза, а также белки межклеточного матрикса (например, коллагены, эластины, фибронектин) и даже белки системы комплемента.

### *Пентраксины*

Наиболее полно проявляют свойства реактантов острой фазы белки семейства пентраксинов: в первые 2–3 сут развития воспаления их концентрация в крови повышается на 4 порядка.

Основа для выделения этого семейства белков – структурные особенности модуля, являющегося их обязательной составной частью. Пентраксиновый модуль представляет кольцевидный гомопентамер. Он состоит из 5 нековалентно связанных одинаковых субъединиц. Субъединица образована 206 аминокислотными остатками и имеет молекулярную массу около 20–23 кДа. Структура субъединицы стабилизируется дисульфидной связью, придающей ей форму глобулы, в которой преобладают  $\beta$ -слоистые структуры (примерно 50%), соединенные  $\alpha$ -спирализованными участками (12%). Сердцевину каждого мономера образуют 2 антипараллельных  $\beta$ -слоя. Такие структуры обозначают термином «желатиновый рулет» (*jelly roll*).

Выделяют 2 группы пентраксинов – короткие и длинные.

К коротким, содержащим только пентраксиновые домены, относят 2 острофазных реактанта – С-реактивный белок и сывороточный амилоид Р.

К длинным пентраксинам относят белки, содержащие С-концевой пентраксиновый домен и N-концевой домен (тоже пятичленный, но имеющий другую структуру). Наиболее изучен в этой группе белок РТХ3 (пентраксин 3).

С-реактивный белок и сывороточный амилоид Р образуются и секретируются гепатоцитами. Основным индуктором их синтеза – ИЛ-6. Белок РТХ3 вырабаты-

вают миелоидные (макрофаги, дендритные клетки), эпителиальные клетки и фибробласты в ответ на стимуляцию через TLR, а также под действием провоспалительных цитокинов (например, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ). Концентрация пентраксинов в сыворотке резко возрастает при воспалении: С-реактивного белка и сывороточного амилоида Р – с 1 мкг/мл до 1–2 мг/мл (т.е. в 1000 раз), РТХЗ – с 25 до 200–800 нг/мл. Пик концентрации достигается через 6–8 ч после индукции воспаления.

Для пентраксинов характерна способность связываться с самыми разнообразными молекулами. С-реактивный белок был впервые идентифицирован благодаря его способности связывать полисахарид С (*Streptococcus pneumoniae*), что и определило его название. Пентраксины взаимодействуют с множеством других молекул: С1q, бактериальными полисахаридами, фосфориохолином, гистонами, ДНК, полиэлектролитами, цитокинами, белками межклеточного матрикса, сывороточными липопротеинами, компонентами комплемента, друг с другом, а также с ионами Ca<sup>2+</sup> и других металлов. Для всех рассматриваемых пентраксинов существуют высокоаффинные рецепторы на миелоидных, лимфоидных, эпителиальных и других клетках. Кроме того, эта группа белков острой фазы обладает достаточно высоким сродством к таким рецепторам, как Fc $\gamma$ RI и Fc $\gamma$ RII.

Многочисленность молекул, с которыми взаимодействуют пентраксины, определяет широкое разнообразие их функций. Распознавание и связывание пентраксинами РAMP дает основание рассматривать их как вариант растворимых патогенраспознающих рецепторов. К наиболее важным функциям пентраксинов относят их участие в реакциях врожденного иммунитета в качестве факторов, запускающих активацию комплемента через С1q и участвующих в опсонизации микроорганизмов. Комплекментактивирующая и опсонизирующая способность пентраксинов делает их своеобразными «протоантителами», частично выполняющими функции антител на начальном этапе иммунного ответа, когда истинные адаптивные антитела еще не успели выработаться. Роль пентраксинов во врожденном иммунитете заключается также в активации нейтрофилов и моноцитов/ макрофагов, регуляции синтеза цитокинов и проявлении хемотаксической активности по отношению к нейтрофилам.



Помимо участия в реакциях врожденного иммунитета пентраксины регулируют функции межклеточного матрикса при воспалении, контроле апоптоза и элиминации апоптотических клеток.

### Биогенные амины

К этой группе медиаторов относят **гистамин** и **серотонин**, содержащиеся в гранулах тучных клеток. Освобождаясь при дегрануляции, эти амины вызывают разнообразные эффекты, играющие ключевую роль в развитии ранних проявлений гиперчувствительности немедленного типа.

