

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

В.В. Климов, Е.Н. Кологривова

ИММУНОЛОГИЯ

Учебное пособие

ТОМСК
Издательство СибГМУ
2018

УДК 612.017.1(075.8)

ББК 53.1я73

К 402

Климов В.В. Иммунология : учебное пособие /
К 402 В. В. Климов, Е. Н. Кологривова. – Томск : Изд-во Сиб-
ГМУ, 2018. – 235 с.

ISBN 978-5-98591-141-1

В пособии обобщены современные сведения о функциональной организации иммунной системы, механизмах естественного и адаптивного иммунитета, иммунорегуляции, иммунологических и молекулярно-биологических методах исследования, представлены основы общей иммунопатологии и клинической иммунологии и аллергологии с характеристикой болезней иммунной системы, принципов их диагностики и лечения.

Анимации представлены на сайте: ssmu.immunology.sibhost.ru

Учебное пособие предназначено для студентов медико-биологического факультета (ФГОС по специальностям 060601.65 – Медицинская биохимия, 060602.65 – Медицинская биофизика, 060609.65 – Медицинская кибернетика).

Рецензенты:

Стахеева М.Н. – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск

Денисов А.А. – доктор медицинских наук, профессор кафедры иммунологии и аллергологии СибГМУ, г. Томск

Утверждено Учебно-методической комиссией МБФ СибГМУ (протокол №3 от 26 сентября 2017 г.).

ISBN 978-5-98591-141-1

© В.В. Климов, Е.Н. Кологривова, 2018

© Издательство СибГМУ, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	5
Введение.....	7
Часть I. ОБЩАЯ ИММУНОЛОГИЯ.....	8
Глава 1. Структура иммунной системы.....	8
1.1. Уровни организации и функции иммунной системы. Антигены и «молекулярные паттерны».....	8
1.2. Молекулы иммунной системы.....	13
1.2.1. Антиген-распознающие молекулы	15
1.2.2. Паттерн-распознающие молекулы.....	19
1.2.3. Клеточные адгезивные молекулы.....	21
1.2.4. Цитокины.....	25
1.2.5. Хемокины	33
1.3. Органы иммунной системы.....	35
1.4. Клетки иммунной системы.....	39
Глава 2. Кожно-мукозальная иммунная система.....	54
Глава 3. Естественный иммунитет	74
3.1. Острофазные белки	74
3.2. Система комплемента	75
3.3. Фагоцитоз.....	78
3.4. НК-клетки и интерфероны	81
3.5. Образование инфламмасом и пироптоз	83
Глава 4. Адаптивный иммунитет.....	85
4.1. Общая характеристика адаптивных иммунных ответов.....	85
4.2. Процессинг антигена.....	88
4.3. Сигналы распознавания.....	89
4.4. Активация лимфоцитарного клона и клональная экспансия.....	94
4.5. Дифференцировка лимфоцитов (завершение прайминга)	96
4.6. Эффекторная активность адаптивных иммунных ответов	99
4.7. Регуляция иммунных ответов	100
4.7.1. Отрицательная обратная связь в иммунорегуляции	101
4.7.2. Идиотип-антиидиотипические взаимодействия.....	101
4.7.3. Натуральные и адаптивные регуляторные клетки.....	102
4.7.4. Печёночная и метаболическая иммунорегуляция.....	105
4.7.5. Нейро-эндокринная иммунорегуляция	111
4.7.6. Генетическая иммунорегуляция	114
4.8. Механизмы поддержания иммунологической толерантности	117
Глава 5. Иммунологические и молекулярно-биологические мето- ды исследования.....	120
5.1. Иммунофлуоресцентный анализ	121
5.2. Проточная цитофлюориметрия.....	121
5.3. Иммуноферментный анализ (ИФА)	124
5.4. Иммуноблоттинг (вестерн-блот)	125

5.5. Радиоиммунологический метод.....	126
5.6. Иммуногистохимическое исследование	126
5.7. Оценка пролиферативной активности лимфоцитов	127
5.8. Тесты на цитотоксичность	130
5.9. Оценка микробицидности фагоцитов	130
5.10. Молекулярно-биологические методы	131
5.11. Общие принципы иммунодиагностики	135
Часть II. ОБЩАЯ ИММУНОПАТОЛОГИЯ	139
Глава 1. Молекулярные аномалии в иммуногеноме как основа первичных иммунодефицитов	140
Глава 2. Типы аллергических реакций и аллергические расстройства.....	148
Глава 3. Механизмы срыва иммунологической толерантности и аутоиммунные расстройства.....	153
Глава 4. Иммунопатогенез опухолевого роста	158
Глава 5. Иммунология инфекционных процессов и основы вакци- нопрофилактики	162
5.1. Иммунология инфекционных процессов.....	162
5.2. Вакцины и основы вакцинации	166
ЧАСТЬ III. КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ И АЛЛЕР- ГОЛОГИЯ	173
Глава 1. Функционирование иммунной системы в онтогенезе.....	173
Глава 2. Иммунодефицитные состояния	176
2.1. Первичные иммунодефициты	176
2.2. Вторичные иммунокомпрометации	178
2.3. ВИЧ-инфекция и СПИД	180
Глава 3. Иммуномодуляторы	185
Глава 4. Аллергические болезни	194
4.1. Аллергены и общие принципы аллергодиагностики	194
4.2. Атопический дерматит	199
4.3. Аллергический ринит.....	201
4.4. Астма	202
4.5. Токсико-аллергические реакции.....	203
4.5.1. Пищевая аллергия.....	203
4.5.2. Лекарственная аллергия.....	204
4.5.3. Инсектная аллергия	208
Глава 5. Медикаментозное лечение аллергий и аллергенспецифи- ческая иммунотерапия (АСИТ)	210
Глава 6. Аутоиммунные болезни.....	222
6.1. Аутоиммунный тиреоидит	222
6.2. Ревматоидный артрит	224
6.3. Сахарный диабет 1-го типа	227
6.4. Рассеянный склероз.....	228
Глава 7. Онкопатология и подходы к иммунотерапии	231
Рекомендуемая литература	234

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЗКЦ	– антителозависимая клеточная цитотоксичность
АСИТ	– аллергенспецифическая иммунотерапия
БАЛТ	– бронхо-ассоциированная лимфоидная ткань
ГАМК	– γ -аминомасляная кислота
ГЗТ	– гиперчувствительность замедленного типа
ГНТ	– гиперчувствительность немедленного типа
ДАЛТ	– дермато-ассоциированная лимфоидная ткань
ДК	– дендритная клетка
ИФА	– иммуноферментный анализ
КАЛТ	– кишечник-ассоциированная лимфоидная ткань
M1, M2	– субпопуляции макрофагов
МАЛТ	– мукозо-ассоциированная лимфоидная ткань
НАЛТ	– нос-ассоциированная лимфоидная ткань
НСТ	– тест восстановления ниросинего тетразолия
ОВИН	– общая переменная иммунологическая недостаточность
РБТЛ	– реакция бласттрансформации лимфоцитов
СРБ	– С-реактивный белок
ТАЛТ	– евстахиева труба-ассоциированная лимфоидная ткань
ТКИД	– тяжёлый комбинированный иммунодефицит
ВАФФ	– В-активационный фактор
BCR	– В-клеточный рецептор для антигена
С	– комплемент
ССL	– СС-хемокин
ССР	– рецептор для СС-хемокина
cDC	– классическая (миелоидная) дендритная клетка
CD	– дифференцировочный маркер клеток иммунной системы
CLA	– маркер Т-клеток памяти в коже
CR	– рецептор к комплементу
CSF	– колониестимулирующий фактор
CTLA-4	– костимуляторная молекула
CXCL	– СХС-хемокин
CXCR	– рецептор к СХС-хемокину
DAF	– регуляторный белок комплемента
DC	– дендритная клетка
DAMP	– эндогенный молекулярный паттерн
DNA	– ДНК
FcR	– рецептор к Fc-фрагменту антитела
GlyCAM-1	– адгезивная молекула-муцин
H1-H4	– рецепторы к гистамину
HLA	– главный комплекс гистосовместимости человека
ICAM	– адгезивная молекула иммуноглобулинового суперсемейства
IFN	– интерферон

IL	– интерлейкин
ILC	– врождённая лимфоидная клетка
ILra	– рецепторный антагонист интерлейкина
KAR	– киллинг-активирующий рецептор
KIR	– киллинг-ингибирующий рецептор
LFA-1	– адгезивная молекула-интегрин
LTB-4	– лейкотриен В4
LVDJC	– последовательность генов иммуноглобулинов
MadCAM-1	– адгезивная молекула-муцин
MCP	– регуляторный белок комплемента
mDC	– миелоидная (классическая) дендритная клетка
MyD88	– компонент сигналинга TLR
NK	– натуральная киллерная клетка
NKT	– натуральная киллерная Т-клетка
nTreg	– натуральная Т-регуляторная клетка
OX40	– костимуляторная молекула
PAF	– фактор активации тромбоцитов
PAMP	– экзогенный патоген-ассоциированный молекулярный паттерн
pDC	– плазмацитоидная дендритная клетка
PGD-2	– простагландин D2
pIgR	– полимерный иммуноглобулиновый рецептор
RNA	– РНК
sIgA	– секреторный иммуноглобулин А
T _{CM}	– центральная Т-клетка памяти
TCR	– Т-клеточный рецептор для антигена
T _{EM}	– эффекторная Т-клетка памяти
Tfh	– фолликулярный Т-хелпер
Tfr	– фолликулярный Т-регулятор
TGF	– трансформирующий ростовой фактор
Th	– Т-хелпер
TLR	– толл-подобный рецептор
TNF	– фактор некроза опухоли
Tr1	– Т-регулятор типа 1
SC	– секреторный компонент
SP-a, SP-D	– сурфактантные белки
VCAM-1	– адгезивная молекула иммуноглобулинового суперсемейства
VLA-4	– адгезивная молекула иммуноглобулинового суперсемейства
VLP	– технология производства субъединичных вакцин Virus-Like Particle

ВВЕДЕНИЕ

Иммунология относится к числу наук о жизни и в последние полвека, наряду с генетикой, молекулярной биологией, вирусологией и биотехнологией, определяет развитие биологии и медицины. Особенно ярко показали себя иммунологические открытия в охране здоровья и профилактике болезней. Достижения в области вакцинации способствовали спасению миллионов жизней и эрадикации некоторых инфекционных болезней, например, натуральной оспы. Постепенно становится понятным, что функционирование иммунной системы во многом определяет многие физиологические процессы в человеческом организме и, соответственно, сбои в работе этой системы лежат в основе большинства болезней человека.

Иммунология подразделяется на общую (фундаментальную) иммунологию, общую иммунопатологию и клиническую иммунологию и аллергологию. Эти ветви одного направления взаимно влияют и обогащают друг друга. Так всегда происходит при слиянии науки и практики. Определяя суть общей иммунологии, можно сказать, что эта область знаний относится к механизмам реализации генетической программы отдельного человека в условиях ежедневного чужеродного окружения. Определяя суть медицинской специальности – клинической иммунологии и аллергологии, можно констатировать, что эта специальность исследует клинические последствия срыва иммунологической толерантности и реактивации оппортунистических микробов человеческого организма.

Предмет «иммунология», который предстоит освоить каждому медицинскому студенту, одновременно сложный и захватывающий. Настоящее руководство написано на основе 30-летнего опыта преподавания предмета медико-биологам и будущим врачам на российском и международном уровнях, обобщения данных современной мировой литературы и вдохновения от научных исследований и практической работы многочисленных выпускников кафедры иммунологии и аллергологии СибГМУ, которые выбрали для своего профессионального жизненного пути именно иммунологию, где бы они не жили и не работали.

ЧАСТЬ I. ОБЩАЯ ИММУНОЛОГИЯ

Глава 1

СТРУКТУРА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

1.1. Уровни организации и функции иммунной системы. Антигены и «молекулярные паттерны»

ИММУНИТЕТ (immunity) – это биологический феномен, заключающийся в долгосрочном самоподдержании баланса между генетически «своим», «не своим» и «изменённым своим» в условиях чужеродного окружения. В настоящее время «чужое» описывается двумя основными понятиями: антиген и «молекулярный паттерн».

Антиген (antigen) – макромолекула, которая содержит информацию о «чужом» и является основой для запуска адаптивных иммунных ответов (в лабораторном аспекте антиген может служить также иммунобиологическим маркёром клеток).

«Молекулярный паттерн» – молекула «чужого» или «изменённого своего», которая инициирует реакции естественного иммунитета, но не оставляет памяти. И антиген, и «паттерн» являются лигандами, которые связываются с соответствующими рецепторами.

ИММУННАЯ СИСТЕМА (immune system) развивает и реализует конкретные механизмы для проявления феномена иммунитета. Иммунная система состоит из органов, клеток и молекул.

АНТИТЕЛО (ИММУНОГЛОБУЛИН), АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ (TCR и BCR) – это молекулы иммунной системы, способные связываться со специфичными по отношению к ним антигенами. **ПАТТЕРН-РАСПОЗНАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ** соединяются с «молекулярными паттернами».

ЛИМФОЦИТЫ являются главными клетками системы. Существуют Т- и В-лимфоциты. Другие клетки (например, макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, врождённые лимфоидные клетки включая НК-клетки, тучные клетки и т. д.) также участвуют во многих иммунных реакциях, но являются в большей степени вспомогательными.

В дальнейшем органы, клетки и молекулы иммунной системы будут рассмотрены на двух уровнях организации и в двух группах механизмов.

Уровни организации иммунной системы:

1. Организменный.
2. Кожно-мукозальный.

Кожно-мукозальный уровень функционирования иммунной системы является относительно автономным.

Группы механизмов функционирования иммунной системы:

1. Естественный иммунитет (факторы неспецифической резистентности).
2. Адаптивный иммунитет (адаптивные иммунные ответы).

ФУНКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Иммунная система имеет стратегическую и тактические функции (по Н.В. Васильеву).

Стратегическая функция – это реализация генетической программы индивидуального развития макроорганизма от рождения до смерти в условиях чужеродного окружения.

Тактические функции:

1. Защита от «не своего».
2. Элиминация (удаление) «изменённого своего».
3. Регуляция роста и дифференцировки клеток и тканей макроорганизма.

Иммунитет подразделяется на естественный (врождённый) и адаптивный (приобретённый).

ЕСТЕСТВЕННЫЙ ИММУНИТЕТ

- Защитные барьеры: кожа (кератинизация), слизистые оболочки (слизеобразование, мерцательный клиренс), экзокринные железы (секретообразование), ЖКТ (расщепление пищеварительными энзимами, перистальтика).
- Микробный антагонизм со стороны естественных микробов тела.
- Инактивация в печени (системе цитохрома P450).

- Цитотоксичность комплемента.
- Фагоцитоз и нетоз.
- Цитотоксичность ИЛС (NK-клетки и др.), NKT-клеток, $\gamma\delta$ T-клеток и цитостаз интерферонами (IFN).
- «Острофазная» реакция белков.
- Связывание естественными антителами.
- Лизис антимикробными пептидами (дефензины, кателицидины).

Адаптивный иммунитет формируется вследствие **иммунных ответов**.

АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ

В-клеточные (гуморальные) ответы:

1. Простой В-клеточный ответ – образование антител класса IgM (нет долговременной памяти).

2. Развёрнутый В-клеточный ответ – образование антител классов: IgM, IgG, IgA, IgE и В-клеток памяти.

Т-клеточные ответы:

1. CD8+Т-клеточный ответ – образование цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов (Т-киллеров) и CD8+ Т-клеток памяти.

2. CD4+Т-клеточный ответ – образование CD4+ Т-клеток эффекторов воспаления (ГЗТ) и CD4+ Т-клеток памяти.

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА АНТИГЕНОВ

Антиген является макромолекулой, содержащей чужеродную или собственную информацию, которая служит основой для запуска специфического иммунного ответа; с другой стороны, антиген может быть иммунобиологическим маркером. Экспертная оценка числа антигенов в окружающем мире – 10^{18} .

Полный антиген способен самостоятельно индуцировать иммунный ответ. Полные антигены представляют собой макромолекулярные субстанции белковой (ММ>10kDa), полисахаридной (ММ > 600 kDa) или фосфолипидной природы. Антигены меньших размеров, гаптены, могут вызывать иммунный ответ только в соединении с белком-носителем. Гаптенами являются короткие пептиды и сахара, липиды, нуклеиновые кислоты и некоторые лекарства (*сложные гаптены*) и радикалы, аминокислоты, моносахара, простые химические вещества (*простые гаптены*) (табл. 1).

Структура и свойства полных антигенов и гаптенов

Тип антигена	Биохимическая структура	Иммуногенность	Преципитация (осаждение) специфическими антителами	Валентность (количество эпитопов)
Полные антигены	Белки, полисахариды (липополисахариды), фосфолипиды	+	+	Поливалентны
Гаптены (неполные антигены):				
сложные	Короткие пептиды и сахара, липиды, нуклеиновые кислоты, некоторые лекарства.	–	+	Дивалентны
простые	Химические радикалы, аминокислоты, моносахара, простые химические вещества	–	–	Моновалентны

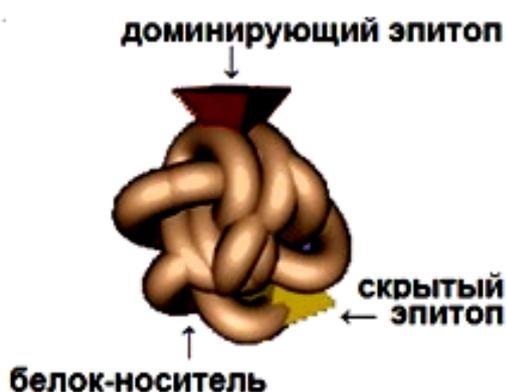


Рис. 1. Структура молекулы антигена

Молекула полного антигена состоит из двух частей: «информационной» (эпитопы или детерминанты) и «несущей» (макромолекулярный белок-носитель) (рис. 1). Последнего нет у гаптенов. Число эпитопов определяет валентность антигена.

Антигены имеют три основных свойства:

1. Лигандность (антигенность)

– это свойство антигена связы-

ваться с комплементарной к нему молекулой-рецептором. Такая молекула может быть свободной (например, иммуноглобулин) или экспрессированной на поверхности клетки (например, TCR или BCR).

2. Специфичность – это свойство антигена быть уникальной молекулой в зависимости от её структуры и конформации, что в ходе иммунных ответов приводит к синтезу такой же специфичной анти-молекулы (например, антитела).

3. Иммуногенность – это свойство антигена индуцировать адаптивный иммунный ответ различной силы.

Антиген может выступать как **иммуноген**, в этом случае он вызывает активный иммунный ответ. Если антиген выступает как **толероген**, он индуцирует «специфическое молчание» – состояние иммунологической толерантности. Адьюванты – это вещества, усиливающие иммуногенность антигенов.

Т-ЗАВИСИМОСТЬ АНТИГЕНОВ

Раньше антигены подразделяли на Т-зависимые и Т-независимые, а среди Т-независимых антигенов выделяли тип 1 и тип 2. В настоящее время Т-независимые антигены 1-го типа отнесены к «молекулярным паттернам». Т-независимые антигены 2-го типа – это антигены с повторяющимися поверхностными эпитопами, например, полисахариды инкапсулированных бактерий.

Большинство природных антигенов является Т-зависимыми, так как они требуют участия Т-хелперов в иммунных ответах, что необходимо для формирования иммунной памяти. Т-зависимые антигены *внутриклеточных патогенов* индуцируют Т-клеточные ответы, а Т-зависимые антигены *внеклеточных* – развёрнутый В-клеточный (гуморальный) ответ.

Аллерген – это антиген, способный вызывать аллергическую реакцию (на основе избыточного, нецелесообразного иммунного ответа). Аллергены являются Т-зависимыми антигенами, чаще белками, но некоторые аллергены представляют собой гаптены.

Любая **вакцина содержит антигены**, введение которых (иммунизация) вызывает формирование долговременной иммунной памяти без перенесения соответствующей инфекционной болезни в последующем. Классически вакцины подразделяются на **живые (аттенуированные или ослабленные)** и **убитые (инактивированные)**. Вариантом убитых вакцин являются анатоксины.

«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПАТТЕРНЫ»

В отличие от антигенов, «паттерны» после внедрения в организм не оставляют иммунологической памяти, а только инициируют реакции врождённого иммунитета.

В таблице 2 представлены четыре типа известных в настоящее время «молекулярных паттернов».

