

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное агентство по образованию  
Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова

**Н. В. Шеховцова**

# **ОСНОВЫ ИММУНОЛОГИИ**

*Учебное пособие*

*Рекомендовано  
Научно-методическим советом университета для студентов,  
обучающихся по специальности Биология*

Ярославль 2009

УДК 578  
ББК Е 4я73  
Ш 54

*Рекомендовано  
Редакционно-издательским советом университета  
в качестве учебного издания. План 2009 года*

Рецензенты:

В. Н. Левин, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой  
медико-биологических основ спорта ЯГПУ им. К. Д. Ушинского;  
кафедра микробиологии с вирусологией и иммунологией ЯГМА

**Шеховцова, Н. В. Основы иммунологии:** учеб. пособие  
Ш 54 / Н. В. Шеховцова; Яросл. гос. ун-т им. П. Г. Демидова. – Яро-  
славль : ЯрГУ, 2009. – 120 с.

ISBN 978-5-8397-0729-0

В учебном пособии излагается основное содержание предмета иммунологии – механизмы формирования специфического иммунного ответа и его регуляции, а также информация, необходимая для понимания этой «квинтэссенции» курса. Пособие написано для того, чтобы дать студентам основные понятия иммунологии и помочь им в прочтении современных учебников.

Предназначено для студентов, обучающихся по специальности 020201 Биология (дисциплина «Микробиология и вирусология», блок ОПД), очной и заочной форм обучения.

УДК 578  
ББК Е 4я73

ISBN 978-5-8397-0729-0

© Ярославский государственный  
университет им. П. Г. Демидова,  
2009

## Введение

Иммунология – это наука, изучающая иммунитет. Термин «иммунитет» происходит от латинского «*immunitas*», что означает «освобождение, избавление от чего-либо». В Средние века иммунитетом обладали феодалы, наделенные политической властью и освобожденные от уплаты налогов. Термин «дипломатический и парламентский иммунитет» сохраняет первоначальное значение слова. Между тем в медицине с античных времен существовало понятие о невосприимчивости человека к болезням как абстрактное представление о физиологической норме организма.

Понятие иммунитета как «освобождения от болезни» было официально закреплено в 1869 г. французским толковым словарем Литтре. К тому времени широкое распространение вакцинации как средства создания иммунитета к оспе способствовало популяризации термина, от которого произошло название биологической науки – иммунологии.

Формированию иммунологии как науки предшествовало появление надежного метода вакцинации против натуральной оспы с помощью коровьей оспы. Достоянием общественности этот метод стал в 1798 г., когда Э. Дженнер опубликовал результаты 38-летних исследований, в которых он проанализировал 23 случая вакцинации. Успешность метода позволила возвести иммунизацию населения против оспы в ранг национальной политики Англии уже в 1808 г.

Отсчет развития иммунологии как экспериментальной науки ведут с 1880 г., когда Л. Пастер разработал метод целенаправленного получения вакцин с помощью аттенуированных (ослабленных) микробов. Основой важных теоретических обобщений послужили открытия клеточных (И. И. Мечников – фагоцитоз, 1882) и гуморальных (Дж. Неттол – комплемент, Э. Беринг – антитела, 1890) факторов иммунитета. Первыми экспериментально доказанными теориями иммунитета были фагоцитарная теория клеточного иммунитета И. И. Мечникова и теория «боковых цепей» П. Эрлиха, объясняющая синтез антител.

В конце XIX – начале XX в. сформировался понятийный аппарат иммунологии. В широкое употребление вошел термин «ан-

тиген» как субстанция, вызывающая специфический иммунный ответ организма. Были изучены основные феномены иммунитета: иммунологическая память, гиперчувствительность (аллергия), реакции преципитации, агглютинации, связывания комплемента и т. п.

К 1915 г. появились экспериментальные доказательства совместного действия клеточных и гуморальных факторов в иммунном ответе. К ним относятся явление опсонизации антителами объекта фагоцитоза (бактерий) и получение цитотоксических антисывороток к гомогенатам различных органов и тканей. Эти открытия привели к прекращению противостояния двух научных лагерей: сторонников клеточного иммунитета и «гуморалистов».

Получение антител в ответ на иммунизацию сначала токсинами немикробного происхождения, затем нетоксичными веществами (например, коровьим молоком) и, наконец, химически модифицированными токсинами (анатоксинами) стало экспериментальным обоснованием того, что иммунитет – это нечто большее, чем защита от инфекций, а для распознавания иммунной системой важна не биологическая активность антигена, а его структура.

Дальнейший прогресс иммунологии был связан с изучением взаимодействия антигенов с антителами. С помощью метода конъюгированных антигенов, разработанного К. Ландштейнером, было показано, что антитела вырабатываются не только в ответ на иммунизацию природными антигенами, но и на продукты органического синтеза, что специфичность антител отражает даже самые несущественные различия в строении искусственных антигенов (например, перенос радикалов из орто- в мета- или параположение). Полученные результаты поставили вопрос, откуда берется столь широкое разнообразие специфичностей антител, которое позволяет распознавать не только природные вещества, но и тонкие детали строения искусственных антигенов. Идея П. Эрлиха о предобразование антител в организме была поставлена под сомнение. Более или менее удовлетворительно ответ на этот вопрос дали инструктивные теории синтеза антител (Ф. Брейл и Ф. Гауровитц, 1930, Л. Полинг, 1940), которые появились до расшифровки механизма синтеза белка. Однако они

ничего не говорили о том, 1) откуда берутся «нормальные» антитела в отсутствие антигена, 2) почему вторичный ответ сильнее предыдущего, 3) отчего при повторной иммунизации в процессе иммунного ответа в одних случаях специфичность антител возрастает, а в других – снижается и приводит к появлению перекрестных реакций.

Поиск ответов на эти вопросы был стимулирован открытием естественной толерантности к эритроцитам группы крови разнояйцового близнеца у телят-двоен, имевших общий кровоток в утробе матери (Р. Оуэн, 1945). Ф. М. Бернет предположил (1949), что иммунный ответ появляется в позднем эмбриональном периоде после учета аутоантигенов, на которые иммунная система не должна реагировать. Антигены, не попавшие в каталог, впоследствии распознаются иммунной системой как «чужие» и попадают под действие иммунного ответа. Эта гипотеза позволила П. Медавара и К. Гашеку получить иммунологическую толерантность в экспериментах (1953). В результате иммунитет стали понимать как механизм обеспечения толерантности к «своим» антигенам и отторжения структур с «чужой» антигенностью.

Одновременно возрождение концепции П. Эрлиха в виде «естественной селекционной теории» синтеза антител Н. Ерне подтолкнуло Ф. М. Бернета к созданию селекционно-клональной теории иммунитета. Центром новой концепции стал постулат: антитела есть природные продукты, которые появляются на клеточной поверхности в виде рецепторов. Антиген может избирательно (селективно) соединяться с ними. Взаимодействие антигена с рецепторами является сигналом к клональной пролиферации клеток, фенотипически ограниченных (рестриктированных) данной специфичностью. Ряд дочерних клеток клона дифференцируется в антителообразующие (эффektorные), а другие остаются клетками иммунологической памяти, которые способны участвовать в последующих усиленных ответах. Наконец, теория предполагала, что иммунологическая толерантность возникает благодаря уничтожению клеток, которые пролиферируют под действием аутоантигенов. В течение нескольких лет селекционно-клональная теория была подтверждена благодаря появлению ме-

тодов иммуногистохимии флюоресцирующих антител, определения числа гемолитических бляшек.

После расшифровки механизма синтеза белка стало ясно, что структура антигенраспознающих рецепторов (антител) находится под жестким генетическим контролем. Сразу были расшифрованы структура антител и аминокислотные последовательности их полипептидных цепей (Р. Портер, Д. Эдельман, НП 1972). Внимание иммунологов переключилось на клетки иммунного ответа (лимфоциты) и продукты их жизнедеятельности (антигенраспознающие рецепторы, антитела, интерлейкины), а также гены, которые кодируют структуру этих метаболитов. Таким образом, в середине 50-х гг. XX в. иммунология из науки о невосприимчивости к инфекционным болезням превратилась в науку о сохранении биологической индивидуальности организма в процессе онтогенеза.

Все последующее развитие иммунологии связано с расшифровкой механизмов регуляции формирования антигенраспознающего репертуара лимфоцитов и осуществления специфического иммунного ответа при самых разных обстоятельствах, в норме и патологии. В этом направлении достигнуты значительные результаты, но неразгаданных тайн не стало меньше.

Настоящее учебное пособие написано для того, чтобы помочь студентам освоить современное представление о механизмах иммунитета.

## **1. Виды и формы иммунитета**

В широком смысле «иммунитет – одна из сторон единого биологического закона охраны индивидуальности: наследственность охраняет ее в нисходящем ряду поколений, а иммунитет – на протяжении индивидуальной жизни организма» (Р. В. Петров, 1987).

Однако основное поле иммунологии определяется тем, что мы живем в среде, насыщенной мириадами потенциально вредных микробов, и отсутствие тех или иных составляющих иммунитета всегда проявляется клинически в повышении восприимчивости к инфекциям. Таким образом, иммунная система, прежде всего, существует для того, чтобы защитить хозяина от инфек-

ции. В свете решения этой задачи складывалась и эволюционная история иммунной системы. Другие феномены иммунитета (аллергия, аутоиммунитет, отторжение пересаженных тканей и иммунитет к опухолям) рассматриваются как варианты основной защитной функции, которая изменяется под влиянием природы антигена.

По происхождению различают два вида иммунитета: врожденный и приобретенный. Им соответствуют две системы иммунитета: врожденная, представленная в основном фагоцитозом и действующая против широкого круга патогенов однообразно во всех нормальных организмах, и адаптивная, эффекторами которой являются антитела и Т-киллеры, оставляющая иммунитет к повторному заражению только тем антигеном, который вызвал их появление.

Врожденный иммунитет (видовой, наследственный, генетический) проявляется в невосприимчивости к инфекционным агентам, детерминированной геномом. В основе механизма лежит отсутствие на клетках организма рецепторов и субстратов, необходимых для адгезии и размножения возбудителя, наличие микробоцидных веществ (неспецифическая резистентность). Например, дифтерийный токсин можно вводить черепахам в гигантских дозах, и рептилии будут чувствовать себя нормально. Но если кровь от черепахи ввести мышам, то они обязательно погибнут. Объяснение феномена состоит в отсутствии рецепторов для дифтерийного токсина на клетках черепахи, поэтому, свободно циркулируя в крови, он постепенно выводится через почки. По той же причине человек не болеет болезнями животных, а животные – болезнями человека. Так, если в клетках содержится аспарагин, то вирус лейкоза размножается. Если аспарагина нет, то количество вирусных частиц не увеличивается. Другой пример: *Brucella abortus* размножается в организме только тех видов животных, у которых в состав рецепторов входит эритрол. У животных эритрола много, поэтому бруцелла всегда вызывает у них аборт. У человека эритрола меньше, поэтому реакция индивидуальна. Всегда следует помнить, что и человек, и животные могут быть переносчиками чужих патогенов.

Врожденный иммунитет весьма прочный, но не абсолютный. Л. Пастер заразил курицу сибиреязвенной бациллой после охлаждения ее конечностей. И. Мечникову удалось вызвать экспериментальный столбняк у лягушки после согревания ее в термостате. Эти феномены связаны с нарушением фагоцитоза в результате изменения оптимальной температуры тела.

Приобретенный (адаптивный, специфический) иммунитет отличается устойчивостью к определенному инфекционному агенту и может возникать естественным или искусственным путем.

Естественный иммунитет приобретается активно в результате перенесенного заболевания или иммунизирующей субинфекции. Сохраняется 1–2 года, иногда пожизненно. Одни инфекции (корь, чума, скарлатина) оставляют прочный иммунитет, другие (гонорея, дизентерия) не оставляют его вовсе.

Естественным пассивным иммунитетом обладают младенцы. Он может формироваться за счет переноса антител матери через плаценту (трансплацентарно), сохраняется в течение первых шести месяцев жизни и является избирательным. Дети восприимчивы к стафилококковым инфекциям и резистентны к коклюшу. Дефицит материнских антител в крови ребенка может быть причиной детского паралича (сила трансплацентарного иммунитета зависит от типа плаценты). Дополнительно антивирусные антитела матери поступают с грудным молоком.

Искусственный иммунитет создают иммунизацией. Активно он возникает в результате профилактической иммунизации вакцинами. В этом случае иммунитет появляется через 7–14 дней и сохраняется в зависимости от типа вакцины от нескольких месяцев до нескольких лет. Пассивно искусственный иммунитет создается введением иммунной сыворотки или сыворотки доноров-рековалесцентов (в случае ящура крупного рогатого скота), содержащей специфические антитела, и действует не более 15 дней.

Формы иммунитета принято классифицировать по направленности защитных механизмов. Различают инфекционный (антибактериальный, противовирусный, антитоксический), паразитарный, противоопухолевый, трансплантационный иммунитеты и т. п.



## **2. Факторы неспецифической резистентности**

### **2.1. Нормальная «микрофлора»**

Наличие «нормальной» микробиоты – один из неспецифических механизмов защиты против инфекции. Его значение для иммунного статуса хозяина показано на гнотобионтах – животных, выращенных в стерильных боксах. Во-первых, заселяя все полости тела, сообщающиеся с внешней средой, нормальные микроорганизмы предотвращают поселение потенциально патогенных микробов, заставляя их конкурировать за пространство и субстрат. Во-вторых, они угнетают рост болезнетворных микроорганизмов выделением колицинов и органических кислот. При благополучии нормальные микроорганизмы являются комменсалами, они не проникают в ткани тела и не только не вредны, но и приносят пользу хозяину. Однако в определенных условиях, когда защитные силы хозяина ослаблены, нормальные микроорганизмы могут осуществлять инвазию тканей и вызывать болезни, выступая в этом случае как оппортунистический патоген. Каждый участок поверхности кожи или слизистых представляет собой своеобразную экологическую нишу, локальные условия которой (источники питания, рН, температура, влажность, присутствие антибактериальных веществ) отбирают вид нормального микроорганизма.

### **2.2. Факторы хозяина**

Иммунитет макроорганизма зависит от так называемых факторов хозяина, которые определяют различия между индивидуумами в реакциях на одну и ту же инфекцию. К ним относят возраст, пол (определяющий гормональный статус и важные в данном случае анатомические особенности), условия питания, наличие метаболических заболеваний (типа сахарного диабета), расовую и видовую принадлежность, с которой ассоциированы определенные гены. Так, мыши очень чувствительны к инфекции *Streptococcus pneumoniae*. Кавказские народы особенно восприимчивы к тем типам малярии, к которым африканцы резистент-

ны. Следует также иметь в виду, что независимые от генетики факторы, связанные с географией, культурой и образом жизни, также могут создавать предрасположенность некоторых народов к определенным инфекциям. Примером может служить высокая заболеваемость лепрой в некоторых развивающихся странах.

### **2.3. Защитные ткани организма – первая линия обороны**

Неповрежденные кожа и слизистые оболочки тела являются надежным механическим Барьером для проникновения инфекции. Многослойные эпителиоподобные структуры обеспечивают эту функцию. Кроме того, в коже дополнительную защиту создает наружный слой кератина. Секреты различных желез, особенно обильно покрывающие слизистые оболочки, оказывают смыывающее или вымывающее действие на микробов. В дыхательных путях дополнительно работает «реснитчатый эскалатор», который непрерывно доставляет микробов вверх – в горло, где они проглатываются. Хорошая раздражимость тканей тела, сообщающихся с внешней средой, позволяет активировать защитные рефлексы (кашель, чихание, рвоту), способствующие быстрому выбросу из организма накопившихся микробов или продуктов их жизнедеятельности. Активное кровоснабжение эпидермиса и подслизистых не только помогает поддерживать нормальный метаболизм внешних покровов, но и позволяет вовлекать в борьбу с инфекцией при необходимости и другие факторы.

### **2.4. Клеточные факторы – вторая линия обороны**

#### **2.4.1. Клетки фагоцитарной системы**

Микробы, которые преодолели первую линию обороны, встречаются прежде всего с клетками фагоцитарной системы. В неё входят полинуклеарные нейтрофилы, так называемые микрофаги, и мононуклеарные фагоциты, которые включают в себя моноциты и макрофаги.

Нейтрофилы – неделящиеся маложивущие клетки с сегментированным ядром и набором гранул. Они доминируют среди остальных лейкоцитов и функционируют как клеточный орган. Скорость образования их в организме составляет  $1,6 \cdot 10^6$  кл/кг/сут. Дифференцировка нейтрофилов занимает 7–10 дней, из них 3–4 суток клетки депонируются в синусах костного мозга. 10 % всех созревших клеток поступает в кровоток. Время их пребывания в кровяном русле составляет 6,5 часа. Затем нейтрофилы прикрепляются к клеткам эндотелия и мигрируют в ткани, где живут 3–5 суток. Выполнив один раз эффекторную функцию – фагоцитоз, – они погибают. И. И. Мечников назвал нейтрофилы «клетками-мусорщиками», поскольку они не только обеспечивают основную защиту от пиогенных (гноеродных) инфекций, но и уничтожают остатки старых, дефектных клеток организма хозяина.

Моноциты составляют 5 % всех лейкоцитов периферической крови. Они проходят дифференцировку в костном мозге. Время их созревания составляет 2–3 суток, полупериод пребывания в кровотоке – 24 часа. Далее моноциты мигрируют в ткани, где превращаются в зрелые макрофаги и живут там в течение двух месяцев. Макрофаги являются долгоживущими клетками с хорошо развитыми митохондриями и эндоплазматическим ретикулуумом. Они способны осуществлять фагоцитоз многократно. Разные популяции макрофагов называют по-разному в соответствии с их местом жительства. В коже располагаются клетки Лангерганса, в печени – Купферовы клетки, в легких – альвеолярные макрофаги, мезангиальные клетки – в почечных клубочках, в мозге и нервной ткани – клетки микроглии, остеокласты – в костной и гистиоциты – в соединительной тканях. Основной функцией макрофагов является борьба с внутриклеточными паразитами: вирусами, бактериями, простейшими. Как моноциты, так и макрофаги экспрессируют на своей поверхности молекулы МНС класса II, а также рецепторы CD13 к  $\gamma$ -интерферону, CD11a, CD35, CD11b к комплементу и CD32, CD64 к Fc-фрагменту антител. Специфический маркер моноцитов CD14 исчезает после их превращения в макрофаг.

Общими особенностями клеток фагоцитарной системы являются подвижность (хемокинез и хемотаксис), высокая чувстви-

тельность к хемоаттрактантам (1 %), а также большое количество гранул и вакуолей в цитоплазме. Первичные азурофильные гранулы содержат миелопероксидазу, небольшое количество лизоцима и катионные белки, активные при низких значениях pH. Содержимое вторичных гранул включает в себя лактоферрин, лизоцим, белок, связывающий витамин B<sub>12</sub>, и действует при нейтральной и щелочной реакциях среды. Третичные гранулы похожи на обычные лизосомы и содержат кислые гидролазы.

Процесс фагоцитоза включает в себя несколько последовательных стадий: хемотаксис; адгезию объекта и активацию ЦПМ за счет связывания углеводных остатков; поглощение объекта путем активации актин-миозиновой системы; образование сначала фагосомы, а затем – фаголизосомы, киллинг живого объекта, его переваривание и, наконец, выведение непереваренных остатков из клетки путем экзоцитоза.

Эффекторными являются две группы механизмов: кислородозависимые и кислородонезависимые. Первые развиваются в результате активации гексозомонофосфатного шунта. В результате поглощение глюкозы увеличивается в 30 раз, генерируется большое количество НАДФ·Н, восстанавливается кислород и образуется большое количество бактерицидных факторов: надпероксидный анион, пероксид водорода, синглетный кислород, гидроксильные радикалы. Мощная система галогенирования, образованная сочетанным действием пероксида, миелопероксидазы и ионов галогенов, способна убить любые вирусы и бактерии. К кислородонезависимым механизмам относятся активность катионных белков вследствие незначительного повышения pH, действие лизоцима и лактоферрина. Они могут оказывать бактерицидное и бактериостатическое действие в анаэробных условиях. При полном фагоцитозе осуществляются все перечисленные стадии, при неполном – непереваренные частицы длительно хранятся в макрофагах.

Микроорганизмы используют три стратегии для избежания полного переваривания в макрофагах. Во-первых, риккетсии, токсоплазмы, хламидии, листерии и др. способны ингибировать слияние фагосомы с лизосомами, избегая тем самым воздействия литических ферментов. Во-вторых, микроорганизмы могут быть

защищены либо толстой капсулой, как возбудитель лептоспироза, либо, подобно сальмонеллам и стрептококкам А, секретировать вещества, нейтрализующие микробоцидные факторы фаголизосом. В третьем случае мелкие микроорганизмы (риккетсии и вирусы) просто покидают фагосому через мембрану.

Активность фагоцитоза можно определить по хемилюминесценции синглетного кислорода или в НСТ-тесте. Если клетки активированы или фагоцитируют, то они образуют нерастворимые гранулы формазана с нитросиним тетразолием (НСТ).

В клинике эффективность фагоцитоза и состояние клеточного иммунитета оценивают по опсоническому индексу поглощения (ОИП). При его определении сравнивают количество фагоцитирующих клеток среди лейкоцитов больного относительно доли фагоцитов здорового донора в смеси со стандартной культурой золотистого стафилококка при 37°C в течение 30 мин. Используют также культуру возбудителя, выделенного из крови самого больного, или частицы латекса. Далее клетки окрашивают и подсчитывают те из них, внутри которых находятся объекты фагоцитоза (ЧФ).

$$\text{ОИП} = \frac{\text{ЧФ в сыворотке больного}}{\text{ЧФ в сыворотке донора}}$$

В норме опсонический индекс поглощения должен превышать единицу. Стабильное его уменьшение свидетельствует о наличии сывороточных факторов, сопутствующих длительным хроническим инфекциям, ревматизму, ревматоидному артриту и т. п. Таким образом, эффективность фагоцитоза зависит от вирулентности захваченных микроорганизмов и надежности микробоцидных систем хозяина.

#### **2.4.2. NK-клетки**

В систему врожденного иммунитета входят и NK-клетки (от англ. «natural killers»). Их называют натуральными, природными, естественными или нормальными киллерами. Они являются большими гранулярными лимфоцитами с почковидным ядром. NK-клетки отличаются радиоустойчивостью. На их долю приходится 4–5 % всех лимфоцитов периферической крови. Обычно они присутствуют в селезенке и костном мозге, но очень редки в лимфоузлах и тимусе. Все NK-клетки имеют дифференцировочный

маркер CD56 и рецептор CD16, взаимодействующий с Fc-фрагментом иммуноглобулинов. Им не свойственны иммунологическая память и видовая специфичность. Природные киллеры, наряду с К-клетками, могут являться эффекторами антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ). Помимо этого, они способны убивать опухолевые лимфоидные клетки определенных линий *in vitro* без предварительной иммунизации или активации, а также осуществлять защиту хозяина на ранних стадиях внутриклеточной инфекции, особенно вирусом герпеса и *Listeria monocytogenes*.

При взаимодействии природного киллера с клеткой-мишенью происходит дегрануляция азурофильных гранул в присутствии кальция. Их содержимое попадает в клетку-мишень. Там перфорин, полимеризуясь, образует поры в ЦПМ, через которые внутрь мишени проходит большое количество ионов. В результате нарушения осмотического равновесия клетки лопаются. Фосфолипаза лизирует клеточную стенку распавшейся мишени. При экзоцитозе гранул в НК-клетках функционируют перфорин и сериновые протеазы – механизм защиты против собственных литических ферментов. Высокая экспрессия гена Mdr проявляется в формировании трансмембранного канала в ЦПМ самих киллеров, который служит для удаления токсических веществ.

Активность нормальных киллеров резко увеличивается в присутствии ИЛ-2,  $\alpha$ - и  $\beta$ -интерферонов. В ответ они секретируют  $\gamma$ -интерферон, фактор некроза опухолей (ФНО) и колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов (ГМ-КСФ). Эти интерлейкины оказывают регуляторное воздействие на многие иммунные клетки организма и важны в контроле ряда инфекций до того, как Т-лимфоциты активируются.

Точно неизвестно, что натуральные киллеры распознают на поверхности клеток-мишеней. Однако установлено, что они убивают клетки с дефицитом молекул МНС класса I. Предполагают, что два типа рецепторов НК-клеток, относящихся к лектинам С-типа, участвуют в этом. Один из них, NKR-P1, включает киллинг чувствительных клеток, а второй, Ly49, ингибирует киллерную активность по отношению к неинфицированным клеткам организма. Количество нормальных киллеров повышено в крови

больных алкоголизмом. С возрастом оно увеличивается у мужчин и понижается у женщин. Последние в возрасте от 40 до 50 лет составляют группу онкориска. Действие нормальных киллеров изучают в культуре миелобластов К-562 с  $^3\text{H}$ -уридином в среде или с клетками-мишенями, меченными хромом ( $^{51}\text{Cr}$ ).

### **2.4.3. Эозинофилы**

Эозинофилы, так же как и НК-клетки, осуществляют внеклеточное уничтожение. Они имеют рецептор к компоненту  $\text{C3bR}$ . Эти полиморфноядерные «двоюродные братья» нейтрофилов содержат гранулы, интенсивно прокрашивающиеся кислыми красителями и имеющие характерный вид на электронных микрофотографиях. Главный, основной белок (МВР) локализован в ядре гранул, в то время как катионный белок и пероксидаза находятся в матриксе гранул. В состав гранул также входят арилсульфатаза В, фосфолипаза D, гистамин и белок, который может протыкать мембрану, подобно компоненту или перфорину нормальных киллеров. При активации в эозинофилах происходит особенно мощное усиление дыхания, сопровождающееся выработкой активных метаболитов кислорода.

Большинство гельминтов способно активировать компонент по альтернативному пути, и, хотя они устойчивы к действию  $\text{C9}$ , связывание ими  $\text{C3b}$  позволяет эозинофилам присоединяться к их поверхности. Высвобождая МВР и катионный белок, они повреждают мембрану паразита, вызывая его гибель.

## **2.5. Гуморальные факторы неспецифической резистентности**

### **2.5.1. Интерфероны**

Интерфероны (от лат. «мешать, препятствовать») в организме здоровых людей не обнаруживаются. Они появляются в ответ на введение таких антигенов, как гликолизированные белки, эубактерии, микоплазмы, риккетсии, синтетические полианионы или митогены.

Существует три класса интерферонов: альфа ( $\alpha$ ), бета ( $\beta$ ) и гамма ( $\gamma$ ).  $\alpha$ -интерферон синтезируется инфицированными вирусом клетками и лейкоцитами, в том числе макрофагами. Они защищают клетки от вирусов, усиливают активность НК-клеток; являются модуляторами дифференцировки клеток и ингибиторами их роста; усиливают экспрессию молекул МНС I.

$\beta$ -интерферон образуется в основном в фибробластах, а также в эпителиальных клетках. Его действие повторяет активность  $\alpha$ -интерферона, за исключением влияния на процессы дифференцировки клеток.

$\gamma$ -интерферон синтезируется Т-лимфоцитами и НК-клетками, поэтому называется иммунным. Вдобавок к активности  $\beta$ -интерферона он является фактором усиления секреции цитокинов, активирует макрофаги, ускоряет созревание В-клеток и увеличивает экспрессию белков МНС II.

$\alpha$ - и  $\beta$ -интерфероны устойчивы к прогреванию до  $56^{\circ}\text{C}$ , а  $\gamma$ -интерферон термолабилен. Интерфероны видоспецифичны. В организме существуют чувствительные и нечувствительные к интерферону клетки. Вирусная инфекция вызывает выработку  $\alpha$ - и  $\beta$ -интерферонов через 4 часа после инфицирования, а через 8 часов наступает максимальный синтез гуморального фактора.

Противовирусное действие интерферонов является опосредованным. Комплекс «рецептор – интерферон» попадает в клетку путем эндоцитоза. Он вызывает дерепрессию соответствующих генов, связываясь с белком-репрессором. В результате синтезируются два фермента: протеинкиназа и нуклеаза. Протеинкиназа действует на первый белок инициации синтеза вирусного белка на рибосомах. Нуклеаза разрушает нуклеиновые кислоты, образованные под влиянием вируса, вызывая апоптоз клеток-мишеней.

Антипролиферативная активность интерферонов привлекает онкологов. При клеточных опухолях применяют его искусственно синтезированные аналоги – реуферроны. При лейкозах эти препараты продляют период ремиссии, однако могут вызывать и побочные эффекты. При гриппе полезно применять аскорбиновую кислоту, которая является индуктором синтеза интерферонов.



### **2.5.2. Трансферрин**

Трансферрин – белок, состоящий из единственной полипептидной цепи, имеющей два центра связывания железа. Связывая железо, он лишает патогенные микроорганизмы факторов роста. Трансферрин синтезируется в печени. В норме его количество составляет 200–300 мг %. Лактоферрин выполняет аналогичную функцию в грудном молоке.

### **2.5.3. Лизоцим**

Лизоцим, или мурамидаза, – фермент, который является одним из наиболее древних факторов противомикробной защиты. Он представляет собой важный фактор сывороточной бактерицидности, имеющийся во всех тканях организма. Концентрация лизоцима в крови составляет 8,5 мкг/мл сыворотки. Его постоянно вырабатывают клетки хрящевой ткани, слизистых, слюнных желез. Макрофаги и моноциты секретируют особенно большие количества лизоцима. После поступления в кровь его захватывают гранулоциты и сохраняют в своих гранулах длительное время. Лизоцим расщепляет полисахаридные связи в молекулах муреина клеточных стенок бактерий. Лизис стенок грамотрицательных бактерий он осуществляет совместно с комплементом. Синергистом лизоцима также является секреторный иммуноглобулин А (IgA-S). Некоторые микроорганизмы синтезируют антимурамидазу, которая инактивирует лизоцим.

### **2.5.4. С-реактивный белок**

С-реактивный белок (СРБ) относится к белкам острой фазы. В норме он не определяется, а появляется в ответ на острую или хроническую бактериальную инфекцию, ожоги и другие некротические реакции. СРБ состоит из пяти субъединиц, имеет последовательности, сходные с константными участками иммуноглобулина G (IgG). Он неспецифически преципитирует продукты разрушения клеток и тканей как хозяина, так и патогена: С-полисахарид, фосфолипиды и гликопротеины. Образующийся преципитат очень быстро выводится из организма. Уровень СРБ в крови указывает на тяжесть заболевания. С-реактивный белок участвует также в реакции «трансплантат против хозяина» (ТПХ).