Гистамин (5-β-имидазолилэтиламин) – главный медиатор аллергии. Он образуется из гистидина под влиянием фермента гистидиндекарбоксилазы. Поскольку гистамин содержится в гранулах тучных клеток в готовом виде, а процесс дегрануляции происходит быстро, гистамин очень рано появляется в очаге аллергического поражения, причем сразу в большой концентрации, что определяет проявления немедленной гиперчувствительности. Гистамин быстро метаболизируется (95% за 1 мин) с участием 2 ферментов – гистамин-N-метилтрансферазы и диаминооксидазы (гистаминазы), при этом образуется (в соотношении примерно 2:1) соответственно N-метилгистамин и имидазолацетат.

Известно 4 разновидности рецепторов для гистамина H<sub>1</sub>-H<sub>4</sub>. При аллергических процессах гистамин действует преимущественно на гладкие мышцы и эндотелий сосудов, связываясь с их H<sub>1</sub>-рецепторами. Эти рецепторы поставляют активационный сигнал, опосредованный превращениями фосфоинозитидов с образованием диацилглицерола и мобилизацией Ca<sup>2+</sup>. Этот процесс в различных клетках проявляется по-разному, однако конечный результат его – расширение сосудов с усилением локального кровотока и повышением проницаемости капилляров. Указанные эффекты частично обусловлены образованием в клетках (мишенях гистамина) оксида азота и простаглицлина. Действуя на нервные окончания, гистамин вызывает ощущение зуда, характерного для аллергических проявлений в коже.

Гистамин играет важную роль в развитии кожной гиперемии и аллергического ринита. Менее очевидно его участие в развитии общих аллергических

реакций и бронхиальной астмы. В то же время через рецепторы гистамин и родственные вещества оказывают регуляторное действие, иногда уменьшающее проявления воспаления, ослабляя хемотаксис нейтрофилов и выброс ими лизосомных ферментов, а также высвобождение самого гистамина. Через  $H_2$ -рецепторы гистамин действует на сердце, секреторные клетки желудка, подавляет пролиферацию и цитотоксическую активность лимфоцитов, а также цитокинов. Большинство этих эффектов опосредовано активацией аденилатциклазы и повышением внутриклеточного уровня цАМФ. Данные об относительной роли различных рецепторов гистамина в реализации его действия очень важны, поскольку многие антиаллергические препараты представляют собой блокаторы  $H_1$  (но не  $H_2$  и других) рецепторов гистамина.

### **Липидные медиаторы. Эйкозаноиды**

Важную роль в регуляции иммунных процессов, а также в развитии аллергических реакций играют гуморальные факторы липидной природы. Наиболее многочисленны и важны из них эйкозаноиды.

Эйкозаноиды – продукты метаболизма **арахидоновой кислоты** – жирной полиненасыщенной кислоты, молекула которой содержит 20 атомов углерода и 4 ненасыщенные связи. Арахидоновая кислота образуется из мембранных фосфолипидов как прямой продукт действия фосфолипазы (PLA) или косвенный продукт превращений, опосредованных PLC. Образование арахидоновой кислоты или эйкозаноидов происходит при активации различных типов клеток, особенно участвующих в развитии воспаления, в частности аллергического: эндотелиальных и тучных клеток, базофилов, моноцитов и макрофагов. Метаболизм арахидоновой кислоты может проходить по 2 путям – катализироваться циклооксигеназой или 5'-липоксигеназой. Циклооксигеназный путь приводит к образованию **простагландинов** и **тромбоксанов** из нестабильных промежуточных продуктов – эндоперекисных простагландинов  $G_2$  и  $H_2$ , а липоксигеназный – к образованию **лейкотриенов** и 5-гидроксиэйкозатетраеноата через промежуточные продукты (5-гидроперокси-6,8,11,14-эйкозатетраеновую кисло-

ту и лейкотриен А4), а также **липоксинов** – продуктов двойной липоксигенации (под действием двух липоксигеназ).

Простагландины и лейкотриены во многих отношениях проявляют альтернативные физиологические эффекты, несмотря на то, что внутри этих групп существуют значительные различия в активности. Общее свойство этих групп факторов – преобладающее действие на стенку сосудов и гладкие мышцы, а также хемотаксический эффект. Эти эффекты реализуются при взаимодействии эйкозаноидов со специфическими рецепторами на поверхности клеток. Некоторые представители семейства эйкозаноидов усиливают действие других вазоактивных и хемотаксических факторов, например, анафилатоксинов (С3а, С5а).