Таблица 2

Структура и свойства «молекулярных паттернов»

<i>Тип «паттерна»</i>	<i>Аббревиатура</i>	<i>Биохимическая характеристика</i>	<i>Роль в иммунных процессах</i>
Патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (Pathogen-Associated Molecular Patterns)	PAMP	Пептидогликан и флагеллин бактерий; липополисахарид (эндотоксин) бактерий; вирусные DNA, dsRNA и ssRNA; неметилированные участки DNA (CpG-мотивы) и др.	Инициация реакций естественного иммунитета и простого В-клеточного адаптивного ответа
Аллерген-ассоциированные молекулярные паттерны (Allergen-Associated Molecular Patterns)	AAMP	Олигомерные компоненты молекул аллергенов	Перекрёстное связывание рецепторов, перекрёстная аллергия
Молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (Damage-Associated Molecular Patterns)	DAMP	Белки теплового шока, свободные ДНК и РНК ядер клеток, пуриновые метаболиты, фрагменты гиалуроновой кислоты и протеинов межклеточного матрикса, белок S100 и др.	Воспаление, аутовоспалительные расстройства
Молекулярные паттерны, ассоциированные с опухолями (Tumor-Associated Molecular Patterns)	TAMP	Низкомолекулярные молекулы в клетках опухолей	Участие в противо- и проопухолевом иммунитете

1.2. Молекулы иммунной системы

Молекулы иммунной системы экспрессируются или секретируются иммунокомпетентными клетками и участвуют во всех процессах, протекающих в иммунной системе. На основе гибридной технологии была разработана система

молекулярных маркёров для клеток иммунной системы – CD (от англ. Cluster of Differentiation) (табл. 3).

Учёные G.J.F. Köhler и С. Milstein получили Нобелевскую премию (1984) за данную разработку, которая стала революционной в иммунологии.

Таблица 3

CD номенклатура

<i>CD-маркёр</i>	<i>Клетки</i>
CD34+	Лимфоидный и миелоидный предшественники
CD3+	Т-клетки
CD4+	Хелперные Т-клетки
CD8+	Цитотоксические Т-клетки
CD19+	В-клетки
CD16 ^{hi} CD56 ^{lo}	НК-клетки
CD68	Макрофаги

^{hi} означает высокую экспрессию, ^{lo} - низкую, w - неокончательный рабочий вариант

ТИПЫ МОЛЕКУЛ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Антигенраспознающие и антигенсвязывающие молекулы (они участвуют в распознавании и загрузке антигена):

свободные IgM, IgG, IgA, IgE, IgD

антигенраспознающие рецепторы В-клеток (BCR)

антигенраспознающие Т-клеточные рецепторы (TCR)

трансфер факторы (свободные фрагменты TCR)

белки гистосовместимости (HLA I/II) и CD1

Паттерн-распознающие молекулы (инициируют реакции врождённого иммунитета):

Toll-подобные рецепторы (TLR)

C-лектиноподобные рецепторы (CLR)

NOD- подобные рецепторы (NLR)

RIG-1-подобные рецепторы (RLR)

AIM-2-подобные рецепторы (ALR)

Клеточные адгезивные молекулы (рецепторы в широком смысле):

суперсемейство иммуноглобулинподобных молекул

интегрины

селектины

муцины (васкулярные адрессины)

суперсемейство рецепторов факторов некроза опухоли

(TNF) – рецепторов апоптоза
 кадхерины
 компоненты экстрацеллюлярного матрикса

Цитокины (гормоны иммунной системы)
 интерлейкины (IL1-IL36)
 колониестимулирующие факторы (CSF)
 интерфероны (IFN)
 факторы некроза опухоли (TNF)
 хемокины (СК)

Медиаторы иммунного воспаления

1.2.1. АНТЕГИНРАСПОЗНАЮЩИЕ И АНТИГЕНПРЕДСТАВЛЯЮЩИЕ МОЛЕКУЛЫ

ИММУНОГЛОБУЛИНЫ

Иммуноглобулины (immunoglobulins) или **антитела (antibodies)** являются эффекторными молекулами В-ответа. Любое антитело – это гликопротеин, состоящий из многих *аминокислотных остатков* (первичная структура). Мономер IgG имеет две идентичные *лёгкие (L)* и две идентичные *тяжёлые (H)* цепи. Они соединены между собой за счёт дисульфидных мостиков (S-S) и

водородных связей (H+...O-), формируя вторичную структуру антитела.

Обе цепи состоят из ряда повторяющихся гомологичных компонентов, которые уложены в глобулы как *иммуноглобулиновые домены* (третичная структура) (рис. 2). Вся молекула имеет окончательную конформацию

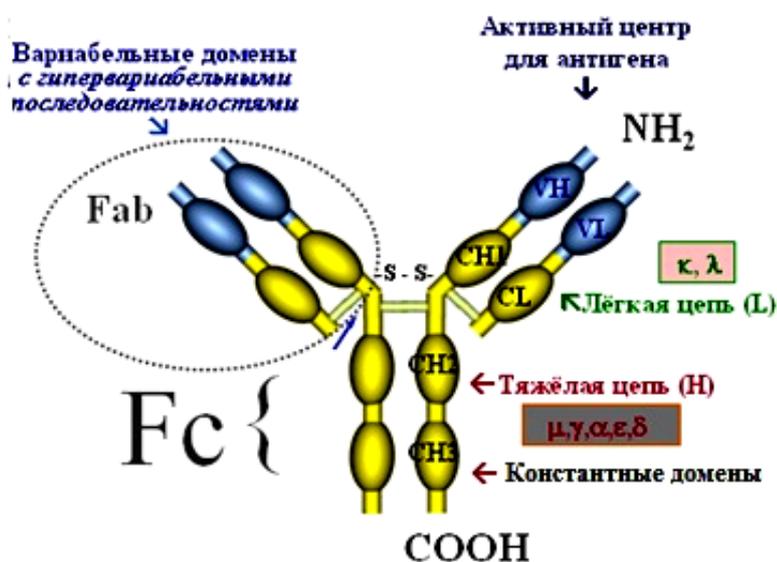


Рис. 2. Структура молекулы иммуноглобулина

функционально активного

комплекса (четвертичная структура).

За расшифровку структуры молекул иммуноглобулинов G.M. Edelman и R.R. Porter получили Нобелевскую премию (1972).

Свойства иммуноглобулинов и их многообразии

- **Аффинность** – это свойство одной молекулы антитела связываться с одной молекулой антигена на основе точного соответствия их взаимной комплементарности.
- **Авидность** – это свойство антитела связываться с антигеном, но основанное не на качественной стороне связи, а на множественности связывающих сайтов.
- **Изотипия** – это многообразие антител внутри отдельного биологического вида. У человека выделяют пять классов (изотипов): **IgM, IgD, IgG, IgA** и **IgE**.
- **Аллотипия** – индивидуальное многообразие антител, которое зависит от наследования различных аллелей.
- **Идиотипия** – клональное многообразие антител.

Иммуноглобулин М

IgM является крупной молекулой-пентамером; синтезируется на ранних стадиях первичного В-ответа. Как правило, IgM имеет низкую аффинность по отношению к антигену. Его присутствие в крови и секретах указывает на свежую инфекцию или реактивацию некоторых вирусов. IgM способен запускать комплемент и опсонизировать бактерии при фагоцитозе. Его сывороточная концентрация у здоровых взрослых составляет 0,6–2,0 г/л. IgM в мономерной форме является частью антигенраспознающего рецептора В-клеток (BCR).

Иммуноглобулин G

IgG представляет собой главный класс антител, который обеспечивает эффективный гуморальный первичный и вторичный ответ и имеет самый большой период полураспада. IgG активирует комплемент и опсонизирует бактерии. Имеется четыре субкласса: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Последний не способен выполнять вышеуказанные функции, но может фиксироваться на тучных клетках и участвовать в аллергических реакциях. IgG составляет 8,0–16,0 г/л в крови взрослых. У детей до 1 года есть некоторые особенности синтеза IgG, заключающиеся в катболизме материнского (плацентарного) IgG к 3–5 месяцам жизни и замедленном синтезе собственного, что характеризуется периодом физиологической гипогаммаглобулинемии в этом возрасте.

Иммуноглобулин А

Существуют сывороточная и секреторная формы IgA. Мономерная сывороточная форма IgA может нейтрализовать различные токсины и метаболиты в кровотоке, а димерная секреторная (sIgA) представляет собой главный класс антител в слюне, слезе, молоке, секретах респираторного, интестинального и урогенитального трактов. У взрослых сывороточный IgA составляет 0,7–3,0 g/l, тогда как концентрация секреторного варьирует в разных жидкостях. Нужно подчеркнуть, что sIgA материнского молока играет важную роль в защите детского организма.

ФУНКЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

1. Распознавание антигена в составе BCR (антиген-связывающего рецептора) на мембране В-клеток.
2. Нейтрализация антигена путём связывания с образованием иммунных комплексов при В-клеточном ответе.
3. Участие в фагоцитозе за счёт опсонизации.
4. Активация комплемента по классическому пути.
5. Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность. (АЗКЦ), например, при отторжении трансплантата.

АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ В-КЛЕТОК (BCR)

Антигенраспознающие рецепторы (B-cellular antigen-recognizing receptor, BCR) состоят из моноформ иммуноглобулинов (IgM, IgD) и служат для распознавания и связывания конкретных антигенов (рис. 3).

Они ассоциированы с изотипспецифическим $Ig\alpha$ (CD79a) и изотипнеспецифическим $Ig\beta$ (CD79b), которые нужны для трансдукции сигнала внутрь клетки и

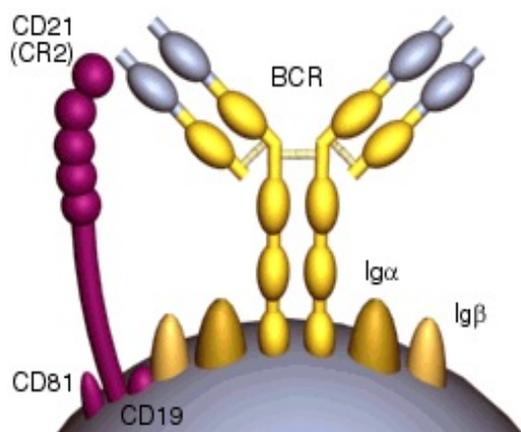


Рис. 3. Структура В-клеточного рецептора (BCR)

реэкспрессии BCR. Также в этой сложной структуре присутствует трехкомпонентный корецепторный комплекс – CD19/CD21/ CD81, распознающий HLA II и антиген.

АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ Т-КЛЕТОК (TCR)

T-cellular antigen-recognizing receptor, TCR (тип $\alpha\beta$), состоит из двух цепей: α и β (рис. 4 и 5). Каждая цепь имеет переменный и константный домены. CD3 является ассоциированной с TCR молекулой и служит для трансдукции сигнала внутрь клетки и реэкспрессии TCR наружу. Молекула CD3 состоит из 5 инвариантных протеинов, которые формируют четыре димера: $\epsilon\delta$, $\epsilon\gamma$, $\xi\xi$ и $\xi\eta$.

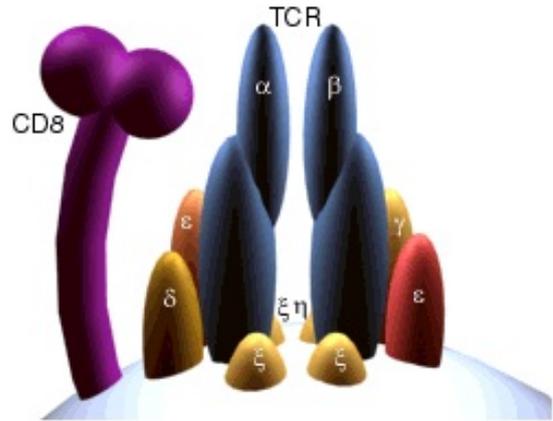


Рис. 5. Структура T-клеточного рецептора (TCR) CD8+

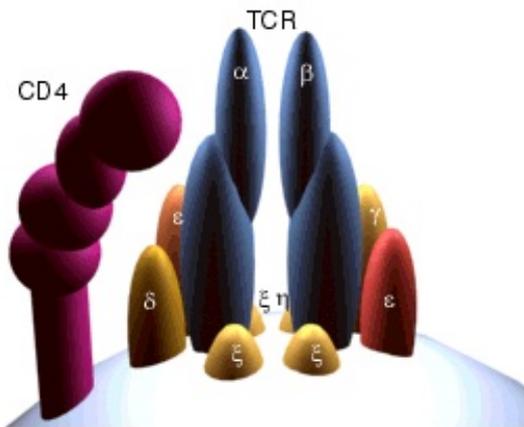


Рис. 4. Структура T-клеточного рецептора (TCR) CD4+

Имеются также корецепторы – инвариантные молекулы CD4 (на Т-хелперах) и CD8 (на цитотоксических Т-клетках). Корецепторы служат для связывания HLA в комплексах антиген/HLA. CD4 участвует для распознавания HLA II, а CD8-HLA I.

ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ЧЕЛОВЕКА (HLA)

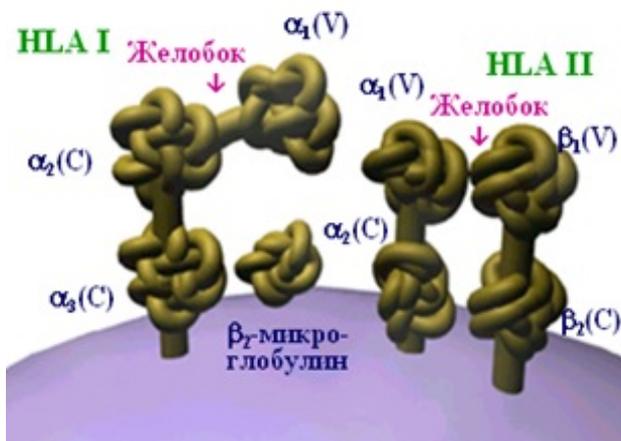


Рис. 6. Структура молекул главного комплекса гистосовместимости (HLA)

HLA – Human Leukocyte Antigens, белки гистосовместимости человека (рис. 6). Молекулы HLA I класса состоят из двух цепей: α -цепи (три домена) и β_2 -микроглобулина. Молекулы HLA II класса тоже состоят из двух цепей: α -цепи (два домена) и β -цепи (два домена). Первые домены являются вариантными, а последующие – константными.

Гены HLA располагаются на 6-й хромосоме.

Специализированные белки шапероны, ответственные за конформацию белковых молекул, служат для правильной укладки цепей молекул HLA с их желобками и очень важны при процессинге (внутриклеточной обработке) и загрузке антигена на HLA. Шаперонами для HLA I являются кальнексин, кальретикулин, тапазин и др., для HLA II – Ii-цепь, HLA DP, HLA DQ.

За открытие молекул HLA В. Benacerraf, J. Dausset и G.D. Snell получили Нобелевскую премию (1980).

ФУНКЦИИ HLA

1. Клетки информируют друг друга по HLA I о своей аутологичности в пределах одного организма.
2. За счёт HLA I обеспечивается поверхностный полиморфизм.
3. HLA I и II необходимы для загрузки антигена на желобки в антигенпредставляющих клетках и представляются лимфоцитам как компонент «своего», что является условием «двойного распознавания».
4. Молекулы HLA контролируют силу иммунных ответов.

1.2.2. ПАТТЕРН-РАСПОЗНАЮЩИЕ МОЛЕКУЛЫ

Toll-подобные рецепторы (Toll-Like Receptors, TLR) экспрессируются как на мембранах клеток, так и в эндосомах. Термин «toll» происходит от дрозофилы, сходство с усиками которой TLR демонстрируют. TLR содержат несколько повторяющихся богатых лейцином доменов (LRR) и домен TIR (Toll/Interleukin1 Receptor), связанный с сигнальными молекулами MyD88, TRIF и др. (рис. 7). После взаимодействия с лигандами (PAMP, DAMP и даже антигены) (табл. 4), большинство TLR через сигналинг активируют образование инфламмосом и запускают пироптоз (глава 3). Поскольку TLR могут включать адаптивные ответы, они являются «мостиком» между естественным и адаптивным иммунитетом.

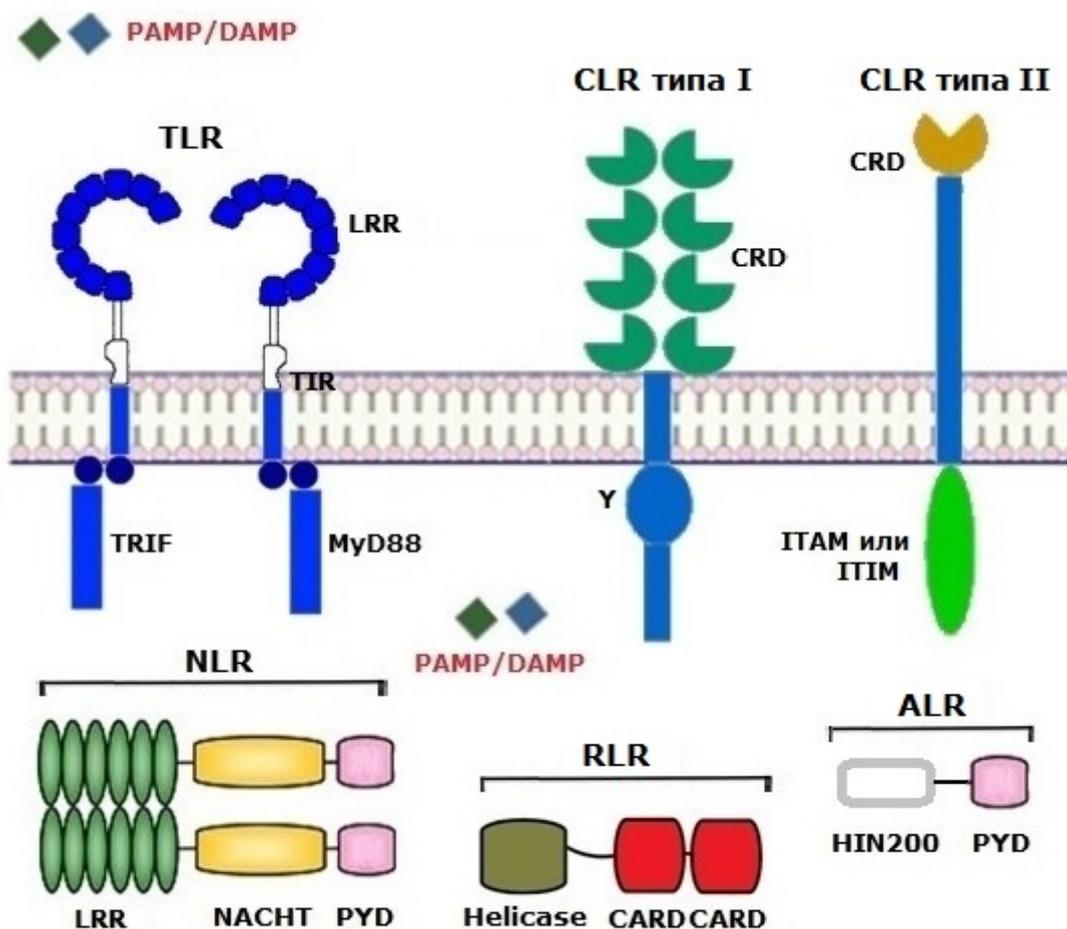


Рис. 7. Паттерн-распознающие рецепторы

Таблица 4

TLR и их лиганды («паттерны»)

<i>TLR</i>	<i>Лиганды (PAMP и DAMP)</i>
TLR1	Липопротеин <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , DAMP
TLR2	Диацил и триацил-липопептиды грамположительных бактерий, липотейхоиевая кислота, пептидогликан, зимозан, DAMP
TLR3	Вирусная dsRNA
TLR4	Липополисахарид (эндотоксин) грамположительных бактерий, DAMP
TLR5	Флагеллин бактерий
TLR6	Диацил-липопептиды грамположительных бактерий
TLR7	Вирусная ssRNA
TLR8	Вирусная ssRNA
TLR9	Неметилированные CpG-мотивы бактериальной DNA
TLR10	Не известно

C-лектиноподобные рецепторы (C-type Lectin Receptors, CLR) способны к распознаванию маннозы, фукозы, галактозы, глюканов и пептидов в структуре PAMP, DAMP, AAMP и даже антигенов. Также как и TLR они экспрессируются на поверхности клеток и через сигналинг запускают реакции естественного и адаптивного иммунитета. Структура CLR гетерогенна (два типа), они содержат один или несколько углеводов-распознающих домена (Carbohydrate Recognition Domains, CRD), цитоплазматические хвосты, имеющие либо ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif), либо ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activating motif), либо другой тип мотива как отправной точки сигналинга. CLR играют роль в противогрибковом, антимикробактериальном, противоопухолевом иммунитете, аллергии и в поддержании тканевого гомеостаза. Растворимые формы CLR относятся к «острофазным белкам», о которых будет рассказано в главе 3.

NOD-подобные рецепторы (NOD-Like Receptors, NLR) локализуются в цитозоли. Отличительной чертой структуры NLR является наличие нескольких повторяющихся богатых лейцином доменов (LRR), как у TLR, центрального домена NACHT и эффекторного домена типа домена PYD, важного для процесса пироптоза. В целом NLR, наряду с TLR, играют большую роль в образовании инфламмасом и процессе воспаления (глава 3).

RIG-1-подобные рецепторы (RIG-1-Like Receptors, RLR) располагаются в цитоплазме и содержат домен РНК хеликазы и два домена CARD (Caspase Activation and Recruitment Domains). Инфламмасомы на основе RLR способствуют секреции интерферонов типа I ($IFN\alpha$, $IFN\beta$).