### 2.5.5. Комплемент

Система комплемента занимает 10 % белков сыворотки крови. В нее входит около 20 различных молекул, среди которых выделяют 9 основных: C1, C2, ...C9, включающих в себя субкомпоненты. Первый компонент комплемента распадается на три фрагмента: C1q, C1r, C1s. Другие молекулы дают при расщеплении два фрагмента, меньший обозначают буквой «а», а больший – «b». Некоторые субкомпоненты могут существовать самостоятельно, другие – только в составе более крупных молекул. Все являются полимерами. Когда белки системы комплемента свободно циркулируют в крови, они не активны. Прикрепление к клеткам-мишеням вызывает изменение их конформации или отщепление фрагментов. В результате обнажаются активные центры и запускаются реакции. Подобно системе свертывания крови, комплемент работает по каскадному механизму. Если одно звено выпадает, то общая реакция на нем и останавливается.

Известны три основных пути активации комплемента: альтернативный, лектиновый и классический. В каждом из них выделяют три этапа: инициацию, образование C3/C5-конвертазы и формирование мембранатакующего комплекса (МАК). Сразу отметим, что МАК представлен во всех путях одинаково: комплексом C5bC6C7C8C9. Его основной задачей является формирование поры в клеточной стенке патогена, размер которой зависит от количества молекул C9. В реакции полимеризации их может участвовать до 16. Пятисот таких пор достаточно, чтобы нарушить баланс ионов внутри клетки-мишени и вызвать ее лизис в результате повышения осмотического давления.

Образование C3-конвертазы – центральное звено в любом пути активации комплемента. С этого момента работа всей системы резко ускоряется, поэтому данный этап называют каталитическим. C3-конвертаза представлена различными комплексами в разных путях, но всегда она взаимодействует с третьим компонентом комплемента, расщепляя его на C3a, который уходит в циркуляцию, и C3b, который присоединяется к иницирующему комплексу молекул, прикрепленному к мембране клетки-мишени.

Наиболее быстро активация комплемента происходит в классическом пути, который так называли потому, что он был открыт

первым. Этот путь приводит к уничтожению клеток-мишеней, покрытых антителами. Fc-фрагменты антител взаимодействуют с первым компонентом комплемента через C1q, что приводит к активации всего компонента. Молекула C1 ферментативно взаимодействует с C4. В результате четвертый компонент комплемента расщепляется на C4a, который уходит в циркуляцию, и C4b, прикрепляющийся к поверхности клеточного антигена и вылавливающий из кровотока свободный C2. Второй компонент также расщепляется на два. На мембране остается больший фрагмент C2b, который ранее обозначали как C2a. Образовавшийся комплекс C4bC2b и есть не что иное, как C3-конвертаза классического пути, который взаимодействует с C3. От третьего компонента отщепляется и уходит в циркуляцию C3a, а оставшийся на мембране комплекс C4bC2bC3b (C5-конвертаза) аналогично воздействует на пятый компонент комплемента. После образования C4bC2bC3bC5b запускается спонтанная сборка МАК путем последовательного присоединения C6, C7, C8 и C9. В результате формируется пора и осуществляется реакция цитотоксичности.

Инициация альтернативного пути происходит в результате мягкого спонтанного гидролиза третьего компонента комплемента по тиоэфирной связи и при участии белков пропердиновой системы крови – H, I, P, D и В. Распада на C3a и C3b при этом не происходит, но возникает активность C3b. Молекула с активностью C3b способна фиксироваться на ЦПМ клетки-мишени. В адгезированном состоянии она связывается с фактором В (именно с его Vb-частью) и становится доступной для расщепления циркулирующим фактором D. C3bVb является C3-конвертазой альтернативного пути, которая фиксирует новые молекулы третьего компонента комплемента, распадающегося при этом на две части – C3a и C3b. Vb – фермент, а C3b – субстрат, и C3bVbC3b – короткоживущий (всего несколько секунд) комплекс. После соединения с белком Р (пропердином плазмы крови) время его жизни увеличивается до двух часов. Тогда C3bVbC3bP (C5-конвертаза) фиксирует циркулирующий C5 с образованием C3bVb3bP5b и запускает образование мембранатакующего комплекса.

Альтернативный путь активации комплемента запускается через взаимодействие C3 с полисахаридами микроорганизмов

(малоспецифическими структурами), опирается на пропердиновую систему крови и обходится без участия антител, поэтому вероятно, что в эволюции иммунной системы он возник первым и, безусловно, относится к врожденному иммунитету. Классический же путь активации комплемента не может быть реализованным в отсутствие специфического иммунного ответа.

В настоящее время известен и третий путь активации комплемента – лектиновый. Его инициацию вызывает взаимодействие сывороточного лектина с маннозосодержащими белками или углеводами поверхности бактерий и вирусов. Несмотря на то, что инициация комплемента в этом случае происходит без участия антител, далее события разворачиваются по схеме классического пути с образованием C4bC2b в качестве C3-конвертазы и C4bC2bC3bC5bC6C7C8C9...C9 в финале. Таким образом, лектиновый путь активации комплемента занимает в эволюции промежуточное положение между альтернативным и классическим. Понятно, что он относится к системе врожденного иммунитета.

Помимо своей эффекторной функции – цитотоксичности, – комплемент, точнее его циркулирующие компоненты, образующиеся при активации, обладает многообразной биологической активностью. C2a является кинином, увеличивая проницаемость сосудов. Фрагменты C3a и C5a – сильные медиаторы воспаления, способные вызывать анафилактический эффект. C5C6C7 является хемоаттрактантом для нейтрофилов. C3b, C4b – опсонины, а C8 и C9 – фосфолипазы, представляющие угрозу для мембран клеток-мишеней. Поскольку на всех клетках, циркулирующих в крови, есть рецепторы к активным компонентам комплемента, то можно говорить о том, что комплемент обеспечивает взаимодействие практически всех клеток организма. Таким образом, являясь активным эффектором реакции воспаления, комплемент представляет угрозу для организма в случае своей гиперактивации.

Регуляция активности всей системы комплемента осуществляется через длительность жизни ее компонентов и ингибицию. Как правило, все компоненты комплемента – короткоживущие, быстро разрушаются оксидокарбоксидазами и действуют короткодистантно, вызывая только местные реакции. Период их полу-

распада может занимать от нескольких минут до нескольких часов. Например, для C4bC2b он составляет 12 минут.

Ингибирование комплемента может осуществляться тремя путями. Во-первых, C1-ингибитор блокирует активность первого компонента, не позволяя расщеплять C2 и C4 в классическом пути. Во-вторых, в альтернативном пути существует механизм удаления избытка C3b из кровотока. Циркулирующий C3b связывается фактором H. Комплекс C3bH чувствителен к действию белка I, в результате C3b разрушается, а фактор H высвобождается. Таким образом, избыток C3b удаляется на основе конкуренции белков H и I с фактором D за субстрат (C3b). В-третьих, белок S, занимая место C8, может предотвращать образование поры на уровне мембранатакующего комплекса.

Неиммунную альтернативную активацию комплемента (через C3) вызывают липополисахариды микроорганизмов, полисахариды растительного и животного происхождения, симозан (полисахарид дрожжей) и яд кобры. Последний в комплексе с ионами магния образует стабильный комплекс, который не инактивируется ингибиторами C3-конвертазы. Поверхность многих бактерий аналогично защищает C3-конвертазу, поэтому альтернативный механизм активации комплемента эффективно уничтожает патогенные микроорганизмы.

Образование компонентов комплемента происходит преимущественно в печени, костном мозге и селезенке. Особое место занимает C1, поскольку он синтезируется, по-видимому, эпителиальными клетками тонкого кишечника. Непрерывное использование компонентов комплемента определяет необходимость их постоянного синтеза с достаточно высокой скоростью: для C3 она составляет 0,5–1,0 мг белка на килограмм веса за час. Как активация и ингибирование, так и синтез и потребление компонентов комплемента находятся в динамическом равновесии. По характеру потребления отдельных компонентов можно определить, по какому пути идет активация комплемента.

Для стандартизации оценки активности комплемента была введена гемолитическая единица (CH<sub>50</sub>). Она равна такому количеству сыворотки, при добавлении которого в тест-систему происходит гемолиз половины эритроцитов (1/2 из  $5 \cdot 10^8$ ) при опти-

мальной концентрации ионов кальция и магния, ионной силе раствора 0,147 в объеме 7,5 мл за 1 час при 37°C. В сыворотке морских свинок содержание комплемента составляет примерно 250 CH<sub>50</sub>/мл, а у человека – всего 40 гемолитических ед. в мл.

## **2.6. Воспаление как результат сочетанного действия многих защитных факторов**

Воспаление описывают как серию реакций, происходящих в тканях при сублетальном повреждении. Этот процесс, имеющий значение для выживания, не оценим как защитный механизм против инфекции и как способ репарации тканей. Это главным образом сосудистая реакция, которая начинается с расширения сосудов, за счет чего больше крови поступает на защищаемую территорию, придавая ей красноту. Затем сосуды способствуют повышению проницаемости цитоплазмы, которая образует экссудат, вызывающий набухание воспаленных тканей. Экссудат воспаления содержит белки цитоплазмы, включая антитела, фибриноген и комплемент. Клетки воспаления, главным образом нейтрофилы и макрофаги, собираются в месте воспаления и осуществляют фагоцитоз. На последней стадии воспаления активируются фибробласты, которые осуществляют репарацию тканей.

Функции воспаления многообразны: 1) увеличивается количество жидкости, разбавляющей концентрацию токсинов в месте воспаления; 2) антитела экссудата взаимодействуют с антигенами, осуществляя дезактивацию микробов или нейтрализацию их токсинов; 3) фибриноген формирует нерастворимые тромбы, которые препятствуют новому проникновению микроорганизмов; 4) комплемент усиливает воспалительный ответ и помогает хемотаксису и фагоцитозу; 5) фагоциты, которые выходят из сосудов в место повреждения, осуществляют фагоцитоз микробов и остатков разрушенных клеток организма; 6) дренаж воспалительного экссудата через соседние лимфатические узлы инициирует специфический иммунный ответ; 7) наконец, активируются фибробласты и починяют поврежденные ткани. Следовательно, воспаление является результатом сочетанного действия многих факторов естественной защиты организма.

Появление в организме чужеродного антигена связано, как правило, с повреждением естественных барьеров и активацией макрофагов, эпителиальных и других клеток организма, что приводит к развитию воспаления. Таким образом, проявляется включение первой линии иммунной защиты, основанное на факторах естественного иммунитета. По-видимому, в большинстве случаев, когда биологическая агрессия выражена слабо, этого бывает и достаточно. Однако всегда параллельно с факторами естественного иммунитета запускаются механизмы адаптивной иммунной защиты – антигенспецифического иммунного ответа.

### **3. Основные свойства адаптивного иммунного ответа**

Адаптивный иммунный ответ осуществляют иммунные клетки и молекулярные продукты этих клеток. В зависимости от того, какие факторы преобладают в эффекторных реакциях, различают гуморальный (опосредованный молекулами) и клеточный иммунные ответы. В любом случае адаптивный иммунный ответ отличается от неспецифической резистентности рядом кардинальных свойств.

**1. Специфичность.** Иммунные ответы специфичны к отдельным антигенам. Более того, иммунные ответы специфичны к различным структурным компонентам большинства сложных белковых и полисахаридных антигенов, а именно к антигенным детерминантам или эпитопам. Эта тонкая специфичность существует, потому что Т- и В-лимфоциты, которые реагируют на чужие антигены, экспрессируют мембранные рецепторы, распознающие трудно уловимые различия между отдельными антигенами. Антигенспецифические лимфоциты развиваются без антигенной стимуляции, так что клоны клеток с различными антигенраспознающими рецепторами (AgR) и специфичностями имеются в распоряжении неиммунизированных людей для того, чтобы при встрече с чужими антигенами отвечать на них. Эта концепция лежит в основе селекционно-клональной теории Ф. М. Бернета.

**2. Разнообразие.** Общее число антигенных специфичностей лимфоцитов в индивидууме, называемое репертуаром лимфоцитов, чрезвычайно велико. Считают, что иммунная система млекопи-

тающих способна различать, по крайней мере,  $10^9$  отдельных антигенных детерминант. Это необычайное разнообразие репертуара является результатом вариабельности структуры антигенсвязывающих участков AgR лимфоцитов. Другими словами, различные клоны лимфоцитов отличаются друг от друга структурой своих антигенраспознающих рецепторов и, следовательно, своими специфичностями для антигенов, создавая тем самым чрезвычайно разнообразный общий репертуар. Это разнообразие определяется особенностями генетического кодирования AgR лимфоцитов.

**3. Память.** Экспозиция иммунной системы с определенным антигеном усиливает ее способность повторно отвечать на этот антиген. Таким образом, ответы на вторую и последующие атаки антигена, называемые вторичными, обычно происходят быстрее, являются более сильными и часто качественно отличаются от первичных иммунных ответов. Это свойство специфического иммунитета называют иммунологической памятью.

**4. Саморегуляция.** Все нормальные иммунные ответы убывают со временем после антигенной стимуляции. Это свойство обеспечивается несколькими регуляторными механизмами, о которых будет сказано ниже.

**5. Распознавание своего и чужого.** Одним из замечательных свойств иммунной системы является ее способность отличать чужие антигены от нормальных антигенов собственного организма. Таким образом, лимфоциты каждого индивидуума способны распознавать множество чужих антигенов и на них отвечать. Однако обычно они не реагируют на потенциально антигенные вещества организма хозяина. Специфическую иммунологическую неответаемость называют толерантностью. Ауто толерантность есть благоприобретенное свойство, которое возникает в результате селекции лимфоцитов на определенной стадии их развития. Нарушения в индукции или сохранении ауто толерантности приводят к иммунному ответу против аутоантигенов и потенциально фатальным аутоиммунным заболеваниям.

Эти пять кардинальных черт необходимы для того, чтобы иммунная система могла исполнять свои обычные функции в защите хозяина. Специфичность и память дают возможность иммунной системе наращивать усиленные иммунные ответы на по-



стоянную или повторяющуюся стимуляцию одним и тем же антигеном и, таким образом, противостоять пролонгированным или часто повторяющимся инфекциям. Разнообразие репертуара существенно, если иммунная система должна защитить индивидуум сразу от многих потенциальных патогенов окружающей среды. Саморегуляция позволяет иммунной системе возвращаться в состояние покоя после элиминации каждого антигена, давая возможность тем самым оптимально отвечать на другие антигены, с которыми организм непосредственно имеет дело в данный момент. Способность различать «свое» и «чужое» жизненно важна для предотвращения реакций против нормальных клеток собственного организма и одновременного поддержания разнообразия репертуара отвечающих на чужие антигены лимфоцитов. Таким образом, кардинальные свойства адаптивного иммунитета в полной мере реализуются только в формате иммунной системы, особенности функциональной организации которой будут рассмотрены далее.

В обобщенной схеме адаптивного иммунного ответа (рис. 1) можно различить 3 основные фазы:

- 1) когнитивную, или фазу распознавания,
- 2) фазу активации (пролиферации и дифференцировки лимфоцитов),
- 3) эффекторную фазу (элиминации антигена).

Суть происходящих событий кратко можно изложить следующим образом. Неспецифические факторы иммунитета и обусловленная ими воспалительная реакция служат базой для включения адаптивной реакции лимфоцитов. Её важнейшая особенность – избирательное вовлечение в иммунный ответ тех клонов лимфоцитов, которые несут рецепторы, распознающие антигены (АГ) – маркеры чужеродности агрессивных агентов. Нативный антиген, в частности растворимый, распознается только иммуноглобулиновыми рецепторами В-лимфоцитов (В). Т-лимфоциты (Т) различают не антиген как таковой, а «измененное свое» – фрагменты антигена, встроенные в специализированные рецепторы клеток организма – молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС от англ. «Major histocompatibility complex»). Это связано с особенностями специфичности рецептора Т-клеток: он распознает только антигенные детерми-

нанты, встроенные в молекулы МНС. Молекула МНС, всегда находясь в комплексе с аллогенным пептидом, служит эталоном «своего», и все отклонения от эталона воспринимаются рецепторами Т-клеток. Таким образом, В-лимфоциты, которые являются предшественниками антителообразующих клеток (АОК), распознают свободный антиген (положительный сигнал), а предшественники эффекторных Т-лимфоцитов – комплекс МНС с чужеродным антигеном (отрицательный сигнал), в частности на поверхности инфицированных или мутантных клеток собственного организма.

Суть процессов, которые осуществляют АПК в отношении антигена, состоит в поглощении антигена, фрагментации и встраивании фрагментов в молекулу МНС, т. е. в подготовке молекулярного комплекса, который могли бы распознать Т-хелперы. Одновременно с распознаванием этого антигенсодержащего комплекса происходит контактное взаимодействие АПК и Т-хелперов с помощью ряда комплементарных молекул их поверхности, что обеспечивает взаимную адгезию (прилипание) названных клеток и дополнительную стимуляцию Т-хелперов. Кроме того, АПК выделяют ряд цитокинов, которые служат еще одним источником стимулирующих (химических) сигналов. Фактически распознавание антигена является лишь указанием, какому клону Т-клеток предстоит вступить в реакцию. Но клетки исходно малочисленного клона должны размножиться и превратиться в активно работающие Т-хелперы. Для того чтобы это произошло, требуются дополнительные стимулы. Результатом этой комплексной стимуляции является сначала активация Т-лимфоцитов, а затем их деление (пролиферация) и созревание (дифференцировка) в эффекторные клетки. Функция Т-хелперов состоит в оказании «помощи» (англ. «help») В-лимфоцитам и  $CD8^{+}$ -Т-клеткам, которые распознали антиген. Как и в случае с Т-хелперами, для этих клеток недостаточно одного антигенного стимула, поскольку он лишь определяет выбор (селекцию) клеток, включаемых в ответную реакцию.

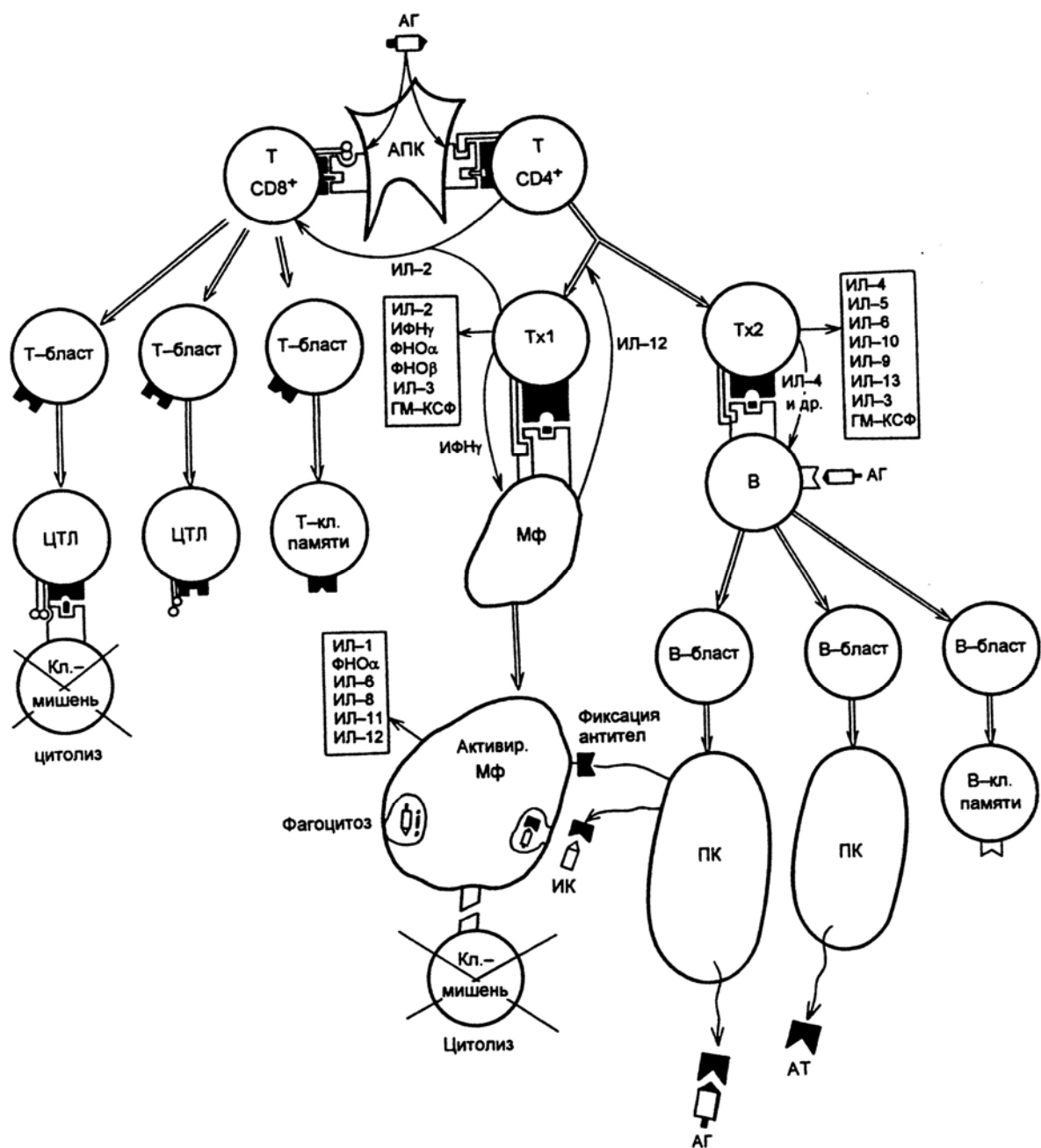


Рис. 1. Обобщенная схема специфического иммунного ответа [Ярилин, 1999]. Обозначения в тексте и списке сокращений

Для вступления в реакцию требуется активация этих клеток, условия которой аналогичны условиям активации Т-хелперов: они должны получить дополнительно сигналы костимуляции от контакта с клетками (на этот раз не с АПК, а с Т-хелперами) и от цитокинов. Активация приводит к размножению клеток соответствующих клонов и их дифференцировке в клетки-эффекторы, т. е. в «исполнителей» конечных эффекторов иммунного ответа.

В ходе иммунного ответа В-лимфоциты дифференцируются в плазматические клетки (ПК), секретирующие антитела. Последние представляют собой молекулы иммуноглобулинов – растворимую форму AgR В-клеток. Антитела обладают собственной эффекторной активностью: они связывают растворимые антигены, способствуя их поглощению фагоцитами и расщеплению. Фиксируясь на чужеродных клетках, иммуноглобулины делают их доступными для цитолитической атаки комплемента, естественных киллеров или для фагоцитоза макрофагами.

Т-лимфоциты дифференцируются в цитотоксические лимфоциты (ЦТЛ), способные отличать чужеродные или измененные собственные клетки. Следствием такого распознавания является иммунный цитолиз клеток-мишеней: организм не делает попыток «излечить» измененные клетки – он их уничтожает. Другой тип эффекторных Т-лимфоцитов – эффекторы гиперчувствительности замедленного типа (Тх1-клетки) – реализуют свое действие, повышая активность макрофагов, придавая специфическую направленность реакциям первой линии защиты и стимулируя их.

Параллельно с эффекторными образуются клетки памяти, которые, пройдя активацию, не участвуют в устранении антигенов, а остаются в запасе. Они отличаются большой продолжительностью жизни и служат материальной основой иммунологической памяти. При повторном поступлении антигена клетки памяти быстрее вовлекаются в иммунный ответ, сразу запуская его эффекторную фазу.

Своевременному ограничению иммунных процессов и устранению видимых последствий иммунного ответа способствуют антитела и лимфоциты, у которых развивается супрессорная функция.

Следует отметить, что на пусковых этапах специфический иммунный ответ мало связан с механизмами естественной резистентности. Однако позже формируемые при иммунном ответе эффекторные факторы «наслаиваются» на факторы естественного иммунитета, делая их прицельными и повышая их эффективность. Развиваясь медленнее, чем воспалительная реакция, иммунный ответ в конечном итоге приводит к тому, что защита от агрессии становится значительно более действенной и в то же время более экономной, поскольку в ответ вовлекаются немногочисленные клоны лимфоцитов.

## **4. Функциональная организация иммунной системы**

### **4.1. Лимфоциты – основные эффекторы иммунного ответа**

Анатомическим аналогом иммунной системы является лимфоидная система. Это довольно крупный орган: вес только лимфоидных клеток равен одному, а вместе с лимфатическими узлами составляет 2 кг.

Лимфоциты – это клетки диаметром 20–30 мкм, в цитоплазме которых имеются все органеллы: большое ядро, аппарат Гольджи и в небольшом количестве митохондрии, рибосомы и лизосомы. Как правило, агранулярные лейкоциты находятся в циркуляции, в кровяном и лимфатическом руслах, а эффекторные клетки, содержащие гранулы, – в межклеточном пространстве различных тканей. Лимфоциты обладают амёбовидным движением и способны как к положительному, так и к отрицательному хемотаксису. Их активность зависит от количества рецепторов, поэтому активированные лимфоциты отличаются большим количеством ворсин и выростов на своей поверхности. По морфологии различают большие, средние и малые лимфоциты.

Большинство лимфоцитов – маленькие, лишенные каких бы то ни было особенностей клетки. Их ядро содержит большое количество хроматина, находящегося в конденсированном состоянии, а в их цитоплазме заключено немного органелл. Лимфоциты не имеют функциональной активности до тех пор, пока случайно не встретятся с антигеном, который является необходимым зарядом для их пролиферации и специфической активности. Чтобы поделиться, малым лимфоцитам необходимо претерпеть реакцию бласттрансформации, то есть превратиться в большие лимфоциты. Средние лимфоциты являются активированными клетками, способными делиться. Большие же лимфоциты – это юные клетки, размеры которых определяются обилием цитоплазмы.

Лимфоциты являются эффекторными клетками иммунной системы. Поскольку они противостоят антигенам различной при-

роды, их популяция в организме неоднородна и изменчива, так как в любой момент клетки какой-нибудь подпопуляции вынуждены пролиферировать и дифференцироваться. Лимфоциты во всем их многообразии постоянно рециркулируют по телу, мигрируя из кровяного русла и обратно между первичными и вторичными лимфоидными тканями. Точное количество клеток в различных субпопуляциях лимфоцитов отражает статус иммунного ответа в данное время.

Среди лимфоцитов различают две большие популяции: тимусзависимые Т-лимфоциты и тимуснезависимые В-лимфоциты. Морфологически Т- и В-клетки неразличимы. Их дифференцируют по местам созревания и различной функциональной активности. Название Т-клеток произошло от первой буквы слова «тимус», а название «В-клетки» имеет двойное объяснение. Сначала, когда обнаружили, что у птиц лимфоциты гуморального звена созревают в сумке Фабрициуса, говорили, что они зависят от «bursa» (лат. название сумки). Затем, когда выяснилось, что у человека В-лимфоциты созревают в костном мозге, латинская буква «В» совпала с первой буквой английского слова «костный» (bone marrow). Что касается выполняемых функций, то Т-лимфоциты регулируют специфический иммунный ответ (Т-хелперы, Т супрессоры) и отвечают за реакции клеточного иммунитета (Т киллеры). В-лимфоциты, являясь предшественниками плазматических клеток, секретирующих антитела, ответственны за гуморальное звено адаптивного иммунитета.

Каждой специфической функции, выполняемой лимфоцитами в процессе иммунного ответа, соответствует определенный рецептор на их поверхности. Т- и В-лимфоциты можно различить под микроскопом, обработав их мечеными ФИТЦ моноклональными антителами. Тогда специфические для той или иной группы клеток рецепторы будут выполнять функцию их маркеров. Так, методами иммуноцитохимии было выяснено, что всего у человека имеется  $2 \cdot 10^{12}$  лимфоцитов, из них примерно одну половину составляют Т-, а другую – В-клетки, если не принимать во внимание 5 % «нулевых» лимфоцитов. Это количество постоянно возобновляется. Ежесекундно в организме образуется один миллион лимфоцитов, из которых 20 % живут всего 2–3 дня, а 80 %

долго сохраняют жизнеспособность (100–200 сут) и являются потенциальными «клетками иммунологической памяти».

## **4.2. Первичные, или центральные, органы иммунной системы – места созревания лимфоцитов**

Лимфоидные органы состоят из тканей, в которых лимфоциты взаимодействуют с нелимфоидными элементами, необходимыми либо для их созревания, либо для инициации иммунного ответа.

Органы, в которых происходит созревание лимфоцитов, т. е. превращение их из костномозговых предшественников в клетки специфического иммунного ответа, называют «первичными», или «центральными», органами иммунной системы. К ним относят тимус, или вилочковую железу, сумку Фабрициуса (у птиц) и костный мозг (у человека).

### **4.2.1. Костный мозг**

Костный мозг прежде всего является органом кроветворения во взрослом организме. Этот процесс ежеминутно охватывает 2,5 млн клеток, которые непрерывно разрушаются и образуются вновь. Современная унитарная теория кроветворения утверждает, что все клетки крови происходят от общего костномозгового предшественника – плюрипотентной стволовой клетки, или гемоцитобласта. Она непрерывно делится, и ряд дочерних клеток, идентичных ей, помогает поддерживать резервное количество стволовых клеток в организме на постоянном уровне. Другие дочерние клетки претерпевают дифференцировку, чтобы затем превратиться в какой-нибудь из типов зрелых клеток крови. В настоящий момент различают четыре основных пути дифференциации стволовых клеток.

1. Эритроидная линия дает начало эритроцитам.
2. Лимфоидная линия приводит к образованию лимфоцитов.
3. В мегакариоцитарной линии происходит формирование мегакариоцитов.
4. Миеломоноцитарная линия завершается появлением моноцитов (макрофагов), нейтрофилов, эозинофилов, базофилов.

В крови обнаруживаются клетки двух основных типов: красные кровяные клетки – эритроциты и белые кровяные тельца – лейкоциты. Некоторые клетки после миграции из кровяного русла в ткани совершенно меняют свою морфологию. Первыми примерами являются моноциты, превращающиеся в макрофаги, и В-лимфоциты, которые становятся плазматическими клетками.

С точки зрения иммунной функции костный мозг человека является аналогом сумки Фабрициуса у птиц, слепого отростка ЖКТ. В этих органах созревают В-лимфоциты. У эмбрионов функции костного мозга выполняет печень. В очень редких случаях (при гипериммунизации) в костном мозге могут накапливаться плазмоциты, способные отвечать на антиген, и может наблюдаться иммунный ответ гуморального типа. По современным данным, к первичным органам иммунной системы относят фолликулы периферических Пейеровых бляшек тонкого кишечника, поскольку в них происходит созревание В-клеток из предшественников, которые заселяют фолликулы в эмбриональном периоде.