Лейкотриены (LT) – С<sub>20</sub>-жирные кислоты, молекула которых в положении 5 содержит ОН-группу, а в положении 6 – боковые серосодержащие цепи, например глутатион. Выделяют 2 группы лейкотриенов: одна из них включает лейкотриены С4, D4 и E4, называемые цистеиниллейкотриенами (Cys-LT), во вторую входит один фактор – лейкотриен В4. Лейкотриены образуются и секретируются в течение 5–10 мин после активации тучных клеток или базофилов. Лейкотриен С4 присутствует в жидкой фазе в течение 3–5 мин, при этом он превращается в лейкотриен D4. Лейкотриен D4 существует в последующие 15 мин, медленно превращаясь в лейкотриен E4.

Лейкотриены оказывают свое действие через рецепторы, относящиеся к группе пуриновых рецепторов семейства родопсиноподобных рецепторов, 7-кратно пронизывающих мембрану и связанных с протеином G. Известны 2 группы рецепторов для лейкотриенов – CysLT-R и BLT-R соответственно для цистеиниллейкотриенов и лейкотриена В.

В каждую группу входят по 2 разновидности рецепторов (CysLT-R1, CysLT-R2, BLT-R1 и BLT-R2). Сродство лейкотриена E к CysLT-R выше, чем лейкотриенов D и C. CysLT-R1 имеет максимальное сродство к лейкотриену D, тогда как CysLT-R2 с одинаковой эффективностью связывает лейкотриены D и C. Рецепторы лейкотриенов экспрессируются на клетках селезенки, лейкоцитах крови, кроме того, CysLT-R1 представлен на макрофагах, клетках кишечника, воздухо-

носного эпителия, а CysLT-R2 – на клетках надпочечников и головного мозга.

Цистеиниловые лейкотриены (особенно лейкотриен D4) вызывают спазм гладкой мускулатуры и регулируют локальный кровоток, снижая артериальное давление. Активность лейкотриена D4 в отношении гладких мышц в 100 раз выше, чем у гистамина, и в 2–4 раза выше, чем лейкотриенов C4 и E4. Лейкотриены C4 и E4 также оказывают хемотаксическое действие, но более слабое, чем лейкотриен D4. Цистеиниловые лейкотриены – медиаторы аллергических реакций, в частности, медленной фазы бронхоспазма при бронхиальной астме. Кроме того, они подавляют пролиферацию лимфоцитов и способствуют их дифференцировке. Ранее комплекс этих факторов (лейкотриены C4, D4 и E4) называли медленно реагирующей субстанцией А. Лейкотриен В4 (дигидроксиэйкозатетраеновая кислота) проявляет хемотаксическое и активирующее действие преимущественно в отношении моноцитов, макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов и даже Т-клеток. Еще один продукт липоксигеназного пути – 5-гидроксиэйкозатетраеноат – менее активен, чем лейкотриены, но может служить хемоаттрактантом и активатором нейтрофилов и тучных клеток.

Простагландины (PG) – C<sub>20</sub>-жирные кислоты, молекула которых содержит цикlopentanовое кольцо. Варианты простагландинов, отличающиеся по типу и положению замещающих групп (окси-, гидрокси-), обозначаются различными буквами; цифры в названии означают число ненасыщенных связей в молекуле. Простагландины накапливаются в очаге воспаления позже кининов и гистамина, несколько позже лейкотриенов, но одновременно с монокинами (через 6–24 ч после запуска воспаления). Помимо вазоактивного и хемотаксического эффекта, достигаемого в кооперации с другими факторами, простагландины (особенно простагландин E2) оказывают регулирующее действие при воспалительных и иммунных процессах. Экзогенный простагландин E2 вызывает некоторые проявления воспалительной реакции, но подавляет иммунный ответ и аллергические реакции. Так, простагландин E2 снижает цитотоксическую активность макрофагов, нейтрофилов и лимфоцитов, пролиферацию лимфоцитов, выработку этими клетками цитокинов. Он способствует дифференцировке не-

зрелых лимфоцитов и клеток других кровяных рядов. Некоторые эффекты простагландина E<sub>2</sub> связаны с повышением уровня внутриклеточного цАМФ. Простагландины E<sub>2</sub> и D<sub>2</sub> подавляют агрегацию тромбоцитов; простагландины F<sub>2</sub> и D<sub>2</sub> вызывают сокращение гладкой мускулатуры бронхов, тогда как простагландин E<sub>2</sub> расслабляет ее.