AIM-2-подобные рецепторы (AIM-2-Like Receptors, ALR) локализуются в цитоплазме и ядре клеток. Наличие в структуре ALR домена PYD обуславливает их участие в пироптозе. Инфламмасомы на основе ALR стимулируют секрецию провоспалительных цитокинов и интерферонов типа I.

1.2.3. КЛЕТОЧНЫЕ АДГЕЗИВНЫЕ МОЛЕКУЛЫ

Адгезивные молекулы (adhesion molecules) являются поверхностными субстанциями (рецепторами), которые вовлечены в межклеточные и клеточно-молекулярные взаимодействия. Они обеспечивают первый способ такого взаимодействия; второй способ реализуется растворимыми

факторами (цитокинами), которые действуют и при непосредственном контакте, и на расстоянии. Существует семь основных семейств адгезивных молекул:

1. Суперсемейство иммуноглобулинподобных молекул
2. Интегрины
3. Селектины
4. Муциноподобные молекулы (мукозальные васкулярные адрессины)
5. Суперсемейство рецепторов TNF
6. Суперсемейство кадхеринов
7. Компоненты экстрацеллюлярного матрикса

СУПЕРСЕМЕЙСТВО ИММУНОГЛОБУЛИНОПОДОБНЫХ МОЛЕКУЛ

Это суперсемейство (immunoglobulin superfamily) включает около 100 членов: TCR, BCR, иммуно-глобулины, цитокиновые и Fc-рецепторы, HLA, CD2, CD3, CD4, CD8, CTLA-4, B7-1, B7-2, ICAM-1-ICAM-3, VCAM-1, PECAM-1 и др. Они характеризуются

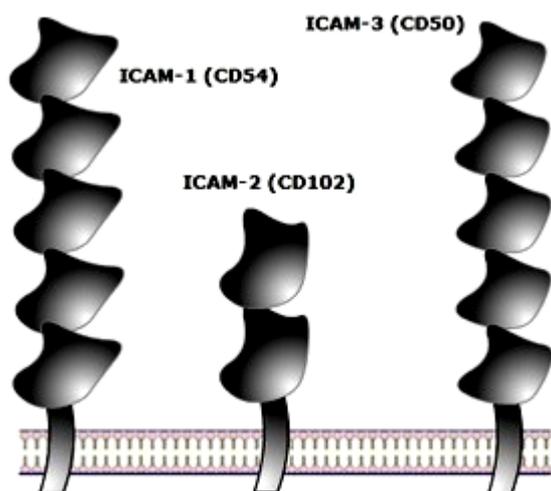


Рис. 8. Суперсемейство иммуноглобулиноподобных молекул

наличием доменной укладки, стабилизированной S-S мостиками (рис. 8). Такая структура обеспечивает резистентность к протеазам в условиях чужеродного окружения. Лигандами для них являются антигены, другие члены семейства, интегрины, комплемент и др.

Важную роль в удержании тесного контакта клеток в процессе распознавания играют адгезивные молекулы группы ICAM (Intercellular Adhesion Molecules): ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3. Молекула PECAM-1 важна в обеспечении 3-й фазы трансмиграции лейкоцитов через эндотелий сосудов.

ИНТЕГРИНЫ

Интегрины (integrins) – гликопротеины, состоящие из двух субъединиц: α и β . β -цепь у разных интегринов отличается некоторой инвариантностью в отличие от α -цепи и служит основой для выделения подсемейств интегринов:

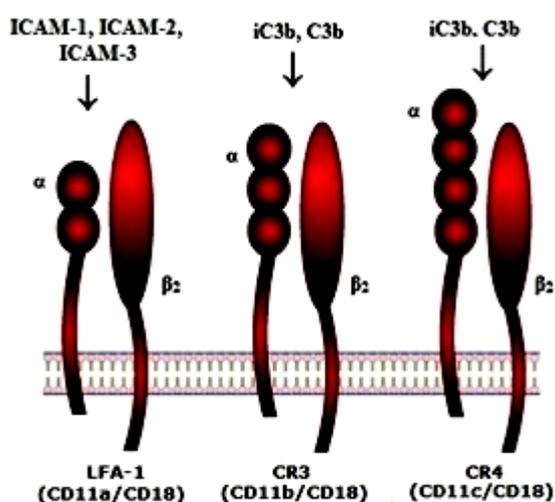


Рис. 9. Интегрины

β 1-интегрины (VLA-протеины), β 2-интегрины (лейкамы) и β 3-интегрины (цитoadгезины) и т. д. (рис. 9). В настоящее время открыто 15 α -цепей и 8 β -цепей. Важной особенностью всех интегринов является способность обеспечивать двустороннюю проводимость сигналов между экстрацеллюлярным комплексом и цитоскелетом.

LFA-1 (CD11a/CD18)($\alpha_1\beta_2$), CD11b/CD18 ($\alpha_M\beta_2$) и CD11c/CD18 ($\alpha_X\beta_2$) играют важную роль в обеспечении тесного контакта клеток при распознавании, за счёт связываний с молекулами группы ICAM, во 2-й фазе трансмиграции лейкоцитов через эндотелий сосудов, а также выполняют функцию рецепторов комплемента. VLA-4 (Very Late Activation Antigen-4) ($\alpha_4\beta_1$) имеет значение для позднего проникновения активированных Т-клеток в эффекторные зоны адаптивного ответа. Лигандами для них являются иммуноглобулинподобные молекулы, различные сывороточные белки и др.

СЕЛЕКТИНЫ

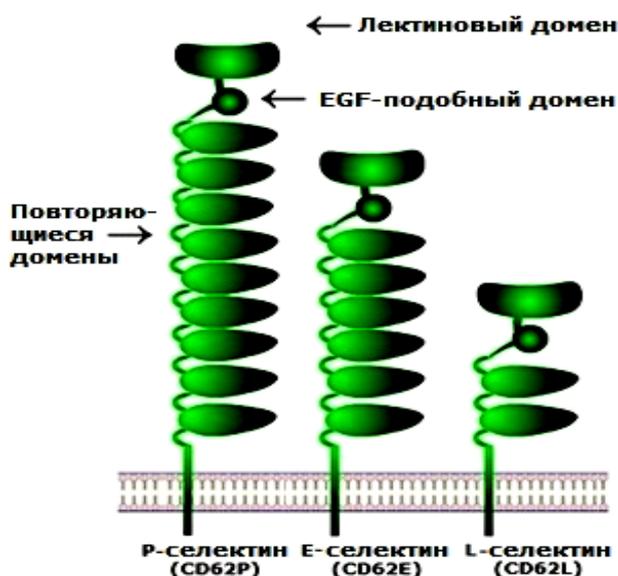


Рис. 10. Молекулы селектинов

Молекулы селектинов (selectins) состоят из нескольких доменов, трансмембранной области и цитоплазматического хвоста (рис. 10).

Семейство представлено Р-(тромбоцитарным), Е-(эндотелиальным) и L-(лейкоцитарным) селектинами (CD62). Они отличаются по числу повторяющихся доменов и по экспрессии. С помощью лектиноподобного домена селектины связываются с сахарами на своих лигандах –

муцинах (васкулярных адрес-синах), что важно для 1-й фазы трансмиграции лейкоцитов через эндотелий сосудов.

МУЦИНОПОДОБНЫЕ МОЛЕКУЛЫ (МУКОЗАЛЬНЫЕ ВАСКУЛЯРНЫЕ АДРЕССИНЫ)

Молекулы муцинов или васкулярных адрессинов (vascular addressins), *лигандов* для селектинов, являются углеводы с гетерогенной структурой. Муцины имеют общую особенность – присутствие сиалила Lewis, ассоциированного с протеином. К муцинам относятся CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1 и др. Наряду с хемокинами, молекулы муцинов играют большую роль в хоминге клеток.

СУПЕРСЕМЕЙСТВО РЕЦЕПТОРОВ TNF

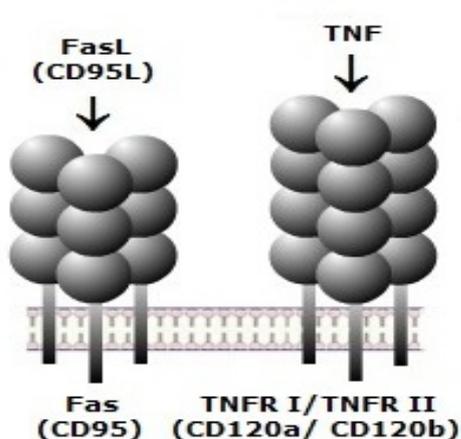


Рис. 11. Суперсемейство TNF молекул

Рецепторы суперсемейства TNF (Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily) вовлечены в процесс регуляции апоптоза. Апоптоз играет решающую роль не только в эффекторных реакциях, но и при дифференцировке клеток. Молекулы семейства имеют структурную гомологию и представлены Fas (CD95), TNF-рецепторами I/II (CD120a/b), CD27, CD30, CD40, CD40L, CD257 и др. (рис. 11). Это семейство постоянно пополняется в

результате исследований по апоптозу.

СУПЕРСЕМЕЙСТВО КАДХЕРИНОВ

Кадхерины представляют суперсемейство из около 100 белков, которые связывают клетки разных тканей в одно целое. Выделяют классические (Е-кадхерин, N-кадхерин, Р-кадхерин), десмосомальные, негруппируемые кадхерины и протокадхерины (рис. 12).

Каждый кадхерин имеет

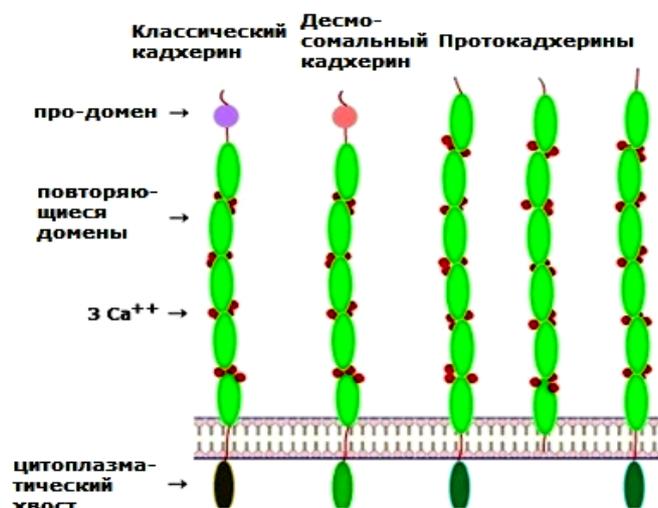


Рис. 12. Кадхерины

Ca⁺⁺-зависимый экстрацеллюлярный домен, трансмембранный компонент и цитоплазматический хвост, ассоциированный с адаптерными и сигнальными белками. Кадхерины имеют значение и в патологии. Например, потеря E-кадхерина способствует метастазированию опухоли, а утрата десмосомальных кадхеринов приводит к развитию вульгарной пузырчатки.

КОМПОНЕНТЫ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА

Фибриллярные белки экстрацеллюлярного матрикса вместе с гликозаминогликанами иногда объединяют в Link Family.

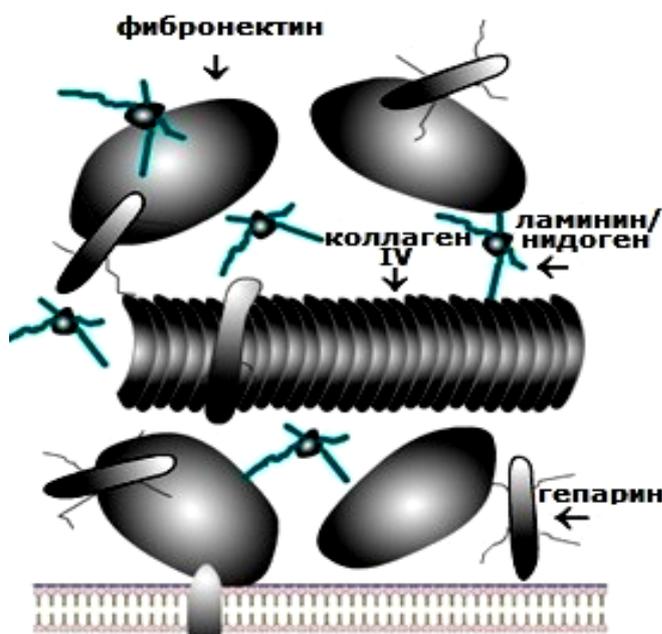


Рис. 13. Экстрацеллюлярный матрикс

Они являются средой, посредством которой клетки «общаются» между собой. Эти молекулы тесно ассоциированы с интегринами, которые служат для них трансдукторами. В семейство входят CD44, коллагены, фибронектин, комплекс ламинина-нидогена, фибриноген и др. (рис. 13). Лигандами для них являются другие молекулы этого семейства, но возможна и гомофильная рецепция.

1.2.4. ЦИТОКИНЫ

Цитокины (cytokines) – небольшие секретируемые белки с молекулярной массой 15–40 кДа. Они оказывают в гормональных концентрациях через высокоаффинные рецепторы воздействие на клетки иммунной системы, а также стенки сосудов, печень, ЦНС. Цитокины могут также связываться с аутоантителами, инактивироваться при соединении со свободными рецепторами к ним, а также белками-носителями (продуцируемыми, в том числе и патогенами).

Исторически оформившиеся группы цитокинов:

1. Интерлейкины (ILs).
2. Колонистимулирующие факторы (CSFs).
3. Интерфероны (IFNs).
4. Факторы некроза опухолей (TNFs).
5. Хемокины.
6. Другие.

В зависимости от гомологии последовательностей выделяют несколько семейств цитокинов (табл. 5).

Таблица 5

Семейства цитокинов в зависимости от гомологических последовательностей

<i>Семейство</i>	<i>Члены</i>
4- α -спиральное семейство: - IL2-подсемейство - IL10- подсемейство - Интерферон (IFN)-подсемейство	IL2, IL4, IL7, IL9, IL13, IL15, IL21 IL10, IL19, IL20, IL22, IL24, IL26 IFN α , IFN β , IFN γ , IL28, IL29
IL1-семейство IL6-семейство IL12-семейство IL17-семейство	IL1 β , IL1 α , IL1 α , IL18, IL33, IL36 IL6, IL11, IL31 и др. IL12, IL23, IL27 (IL30), IL35 IL17A, IL17B, IL17C, IL17D, IL17E (IL25), IL17F
CXCL- семейство хемокинов TGF β -суперсемейство CSF-семейство	IL8 TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3 и др. IL3, IL5, IL34, GM-CSF, G-CSF, M-CSF
TNF-суперсемейство Не относятся ни к одному семейству	TNF α , TNF β , BAFF IL14, IL16, IL32

Характерные особенности цитокинов:

1. Плейотропность и многофункциональность.
2. Аутокринный и паракринный (более часто) или эндокринный (реже) способы действия в общей цитокиновой сети.
3. Синергизм или антагонизм (некоторые из них вовлечены в профили Th1 и Th2).
4. Провоспалительный или противовоспалительный эффекты.
5. Наличие аллельных вариантов, а также изоформ, синтезируемых за счёт альтернативного сплайсинга, которые, возможно, имеют патогенетическое значение.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРОФИЛИ ЦИТОКИНОВ

Провоспалительный и иммуностимулирующий профиль:

IL1 α , IL β , IL6, IL8, IL12, IL17, IL18, IFN γ , TNF α , TNF β , GM-CSF и другие.

Противовоспалительный и иммуносупрессивный профиль:

IL1ra, IL10, TGF β , IL35, IFN α , IFN β .

Ростовые факторы:

IL3, IL5, IL7, IL11, IL34, GM-CSF, G-CSF, M-CSF (гемопоез);

IL2, IL7, IL9, IL12, IL15, IFN γ , TNF α , TNF β (Т-прайминг);

IL2, IL5, IL6, IL10, IL13, IL14, IL21, IFN γ , TNF α , TNF β (В-прайминг).

Хемотаксические факторы: все хемокины.

Ключевые цитокины – цитокины, которые выделяются своим уникальным значением в каких-либо процессах.

Такие цитокины как IL2, IFN γ и TNF α/β играют самую важную роль в иммунных ответах и активации клеток. Каждая субпопуляция Т-хелперов также характеризуется ключевыми цитокинами (Th1 – IFN γ , Th2 – IL4 и т. д.).

IL1 β , растворимая форма IL1, продуцируется многими клетками, может действовать на системном уровне как эндогенный пироген, «острофазный белок» воспаления с сильным провоспалительным потенциалом. IL1 способен секретироваться макрофагами в ответ на «паттерны», приводя к инфекционно-токсическому шоку.

IL α , мембранная форма IL1, синтезируется многими клетками, имеет такие же свойства, что и IL1 β . Важен для поддержания кожного барьера.

IL1ra (IL1 Receptor Antagonist) конкурирует с IL1 за рецептор к IL1, что приводит к ингибированию активности IL1. Таким образом, он проявляет противовоспалительный эффект.

IL2 секретировается Т-клетками, обладает важным свойством ростового фактора для Т- и В-клеток при клональной экспансии в ходе адаптивных ответов, а также НК-клеток как представителей естественного иммунитета.

IL3, «мультиколониестимулирующий фактор», имеет значение на ранних стадиях лейкопоеза.

IL4 продуцируется Th2, тучными клетками и В-клетками. Это ключевой цитокин Th2 и контролируемого этой субпопуляцией хелперов синтеза IgE. Вместе с IL21, IL4 играет роль в регуляции продукции антител при развёрнутом В-клеточном ответе.

IL5 относится к цитокинам профиля Th2, стимулирует генерацию эозинофилов, их созревание и активацию. Исторически IL5 был открыт как E-CSF (Eosinophil Colony-Stimulating Factor).

IL6 продуцируется многими клетками, относится к профилю Th2. Подобно IL1, IL6 может действовать на системном уровне как мощный провоспалительный цитокин, участвовать в «острофазной реакции» и поддержании гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). IL6 способен высвобождаться макрофагами в ответ на «паттерны», приводя к инфекционно-токсическому шоку.

IL7 является гемопоэтическим ростовым фактором, секретруется стромальными клетками в костном мозге. IL7 стимулирует дифференцировку стволовых клеток в лимфоидные предшественники, важные для Т- и В-лимфопоэза. У мышей с генетическим нокаутом IL7 развивается тяжёлый комбинированный иммунодефицит (ТКИД).

IL8 (CXCL8) относится к хемокинам, ответственным за миграцию нейтрофилов к очагам воспаления, активацию фагоцитоза, включая «респираторный взрыв». Также IL8 стимулирует ангиогенез.

IL9 секретруется Th9, может активировать тучные клетки, эозинофилы, эпителиоциты и индуцировать воспаление.

IL10 является одним из ключевых противовоспалительных и иммуносупрессивных цитокинов, хотя и относится к профилю Th2. IL10 также секретруется nTreg, тучными клетками и В-клетками. Ингибирует активность Th1, экспрессию HLA и костимуляторных молекул, требующихся для адаптивных ответов.

IL11 является многофункциональным цитокином, секретруемым стромальными клетками. Имеет значение для гемопоэза, включая тромбоцитопоэз. Вероятно, IL11 является регулятором имплантации зиготы и образования плаценты при беременности.

IL12 продуцируется антигенпредставляющими клетками и NK-клетками. Играет большую роль в генерации Th1 в ходе Т-клеточных ответов. IL12 стимулирует активность цитотоксических CD8+Т клеток и NK-клеток в ансамбле с IFN γ и TNF α , продуцируемых этими клетками. IL12 относится к провоспалительным цитокинам.

IL13 является цитокином профиля Th2, «партнёром» IL4. IL13 стимулирует атопическое аллергическое воспаление даже в большей степени, чем IL4. Однако, IL13 может индуцировать синтез матричных металлопротеиназ в дыхательных путях, защищая лёгкие от чрезмерного воспаления и наступления асфиксии.

IL14 продуцируется Т-клетками, ингибирует синтез антител, но способствует поддержанию В-клеток памяти.

IL15 – цитокин, структурно подобный IL2. Является его «партнёром» как ростовой фактор для Т-, В-клеток и NK-клеток и их активатор.

IL16 продуцируется многими клетками, характеризуется плейотропизмом, в частности стимулирует миграцию CD4+ Т-клеток.

IL17 является ключевым цитокином Th17, а также продуцируется некоторыми CD4+Т-клетками под влиянием IL23. IL17 относится к провоспалительным цитокинам, вовлечённым в хроническое воспаление с участием нейтрофилов и других клеток и в аутоиммунные расстройства. Действует в синергизме с TNF α , TNF β , IL1 и IL6. Существует целое семейство IL17: IL17A, IL17B, IL17C, IL17D, IL17E (IL25) и IL17F.

IL18 секретируется макрофагами и другими клетками, стимулирует продукцию IFN γ , активируя сами макрофаги и Т-клеточные ответы в синергизме с IL12.

IL19 высвобождается покоящимися моноцитами и В-клетками, которые стимулируются ими аутокринным способом.

IL20 секретируется кератиноцитами и моноцитами, играет роль в функциях эпидермиса и патогенезе псориаза.