#### **4.2.2. Тимус (вилочковая железа)**

Тимус, или вилочковая железа, несмотря на название, не является, строго говоря, эндокринной железой, поскольку преимущественно образован лимфоидной тканью. Он располагается за грудной, достигает максимальных размеров (3–5 см) к двум годам, далее постепенно уменьшаясь до незначительных размеров к моменту достижения организмом половой зрелости. Возрастная инволюция тимуса связана с расходом Т-клеточных предшественников. Однако она никогда не бывает абсолютной, поскольку при полном опустошении тимуса, например в результате облучения, дотимические предшественники способны заселять его вновь.

Тимус состоит из двух долей, каждая из которых сложена многочисленными мелкими (0,5–2,0 мм) дольками. В корковом слое железы располагаются главным образом лимфоциты, в то время как в мозговом веществе доминируют ретикулоэндотелиальные клетки. В тимусе происходит активный лимфопоз, в процессе которого Т-лимфоциты созревают и проходят первичную, независимую от экзогенного антигена, дифференцировку. Помимо этого, большое значение в поддержании иммунитета



имеют гормоны тимуса, которые, попадая в кровеносное русло, осуществляют контроль над функциями клеток в местах, далеких от их происхождения. Так, тимозин, секретируемый вилочковой железой, является интерлейкином, регулирующим созревание и функционирование лимфоцитов.

### **4.3. Вторичные, или периферические, органы иммунной системы – места формирования ответа на антиген**

Органы, в которых происходит антигенспецифическая активация лимфоцитов и развивается иммунный ответ, называют «вторичными», или «периферическими». К ним относят лимфатические узлы, селезенку и лимфоидные ткани, ассоциированные со слизистыми (мукозными) оболочками желудочно-кишечного (гланды, аденоиды, аппендикс, Пейеровы бляшки) и дыхательного трактов. В организации иммунной системы сочетаются региональный и системный принципы: определенные участки тела находятся под региональным контролем лимфатических узлов, селезенка «обслуживает» организм в целом, а отделы иммунной системы, связанные со слизистыми оболочками и кожей, – его Барьерные структуры. Эти принципы отражают закономерности поступления в организм чужеродных субстанций.

#### **4.3.1. Лимфатические узлы**

Лимфоузлы располагаются по ходу крупных лимфатических сосудов. Это высокоорганизованные лимфоидные структуры, являющиеся местом сосредоточения широкой сети сосудов, которые собирают межклеточную жидкость (лимфу) из тканей и возвращают ее в кровь. Сеть приносящих лимфатических сосудов начинается слепыми отростками в тканях, которые сходятся в более крупные афферентные сосуды. Благодаря им лимфа собирается под капсулой и фильтруется через строму лимфоузла, попадая в систему выносящих эфферентных сосудов. Та, в свою очередь, начинается трабекулами, образующими синусы, из которых берет начало единый эфферентный лимфатический проток. Артерия доходит до коркового слоя лимфоузла в виде капилляров –

артериол. Артериолы, обволакивая фолликулы, переходят в венулы, которые собираются в оттекающую вену.

Приток клеток с кровью и лимфой в лимфоузел осуществляется со скоростью 1 млн кл/ч/г веса. Поступающая популяция клеток включает 75 % Т-лимфоцитов, 6 % В-клеток и 15 % макрофагов. В оттекающей лимфе – иное соотношение: 75 % Т-клеток, 25 % В-лимфоцитов и не более 1 % макрофагов. Отток лимфы происходит со скоростью 30 млн кл/ч/г. За один час лимфоузел прокачивает такое количество лимфоцитов, вес которых втрое превышает его собственный. Таким образом, в лимфатическом узле лимфоциты концентрируются, поступая с кровью (90 %) и лимфой (6 %), а также образуются вновь (4 % выходящих из лимфоузла клеток).

В любом вторичном органе иммунной системы имеются тимусзависимая и тимуснезависимая зоны. В лимфоузлах корковый слой – тимуснезависимая зона, место пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов. Там В-клетки локализованы в фолликулах. В первичных фолликулах находятся покоящиеся лимфоциты. Во вторичных фолликулах после встречи с антигеном происходит активное размножение В-клеток, поэтому они отличаются наличием центрального «зародышевого» центра.

Паракортикальная зона является тимусзависимой – местом диффузного распределения Т-клеток. Строму лимфоузла составляют дендритные клетки, между отростками которых в медуллярной зоне располагаются плазматические клетки и макрофаги. Именно макрофаги представляют антиген Т-лимфоцитам, что запускает специфический иммунный ответ в целом. Плазматические клетки, образовавшиеся в результате дифференцировки пролиферирующих В-клеток, обогащают вытекающую лимфу антителами. Если антиген ввести через лимфу, то в лимфоузле оказываются задержанными 80 % крупных молекул и клеток. Низкомолекулярные и вирусные антигены улавливаются хуже и попадают в кровь.

#### **4.3.2. Селезенка**

Кровь фильтруется селезенкой, которая является участком ее медленного протекания и органом кроветворения. Селезенка – самый крупный производитель макрофагов в организме. Именно

они разрушают старые эритроциты в красной пульпе, в результате чего гемоглобин и железо высвобождаются и поступают в кровь, а затем в костный мозг для повторного использования в новых клетках. В толще красной пульпы обнаруживаются островки лимфоидной ткани – белая пульпа. Она обволакивает артериолы и имеет типичное фолликулярное строение с зародышевым центром из делящихся В-клеток, которые окружены зрелыми лимфоцитами. Т-клетки располагаются вокруг артериол, соприкасаясь со стенками сосудов. Далее размещаются В-клетки, снаружи к ним примыкают моноциты (макрофаги). Лимфоциты попадают в белую пульпу из посткапиллярных венул. Здесь они могут встречаться с антигеном, в результате чего пролиферируют в плазмоциты. Активированные в селезенке лимфоциты через синусы (отростчатые эндотелиальные клетки сосудов) поступают в кровь и далее расселяются по другим лимфоидным органам.

Красная пульпа состоит из сильно сосудистой паренхимы, пронизанной синусами, в которых сосредоточена масса красных и агранулярных белых клеток крови. Через двое суток после сильного иммунного ответа в селезенке наблюдают соответствующую иммунную реакцию в печени. Таким образом, лимфоциты селезенки в конце концов задерживаются печенью.

#### **4.3.3. Лимфоидные ткани, ассоциированные со слизистыми оболочками**

Лимфоидные ткани, ассоциированные со слизистыми (мукозными) оболочками ЖКТ, бронхов и мочеполовой системы, имеют диффузное строение и представляют единую систему мукозного иммунитета. Наиболее высокоорганизованной среди них является лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником. Она функционирует следующим образом. Среди клеток эпителия подвздошной и тонкой кишок имеются так называемые клетки-пастухи, или М-клетки, которые захватывают антигены из просвета кишечника, транспортируют их и затем передают другим АПК. Те, в свою очередь, представляют антиген лимфоцитам, образующим фолликулы. В фолликуле непосредственно располагаются В-клетки и их предшественники (первичный орган). В интерфолликулярном пространстве Т- и В-лимфоциты встречаются.

Там развивается иммунный ответ (вторичный орган) и В-лимфоциты превращаются в плазмоциты. Интерфолликулярная зона по своей организации напоминает строму лимфоузла, откуда лимфоциты могут уходить с венозной кровью через посткапиллярные венулы и возвращаться обратно.

#### **4.4. Циркуляция лимфоцитов**

В крови циркулирует от 5 до 15 % общего количества лимфоцитов организма, что составляет 30 % клеток крови. В организме происходит постоянное перераспределение лимфоидных клеток в системах «сердце – легкие» и «кровь – лимфа». В целом система циркуляции лимфоцитов заключается в следующем. Малые Т- и В-лимфоциты, которые уже созрели в тимусе и костном мозге соответственно, но никогда ранее не встречались с антигеном, называют «наивными», или «девственными», лимфоцитами. Эти клетки постоянно переходят из крови в периферические лимфоидные ткани с помощью специальных адгезивных взаимодействий со стенками пронизывающих их капилляров. Так клетки высокого кубовидного эпителия (ВКЭ) венул имеют соответствующие рецепторы: MEL-14 и лектин, который связывает маннозо-6-фосфат поверхности лимфоцитов. Прикрепляясь к ним, Т- и В-клетки покидают кровеносное русло, проходя между клетками эндотелия. Известны также и «хоминг»-рецепторы, которые отвечают за трансклеточный (сквозь клетку) перенос лимфоцитов. Благодаря им Т- и В-клетки узнают вторичные лимфоидные органы.

Лимфоциты возвращаются в кровь в лимфоузлах через лимфатические сосуды. Кроме того, лимфа попадает в венозную систему через грудной проток. Этим обеспечивается рециркуляция лимфоидных клеток. Таким образом, лимфоциты «патрулируют» все органы и ткани. Исключение составляют «заБарьерные» органы, к которым, в частности, относится хрусталик глаза. Дольше всего лимфоциты задерживаются в сосудах печени и легких, что определяется архитектоникой кровеносного русла.

При наличии инфекции лимфоциты, распознавшие инфекционный агент, задерживаются лимфоидными тканями для

пролиферации и дифференцировки в эффекторные клетки иммунного ответа. Если инфекция происходит на периферии, то антиген двигается от места инфекции через афферентные лимфатические сосуды в лимфоузлы. В лимфатических узлах антиген захватывается специализированными клетками, которые представляют его циркулирующим лимфоцитам, помогая тем самым их активации.

Через несколько минут после проникновения антигена в лимфатический узел развивается процесс, обозначаемый как улавливание лимфоцитов. По-видимому, его основой служат ранние проявления локального воспаления, развивающегося в лимфатическом узле под влиянием бактериальных компонентов (особенно эндотоксинов), которые достигают лимфоузла с током лимфы, а также продуктов макрофагов, активирующихся при фагоцитозе корпускулярного материала.

Активированные макрофаги и клетки стромы выделяют «коктейль» воспалительных цитокинов – ИЛ-1, ФНО $\alpha$ , ИЛ-6, КСФ, хемокины и др., – что обуславливает развитие сосудистых и клеточных реакций, свойственных воспалению.

Однако вскоре на несколько минут прекращается отток лимфоцитов из органа. Этот «арест» клеток осуществляется вследствие ингибирования их миграции под влиянием некоторых цитокинов (особенно  $\beta$ -хемокинов). Но отток лимфоцитов скоро восстанавливается с сохранением «запрета» на эмиграцию лишь для Т- и В-лимфоцитов, несущих специфические рецепторы для данного антигена. Очевидно, эта блокада подвижности лимфоцитов развивается как результат внутриклеточных сигналов, генерируемых под влиянием связывания антигена с рецепторами лимфоцитов, и совпадает с начальным этапом активации клеток. Продолжительность процесса улавливания (рекрутирования) лимфоцитов – несколько часов. Его биологический смысл заключается в создании «временного творческого коллектива» из субпопуляций лимфоцитов определенной специфичности, способных вступать друг с другом в кооперативные отношения. В результате активированные лимфоциты после пролиферации и дифференцировки покидают лимфоузел в виде эффекторных клеток через эфферентные сосуды.

В-лимфоциты, которые превращаются в плазматические клетки, секретирующие антитела класса А (IgA), отличаются особым типом циркуляции. Эти клетки в основном встречаются в слизистых оболочках, но, тем не менее, тоже циркулируют. В очень небольшом количестве они обнаруживаются в селезенке, откуда по системе лимфатических сосудов достигают слизистых оболочек кишечника. В фолликулах вблизи Пейеровых бляшек В-лимфоциты превращаются в плазматические клетки, секретирующие IgA. Плазматические клетки покидают фолликулы с венозной кровью через посткапиллярные венулы и там же возвращаются обратно.

Таким образом, все лимфоидные ткани работают по единому принципу: захват антигена и представление его мигрирующим малым лимфоцитам для стимуляции адаптивного иммунного ответа. В результате лимфоидные ткани – это не статичные структуры, а подвижные образования, разительно изменяющиеся в зависимости от вида инфекции. Диффузные мукозные лимфоидные ткани могут появляться в ответ на инфекцию, а затем исчезать. Архитектура более организованных тканей тоже изменяется в ходе иммунного ответа. Например, фолликулы лимфоузлов разбухают в момент образования зародышевых центров и пролиферации В-лимфоцитов. В результате происходит общее увеличение лимфоузлов от 1–25 мм до нескольких сантиметров и наблюдается феномен воспаленных гланд.

## **5. Антигены**

### **5.1. Определение понятия «антигены»**

Раньше под антигеном понимали любой чужеродный продукт или клетку, способные вызывать образование антител. Со временем стало понятно, что данное определение неполно. Например, лекарства вызывают иммунный ответ в организме, но не являются чужеродными, поскольку их структура генетически не детерминирована. С другой стороны, *in vitro* было показано, что антигены взаимодействуют не только с антителами, но и с мак-

рофагами, а также лимфоцитами и их продуктами. Поэтому ВОЗ приняла следующее определение: «Антигены – это клетки или их продукты, которые вызывают специфический иммунный ответ организма, а также способны взаимодействовать *in vitro* или *in vivo* с иммунокомпетентными клетками и специфическими продуктами жизнедеятельности иммунокомпетентных клеток (антителами, лимфокинами и т. п.)».

Г. Йегер дал более практическое определение: «Антигены – это вещества, которые при парентеральном введении в организм позвоночных вызывают иммунную реакцию, а также взаимодействуют с продуктами этой реакции: антителами и активированными лимфоцитами», – и выделил три группы антигенов:

- природные (белки и нуклеопротеиды),
- модифицированные или конъюгированные (белок-гаптен),
- синтетические, синтезированные из низкомолекулярных соединений (например, поли- $\alpha$ -аминокислоты).

## **5.2. Основные свойства антигенов**

Антигенам свойственно несколько основных качеств, которые принято различать. К ним относят антигенность, иммуногенность и специфичность.

Антигенность – это способность взаимодействовать с эффекторами иммунного ответа (антителами и сенсibilизированными лимфоцитами). Она может быть специфической, если антиген связывается только с теми антителами, образование которых он сам и вызвал, и перекрестной, если антиген взаимодействует с антителами, образованными в ответ на введение другого антигена. Например, антитела, образовавшиеся в ответ на стрептококковую инфекцию, связываются не только с микроорганизмами, но и с клетками миокарда, что объясняется наличием перекрестно реагирующих антигенов на поверхности стрептококков и сердечной мышцы.

Иммуногенность – способность вызывать полноценный иммунный ответ. Однако иммунный ответ может проявляться в виде иммунологической толерантности, если происходит лишь специфическая активация супрессоров, или в виде гиперчувстви-

тельности. Поэтому по качеству наблюдаемого ответа антигены разделяют на

- иммуногены (в случае нормального иммунного ответа),
- толерогены (если развивается иммунологическая толерантность) и
- аллергены (при возникновении гиперчувствительности).

Какие свойства иммуногена будут проявляться у данного антигена, попавшего в организм конкретного индивидуума, зависит от многих факторов:

- физико-химических свойств антигена,
- способа его введения и дозы,
- факторов хозяина.

Специфичность – способность антигена избирательно взаимодействовать с комплементарными (специфическими) структурами на поверхности лимфоцитов (рецепторами) и антител (идиотипами). Она выражается в том, насколько точно антигенная детерминанта (эпитоп) «пригнана» к антигенсвязывающему центру (антидетерминанте) антител или AgR лимфоцитов. Комплементарность антидетерминантам (идиотипам) у специфического (гомологичного) антигена выше, чем у перекрестно реагирующего. В основе существования перекрестно реагирующих антигенов лежит структурное подобие или полное сходство их детерминант. Примерами такого взаимодействия могут быть перекрестные реакции между сывороточными альбуминами разных видов животных или между антигенами стрептококка, сарколеммы миокарда и базальной мембраны почки.

Иммуногенность и специфичность являются разными независимыми свойствами одной и той же молекулы. Например: очищенные капсульные полисахариды пневмококка не вызывают иммунного ответа у кроликов. Однако антитела, образованные в ответ на инфекцию капсульных пневмококков, взаимодействуют с одинаковой специфичностью как с очищенным полисахаридом, так и с самими бактериями. Таким образом, в данном случае капсульные полисахариды неиммуногенны, но специфичны.

Полные антигены способны вызывать иммунный ответ, так как их молекулы несут множество детерминант (эпитопов), к которым специфичны активные центры AgR и антител. Специфичность ан-



тигена определяется набором детерминант. Количество детерминант определяет валентность антигена. К полным антигенам относятся молекулы с определенными свойствами: как правило, это белки и клетки. Последние иммуногенны, потому что на своей поверхности имеют многочисленные белковые молекулы.

### **5.3. Факторы иммуногенности**

Среди факторов иммуногенности существует один, независимый от свойств антигена. Это – генетически детерминированная способность организма отвечать на данный антиген иммунным ответом. Здесь важны два типа генов: первые контролируют структуру AgR на поверхности лимфоцитов, вторые определяют строение белков, способных представлять данный антиген (антигены МНС классов I и II). Если этих молекул у индивидуума нет, то и иммунного ответа не будет. Другие факторы иммуногенности зависят от структуры самого антигена.

1. *Чужеродность*. Экспериментально установлено, что белки приматов вызывают слабый иммунный ответ у человека, а клетки микроорганизмов – сильный. Белки разных видов, выполняющие одинаковую функцию (гемоглобин, инсулин), антигенными свойствами не обладают, так как структурно идентичны. Таким образом, чем больше строение антигена не похоже (чужеродно) на структуру белков и клеток отвечающего организма, тем иммунный ответ сильнее.

В эксперименте чужеродность измеряют в единицах иммунологического расстояния, которое определяется числом аминокислотных замен, отличающих молекулу антигена от гомологичных белков хозяина. Оно зависит от эволюционного расстояния и хорошо коррелирует с перекрестной иммунной реактивностью.

2. *Высокая молекулярность*. Эмпирически показано, что минимальный иммуногенный пептид содержит не менее 32 аминокислотных остатков и обладает массой не менее 10 кД. Чем меньше молекула, тем больше идентичных ей молекул находится в организме. Например, аминокислоты у всех организмов одинаковы. Соответственно, чем больше масса антигена, тем больше вариантов структуры (вторичной, третичной, четвертичной) и больше чужеродности.

3. *Гетерогенность структуры.* Монополимеры, состоящие из одной аминокислоты, неиммуногенны. Для возникновения иммунного ответа необходимо сочетание, по крайней мере, трех аминокислот или олигосахаров.

4. *Жесткость структуры антигена.* Желатин в основном состоит из глицерина, моноаминовой и монокарбоновой кислоты и сам по себе иммунного ответа не вызывает. Однако добавление тирозина в количестве 2 % придает желатину иммуногенные свойства. Очевидно, что новые дисульфидные связи стабилизируют конформацию молекулы и придают ей необходимую жесткость, в результате ее детерминанты становятся более различимыми. Полярные и ароматические аминокислоты (тирозин, триптофан), безусловно, увеличивают иммуногенность белков.

5. *Способность антигена процессироваться*, т. е. приобретать иммуногенность. Чтобы вызвать иммунный ответ, антиген должен перевариваться в моноцитах, а его остатки – экспрессироваться на их мембранах. Иначе антиген инкапсулируется и выводится из организма, не вызывая иммунных реакций.

6. *Способность антигена персистировать в организме.* Чтобы иммунный ответ был полноценным, антиген должен достаточно долго пребывать в организме (до одного месяца). Поэтому антиген вводят в организм на депонаторах (алюмосиликатах или маслах), которые называют адъювантами.

Иммунологическими адъювантами называют вещества, при введении которых в организм вместе с антигеном усиливается иммуногенность последнего. Механизмы действия адъювантов разнообразны. Соединения типа квасцов вызывают изменение физических свойств антигена: из состояния мономера в растворе он переходит во взвесь. Те белковые антигены, которые в виде мономеров неиммуногенны, в комплексе с адъювантами вызывают иммунный ответ. Другие адъюванты индуцируют в тканях воспалительные процессы, что способствует образованию гранул и абсцессов. Воспаление увеличивает активность макрофагов в области введения антигена. Образование гранулемы предотвращает быстрое удаление антигена, тем самым увеличивая время его воздействия на иммунную систему.

Для некоторых адъювантов определены популяции клеток, на которые они оказывают воздействие: ЛПС и декстраны – только на В-лимфоциты, адъювант Фрейнда и культура *Bordetella* – преимущественно на Т-клетки. С помощью полного адъюванта Фрейнда (минеральное масло, эмульгатор и маловирулентные или убитые микобактерии туберкулеза в смеси с водой в виде стойкой водно-масляной эмульсии) можно вызывать клеточный иммунный ответ. Адъюванты, например, используют для индукции ГЗТ при инфекционно-аллергическом артрите и аллергическом энцефаломиелите, а также при изучении заболеваний человека на экспериментальных моделях. Адъюванты сокращают количество вводимого антигена и усиливают его эффект.

7. *Многочисленность антигенных детерминант.* Антиген должен иметь не одну, а несколько идентичных детерминант, чтобы многие клетки могли участвовать в его распознавании.

8. *Схема иммунизации и доза антигена* очень важны для получения полноценного иммунного ответа. Для каждого антигена в отдельности справедлива следующая закономерность: его относительно сверхмалые дозы не вызывают иммунного ответа, малые дозы – иммуногенны, а высокие – толерогенны. Минимальная доза, способная вызвать иммунный ответ, варьирует для разных антигенов: например, для грызунов минимальная иммуногенная доза составляет  $10^{-4}$  г бычьего сывороточного альбумина и  $10^{-14}$  г эндотоксина. При иммунизации малыми дозами, как правило, образуется немного антител, но высокоаффинных. Большие дозы увеличивают до определенных пределов выраженность иммунного ответа.

Способ иммунизации определяет характер иммунного ответа и место его реализации. Так, при парентеральном, внутримышечном, внутри- и подкожном введении антигена обеспечивается его быстрый и эффективный контакт с клетками иммунной системы. При внутривенной инъекции иммунный ответ реализуется в селезенке. При подкожном введении антигена развивается преимущественно Т-клеточный ответ, а гуморальный – при внутримышечных и внутривенных инъекциях. Каждая особенность антигена важна для создания хороших вакцин.

## **5.4. Носители антигенной специфичности – антигенные детерминанты**

От антигенной специфичности зависит, какого типа будет иммунный ответ – гуморального или клеточного. Еще до того, как стало известно о разделении лимфоцитов на Т- и В-клетки, Б. Бенацераф установил, что при введении нативных белков получается иммунный ответ гуморального типа, а денатурированные белки вызывают клеточные иммунные реакции. Тогда он не мог объяснить этот феномен.

Оказалось, что носителем антигенной специфичности является не вся молекула, а только ее отдельные участки – антигенные детерминанты, или эпитопы. Они могут находиться не только на поверхности антигена, но и внутри него. Если молекула нативна, т. е. не подвергалась денатурации, то антигенраспознающие детерминанты (идиотипы) воспринимают специфическую конформацию молекулы, т. е. конформационные детерминанты антигена. Если молекула денатурирована, то специфическая конформация исчезает, и остается специфическая последовательность аминокислот, или последовательностные (секвенильные) детерминанты. Оказалось, что конформационные детерминанты воспринимаются В-клетками, а последовательностные – распознаются Т-лимфоцитами. Последние реагируют только на представляемый антиген, что предполагает обязательное его расщепление. АПК представляет на ЦПМ обломки молекулы, не сохраняющие структуру высших порядков, и очень редко конформационные детерминанты. Другим доказательством служит то, что после иммунизации смесью нативных и денатурированных белков образовавшиеся антитела не дают перекрестные реакции, а Т-лимфоциты – дают. В-клетки могут отвечать на последовательностные детерминанты, но лежащие на поверхности молекулы антигена.

Размеры антигенных детерминант составляют от трех до семи аминокислотных остатка или 3–5 олигосахаров. Эпитопы представлены чаще всего заряженными полярными или ароматическими аминокислотами, такими, как тирозин и аланин. При этом положение радикала в орто-, мета- и параположениях определяет разные иммунные ответы на пространственные изомеры.

Антигенность оптических изомеров также различна. Липиды – очень плохие антигены, поскольку представлены мелкими молекулами. Но! Глико-, липо- и нуклеопротеиды распознаются хорошо. Нуклеотиды из 10 азотистых оснований, такие как полиаденин, политимидин и полиурацил, вполне распознаются.

Сколько детерминант может нести белковая молекула? Сколько эпитопов, столько клеток или молекул антител она может связать. Чем больше молекулярная масса антигена, тем больше его валентность. Однако зависимость не прямо пропорциональная (табл. 1). Из табличных данных следует, что одна антигенная детерминанта имеет массу около 10 кД.

Существуют два взгляда на расположение эпитопов. Классический подход утверждает, что на поверхности молекулы антигена есть небольшое число главных детерминант, которые дискретны, поддаются картированию и сравнительно независимы от факторов хозяина. В пользу этой гипотезы свидетельствует определение специфичностей поликлональных антител у иммунизированных нативным белком животных с использованием разнообразных по размерам олигопептидов. Было определено, что миоглобин имеет пять основных сайтов, занимающих следующие аминокислоты: 15–22, 56–62, 94–99, 113–119 и 145–151. Оказалось, что отмеченные участки расположены в изгибах молекулы нативного белка, и аминокислотные замены в миоглобинах разных видов не влияют на локализацию антигенных участков. Аналогично расположены эпитопы у аллергена амброзии Ra3. Его распознавание также не зависит от вида хозяина и класса антител (IgE или IgG).

Таблица 1

***Зависимость числа эпитопов от молекулярной массы антигена***

<i>№ n/n</i>	<i>Название белка</i>	<i>Мол. масса, кД</i>	<i>Количество эпитопов</i>
1.	Яичный альбумин	42	$\geq 5$
2.	Сывороточный альбумин	70	$\geq 8$
3.	Дифтерийный токсин	80	7
4.	Тиреоглобулин	650	$> 40$
5.	Гемоцианин моллюсков	6 500	230

Альтернативный подход рассматривает все доступные для контакта с AgR или антителами участки молекулы как потенциальные эпитопы. Таким образом, поверхность антигена представляет собой набор перекрывающихся детерминант. Различия между иммунными ответами, вызванными перекрывающимися эпитопами, связывают с неизвестными факторами хозяина. В пользу этой теории свидетельствует тот факт, что моноклональные антитела против того же миоглобина и других нативных антигенов, например лецитин куриного яйца (ЛКЯ), взаимодействуют с большим числом эпитопов, чем это можно предсказать с точки зрения классического подхода. Например: инсулин состоит из 51 аминокислоты и содержит не 10–17 эпитопов, а 100; гемагглютинин вируса гриппа вместо 510-и – 2000. Наблюдаемые различия объясняются взаимным перекрыванием антигенных детерминант.

### **5.5. Уровни антигенной специфичности клеток организма**

Поскольку имеются внутри- и межвидовые различия в химической структуре веществ, тканей и органов, постольку существуют видовые, тканевые и органые антигены, которые выявляются серологически.

**Видовая специфичность.** Антигены, свойственные животным только одного вида, называют видовыми. Клетки крови, печени и селезенки содержат значительно больше видовых антигенов, нежели мышцы, кожа и головной мозг. Последние построены из белков с относительно низкой антигенностью. Видовая специфичность проявляется в серологическом различии белков, выполняющих одну и ту же функцию у разных видов. Эти различия обусловлены изменениями, возникшими в процессе эволюции. Видовая специфичность менее выражена у белков близкородственных таксономических видов.

**Групповая специфичность.** Среди животных одного вида имеются группы организмов, отличающихся специфическими антигенами. Такие антигены носят название групповых, или изоантигенов. Люди подразделяются на 14 групп по изоантигенам эритроцитов. Групповые антигены у микроорганизмов –

это антигены, общие для нескольких видов микробов. Так, сальмонеллы по общим соматическим 0-антигенам объединяют в серологические группы, обозначаемые буквами латинского алфавита от А до S.

**Гетероспецифичность.** Иногда химическое сходство структур и их антигенных свойств обнаруживается у отдаленных видов. Оно считается случайным. Так, не имеющие близкого филогенетического родства палочка Фридлендера типа В и пневмококк типа II дают перекрестные серологические реакции; антиген Форсмана обнаруживается на эритроцитах барана, клетках почки морской свинки и у некоторых сальмонелл. Антигены одной специфичности, встречающиеся у представителей филогенетически отдаленных видов, называют гетерофильными.

**Органная специфичность.** Ткани каждого органа имеют специфическую химическую структуру, поэтому при иммунизации ими они индуцируют синтез специфических антител. Органоспецифические антигены выявлены в легких, печени, почках, в щитовидной и поджелудочной железах, в нервной ткани и хрусталике глаза. Одни и те же органы разных видов животных содержат антигены одинаковой специфичности. В связи с этим иммунные сыворотки к тканям одного вида животного реагируют с тканями того же органа других видов. Как правило, экстракты органов содержат органоспецифические антигены. Однако антисыворотки к спиртовым экстрактам мозга дают перекрестные реакции не только с тканями мозга филогенетически отдаленных видов, но и с экстрактами семенников, что говорит о существовании гетероорганных антигенов.

**Тканевая специфичность.** Антигены, обнаруживающиеся только на клетках определенной ткани, называют тканевоспецифичными. Оказалось, что гамма-глобулин – специфический антиген сыворотки крови, а альбумин – специфический антиген клеток печени. Однако оба поступают в кровь и могут быть обнаружены и на других клетках организма. Это затрудняет диагностику тканевоспецифических антигенов, в связи с чем первый тканевоспецифический антиген был выявлен лишь в начале XX в. в ткани забарьерного органа – в хрусталике бычьего гла-

за, где нет сывороточных антигенов. Поскольку кроличья сыворотка к хрусталику бычьего глаза реагировала не только с гомологичным антигеном бычьего хрусталика, но и с хрусталиками всех позвоночных, этот антиген был признан тканевоспецифичным. В дальнейшем в хрусталике были обнаружены антигены двух видов: филогенетически древние, общие для всех видов, но отличающие клетки хрусталика от других тканей организма, и видоспецифические, возникшие на более поздних этапах эволюции.

Аналогично тому, как индивидуумов одного вида можно разделить в соответствии с групповыми антигенами (например, по группам крови), так и клетки одной ткани и даже линии (миелоидной, лимфоидной и т. п.) можно разделить на группы в соответствии с дифференцировочными антигенами ЦПМ. Последние отражают степень зрелости клеток и стадию их морфологической дифференцировки. Они служат специфическими маркерами субпопуляций клеток (CD4 для Т-хелперов, а CD8 для Т-киллеров). Среди них различают стадиоспецифические, например CD1, который появляется у кортикальных и исчезает у более зрелых медуллярных тимоцитов.