Тромбоксан A<sub>2</sub> (ТХА<sub>2</sub>) – С<sub>20</sub>-жирная кислота; в его молекуле есть 6-членное кислородсодержащее кольцо. Это очень нестабильная молекула (время полужизни – 30 с), превращающаяся в неактивный тромбоксан В<sub>2</sub>.

Тромбоксан A<sub>2</sub> вызывает сужение сосудов и бронхов, агрегацию тромбоцитов с высвобождением из них ферментов и других активных факторов, способствующих митогенезу лимфоцитов. Другой продукт циклоксигеназного пути – простагландин I<sub>2</sub> (простациклин) – тоже нестабилен. Он проявляет свое действие через цАМФ, сильно расширяет сосуды, увеличивает их проницаемость, ингибирует агрегацию тромбоцитов. Наряду с пептидным фактором брадикинином простациклин вызывает ощущение боли при воспалении.

Еще один липидный медиатор – **фактор, активирующий тромбоциты** (PAF – *Platelet activating factor*) имеет другое происхождение. Он синтезируется *de novo* из лизоглицеринового эфира фосфорилхолина в тучных клетках, базофилах, нейтрофилах и моноцитах при их активации. Вызывая агрегацию тромбоцитов, этот фактор способствует выбросу содержащихся в них ферментов и активных факторов. Он повышает проницаемость сосудов, вызывая сокращение эндотелиальных клеток, активирует нейтрофилы, вызывает спазм гладкой мускулатуры бронхов и расслабляет гладкие мышцы сосудистой стенки. В связи с коротким сроком жизни PAF играет ограниченную роль в развитии аллергических реакций.

Последними в ряду эйкозаноидов были открыты липоксины. Они образуются из арахидоновой кислоты в результате последовательного действия двух липоксигеназ. Одна из них – 5-липоксигеназа – катализирует синтез лейкотриенов. В качестве другой липоксигеназы при синтезе липоксинов могут выступать 15-липоксигеназа или 12-липоксигеназа. В результате образуются

липоксина А4 и В4. К сходному результату приводит действие циклоксигеназы 2 в присутствии аспирина. При этом образуется аспирин-стимулированный липоксин (*Aspirin-triggered lipoxin*), обладающий сходными эффектами с липоксинами А4 и В4. Липоксины быстро метаболизируются моноцитами. Действие этих молекул реализуется через рецепторы, экспрессируемые лейкоцитами, эндотелиальными и некоторыми другими клетками. Рецепторы для липоксинов сходны по структуре с лейкотриеновыми и формилпептидными (родопсиноподобными) рецепторами. Биологическое действие липоксинов состоит в подавлении хемотаксиса и адгезии клеток. В результате липоксины подавляют транс-сосудистую миграцию лейкоцитов. В то же время *in vitro* они вызывают спазм гладкой мускулатуры бронхов и расширяют сосуды. *In vivo* липоксины отменяют эффекты лейкотриенов. Таким образом, суммарный эффект липоксинов – противовоспалительный, на чем основано использование препаратов липоксинов в клинической практике.

### Цитокины

Цитокины – самая многочисленная, наиболее важная и универсальная в функциональном отношении группа гуморальных факторов системы иммунитета, в равной степени важная для реализации врожденного и адаптивного иммунитета. Цитокины участвуют во многих процессах; их нельзя назвать факторами, относящимися исключительно к иммунной системе, поскольку они играют важную роль в кроветворении, тканевом гомеостазе, межсистемной передаче сигналов.

Цитокины можно определить как белковые или полипептидные факторы, лишенные специфичности в отношении антигенов, продуцируемые преимущественно активированными клетками кроветворной и иммунной систем и опосредующие межклеточные взаимодействия при кроветворении, воспалении, иммунных процессах и межсистемных коммуникациях.

Существует несколько классификаций цитокинов, основанных на разных принципах. Традиционная классификация отражает историю изучения цитоки-