IL21 является ключевым цитокином фолликулярных Т-хелперов (Tfh). IL21 очень важен для развёрнутого В-клеточного

ответа, в частности для клональной экспансии В-клеток, переключения антител, образования В-клеток памяти. Однако IL21 секретируется клетками ходжкинской лимфомы. С другой стороны, лечение IL21 проходит клинические испытания для лечения метастатической меланомы, рака почек и ВИЧ.

IL22 продуцируется дендритными клетками, Th17, Th22 и спленоцитами. IL22 является ключевым цитокином Th22, но проявляет амбивалентные свойства как противовоспалительного, так и провоспалительного цитокина. IL22 важен для защиты кожи и слизистых и выживания гепатоцитов.

IL23, провоспалительный цитокин, стимулирует генерацию Th17.

IL24 секретируется моноцитами и макрофагами, играет роль в заживлении ран и противоопухолевом иммунитете в коже, лёгких и урогенитальном тракте.

IL25 – это IL17E.

IL26 продуцируется Th17, проявляет антибактериальные и аутоиммунные свойства и может стимулировать секрецию IFN α и IFN β плазмацитоидными дендритными клетками при костимуляции со стороны TLR.

IL27 высвобождается антигенпредставляющими клетками как регулятор Т- и В-клеток.

IL28 является цитокином-адьювантом, используемым в производстве противовирусных вакцин, поскольку он модулирует активность цитотоксических CD8⁺Тклеток и продукцию IFN γ .

IL29 играет роль в защите против вирусов аналогично IL28.

IL30 – это IL27.

IL31 продуцируется CD4⁺Т-клетками, играет роль в каждом воспалении.

IL32 относится к провоспалительным цитокинам, индуцирует продукцию IL6, IL8 (CXCL8), TNF α , CXCL2 и генерацию и дифференцировку остеокластов.

IL33 продуцируется многими клетками, относится к профилю Th2 и 2-й группы ILC. Играет роль при atopических болезнях

(бронхиальная астма, аллергический ринит, атопический дерматит).

IL34 секретируется в селезёнке и многих других органах. Вероятно, IL34 вовлечён в монопоэз и активность моноцитов. Близок к M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor).

IL35 является одним из ключевых противовоспалительных и иммуносупрессивных цитокинов (наряду с IL10).

IL36 регулирует CD4+Т-клетки в коже, стимулируя высвобождение ими IL2.

GM (granulocyte/monocyte)-CSF и **G (granulocyte)-CSF** секретируются CD4+Т-клетками, моноцитами, макрофагами и эндотелиальными клетками как факторы, стимулирующие лейкопоэз моноцитов-гранулоцитов или гранулоцитов соответственно. GM-CSF имеет также провоспалительную активность.

M (monocyte)-CSF, высвобождаемый моноцитами, макрофагами и эндотелиальными клетками, является лейкопоэтическим фактором для моноцитов.

Как лейкопоэтины CSFs действуют в синергизме с IL3, IL5 и IL34.

Интерферон типа II или **IFN γ** , *гомодимер из 143 аминокислот*, высвобождается CD4+ Т-клетками (Т-индукторами и Th1), CD8+Т-клетками и активированными NK-клетками. IFN γ играет роль почти на всех стадиях иммунного ответа и воспаления, в частности:

- 1) экспрессия HLA I/II;
- 2) дифференцировка Th1 (ключевой в профиле Th1);
- 3) дифференцировка В- клеток (продукция антител);
- 4) активация цитотоксических CD8+Т-клеток, NK-клеток, макрофагов и нейтрофилов;
- 5) противовирусная, антипролиферативная активность (слабее, чем у IFNs типа I);
- 6) провоспалительный эффект.

ФАКТОР НЕКРОЗА ОПУХОЛИ

Фактор некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF) представлен, по крайней мере, в двух функционально сходных формах: α и β . TNF α (кахектин), *тример из 157 аминокислот*, секретируется моноцитами, макрофагами и другими клетками, а TNF β (лимфотоксин), *тример из 177 аминокислот*, высвобождается Т- и В-лимфоцитами.

Хотя название этих цитокинов происходит из ранней экспериментальной работы по лизису опухолевых клеток, TNF α/β способны регулировать многие иммунные процессы и опосредовать апоптоз.

Локальное высвобождение TNFs стимулирует клеточную миграцию, фагоцитоз, продукцию провоспалительных цитокинов, экспрессию HLA I/II, дифференцировку Th1.

Системное высвобождение TNFs, аналогично IL1, приводит к лихорадке, тяжёлой потере веса, гипотонии и шоку. Это происходит при избыточной активации Toll-подобных рецепторов (TLR).

Трансформирующий ростовой фактор- β (TGF β) является многофункциональным цитокином, который секретируется лимфоцитами и моноцитами и оказывает влияние на клетки иммунной системы как ключевой ингибирующий фактор. Он подавляет пролиферацию Т- и В-клеток и функционирование моноцитов и гранулоцитов. Некоторые иммунорегуляторные Т-клетки (nTreg, iTreg, Th3) характеризуются высоким уровнем секреции TGF β . Наконец, TGF β представляет большой интерес как потенциальный иммуносупрессивный фактор в терапии.

Фактор активации и дифференцировки В-клеток (BAFF) продуцируется многими клетками и действует на В-лимфоциты, является альтернативным регулятором синтеза IgA. Мембранная форма BAFF – CD257.

РЕЦЕТОРЫ ЦИТОКИНОВ

Рецепторы разделяются на несколько семейств на основе их структуры и функциональной активности. Все рецепторы являются клеточными адгезивными молекулами, повторяя классификацию последних: суперсемейство иммуноглобулин-подобных молекул, суперсемейство TNF и другие. Тип I цитокиновых рецепторов характеризуется определёнными консервативными мотивами в экстрацеллюлярном домене и взаимодействует с некоторыми

интерлейкинами и CSF. Тип II цитокиновых рецепторов имеет сложную многомерную структуру в составе гетерогенных субъединиц и взаимодействует с некоторыми интерлейкинами и интерферонами. Оба типа рецепторов используют для сигнальной трансдукции тирозинкиназы семейства JAK.

Рецепторы из суперсемейства TNF характеризуются наличием домена, обогащённого цистеином и стабилизированного бисульфидными мостиками. Некоторые рецепторы связаны с прокаспазами через адаптерные белки, которые могут расщеплять другие неактивные прокаспазы и включать процесс апоптоза клетки-мишени.

Рецепторы для TGF β полиморфны, могут быть гомо- и гетеродимерными. Они используют для сигнальной трансдукции метаболический путь, зависящий от серин/треонин киназ.

1.2.5. ХЕМОКИНЫ

Хемокины играют важную роль в координации движения Т-, В- дендритных и других клеток при их дифференцировке, участии в иммунном ответе, реализации эффекторного потенциала и развитии воспалительного процесса. Существует 4 семейства хемокинов (на основе гомологии цепей), которым соответствуют соответствующие рецепторы (вместо L подставляется R; C – цистеин в белковой цепи хемокина, а X – любая другая аминокислота):

1. XCL: lymphotactin;
2. CCL: MCP-1-MCP-5 (macrophage chemotactic proteins), MIP-1-MIP-3 (macrophage inflammatory proteins), RANTES, Eotaxin1-Eotaxin-2 и другие;
3. CXCL: IL8, IP10 (IFN γ inducible protein), SDF-1 (stromal cell-derived factor-1) и другие;
4. CX3CL: (fractalkine).

Все хемокины подразделяются по функциональной характеристике на: 1) гомеостатические, ответственные за хоминг клеток и 2) воспалительные.

Гомеостатические хемокины включают: CCL14 (Hemofiltrate CC chemokine 1, HCC-1), CCL19 (EBI1 Ligand Chemokine, ELC; Exodus-3), CCL20 (Macrophage Inflammatory Protein-3 α), CCL21 (Secondary Lymphoid-Tissue Chemokine, SLC; Exodus-2), CXCL13 (B Lymphocyte Chemoattractant; BLC), CCL25 (Thymus-Expressed

Chemokine, TECK), CCL27 (Cutaneous T-cell-Attracting Chemokine, STACK), CCL28 (Mucosae-Associated Epithelial Chemokine, MEC), CXCL12 (Stromal Cell-Derived Factor-1, SDF-1) и другие.

CXCL12 (Stromal Cell-Derived Factor-1, SDF-1) продуцируется ретикулярными клетками, активирует миграцию и созревание многих клеток в *костном мозге*. Наряду с CCL21 и CCL25 он обеспечивает миграцию тимоцитов в *тимус*. CXCL12 связывается с рецептором CXCR4.

CCL21 (Secondary Lymphoid-Tissue Chemokine, SLC; Exodus-2) экспрессируется во *вторичных лимфоидных органах* и стимулирует миграцию сюда активированных Т-клеток и дендритных клеток. Кроме того, CCL21 имеет значение и для хоминга тимоцитов в *тимус*. Рецептором для этого хемокина является **CCR7**.

CCL19 (EBI1 Ligand Chemokine, ELC; Exodus-3) обеспечивает хоминг Т-клеток памяти (T_{CM}), В-клеток и дендритных клеток во *вторичные лимфоидные органы*. Рецептором для этого хемокина также служит **CCR7**.

CXCL13 (B Lymphocyte Chemoattractant, BLC) стимулирует хоминг В-клеток в фолликулы *вторичных лимфоидных органов*, а также, вероятно, фолликулярных Т-хелперов (Tfh). CXCL13 взаимодействует с **CXCR5**.

CCL28, CCL27 и CCL25 имеют ключевое значение для хоминга клеток многих типов в разные отделы мукозоассоциированной лимфоидной ткани (МАЛТ) и кожу.

Воспалительные хемокины включают: CXCL8 (IL8), CCL2 (Macrophage Chemoattractant Protein-1, MCP-1), CCL8 (Macrophage Chemoattractant Protein-2, MCP-2), CCL7 (Macrophage Chemoattractant Protein-3, MCP-3), CCL3 (Macrophage Inflammatory Protein-1 α , MIP-1 α), CCL4 (Macrophage Inflammatory Protein-1 β , MIP-1 β), CCL5 (RANTES), CCL11 (eotaxin-1), CCL24 (eotaxin-2), CXCL10 (IP-10) и другие.

Некоторые хемокины одновременно относятся к обеим группам.

РЕЦЕПТОРЫ ХЕМОКИНОВ

Хемокиновые рецепторы разделяются на те же 4 семейства, что и сами хемокины, имеют 7 трансмембранных доменов, связаны с G-протеином, через который они осуществляют сигнальную трансдукцию.

1.3. Органы и клетки иммунной системы

ПЕРВИЧНЫЕ (ЦЕНТРАЛЬНЫЕ), ВТОРИЧНЫЕ (ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ) И ТРЕТИЧНЫЕ ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

В *первичных органах иммунной системы* (тимусе и костном мозге) происходит зарождение всех клеток (костный мозг) и антигеннезависимая дифференцировка (или иммунопоз, или коммитмент) (тимус и костный мозг). Все защитные и другие эффекторные процессы протекают во *вторичных органах иммунной системы*: селезёнке, лимфатических узлах, мукозо-ассоциированной лимфоидной системе (МАЛТ) и коже. *Третичные лимфоидные органы* формируются в самых разных тканях, где имеется хроническое воспаление и постоянная антигенная стимуляция. Здесь возникают новые лимфатические и кровеносные сосуды и образуются лимфоидные скопления. Это наблюдается при таких патологиях как хронические инфекции, лимфатический отёк, аутоиммунные, аутовоспалительные болезни, рак и др. Таким образом, образование третичных лимфоидных органов является патологическим явлением.

КОСТНЫЙ МОЗГ И ТИМУС

Костный мозг (bone marrow) является «материнским домом» для всех клеток и «университетом» для дифференцирующихся **В-лимфоцитов**.

Тимус (thymus) или **вилочковая железа** представляет собой «иммунологическое правительство», которое координирует всю иммунную систему и является «университетом» для дифференцирующихся **Т-лимфоцитов**. Все лимфоциты, которые имеют $\alpha\beta$ -тип TCR (Т-клеточного рецептора), а их подавляющее большинство, проходят дифференцировку именно в тимусе.

Тимус расположен в переднем средостении и состоит из покрытых капсулой долек, содержащих строго изолированную паренхиму, куда могут проникать через сосудистый эндотелий только будущие Т-лимфоциты (рис. 14).

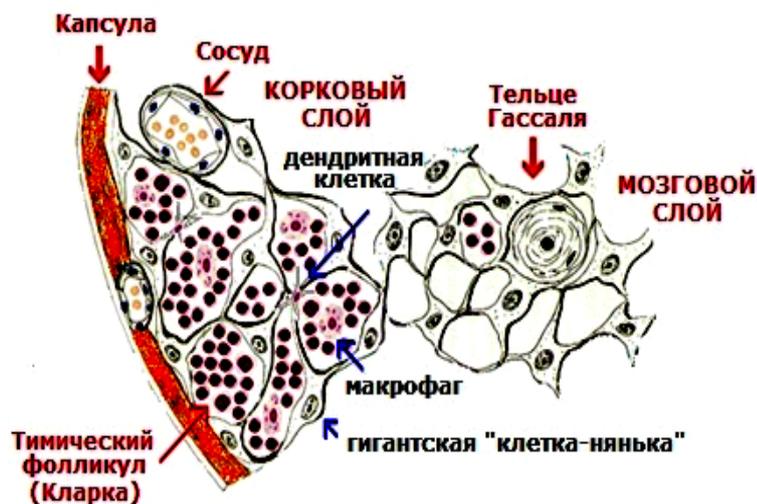


Рис. 14. Строение вилочковой железы (тимуса)

Имеется три паренхиматозных слоя, которые соответствуют главным этапам Т-лимфопоэза: *субкапсулярный (наружный кортикальный), внутренний кортикальный и медуллярный*. В первых двух располагаются тимические фолликулы Кларка, в третьем имеются тельца Гассалья.

Гигантские эпителиальные клетки (так называемые «клетки-няньки»), **макрофаги**, **тимические дендритные клетки**, **тимические НК-клетки** и некоторые другие, насчитывающие менее, чем 1 % от общего числа клеток, являются штатными «профессорами», которые с помощью факторов тимического микроокружения «обучают» **timoциты**.

Тимус продуцирует большое число активных факторов и гормонов: тимозины, эндорфины, энкефалины, вазопрессин, окситоцин, многие цитокины. С возрастом тимус постепенно подвергается атрофическому процессу, который начинается почти с рождения. Эта *возрастная инволюция* характеризуется медленным угасанием

гормональной функции тимуса и замещением паренхимы липидной тканью (рис. 15). Процесс имеет индивидуальные черты, и в целом существует генетически определённая продолжительность способности тимуса осуществлять его стратегическую гомеостатическую функцию, что соотносится с общей продолжительностью онтогенеза. В этом смысле тимус иногда называют «биологическими часами».

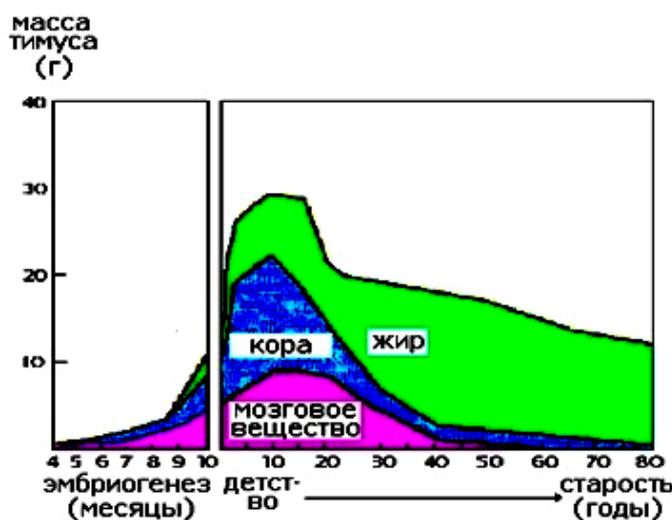


Рис. 15. Возрастная инволюция тимуса

СЕЛЕЗЁНКА

Селезёнка (spleen), вернее её белая пульпа, фактически является самым большим лимфатическим узлом, расположенным на перекрёстке циркуляции лимфы и крови. Однако в селезёнке нет лимфатических протоков и высоких эндотелиальных венул (HEV). Красная пульпа органа богата кровью, содержит ретикулярную ткань, вены и венозные синусы и важна для разрушения стареющих эритроцитов. Белая пульпа имеет **периартериальные лимфатические пространства (periarterial lymphatic sheaths)**, окружённые артериями (рис. 16).

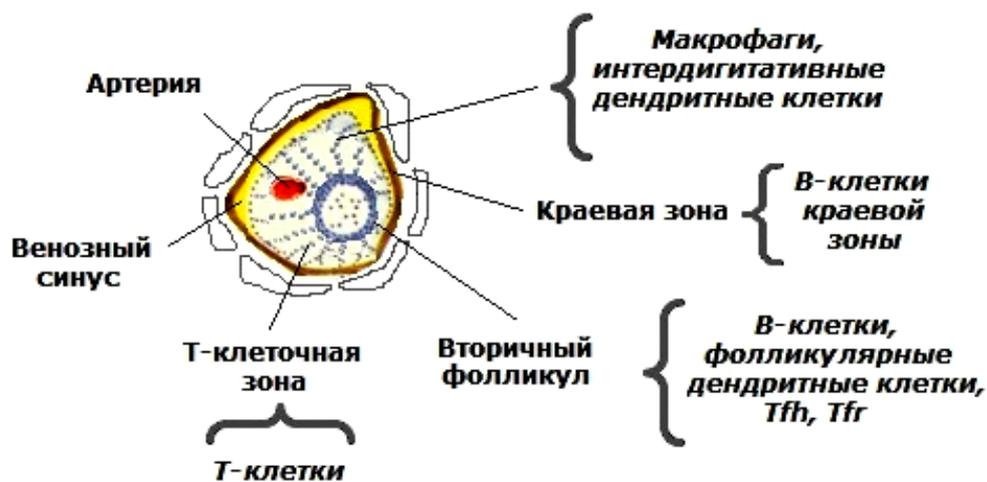


Рис. 16. Периартериальное лимфатическое пространство селезёнки

Просвет этих пространств имеет прямое отношение к функционированию иммунной системы. В Т-клеточной зоне располагаются Т-лимфоциты, в краевой зоне – макрофаги и интердигитативные дендритные клетки. В этих местах протекают Т-клеточные ответы. Вторичные фолликулы содержат В-лимфоциты, фолликулярные дендритные клетки и фолликулярные Т-хелперы (Tfh). Это зона В-клеточных ответов. Кровоток в селезёнке очень медленный, что позволяет кумулироваться антигенам, оказавшимся на системном уровне, для последующих иммунных ответов. Хотя селезёнка и относится ко вторичным (периферическим) органам иммунной системы, она функционирует на организменном, а не локальном уровне.

Спленэктомия иногда приводит к резкому снижению резистентности к пневмококковой инфекции, которая может протекать в токсическом и даже септическом вариантах. Перед плановой спленэктомией рекомендуется прививание пневмококковой вакциной. Иногда после спленэктомии исчезает естественная рези-

стенность человеческого организма к несвойственным нашему виду инфекциям.

ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ

Лимфатические узлы (lymph nodes) присутствуют в подкожной клетчатке и около внутренних органов повсеместно. Они покрыты капсулой, в них имеются корковое и мозговое вещества (рис. 17).

В лимфоузел входят артерия и афферентные лимфатические протоки, а выходят вена и эфферентный лимфатический проток. В корковом веществе вена разветвляется на высокие эндотелиальные венулы (HEV). Между корковым и мозговым веществом располагаются паракортикальные зоны – места скопления Т-лимфоцитов, интердигитативных дендритных клеток и макрофагов. Здесь протекают Т-клеточные адаптивные ответы.

На границе коркового вещества и паракортикальной зоны находятся первичные фолликулы, которые при адаптивных В-клеточных ответах превращаются во вторичные. Вторичный фолликул содержит зародышевый центр, В-клетки, фолликулярные дендритные клетки, фолликулярные Т-хелперы (Tfh). Местом синтеза иммуноглобулинов являются медуллярные хорды, где располагаются плазматические клетки.