**Органоидная специфичность.** Органеллы клеток тоже имеют на своей поверхности белки, которые обуславливают их антигенные различия. Сыворотки против определенных субклеточных элементов одного вида могут реагировать с аналогичными структурами других видов животных. Органеллы клеток также несут на своей поверхности филогенетически поздние органо- и видоспецифические антигены. Например, в митохондриях различных тканей крыс видоспецифические антигены преобладают над органными и органоидными.

## ***5.6. Антигенность как выражение генетических различий между организмами***

Антигенные различия между организмами, проявляющиеся в трансплантационных реакциях, послужили основанием для иной классификации антигенов (табл. 2).



**Классификация антигенов (антител)  
на основании генетических различий донора и реципиента**

<i>Название антигенов (антител)</i>	<i>Основная характеристика</i>
Аутогенные (аутологичные)	Собственные антигены организма (аутоантигены), которые при определенных обстоятельствах могут вызвать образование антител. Трансплантаты собственных тканей индивида называют аутотрансплантатами.
Изогенные (изологичные)	Изогенность означает генетическую идентичность индивидов, например однояйцевых близнецов. Трансплантаты между такими индивидами называют изотрансплантатами.
Сингенные	Сингенность означает принадлежность к одной инбредной линии животных.
Аллогенные (гомологичные)	Генетически неидентичные индивиды одного вида. Аллотрансплантаты гистонесовместимы и отторгаются. Аллоантигены вызывают образование изоантител.
Ксеногенные (гетерологичные)	Донор и реципиент принадлежат к разным видам.

## 6. Клетки и молекулы, представляющие антигены

### 6.1. Разнообразие антигенпредставляющих клеток (АПК)

Клетки, представляющие антиген, – это гетерогенная популяция лейкоцитов. Суть иммуностимулирующей активности АПК заключается в их способности перерабатывать (процессировать) антиген и представлять продукты процессирования антигена в иммуногенной форме: в комплексе с белками главного комплекса гистосовместимости второго (МНС II), реже первого (МНС I) классов. Предполагается, что процессирование антигена не связано с лизосомами, а происходит в специализированных компартментах клеток – эндосомах. Соединение антигенных пептидов с молекулами МНС осуществляется в аппарате Гольджи, с помощью которого они и выходят на поверхность АПК.

Наиболее изученными АПК у человека являются моноциты/макрофаги. Все они на поверхности имеют продукты генов МНС I, и только на активированных клетках – МНС II, которые имеют прямое отношение к представлению антигена Т-хелперам, а также к индукции дифференцировки и селекции Т-хелперов в тимусе. Однако у человека из трех основных классов молекул МНС II на макрофагах экспрессируются лишь молекулы DR (но не DP и DQ). На некоторых моноцитах и макрофагах в малых количествах представлен рецептор для МНС II – CD4. Активированные макрофаги экспрессируют также рецепторы для ИЛ-2 (CD25), ИЛ-1, ФНО, ИЛ-6 и трансферрина (CD71). Отличия в экспрессии Fcγ-рецепторов используют для маркировки субпопуляций моноцитов. Так, CD64<sup>+</sup>-моноциты сильнее продуцируют цитокины, особенно ИЛ-1, тогда как CD64<sup>-</sup>-клетки обладают более высокой способностью представлять антиген.

АПК локализованы преимущественно в коже, лимфатических узлах, селезенке, эпителиальном и субэпителиальном слоях большинства слизистых оболочек и в тимусе. Относящиеся к ним клетки Лангерганса из кожи мигрируют в виде «вуалевидных» клеток по афферентным лимфатическим сосудам в паракортикальные области регионарных лимфоузлов. Там они взаимодействуют с многочисленными Т-клетками и представляют собой интердигитатные (переплетенные) клетки (ИДК). Такая миграция обеспечивает эффективный механизм доставки антигенов из кожи и слизистых оболочек к Т-хелперам лимфоузлов. На этих АПК обильно экспрессированы белки МНС класса II, необходимые для презентации антигена хелперным Т-клеткам.

Фолликулярные дендритные (разветвленные) клетки (ФДК), презентирующие антигены В-клеткам содержатся в первичных и вторичных фолликулах В-клеточных областей лимфоузлов, селезенки, лимфоидной ткани слизистых оболочек. Прочно соединяясь с десмосомами отростков и образуя стабильную сеть, они не мигрируют из мест своего расположения. ФДК не экспрессируют белки МНС II, но связывают антигены посредством рецепторов к компонентам комплемента (CD21 и CD35), ассоциированным в данном случае с иммунными ком-

плексами (иккосомами). Кроме того, ФДК экспрессируют рецепторы для Fc-фрагмента антител. Недавно в центрах размножения внутри вторичных фолликулов обнаружен другой вид АПК – дендритные клетки центров размножения, которые, в отличие от ФДК, экспрессируют белки МНС II и способны к миграции. В центре размножения они взаимодействуют с Т-клетками.

АПК присутствуют в тимусе, представляя собой интердигитатные клетки; особенно велико их содержание в мозговой зоне тимуса. В этом органе, которому принадлежит основная роль в размножении и созревании Т-клеток, ИДК, по-видимому, ответственны за устранение Т-клеток, реагирующих на собственные антигены организма. Данный процесс назван отрицательной селекцией.

Большинство АПК образуется в костном мозге, хотя их гематопоезический предшественник остается неизвестным. Моноциты, активированные *in vitro* ГМ-КСФ и ИЛ-4, теряют способность к фагоцитозу и превращаются в АПК, приобретая морфологию дендритных клеток и начиная экспрессировать белки МНС II. Относительно ФДК первичных и вторичных фолликулов предполагается, что они имеют мезенхимное, а не костномозговое происхождение.

Классические В-клетки обильно экспрессируют белки МНС II (особенно после активации) и, следовательно, способны расщеплять и представлять специфические антигены активированным Т-клеткам. Некоторые маркеры различных АПК приведены в табл. 3.

Таблица 3

Маркеры различных антигенпрезентирующих клеток

Клеточный маркер	Клетки Лангерганса	Интердигитатные клетки	Интердигитатные клетки центров размножения	Дендритные клетки центров размножения	В-клетки	Макрофаги
МНС II	+	+	–	+	+	±
FcγRII (CD32)	+	–	+	+	+	+
FcγRI (CD64)	±	–	–	–	–	+

CD35 (CR1)	+	–	+	+	+	+
CD21	–	–	Много	Мало	+	+
CD2	–	–	–	+	–	–
CD4	+	–	–	+	–	+
CD1a	+	–	–	–	–	–
CD40	?	Много	+	Мало	Много	+
НСЭ	–	–	–	–	–	+
Фагоцитоз	–	–	–	–	–	+

НСЭ – неспецифические эстеразы

Не относящиеся к иммунной системе клетки организма в норме не экспрессируют белков МНС II, но при индукции цитокинами, такими как  $\gamma$ -интерферон и ФНО $\alpha$ , некоторые типы соматических клеток, например кератиноциты, тироциты и эндотелиоциты, способны синтезировать продукты МНС II и презентировать антигены. Индукция этой «неуместной» экспрессии, вероятно, представляет собой элемент патогенеза аутоиммунных заболеваний и хронических воспалительных процессов.

## **6.2. Белки МНС класса I и генетические основы их разнообразия**

Белки или антигены главного комплекса гистосовместимости первого класса имеются на поверхности всех клеток организма, за исключением клеток жира и трофобластов. МНС I определяют нашу биологическую индивидуальность. По ним клетки отдельного организма узнают друг друга в процессе дифференцировки или регенерации тканей и вступают в контактные взаимодействия. За их счет живые тела имеют определенную форму, и каждое представляет собой обособленную систему. Если количество антигенов МНС I, экспрессированное на ЦПМ лимфоцитов, принять за 100 %, то на клетках печени их содержится 20 %, на почечной ткани – 5, на клетках головного мозга – 1 и на скелетных мышцах – 0,5 %. Поскольку антигены МНС I присутствуют на всех клетках организма, то на введение любой ткани другому индивиду будет развиваться иммунный ответ, и самый сильный – на лейкоциты.

Молекула МНС I является гликопротеином из суперсемейства иммуноглобулинов. Она состоит из двух цепей. Трансмембранная  $\alpha$ -цепь (43 кД) гликозилирована. Большая часть ее свернута в три внеклеточных глобулярных домена:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  и  $\alpha_3$ , один

из которых располагается снаружи. Бета-цепь – короткая (11 кД), представлена белком  $\beta_2$ -микроглобулином, который служит для транспорта чужеродного белка и стабилизации  $\alpha$ -цепи. Обе цепи нековалентно ассоциируются друг с другом. Микроглобулин не имеет связи с ЦПМ. Он кодируется отдельным геном, находящимся в своей хромосоме.  $\beta_2$ -микроглобулин и комплементарный ему  $\alpha_3$ -домен расположены ближе к ЦПМ и гомологичны отдельному константному домену иммуноглобулинов.

$\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -домены – самые вариабельные части молекулы. Они удалены от мембраны и, переплетаясь друг с другом, образуют активный центр, который взаимодействует с определенным набором «родных» аутологичных пептидов или антигеном. В зависимости от того, какая молекула находится между ними, Т-киллер, патрулирующий ткани, получает положительный (от «родного» пептида) или отрицательный (от антигена) сигнал. Последний запускает активацию Т-киллеров, которые уничтожают клетки, экспрессирующие на своей поверхности вирусные или опухолевые антигены в комплексе с МНС I.

Таким образом, гены главного комплекса гистосовместимости в основном контролируют  $\alpha$ -цепи МНС I, так как они обладают исключительным полиморфизмом. Именно от них зависит иммунитет. Исследование количества  $\beta_2$ -микроглобулина имеет прогностическое для хода болезни значение.

Гены МНС I человека (HLA) находятся в шестой хромосоме и представлены четырьмя генами: A, B, C и D. В двух хромосомах их восемь, и все проявляются, т. к. наследуются кодоминантно. Гены имеют множество аллелей. Например, существует 60 серологически различимых вариантов HLA-A. Если на одной хромосоме активен HLA-A<sub>1</sub>, то A<sub>2</sub>...A<sub>60</sub> не проявляются. Аналогично выявлено 136 аллельных HLA-B генов, 38 – для HLA-C и 12 – для HLA-D. У одного индивида может проявиться от 4 (у гомозигот) до 8 (у гетерозигот) различных генов, что соответствует как минимум 82 вариантам белка. В результате каждый человек индивидуален не только по наличию того или иного HLA-белка, но и по его количеству (экспрессии) на поверхности клеток. Вероятность идентичности чрезвычайно мала – 1:32000.

Выраженный полиморфизм трансплантационных антигенов приходится учитывать при пересадках тканей. Раньше донора и реципиента подбирали по двум и даже трем HLA-антигенам (что очень дорого). Сейчас типирование производят только по одному локусу, а для подавления иммунного ответа к остальным используют цитостатики. Установлено, что против белков HLA-A, HLA-B и HLA-C лучше вырабатываются антитела, а против HLA-D в основном накапливаются Т-киллеры.

### **6.3. Белки МНС класса II и генетические основы их разнообразия**

Антигены главного комплекса гистосовместимости второго класса (МНС II) в норме представлены на ЦПМ только клеток иммунного ответа, которые благодаря им узнают друг друга и вступают в кооперативные взаимодействия. Т-клетка не будет взаимодействовать с чужим макрофагом. Она будет отвечать только на тот антиген, который представлен сингенной идентичной по набору МНС II АПК. При аутоиммунных состояниях антигены МНС класса II могут появляться и на клетках различных органов. Антигены гистосовместимости второго класса сначала были открыты у мышей и названы Ia-белками (от англ. «immune associated»).

Молекулы белков МНС II также относятся к суперсемейству иммуноглобулинов и, являясь гетеродимерами, состоят из двух цепей:  $\alpha$  и  $\beta$ . Каждая цепь имеет малый хвостик внутри цитоплазмы, гидрофобный трансмембранный участок и основную наружную часть, состоящую из двух доменов.  $\alpha_2$ - и  $\beta_2$ -домены располагаются ближе к ЦПМ, представляют собой консервативную часть молекулы. Они имеют гомологию с С-доменами иммуноглобулинов. N-концевые  $\alpha_1$ - и  $\beta_1$ -домены такой гомологии не имеют. Они обладают большим полиморфизмом (у мышей должно быть 64–128 вариантов Ia-белков, но у отдельной особи проявляется только один) и, по существу, определяют силу иммунного ответа, так как переменные области молекул МНС II также взаимодействуют с антигеном и представляют его Т-хелперам. Если Ia-белки отсутствуют на иммунных клетках, то развивается abortивный иммунный ответ.

У человека гены МНС II локализованы в D-зоне комплекса HLA, поэтому их называли DR-генами (от англ. «D-related»), а их продукты – DR-белками. Обнаружено четыре гена: DP, DQ, DR и DZ, каждый из которых имеет множество аллелей. Так, ген  $\beta$ -цепи HLA-DR существует в 137 аллельных формах, HLA-DP – в 66, HLA-PQ – в 25; соответствующие гены  $\alpha$ -цепей имеют 2, 8 и 16 аллельных вариантов.

Следует отличать вариабельность продуктов МНС от вариабельности мембранных иммуноглобулинов и TCR. Если вариабельность AgR проявляется в пределах каждого индивидуального организма на уровне популяции клеток, то вариабельность МНС реализуется на уровне популяций человека и животных, причем каждый индивид может иметь не более двух разновидностей продуктов каждого гена МНС. Вероятно, такая гипервариабельность необходима, чтобы обеспечить достаточно широкий репертуар молекул МНС для связывания антигенных пептидов и, следовательно, вариабельности иммунной защиты на уровне популяции. Каждый индивид не обязательно может распознавать весь спектр белковых пептидов, но для популяции в целом такая возможность гарантирована разнообразием репертуара HLA.

#### **6.4. Доставка и первичное восприятие антигена**

Антиген, за крайне редкими исключениями (для тимуснезависимых антигенов), может быть опознан иммунной системой лишь при условии его связывания и обработки АПК, которые находятся во вторичных лимфоидных органах. Антиген может быть доставлен в лимфоидные органы с током тканевой жидкости, лимфы или крови, в зависимости от места своего проникновения. В ряде случаев возможна активная доставка антигенов с помощью вспомогательных клеток.

В частности, если антиген проникает через эпидермис, то он связывается белыми отростчатыми эпидермоцитами (клетками Лангерганса), подвергается обработке (процессингу) с образованием комплекса с белками МНС II, экспрессирующегося на поверхности клетки. Под влиянием ГМ-КСФ, ФНО $\alpha$  и других цитокинов, выделяемых активированными кератоцитами, клетки Лангерганса поступают в эфферентную лимфу и достигают

регионарного лимфатического узла. В процессе перемещения они дифференцируются через стадию вуалевой клетки в зрелые дедритные (интердигитальные) клетки, экспрессирующие вспомогательные молекулы CD80/86 и, следовательно, способные эффективно представлять антигенный пептид Т-хелперу.

При поступлении антигена непосредственно в лимфоидный орган ведущими являются связывание и презентация антигена макрофагами и В-лимфоцитами. По-видимому, этот способ обычен для восприятия антигенного стимула в селезенке, фильтрующей кровь. Макрофаги вносят значительный вклад в обработку корпускулярных антигенов, поскольку поглощают их путем фагоцитоза, и практически не способны воспринимать растворимые молекулы.

Растворимая форма антигена чаще процессируется и презентуется В-лимфоцитами в наружных слоях лимфоузлов, вокруг фолликулов. Молекулярный антиген связывается BCR и проникает внутрь В-клетки. Вскоре после этого на поверхности В-лимфоцитов появляются молекулы МНС II, многие из которых несут пептидные фрагменты процессированного антигена.

## 7. Цитокины

В соответствии с определением ВОЗ, биологически активные вещества, выделяемые любыми клетками, являются цитокинами. Цитокины иммунной системы называли интерлейкинами. Они регулируют взаимодействие иммунокомпетентных клеток друг с другом и остальными клетками организма.

Интерлейкины – низкомолекулярные гликопротеиды, молекулярная масса которых составляет примерно 30 кД. Эти белки обладают достаточно жесткой структурой за счет присоединения сахара. Вдобавок углеводов обеспечивает гидрофильность, необходимую для взаимодействия с рецепторами. Интерлейкины синтезируются транзиторно или конститутивно и отличаются исключительно высокой биологической активностью (в пикомолярных количествах).

Вследствие малых размеров интерлейкины легко распространяются по организму. В отличие от эндокринов, действующих дистантно, большинство из них оказывает локальное влияние как паракрины (на окружающие их клетки) или аутокрины (на клет-



ки, которые их же и секретировали). Интерлейкины не способны самостоятельно проникать сквозь ЦПМ и действуют через высокоспецифичные рецепторы, численность которых варьирует от 10 до нескольких десятков тысяч на клетку. Она увеличивается в 100 раз за два часа активации лимфоцитов. Рецепторные белки синтезируются *de novo*, извлекаются из цитоплазмы и встраиваются в ЦПМ. После взаимодействия с интерлейкином они транспортируют его в кариоплазму, где цитокин подает ядру сигнал, определяющий направление последующего поведения воспринимающей клетки, ее пролиферацию и дифференцировку.

Воздействие одного и того же цитокина может различаться в зависимости от его концентрации и типа клетки. Каждый интерлейкин действует на определенный набор клеток, и каждая клетка имеет свой круг воспринимаемых ею цитокинов. Разные сигнальные молекулы могут действовать как синергисты (усиливая влияние друг друга), антагонисты (ослабляя взаимные эффекты) или аддитивы (когда действие одного не проявляется без совместного влияния другого). Подавляющее большинство интерлейкинов являются стимуляторами, ингибиторы и токсины среди них встречаются редко. На синтез интерлейкинов монополии не существует. Большинство из них вырабатывается самыми разными клетками не только иммунной, но и других систем.

Препараты цитокинов тестируют тремя способами. Активность интерлейкинов определяют в культурах клеток, которые в их отсутствие не растут. Тогда за единицу активности принимают минимальную дозу, при которой клетки начинают пролиферировать. Качество препаратов определяют в иммуноферментном анализе реакции цитокина с тремя различными моноклональными антителами, специфичными к нему. Количество интерлейкинов определяют при добавлении цитокинов, меченных ФИТЦ, к чувствительным клеткам.

Нормальное содержание интерлейкинов в организме пока не установлено. Известно, что оно сильно варьирует в зависимости от возраста и прочих факторов. Актуальна оценка цитокинового спектра больного, поскольку управлять с их помощью иммунным ответом безвредно.

## **7.1. Интерлейкины**

**Интерлейкин-1** (31–37 кД) является самым важным для реализации иммунитета. Он поддерживает пролиферацию и дифференцировку как Т-, так и В-лимфоцитов, а также их предшественников. ИЛ-1 участвует в протективном иммунитете. Он активирует НК-клетки, оказывает хемотаксическое действие на нейтрофилы, аутокринное – на моноциты и макрофаги. ИЛ-1 регулирует тканевой обмен: усиливает протеолиз скелетных мышц и, активируя хондроциты, способствует резорции хряща. Он участвует в воспалительных реакциях. Многие процессы у инфекционного больного развиваются под воздействием ИЛ-1, а не микроорганизмов. Этот интерлейкин действует дистанционно, как экзогенный пироген, на центр регуляции температуры гипоталамуса и на клетки коры головного мозга, вызывая запредельное торможение (коротковолновой сон). Аутокринное действие он оказывает и на фибробласты, синовиальные и эндотелиальные клетки сосудов. ИЛ-1 активирует синтез белков острой фазы в печени, в том числе и СРБ.

Различают две формы ИЛ-1:  $\alpha$  и  $\beta$ . Первая активна и в виде рецептора, и в виде свободной молекулы внутри клетки и после секреции. Вторая приобретает активность только после выхода из клетки.

ИЛ-1 секретируется многими типами клеток: эпителиальными – в тимусе, активированными Т-хелперами, В-клетками, но в основном активированными моноцитами и макрофагами. Стимулировать его продукцию могут микроорганизмы, кристаллы кремния и антитела. Интересно, что при стрессовых ситуациях в течение первого часа нервные клетки выделяют аналоги ИЛ-1.

**Интерлейкин-2** представляет собой короткодистантный медиатор (14–17 кД), который секретируется активированными Т-клетками, в основном хелперами и в значительно меньшем количестве супрессорами.

ИЛ-2 стимулирует рост и дифференциацию активированных Т- и В-клеток. Под его воздействием натуральные киллеры приобретают способность убивать опухолевые клетки. ИЛ-2 активирует макрофаги и стимулирует Т-лимфоциты к продукции других цитокинов.

Экспериментально показано, что избыток ИЛ-2 приносит непоправимый вред организму. Во-первых, лимфокинактивированные лимфоциты (ЛАК) начинают лизировать не только опухолевые, но и нормальные клетки организма хозяина. В результате происходит вытекание сосудистой крови в печень, воспаление которой вызывает дополнительная инфекция. Во-вторых, возникает агрессия Т-клеток, заканчивающаяся аутоиммунными заболеваниями. В-третьих, гиперактивация Т-супрессоров может отменить иммунный ответ, тогда развиваются дерматиты.

**Интерлейкин-3** – панспецифический гемопоэтин (28 кД), который секретируется активированными Т-клетками, особенно активно хелперами второго порядка, а также макрофагами, тучными клетками, В-лимфоцитами и клетками тимомы.

ИЛ-3 является ростовым и дифференцировочным фактором костномозговых предшественников тучных клеток и пролонгирует выживание зрелых тучных клеток. ИЛ-3 индуцирует и усиливает фагоцитоз у макрофагов. Под его влиянием макрофаги секретируют ИЛ-1, презентируют антиген и активируют Т-хелперы. Он ускоряет и усиливает созревание Т-лимфоцитов (у бестимусных мышей под влиянием ИЛ-3 появляются ТСР к фактору роста, секретируемому тучными клетками). Этот интерлейкин также действует на клоны предшественников В-лимфоцитов, вызывая перестройку иммуноглобулиновых генов. В результате образуются плазматические клетки, секретирующие IgM и IgA. ИЛ-3 стимулирует гемопоэз в целом, а также активирует базофилы и эозинофилы.

**Интерлейкин-4** (20 кД) секретируется Тх2, макрофагами, тучными клетками, В-клеточными линиями и клетками тимомы линий E1 и E4. Он действует через три варианта рецептора (40, 70 и 120 кД), которые обнаруживаются в свободном виде в сыворотке, моче и асцитной жидкости. Растворимый рецептор к ИЛ-4 может препятствовать взаимодействию цитокина с клеткой.

ИЛ-4 активирует предшественники миелоидного и В-лимфоидного рядов, является фактором созревания и дифференцировки В-клеток, которые под его воздействием синтезируют IgM, IgD и IgE. Он представляет собой и фактор роста для

Т-лимфоцитов и тучных клеток, а также усиливает экспрессию антигенов МНС класса II.

Интерлейкин-4 также секретируется неспецифическими ЛАК и способствует образованию специфических ЦТЛ. Если на тимоциты подействовать Кон А (митогеном) и растворимым ИЛ-2, то они начнут секретировать ИЛ-4 и превратятся в ЛАК (неспецифические цитотоксические лимфоциты). Если эффекторные Т-клетки обработать смесью ИЛ-2 и ИЛ-4, то образуются Т-киллеры, специфичные к аллогенному стимулятору. Воздействие одного ИЛ-2 приводит к образованию только ЛАК.

Показано, что активированные с помощью моноклональных антител к CD3 и интерлейкину второму CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-клетки секретируют ИЛ-4. Последний вызывает пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов, которые превращаются в плазматические клетки, секретирующие IgE. Это приводит к развитию аллергии и отменяет резистентность к бактериальным инфекциям, что наносит большой вред организму. С другой стороны, этот же ИЛ-4, *in vivo* воздействуя на активированные ЛПС макрофаги, вызывает секрецию ИЛ-1 и подавляет образование вредных для организма простагландинов, усиливает активность ЦТЛ, что используется в иммунотерапии рака почки.

**Интерлейкин-5** (20 кД) секретируется Тх2. Он действует на В-клетки как аутокрин (появляется высокоаффинный рецептор) и вызывает их пролиферацию и дифференцировку в плазматические клетки, продуцирующие IgM, IgG и IgA. Кроме того, ИЛ-5 является фактором роста и дифференцировки эозинофилов, усиливающим их выживание. Увеличение численности эозинофилов в крови больного врачи называют «зарей выздоровления».

**Интерлейкин-6** (26 кД) является аутокринном фибробластов, моноцитов, эндотелиальных клеток сосудов и кератоцитов, а также для миеломы и плазмацитомы. Помимо этого, его образуют звездчатые клетки гипофиза и тучные клетки.

ИЛ-6 проявляет множественную колониестимулирующую активность. Он усиливает дифференцировку В-лимфоцитов и активирует Т-клетки, вызывая пролиферацию Тх2 и способствуя образованию супрессоров. Совместно с  $\alpha$ -интерфероном макро-

фагов ИЛ-6 приводит к пролиферации зрелых тимоцитов. Помимо этого, ИЛ-6 индуцирует синтез IgG и белков острой фазы.

**Интерлейкин-7** (25 кД) секретируется стромальными клетками костного мозга и тимуса, является их аутокринным регулятором. В отношении лимфоидных клеток выступает как фактор роста предшественников В-клеток, индуктор пролиферации и дифференцировки незрелых дубльотрицательных тимоцитов и костимулятор зрелых Т-лимфоцитов, способствует образованию ЛАК.

**Интерлейкин-8** (20 кД) вырабатывается моноцитами, эпителиальными клетками эндотелия, фибробластами и хондроцитами, синовиальными клетками, гепато- и кератоцитами. Он является фактором, активирующим макрофаги и стимулирующим их хемотаксис. Вдобавок ИЛ-8 активирует нейтрофилы, вызывая нейтрофилию, обеспечивает пролиферацию кератоцитов и адгезию моноцитов к эндотелию.

**Интерлейкин-9** (40 кД) вырабатывается Т-клетками и является фактором их роста. Он обладает колониестимулирующей активностью в отношении клеток эритроидного и мегакариоцитарного рядов, а также усиливает рост и активность тучных клеток.

**Интерлейкин-10** (35–40 кД) называют «ингибитором синтеза цитокинов». Проявляемая им активность зависит от того, какими клетками он образован. ИЛ-10 Тх2 подавляет секрецию ИЛ-1, ИЛ-6,  $\gamma$ -интерферона, ФНО, колониестимулирующих и ростовых факторов, а также экспрессию рецептора к ИЛ-2 и антигенов МНС II на поверхности макрофагов.

Функцию ЦТЛ, в том числе синтез интерферона НК-клетками, отменяют интерлейкины-10, секретируемые В-лимфоцитами, активированными макрофагами и клетками, зараженными вирусом Эпштейна – Барр. ИЛ-10 макрофагов вдобавок ингибирует пролиферацию нормальных Т-клеток и образование хелперов первого порядка.

**Интерлейкин-11** секретируется стромальными клетками и проявляет активность, подобную ИЛ-6. Вдобавок он стимулирует синтез антител и рост клеток костного мозга.

**Интерлейкин-12**, в отличие от других цитокинов, состоит из двух полипептидных цепей 40 и 35 кД. Он секретируется в основном Т-хелперами<sub>1</sub>, а также лимфобластоидными В-клетками и

является стимулятором иммунного ответа (синергист ИЛ-2). ИЛ-12 является фактором роста Т- и NK-клеток, который индуцирует у них секрецию ФНО и  $\gamma$ -интерферона, а также усиливает экспрессию рецепторов на поверхности нормальных киллеров. ИЛ-12 стимулирует лизис клеток-мишеней через активацию не только Т-киллеров ( $CD8^+$ ) и NK-клеток ( $CD56^+$ ), но и ЛАК. Известно, что ИЛ-12 ингибирует синтез IgE.

**Интерлейкин-13** выделяется активированными Th2-клетками, влияет на функции моноцитов и В-лимфоцитов, усиливая экспрессию некоторых мембранных молекул и повышая антиген-презентирующую активность клеток. ИЛ-13 является фактором роста В-лимфоцитов, гомологичен ИЛ-4 и сходен с ним по некоторым функциональным эффектам.

## **7.2. Цитотоксины**

К цитотоксинам относят фактор некроза опухолей (ФНО) и лимфотоксин. Они секретируются Т- и В-лимфоцитами, макрофагами, нормальными киллерами и тимоцитами. Они цитотоксичны для вирусинфицированных и опухолевых клеток, способны защитить клетки от вирусной инфекции, но являются костимуляторами роста Т- и В-лимфоцитов и стимуляторами роста фибробластов, активируют клетки эндотелия и обеспечивают ангиогенез.

ФНО (15–17 кД) синтезируется преимущественно активированными моноцитами, особенно сильно под влиянием ЛПС микроорганизмов. Он оказывает цитостатическое и в некоторых случаях цитолитическое действие на опухолевые клетки. Парадоксальным образом воздействует на эндотелий сосудов: способствует деградации питающих опухоль сосудов и васкуляризации здоровых, вызывая стерильный некроз новообразований. С другой стороны, ФНО действует как синергист ИЛ-1: активирует гранулоциты, Т- и В-клетки. Воздействуя на ЦНС и печень, способствует индукции синтеза белков острой фазы.

## **7.3. Колониестимулирующие факторы (КСФ)**

КСФ секретируются в основном хелперами первого порядка, а также многими активированными клетками. Эти цитокины

достигают костного мозга, где активируют к пролиферации и дифференцировке предшественников соответствующих рядов: ГМ-КСФ – всех предшественников миелоидного ряда (до начала дифференцировки), Г-КСФ – пре-гранулоциты, а М-КСФ – пре-моноциты и более поздние предшественники.

ГМ-КСФ (колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов) синтезируется Т-лимфоцитами, тучными клетками, фибробластами, макрофагами и эндотелием. Он индуцирует образование предшественников гранулоцитов и макрофагов, активирует нейтрофилы и эозинофилы, является хемотактическим фактором нейтрофилов и макрофагов, усиливает киллерную активность фагоцитов и стимулирует секрецию ФНО, М-КСФ, Г-КСФ и ИЛ-1 макрофагами.

Г-КСФ (колониестимулирующий фактор гранулоцитов) вырабатывается макрофагами, фибробластами, Т-лимфоцитами, клетками мезо- и эндотелия. Является фактором дифференцировки гранулоцитов в костном мозге. Активирует фагоцитоз и усиливает лизис опухолей.

М-КСФ (колониестимулирующий фактор макрофагов) продуцируется фибробластами, моноцитами и эндотелием, стимулирует в костном мозге дифференцировку моноцитов из предшественников, а также усиливает активность макрофагов (продукцию цитокинов, лизис опухолей и внутриклеточный киллинг).