нов. Идея о том, что цитокины играют роль факторов, опосредующих функциональную активность клеток иммунной системы, возникла после открытия гетерогенности популяции лимфоцитов и осмысления факта, что только некоторые из них – В-лимфоциты – ответственны за образование антител. Пытаясь выяснить, не играют ли гуморальные продукты Т-клеток роль в реализации их функций, начали изучать биологическую активность факторов, содержащихся в культуральной среде Т-лимфоцитов (особенно активированных). Решение этой задачи, а также возникшего вскоре вопроса о гуморальных продуктах моноцитов/макрофагов, привело к открытию цитокинов. Вначале их называли лимфокинами и монокинами, в зависимости от того, какие клетки их продуцировали – Т-лимфоциты или моноциты. Вскоре выяснилось, что четко разграничить лимфокины и монокины нельзя, и был введен общий термин – «цитокины». В 1979 г. на симпозиуме по лимфокинам в Интерлакене (Швейцария) установили правила идентификации факторов этой группы, которым присвоили групповое название «интерлейкины» (IL) (название не только отражает способность этих молекул опосредовать межклеточные взаимодействия, но и несет отзвук названия места, где родился этот термин). Тогда же свои названия получили два первых члена этой группы молекул – IL-1 и IL-2. С тех пор все новые цитокины (кроме хемокинов) получали обозначение IL и порядковый номер.

Изучение биологической роли цитокинов показало, что некоторые цитокины и даже целые их группы уже давно открыты и получили другие названия (которые за ними были сохранены). Это касается цитокинов с противовирусной активностью – интерферонов (IFN), колониестимулирующих факторов – CSF (цитокины с гемопоэтической активностью, поддерживающие рост кроветворных клеток) и факторов некроза опухоли – TNF (медиатор ЛПС, вызывающий некроз опухолевых клеток). Наконец, после введения термина «интерлейкин» была описана еще одна группа цитокинов – хемокины (хемотаксические цитокины). Общим для всех перечисленных групп признано название «цитокины». Первоначально к цитокинам относили только растворимые факторы. Однако со временем выяснилось, что некоторые из них (например IL-1 $\alpha$  у человека) суще-

ствуют в основном в связанной с мембранами форме. Затем оказалось, что целым семействам цитокинов (например, семейству TNF) больше свойственна мембранная, чем секретируемая форма.

Понятие «цитокины» достаточно трудно отграничить от понятия «ростовые факторы». Более точному пониманию понятия «интерлейкин» (фактически совпадающего с понятием «цитокин») способствовало введение Номенклатурным комитетом Международного союза иммунологических обществ в 1992 г. критериев, регламентирующих присвоение новым интерлейкинам очередного номера: для этого требуется молекулярное клонирование, секвенирование и экспрессия гена интерлейкина, удостоверяющие уникальность его нуклеотидной последовательности, а также получение нейтрализующих моноклональных антител. Для установления отличий между интерлейкинами и сходными факторами важны данные о выработке этой молекулы клетками иммунной системы (лейкоцитами) и доказательство ее роли в регуляции иммунных процессов. Таким образом, подчеркивается обязательное участие интерлейкинов в функционировании иммунной системы. Если считать, что интерлейкинами называют все открытые после 1979 г. цитокины (кроме хемокинов) и, следовательно, эти понятия фактически тождественны, то можно считать, что такие ростовые факторы, как эпидермальный, фибробластный, тромбоцитарный не являются цитокинами, а из трансформирующих факторов роста (TGF) по признаку функциональной причастности к иммунной системе лишь TGF $\beta$  может быть отнесен к цитокинам. Однако этот вопрос в международных научных документах строго не регламентирован.

Гены цитокинов расположены в самых разных хромосомах, однако в некоторых случаях выявляется определенная закономерность. Так, 6 генов – IL3, IL4, IL5, IL9, IL13, GM-CSF – формируют кластер в длинном плече хромосомы 5 человека (сегмент 5q23–33). В длинном плече хромосомы 2 локализованы гены, кодирующие несколько представителей семейства IL-1. Полагают, что это отражает происхождение разнообразия этих генов за счет дупликаций. Гены цитокинов семейства фактора некроза опухоли (TNF, LTA и LTB) расположены



в пределах МНС (короткое плечо хромосомы 6); формально их относят к молекулам МНС класса III.

Подавляющее большинство генов цитокинов индуцибельные. Это означает, что без специального стимулирующего воздействия ген не экспрессируется и белковый продукт не образуется. Однако существует ряд исключений, например, гомеостатические цитокины (IL-7, IL-15 и некоторые другие), образуются спонтанно, однако и их выработка, как правило, при активации усиливается. Спонтанная экспрессия цитокиновых генов характерна на определенных стадиях эмбриогенеза, а также для некоторых типов клеток (в частности, для эпителиальных клеток тимуса, кератиноцитов). Индукторами цитокинов служат, как правило, естественные лиганды клеток. Для моноцитов/макрофагов – это ЛПС и другие бактериальные продукты, действующие через TLR, для лимфоидных клеток – антигены (в экспериментальных условиях также митогены), действующие через антигенраспознающие рецепторы.