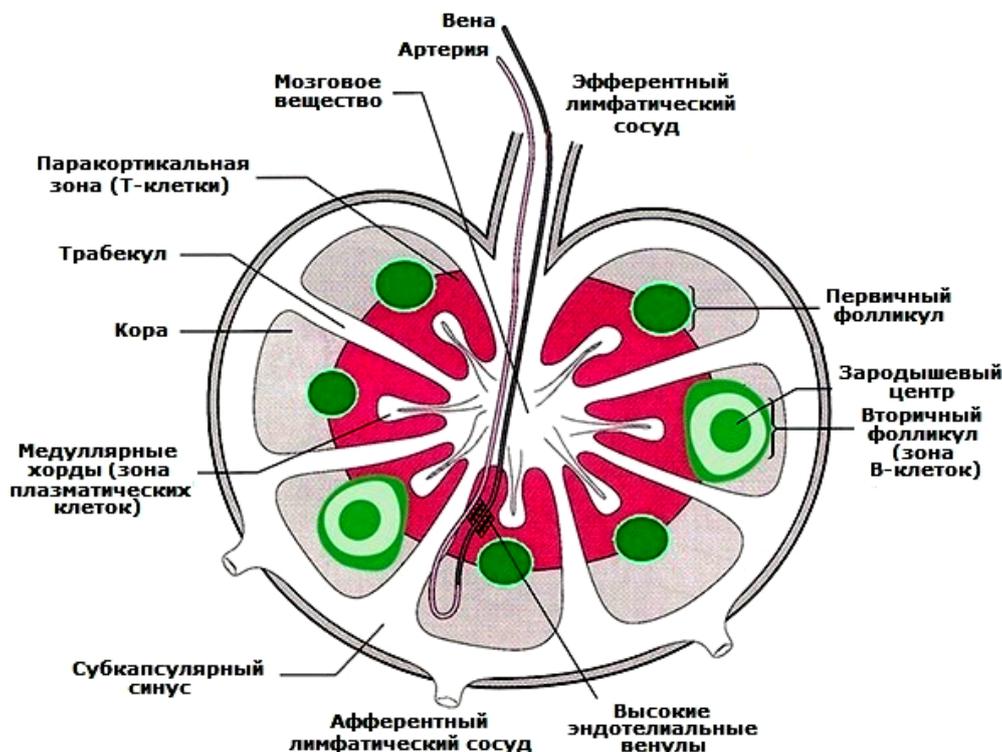


Рис. 17. Структура лимфатического узла

1.4. Клетки иммунной системы

Антигенпредставляющие клетки: дендритные клетки, макрофаги, В-лимфоциты.

Иммунорегуляторные клетки: натуральные Т-регуляторные клетки (nTreg), Т-хелперы типа 1 (Th1), Т-хелперы типа 2 (Th2), Th9, Th17, Th22 и др.

Эффекторные клетки: плазматические клетки (антителопродукторы), цитотоксические CD8+Т-лимфоциты, воспалительные CD4+Т-лимфоциты (Т-эффекторы воспаления или T_{гзт}-лимфоциты); γδТ-лимфоциты, НКТ-клетки, врождённые лимфоидные клетки – ILC (включая НК-клетки); моноциты/макрофаги, нейтрофилы, базофилы, тучные клетки и др.

Клетки памяти: В-лимфоциты памяти, долгоживущие плазматические клетки, CD8+Т-лимфоциты памяти, CD4+Т-лимфоциты памяти

Лимфоциты – главные клетки иммунной системы. Экспертная оценка числа лимфоцитов в макроорганизме человека 10^{13} . Они имеют две стадии (пути) дифференцировки:

1. Антигеннезависимая дифференцировка (коммитирование или комитмент). Преимущественно протекает в эмбриогенезе, но также и после рождения. Результатом является: 1) разделение лимфоцитов на Т-клетки и В-клетки и их субпопуляции, 2) разделение лимфоцитов на клоны.

Клон – это группа лимфоцитов с уникальным антигенраспознающим рецептором (TCR или BCR) конкретного антигена.

2. Антигензависимая дифференцировка (прайминг) – собственно адаптивный иммунный ответ лимфоцита на внедрение антигена. Лимфоциты каждого клона отвечают только на конкретный антиген.

Общие особенности лимфоцитов:

1. Постоянная циркуляция в крови, лимфе, межтканевых пространствах и секретах.

2. Способность распознавать «свое» и «несвое» по принципу «антиген (лиганд) – рецептор».

3. Разделение на клоны (McF. Burnet) и способность формировать сетевые элементы (N.K. Jerne).

4. Способность к непрерывным реаранжировкам в своём геноме в любом возрасте в связи с потребностями формирования специфических ответов на патоген.

5. Умение запоминать о факте встречи с определённым антигеном и обеспечивать в будущем экспрессный высокоэффективный ответ на него.

Т-ЛИМФОЦИТЫ

Антигеннезависимая дифференцировка (коммитмент) **Т-клеток (T cells)** начинается с их миграции в тимус (*хоминг*) в начале 12-й недели эмбриогенеза. В дальнейшем Т-лимфопоэз происходит, пока существуют даже самые маленькие эпителиально-макрофагальные островки в тимусе, но на ранних стадиях онтогенеза он протекает очень интенсивно. Тимоциты проходят последовательно стадию «двойных негативных клеток» (double-negative cells, DN), «двойных позитивных клеток» (double-positive cells, DP) и «монопозитивных клеток» (single-positive cells, SP) (рис. 18). Первоначально на стадии DN происходит реаранжировка TCR β -генов, затем на стадии DP – TCR α -генов, и обе цепи соединяются вместе. Генные продукты-ферменты RAG-1 и RAG-2 (Recombination Activating Genes) экспрессируются на всех стадиях Т-лимфопоэза, т.к. они необходимы для генетических реаранжировок в тимоцитах. Важнейшим цитокином для Т-лимфопоэза является IL7.

Основные черты Т-лимфопоэза:

1. Экспрессия специфического TCR (как маркера принадлежности к определённому Т-клону), ассоциированных молекул CD3 и корцепторов CD4 или CD8.

2. Селекция («экзамен») в ходе дифференцировки:

– положительная селекция – отбор и выпуск в кровоток клонов, способных к распознаванию собственных HLA и экзоантигенов;

– отрицательная селекция – делеция путём апоптоза клонов с высокоаффинными TCRs, направленными против собственных антигенов.

3. Разделение на субпопуляции CD4⁺ и CD8⁺.

4. Приобретение Т-клетками способности к долгосрочной иммунной памяти после адаптивных иммунных ответов.

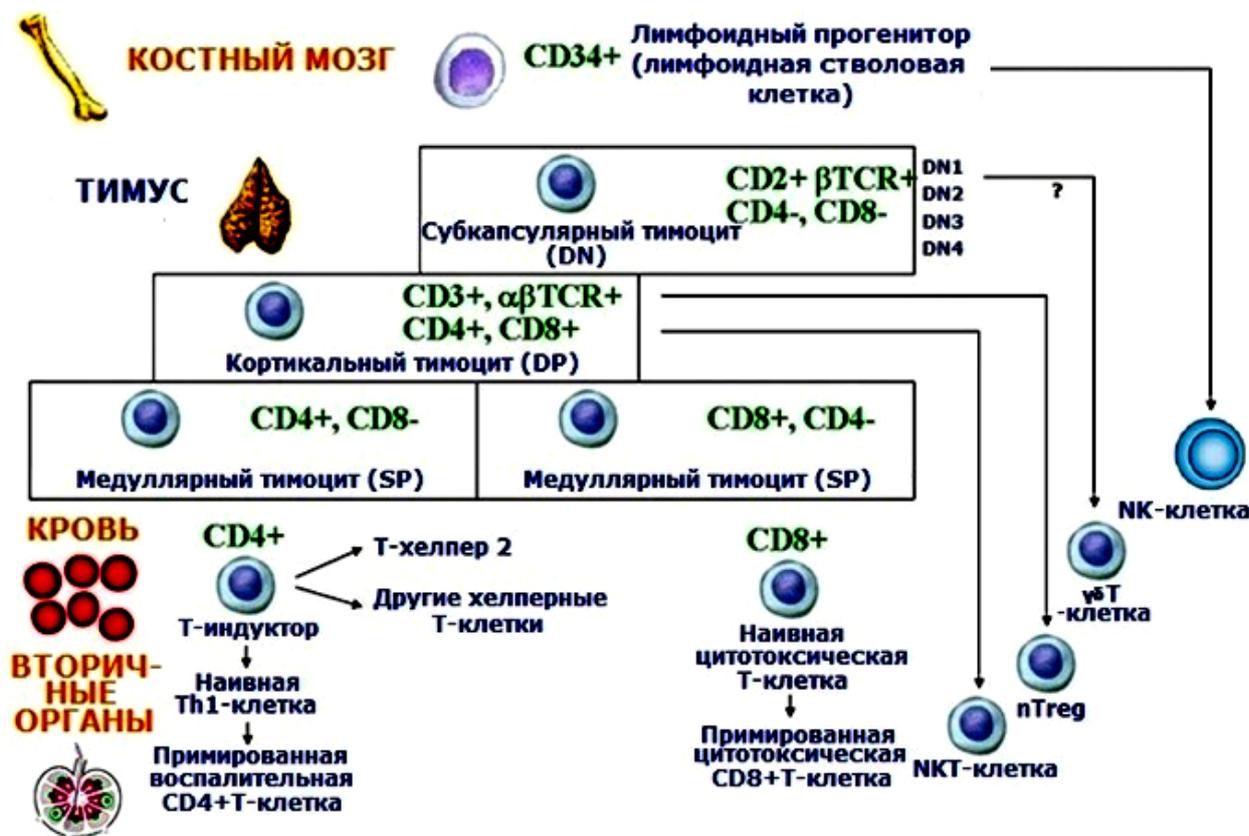


Рис. 18. Т-лимфопоэз

Полнота отрицательной селекции определяется геном AIRE (autoimmune regulator), от чего зависит риск развития аутоиммунных расстройств.

Некоторые Т-лимфоциты в ходе коммитмента приобретают не один, а два отличающихся по специфичности TCR.

По окончании Т-лимфопоэза до 5% тимоцитов избегают апоптоза и формируют около **50 миллионов** Т-клеточных клонов. Зрелые Т-клетки мигрируют в Т-зависимые зоны периферических органов (паракортикальные зоны лимфатических узлов, периартериальные пространства селезёнки, околофолликулярные области МАЛТ) для потенциального участия в антигензависимой дифференцировке (прайминге). Миграция (хоминг) Т-клеток контролируется хемокинами CXCL13 (BLC), CCL19 (ELC) и CCL21 (SLC). Каждый Т-клон ждёт случая, когда антиген, к которому он программирован (коммитирован), попадёт в организм. Некоторые Т-клоны, возможно, до конца жизни остаются без «работы». Примерно 0,05 % Т-клеток, вышедших из тимуса в циркуляцию, представляют собой неадаптивные (естественные) иммунорегуляторные nTreg.

Т-клетки с $\alpha\beta$ TCR составляют **40–80%** среди лимфоцитов периферической крови. **$\gamma\delta$ Т-клетки** (с $\gamma\delta$ TCR-типом рецептора) являются минорной популяцией крови (**0,1–0,5%**) частично тимического происхождения, которые присутствуют в значительном количестве в барьерных органах. Большинство этих клеток имеет особенный корецептор - CD8 $\alpha\alpha$ (в отличие от CD8 $\alpha\beta$ у $\alpha\beta$ TCR-лимфоцитов). Для них не характерны разнообразие специфичностей и клональная экспансия, и они сразу вырабатывают специфические эффекторные молекулы. Мишенями являются оппортунистические патогены. Ещё одна субпопуляция – **НКТ-клетки** (natural killer T cells) – по фенотипу похожи одновременно на Т-клетки и НК-клетки. Они способны распознавать гликолипидные антигены, загруженные на молекулы CD1d, подобные молекулам HLA. Они необходимы в противоопухолевом иммунитете и процессах толерантности. Около 0,05% Т-клеток покидают тимус как **nTreg-клетки** (**non-adaptive natural T regulatory cells**) и выполняют в дальнейшем важную роль в иммунорегуляции.

В-ЛИМФОЦИТЫ

Антигеннезависимая дифференцировка (коммитмент) **В-клеток (B cells)** начинается в печени плода, продолжается в костном мозге, стартуя на 10-й неделе эмбриогенеза и протекая в течение всей жизни как в костном мозгу, так и МАЛТ (рис. 19) цепей. Как и в случае с Т-лимфопоэзом, важнейшим регулирующим цитокином является IL7. ДНК лимфоидного прогенитора подвергается соматическим рекомбинациям и сплайсингу, что приводит к разным комплекциям генов в коммитированных В-клетках. Соматические рекомбинации следуют в определённом порядке: у про-В клеток происходит соединение D-гена с J-геном, у пре-В клеток – случайный выбор V-гена и образование VDJ, а затем присоединение C μ к VDJ. Сплайсинг позволяет вырезать интроны. После этого пре-В клетка подвергается множественным делениям и превращается в незрелую В-клетку, у которой происходит реаранжировка генов L-цепей. Рекомбиназы, синтезируемые на основе RAG-1 и RAG-2, необходимы на всех стадиях В-лимфопоэза, для H- и L-цепей. Как и в случае с Т-лимфопоэзом, важнейшим регулирующим цитокином является IL7.

Основные черты В-лимфопоэза:

1. Экспрессия специфического BCR-маркёра В-клона, ассоциированных молекул $Ig\alpha(CD79a)/Ig\beta(CD79b)$ и корецепторов (CD21/CD19/CD81/CD225).

2. Селекция («экзамен») в ходе дифференцировки:

– положительная селекция – отбор и выпуск в кровоток клонов, способных к распознаванию собственных HLA и экзоантигенов;

– отрицательная селекция:

а) апоптоз клонов, направленных против мембранных ауоантигенов;

б) анергия клонов, направленных против растворённых ауоантигенов.

3. Способность дифференцироваться в плазматические клетки в ходе гуморальных (В-клеточных) адаптивных иммунных ответов.

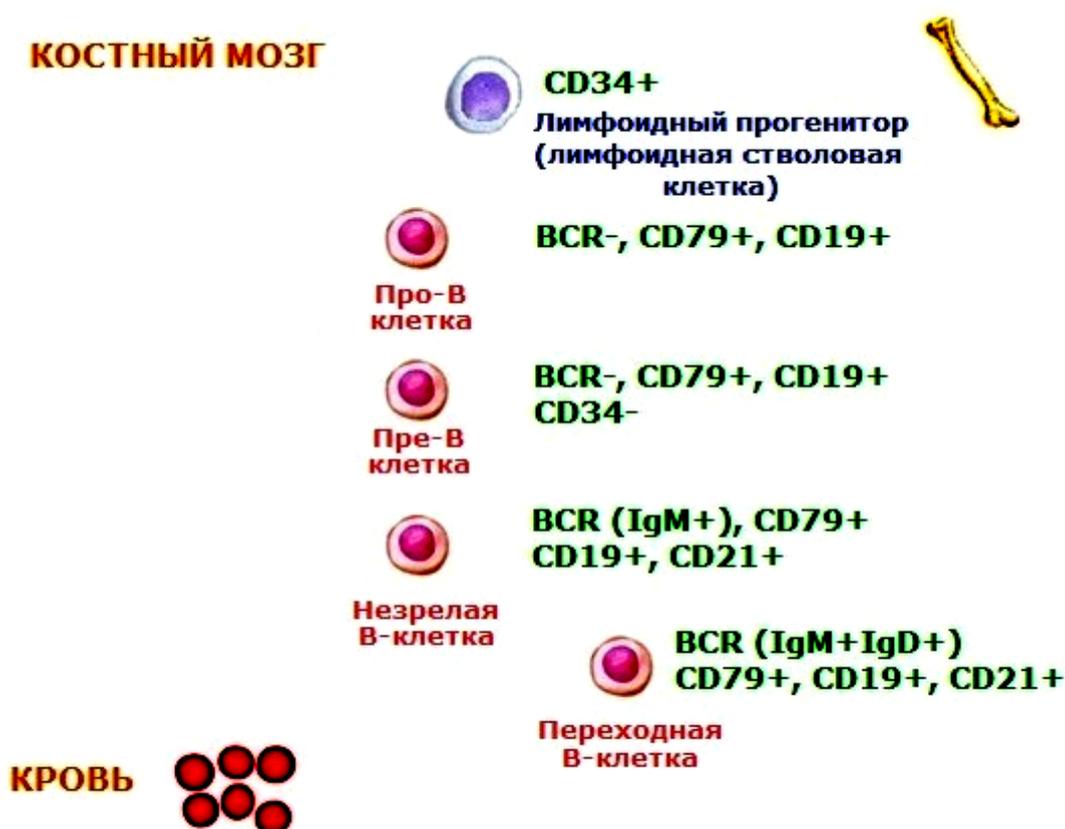


Рис. 19. В-лимфопоэз

4. Приобретение способности только к краткосрочной иммунной памяти без помощи Т-клеток-хелперов.

По окончании В-лимфопоэза выживает только 25% клеток, которые формируют свыше **50 миллионов** В-клеточных клонов. Они заселяют Т-независимые зоны периферических органов (первичные фолликулы лимфатических узлов, селезёнки, МАЛТ) для участия в будущих гуморальных ответах. Миграция (хоминг) В-клеток контролируется хемокинами CXCL13 (BLC), CCL19 (ELC) и CCL21 (SLC). Конечной стадией уже антигензависимой дифференцировки (прайминга) В-клеток являются плазматические клетки – антителопродуценты.

Выделяют три популяции В-клеток:

В-1 (CD5+) – продуценты естественных антител, относящихся к врождённому иммунитету; для них не характерны разнообразие специфичностей и клональная экспансия, и они спонтанно вырабатывают специфические эффекторные молекулы (антитела);

В-2 – основная популяция, которая участвует в адаптивных гуморальных ответах;

В-клетки маргинальной зоны (IgM+IgD+CD27+) селезёнки являются промежуточной популяцией В-лимфоцитов между В-1 и В-2. Они обеспечивают быстрый ответ как на антигены, поступающие из кровяного русла, так и на «паттерны».

В-клетки составляют **10-25%** среди лимфоцитов периферической крови.

КЛОНАЛЬНО-СЕЛЕКЦИОННАЯ ТЕОРИЯ BURNET И ТЕОРИЯ РАСПОЗНАВАНИЯ ПАТТЕРНОВ

Великий австралийский иммунолог, Нобелевский лауреат (1960) McF. Burnet обосновал классическую **клонально-селекционную теорию**, которая, развиваясь, до настоящего времени является краеугольным камнем иммунологии. Первоначально она была сформулирована для В-клеток и антител, но вполне может быть отнесена и к Т-клеткам.

Основные положения клонально-селекционной теории:

1. Многообразие антигенов внешнего мира и организма каждого индивидуума запрограммировано в его иммунной системе адекватными специфичностями BCR и TCR и кодируется соответствующими генами иммуногенома (2, 7, 14, 22 хр.).

2. В процессе эмбриогенеза это реализуется образованием коммитированных (запрограммированных) клонов В- и Т-клеток,

каждый из которых может распознавать преимущественно только один антиген и, пролиферируясь, обеспечивать его связывание в будущем.

3. В периоде эмбриогенеза клоны Т-лимфоцитов, коммитированные к собственным антигенам, гибнут, что приводит к клональной делеции и установлению аутоотолерантности. Это, однако, не относится к так называемым «секвестрированным» антигенам из «привилегированных» зон, которые не известны иммунной системе (хрусталик, хрящ, половые клетки и др.), а также к любым модифицированным и новообразованным эндоантигенам.

4. Первичный контакт антигена с коммиттированным лимфоцитом приводит к развитию специфического иммунного ответа, который заканчивается элиминацией этого антигена и формированием иммунитета к нему за счёт образования клеток памяти. Они обеспечивают при повторном поступлении антигена быстрый вторичный ответ, который по существу и отражает понятие «иммунитет».

В настоящее время предложена ещё одна теория (**теория распознавания паттернов**) (С.А. Janeway и соавт.), которая является очень важной для более полного понимания функциональной организации иммунной системы и течения иммунологических процессов. В иммунной системе одновременно с распознаванием антигенов для включения адаптивных ответов, паттерн-распознающие рецепторы взаимодействуют с «молекулярными паттернами», включая реакции естественного иммунитета. Необходимы три сигнала для нормального течения реакций врождённого иммунитета и адаптивных иммунных ответов, о чём будет рассказано в главе 4.

ВРОЖДЁННЫЕ ЛИМФОИДНЫЕ КЛЕТКИ (ILC)

Врождённые лимфоидные клетки (innate lymphoid cells - ILC) являются объектом современных исследований в иммунологии. Установлено, что это достаточно гетерогенная популяция лимфоцитов, ответственная за более быстрые по сравнению с адаптивными лимфоцитами защитные реакции в ответ на вторжение патогенов (табл. 6).

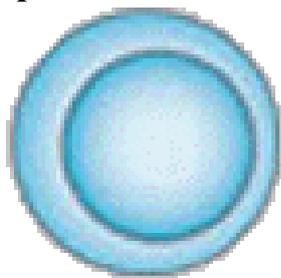


Таблица 6

Группировка врождённых лимфоидных клеток

<i>Тип</i>	<i>Клетки</i>	<i>Вырабатываемые цитокины и медиаторы</i>	<i>Функции</i>
1-й тип ILC	Тимические NK-клетки	Высокий уровень IFN γ	Защита от вирусов, внутриклеточных патогенов, опухолей
	NK-клетки	Низкий уровень IFN γ , перфорин, гранзимы	Защита от вирусов, внутриклеточных патогенов, опухолей
	ILC1	IFN γ	Воспаление. Иммунорегуляция
2-й тип ILC	ILC2 (nuocytes, natural helper cells)	IL5, IL9, IL13, амфирегулин	Защита от гельминтов, заживление ран. Иммунорегуляция
3-й тип ILC	LTi-клетки – lymphoid tissue inducer cells	TNF β , IL17, IL22	Развитие лимфоидной ткани в эмбриогенезе, кишечный гомеостаз, защита от внеклеточных патогенов
	NCR+ ILC3 (ILC22) (<i>NCR – natural cytotoxicity receptor</i>)	IL22	Гомеостаз эпителия, защита от внеклеточных патогенов. Иммунорегуляция
	NCR- ILC3 (ILC17)	IFN γ , IL17	Защита от внеклеточных патогенов. Иммунорегуляция

ILC особенно существенны для 1-й линии защиты в барьерных органах и входят в состав МАЛТ, а также важны для развития лимфоидной ткани, регуляции циркуляции Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и дендритных клеток, гомеостаза эпителия слизистых оболочек, заживления ран и др. Имеют общего лимфоидного предшественника, но под влиянием разных транскрипционных факторов дифференцируются в разные типы и субпопуляции.