#### **7.4. Трансформирующий ростовой фактор бета-семейства ( $TGF\beta$ )**

Первое описание  $TGF\beta$  появилось в биологии опухолей. Было замечено, что многие опухоли выделяют БАВ, которое придает нормальным типам клеток способность образовывать колонии на мягком агаре, что является признаком их трансформации (перерождения в опухолевые). Впоследствии было выяснено, что стимулирует рост один полипептид, названный  $TGF\alpha$ , а обеспечивает выживание на агаре второй –  $TGF\beta$ . Последний и интересен в иммунологическом отношении. Это димерный белок, состоящий из двух практически идентичных субъединиц

с мол. массой 14 кД каждая. TGF $\beta$  синтезируется практически любыми клетками в культуре, но в неактивной форме, которая активируется протеазами. Активированные же Т-лимфоциты и моноциты секретируют биологически активный фактор.

TGF может одновременно стимулировать рост одних клеточных типов и ингибировать – других, а также действовать по-разному на одни и те же клетки в зависимости от условий роста. Будучи интерлейкином, TGF $\beta$  принципиально важен как ингибитор иммунного ответа. In vitro он подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов, обработанных поликлональными митогенами, или в смешанной культуре и ингибирует созревание ЦТЛ. Он подавляет также активацию макрофагов и нейтрализует действие цитокинов воспаления. In vivo некоторые опухоли могут избегать иммунного ответа, секретируя большие количества TGF $\beta$ .

TGF $\beta$  может оказывать и некоторое стимулирующее действие на иммунитет. Так, на мышах было показано, что этот фактор вызывает у В-клеток синтез IgA и может играть роль в становлении мукозального иммунитета.

## **8. Т-клетки и их иммунологическая активность**

### **8.1. Основные маркеры и методы диагностики Т-лимфоцитов**

Зрелые Т-лимфоциты отличаются способом узнавания антигенов. Они распознают пептидные фрагменты чужеродных белков, встроенных в аутологичные молекулы гистосовместимости. Этот молекулярный комплекс им презентируют АПК. Таким образом, Т-клетки реагируют не на «чужое», как В-лимфоциты, а на «измененное свое». Для выполнения этой основной функции им служит антигенраспознающий рецептор – TCR, центральную часть которого составляет гетеродимер  $\alpha/\beta$  или реже  $\gamma/\delta$  (рис. 2). С ним нековалентно связан комплекс CD3. К TCR имеют отношение молекула CD4, имеющая сродство к МНС II и присущая Т-хелперам, и CD8 –



рецептор цитотоксических Т-лимфоцитов, отличающийся сродством к МНС I. В передаче активационного сигнала от антигена ядру клетки также участвуют молекула CD45, цитоплазматический домен которой обладает активностью тирозинкиназы и молекула-корецептор CD28, присутствующая практически на всех CD4<sup>+</sup>-клетках и на 60–70 % CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов. На покоящихся клетках эта молекула не связана с рецепторным комплексом. Однако она оказывается нековалентно связанной с ним в процессе распознавания антигена и активации молекулы CD28.

Все перечисленные маркеры Т-лимфоцитов определяют с помощью моноклональных антител. Самым простым методом определения количества Т-лимфоцитов является реакция прямого розеткообразования с эритроцитами Баррана. Осуществляется она за счет рецептора CD2, который появляется в процессе созревания Т-клеток самым первым и сохраняется на протяжении всей их жизни.

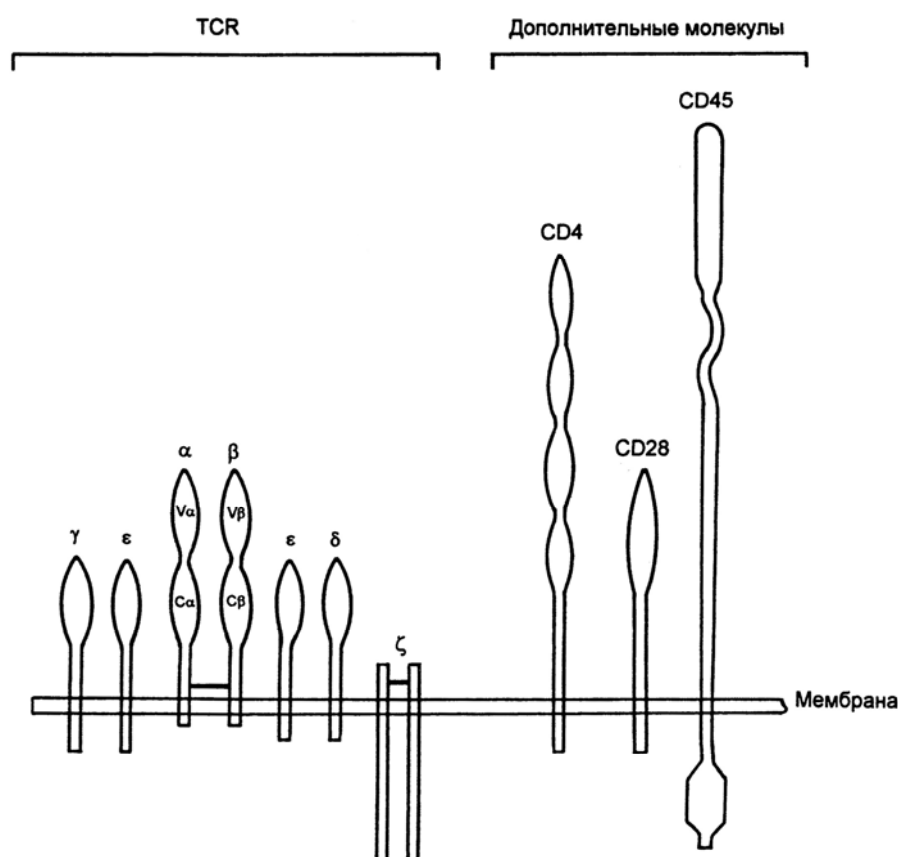


Рис. 2. Строение антигенраспознающего α/β-рецептора CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов TCR – комплекс антигенраспознающего рецептора с молекулой CD3

## 8.2. Созревание Т-клеток

Т-лимфоциты происходят из дотимических предшественников лимфоидного ряда, которые частично сохраняют полипотентность стволовых клеток. Гемопозитические предшественники Т-лимфоцитов заселяют тимус до рождения, поступая сначала из желточного мешка, эмбриональной печени, а затем из костного мозга. Миграция предшественников Т-лимфоцитов из костного мозга в тимус обусловлена их высокой подвижностью. Наличие рецепторов хоминга (например, CD44) позволяет им задерживаться в сосудистой системе тимуса. Инвазивность помогает им преодолевать гематотимический Барьер из базальных мембран. Из клеток-предшественников Т-ряда, покинувших костный мозг, в тимус проникает не более 5 %. Там их окружают эпителиальные клетки, макрофаги и имеющие костномозговое происхождение интердигитатные клетки с высоким уровнем экспрессии антигенов МНС II. Все 3 типа клеток необходимы для дифференцировки Т-лимфоцитов. В частности, специализированные эпителиальные клетки из периферических областей корковой зоны тимуса (клетки-«няни») содержат тимоциты в своих цитоплазматических карманах и могут участвовать в их «обучении».

В упрощенном виде основные стадии созревания и дифференцировки Т-клеток в тимусе представлены в табл. 4.

Таблица 4

### *Стадии созревания Т-лимфоцитов в тимусе*

Зона тимуса	Кол-во клеток, %	Стадия дифференцировки	Фенотип
Субкапсулярная	1–3	Претимусные клетки	CD44 <sup>+</sup> 25 <sup>-</sup> 3 <sup>-</sup> 4 <sup>-</sup> 8 <sup>-</sup> 1 <sup>-</sup> 7 <sup>-</sup> 5 <sup>-</sup> 2 <sup>-</sup> 38 <sup>-</sup>
Корковая	80–85	Тимоциты I стадии (ранние)	CD44 <sup>+</sup> 25 <sup>+</sup> 3 <sup>-</sup> 4 <sup>-</sup> 8 <sup>-</sup> 1 <sup>-</sup> 7 <sup>+</sup> 5 <sup>+</sup> 2 <sup>+</sup> 38 <sup>+</sup>
		Тимоциты II стадии (промежуточные)	CD44 <sup>-</sup> 25 <sup>-</sup> 3 <sup>-</sup> 4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> 1 <sup>+</sup> 7 <sup>+</sup> 5 <sup>+</sup> 2 <sup>+</sup> 38 <sup>+</sup>
Мозговое вещество (пакеты Кларка)	12–14	Тимоциты III стадии (зрелые)	CD44 <sup>+</sup> 25 <sup>-</sup> 3 <sup>+</sup> 4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> 1 <sup>-</sup> 7 <sup>+</sup> 5 <sup>+</sup> 2 <sup>+</sup> 38 <sup>-</sup> CD44 <sup>+</sup> 25 <sup>-</sup> 3 <sup>+</sup> 4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> 1 <sup>-</sup> 7 <sup>+</sup> 5 <sup>+</sup> 2 <sup>+</sup> 38 <sup>-</sup>

Поступающие из костного мозга клетки-предшественники Т-лимфоцитов в первую очередь колонизируют субкапсулярную зону тимуса. В этот начальный период пребывания в тимусе клетки сохраняют способность дифференцироваться в направлении не только Т-лимфоцитов, но и В-, НК-клеток, дендритных клеток.

Экспрессия CD25 у ранних тимоцитов означает сужение дифференцировочных потенций: кроме Т-лимфоцитов, они способны превращаться в дендритные клетки. Следует отметить, что ни один из маркеров пролиферации (CD7, CD5, CD2) не специфичен для Т-клеточного пути дифференцировки. Однако для ранних тимоцитов этот путь предопределен перестройкой гена  $\beta$ -цепи TCR и появлением в цитоплазме молекулы CD3. С потерей CD44 на следующей стадии другие пути дифференцировки становятся неосуществимыми. Пролиферацию ранних тимоцитов обеспечивает группа цитокинов: в основном ИЛ-7 и в меньшей степени ИЛ-2, ИЛ-1 и ИЛ-6, ГМ-КСФ и ФНО $\alpha$ . Ранние тимоциты сами выделяют аутокринные цитокины, которые способны поддерживать пролиферацию этих клеток и восстанавливать их при действии повреждающих факторов. Конечным результатом событий, происходящих на стадии CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-timoцитов, является формирование на поверхности каждой клетки TCR с индивидуальной специфичностью, а на уровне популяции тимоцитов — первичного распознающего репертуара.

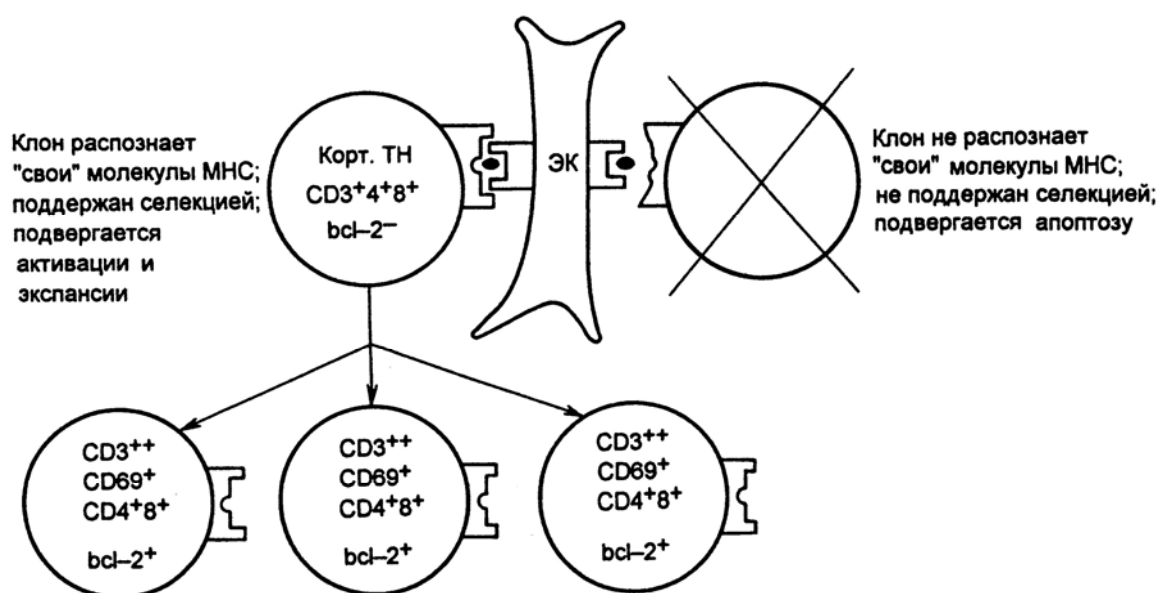
Для промежуточных тимоцитов характерен фенотип CD1<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, но при этом они дважды положительные: CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>. На этой стадии происходит перестройка генов, кодирующих  $\alpha$ -цепь TCR. На клеточной поверхности с низкой плотностью экспрессируются обе цепи  $\alpha/\beta$ -рецептора в ассоциации с комплексом CD3. Кроме того, на их поверхности присутствует молекула Fas (CD95), которая определяет высокую чувствительность незрелых кортикальных тимоцитов к апоптозу, что имеет большое значение в формировании вторичного распознающего репертуара Т-клеток. Сначала в глубоких слоях коры тимуса осуществляется положительная селекция (рис. 3) при взаимодействии тимоцитов с эпителиальными клетками, поверхность которых богата молекулами МНС II. На этом этапе поддерживаются те клоны тимоцитов, рецепторы которых обладают сродством к

продуктам аутологичных генов МНС в сочетании с любыми антигенными пептидами, как аутологичными, так и чужеродными. Остальные подвергаются апоптозу.

На ЦПМ выживших клеток появляется рецептор к ИЛ-2, который далее становится основным фактором их роста. Вдобавок усиливается экспрессия комплекса CD3–TCR и молекул CD4 и 8, после чего промежуточные тимоциты подвергаются отрицательной селекции в мозговом слое и кортико-медуллярной зоне тимуса. Здесь тимоциты взаимодействуют с дендритными клетками, богатыми продуктами МНС I и II классов. Сигнал к апоптозу получают те тимоциты, которые реагируют на аутологичный антигенный комплекс. Мозговой слой тимуса представляет собой зону организованных зародышевых центров. В нем сосредоточено 14 % Т-клеток. Тельца вилочковой железы (пакеты Кларка) есть не что иное, как скопления нескольких десятков делящихся Т-лимфоцитов, в каждом из которых присутствуют 2–3 макрофага. Часть возникающих Т-клеток здесь же и разрушается. В конечном счете в тимусе погибает более 90 % развивающихся клеток Т-ряда. Только те Т-лимфоциты, которые несут рецепторы к комплексам чужеродных пептидов с аутологичными МНС, поддерживаются отбором. Специфичностями этих клеток и определяется вторичный клональный репертуар популяции Т-лимфоцитов.

На третьей стадии тимоциты, отличаясь высоким уровнем экспрессии TCR-CD3, теряют CD1 и разделяются на две моноположительные субпопуляции CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-клеток. В основе этого разделения лежит характер распознавания антигенных пептидов Т-клетками. Тимоциты, распознающие антигенный пептид в комплексе с МНС I, являются предшественниками ЦТЛ, а Т-клетки, реагирующие на комплекс антигенного пептида с МНС II, – предшественниками хелперов. Поскольку сродством к МНС I обладает молекула CD8, то она и является вспомогательной для комплекса TCR–CD3 на поверхности Т-киллеров. Аналогично CD4 имеет сродство к МНС II, поэтому хелперы имеют фенотип CD4<sup>+</sup>. Большинство моноположительных тимоцитов лишены CD38 и рецептора трансферина и их практически невозможно отличить от зрелых Т-клеток крови.

### 1. Положительная селекция



### 2. Отрицательная селекция

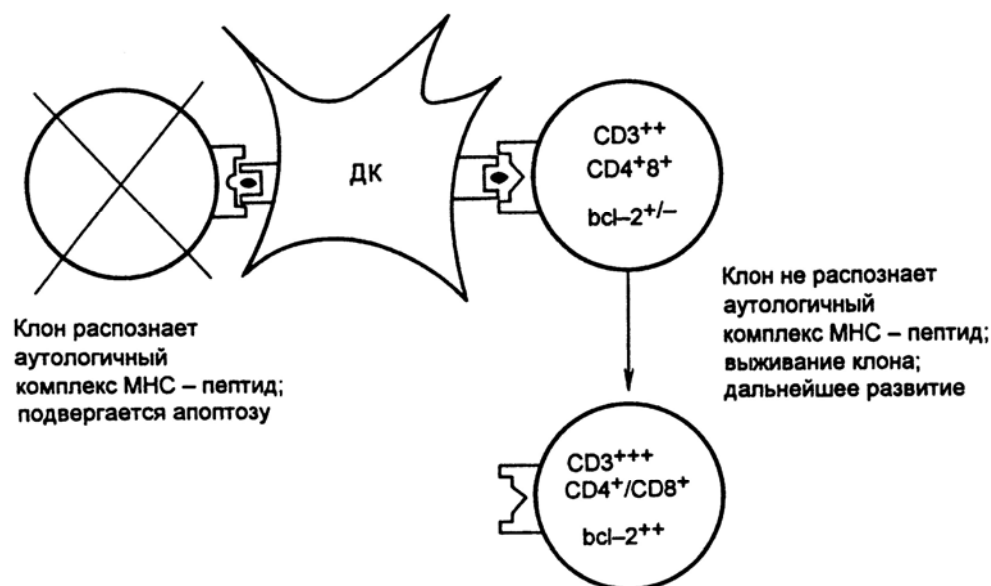


Рис. 3. Межклеточные взаимодействия при селекции тимоцитов:  
ЭК – эпителиальная клетка, ДК – дендритная клетка, ТН – кортикальный тимоцит

Полностью созревшие Т-лимфоциты покидают тимус через посткапиллярные венулы, расположенные в зоне соединения коркового и мозгового слоев. Предполагают, что они используют и другие пути выхода из тимуса, в частности через лимфатические сосуды. За сутки из тимуса эмигрирует около 1 % общего числа тимоцитов. Поступив в кровоток, Т-лимфоциты становятся частью

единого пула рециркулирующих клеток. До встречи с антигеном они экспрессируют наряду с указанными маркерами изоформу CD45RA молекулы CD45, на их поверхности содержится много селектина L (CD62L) и относительно мало CD44, что обуславливает особенности их миграции в ткани. Такие клетки называют «наивными» Т-лимфоцитами. Время созревания тимоцитов составляет примерно 20 сут (*in vitro* 5–7 сут).

Таким образом, возрастная инволюция тимуса связана с расходом Т-клеточных предшественников. Она никогда не бывает абсолютной, поскольку при полном опустошении тимуса, например, в результате облучения, дотимические предшественники способны заселять его вновь. Помимо зрелых «наивных» Т-лимфоцитов, из тимуса выходят и незрелые дубльположительные клетки. На периферии могут встречаться кортикальные тимоциты и дотимические предшественники из костного мозга. (Диагностика: зрелые Т-лимфоциты не прилипают к нейлоновой вате, а незрелые – прилипают). Интересно, что с возрастом доля незрелых Т-клеток на периферии увеличивается. Довольно много незрелых Т-лимфоцитов бывает в печени. Ранее считали, что при определенных условиях они могут поступать в тимус и там созревать.

В настоящее время установлено, что некоторые процессы, связанные с развитием и даже образованием Т-лимфоцитов, происходят вне тимуса. В экспериментах на трансгенных животных показано, что на периферии завершается процесс отрицательной селекции путем индукции анергии и реже апоптоза Т-клеток, недавно покинувших тимус, при их контакте с суперантигенами и некоторыми обычными антигенами. На периферии завершается функциональное дозревание Т-клеток: под влиянием гормонов тимуса, циркулирующих в кровотоке, устанавливается более высокий уровень реактивности Т-клеток в отношении антигена, в частности повышается способность к выработке ИЛ-2 в сравнении с медуллярными тимоцитами. Наконец, на периферии происходит «периферическая экспансия Т-лимфоцитов», т. е. независимое от антигена их поликлональное размножение, которое не сопровождается дифференцировкой в эффекторные клетки.

Кроме того, полагают, что процесс созревания в тимусе необходим Т-лимфоцитам только для формирования  $\alpha/\beta$ -рецептора,

в то время как Т-лимфоциты с  $\gamma/\delta$ -TCR взрослого человека могут развиваться в слизистой оболочке кишечника или печени. Другая часть  $\gamma/\delta$ -Т-клеток образуется в тимусе в эмбриональном периоде, после чего мигрирует в кожу и слизистые оболочки, образуя там самоподдерживающуюся в течение всей жизни популяцию. Лишь небольшая доля  $\gamma/\delta$ -Т-лимфоцитов созревает в тимусе. Таким образом, периферические незрелые Т-клетки могут быть не чем иным, как предшественниками  $\gamma/\delta$ -Т-лимфоцитов.

### **8.3. Антигенная активация Т-лимфоцитов**

Антигенраспознающие рецепторы Т-клеток относятся к суперсемейству иммуноглобулинов, но истинными иммуноглобулинами не являются. Они так же, как и антитела, взаимодействуют с антигеном своей вариабельной частью, составленной из двух полипептидных цепей, но сигнал передают не сразу ядру, а рецептору CD3, с которым они связаны трансмембранным доменом через пару аминокислот «аспарагин – лизин». Именно молекула CD3 ответственна за активацию Т-лимфоцита.

На первом этапе дзета-цепь CD3 связывается в цитоплазме с внутриклеточной частью молекулы CD4 у хелпера или CD8 у киллера (в зависимости от того, кто активируется), что запускает синтез тирозинкиназы и тирозина. На втором этапе происходит контакт с молекулой CD45, в результате вырабатывается фосфотирозинфосфатаза, которая активирует протеинкиназу С. Протеинкиназа С, взаимодействуя с ионами кальция, выходит на ЦПМ, завершая активацию Т-лимфоцитов. CD45<sup>+</sup>-клетки начинают пролиферировать и отличаются повышенной продукцией  $\gamma$ -интерферона. CD45 участвует в передаче сигнала ядру только при непосредственном контакте с CD3. Без участия CD45 происходит неспецифическая активация Т-лимфоцитов. Как только ядро получает активационный сигнал от CD3, Т-клетки активируются, и запускаются процессы их пролиферации и дифференцировки.

Активация Т-лимфоцитов проявляется в первую очередь в запуске синтеза различных интерлейкинов. Набор интерлейкинов зависит от стадии дифференцировки Т-клетки и премированности ее к антигену. Так, ранние Т-хелперы-амплифайеры начинают вырабатывать факторы активации и торможения миграции

макрофагов. Факторы активации миграции макрофагов стимулируют поступление макрофагов в очаг поражения, а интерлейкины торможения их там задерживают. В ответ макрофаги начинают усиленно экспрессировать на своей поверхности белки МНС II, которые необходимы для представления антигенов Т-хелперам. Активация Т-хелперов сопровождается обильной продукцией  $\gamma$ -интерферона и ИЛ-2, а также появлением на их ЦПМ многочисленных рецепторов к этому интерлейкину. Гены других факторов роста экспрессируются позже в последовательности: ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-9 (через 24 ч).

Макрофаги же под действием  $\gamma$ -интерферона вырабатывают большое количество неоптерина, который накапливается в сыворотке и моче больных, что используется в диагностике и прогнозе самых различных заболеваний. Таким образом, в процессе иммунного ответа на разных стадиях дифференцировки клетки вырабатывают различные интерлейкины и взаимно влияют друг на друга. Эти взаимодействия, в конечном счете, и определяют характер иммунного ответа.

#### **8.4. Хелперная активность**

Итак, для распознавания антигена Т-хелперу необходимо иметь на своей поверхности три молекулы: TCR, CD4, CD3. TCR непосредственно контактирует с антигеном, CD4 взаимодействует с белками МНС II, а CD3 передает активационный сигнал ядру, что приводит к экспрессии рецептора CD45, свойственного пролиферирующим клеткам. При этом Т-хелпер взаимодействует не со свободным антигеном, а с антигеном, прошедшим процессирование внутри АПК и представленным на их ЦПМ в высоко иммуногенной форме, а именно в комплексе с МНС II.

Оказалось, что после взаимодействия с антигеном и активации ранних Т-хелперов (Тх0) могут образовываться две субпопуляции, различающиеся по своим биологическим свойствам и функциям в иммунном ответе. Их обозначили хелперами первого и второго порядков (Тх1 и Тх2).

«Наивные»  $CD4^+$ -Т-лимфоциты человека, будучи стимулированными *in vitro*, вырабатывают в определяемых количествах



лишь ИЛ-2. При повторной стимуляции формируются клетки Th0, которые в малом количестве продуцируют разные цитокины: интерлейкины 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 13 и 14, ФНО $\alpha$  и  $\beta$ ,  $\gamma$ -интерферон, ГМ- и Г-КСФ. Лишь при дополнительных воздействиях активирующих агентов удастся получить клоны T $\alpha$ 1 и T $\alpha$ 2, четко различающиеся по синтезу маркерных цитокинов. Для Т-хелперов первого порядка ими служат  $\gamma$ -интерферон и ИЛ-2 (в меньшей степени ФНО $\alpha$  и  $\beta$ ), а для T $\alpha$ 2 – ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-10 (в меньшей степени интерлейкины 6, 9 и 13). Надежных различий между T $\alpha$ 1 и T $\alpha$ 2 по мембранным или каким-либо иным характеристикам выявить не удалось.

Показано, тем не менее, что при индукции аллергенами чаще образуются Т-хелперы второго порядка, а при индукции туберкулином – T $\alpha$ 1. При контакте с В-лимфоцитами и при связывании молекулы CD28 Т-клетки с CD80 преимущественно развиваются в Т-хелперы первого порядка, а при контакте Т-лимфоцита с дендритными клетками и макрофагами и взаимодействии CD28 с CD86 – T $\alpha$ 2. Благодаря выработке разных стероидов, микроокружение лимфатических узлов благоприятствует развитию T $\alpha$ 1-клеток, а микроокружение слизистых оболочек – T $\alpha$ 2. ИЛ-12 макрофагов и дендритных клеток направляет дифференцировку CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов в сторону T $\alpha$ 1-клеток. Аналогичным действием, но в меньшей степени обладает  $\gamma$ -интерферон, по-видимому вырабатываемый NK-клетками. При отсутствии этих вмешательств развиваются T $\alpha$ 2-клетки. Развитию последних способствует ИЛ-4, источником которого скорее всего являются тучные клетки. Подобным эффектом обладает TGF $\beta$ , образуемый клетками микроокружения слизистых оболочек. Баланс T $\alpha$ 1/T $\alpha$ 2 в организме поддерживается продуктами самих T $\alpha$ 1- и T $\alpha$ 2-клеток:  $\gamma$ -интерфероном и ИЛ-10 соответственно, – обуславливающими взаимное ингибирование T $\alpha$ 1- и T $\alpha$ 2-вариантов. Кроме того, пролиферативная активность T $\alpha$ 1- и T $\alpha$ 2-клеток поддерживается аутокринно: фактором роста для T $\alpha$ 1 служит ИЛ-2, а для T $\alpha$ 2 – ИЛ-4 (хотя их пролиферацию поддерживает и ИЛ-2).

Таким образом, регуляторная функция Т-хелперов заключается в специфической стимуляции как клеточного (T $\alpha$ 1), так и гуморального (T $\alpha$ 2) звеньев иммунного ответа. При этом эффек-

торную функцию Т-хелперы реализуют через секрецию различных интерлейкинов.

### **8.5. Цитотоксическая активность**

Т-киллеры должны оказывать местное действие, поэтому в циркуляции их мало. Для того, чтобы  $CD8^+$ -клетки превратились в ЦТЛ, им необходимо воздействие ИЛ-2, секретируемого Тх1.

Предполагают существование трех основных путей индукции, экспансии и дифференцировки цитотоксических  $CD8^+$ -Т-клеток. Один из них связан с действием антигенпредставляющих дендритных клеток. При условии экспрессии большого числа костимулирующих молекул CD80 и 86 эти клетки способны обеспечить достаточный стимул, чтобы активировать  $CD8^+$ -Т-клетки и заставить их вырабатывать ИЛ-2 – аутокринный фактор, обуславливающий их дальнейшее развитие и пролиферацию. Второй вариант предполагает участие  $CD4^+$ -Т-клеток Тх1-типа в случае недостаточного сигнала АПК: Т-хелперы продуцируют  $\gamma$ -интерферон, который усиливает экспрессию В7-1 на АПК и далее срабатывает первый механизм. Наконец, допускают, что  $CD4^+$ -Т-клетки под влиянием АПК стимулируются к выработке большого количества ИЛ-2, которым они обеспечивают умеренно стимулированные  $CD8^+$ -Т-клетки. Таким образом, во всех этих моделях Т-хелперы и вспомогательные клетки нужны лишь для того, чтобы обеспечить аутокринное и паракринное снабжение ИЛ-2 активированных  $CD8^+$ -Т-клеток. Очевидно, дифференцировочная программа Т-киллеров или срабатывает автоматически при условии активации и повторных клеточных делений, или включается с участием ИЛ-2.

Главным результатом дифференцировки Т-киллеров является синтез молекул, участвующих в реализации киллинга клеток-мишеней (перфорина, гранзимов), а также мембранных молекул, обуславливающих индукцию апоптоза (FasL и др.). Кроме того, ЦТЛ приобретает вспомогательный молекулярный аппарат, способствующий реализации киллинга: прежде всего усиление экспрессии мембранных молекул адгезии LFA-1, CD2, CD58 и CD44, экспрессии *de novo*  $\beta_1$ -интегрина VLA-4, интегриновых рецепторов ICAM-1, ICAM-3. Эти изменения обеспечивают установление достаточно прочного контакта с клеткой-мишенью.

Не вдаваясь в подробности сложного механизма распознавания антигена Т-клеткой, отметим, что контакт Т-киллера с клеткой-мишенью усиливается за счет взаимодействия многочисленных молекул адгезии и приводит к перераспределению мембранных рецепторов на обеих клетках. В результате Т-киллер активируется: он увеличивается в размерах за счет цитоплазмы, начинает усиленно функционировать секреторный аппарат, и все гранулы цитотоксического лимфоцита сосредоточиваются в зоне контакта с клеткой-мишенью. Наличие секреторных гранул отличает ЦТЛ и НК-клетки, поэтому некоторые механизмы аналогичны цитотоксическому воздействию натуральных киллеров. Точно так же перфторин (58–65 кД) в присутствии ионов кальция формирует полимерные структуры (12–18 молекул), которые образуют пору в мембране клетки-мишени. В результате ионного дисбаланса клетка-мишень разрушается, а ее части лизируются ферментами гранул. Помимо этого, эндогенные нуклеазы Т-киллеров вызывают разрушение ДНК клетки-мишени на нуклеосомные единицы, а сериновые протеазы, которые также содержатся в секреторных гранулах, усиливают апоптоз. Так же, как у нормальных киллеров, у ЦТЛ обнаружена высокая экспрессия гена *Mdr*, ответственного за образование в их ЦПМ канала, через который происходит выкачивание случайно попавших при контакте с клеткой-мишенью собственных литических продуктов.