Хотя разделение на монокины и лимфокины уже не применяют, необходимо признать, что существует 2 основных типа клеток-продуцентов цитокинов, отличающиеся кинетикой экспрессии генов и выработки белковых продуктов (цитокинов) – миелоидные и лимфоидные клетки. Наиболее активные продуценты – соответственно моноциты/макрофаги и Т-лимфоциты хелперной (CD4<sup>+</sup>) субпопуляции. В миелоидных клетках процессы активации цитокиновых генов и секреции цитокинов происходят быстрее, чем в лимфоидных. Однако даже в клетках одного типа различия в кинетике экспрессии генов и синтеза различных цитокинов могут быть существенными. Так, экспрессия гена IL-1 $\beta$  (появление мРНК) в моноцитах человека регистрируют через 15 мин после стимуляции ЛПС, она достигает максимума через 3–4 ч, в то время как экспрессия гена IL-1 $\alpha$  в тех же условиях начинается через 3–4 ч и достигает максимума только через 11–12 ч. Преобладающее количество белка IL-1 $\alpha$  синтезируется в мембраносвязанной форме. У Т-лимфоцитов экспрессию мРНК IL-2 регистрируют через 1 ч после стимуляции клеток митогеном, и она достигает максимума через 4–6 ч, а белковый продукт появляется в секрете через 6–10 ч, достигая

максимальной концентрации к 24 ч, после чего секреция ослабевает. Экспрессия генов IFNG и IL4 и синтез соответствующих цитокинов происходит медленнее. Причины кратковременности экспрессии генов индуцибельных цитокинов – регуляторные механизмы, быстро ограничивающие экспрессию гена, а также короткий срок жизни мРНК.

## Интерфероны

Интерфероны образуют автономную группу цитокинов. Общее свойство интерферонов – наличие у них противовирусной активности. В то же время, подобно другим цитокинам, они участвуют в регуляции иммунных процессов. Сочетание этих свойств делает интерфероны важными факторами врожденного (а в случае IFN $\gamma$  еще и адаптивного) иммунитета и служит основанием для широкого применения интерферонов в качестве лечебных препаратов.

Интерфероны были открыты в 1957 г А. Исааксом и Дж. Линдемманом как гуморальные факторы, опосредующие интерференцию вирусов – индуцируемую вирусами неспецифическую резистентность, распространяющуюся не только на вирус-индуктор, но и на другие вирусы. В 70-е годы были описаны варианты интерферонов – типы I и II, продуцируемые разными клетками под влиянием различных стимулов. Тогда же были обнаружены регуляторные функции интерферонов, что послужило основанием для причисления этой группы факторов к цитокинам. Клонирование генов интерферонов и получение рекомбинантных продуктов дало начало биотехнологическому производству этих молекул и значительно расширило возможности их использования в клинической практике. Интерфероны оказались первыми описанными цитокинами и первыми цитокинами, применяемыми в практике.

В настоящее время выделяют 12 (у человека – 9) видов интерферонов, обозначаемых греческими буквами. По способности взаимодействовать с 3 типами рецепторов их объединяют в 3 семейства. Больше всего видов принадлежит к интерферонам I типа: IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFN $\delta$ , IFN $\epsilon$ , IFN $\kappa$ , IFN $\tau$ , IFN $\omega$ , а также лимитин (у человека IFN $\delta$ , IFN $\tau$  и лимитин не обнаружены). Тип II, ранее обо-

значавшийся как иммунный интерферон, включает единственный член –  $IFN\gamma$ . Описанный недавно тип III содержит 3 представителя –  $\lambda 1$ ,  $\lambda 2$  и  $\lambda 3$ , называемые также IL-29, IL-28A и IL-28B соответственно.  $IFN\alpha$  имеет 13 разновидностей, обозначаемых цифрами (1, 2, 4–8, 10, 13, 14, 16, 17, 21) или латинскими буквами. Каждый вид и разновидность интерферонов кодируются отдельным геном. Некоторые гены существуют в нескольких аллельных вариантах, которым соответствуют изоформы  $IFN\alpha$  (например,  $\alpha 2a$ ,  $\alpha 2b$ ,  $\alpha 2c$ ). Таким образом, в настоящее время всего выделяют 49 вариантов молекул интерферонов. Интерфероны типов I и III различаются по локализации генов (у человека – соответственно в хромосомах 9p и 19q), наличию интронов в генах интерферонов III, но не I типа и, что особенно существенно, по действию на разные рецепторы.  $IFN$  II типа ( $IFN\gamma$ ) отличается от других интерферонов по всем показателям; спектр его биологической активности коренным образом отличается от таковой интерферонов I и III типов.