В общем контексте ILC можно также разделить на регуляторные и эффекторные ILC. Наряду с защитными функциями, через ILC и их цитокины могут реализоваться и патологические состояния, например, хронический колит, бронхиальная астма и др.

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ

Дендритные клетки (dendritic cells) представляют гетерогенную популяцию клеток, участвующих в эндоцитозе, процессинге и представлении антигенов лимфоцитам, а также их актива-

ции. Известно, что они также вовлечены в процессы становления толерантности. Существуют **зрелые и незрелые дендритные клетки (ДК)** (табл. 7), что наиболее важно в аспекте понимания участия ДК в разных этапах иммунных ответов, а также несколько отличающихся морфологических и функциональных субпопуляций. ДК были открыты канадским учёным, Нобелевским лауреатом (2011) R.M. Steinman. Большинство исследований ДК выполнены на мышах.

У человека в настоящее время выделяют несколько субпопуляций ДК с учётом происхождения и функциональности:

- 1) *клетки Лангерганса*, генерирующие из моноцитов фетальной печени и желточного мешка;
- 2) *CD14+ ДК (дермальные)* моноцитарного происхождения, дифференцирующиеся в макрофаги;
- 3) *миелоидные ДК (тип 1)*, которые разделяются на две подгруппы;
- 4) *плазмацитоидные ДК (тип 2)*;
- 5) *фолликулярные ДК*.

Большинство ДК, наряду с целым рядом других молекул, экспрессируют TLR, что свидетельствует о том, что они являются связующим звеном между естественным иммунитетом и адаптивными иммунными ответами.

Таблица 7

Критерии зрелости дендритных клеток

<i>Признак</i>	<i>Незрелые</i>	<i>Зрелые</i>
Экспрессия HLA	(+)	+++ (кроме фолликулярных)
Костимулирующие молекулы: CD80, CD86, CD40 и др.	(+)	+++
CD83+	–	++
CCL19/CCR7 CCL20/CCR6 CCL21/CCR6, CCR7	++	–
CCL3/CCR1, CCR5 CCL4/CCR5 CCL5/CCR1, CCR3, CCR5 CXCL1/CXCR1	–	++
Эндоцитоз	+++	(+)
Презентация антигена	+	+++
«Отросчатость»	+	+++
Присутствие в крови	0,1–0,5%	–

Некоторые морфологические варианты ДК мало отличаются друг от друга, а некоторые имеют существенные отличия.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

- Клетки Лангерганса (*в эпидермисе кожи и эпителии слизистых*).
- Интерстициальные ДК (*в подэпителиальных областях барьерных органов*).
- Плазмацитоидные ДК на незрелой стадии развития (*во вторичных лимфоидных органах*).
- Классические (миелоидные ДК) и сходные с ними по морфологии плазмацитоидные ДК на зрелой стадии развития (*во вторичных лимфоидных органах и МАЛТ*).
- Вуалевидные ДК (*в лимфотоке*).
- Интердигитативные ДК (*во вторичных лимфоидных органах и МАЛТ*).
- Фолликулярные ДК (*в В-зонах вторичных лимфоидных органов и МАЛТ*).
- Тимические ДК (*в тимусе; близки к интердигитативным ДК*).
- Воспалительные ДК (*генерируются в очагах воспаления*).

Данные варианты дендритных клеток могут мигрировать и менять своё обычное местоположение.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

1. Субпопуляции, участвующие в Т-клеточных ответах:



Миелоидная (классическая) дендритная клетка (тип 1) (mDC/cDC) генерируется из миелоидного предшественника и подразделяется на две подгруппы: 1) основную (mDC-1), которая экспрессирует CD1c+, секретирует IL12 и другие провоспалительные цитокины и способна активировать только CD4+Т-клеточный ответ, и 2) минорную (mDC-2), которая экспрессирует CD141+, секретирует IL12, IFN β и способна активировать и CD4+, и CD8+Т-клеточные ответы. Показано, что обе подгруппы способствуют сдвигу баланса Th1/Th2 в сторону Th1. Конечной стадией развития mDC/cDC, по видимому, является интердигитативная ДК.

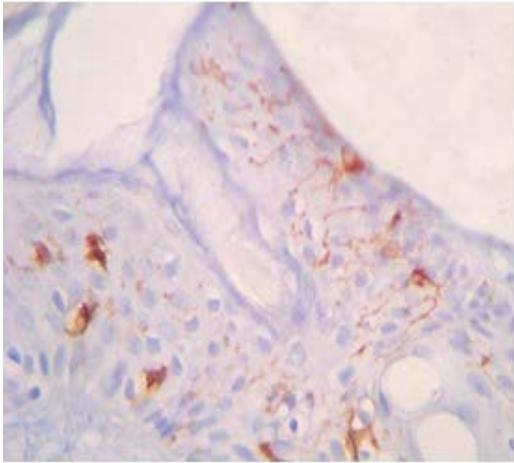


Рис. 20. Клетки Лангерганса в эпидермисе кожи (CD1a, иммуногистохимия, ×400)

Клетки Лангерганса экспрессируют CD1a+, CD207+ (лангерин в гранулах Birbeck), располагаются в эпидермисе кожи и эпителии слизистых оболочек барьерных органов. Показано *in vitro*, что клетки Лангерганса могут активировать Th1-, Th2-, Th17- и Th22-зависимые иммунные ответы и имеют, соответственно, широкий профиль секретируемых цитокинов. Клетки Лангерганса могут мигрировать в региональные лимфатические узлы и превращаться в

интердигитативные ДК. На рисунке 20 показаны клетки Лангерганса кожи.

Дермальные ДК (CD14+ДК) генерируют из моноцитов и являются тринзиторной популяцией, которая дифференцируется в макрофаги. При воспаленном процессе моноциты могут быть возможными предшественниками ещё одной популяции ДК – воспалительных ДК.

2. Субпопуляции, участвующие в В-клеточных ответах:



Плазмацитоподобная дендритная клетка (тип 2) (pDC) – субпопуляция, которая генерирует из лимфоидного предшественника, экспрессирует CD123+, CD303+, секретирует IFN α , IFN β , IL4, IL10, инициирует В-клеточный иммунный ответ и участвует в противовирусной защите. На стадии незрелости эта клетка похожа на плазматическую клетку, а на стадии зрелости приобретает морфологические черты классической ДК.

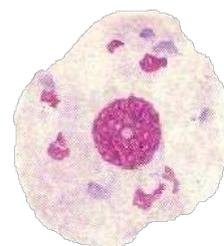
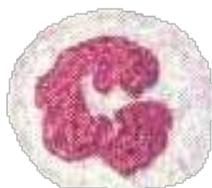


Фолликулярная дендритная клетка также играет большую роль в В-клеточном ответе, но она происходит не из кроветворных, а из мезенхимальных предшественников. Фенотип этих клеток характеризуется экспрессией CD35 (CR1), CD21 (CR2), CD32 (Fc γ RIIb). В отличие от других ДК, фолликулярные ДК не могут экспрессировать молекулы HLA II, само-

стоятельно презентировать антиген и инициировать первичный иммунный ответ. Но фолликулярные ДК способны к длительной кумуляции антигенов в виде иммунных комплексов и чрезвычайно важны для постоянной стимуляции В-клеток, вторичных ответов и поддержания памяти.

МОНОЦИТЫ И МАКРОФАГИ

Моноциты (monocytes) составляют примерно **4–8%** среди лейкоцитов крови. Они развиваются из М-КОЕ, циркулируют в течение нескольких часов, мигрируют в ткани и превращаются в **макрофаги (macrophages)**.



В последние годы описаны макрофаги, имеющие немонаоцитарное происхождение. Макрофаги играют важную роль в естественном иммунитете и адаптивных иммунных ответах. Они могут фагоцитировать микробы, иммунные комплексы и клетки-мишени, захватывать, процессировать и представлять антигены Т-клеткам, а также секретировать многочисленные продукты: *цитокины и хемокины, белки комплемента, матричные металлопротеиназы (например, коллагеназа), метаболиты арахидоновой кислоты, NO и другие кислородные радикалы*. Миграция моноцитов контролируется хемокинами CCL7, CX3CL1.

Макрофаги несут на себе ряд важных рецепторов, необходимых для связывания «паттернов» – TLR и CD14, комплемента – CR3 и CR4, Fc-фрагмента IgG – FcγRI (CD64). Известный макрофагальный маркер **CD68** является одним из scavenger receptors («рецепторов-мусорщиков»). Также имеются костимуляторные молекулы, необходимые для взаимодействия с лимфоцитами в ходе адаптивного иммунного ответа: B7, CD40 и др. Известны две субпопуляции макрофагов: *воспалительные (M1)*, вовлечённые в CD4+Т-клеточный ответ и иммунное воспаление (ГЗТ), и *противовоспалительные (M2)*, ответственные за регенерацию. M2 также могут стимулировать опухолевый рост. Активация M1 обеспечивается через IFNγ и взаимодействие CD40L (на Th1) и CD40 (на макрофаге), а инактивация – Th2 (IL10). Активация M2 осуществляется IL4, IL10 и IL13. Миграция макрофагов контролируется хемокинами CXCL14, CCL3-CCL5.

Специализированные формы резидуальных макрофагов:

- Kupffer's cells (печень)
- Mesangial cells (почки)
- Peritoneal macrophages (брюшина)
- Pleural macrophages (плевра)
- Pulmonary alveolar macrophages (лёгкие)
- Microglial cells (ЦНС)
- Macrophages костного мозга
- Macrophages селезёнки
- Macrophages лимфоузлов
- Osteoclasts (костная ткань)
- Multinucleate giant cell (грануломы при ГЗТ).

Резидуальные макрофаги ответственны за развитие тканей, тканевой гомеостаз (клиренс старых клеток и тканевого детрита), но могут участвовать и в адаптивном иммунном ответе.

ПОЛИМОРФНО-ЯДЕРНЫЕ НЕЙТРОФИЛЫ



Нейтрофилы (neutrophils) являются короткоживущими клетками, называемыми «камикадзе» из-за того, что они сами становятся жертвами при **фагоцитозе** внеклеточно расположенных патогенов. Киллинг-эффект достигается за счёт нескольких *микробицидных систем* (см. «Фагоцитоз»).

Наряду с фагоцитозом нейтрофилы способны к нетозу. Нейтрофилы имеют три типа гранул. Азурофильные (первичные) гранулы содержат миелопероксидазу, α -дефензины, нейтрофильную эластазу, белок, усиливающий бактерицидность и проницаемость. Специфические (вторичные) включают НАДФН-оксидазу, лизоцим, лактоферрин, кателисидин, гистаминазу. Третичные гранулы нейтрофилов включают металлопротеиназы (например, коллагеназу, желатиназу и др.).

Нетоз (Neutrophil Extracellular Traps – NETosis) – быстрая внутриклеточная деконденсация хроматина, дезинтеграция ядерной мембраны и выброс ДНК наружу в виде «ловчей сети» для микробов. Предшествует нетозу дегрануляция нейтрофилов с выделением ими цитокинов и хемокинов. Нетоз описан также при тромбозе и системной красной волчанке. Способностью к образованию подобной сети обладают также эозинофилы и тучные клетки.

Нейтрофилы вовлечены в воспалительную реакцию, которая может даже именоваться как «нейтрофильное воспаление», и регуляторные межклеточные взаимодействия паракринного и аутокринного типов. Многие цитокины и хемокины регулируют активность нейтрофилов: **IL8 (CXCL8)**, IL1, IL17, CXCL1-CXCL3, CXCL5-CXCL7.

Нейтрофилы **составляют 45–70%** среди лейкоцитов крови в норме, но значительно варьируют в зависимости от фазы, тяжести и типа течения болезни.

ПОЛИМОРФНО-ЯДЕРНЫЕ ЭОЗИНОФИЛЫ



Эозинофилы (eosinophils) являются клетками, известными своим участием в аллергических, противогельминтных и противопаразитарных реакциях. Их фагоцитарная активность и цитотоксичность определяются *главным образом протеинами, катионными белками, эозинофильной пероксидазой, лейкотриенами C4 и D4, фактором активации тромбоцитов (PAF), IL3, GM-CSF, IL5* и др. Цитотоксичность может быть реализована по отношению к паразитам с помощью антителозависимой клеточной цитотоксичности, к которой способны эозинофилы. Иногда роль эозинофилов в воспалении очень высока, и такое *воспаление называется эозинофильным*. Эозинофилы способны к формированию сетей, подобных тем, что образуются при нетозе.

Дифференцировка и активность эозинофилов регулируются многими цитокинами и хемокинами, включая **IL5**, CCL11, CCL24, CCL26. Эозинофилы составляют **2–5%** среди лейкоцитов периферической крови.

БАЗОФИЛЫ И ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ



Базофилы (basophils) и тучные клетки (mast cells) вовлечены в *гиперчувствительность I типа* или *атопию* и взаимодействие с эндотелием, что инициирует воспалительную реакцию. Такая реакция может быть тяжёлой (анафилактический шок, астматический статус). Как и нейтрофилы, тучные клетки способны к нетозу. Тучные клетки участвуют в дифференцировке Т-хелперов типа 2 путём секреции IL4. Базофилы/тучные клетки содержат *гистамин, серотонин, нейтрофильный и эозинофильные хемотактические факторы, протеогликаны, дериваты арахидоновой кислоты* и др. и экспрессируют высокоаффинные

$Fc_{\epsilon}RI$. При активации вырабатываются также $TNF\alpha$, $IL3$, $IL5$, $GM-CSF$, $IL4$ и $IL13$. Миграция, дифференцировка и активность клеток регулируются $IL3$, $IL4$, $IL9$, $CCL11$, $CCL26$, но главную роль играет **$IL9$** , вырабатываемый Th9. В последние годы появились данные о возможности функционирования тучных клеток как антиген-представляющих клеток.

Базофилы составляют только **0,5%** среди лейкоцитов крови, а **тучные клетки** заселяют очень плотно многие зоны соединительной ткани вблизи сосудов, под слизистыми оболочками. Существует две субпопуляции тучных клеток (табл. 8).

Таблица 8

Субпопуляции тучных клеток

<i>Критерий</i>	<i>Соединительно-ткан- ные тучные клетки</i>	<i>Мукозальные тучные клетки (атипичные)</i>
Триптаза	+	+
Химаза	+	–
Гистамин	+++	+
Основной протеогли- кан	Гепарин	Хондроитин сульфат
Основной арахидонат	PGD-2	LTC-4
Размер	Больше	Меньше
Локализация	Кожа, подслизистые	Слизистые

Глава 2

КОЖНО-МУКОЗАЛЬНАЯ ИММУННАЯ СИСТЕМА

Мукозальная иммунная система является автономной подсистемой иммунитета. Главной составляющей мукозальной иммунной системы, наряду с эпителием **барьерных органов**, является **мукозо-ассоциированная лимфоидная ткань (МАЛТ, MALT)**, организованная в несколько этажей и распространяющаяся на разные органы (рис. 21):

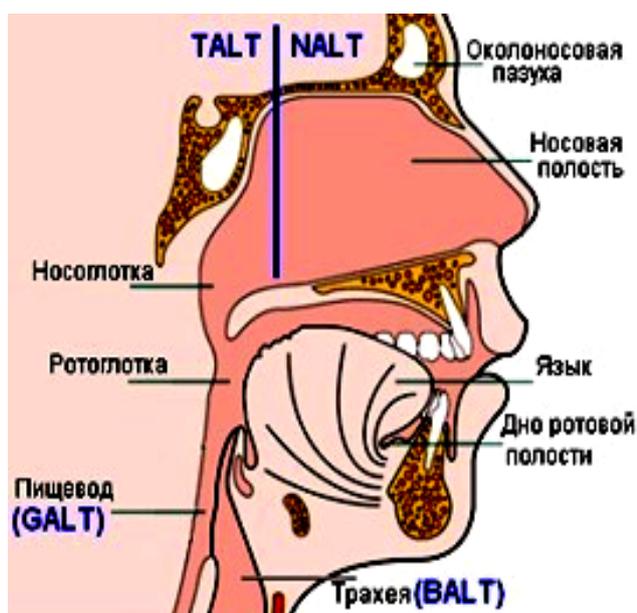


Рис. 21. Отделы МАЛТ

I. ТАЛТ (TALT) – носоглотка, евстахиева труба, ухо;

II. НАЛТ (NALT) – носовая полость, рот и ротоглотка, конъюнктивы;

III. БАЛТ (BALT) – трахея, бронхи, лёгкие, грудные железы (у женщин);

IV. КАЛТ (GALT): (1) пищевод, желудок, тонкий кишечник;

(2) толстый кишечник и проксимальные отделы уrogenитального тракта; дистальные отделы уrogenитального тракта; **ДАЛТ (SALT)** – кожа (дерма).

Миграция лимфоцитов и других клеток в разные отделы МАЛТ (хоминг) не случаен, а контролируется хемокинами CCL28 (MEC) и CCL25 (TECK), а также экспрессией соответствующих рецепторов на этих клетках. Парентеральное введение антигена приводит к ответам на системном и мукозальном уровнях. Мукозальное введение антигена вызывает более выраженные мукозальные иммунные ответы.

Мукозальная система в разных отделах имеет свои особенности, но наиболее изучена КАЛТ. КАЛТ в отличие от НАЛТ формируется уже в эмбриогенезе и этот процесс IL7-зависим.

ФАКТОРЫ МУКОЗАЛЬНОЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ:

- Симбиотическая микрофлора.
- Защитный (барьерный) эпителий.
- Слизиобразование, кератинизация и слюнообразование.
- Антимикробные пептиды: лизоцим, дефензины, лактоферрин, интерфероны, пропердин (Р) и др.
- Фагоциты.
- Комплемент.
- sIgA, IgG.
- Врождённые лимфоидные клетки (ILC) (включая НК-клетки).
- CD8 $\alpha\alpha$ + $\delta\gamma$ T-лимфоциты.
- CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты.

Симбиотическая микрофлора (в большинстве барьерных органов это лактобактерии и бифидобактерии) имеет определяющее значение для мукозальной иммунной системы. Её значение заключается в следующем:

- Антагонизм по отношению к патогенной микрофлоре (продукция органических кислот, перекиси водорода и бактериоцинов, синтез молочной кислоты и снижение рН) и конкуренция с патогенной флорой за адгезивные сайты.
- Стимуляция иммунных ответов за счёт адьювантных свойств.
- Синтез витаминов и пищеварительных ферментов.
- Регуляция всасывания, проницаемости и моторики слизистых.
- Синтез H₂, CH₄, NH₃, CO₂ и регуляция газообмена.
- Антиоксический эффект.
- Стимуляция продукции муцина.
- Участие в процессах регенерации слизистой, обмена её билипидного слоя, предотвращение малигнизации клеток.

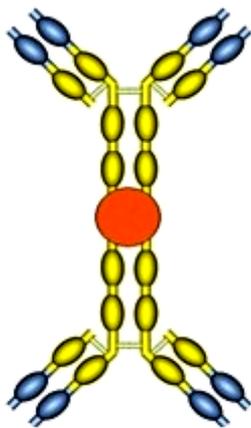


Рис. 22. Секреторный IgA

Секреторный IgA – важнейший фактор мукозальной иммунной системы (рис. 22). Существует два пути регуляции синтеза sIgA:

- 1) Т-зависимый (контролируемый цитокинами Т-клеток, прежде всего IL10);
- 2) Т-независимый (посредством BAFF).

Первоначально IgA секретируется плазматическими клетками как полимерный IgA (pIgA), затем связывается с полимерным иммуноглобулиновым рецептором (pIgR). pIgR – это мембранная часть секреторного компонента (SC), синтезируемого эпителиоцитами. В последующем pIgA транспортируется в просвет органа путём транцитоза и становится sIgA. Секреторный компонент (SC) остаётся какое-то время связанным с димером sIgA, выполняя роль защиты sIgA от протеолиза, и действует как клей при присоединении sIgA к гликокаликсу.

TGF β , IL6, IL10 и BAFF индуцируют переключение синтеза IgM на синтез IgA. Источниками TGF β , IL6, IL10 и BAFF являются эпителиальные клетки, Т-лимфоциты и дендритные клетки.

ФУНКЦИИ sIgA:

1. Задержка микробной адгезии.
2. Нейтрализация вирусов и токсинов.
3. Ингибция каталитической активности микробных ферментов.
4. Противовоспалительное действие.