## **8.6. Т-клетки памяти**

По современным представлениям, Т-клетки памяти представляют собой варианты эффекторных клеток, которые в силу невыясненных обстоятельств «выбывают из игры». Это сопровождается изменениями мембранного фенотипа, свойственными также активированным и эффекторным клеткам: ослаблением экспрессии L-селектина, усилением экспрессии  $\beta_2$ -интегрина LFA-1, появлением  $\beta_1$ -интегрина VLA-4.

В условиях иммунного ответа Т-клетки памяти наряду с эффекторными Т-лимфоцитами присутствуют в большей степени в афферентной, чем в эфферентной лимфе лимфатических узлов, что свидетельствует о склонности этих клеток оседать в тканях. Они обладают определенной органоспецифичностью хоминга,

что не свойственно «наивным» Т-лимфоцитам, и, как правило, возвращаются после дифференцировки в те ткани, где получили стимулирующий сигнал от антигена. Наконец на зрелых эффекторных клетках, а также на Т-клетках памяти экспрессируется молекула CD45RO, соответствующая конечной стадии превращений. Существенно, что для увеличения срока жизни Т-клеткам памяти требуется повторный контакт со специфическим антигеном. В отсутствие антигена они быстро гибнут.

### **8.7. Супрессорная активность**

Другой функцией Т-лимфоцитов является подавление (супрессия) различных форм иммунного ответа. Чаще всего эта функция связана с CD8<sup>+</sup>-клетками, но может реализовываться и CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитами, а также другими клетками. Однако маркеры предшественников Т-супрессоров, отличающие их от прекиллеров, до сих пор не описаны. Не идентифицирован класс молекул МНС, презентующих антигенный пептид Т-супрессорам. Не известно также, как происходит (и происходит ли) обучение и селекция клонов Т-супрессоров в тимусе. Зрелые Т-супрессоры отличаются от других типов Т-лимфоцитов повышенной чувствительностью к облучению и циклофосфамиду.

Недавно показано, что при стимуляции тимоцитов *in vitro* аллогенными клетками в присутствии растворимых молекул H-2D и гормонов тимуса происходит их дифференцировка в супрессорные CD8<sup>+</sup>-клетки, тогда как при аллостимуляции в отсутствие указанных факторов формируются CD8<sup>+</sup>-киллеры.

Считается, что индукция супрессорных Т-клеток осуществляется одновременно с включением в иммунный ответ других типов клеток, Т-супрессоры развиваются медленнее. Получены данные о пороговом характере зависимости ответа Т-супрессоров от дозы антигена. Эти свойства обуславливают подключение Т-супрессоров на поздних стадиях иммунного ответа лишь при достаточно сильной стимуляции иммунной системы. Супрессорные клетки вовлекаются в иммунные процессы при реализации изотипической и идиотипической регуляции. По-видимому, супрессорная активность Т-клеток возрастает при их стимуляции одновременно через TCR и Fc-рецептор.

Под контролем Т-супрессоров находится не только Т-клеточный и тимусзависимый гуморальный ответы, но и тимуснезависимое антителообразование (оно усиливается после удаления Т-клеток). Основной клеткой-мишенью Т-супрессоров считаются Т-хелперы. Однако описаны Т-супрессоры, влияющие на В-лимфоциты. В настоящее время отсутствуют однозначные представления о том, каким образом может реализоваться супрессорное действие  $CD8^+$ -клеток.

Между тем взаимные ингибирующие влияния субпопуляций  $CD4^+$ -клеток вполне установлены. В этом случае супрессорная активность Тх1-клеток реализуется через выделение  $\gamma$ -интерферона, а Тх2 – через ИЛ-4 и ИЛ-10.

## **9. В-лимфоциты и их иммунологическая активность**

### **9.1. Основные маркеры и методы диагностики В-клеток**

В-лимфоциты отличаются тем, что их антигенраспознающие рецепторы (AgR, BCR) представлены молекулами поверхностных или мембранных иммуноглобулинов (sIg, mIg), т. е. антител, встроенных в ЦПМ (рис. 4). Поэтому для определения количества В-клеток можно использовать антиглобулиновые сыворотки, меченные ФИТЦ (флюоресцеином). Применяют также методы прямого розеткообразования с эритроцитами мыши или непрямого розеткообразования с эритроцитами Баррана, а также убитый вирус Эпштейна – Барр, меченный люминофором, который распознает С3R на поверхности В-лимфоцитов. Реакция прямого розеткообразования обусловлена тем, что эритроциты мыши взаимодействуют с CD21 на поверхности В-клеток. ЕАС-розетки можно получить, если предварительно эритроциты Баррана обработать сильно иммунной сывороткой против специфических эритроцитарных рецепторов. Тогда на их поверхности открытыми окажутся рецепторы к Fc-фрагментам иммуноглобулинов, и появится возможность нагрузить эритроциты антителами против В-клеток. Если далее к нагружен-

ным антителами эритроцитам Баррана (ЕА-клеткам) добавить В-лимфоциты, то вокруг них появятся розетки из эритроцитов Баррана, нагруженных антителами (ЕАС-роzetки) за счет FcR и рецепторов к комплементу, усиливающему эту реакцию.

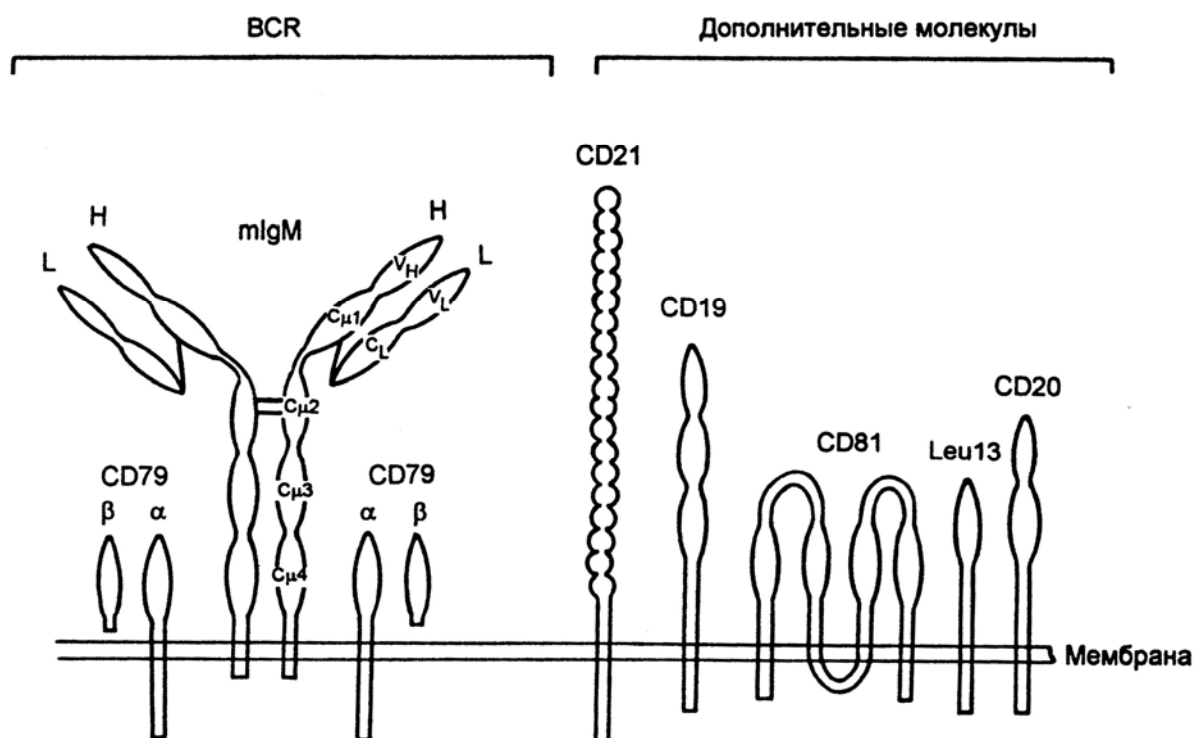


Рис. 4. Строение антигенраспознающего рецептора В-лимфоцитов

Основным мембранным иммуноглобулином В-клеток является мономерный IgM. Большинство «наивных» клеток содержат BCR, основой которого служит IgD. В состав рецептора входят также 2 гетеродимера Igα и Igβ (CD79a и b), которые участвуют в передаче сигнала о связывании антигена внутрь клетки. По существу они выполняют ту же функцию, что CD3 у Т-лимфоцитов. Сигнальными функциями обладает ряд дополнительных молекул CD19, CD20, CD21, лектин Leu13 и молекула CD81 (рис. 4).

Зрелые В-лимфоциты располагают необходимыми молекулами, чтобы не только распознать антиген, но и эффективно контактировать с другими клетками иммунной системы: с Т-хелперами (CD40, 80, 86 и 72), с межклеточным матриксом (интегрины семейств β<sub>1</sub> и β<sub>2</sub>), молекулами иммуноглобулинов (FcγI или CD32), компонентами комплемента (CD35 и CD21, он

же – рецептор для вируса Эпштейна – Барр), цитокинами. Особое место среди мембранных структур занимают молекулы МНС классов I и II, позволяющие им выполнять функцию АПК.

Известны две субпопуляции В-лимфоцитов. Они отличаются экспрессией молекулы CD5, которая является маркером Т-клеток, взаимодействующим с мембранной молекулой CD72 В-лимфоцитов. CD5<sup>+</sup>-клетки – минорная фракция, составляющая 20 % В-клеток в крови. Принципиальным отличием CD5<sup>+</sup>-В-клеток является неспособность к мутациям их V-генов. Вариабельность продуцируемых ими антител ограничивается зародышевым репертуаром. Эти клетки не подвергаются селекции и служат источником естественных полиспецифических IgM-аутоантител, играя важную роль в развитии аутоиммунной патологии и лимфопролиферативных процессов.

## **9.2. Процесс созревания В-лимфоцитов**

В-лимфоциты образуются из лимфоидных предшественников в костном мозге и там же созревают. В этом процессе велика роль микроокружения, которое составляют отростчатые клетки стромы костного мозга и молекулы межклеточного матрикса. С ними В-клетки контактируют благодаря мембранным интегринам. В-клетки-предшественники в костном мозге примыкают к эндосту костной пластинки. Экспрессия терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы (ТдТ) свидетельствует, что стволовая лимфоидная клетка вступила на путь В-клеточного развития, следовательно, в процессе её пролиферации и дифференцировки происходит перестройка генов иммуноглобулинов. Сначала перестраиваются гены тяжелых цепей, затем – легких. Каждая В-клетка-предшественник на этой стадии может давать до 64 клеток-потомков, которые мигрируют к центру каждой полости губчатой кости, где достигают просвета костного синусоида. Созревание В-клеток в костном мозге происходит при их тесном контакте с клетками стромы, расположенными как вблизи эндоста, так и в окружении центрального синуса, где они называются адвентициальными клетками. Эксперименты *in vitro* показывают, что стромальные клетки поддерживают дифференцировку В-клеток, возможно, за счет продукции ИЛ-7. Адвентициальные

клетки могут играть важную роль в процессе высвобождения зрелых В-клеток в центральный синус.

Большинство созревающих в костном мозге В-клеток (более 75 %) не попадает в кровоток, а, подобно тимоцитам, погибает в результате апоптоза и поглощения костномозговыми макрофагами. Предполагается, что при взаимодействии В-клеток с клетками стромы происходит своего рода положительная селекция, которая «спасает» от запрограммированной гибели небольшую часть В-клеток с продуктивной перестройкой генов иммуноглобулинов. Отрицательная селекция аутореактивных В-лимфоцитов может происходить в костном мозге или селезенке, куда мигрирует большинство новообразованных В-клеток в период внутриутробного развития.

Созревание В-лимфоцитов происходит под знаком синтеза иммуноглобулинов. Изменение мембранного фенотипа клеток В-ряда приведено в табл. 5. Сначала в цитоплазме пре-В-клеток появляются тяжелые  $\mu$ -цепи. Некоторые из пре-В-клеток несут на своей поверхности небольшое количество  $\mu$ -цепей с суррогатными легкими цепями. К этому времени уже происходит аллельное исключение либо материнских, либо отцовских генов иммуноглобулинов. Как только В-клетка начинает синтезировать легкие цепи  $\kappa$ - или  $\lambda$ -типа, ее антигенный рецептор sIgM приобретает антигенсвязывающую специфичность. Таким образом, одна В-клетка способна производить антитела лишь одной специфичности – основное положение теории клональной селекции относительно синтеза антител.

Таблица 5

***Фенотипы различных стадий жизненного цикла В-клеток***

Маркеры	Лимфо-стволовая клетка	Про-В-клетка	Пре-В-клетка	Незрелая В-клетка	Зрелая В-клетка	Активированная В-клетка /бласт	В-клетка памяти	Плазматическая клетка
Ig			$\mu$ -цепь в цитоплазме	sIgM	$\text{IgM}^+$ , $\text{IgD}^+$	$\text{IgM}^+$ , $\text{IgD}^-$	$\text{IgG}^+$ / $\text{IgA}^+$	$\text{Ig}^+$ в цитоплазме
ТdT	+	+	+/-	-	-	-	-	-
МНС II	+	+	+	+	+	+	+	-
CD10	-	+	+/-	-	-	+	-	-



CD19	–	+	+	+	+	+	+	–
CD20	–	–/+	+	+	+	+	+	–
CD21	–	–/+	+	+	+	+	+	–
CD22	–	мало	+	+	+	+	+	–
CD23	–	–	–	–/+	+	+	–	–
CD25	–	–	–	–	–	+	–	–
CD28	–	+	+	–	–	–	–	+
CD40	–	–	+	+	+	+	+	–
CD72	–	+	+	+	+	+	+	–
PCA-1	–	–	–	–	–	–	–	+

PCA-1 – плазмочитарный антиген-1

Созревание В-лимфоцитов связано с появлением на поверхности иммуноглобулинов двух классов IgM и IgD, после чего В-клетки покидают костный мозг в синусоидах, откуда попадают в венозную сеть и разносятся по всему организму. Ранние В-клетки-«иммигранты» являются sIgM<sup>+</sup>-клетками, на поверхности которых присутствует CD5. Они появляются в селезенке и лимфоузлах плода на 17-й неделе внутриутробного развития. Клетки-предшественники CD5<sup>+</sup> обнаруживаются также в сальнике плода и в зоне мантии вокруг вторичных фолликулов зрелых лимфоузлов.

Уже упоминалось, что ИЛ-7 служит основным ростовым и дифференцировочным фактором на стадиях про-В- и пре-В-клеток. Выживанию и развитию В-лимфоцитов на ранних стадиях способствует фактор стволовых клеток и, по-видимому, ИЛ-3. Наоборот, ИЛ-1 и ИЛ-4 отменяют ростовое действие ИЛ-7 на пре-В-клетки. В то же время ИЛ-1 способствует экспрессии генов иммуноглобулинов, а ИЛ-4 повышает выживаемость пре-В-клеток (в его отсутствие они подвергаются апоптозу). TGF-β отменяет как ростовой, так и дифференцировочный эффекты ИЛ-7. Осуществлению дифференцировки пре-В-клеток способствует γ-интерферон.

В-лимфоциты – несекреторные клетки: 90 % их иммуноглобулинов представлено на поверхности ЦПМ, а в цитоплазме находится менее 10 %. Продолжительность жизни большинства зрелых В-лимфоцитов в отсутствие антигенной стимуляции составляет несколько месяцев. Основным источником обновления популяции В-клеток служит костный мозг. Интенсивность антигеннезависимого размножения В-лимфоцитов на периферии не велика и связана в основном с частичным самоподдержанием субпопуляции CD5<sup>+</sup>-клеток.

### **9.3. Антигенная активация В-клеток и их дифференцировка**

Пусковым сигналом активации В-лимфоцитов служит связывание рецепторов BCR с антигеном. При этом активационный сигнал становится достаточным тогда, когда происходит перекрестное сшивание мембранных рецепторов. Этому способствуют бивалентность sIg, участие АПК и другие факторы. Тимуснезависимые антигены (ЛПС микроорганизмов) способны самостоятельно активировать В-клетки, поскольку имеют много повторяющихся детерминант, которые перекрестно связывают их мембранные рецепторы.

Другим важным фактором для запуска активации лимфоцита являются дополнительные сигналы, исходящие от вспомогательных клеток. Костимуляцию В-лимфоцита осуществляет взаимодействие CD40 В-клетки и CD154 (CD40L) Т-хелпера. Условия активации клеток различного типа неодинаковы. Так, для активации  $Lyb5^-$ -В-лимфоцита помимо контакта с антигеном требуется взаимодействие с Т-хелперами. В то время как для  $Lyb5^+$ -В-клеток достаточно дополнительного влияния цитокинов. Активация В-лимфоцитов обусловлена запуском ферментативной активности тирозинкиназы, связанной с цитоплазматическими доменами полипептидных цепей AgR, и в принципе не отличается от активации Т-лимфоцитов.

Поскольку активация в типичном случае служит подготовкой к делению клеток, ее основной результат состоит в индукции ряда генов, продукты которых обеспечивают продвижение по клеточному циклу. Эту функцию выполняют факторы роста – цитокины и рецепторы для них. В результате на поверхности активированного В-лимфоцита увеличивается количество ворсин и рецепторов, интенсифицируется энергетика, начинается синтез нуклеиновых кислот и белка. Вследствие этих процессов В-клетка выходит из фазы  $G_0$ , переходит в  $G_1$  и далее последовательно в S,  $G_2$  и, наконец, в М-фазу. При этом жизненный цикл В-лимфоцита сопровождается сменой рецепторов, воспринимающих разные экзогенные сигналы, прежде всего интерлейкины моноцитов и Т-хелперов. Если последовательная подача сигналов

прервется, то жизненный цикл В-лимфоцита остановится и клетка вернется в состояние покоя. Если процесс дойдет до М-фазы, то В-лимфоцит может превратиться в эффекторную плазматическую клетку или в В-клетку памяти.

#### **9.4. Плазматические клетки**

Дифференцировка В-лимфоцитов в антителообразующие клетки (АОК) может быть смоделирована совместным действием ЛПС и ИЛ-4. Однако *in vivo* не менее важным является прямой контакт с Т-хелпером, в основе которого лежит взаимодействие CD40–CD40L. Именно через CD40 в В-клетку поступают сигналы к переключению изотипов и переходу на выработку секреторного иммуноглобулина, а также повышению устойчивости к апоптозу.

Формирование АОК из В-лимфоцитов происходит в зародышевых центрах, частично наслаиваясь на процесс интенсивной пролиферации. В нем выделяют 4 этапа. Два первых – переключение изотипа mIg и повышение сродства рецептора к антигену вследствие мутационного процесса в V-генах – суммарно обозначают как созревание гуморального иммунного ответа. Третий процесс состоит в переходе синтеза иммуноглобулинов с мембранного на секреторный тип с сопутствующими морфологическими изменениями (табл. 5). Наконец, дифференцировка В-клеток в плазмоциты сопровождается изменением взаимоотношений с микроокружением (утрата большинства рецепторов) и сосредоточением АОК на выполнении ее специфической функции – секреции антител.

Плазматические клетки (ПК) наблюдаются в крови не часто, составляя меньше 0,1 % циркулирующих лимфоцитов. Это очень заметные клетки. Они обнаруживаются в большом количестве во вторичных лимфоидных органах и других периферических тканях, где происходит иммунный ответ. Плазмоциты содержат внутри клетки 95 % иммуноглобулинов, а на поверхности – только 5 %. Если В-лимфоцит синтезирует антитела со скоростью 1 молекула/сек, то ПК – в 1000 раз быстрее. Цитоплазма плазмоцитов базофильна вследствие высокого содержания РНК и гранулярного эндоплазматического ретикулуума. ПК имеют округлое

периферическое ядро в виде «часового циферблата» из-за агрегированного таким образом хроматина, что свидетельствует о высокой ядерной активности. Только для синтеза одной молекулы иммуноглобулина необходимо задействовать 4 рибосомы (одна полипептидная цепь соответствует одной рибосоме). Белок выделяется в просвет эндоплазматического ретикулуума и продвигается по мембранному лабиринту, где происходит спонтанная сборка молекул антител. Эозинофильные включения, называемые «тельцами Рассела», в перинуклеарной области цитоплазмы представляют собой расширенные в виде цистерн участки эндоплазматического ретикулуума и аппарата Гольджи ПК, заполненные антителами. Готовые иммуноглобулины секретируются наружу через аппарат Гольджи. Плазмоциты являются «смертниками»: выполнив свою секреторную функцию в специфическом иммунном ответе один раз, они погибают.

Плазматические клетки можно обнаружить путем окрашивания антиглобулиновыми антителами, мечеными ФИТЦ. Так, цитохимически было показано, что плазматические клетки образуют антитела только одной специфичности и одного класса.

### **9.5. В-клетки памяти**

В отличие от Т-клеток памяти, В-клетки иммунологической памяти представляют собой самостоятельную ветвь дифференцировки В-лимфоцитов. Установлено, что предшественники В-клеток памяти отличаются от предшественников АОК. Они слабее экспрессируют маркерный антиген LIP, чаще экспрессируют к-цепь и имеют иной набор клонов, оцениваемый по спектру специфичностей образуемых ими антител, по сравнению с пре-АОК.

Важную роль в качестве места формирования В-клеток памяти играют центры размножения в различных периферических лимфоидных тканях. Антигенспецифические В-клетки, колонизирующие первичные фолликулы, премируются антигеном и превращаются в бласты. В-клетки-бласты проникают в первичные фолликулы и образуют центр размножения. Бласты пролиферируют с высокой скоростью, и в течение 3–4-х суток их количество достигает примерно  $10^4$ . На четвертые сутки они трансформируются в центробласты,

лишенные поверхностных иммуноглобулинов, и мигрируют во внутреннюю область вторичного фолликула, где формируют темную зону центра размножения. Из центробластов образуются centroциты, которые вновь начинают экспрессировать на своей поверхности иммуноглобулины и занимают светлую базальную зону центра размножения. В это время происходит переключение класса иммуноглобулинов. Считается, что гипермутирование генов вариабельной области антител происходит после стимуляции антигеном, представленным ФДК. Эффективное взаимодействие centroцитов, несущих высокоаффинные рецепторы для антигена, презентируемого ФДК, приводит к образованию активированных клеток, которые покидают вторичные фолликулы либо в виде клеток иммунологической памяти, либо в виде предшественников ПК. Без взаимодействия с ФДК centroциты погибают в результате апоптоза.

Таким образом, В-лимфоциты являются основным клеточным субстратом гуморального иммунного ответа. Они способны распознавать антигены благодаря наличию на их поверхности специальных рецепторов, причем конечным результатом распознавания является секреция практически тех же распознающих структур – антител.

## **10. Антитела и их иммунологическая активность**

### ***10.1. Общая структура антител и ее вариабельность***

По химической природе антитела являются иммуноглобулинами (Ig), т. е. белками глобулярного строения, имеющими иммунное происхождение (синтезируются В-клеточной линией). Первоначально считалось, что семейство иммуноглобулинов ограничивается молекулами антител. Позднее в моче больных некоторыми видами плазмцитом были обнаружены белки Бенс-Джонса, представленные легкими цепями антител в виде мономеров или димеров. Оказалось, что их также секретируют плазматические клетки, что они тоже обладают специфичностью к

антигену и имеют свойства антител. Тогда ВОЗ приняла следующее определение: «Иммуноглобулины – это белки животного происхождения, обладающие активностью антител, сходные с ними по структуре и по иммунохимической специфичности».

Отдельно взятая мономерная молекула антитела состоит из четырех полипептидных цепочек, представленных двумя идентичными парами в зеркальном отражении (рис. 5). Каждая пара объединяет одну легкую и одну тяжелую цепи, различающиеся своей массой. Легкие, или L-цепи (от англ. «light» – легкий), наполовину короче тяжелых, или H-цепей (от англ. «heavy» – тяжелый). Тяжелые цепи составляют центр мономерной молекулы антитела и взаимодействуют через дисульфидные связи друг с другом и с одной из легких цепей (исключением является Ig A2).

Каждая полипептидная цепь имеет переменную и константную части, различающиеся по аминокислотному составу. Переменные, или V-области (от англ. «variable» – изменяющийся), легкой и тяжелой цепей в каждой паре составляют антигенсвязывающий участок или антигенраспознающий рецептор, т. е. идиотип. Молекулы антител одного класса, но разной специфичности, различаются именно своими антигенсвязывающими участками (идиотипическая изменчивость). Помимо этого, каждая переменная область имеет три суперпеременных участка, являющихся местами быстрой замены аминокислот в процессе иммунного ответа. Они ответственны за адаптацию рецептора к антигену, поскольку прежде всего именно суперпеременные участки вступают в контакт с антигеном. Аминокислотная последовательность константных, или C-областей (от англ. «constant» – постоянный), в процессе иммунного ответа не изменяется, она консервативна и служит для диагностики разных классов и типов антител.

В соответствии с различным строением константных участков H-цепей, обозначаемых гамма ( $\gamma$ ), мю ( $\mu$ ), альфа ( $\alpha$ ), дельта ( $\delta$ ) и эпсилон ( $\epsilon$ ), различают 5 классов иммуноглобулинов: IgG, IgM, IgA, IgD и IgE, в некоторых из них выделяют еще и подклассы. Молекулы антител каждого класса обладают типичными для него физико-химическими свойствами и биологической ак-

тивностью. Структурно иммуноглобулины разных классов различаются

- по длине тяжелых цепей и числу доменов в них,
- по количеству и расположению дисульфидных связей,
- по положению, численности и типу олигосахаридных цепей, связанных с Н-цепями;
- по числу четырехцепочечных мономеров в полимерных молекулах.

Структура легкой цепи определяет тип иммуноглобулина. Их известно только два: каппа ( $\kappa$ ) и лямбда ( $\lambda$ ). Они также различаются между собой аминокислотным составом С-областей. Антитела одного класса относятся к разным типам, если содержат различные легкие цепи. Соотношение количества двух типов L-цепей видоспецифично. Так, у человека отношение  $\kappa/\lambda = 2:1$ . Легкие цепи определяют авидность (сродство) антител к антигену. Установлено, что иммуноглобулины с  $\kappa$ -цепями отличаются более высоким сродством всей молекулы к антигену. Поскольку в организме каждого нормального индивидуума циркулируют антитела всех структурных вариантов константных участков L- и H-цепей, то их рассматривают как изотипы. Так, С-области тяжелых цепей представлены десятью изотипами, а L-цепей – только двумя.

Аллотипические различия между антителами обусловлены существованием аллельных форм, кодируемых разными аллельными генами одного локуса, поэтому аллотипические детерминанты служат генетическими маркерами. Подобно тому как эритроциты у генетически различных индивидуумов могут различаться по системам антигенов групп крови А, В, 0, тяжелые цепи иммуноглобулинов различаются по экспрессии аллотипических групп. В настоящее время у человека известно 25  $\gamma$ -маркеров в H-цепи IgG и 3  $\kappa$ -маркера в легкой  $\kappa$ -цепи. Аллотипические различия в конкретном локусе представлены заменами одной–двух аминокислот. В лабораторных экспериментах с мышами и кроликами выяснено, что гены, кодирующие аллотипические маркеры, экспрессируются кодоминантно и наследуются в соответствии с законами Менделя. Это означает, что у гетерозигот, потомков гомозиготных родителей с разными аллелями, одна фракция ан-

тител будет иметь маркер матери, а другая – отца. Следует отметить, что все виды различий в структуре иммуноглобулинов обнаруживаются методами иммунной диагностики с помощью моноклональных антител.

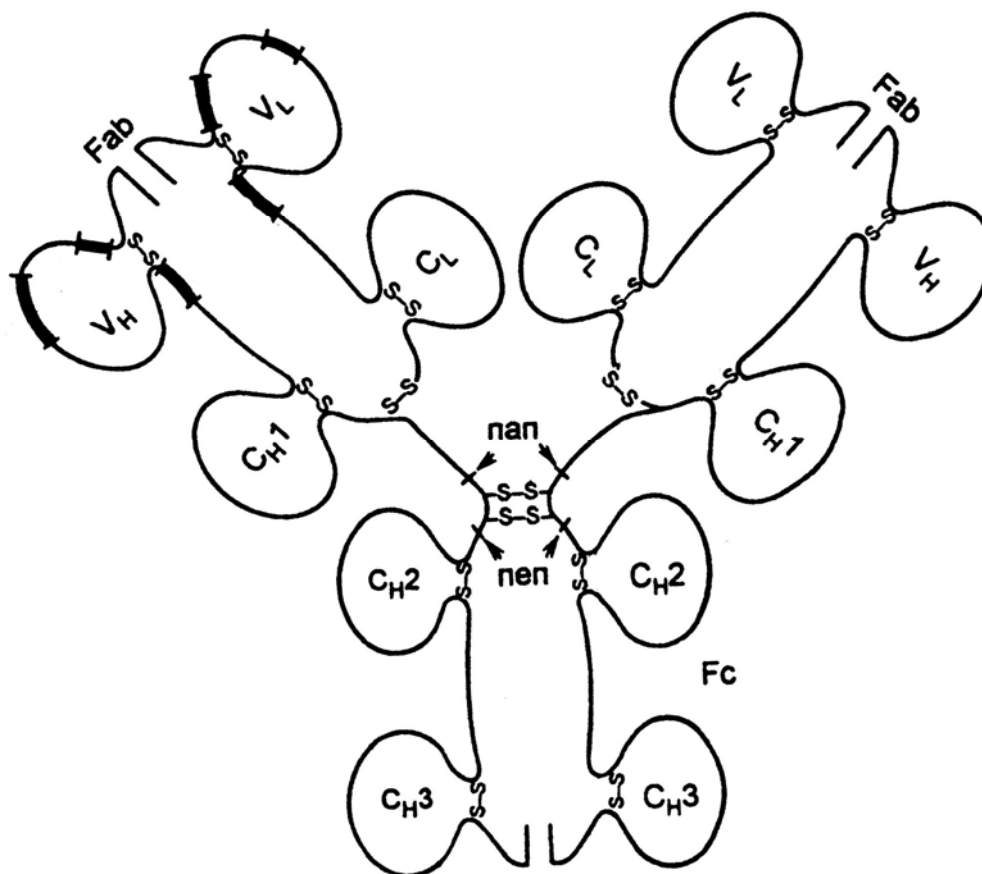


Рис. 5. Строение молекулы IgG1 человека: Fab, Fc – фрагменты, образующиеся при действии папаина; пап – папаин; пеп – пепсин; L – легкие цепи; H – тяжелые цепи;  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$ ,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$  – обозначения доменов; S-S – дисульфидные связи [по Ярилину, 1999]

Вариабельные области как легких, так и тяжелых цепей начинаются на N-конце и тянутся до 110 аминокислотного остатка. Далее располагаются константные части. У L-цепей, содержащих всего 211–221 аминокислотных остатка, C-области примерно равны V-участкам. У H-цепей константные области как минимум в три раза длиннее вариабельных. В каждой полипептидной цепи имеются внутрицепочечные -S-S-связи, которые отшнуровывают петли от общего ствола. Эти петли компактно свернуты и формируют глобулярные домены с характерной  $\beta$ -складчатой структурой. За счет



этой складчатости гипервариабельные участки L- и H-цепей каждой пары оказываются сосредоточенными на концах вариабельных областей в месте расположения антигенсвязывающего центра. В отличие от V-областей, где расположено только по одному глобулярному домену, константные участки тяжелых цепей содержат три или четыре домена. Их принято нумеровать в направлении от N- к C-концу. Аминокислотные последовательности доменов легкой и тяжелой цепей, которые расположены друг против друга, являются гомологичными. Положение же внутрицепочечных дисульфидных связей, обособляющих домены, относительно постоянно для каждого класса антител. Расположение других внутрицепочечных и межцепочечных -S-S-связей индивидуально для разных классов и подклассов иммуноглобулинов.