Важное проявление активности  $IFN\gamma$  – усиление экспрессии молекул МНС-I и особенно МНС-II на поверхности дендритных клеток, макрофагов и других АПК, а также стимуляция процессинга антигенов путем индукции иммунопротеасом, что особенно важно для эффективной презентации антигена – пускового события адаптивного иммунного ответа. Таким образом,  $IFN\gamma$  можно рассматривать как фактор, действующий на стыке врожденного и адаптивного иммунитета.

## Заключение

Естественный иммунитет – филогенетически древний вариант иммунитета, основанный на распознавании чужеродных и опасных организмов, их разрушении и удалении из организма.

Эффекторные клетки врожденного иммунитета – лейкоциты миелоидного ряда (нейтрофилы, моноциты и их тканевые формы – макрофаги, дендритные клетки, а также эозинофилы, базофилы и тучные клетки) и некоторые лимфоидные клетки. Реакции врожденного иммунитета тесно связаны с воспалением, на фоне которого они осуществляются.

Чужеродные и опасные организмы (патогены) распознаются по молекулам, характерным для разных групп возбудителей. Иногда эти молекулы непосредственно связаны с патогенностью микроорганизмов. Эти молекулы – РАРР распознаются рецепторами нескольких групп, расположенными на поверхности клеток (TLR, лектиновые рецепторы), внутри клеток (NOD и другие рецепторы) или в тканевых жидкостях (комплемент, пентраксины и т.д.). Рецепторы детерминированы генетически, их число относительно невелико (десятки).

Главный механизм врожденного иммунитета при защите от про- и эуэриотических патогенов – фагоцитоз с внутриклеточным разрушением. Фагоциты целенаправленно мигрируют к патогенам за счет хемотаксиса, распознают РАРР или опсонины – белки, вырабатываемые клетками организма и фиксирующиеся на патогенах (компоненты комплемента, естественные антитела, пентраксины) и поглощают возбудителя. В формирующейся фаголизосоме происходит лизис фагоцитированной клетки. Механизмы лизиса включают закисление среды, действие активных форм кислорода и азота, бактерицидных пептидов, катионных белков и других факторов. Погибшие клетки расщепляются ферментами.

Защита от вирусов основана на подавлении репликации их нуклеиновых кислот интерферонами и разрушении инфицированных клеток. Основной продуцент интерферонов – плазматоидные дендритные клетки. Киллинг инфицированных клеток осуществляют естественные киллеры (разновидность лимфоцитов, распознающих стрессорные молекулы).

Важный вклад в защиту от патогенов в системе врожденного иммунитета вносят гуморальные факторы системы комплемента, пентраксины, бактерицидные пептиды и т.д. В интеграции врожденного иммунитета основная роль принадлежит цитокинам.

Врожденный иммунитет не имеет механизмов индукции иммунологической памяти.

## Список вопросов для самостоятельной подготовки

1. Что означают термины «иммунитет» и «резистентность»?
2. Что относится к неспецифической защите?
3. Что относится к специфической защите?
4. Что такое кроветворная стволовая клетка?
5. В какие клетки может дифференцироваться кроветворная стволовая клетка?
6. Какие клетки относятся к миелоидному ряду?
7. Общая характеристика нейтрофила.
8. Какие гранулы содержит нейтрофил.
9. Свойства гранул клеток врожденного иммунитета.
10. Функциональные различия нейтрофилов и моноцитов/макрофагов.
11. Общая характеристика эозинофила.
12. Что такое главный щелочной белок?
13. Роль эозинофилов в иммунной защите.
14. Что такое базофилы и тучные клетки?
15. Общая характеристика базофила.
16. Характеристика базофильных гранул.
17. Роль базофилов в иммунной защите.
18. Чем различаются разные типы тучных клеток?
19. Где локализуются тучные клетки?
20. Что синтезируют и секретируют тучные клетки?
21. Что такое моноциты и макрофаги?
22. Каким образом действуют моноциты/макрофаги?
23. Что секретируют моноциты/макрофаги?
24. Какие существуют популяции моноцитов?
25. Как происходит миграция моноцитов в ткани?
26. Где локализуются резидентные макрофаги?
27. Что такое дендритные клетки?
28. 3 фундаментальных свойства дендритных клеток.