Противовоспалительное действие sIgA реализуется за счёт малой способности активировать комплемент, способности инактивировать хемотаксис фагоцитов, ингибирования синтеза провоспалительных цитокинов (TNF α , IL1, IL6), стимуляции синтеза IL1ra.

Пространственно мукозальной иммунной системе для осуществления своей активности требуется два сайта: 1) индуктивные и 2) секреторные эффекторные.

Индуктивные сайты состоят из соответствующего отдела МАЛТ, включая фолликулы и околофолликулярные пространства с множеством клеток: В-клетки, Т-клетки, макрофаги, дендритные

клетки, плазматические клетки, ИС, тучные клетки и др. Нативные В- и Т-клетки попадают в МАЛТ через высокие эндотелиальные вены (HEV). В МАЛТ отсутствуют афферентные лимфатические протоки, и экзогенные антигены без какой-либо трансформации проникают со слизистой оболочки в подслизистое пространство через специальные «складчатые» М-клетки («microfold cells»). Субэпителиальные дендритные клетки могут эндоцитировать эти антигены, подвергать процессингу и представлять в комплексе с молекулами HLA лимфоцитам. Затем антигенспецифические дендритные клетки могут мигрировать в региональные лимфатические узлы и инициировать адаптивные иммунные ответы. Индуктивные сайты вместе с региональными лимфатическими узлами – это место иммунных ответов.

Секреторные эффекторный сайты находятся в просвете дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального трактов. Секреторные эффекторный сайты – это место эффекторной активности как врождённого, так и адаптивного иммунитета. Эффекторные клетки и молекулы попадают сюда из индуктивных сайтов и по возвращении из лимфатических узлов.

ЛОР-ОРГАНЫ, КОНЪЮНКТИВЫ, ДЫХАТЕЛЬНЫЙ ТРАКТ

Миндалины – сосредоточение лимфоидной ткани ЛОР-органов и рта (ТАЛТ и НАЛТ) (рис. 23), а также БАЛТ – основной компонент мукозальной иммунной системы ЛОР-органов и дыхательного тракта. Они лишь частично инкапсулированы, не имеют афферентных лимфатических сосудов (табл. 9).

Таблица 9

Особенности лимфатического глоточного кольца
Waldeyer–Пирогова

<i>Миндалины</i>	<i>Отдел МАЛТ</i>	<i>Тип эпителия</i>	<i>Наличие крипт</i>
Глоточная миндалина (аденоиды)	ТАЛТ	Мерцательный цилиндрический	Нет
Трубные миндалины	ТАЛТ	Мерцательный цилиндрический	Нет
Нёбные миндалины	НАЛТ	Многослойный плоский неороговевающий	Есть
Язычная миндалина	НАЛТ	Многослойный плоский неороговевающий	Есть

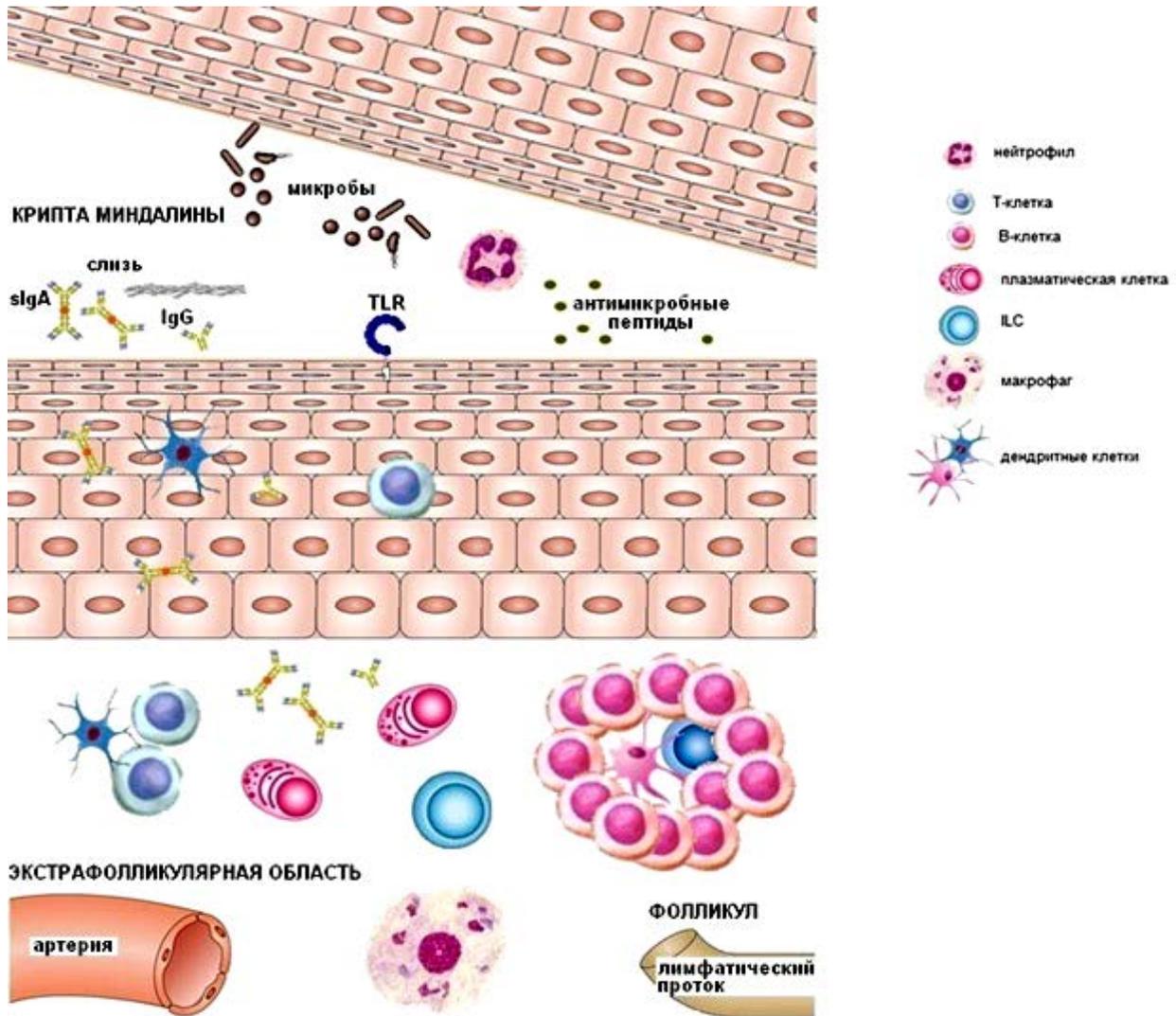


Рис. 23. Клетки иммунной системы в миндалине

Эпителий с иммунокомпетентными клетками – второй важный компонент мукозальной иммунной системы ЛОР-органов и дыхательного тракта.

Крипты – место встречи иммунной системы и микробов – это эффекторный сайт МАЛТ. В пространство крипт постоянно высвобождаются не только sIgA и IgG, но и факторы естественного иммунитета (интерфероны, лизоцим, дефензины, белки комплемента и др.), слизь. Здесь находятся нейтрофилы, много микрофлоры, слизь, детрит.

Эпителий богато васкуляризован, через него проходят высокие эндотелиальные вены. За счёт этого такой эпителий может быть легко инфильтрирован иммунокомпетентными клетками. Эпителиоциты экспрессируют TLR. Эпителий включает М-клетки (подобно КАЛТ), через которые осуществляется транспорт анти-

генов без их деградации, интраэпителиальные лимфоциты (преимущественно CD8 α ⁺ Т-клетки с $\delta\gamma$ TCR) и клетки Лангерганса.

Лимфатические фолликулы в миндалинах также называют нодулями (lymphoid nodules). Это В-зависимые зоны, где находятся В-лимфоциты, фолликулярные дендритные клетки, фолликулярные Т-хелперы (Tfh), происходят В-клеточные ответы с формированием плазматических клеток и синтезом секреторного IgA и IgG (sIgA>IgG). Иммуноглобулины через эпителий высвобождаются в пространство крипт или при их отсутствии в пространство, окружающее миндалину. Миндалины содержат наибольшее число В-лимфоцитов по сравнению с любым лимфоидным органом организма.

В субэпителиальных областях миндалин присутствуют интерстициальные дендритные клетки (ДК) двух субпопуляций: миелоидного происхождения (близкие к клеткам Лангерганса) и плазматоидные ДК. Обе субпопуляции являются незрелыми ДК, вовлечёнными в эндоцитоз и процессинг антигенов. Также здесь присутствуют макрофаги, нейтрофилы, врождённые лимфоидные клетки (ILC), плазматические клетки.

В экстрафолликулярных областях находятся Т-зоны, хотя в целом в миндалинах Т-клеток намного меньше, чем В-клеток. Также здесь имеются интердигитативные ДК и макрофаги, вовлечённые в представление антигенов Т-клеткам. Это место Т-клеточных ответов.

Миграция клеток из НАЛТ и ТАЛТ происходит в шейные и подчелюстные лимфоузлы.

Структура БАЛТ принципиально не отличается от ТАЛТ. Нижние дыхательные пути выстланы однослойным мерцательным цилиндрическим эпителием, в котором присутствуют М-клетки (микроскладчатые, microfold), бокаловидные клетки, интраэпителиальные и субэпителиальные лимфоциты (преимущественно CD8 α ⁺ $\delta\gamma$ Т-клетки), клетки Лангерганса. М-клетки ответственны за транспорт антигенов без их деградации; бокаловидные клетки образуют слизь. В непосредственной близости с эпителием присутствуют интерстициальные ДК, которые разделяются на две субпопуляции: моноцитарного происхождения и плазмоцитоидные. Особенностью является присутствие в подслизистом слое значительного числа тучных клеток и эозинофилов. Фолликулы (В-зоны) содержат В-клетки, фолликулярные ДК, фолликулярные

T-хелперы (Tfh), плазматические клетки. В экстрафолликулярных областях (Т-зонах) присутствуют CD4+ и CD8+ Т-клетки, интердигитативные ДК, макрофаги.

Миграция клеток из БАЛТ происходит в медиастинальные лимфоузлы.

РОТОВАЯ ПОЛОСТЬ

Ротовая полость является зоной активности **НАЛТ**. Важную роль также играют **эпителий** и **слюнные железы**.

Многослойный плоский неороговевающий эпителий покрывает мягкое нёбо, внутренние губы и щёки, дно рта и вентральную поверхность языка. **Слизеобразование**, которое присуще такому виду эпителия, является фактором, направленным против колонизации условно-патогенных и патогенных микробов, включая кариесогенные виды (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus* и др.). Многослойный плоский ороговевающий эпителий покрывает дёсны, твёрдое нёбо и дорзальную поверхность языка. Он имеет следующие слои: базальный, шиповатый, зернистый, роговой. Для такого эпителия характерен другой антиколониционный фактор – **кератинизация (ороговение)**.

Слюнные железы – важный компонент мукозальной иммунной системы полости рта. Существует три пары крупных слюнных желёз: околоушные, подъязычные и подчелюстные, а также малые железы. Все железы имеют сложное гистологическое строение, заключающееся в наличии секреторных, миоэпителиальных, стволовых и других клеток, которые организованы в ацинусы и протоки для прохождения слюны.

Слюнообразование характеризуется образованием слюны – среды, содержащей многие факторы мукозальной иммунной системы полости рта: sIgA, IgG, IgM, лактоферрина, лизоцима, агглютининов, лактопероксидазы, комплемента (табл. 10).

Секретируемая ацинарными эпителиальными клетками первичная слюна является гипотоничной и может быть серозной (в околоушных железах), слизистой (в малых железах) или смешанной (в подъязычных и подчелюстных железах). Из плазмы крови в неё поступают вода, электролиты, белки, метаболиты и гормоны (кортизол, половые и др.), а из слюнных желёз – особые компоненты. Затем через сеть протоков вторичная слюна поступает в ротовую полость.

Состав слюны

Белок	%	Содержание
Муцин MG1	5–20	
Муцин MG2	5–20	
Иммуноглобулины:	5–15	
sIgA		20 mg/100 ml
IgG		1,5 mg/100 ml
IgM		0,2 mg/100 ml
Агглютинины	1–2	
Лизоцим	1–2	2,5–5,0 µg/ml
Лактоферрин	1–2	
Лактопероксидаза	<1	
Дефензины	<1	
Кателицидины	<1	

Большинство этих факторов описывается в подразделе «Фагоцитоз». В слюнных железах находятся многие клетки иммунной системы: дендритные клетки, нейтрофилы, макрофаги, CD4+Т-лимфоциты, В-клетки, плазматические клетки и др.

Зубы представляют собой четвёртый компонент мукозальной

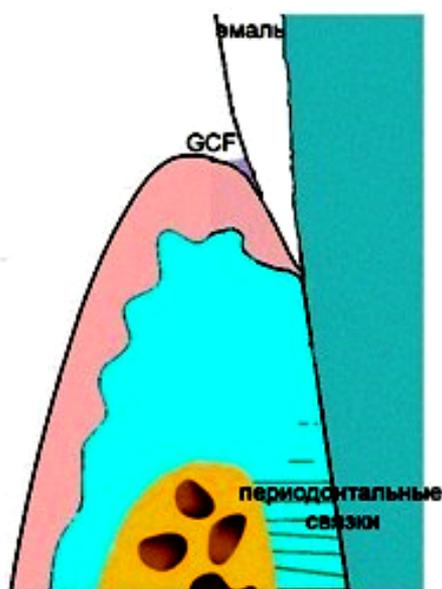


Рис. 24. Иммунная система зуба

Иммунной системы полости рта, поскольку имеют собственный защитный аппарат (эмаль, периодонтальные связки, десневую жидкость) (рис. 24). Эмаль покрыта пелликулой, состоит из кристаллов гидроксиапатита, которые придают ей прочность и непроницаемость для микробов. Сквозь эмаль и дентинные каналы проходят колбовообразные отростки одонтобластов, находящихся в пульпе и ответственных за образование дентина.

Периодонтальная связка (periodontal ligament) представляет собой иммунную мембрану, защищающую пародонт от внедрения болезнетворных микробов (*Porphyromonas gingivalis* и др. строгих

анаэробных пародонтогенных бактерий). Некоторые зубоврачебные манипуляции могут повреждать её.

В эпителии десневой борозды содержатся скопления В-лимфоцитов и плазматических клеток. Десневая борозда – это неглубокое углубление на границе нижней части эмали, которое достигает бесклеточного цемента. Клеточный цемент представлен цементами; их питание осуществляется диффузно из пародонтальных связок. Ороговевающий эпителий десны в районе борозды переходит в неороговевающий и прочно прикрепляется к поверхности эмали, становясь двуслойным на дне десневой борозды. Десневая жидкость (gingival crevicular fluid – GCF) представляет собой продукт не мукозального, а системного иммунитета (табл. 11). Она аккумулируется вокруг шейки зуба, образуясь путём трансудации из капилляров и прилегающего эпителия десны, и содержит клетки крови, антитела, цитокины, ферменты и другие гуморальные факторы. Нормальная скорость образования десневой жидкости у здоровых людей составляет 1–2 мл/сут. Жидкость из десневой борозды постоянно поступает в ротовую полость и смешивается со слюной в соотношении 1:500–1000. При возникновении зубной бляшки, кариеса и развитии пародонтита скорость образования GCF увеличивается.

Таблица 11

Сравнительное содержание клеток в десневой жидкости и крови

<i>Клетки</i>	<i>Десневая жидкость</i>	<i>Кровь</i>
Нейтрофилы	91–97%	45–60%
Моноциты и макрофаги	2–3%	5–10%
Лимфоциты	1–6%	19–37%
Т-клетки	30% от лимфоцитов	55–80%
В-клетки	70% от лимфоцитов	15–19%

ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЙ ТРАКТ

Мукозальная иммунная система ЖКТ состоит из 2 компонентов:

1. Эпителий ЖКТ с иммунологическими элементами;
2. КАЛТ:
 - диффузная лимфоидная ткань пищевода и желудка;
 - пейеровы бляшки тонкого кишечника;
 - солитарные фолликулы толстого кишечника;
 - аппендикс.

Кишечник выстлан однослойным цилиндрическими эпителием, образующим ворсины. Эпителиоциты экспрессируют TLR. В эпителий кишечника встроены М-клетки, бокаловидные клетки, стволовые клетки, интра-эпителиальные лимфоциты, клетки Paneth. М-клетки обеспечивают трансцитоз антигенов в lamina propria без их деградации, где они эндоцитируются антигенраспознающими клетками. Бокаловидные клетки вырабатывают слизь, располагающуюся одним слоем в тонком и двумя слоями (внутренним – 30 μm и внешним – 450 μm) в толстом кишечнике. Клетки Paneth подобны нейтрофилам и функционируют аналогичным образом, обеспечивая почти стерильное состояние крипт между ворсинами. Эти клетки являются особенностью мукозальной системы ЖКТ. Интра-эпителиальные лимфоциты несут преимущественно $\text{CD8}\alpha\alpha^+$ с $\delta\gamma\text{TCR}$. Стволовые клетки являются источниками всех клеток эпителия. Среди эпителиоцитов находятся клетки Лангерганса и другой вариант ДК – плазмоцитоидные.

Лимфатические фолликулы в lamina propria представляют собой В-зависимые зоны, где находятся В-лимфоциты, фолликулярные ДК, фолликулярные Т-хелперы (Tfh). Здесь происходят В-клеточные ответы с формированием плазматических клеток и синтезом секреторного IgA и IgG (**sIgA > IgG**). Иммуноглобулины через эпителий высвобождаются в просвет кишечника и поступают в лимфатические узлы и кровотока.

Лимфатические скопления в пейеровых бляшках, солитарных фолликулах и аппендиксе принципиально не различаются между собой. Диффузная лимфатическая ткань пищевода и желудка представлена рассеянными клеточными элементами (без скоплений).

В субэпителиальных областях lamina propria присутствуют интерстициальные ДК двух субпопуляций: миелоидного происхождения (близкие к клеткам Лангерганса) и плазмацитоидные ДК. Обе субпопуляции являются незрелыми ДК, вовлечёнными в эндоцитоз и процессинг антигенов. Также здесь присутствуют макрофаги, нейтрофилы, врождённые лимфоидные клетки (ILC), плазматические клетки.

В экстрафолликулярных областях находятся преимущественно Т-лимфоциты (Т-зоны), интердигитативные ДК, макрофаги. Здесь происходят Т-клеточные ответы с образованием CD4^+ и

CD8+ Т-клеток. Клетки мигрируют как в лимфатические узлы, так и просвет кишечника.

Миграция иммунокомпетентных клеток из ЖКТ происходит в мезентериальные лимфатические узлы.

УРОГЕНИТАЛЬНЫЙ ТРАКТ

Мукозальная иммунная система урогенитального тракта включает:

1. Эпителий с иммунологическими элементами.
2. КАЛТ (2).

Особенностями мукозальной иммунной системы дистальных отделов урогенитального тракта является отсутствие организованных лимфатических фолликулов в субмукозе, преобладание IgG по сравнению с sIgA, влияние половых гормонов на регуляцию иммунных процессов.

Слизистый секрет содержит флору Doderlein (лактобациллы, бифидобактерии, пептострептококки) – 80–95% всей микрофлоры, H₂O₂, лизоцим и другие антимикробные пептиды, **IgG>sIgA**, нейтрофилы, имеет кислую среду. В норме доля лактобацилл в общей бактериальной массе влагалища (10^8 – 10^{12} КОЕ/мл) составляет *не менее 80%*. Это является общим критерием нормоценоза (эубиоза) влагалища.

Многослойный плоский неороговевающий эпителий, выстилающий дистальные отделы женских половых путей, включает клетки Лангерганса и $\gamma\delta$ Т-клетки (в основном CD8 $\alpha\alpha$ +). Эпителиоциты экспрессируют TLR. Для этого эпителия характерно *слизеобразование*. Многослойный плоский ороговевающий эпителий с фактором *кератинизации* имеется в области полового члена у обрезанных мужчин.

В подслизистом слое находятся макрофаги, НК-клетки, интерфероны, интерстициальные ДК 2-х субпопуляций, CD4+ и CD8+ Т-клетки. Миграция клеток осуществляется в региональные лимфатические узлы (паховые и др.), где происходят иммунные ответы.

БАРЬЕРНЫЙ ЭПИТЕЛИЙ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК

Барьерный эпителий, наряду с мукозо-ассоциированной лимфоидной тканью (МАЛТ, MALT), составляет мукозальную (кожно-мукозальную) иммунную систему. В связи с тем, что он наряду с эпителиальными клетками включает и многие иммунокомпе-

тентные клетки, его целесообразно рассмотреть отдельно и более подробно.

Кожу, твёрдое нёбо и дёсны выстилает *многослойный плоский ороговевающий эпителий*, имеющий важный фактор естественного иммунитета – *кератинизацию (ороговение)*. Своеобразной «ахиллесовой пятой» поверхности кожи является головка полового члена и крайняя плоть у необрезанных мужчин. Эта часть кожи лишена способности к кератинизации и потому является уязвимой для проникновения и распространения многих микробов, включая человеческий папилломавирус.