Между C<sub>H</sub>1 и C<sub>H</sub>2 вблизи дисульфидного мостика между тяжелыми цепями расположен шарнирный участок. Он отличается высоким содержанием цистеина и пролина, что обеспечивает подвижность N-концевых участков H-цепей, которые входят в состав антигенсвязывающих центров. В результате мономерная молекула антитела может изменять свою форму от Т- до Y-образной.

## **10.2. Функции разных структурных частей молекулы иммуноглобулинов**

Первоначально сведения о структуре и функциях определенных фрагментов антител были получены при их расщеплении протеазами. Оказалось, что трипсин и папаин разделяют молекулу IgG на три части (рис. 5). Молекулы первой части образовывали кристаллы, поэтому ее называли Fc-фрагментом (от англ. «Fragment crystallizable»).

Вторая и третья части IgG связывали антигены и были идентичными по структуре. Их обозначили Fab-фрагментами (от англ. «Fragment antigen binding»). Этот результат получается, если расщепление иммуноглобулиновой молекулы происходит выше -S-S-связи шарнирного участка. Оказалось, что Fc-фрагмент имеет молекулярную массу 60 кД, состоит из соединенных дисульфидным мостиком остатков двух тяжелых цепей, содержащих второй и третий домены константных участков. Он связывает компле-

мент и взаимодействует с Fc-рецепторами на ЦПМ различных клеток. Отдельный Fab-фрагмент включает легкую цепь и N-конец тяжелой, объединенные -S-S-связью. Структурно и функционально он моновалентен и не способен вызывать ни преципитации, ни агглютинации антигенов.

Путем восстановления дисульфидной связи из Fab-фрагмента получают Fd-фрагмент (от англ. «Fragment difficult» – трудный фрагмент), который представляет собой N-концевой участок H-цепи.

Пепсин расщепляет IgG тоже на три части, но ниже дисульфидного мостика шарнирного участка. В результате получается двухвалентный  $F(ab')_2$ -фрагмент (100 кД) и два низкомолекулярных полипептида, представляющих собой несоединенные C-концевые участки тяжелых цепей.

$F(ab')_2$ -фрагмент действует как полное антитело и может вызывать агглютинацию или преципитацию специфического антигена. Путем восстановления -S-S-связей из него можно получить два Fab'-фрагмента, размер которых несколько больше Fab-фрагментов, получаемых при помощи папаина.

В результате ограниченного восстановления можно разрушить дисульфидные мостики только между H-цепями и получить одновалентные половинные молекулы иммуноглобулинов. В эксперименте удалось соединить две половины антител с разными специфичностями, в природе подобные химерные молекулы до сих пор не найдены.

Двухвалентные  $F(ab')_2$ -фрагменты нашли свое применение в терапии. Они мельче полных антител, легче проходят сквозь ткани и действуют быстрее. Поскольку они не содержат Fc-фрагментов, то не способны к фиксации комплемента, опсонизации и активированию макрофагов. Указанные свойства позволяют вводить их внутривенно, подобно нативным циркулирующим в организме иммуноглобулинам. В процессе выделения из сыворотки нативные антитела меняют свою конформацию и у них появляется побочная активность (фиксация комплемента, активизация макрофагов), которая приводит к резкому снижению содержания комплемента при их внутривенном введении.

## **10.3. Характеристика антител различных классов**

### **10.3.1. Иммуноглобулин G (IgG) и его подклассы**

IgG преобладает в циркуляции над всеми другими классами антител, составляя примерно 80 % всех иммуноглобулинов плазмы крови. Подавляющую часть антител при вторичном иммунном ответе составляют иммуноглобулины этого класса. IgG всегда находится в виде мономера с мол. массой 150 кД и имеет типичную структуру, описанную выше. Следовательно, IgG двухвалентен по отношению к антигену. Константные части его  $\gamma$ -цепей содержат по три домена. Между вторым и третьим располагается участок связывания комплемента. Время полужизни молекулы IgG составляет около 23 суток.

Иммуноглобулины класса G отличаются способностью проходить сквозь плаценту и передавать развивающемуся плоду пассивный иммунитет от матери, что охраняет новорожденного в течение первых трех месяцев жизни. Малые размеры позволяют IgG также эффективно нейтрализовать бактериальные токсины и опсонизировать микроорганизмы. Как только его молекула связывается с антителами, в константном участке  $\gamma$ -цепи происходят аллостерические изменения, которые приводят к реакции связывания комплемента. Фиксация комплемента наряду со связыванием антигена антителами приводит к инактивации и разрушению микробов, что в первую очередь и запускает иммунный ответ. Аналогично внеклеточное уничтожение клеток-мишеней, нагруженных IgG, в основном обусловлено узнаванием Fc-фрагментов  $\gamma$ -цепей нормальными киллерами. Иммуноглобулины G способны также взаимодействовать с ЦПМ нейтрофилов и макрофагов.

Молекула IgG имеет разные варианты строения в константной части H-цепи, в соответствии с которыми различают 4 подкласса: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Все сказанное касается прежде всего IgG1. Тяжелые цепи разных подклассов гомологичны друг с другом на 95 %, остальные пять – различаются уникальными последовательностями аминокислот и расположением дополни-

тельных межцепочечных связей. Это служит причиной различных свойств разных подклассов IgG. Их молярное соотношение в плазме составляет  $G1:G2:G3:G4=16,50:5,75:1,75:1,00$ . IgG3 отличается от других подклассов несколько большей мол. массой (60 кД) и самым коротким временем полужизни (7сут.). В то же время среди подклассов IgG только IgG4 активирует комплемент по альтернативному пути и проявляет повышенную цитофильность, что сближает его по свойствам с IgE.

### **10.3.2. Иммуноглобулин А (IgA) и его подклассы**

IgA является основным классом иммуноглобулинов, присутствующим в секреторных жидкостях организма. На его долю приходится примерно 13 % антител плазмы крови. Время его полураспада составляет около 6 суток. Константные участки  $\alpha$ -цепи представляют собой трехдоменную структуру. В циркуляции IgA находится в мономерной форме с типичной двухвалентной структурой (160 кД). Однако в секреторных жидкостях он встречается в виде димера (400 кД), четырехвалентного по отношению к антигену. Димерная форма IgA содержит, помимо дополнительной J-цепи, объединяющей мономеры, еще специальный секреторный S-фрагмент. Последний образуется в клетках кишечного эпителия и состоит из одной полипептидной цепи (60 кД). Секретируемый плазматическими клетками димерный IgA соединяется с предшественником S-фрагмента на поверхности эпителиальной клетки, в которую образовавшийся комплекс заходит с помощью эндоцитоза, а затем выходит путем экзоцитоза в секреты слизистых. S-фрагмент защищает IgA от действия соответствующих протеаз.

IgA ингибирует связывание нагруженных антителами микроорганизмов с поверхностью слизистых оболочек и предотвращает проникновение микробов в ткани. Агрегированные IgA соединяются с нейтрофилами и могут запускать альтернативный путь активации комплемента, который, возможно, обуславливает возникновение синергизма между IgA, комплементом и лизоцимом при уничтожении конкретных колиформных микроорганизмов. IgA присутствует в высоких концентрациях в молозиве и передает пассивный естественный иммунитет младенцам при кормле-

нии их грудным молоком. Он защищает новорожденных от многих инфекций ЖКТ, особенно вирусных, которые являются наиболее обычными для искусственно вскармливаемых детей.

IgA также представлен двумя подклассами, причем IgA1 составляет 80–90 % от общего количества IgA. Молекулы подкласса A2 необычны, поскольку у них отсутствуют дисульфидные связи между тяжелыми и легкими цепями. Н- и L-цепи IgA2 удерживаются друг против друга за счет комплементарности.

### **10.3.3. Иммуноглобулин М (IgM)**

IgM составляет приблизительно 6 % всех антител плазмы. Время полужизни его молекул составляет чуть больше 5 сут. Мономер отличается наличием четвертого домена в константной части тяжелой цепи. Однако в циркуляции иммуноглобулины М присутствуют в виде пентамеров (900 кД). Их часто называют макроглобулинами из-за высокой молекулярной массы. Как и в случае с IgA, полимеризация субъединиц происходит за счет дополнительной J-цепи. В ее функции, вероятно, входит стабилизация сульфгидрильных групп Fc-фрагментов в процессе синтеза иммуноглобулинов, благодаря чему они сохраняют способность образовывать перекрестные связи между субъединицами.

Свободный пентамер IgM имеет на электронных микрофотографиях форму звезды, а при связывании с поверхностными антигенами мембраны он приобретает крабовидную форму. Теоретически такая молекула может связать десять антигенов, но на практике это происходит только с низкомолекулярными гаптенами. Для крупных антигенов эффективная валентность снижается до пяти, что объясняют стерическими ограничениями, возникающими из-за недостаточной гибкости молекулы.

В мономерной форме IgM встречается как рецептор В-лимфоцитов, узнающий антиген. В этом случае он имеет в С-концевом участке тяжелой цепи гидрофобную последовательность, фиксирующую молекулу IgM на клеточной мембране. Рецепторный IgM обладает относительно низкой аффинностью. Но, благодаря поливалентности, он с высокой авидностью связывает антигены с множественными эпитопами, после чего активирует комплемент по классическому пути. По этой причине IgM легко

вызывает агглютинацию и лизис клеток. Поскольку антитела класса М появляются в начале специфического ответа на инфекцию и в значительной степени привязаны к кровяному руслу, похоже, что они играют главную роль при бактериемии.

Изогемагглютинины  $\alpha$  и  $\beta$  (анти-А, анти-В соответственно) и многие из нормальных антител к микроорганизмам (антитела к О-антигену тифозного эндотоксина, WR-антитела при сифилисе), как правило, относятся к классу М. Поскольку IgM первым появляется при первичном иммунном ответе, очевидно, в филогенезе иммунного ответа он появился раньше антител других классов.

#### **10.3.4. Иммуноглобулин D (IgD)**

IgD составляет менее одного процента антител плазмы крови. Он всегда обнаруживается в двухвалентной мономерной форме (175 кД). Почти весь IgD находится на поверхности зрелых В-лимфоцитов. Его молекула отличается протяженным шарнирным участком, защищенным в некоторой степени углеводами. Возможно, благодаря этому IgD более чувствителен к протеолитическому расщеплению по сравнению с другими классами антител и период его полураспада составляет всего 2,8 сут. Похоже, что эти антигенные рецепторы могут взаимодействовать друг с другом, осуществляя контроль за активацией и супрессией лимфоцитов. Возрастающая чувствительность IgD к протеолизу после связывания с антигеном может объясняться этими функциями. Предполагается, что, являясь основным рецепторным иммуноглобулином на поверхности В-лимфоцитов, он выполняет важную контролирующую функцию в иммунном ответе, играя информационно-процессирующую роль и выступая активатором межклеточных взаимодействий.

#### **10.3.5. Иммуноглобулин E (IgE)**

IgE составляет не более 0,003 % всех антител плазмы, и лишь небольшая часть плазматических клеток в организме его секретирует. Иммуноглобулин E известен только в двухвалентной мономерной форме с мол. массой 190 кД, которая, подобно IgM, содержит четвертый дополнительный домен в константной части H-цепи. При подкожной инъекции он задерживается в коже на

длительное время, вероятно связываясь с тучными клетками. Его взаимодействие с антигеном приводит к дегрануляции тучных клеток, что сопровождается высвобождением вазоактивных аминов. Этот процесс происходит при атопических аллергиях.

Основная физиологическая функция IgE, очевидно, защита внешних слизистых оболочек организма путем локальной активации факторов плазмы и эффекторных клеток, благодаря индукции острой воспалительной реакции. Инфекционные агенты, способные прорвать линию обороны, образованную IgA, будут связываться со специфическими антителами класса E, фиксированными на поверхности тучных клеток. В результате тучные клетки получают сигнал к высвобождению вазоактивных аминов и хемотаксических факторов, а это, в свою очередь, вызовет приток циркулирующих в крови IgG, комплемента, нейтрофилов и эозинофилов. В этих условиях способность эозинофилов повреждать гельминтов, нагруженных IgG, и усиленная продукция IgE в ответ на проникновение паразитов будут обеспечивать эффективную защиту. Поскольку уровень IgE чрезвычайно высок при гельминтозах, предполагается, что в эволюции IgE возник именно для обеспечения протективного иммунитета к макропаразитам, а его участие в аллергических реакциях является вторичным.

IgE отличается кратчайшим временем полужизни (2,5 сут.), неспособностью фиксировать комплемент и самой сильной цитотоксичностью. Он фиксируется на мембранах не только тучных клеток и базофилов, но и на поверхности многих других клеток.

#### **10.4. Иммунологическая активность антител**

Возвращаясь к определению иммуноглобулинов ВОЗ, хочется обобщить понятие «активность антител». Обладать активностью антител означает быть способным осуществлять некоторые из следующих реакций:

- 1) преципитацию с растворимыми антигенами,
- 2) агглютинацию с корпускулярными антигенами,
- 3) комплементзависимый лизис,
- 4) нейтрализацию токсина,
- 5) антителозависимую клеточную цитотоксичность,

6) радиологический или иммуноферментативный вариант связывания антигена, когда последний адгезирован на нерастворимой основе;

7) гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ),

8) опсонизацию,

9) регуляцию иммунного ответа по принципу обратной связи в антиидиотипических взаимодействиях.

Первичной функцией антител является связывание антигена, а фиксация комплемента, опсонизация, цитотоксическое влияние, иммунорегуляция – вторичные функции иммуноглобулинов.

Основные свойства антител разных классов рассмотрены были ранее. Однако их сравнение позволяет получить следующие ряды: по антибактериальной активности –  $IgM > IgG > IgA$ , по антивирусному действию –  $IgA > IgM, IgG$  и по активности против паразитов –  $IgE > IgD > IgG4$ . Таким образом, при разных инфекциях протективный иммунитет обеспечивается разными классами иммуноглобулинов.

### **10.5. Генетические основы разнообразия и синтеза антител**

На примере иммуноглобулинов впервые было обнаружено, что синтез одной молекулы белка может контролироваться не одним, а многими генами. Более того, гены, контролирующие синтез антител, находятся в разных хромосомах: в 14-й хромосоме – гены, контролирующие структуру тяжелой цепи; в 22-й – гены  $\lambda$ -цепи и во 2-й – гены  $\kappa$ -цепи.

Синтез переменных областей находится под контролем многих V-генов, которых идентифицировано порядка тысячи. Для константных участков число C-генов ограничено. Между V- и C-генами в хромосомах, кодирующих структуру легких и тяжелых цепей, обнаружены дополнительные D-гены («гены разнообразия», от англ. «diversity»). Их количество для H-цепей может достигать двенадцати. Более того, в хромосомах тяжелых цепей найдены еще четыре «соединительных» J-гена (от англ. «joining»).



В 14-й хромосоме гены, контролирующие строение тяжелой цепи, располагаются в следующем порядке:

$$\frac{V_1 \dots V_{1000}}{\text{V-часть}}, D_1 \dots D_{12}, J_1 \dots J_4, \frac{\mu, \delta, \gamma_3, \gamma_1, \psi, \alpha_1, \gamma_2, \gamma_4, \epsilon, \alpha_2}{\text{C-часть}}$$

знак  $\psi$  означает неработающий псевдоген.

В начале зародышевого пути у лимфоидных предшественников V- и C-гены находятся в разных далеко отстоящих друг от друга сегментах ДНК. В процессе созревания в геноме лимфоцитов происходят транслокации, благодаря которым гены, контролирующие синтез той или иной цепи иммуноглобулинов, соединяются в одном локусе.

Разнообразие иммуноглобулинов обеспечивается за счет того, что один из тысячи переменных генов соединяется с одним из константных. Между ними встает один из четырех соединительных генов (V-J-C), который увеличивает число вариантов в цепях с одинаковыми V- и C-генами. Разнообразие тяжелых цепей еще более возрастает за счет появления дополнительного D-гена (одного из 12) между переменным и соединительным генами. Возникает структура V-D-J-C, где сочетание V-D контролирует структуру третьего гиперпеременного участка тяжелой цепи. Таким образом, в зародышевом пути происходит формирование огромного разнообразия вариантов структуры антител, ограниченного, однако, количеством сочетаний V-, J- и C-генов для L-цепей и V-, D-, J- и C-генов для H-цепей. Между тем вероятного числа вариантов структуры антител достаточно для первичного связывания всевозможных антигенов.

Соматические мутации переменных генов, которые происходят при пролиферации В-лимфоцитов в процессе иммунного ответа, не только увеличивают унаследованное разнообразие строения иммуноглобулинов, но и способствуют подгонке структуры антитела комплементарному участку антигена. В результате увеличивается сродство вновь синтезируемых иммуноглобулинов к антигенной детерминанте и иммунный ответ усиливается. По способности переменных генов к мутациям различают две субпопуляции В-лимфоцитов. CD5<sup>+</sup>-клетки не способны к мутациям.

Они составляют менее 5 % всей популяции В-лимфоцитов, синтезируют иммуноглобулины с низкой авидностью, которые работают на начальных этапах иммунного ответа, и являются источником нормальных антител. Все прочие В-клетки подключаются позже, но образуют иммуноглобулины с высоким сродством к антигену. Таким образом, множественный генетический контроль и соматические мутации В-клеток позволяют получить необычайный полиморфизм антител и эффективную способность устранять незнакомые антигены.

При синтезе антител считывание информации происходит по принципу аллельного исключения. Если активирован один варибельный ген, то другие не работают. Среди константных сначала активируются  $\mu$ - и  $\delta$ -гены (почти одновременно), на них принцип аллельного исключения не распространяется. Последующее переключение синтеза антител на один из оставшихся классов (IgG, IgA или IgE) зависит от внешнего сигнала, полученного В-клеткой в этот момент. Так, продукцию IgG инициируют ИЛ-2 и  $\gamma$ -интерферон, выделяемые Тх1. Переход на синтез IgE (и, возможно, на IgG4) регулируется ИЛ-4, а на образование IgA – ИЛ-5. Интерлейкины ИЛ-4 и ИЛ-5 секретируются разными субпопуляциями Тх2.

Следует помнить, что чистый антиген активирует только один клон клеток, если он имеет одну распознаваемую специфическую детерминанту. Чужеродные сыворотки представляют собой смесь различных антигенов и действуют поликлонально, т. е. активируют многие, если не все, клоны лимфоцитов.

### **10.6. Получение моноклональных антител**

Моноклональными называют антитела с одинаковыми AgR. Поскольку в организме, как правило, происходит поликлональная активация В-лимфоцитов, то получение моноклональных антител в экспериментальных и медицинских целях было неразрешимой задачей до тех пор, пока Ц. Мильстайн и Дж. Кёлер не разработали оригинальную методику.

Лимфоциты в пробирке пролиферировать не могут. Вне организма хорошо размножаются опухолевые клетки. Поэтому

ученые решили получить гибриды, которые бы имели 14, 2 и 22-ю хромосомы от В-лимфоцита и способность к неограниченному росту от опухолевой клетки. Для этого они взяли здоровые В-лимфоциты и клетки миеломы и попробовали получить гибрид. Для индукции слияния ядер они использовали вирус или этиленгликоль. Поскольку ядра сливались не полностью, полученные клетки, содержащие 70–80 хромосом вместо 92-х, называли гибридами, имея в виду «неполноценные гибриды».

В результате слияния клеток получали смесь В-лимфоцитов, миеломных клеток и их гибридом. В-лимфоциты сразу погибали в отсутствие митогена. Далее производили отбор гибридом, секретирующих лимфоцитарные антитела. Для этого смешанную культуру клеток рассеивали на твердую среду ГАТ, содержащую гипоксантин, аминоптерин и тимидин, по которым миеломные клетки и гибридомы ауksотрофны. Получив колонии из одиночных клеток, далее их рассеивали по отдельности в разные лунки планшета, а после инкубации определяли наличие антител и количество их специфичностей. Миеломные клетки – несекреторные, поэтому их легко выбраковывали. Наконец, в результате многократных последовательных пересевов получили потомство единственной гибридомы, продуцирующей иммуноглобулины только одной специфичности, т. е. моноклональные антитела.

В настоящее время моноклональные антитела используются при иммунной диагностике различных опухолей и иммунопролиферативных заболеваний, а также при идентификации различных популяций лимфоцитов по CD-маркерам. При диагностике инфекционных антигенов преимущество имеют поликлональные антитела.

## **11. Адаптивный иммунный ответ и его регуляция**

### **11.1. Первичный и вторичный иммунные ответы**

Внешне гуморальные проявления первичного и вторичного иммунных ответов различаются кинетикой выведения антигена, динамикой синтеза антител и качественным составом сывороточных антител.

При первичном иммунном ответе выведение антигена происходит в два этапа: сначала – медленно, а затем – быстро. Вторым этапом осуществляется благодаря накопившимся эффекторным клеткам и антителам (рис. 1). В момент практически полного исчезновения антигена появляются впоследствии накапливающиеся антитела. Обычно нет одновременно циркулирующих антигенов и антител, за исключением тех случаев, когда антиген постоянно персистирует в организме, как, например, это происходит при ВИЧ-инфекции.

В первые часы первичного иммунного ответа 80 % иммуноглобулинов представлено IgM. В титре 1:2 «хвост» антител обнаруживается в течение нескольких месяцев. Концентрация антител до нуля никогда не падает. После первичного иммунного ответа остается иммунологическая память в виде Т-и В-клеток памяти, а также антител в очень низких титрах.

При вторичном иммунном ответе антиген выводится сразу (на вторые сутки). Заметные титры антител появляются на четвертые сутки. Сразу обнаруживаются IgG. Концентрация антител много больше, и сохраняются они значительно дольше, чем при первичном иммунном ответе. Таким образом, первичный и вторичный иммунные ответы различаются:

- 1) кинетикой выведения антигена,
- 2) временем от иммунизации до появления антител,
- 3) соотношением IgM:IgG.

## **11.2. Механизмы первичного иммунного ответа**

Суть наблюдаемых различий объясняется механизмами первичного (рис. 1) и вторичного иммунного ответов.

Запуск первичного иммунного ответа базируется на ранней воспалительной реакции и включает следующие события:

- локальное восприятие антигена АПК и его доставку в региональный лимфоидный орган (реже поступление в него свободного антигена и связывание АПК);
- улавливание в региональном лимфоидном органе рециркулирующих лимфоцитов, относящихся к антигенспецифическим клонам;
- обработку антигена в АПК и презентацию Т-хелперам;
- определение пути дифференцировки CD-4<sup>+</sup>-клеток в направлении Th1- или Th2-хелперов, выбор между клеточным и гуморальным ответом.

Далее при гуморальном иммунном ответе происходят активация и дифференцировка В-лимфоцитов в АОК. В процессе ответа происходит «совершенствование» образующихся антител: переключение их синтеза с малоэффективных IgM-антител на более совершенные в плане иммунной защиты IgG, а в слизистых оболочках – IgA-антитела, и повышается сродство антител к антигену.

В основе цитотоксического ответа лежит развитие Т-киллеров, которые разрушают пораженные клетки-мишени. Другая разновидность клеточного ответа – гиперчувствительность замедленного типа – имеет в своей основе реакцию макрофагов, направляемую Th1-хелперами.

При первичном иммунном ответе уже в пределах первых суток после поступления в организм антигенного материала создается стартовая ситуация для развития антигенспецифической фазы иммунного ответа. Эта ситуация состоит в присутствии в региональном лимфатическом узле вспомогательных клеток (дендритных, макрофагов), экспрессирующих на своей поверхности комплекс антигенного пептида с молекулами МНС II, и набора клонов всех функциональных субпопуляций, вовлекаемых в ответ на определенный антиген; при этом уже достигнут началь-

ный уровень активации клеток, прежде всего макрофагов, выделяющих ИЛ-1 и ИЛ-12, хемокины и ряд других цитокинов.

Ранее других лимфоцитов в иммунный ответ, по-видимому, вовлекаются В-клетки, которые сочетают функции вспомогательных АПК и специфически реагирующих на антиген клеток. В-лимфоциты вступают в двоякое взаимодействие с антигеном: их BCR связывает определенный «В-клеточный» эпитоп целой молекулы, а мембранные продукты гена МНС II несут различные фрагменты этой молекулы – потенциальные «Т-клеточные» эпитопы.

В типичных случаях тимусзависимого гуморального, а также цитотоксического Т-клеточного ответа в запуске их антигенспецифической составляющей ключевую роль играют Т-хелперы, которые воспринимают антигенспецифический сигнал от АПК.

Полагают, что в процессе рециркуляции, при перемещении  $CD4^+$ -Т-клеток внутри лимфоидных органов, они постоянно контактируют с дендритными клетками, образуя с ними временные обратимые связи, которые устанавливаются при участии молекул адгезии. Дендритные клетки на своей поверхности содержат значительное количество комплексов МНС II с разнообразными пептидами. При этом на долю пептида, специфически распознаваемого TCR конкретного Т-хелпера, приходится не более 1 из 1000 пептидов, презентируемых АПК. При распознавании антигенного комплекса в  $CD4^+$ -клетке возникает сигнал, который приводит к «активации» и установлению новых межклеточных рецепторных связей. В итоге через TCR и корецепторы подается сигнал, который вызывает активацию  $CD4^+$ -Т-клеток с экспрессией на ее поверхности рецептора для ИЛ-2 и других активационных антигенов. При этом начинается синтез ИЛ-2 Т-хелпером, обеспечивающий аутокринную (т. е. самопитающую) пролиферацию клона Т-хелперов. Размножение Т-хелперов важно в связи с исходно малым количеством клеток, вовлекаемых в реакцию. После нескольких делений они начинают продуцировать небольшое количество других лимфокинов. Такие клетки называют Тх0. При последующей стимуляции происходит их дифференцировка на субпопуляции Тх1 и Тх2, соотношение которых опреде-

ляет преимущественное направление развития иммунных процессов в сторону клеточного или гуморального ответов.

Период гуморального иммунного ответа, в течение которого В-лимфоцит получает специфический антигенный сигнал и ряд дополнительных сигналов от клеток-помощников, называют индуктивной фазой иммунного ответа. Её продолжительность составляет 2–3 дня. Напомним, что В-лимфоциты в отношении антигена играют двойную роль:

- они связывают его клоноспецифически путем взаимодействия BCR с распознаваемым ими эпитопом антигена, образующийся на мембране комплекс погружается внутрь клетки;

- поглощенный в составе ИК антиген подвергается процессингу – ограниченному расщеплению с встраиванием фрагментов в антигенсвязывающую щель молекулы МНС II, образованные комплексы с новым набором эпитопов презентуются Т-хелперам. Между Т-хелпером и В-клеткой формируется антигенный мостик, который соединяет специфический рецептор Т-хелпера с молекулой МНС II В-клетки, а BCR связывает свободный антиген через другой его эпитоп. Антигенный мостик обуславливает когнатное (распознавательное) взаимодействие между В- и Т-лимфоцитами. В результате Т-хелпер дифференцируется в Тх2, а В-клетка (при последующем участии Тх2) в АОК. Таким образом, В-клетки презентуя антиген, «склоняют Т-хелперы на свою сторону» и в ответ получают необходимую «поддержку». В рассматриваемых межклеточных взаимодействиях участвуют и макрофаги; при индукции гуморального иммунного ответа они важны прежде всего как источник ИЛ-1, который могут выделять и активированные В-клетки. Дальнейшие события, касающиеся дифференцировки В-клеток, переключения синтеза антител с IgM на другие классы, увеличения сродства антител к антигену, образования ПК и В-клеток памяти, были рассмотрены нами раньше.

Запуск цитотоксического ответа обусловлен инфицированием собственных клеток организма. При этом презентация антигена Т-хелперам осуществляется обычным путем – макрофагами или дендритными клетками через воздействие антигенного пептида в комплексе с молекулами МНС II. Те же АПК обуслови-

вают активацию ЦТЛ, но через комплекс антигена с молекулами МНС I. В любом случае обязательна костимуляция через взаимодействие молекул CD80/CD86 АПК с корецептором CD28 Т-лимфоцита. Таким образом, цитотоксический ответ зависит в основном от антигенного стимула и наличия ИЛ-2, в обеспечении которым CD8<sup>+</sup>-прекиллеров участвуют Т-хелперы, сами прекиллеры и необходимые для их активации вспомогательные клетки.

Самую медленную форму ответа представляет гиперчувствительность замедленного типа. Она проявляется в нескольких формах: контактной гиперчувствительности, лекарственной ГЗТ, в образовании инфекционных гранулем. Известным проявлением ГЗТ служит туберкулиновая реакция – ответ сенсибилизированного организма на локальное введение туберкулина.

Для формирования ГЗТ важно присутствие в микроорганизмах липидных компонентов (как в микобактериях), поступление антигена через кожу, повышенная экспрессия на АПК молекул МНС II и секреция ими ИЛ-12, который направляет дифференцировку Т-хелперов в сторону Th1. Активация CD4<sup>+</sup>-клеток происходит в лимфоидных органах, главным образом в паракортикальных зонах лимфоузлов. Результатом взаимодействия «наивных» CD4<sup>+</sup>-клеток с АПК является активация соответствующих клонов Т-лимфоцитов, выработка ими ИЛ-2, осуществление 3–4 делений, смена мембранных рецепторов и расселение с эфферентной лимфой по всему организму. При этом до повторного введения антигена преактивированные T<sub>ГЗТ</sub>-клетки практически не секретируют цитокины.