29. Какие особенности развития дендритных клеток?
30. Когда и куда мигрируют дендритные клетки?
31. Функции дендритных клеток.
32. Какие клетки вовлекаются в иммунный процесс при воспалении?
33. Что такое естественные киллеры?
34. Общая характеристика НК-клеток.
35. Основные функции НК-клеток.
36. За счет каких факторов действуют естественные киллеры?
37. Роль НК-клеток в иммунной защите.
38. Что такое система комплемента?
39. Как активируется система комплемента?
40. Факторы системы комплемента.
41. Роль комплементзависимых процессов в иммунной защите.
42. Что такое белки острой фазы?
43. Характеристика пентраксинов.
44. Что такое биогенные амины?
45. Что такое эйкозаноиды?
46. Что такое фактор, активирующий тромбоциты?
47. Что такое липоксины?
48. Что такое цитокины?
49. Что такое интерфероны?
50. Какие существуют факторы естественной защиты?

## Список использованных источников

1. Алексеева Е.А. Естественная резистентность животных: метод. указания. Красноярск: Краснояр. гос. аграр. ун-т, 2016. 64 с.
2. Иванов Д.В. Иммунология. Иммунодефициты животных: учеб. пособие. Брянск. Брянск: Изд-во Брянский ГАУ, 2019. 154 с.
3. Клинические лабораторные исследования крови. Показатели в норме и при патологии: учеб.-метод. пособие / В.В. Черненко и др. 2-е изд., доп. и перераб. Брянск: Изд-во Брянский ГАУ. 2016. 37 с.
4. Колычев Н.М., Госманов Р.Г. Ветеринарная микробиология и микология: учебник. 2-е изд., стер. СПб.: Лань, 2018. 624 с.
5. Крапивина Е.В. Естественная резистентность, иммунный статус и методы их повышения у сельскохозяйственных животных в условиях различного загрязнения почв радиоцезием: дисс. ... д-ра биол. наук. Брянск: Изд-во БГСхАк, 2003. 586 с.
6. Крапивина Е.В., Игнатенко М.В., Романенко А.А. Фагоцитарная функция нейтрофилов крови у коров в различных экологических условиях // Вестник МАНЭБ. 2009. Т. 14, № 3. С. 127-130.
7. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Кутафина Н.В. Физиологическая регуляция организма: учеб. пособие. СПб.: Изд-во «Лань», 2016. 392 с.
8. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / под ред. проф. И.П. Кондрахина. М.: КолосС, 2004. 520 с.
9. Плейфэр Дж. Наглядная иммунология / пер. с англ. / Дж. Плейфэр. М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1998. 95 с.
10. Федоров Ю.Н. Иммунологический мониторинг в ветеринарии: тенденции развития, возможности и реальность // Ветеринарная патология. 2003. № 1 (5). С. 79-85.
11. Федоров Ю.Н., Ключкина В.И., Романенко М.И. Первичные иммунодефициты животных: иммуногенетическая и клинико-иммунологическая характеристика (обзор). // С.-х. биология. 2014. № 4. С. 3-15.
12. Ярилин А.А. Иммунология: учебник / А.А. Ярилин. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2010. 752 с.



## Содержание

Введение	3
<b>Врожденный (естественный) иммунитет</b>	6
Кроветворные стволовые клетки и миелопоэз	6
Нейтрофилы	12
Эозинофилы	16
Тучные клетки и базофилы	20
Моноциты и макрофаги	25
Дендритные клетки	35
Клетки, вовлекаемые в иммунные процессы при воспалении	42
Естественные киллеры	44
Гуморальные факторы врожденного иммунитета	48
Система комплемента	49
Белки острой фазы воспаления. Пентраксины	54
Биогенные амины	57
Липидные медиаторы. Эйкозаноиды	58
Цитокины	62
Интерфероны	66
Заключение	68
Список вопросов для самостоятельной подготовки	70

Учебное издание

Иванов Дмитрий Валерьевич

# **ИММУНОЛОГИЯ. ЕСТЕСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ**

Учебно-методическое пособие  
для студентов института ветеринарной  
медицины и биотехнологии специальности «Ветеринария»

Редактор Осипова Е.Н.

---

Подписано к печати 27.05.2022 г. Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага офсетная. Усл. п. л. 4,30. Тираж 50 экз. Изд. № 7288

---

Издательство Брянского государственного аграрного университета  
243365 Брянская обл., Выгоничский район, с. Кокино, Брянский ГАУ