В основе воспалительной реакции, развивающейся в месте повторного введения антигена, лежит активность макрофагов и Th1-клеток. Макрофаги обеспечивают локальную активацию эндотелия сосудов, обеспечивающую сюда миграцию моноцитов и преактивированных T<sub>ГЗТ</sub>-клеток. В месте повторного введения антиген связывается и вновь презентруется макрофагами преактивированным CD4<sup>+</sup>-клеткам. В результате реализуется уже намеченное при первичном ответе направление их дифференцировки в «воспалительные» Th1-клетки, которые выделяют набор цитокинов, свойственный этой субпопуляции: ИЛ-2, γ-интерферон, ФНОα, лимфотоксин ГМ-КСФ. Из этого набора



для реализации ГЗТ особенно важным является  $\gamma$ -интерферон, который в кооперации с мембранным ФНО $\alpha$  Тх1-клеток вызывает сильную активацию макрофагов и стимулируют их способность убивать микроорганизмы. «Коктейль» цитокинов, выделяемых Тх1, макрофагами и клетками эндотелия, обуславливает тот широкий спектр общих и местных проявлений, которые свойственны ГЗТ. При развитии неэффективной реакции на внедрение инфекционных агентов, паразитов или инертных частиц, которые не поддаются разрушению и элиминации, формируется гранулема.

Таким образом, в настоящее время выделяют 3 основные разновидности адаптивного иммунного ответа: гуморальный, цитотоксический и ГЗТ. К ним в качестве субварианта можно добавить гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ) – разновидность гуморального ответа, при которой эффекторными клетками служат тучные клетки и базофилы, активируемые антителами.

### **11.3. Механизмы вторичного иммунного ответа**

При повторном введении антигена, когда в организме уже есть антигенреактивные клетки и антитела в очень низких титрах, в первые дни вторичного иммунного ответа В-клетки памяти особенно интенсивно мигрируют в костный мозг, хотя он активно участвует и в продуктивной фазе первичного гуморального ответа. При вторичном ответе костный мозг становится средоточием антителообразования (особенно на поздних стадиях). Именно АОК костного мозга обуславливают продолжительность периода высокого содержания IgG-антител в сыворотке крови. У людей пожилого возраста костный мозг становится источником 80 % антител, продуцируемых при вторичном иммунном ответе.

Вторичному гуморальному ответу слизистых оболочек также свойственна более высокая эффективность. Предсуществование IgA<sup>+</sup>-клеток памяти в lamina propria позволяет сократить довольно длительную индуктивную фазу. В нее входят запуск активации IgA<sup>+</sup>-В-лимфоцитов в групповых лимфатических фолликулах (Пейеровых бляшках), их миграция в брыжеечные лимфатические узлы, а затем в lamina propria, где они дифференцируются в ПК. При вторичном иммунном ответе IgA<sup>+</sup>-клетки памяти исходно при-

сутствуют или быстро поступают в lamina propria кишечника, превращаются в плазмоциты и начинают секретировать IgA-антитела.

Хотя столь же очевидных свидетельств преимущества вторичного Т-клеточного ответа перед первичным, нет, наличие таких преимуществ не вызывает сомнений, о чем говорят косвенные данные. Изучение реакции на аллоантигены цитотоксических Т-клеток *in vitro* свидетельствует о том, что использование ЦТЛ от предварительно иммунизированных животных существенно ускоряет ответ. При этом коstimуляции не требуется, а необходимо лишь распознавание Т-лимфоцитом комплекса антигенного пептида с молекулой МНС I и присутствие ИЛ-2.

Как и при гуморальном ответе, темп нарастания числа цитотоксических клеток при вторичном иммунном ответе на вирусные антигены значительно выше, чем при первичной иммунизации. ГЗТ у предварительно сенсибилизированных животных, имеющих  $CD4^{+}$ -клетки памяти, протекает более бурно, сопровождается некротической реакцией, обусловленной более интенсивной выработкой цитокинов. Наконец, отторжение аллотрансплантатов, подсаженных повторно от доноров одного и того же генотипа, развивается по вторичному типу, что выражается в отсутствии первичной васкуляризации и гибели пересаженной ткани в течение 3–5 дней. Отсутствие васкуляризации обусловлено активацией макрофагов под влиянием продуктов Т-хелперов с выделением цитокинов и иных медиаторов, приводящих к блокаде нормальных процессов первичного приживания в результате спазма сосудов, формирования тромбов и подавления пролиферации эндотелия.

Хотя причины высокой эффективности вторичного иммунного ответа детально не выяснены, очевидно, что они заключаются преимущественно в присутствии в организме клеток памяти. В качестве основы этой эффективности предварительно можно назвать следующие факторы:

- вследствие исходной пролиферативной экспансии «стартовая» численность реагирующих клонов клеток памяти выше, чем нестимулированных девственных лимфоцитов;
- в силу постоянной рециркуляции клетки памяти способны «патрулировать» весь организм, что позволяет им быстрее

«встретить» соответствующий антиген при его поступлении в организм;

- клетки памяти находятся в цикле (фаза  $G_1$ ), что позволяет обойти сложный этап активации, требующий участия многих клеток и гуморальных факторов;

- вероятно, клетки памяти имеют более «возбудимый» аппарат, связанный с внутриклеточной передачей сигнала (возможным свидетельством этого являются особенности строения CD45 на Т-клетках памяти), что также позволяет сократить число стимулов, необходимых для активации;

- при вторичном ответе отсутствует необходимость в осуществлении некоторых этапов дифференцировки клеток (например, переключения изотипов иммуноглобулинов, образования Тх1/Тх2-типов Т-хелперов и т. д.), поскольку они уже реализовались при первичном ответе.

Точное знание всех факторов, повышающих эффективность вторичного иммунного ответа, чрезвычайно важно с практической точки зрения. В частности, эти знания должны способствовать повышению эффективности вакцинации.

## **12. Регуляция иммунного ответа**

### ***12.1. Роль антигена в регуляции иммунного ответа***

Ранние факторы, регулирующие иммунный ответ, зависят от дозы, времени и места введения антигена.

Еще в начале XX в. А. Ральский исследовал вопрос: «Как часто можно вводить антиген?». В результате он установил, что если повторно вводить антиген на максимуме или спаде первичного (или предшествующего) иммунного ответа, то будет усиление иммунного реагирования, если на начальных этапах, то произойдет срыв иммунного ответа. Поэтому, чтобы не было иммунного ответа на введение ферментных препаратов или антибиотиков, их следует вводить ежедневно.

Также установлена относительная закономерность «доза–эффект», которая справедлива для каждого отдельно взятого антигена: субпороговые концентрации не вызывают иммунного ответа вовсе, малые дозы индуцируют только Т-клеточный ответ, средние – IgM-ответ, высокие – IgG-ответ, а очень высокие концентрации антигена приводят повторно к неответственности в результате высокодозовой толерантности. Абсолютные значения указанных концентраций следует устанавливать для каждой пары «антиген – организм» индивидуально. Таким образом, если нет иммунного ответа, следует специально устанавливать причину, поскольку доза может быть либо мала, либо велика для данного индивидуума.

Решающая роль в выборе преобладающего типа ответа – гуморального или клеточного – принадлежит поляризации хелперных CD4<sup>+</sup>-клеток типов Th1 и Th2. Такая поляризация определяется дозой и путем поступления антигена, типом АПК, коstimуляторами активации этих клеток, факторами микроокружения, особенно цитокинами. В случае гуморального ответа его развитие в тимусзависимой или тимуснезависимой форме однозначно обуславливается структурой антигена. Основой дивергенции цитотоксического ответа и реакции ГЗТ является происхождение антигенного пептида (из внутриклеточного или внеклеточного антигена) и его презентация на молекулах МНС II и I классов.

## **12.2. Механизмы саморегуляции иммунной системы**

1. Первый, самый важный механизм, заключается в том, что иммунный ответ приводит к элиминации антигена, т. е. уничтожению стимула для активации отвечающих иммунных клеток.

2. Активной формой воздействия на иммунный ответ являются антитела и иммунные комплексы. Рекрутирование клеток для участия в иммунном ответе во многом определяется соотношением антигена и специфичных к нему антител различных изотипов. Инструментом этой формы регуляции служат иммунные комплексы. На начальных этапах в составе иммунных комплексов преобладают антигены, а антитела представлены IgM. При избытке антигена в составе иммунных комплексов содержатся

свободные эпитопы, и ИК выполняет роль иммуногена, причем более эффективно, чем свободный антиген, поскольку они захватываются макрофагами активнее. Усиливающее действие ранних иммунных комплексов обусловлено и наличием в их составе связанного IgM, который способен взаимодействовать с Fc $\mu$ -рецепторами дендритных клеток, макрофагов и лимфоцитов, в основном Т-хелперов, что обуславливает стимулирующий эффект IgM на тимусзависимое антителообразование. Усиливающее действие оказывают также IgA-антитела через Т-хелперы.

Поздние иммунные комплексы, содержащие избыток IgG, а также введение IgG-антител до иммунизации оказывают супрессорное воздействие. Иммунный комплекс антигена с IgG становится мостиком, обеспечивающим перекрестное сшивание Fc-рецептора и BCR на поверхности В-лимфоцита или Fc-рецептора макрофага и BCR. При этом действие IgG-антител специфично только в отношении эпитопа, связавшегося с BCR. Интересно, что в условиях подавления гуморального ответа IgG-антителами происходит нормальное формирование клеток памяти, а также Т-хелперов.

3. В соответствии с концепцией идиотипической сети Н. Ерне, в организме существует равновесие между идиотипами (антигенсвязывающими участками антител) и антиидиотипами (роль которых вначале выполняют антигены). На высоте антителообразования равновесие нарушается, что вызывает ответную реакцию в виде антиидиотипического ответа – формирование антител, специфичных к идиотипу антител первого порядка. В конечном счете в организме устанавливается равновесие двух типов комплементарных субстанций: антигена и антиидиотипа, а также идиотипнесущих антител первого порядка и анти-антиидиотипических антител.

Поскольку антигенсвязывающие участки TCR имеют идиотопы, которые могут перекрестно реагировать с идиотопами антител, Т-клетки тоже вовлекаются в идиотипическую регуляторную сеть. В случае, когда идиотипическая сеть индуцируется гормонами или нервными медиаторами, идиотипическая регуляция «смыкается» с нейроэндокринной и влияет на продукцию не только антител, но и гормонов или медиаторов.

4. Супрессорные клетки вовлекаются в иммунные процессы при реализации некоторых механизмов, описанных выше, включая изотипическую и идиотипическую регуляцию. Очевидно, супрессорная активность Т-клеток возрастает при их стимуляции одновременно через TCR и Fc-рецептор. Основной клеткой-мишенью Т-супрессоров считают Т-хелпер, однако её роль может выполнять и В-лимфоцит.

Помимо Т-супрессоров, индуцируемых в процессе иммунного ответа, постулируется существование вето-клеток, которые подавляют активность аутоспецифических Т- или В-лимфоцитов и препятствуют аутоагрессии. Также описаны неспецифические Т-супрессоры.

Известны многочисленные цитокины (продукты Т-хелперов и в меньшей степени Т-киллеров), которые подавляют некоторые иммунологические процессы. Так, ИЛ-4, отменяя действие ИЛ-2 и  $\gamma$ -интерферона, снижает пролиферацию и дифференцировку многих клеток иммунной системы. Интерфероны, как известно, подавляют пролиферативные процессы и поэтому ингибируют ранние этапы иммунного ответа. Разнообразным подавляющим действием обладает TGF $\beta$ , который может быть и медиатором действия вето-клеток. С этих позиций взаимные ингибирующие влияния субпопуляций CD4<sup>+</sup>-клеток T<sub>H</sub>1 и T<sub>H</sub>2 вполне можно трактовать как супрессорные. Кроме того, известны супрессорные влияния В-лимфоцитов, NK-клеток и макрофагов.

Активированные В-лимфоциты выделяют, в том числе, и цитокины, способные ингибировать иммунные процессы: интерфероны, ИЛ-4, TGF $\beta$  и ИЛ-10. NK-клетки, как известно, способны оказывать цитостатическое действие и на клетки иммунной системы. Также полифункциональный ИЛ-6, выделяемый активированными макрофагами, подавляет продукцию ИЛ-1 и ФНО $\alpha$ , что может проявляться в виде иммуносупрессии. Однако наиболее отчетливо супрессорная функция макрофагов реализуется через синтез простагландина E, который подавляет пролиферацию лимфоцитов, образование цитокинов макрофагами и лимфоцитами, а также цитотоксическое влияние клеток иммунной системы. В целом супрессорные воздействия клеток иммунной системы еще до конца не изучены. Не ясно происхождение и биологическое назначение

неспецифических супрессоров, развивающихся под влиянием тотального облучения лимфоидной ткани высокими дозами радиации.

### **12.3. Регуляция состояния иммунной системы в организме**

Иммунная система, несмотря на свою автономность, находится под контролем нервной и эндокринной систем. Нейросистема определяет сосудистые реакции, кровенаполнение лимфоидных органов, их трофику и увеличение аэрации. Влияние гормонов и медиаторов вегетативной нервной системы реализуется, во-первых, через их связывание со специфическими рецепторами лимфоцитов или макрофагов и, во-вторых, при действии гормонов и нейромедиаторов на клетки стромы органов иммунной системы, особенно тимуса. В этом случае эффект развивается через влияние на развитие или функциональное состояние иммуноцитов.

В целом нервные и эндокринные факторы разделяются на две альтернативные группы. Одни из них оказывают в целом ингибирующее, другие – интегральное стимулирующее действие на иммунную систему и иммунный ответ. К ингибиторам относятся кортизол, адренокортикотропный гормон (АКТГ), адреналин, андрогены, эстрогены и гестагены, а также медиаторы симпатического отдела нервной системы. Стимуляторами являются соматотропный гормон, тироксин и инсулин.

У клеток иммунного ответа имеются рецепторы к нейромедиаторам, а нервные клетки, в свою очередь, секретируют ИЛ-1. Таким образом, нервная система напрямую взаимодействует с иммунной, а также опосредованно – через эндокринную систему.

Гипофиз – в основном железа мозга (нейрогипофиз). Однако его передняя доля (аденогипофиз) секретирует много гормонов, например соматотропный, адренокортикотропный, регулирует надпочечники и, соответственно, продукцию кортикостероидов (глюкокортикоидов) цитостатически и цитолитически.

Гормоны коры надпочечников регулируют перемещение клеток в организме. Кора надпочечников непосредственно влияет на клетки крови и на тимус. Так, гиперфункция коры надпочечников

приводит к угнетению тимуса, а гиперфункция тимуса вызывает угнетение коры надпочечников. При тимэктомии происходит стимуляция коры надпочечников.

Кортикостероидные гормоны угнетают функцию тимуса, подавляют пролиферацию тимоцитов и периферических клеток, вызывают цитолиз и плазмоцитолиз.

Соматотропный гормон – основной стимулятор иммунной системы и тимуса. Он вызывает пролиферацию в периферических лимфоидных органах, усиливает цитолиз тимических факторов и гормонов. При введении синтетического соматотропного гормона возникает атрофия тимуса. При введении антисоматотропной или антигипофизарной сыворотки возникает Вассинг-синдром.

Недостаточность щитовидной железы (снижение продукции тироксина, тиреоидина) приводит к инволюции тимуса. Возрастная инволюция тимуса также связана с недостаточностью щитовидной железы.

У тимоцитов есть рецепторы к половым гормонам. А на эпителиальных клетках тимуса обнаружены рецепторы к андрогенам и прогестерону, которые нейтрализуют действие гормонов коры надпочечников. Гормоны тимуса влияют на синтез половых гормонов. Инсулин и паратиреоидин являются иммуностимуляторами. Это второй уровень регуляции иммунной системы внутри организма.

## **12.4. Генетический контроль иммунного ответа**

Еще в конце 30-х гг. XX в. Я. Коштицкий впервые опубликовал обоснование того, что по силе иммунного ответа кроликов можно разделить на сильно- и слабоотвечающих и что скрещивание животных этих двух линий дает только сильноотвечающие гибриды, в соответствии с законами Менделя. После Второй мировой войны аналогичные результаты были получены на мышах инбредных линий и окончательно сделан вывод о существовании генов иммунного ответа, или Ir-генов (от англ. «Immune response»), наследуемых по доминантному принципу. Кроме того, у инбредных животных нередко наблюдали естественное отсут-



ствие иммунных ответов. Эти «обвалы» в ответе рассматривали как результат дефектов Ir-генов.

Значительно позже было показано, что сила иммунного ответа коррелирует с набором трансплантационных генов. Это связано с работами Снелла, который при пересадках кожных лоскутов у мышей инбредных линий наблюдал два типа иммунного ответа: быстрое отторжение аллотрансплантата в течение двух недель и медленное – через 1,5–2 месяца. Снелл ввел термины «антигены и гены тканевой совместимости», назвав последние системой H-генов (от англ. «Histocompatibility»). H-2-гены – это гены сильного иммунного ответа. Их много, и они образуют главный комплекс гистосовместимости (МНС) у мышей. Помимо этого, у мышей обнаружено около 30 минорных генов, ответственных за медленное отторжение аллотрансплантатов. Однако они практически не изучены. Развитие работ Снелла привело к расшифровке структуры генов главного комплекса гистосовместимости и выявлению антигенпрезентирующей функции их продуктов – МНС II, что пролило свет на причины срывов иммунного ответа у инбредных животных.

Поскольку различные молекулы МНС связывают разные пептиды, Т-клетки, отвечающие на данный белковый антиген, представленный несколькими различными молекулами МНС, будут распознавать разные пептиды. В редких случаях белок не имеет пептидов с подходящим участком для связывания с какими бы то ни было молекулами МНС, экспрессированными на клетках индивидуума. Когда такое случается, организм не может отвечать на антиген. Аналогичный результат получают экспериментально путем введения антисыворотки к трансплантационным антигенам. Дефекты Ir-генов обычны среди мышей инбредных линий, потому что эти животные гомозиготны по всем генам МНС и, таким образом, экспрессируют только один аллельный вариант каждого генетического локуса. Обычно полиморфизм МНС-белков гарантирует их достаточное число в одном организме для того, чтобы свести к нулю вероятность этого типа неответа, что имеет очевидное значение для защиты хозяина.

Не вызывает сомнений существование генетического контроля иммунного ответа, связанного с локусом HLA у человека.

Именно сцеплением генов Ig и HLA обусловлены многие случаи ассоциации разнообразных проявлений иммунопатологии с определенными HLA-гаплотипами. Генетический контроль иммунного ответа также осуществляется через нормальное функционирование генов, кодирующих структуру антител, цитокинов и других важных продуктов клеток иммунной системы.

### **12.5. Влияние внешних факторов на состояние иммунной системы**

Состояние иммунной системы организма зависит и от внешних факторов. Изучение воздействия физико-химических факторов (ультрафиолетового излучения, магнитных и электромагнитных полей) окружающей природной среды на иммунный статус людей является одним из разделов экологической иммунологии. Значение этих исследований существенно возросло в последние десятилетия в связи с аварией на Чернобыльской АЭС и критическим состоянием экологии в промышленно развитых районах (г. Нижний Тагил и пр.). Не вдаваясь в детали этих влияний, которые являются предметом особого обсуждения, отметим, что повышенный уровень радиации, токсических веществ в окружающей человека природной среде приводит к резкому ухудшению состояния его иммунитета, и прежде всего к увеличению заболеваемости инфекционными болезнями.

К внешней регуляции иммунной системы относится и химиотерапия. В целях иммунокоррекции применяют различные экстракты тимуса и гомогенатов костного мозга. Как известно, эпителиальные клетки тимуса секретируют множество гормонов, цитокинов, пептидов. Тимические пептиды оказывают местное действие, отличаются друг от друга молекулярной массой, биологической активностью, спектрами клеток, на которые оказывают воздействие. В нашей стране получен Т-активин (аналог  $\alpha$ -тимозина), который, наряду с тимозином, применяют при раке легких и некоторых лимфолейкозах, добиваясь в ряде случаев положительного эффекта.

Некоторые тимические факторы удалось выделить в практически чистом виде. Это, например, тимопоэтин, который обеспечивает созревание Т-клеток в тимусе и активирует все субпопуляции Т-лимфоцитов; тимический гуморальный фактор (циркулирует в крови), обеспечивающий созревание Т-клеток, вероятно, в костном мозге, селезенке и лимфоузлах. Тимулин применяют как иммуностимулятор при сепсисе, ревматоидном артрите и врожденных Т-клеточных иммунодефицитах. Только он усиливает продукцию IgA, стимулируя Т-хелперы к производству ИЛ-5.

Тимические факторы особенно полезны при верифицированных врожденных дефектах Т-системы. Их также используют при лечении опухолей и аутоиммунных заболеваний. Тимические факторы прямо не действуют на В-лимфоциты, но действуют на NK-клетки. Некоторые тимические факторы синтезируются не только в тимусе. Например, тимопоэтин продуцируется клетками кожи, а его аналоги (с одной аминокислотной заменой) – в селезенке, лимфоузлах и костном мозге. В отличие от тимопоэтина, тисплинин (из селезенки), а также тибурсин и тилимфин не активируют Т-супрессоры. В остальном их активность идентична. В терапии лучше применять более очищенные синтетические аналоги, не имеющие побочной биологической активности.

Из белковой фракции гомогената клеток костного мозга получают миелопид, который стимулирует ПК на пике иммунного ответа. В отличие от препаратов тимуса, препараты из костного мозга хуже очищены и представляют собой нестандартизованную смесь неизвестных белков. За рубежом применяют чистые препараты цитокинов костного мозга, которые действуют в основном на В-звено иммунитета и продукцию антител.

Таким образом, мы рассмотрели основные составляющие специфического иммунного ответа, что поможет студентам заочной формы обучения освоить по учебникам другие разделы курса: механизмы различных форм адаптивного иммунитета, иммунопатологию, филогенез иммунной системы и другие.

## Примерные вопросы к госэкзамену

1. Иммунная система человека. Особенности структурно-функциональной организации. Основная функция иммунной системы, эффекторные механизмы иммунитета.

2. Взаимодействие клеток в иммунном ответе. Основные этапы клеточных взаимодействий. Первичный и вторичный иммунные ответы. Механизмы регуляции иммунитета.

3. Исторический аспект теорий иммунитета. Клонально-селекционная теория Ф. Бернета, объяснение формирования иммунологической толерантности и иммунологической памяти.

4. Онтогенез иммунного ответа у человека. Становление иммунитета в эмбриональном и неонатальном периодах. Причины и механизмы нарушения иммунитета в старости.

## Список сокращений

АГ – антиген

АЗКЦ – антителозависимая клеточная цитотоксичность

АОК – антителообразующие клетки

АПК – антигенпрезентирующие (антигенпредставляющие) клетки

АТ – антитело

БАВ – биологически активное вещество

ВКЭ – высокий кубовидный эпителий

ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа

ГМ-КСФ – колониестимулирующий фактор гранулоцитов и моноцитов

ГНТ – гиперчувствительность немедленного типа

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИДК – интердигитатные клетки

ИЛ – интерлейкин

ИК – иммунный комплекс  
Кл. – клетка  
ЛАК – лимфокинактивированные клетки  
ЛПС – липополисахарид  
МАК – мембранатакующий комплекс  
Мф (МФ) – макрофаг  
НК – натуральные киллеры  
НП – Нобелевская премия  
ПК – плазматические клетки  
ТдТ – терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза  
ТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»  
Тх – Т-хелпер  
ФДК – фолликулярные дендритные клетки  
ФИТЦ – флюоресцентный краситель флюоресцеин  
ФНО – фактор некроза опухолей  
ЦНС – центральная нервная система  
ЦПМ – цитоплазматическая мембрана  
ЦТЛ – цитотоксический Т-лимфоцит  
AgR – антигенраспознающий рецептор  
BCR – антигенраспознающий рецептор В-лимфоцитов  
CD – кластер детерминант (рецептор)  
СРБ – С-реактивный белок  
FcR – рецептор к Fc-фрагменту антител  
МНС – главный комплекс гистосовместимости  
mIg – мембранный иммуноглобулин (рецепторный)  
sIg – поверхностный иммуноглобулин (рецепторный)  
TCR – антигенраспознающий рецепторный комплекс Т-лимфоцитов  
TGF – трансформирующий ростовой фактор

## Основная литература

1. Аронова, Е. А. Иммунитет. Теория, философия, эксперимент: Очерки из истории иммунологии XX века / Е. А. Аронова. – М.: КомКнига, 2006. – 160 с.
2. Галактионов, В. Г. Иммунологический словарь: учеб. пособие для вузов / В. Г. Галактионов. – М.: Академия, 2005. – 154 с.
3. Галактионов, В. Г. Иммунология: учебник / В. Г. Галактионов. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Академия, 2004. – 528 с.
4. Корнева, Е. А. Введение в иммунофизиологию: учеб. пособие / Е. А. Корнева. – СПб.: ЭЛБИ, 2003. – 48 с.
5. Петров, Р. В. Иммунология / Р. В. Петров. – М.: Медицина, 1987. – 416 с.
6. Рабсон, А. Основы медицинской иммунологии / А. Рабсон, А. Ройт, П. Делвз; пер. с англ. – М.: Мир, 2006. – 320 с.
7. Ройт, А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл; пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 592 с.
8. Ройт, А. Основы иммунологии / А. Ройт; пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 328 с.
9. Ульянкина, Т. И. Зарождение иммунологии / Т. И. Ульянкина. – М.: Наука, 1994. – 319 с.
10. Ярилин, А. А. Основы иммунологии / А. А. Ярилин. – М.: Медицина, 1999. – 538 с.
11. Black, J. D. Microbiology: principles and applications / J. D. Black. – New Jersey: Prentice Hall, Inc., 1996. – 790 p.
12. Immunobiology: the immune system in health and disease / C. A. Janeway, Jr. P. Travers. – New York: Current Biology Ltd., Garland Publishing Inc., 1996.
13. Vardaxis, N. J. Immunology for Health Sciences / N. J. Vardaxis. – Singapore: Paul&Co Pubs, 1996. – 218 p.

## Оглавление

Введение.....	3
1. Виды и формы иммунитета.....	6
2. Факторы неспецифической резистентности.....	9
2.1. Нормальная «микрофлора».....	9
2.2. Факторы хозяина.....	9
2.3. Защитные ткани организма – первая линия обороны.....	10
2.4. Клеточные факторы – вторая линия обороны.....	10
2.5. Гуморальные факторы неспецифической резистентности.....	15
2.6. Воспаление как результат сочетанного действия многих защитных факторов.....	22
3. Основные свойства адаптивного иммунного ответа.....	23
4. Функциональная организация иммунной системы.....	29
4.1. Лимфоциты – основные эффекторы иммунного ответа.....	29
4.2. Первичные, или центральные, органы иммунной системы – места созревания лимфоцитов.....	31
4.3. Вторичные, или периферические, органы иммунной системы – места формирования ответа на антиген.....	33
4.4. Циркуляция лимфоцитов.....	36
5. Антигены.....	38
5.1. Определение понятия «антигены».....	38
5.2. Основные свойства антигенов.....	39
5.3. Факторы иммуногенности.....	41
5.4. Носители антигенной специфичности – антигенные детерминанты.....	44
5.5. Уровни антигенной специфичности клеток организма.....	46
5.6. Антигенность как выражение генетических различий между организмами.....	48
6. Клетки и молекулы, представляющие антигены.....	49
6.1. Разнообразие антигенпредставляющих клеток (АПК).....	49
6.2. Белки МНС класса I и генетические основы их разнообразия.....	52
6.3. Белки МНС класса II и генетические основы их разнообразия.....	54
6.4. Доставка и первичное восприятие антигена.....	55
7. Цитокины.....	56
7.1. Интерлейкины.....	58
7.2. Цитотоксины.....	62
7.3. Колонистимулирующие факторы (КСФ).....	62
7.4. Трансформирующий ростовой фактор бета-семейства (TGFβ).....	63
8. Т-клетки и их иммунологическая активность.....	64
8.1. Основные маркеры и методы диагностики Т-лимфоцитов.....	64
8.2. Созревание Т-клеток.....	66
8.3. Антигенная активация Т-лимфоцитов.....	71
8.4. Хелперная активность.....	72
8.5. Цитотоксическая активность.....	74
8.6. Т-клетки памяти.....	75
8.7. Супрессорная активность.....	76
9. В-лимфоциты и их иммунологическая активность.....	77
9.1. Основные маркеры и методы диагностики В-клеток.....	77
9.2. Процесс созревания В-лимфоцитов.....	79
9.3. Антигенная активация В-клеток и их дифференцировка.....	82
9.4. Плазматические клетки.....	83
9.5. В-клетки памяти.....	84

10. Антитела и их иммунологическая активность .....	85
10.1. Общая структура антител и ее вариабельность .....	85
10.2. Функции разных структурных частей молекулы иммуноглобулинов .....	89
10.3. Характеристика антител различных классов .....	91
10.4. Иммунологическая активность антител .....	95
10.5. Генетические основы разнообразия и синтеза антител .....	96
10.6. Получение моноклональных антител .....	98
11. Адаптивный иммунный ответ и его регуляция .....	100
11.1. Первичный и вторичный иммунные ответы .....	100
11.2. Механизмы первичного иммунного ответа .....	101
11.3. Механизмы вторичного иммунного ответа .....	105
12. Регуляция иммунного ответа .....	107
12.1. Роль антигена в регуляции иммунного ответа .....	107
12.2. Механизмы саморегуляции иммунной системы .....	108
12.3. Регуляция состояния иммунной системы в организме .....	111
12.4. Генетический контроль иммунного ответа .....	112
12.5. Влияние внешних факторов на состояние иммунной системы .....	114
Примерные вопросы к госэкзамену .....	116
Список сокращений .....	116
Основная литература .....	118

Учебное издание

**Шеховцова** Нина Валентиновна

## **Основы иммунологии**

*Учебное пособие*

Редактор, корректор М. Э. Левакова  
Верстка Е. Л. Шелехова

Подписано в печать 17.02.10. Формат 60×84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бум. офсетная. Гарнитура "Times New Roman".  
Усл. печ. л. 6,97. Уч.-изд. л. 5,85.  
Тираж 100 экз. Заказ

Оригинал-макет подготовлен  
в редакционно-издательском отделе Ярославского  
государственного университета им. П. Г. Демидова.

Отпечатано на ризографе.  
Ярославский государственный университет  
им. П. Г. Демидова.  
150000, Ярославль, ул. Советская, 14.





**Н. В. Шеховцова**

# Основы иммунологии