Многослойный плоский неороговевающий эпителий покрывает мягкое нёбо, внутренние губы, щёки, дно полости рта, вентральную поверхность языка, нёбные миндалины, язычную миндалину, дистальные отделы женского полового тракта. Эпителий богато васкуляризован, через него проходят высокие эндотелиальные вены. За счёт этого такой эпителий может быть легко инфильтрирован иммунокомпетентными клетками.

Глоточная миндалина, трубные миндалины (аденоиды), нижние дыхательные пути, кишечник, проксимальные отделы женского полового тракта выстланы *однослойным цилиндрическим эпителием*.

Для многослойного плоского неороговевающего и однослойного цилиндрического эпителия характерен другой фактор естественного иммунитета – *слизеобразование*. В слизи содержится большое число различных антимикробных белков, sIgA, IgG.

Все виды эпителиоцитов способны экспрессировать TLR, что позволяет распознавать паттерны, ассоциированные с патогенами.

Типичной для барьерного эпителия слизистых оболочек является структура кишечного эпителия (рис. 25).

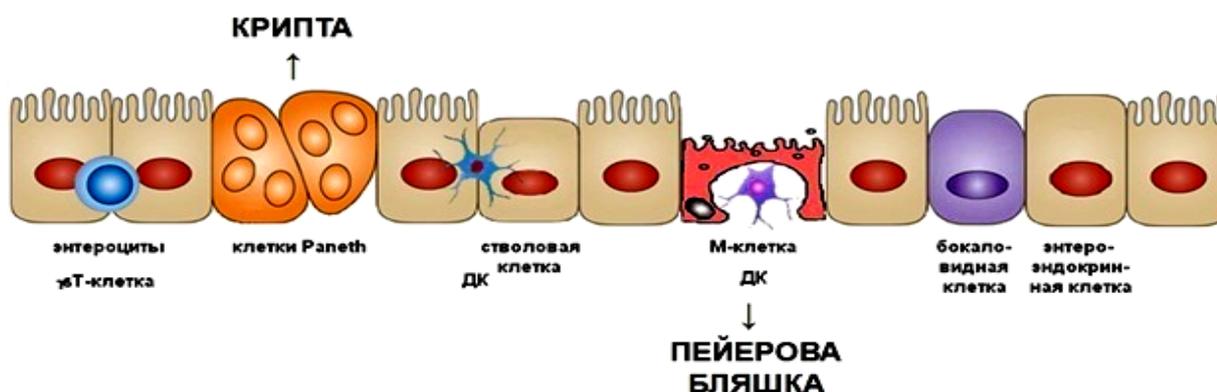


Рис. 25. Клеточный состав эпителия тонкого кишечника

В эпителий кишечника встроены М-клетки, бокаловидные клетки, стволовые клетки, интра-эпителиальные лимфоциты, клетки Paneth. М-клетки обеспечивают трансцитоз антигенов в lamina propria без их деградации, где они эндоцитируются антиген-распознающими клетками. Бокаловидные клетки вырабатывают слизь, располагающуюся одним слоем в тонком и двумя слоями (внутренним – 30 μm и внешним – 450 μm) в толстом кишечнике. Клетки Paneth подобны нейтрофилам и функционируют аналогичным образом, обеспечивая почти стерильное состояние крипт между ворсинками. Эти клетки являются особенностью мукозальной системы ЖКТ. Интра-эпителиальные лимфоциты несут преимущественно CD8 $\alpha\alpha$ + с $\gamma\delta$ TCR. Стволовые клетки являются источниками всех клеток эпителия. Среди эпителиоцитов могут находиться также клетки Лангерганса и другой вариант ДК – плазмацитоидные. Обе субпопуляции являются незрелыми ДК, вовлечёнными в эндоцитоз и процессинг антигенов перед, соответственно, Т-клеточными и В-клеточными ответами.

КОЖА

Кожа (skin) – самый крупный постоянно самообновляемый орган человеческого организма, с массой около 16 % от всей массы тела и площадью 1,8 м². В 1 см³ кожи насчитывается до 3 млн. клеток, около 100 потовых желез, 15 сальных желез. Поверхность кожи покрыта гидролипидной плёнкой (рН 5,0), которая придает кожному покрову мягкость, позволяет ему дышать и осуществлять секрецию кожного сала, предотвращает размножение патогенных микроорганизмов, влияет на трансдермальную потерю воды.

Кожа является периферическим органом иммунной системы (рис. 26). Она представляет собой, прежде всего, физический барьер для проникновения патогенов и аллергенов за счёт ряда белков, наиболее изученным из которых является филаггрин. Большую роль в иммунном гомеостазе кожи играет витамин D3.

Локальная **иммунная система кожи** представлена:

- 1) эпидермисом (кератиноциты, клетки Лангерганса, интра-эпидермальные лимфоциты);
- 2) периваскулярной зоной сосочкового и частично сетчатого слоёв дермы – ДАЛТ, SALT (лимфоидной тканью, ассоциированной с кожей), где находятся Т-лимфоциты, интерстициальные (дермальные) ДК моноцитарного происхождения.

Миграция лимфоцитов и других клеток в кожу (хоминг) осуществляется под влиянием цитокинов CCL17 (TARC) и CCL27 (СТАСК). Из кожи клетки могут мигрировать в региональные лимфатические узлы подкожной клетчатки.

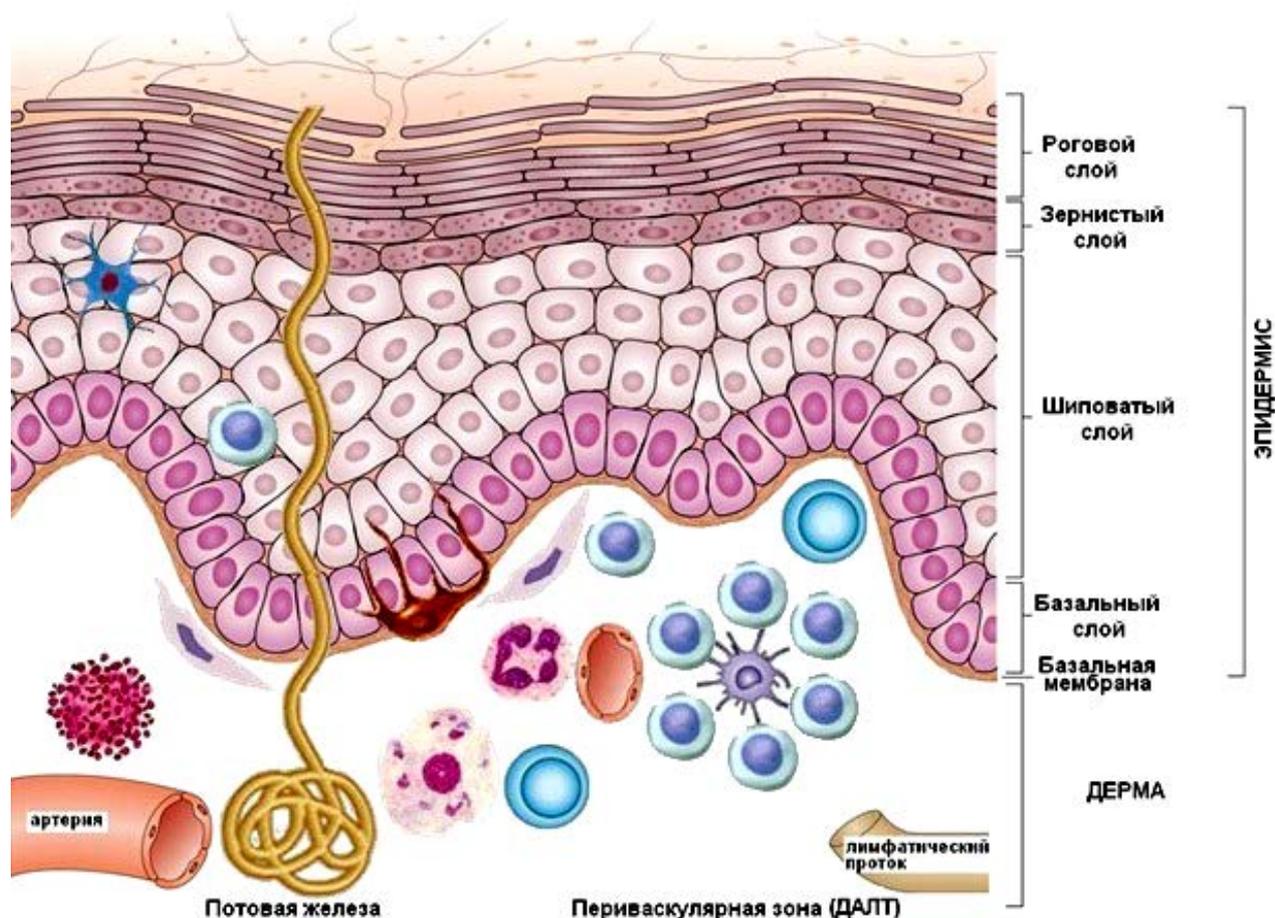


Рис. 26. Клетки иммунной системы в коже

Эпидермис представляет собой многослойный плоский ороговевающий эпителий, обладающий способностью к самообновлению в физиологических и патологических условиях, что обеспечивается популяцией митотически активных клеток (**кератиноцитов**), первоначально находящихся в глубоком базальном слое эпидермиса и в волосяных фолликулах и характеризующихся поэтапными морфологическими, биохимическими изменениями и продвижением наверх.

Кератинизация (ороговение) – специфический процесс дифференцировки кератиноцитов по мере их продвижения к поверхностным слоям кожи и образования кератина. Сама по себе кератинизация является важным защитным процессом, препятствующим колонизации многих микробов на коже.

Наряду с кератиноцитами в эпидермисе также содержатся особые дендритные клетки – *клетки Лангерганса и интра-эпидермальные Т-лимфоциты*.

Дерма, наряду со структурными элементами, в сосочковом и частично сетчатом слоях образует *периваскулярные зоны иммунокомпетентных клеток*, важных для функционирования локальной иммунной системы всей кожи: Т-лимфоциты и разные субпопуляции дендритных клеток. В дерме также находятся *врождённые лимфоидные клетки (ILC), тучные клетки, макрофаги, нейтрофилы, фибробласты, меланоциты*.

Кератиноцит, наряду с его ролью в кератинизации, обладает иммунологическими функциями. Он экспрессирует не только HLA I, но и HLA II, способен к фагоцитозу, процессингу и представлению антигенов, секретирует ряд цитокинов: IL1, IL6, IL8, IFN α , IFN β , TNF α , G-CSF, GM-CSF.

Клетки Лангерганса, субпопуляция дендритных клеток (ДК), генерируют из моноцитов фетальной печени и желточного мешка, маркёры CD1a, CD207 (лангерин). Их отличительной особенностью является наличие гранул Бирбека. Располагаются в эпидермисе, вовлечены в эндоцитоз антигенов и их процессинг. Могут мигрировать в региональные лимфатические узлы, где превращаются в интердигитативные ДК.

Интра-эпидермальные Т-клетки представлены преимущественно CD8 $\alpha\alpha$ + Т-клетками с $\gamma\delta$ TCR.

Т-лимфоциты кожи в 90% находятся именно в периваскулярных зонах дермы, составляя примерно 15% их клеточного состава (без учёта меланоцитов и дермальных дендритных клеток). Среди Т-клеток преобладает фенотип CD45R0+, а именно субпопуляция эффекторных Т-клеток памяти (T_{EM}). Белок CLA (Cutaneous Lymphocyte-Associated Antigen) экспрессируется на T_{EM}, которые находятся в коже в большом количестве как в норме, так и при таких болезнях как атопический дерматит и псориаз. **CLA+Т-клетки** очень характерны для кожи. 99% Т-лимфоцитов несут $\alpha\beta$ TCR и только 1% – $\gamma\delta$ TCR. Присутствуют CD4+Т-хелперы типов 1, 2, 17 и 22.

ILC (включая **НК-клетки**), а также **$\gamma\delta$ Т-клетки** вовлечены в цитотоксические реакции, вырабатывают TNF и IFN γ и участвуют в заживлении ран.

В-лимфоцитов в тканях кожи практически нет, но они есть в кожном кровотоке.

Тучные клетки представлены преимущественно соединительно-тканной популяцией (в отличие от слизистых оболочек, где преобладает атипичная популяция), богатой гистамином, гепарином, простагландином D₂. Они участвуют в дифференцировке Т-хелперов типа 2 путём секреции IL4, при активации вырабатывают также TNF α , IL3, IL5, GM-CSF и IL13. Регулируются Т-хелперами типа 9 через IL9. Важна роль тучных клеток в реализации ранней фазы атопического воспаления (тип I).

Макрофаги кожи играют важную роль в естественном иммунитете, специфических иммунных ответах и заживлении кожных ран. Они могут фагоцитировать микробы и клетки-мишени, а также процессировать антигены и секретировать *цитокины, белки комплемента, матричные металлопротеиназы, метаболиты арахидоновой кислоты, NO и др. кислородные радикалы*. Макрофаги могут активировать фибробласты и кератиноциты. Они участвуют в дифференцировке Th1 за счёт секреции IL12. Активация макрофагов обеспечивается Th1 (IFN γ), а инактивация – Th2 (IL10). Особую роль макрофаги играют в ГЗТ (тип IV). В воспалительных грануломах макрофаги превращаются в гигантские многоядерные клетки.

Дермальные дендритные клетки генерируют из моноцитов, вовлечены в эндоцитоз антигенов и их процессинг. Моноциты при воспалении могут генерировать **воспалительные ДК**.

Из кожи клетки мигрируют преимущественно в шейные, подчелюстные, подмышечные и паховые лимфатические узлы.

ИММУНОЛОГИЯ ГРУДНОГО МОЛОКА

Парные женские молочные железы обеспечиваются защитой через БАЛТ. Грудное молоко вырабатывается лактоцитами молочных желёз под воздействием гормона пролактина. Предварительно в период беременности под влиянием эстрогенов и прогестерона секреторная ткань железы разрастается, протоки начинают ветвиться и на концах образуются альвеолы. Стенки альвеол состоят из секреторных эпителиальных клеток – лактоцитов и слоя миоэпителиальных клеток. Лактация начинается сразу при рождении ребёнка и продолжается от нескольких месяцев до нескольких лет. Грудному молоку и грудному вскармливанию (breast feeding) принадлежит важнейшая роль в росте и всех видах

развитии ребёнка, поскольку молоко имеет не только питательные свойства, но и содержит много клеток и молекул иммунной системы. Оно также существенным образом влияет на становление здорового кишечного микробиома.

Состав грудного молока зависит от многих факторов, включая диету матери, состояние её здоровья, этническую и расовую принадлежность и т. д. В зависимости от периода лактации выделяют молозиво (colostrum), переходное молоко (transitional breast milk) и зрелое молоко (mature breast milk). Принимая во внимание начало и окончание процесса кормления, различают неодинаковые по составу переднее и заднее грудное молоко.

Грудное молоко содержит свыше 400 различных **белков**, которые могут быть разделены на три группы: α -, β - и κ -казеины (α -, β - и κ -caseins), муцины (mucins) и сывороточные белки (whey) (табл. 12).

Казеины (12%) имеют главную питательную ценность, не имеют бисульфидных мостиков и организованы в мицеллий-подобные глобулы. Фракция **κ -казеина** представляет собой субъединицу казеина, гликопротеин, содержащий сиаловую кислоту и способный ингибировать адгезию *Helicobacter pylori* к слизистой желудка ребёнка.

Таблица 12

Главные иммунологически актуальные компоненты
грудного молока

Молекулы	Клетки	Микробиом (род)
κ -казеин	эпителиоциты	Lactobacillus
α -лактальбумин	нейтрофилы	Bifidobacterium
sIgA	макрофаги	Streptococcus
Свободный секреторный компонент (SC)	CD4+ Т-клетки	Enterococcus
Лактоферрин	CD8+ Т-клетки	Staphylococcus
лизоцим	$\gamma\delta$ Т-клетки	Kocuria
лактопероксидаза	В-клетки	Lactococcus
sCD14	nT _{reg}	Pediococcus
Цитокины и хемокины	ILC (NK-клетки и другие)	Propionibacterium
Гаптокоррин		Rothia
Остеопротегерин		Weissella
Гормоны и ростовые факторы		

<i>Молекулы</i>	<i>Клетки</i>	<i>Микробиом (род)</i>
Полиненасыщенные и короткоцепочные жирные кислоты		
Нуклеиновые кислоты		
Олигосахариды (лактоза и др.)		
Витамины		

Муцины образуют белковую оболочку для капель жира. Сывороточные белки представлены в грудном молоке α -лактальбумином, сывороточным альбумином, sIgA, лактоферрином, лизоцимом, лактопероксидазой и многими другими белками, относящимся к молекулам иммунной системы и гормонам.

α -лактальбумин, наряду с питательной ценностью, обладает активностью против многих условно-патогенных бактерий и грибов.

sIgA и **лактоферрин** составляют 25% всех белков грудного молока. Роль sIgA описана выше, а свойства лактоферрина, лизоцима и пероксидазы будут рассмотрены в разделе «Фагоцитоз».

Молекула **sCD14**, дериват макрофагов и лиганд для липополисахаридов бактерий, находится в грудном молоке в концентрации, в 20 раз превышающей содержание в сыворотке крови. sCD14 препятствует колонизации условно-патогенных микробов в кишечнике ребёнка.

В грудном молоке найдены как провоспалительные (**IL1, IL6, IL8, TNF α , IFN γ**), так и противовоспалительные цитокины (**IL10, TGF β**), а также в большом количестве **хемокины семейства CXС** с потенциальным влиянием на нейтрофилы и $\gamma\delta$ T-клетки. О свойствах цитокинов и хемокинов было рассказано ранее.

Гаптокоррин (haptocorrin) обладает свойством связывания витамина B₁₂, который необходим для бактериального роста.

Остеопротегерин (osteoprotegerin) находится в грудном молоке в концентрации, в 1000 раз превышающей содержание в сыворотке крови. Он может связываться с TRAIL, лигандом, опосредующим каспазозависимый апоптоз, особенно в Th1-клетках, что, как полагают, важно для созревания иммунной системы ребёнка.

Содержащиеся в грудном молоке гормоны (**инсулин, пролактин, тироксин, стероиды, лептин, β -эндорфины** и другие) важны для нормального роста, пролиферации и дифференцировки тканей растущего детского организма. Важную роль играют и ростовые факторы: **EGF (Epidermal Growth Factor), NGF (Nerve Growth Factor), TGF α , TGF β , CSF (Colony Stimulating Factors)** и другие.

Жиры составляют 40–55% энергетической ценности грудного молока. Преобладают триацилглицериды (98%), присутствуют диацилглицериды, моноацилглицериды, свободные жирные кислоты, фосфолипиды и холестерин (холестерол). Примерно 2% среди жирных кислот составляют полиненасыщенные жирные кислоты и короткоцепочные жирные кислоты. Полиненасыщенные жирные кислоты очень важны для обмена веществ и обладают противовоспалительным действием. Короткоцепочные жирные кислоты активируют nT_{reg} и гены сапрофитных бактерий кишечника.

Нуклеиновые кислоты стимулируют абсорбцию железа, рост бактерий рода *Bifidobacterium*, влияют на развитие слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта ребёнка, активируют НК-клетки и продукцию IL2.

Олигосахариды (углеводы) грудного молока представлены лактозой, L-фукозой, D-глюкозой, D-галактозой, N-ацетилглюкозаминном и N-ацетилнейраминовой кислотой. Наряду с питательной ценностью, они функционируют как пребиотики, создавая благоприятные условия для становления здорового кишечного микробиома ребёнка. Продукция олигосахаридов генетически детерминирована. Ген *Secretor* кодирует фермент $\alpha(1,2)$ -фукозилтрансферазу (FUT2), который ответственен за $\alpha 1$ -2 связывание фукозы и пролонгацию цепи олигосахаридов. Ген *Lewis* кодирует синтез фермента FUT3, который катализирует включение фукозы в $\alpha 1$ -3/4 связь, что ещё более удлиняет цепь олигосахаридов.

Витамины А, Е, С обладают антиоксидантной активностью и участвуют в метаболических процессах. Также содержатся метаболически важные **витамины группы В, кальций, фосфор, калий, железо, магний** и другие элементы.

Состав **клеток грудного молока** без учёта эпителиоцитов выглядит следующим образом: нейтрофилы (35%), макрофаги (30%), CD4+ Т-клетки (10%), CD8+ Т-клетки (10%), $\gamma\delta$ Т-клетки (10%),

В-клетки (2%), nT_{reg} (1%) и ILC (NK-клетки и другие) (3–4%). Наибольшее число лимфоцитов представлено клетками памяти: CD45RO+ (CD4+ и CD8+ Т-клетки памяти) и IgD⁻ IgM+IgG+IgA+CD27+ (В-клетки памяти). В грудном молоке отмечается баланс Th1 и Th2, в то время как в беременной матке имеется доминирование Th2. Таким образом, в грудном молоке находятся как клетки естественного иммунитета, так и регуляторные и эффекторные лимфоциты, готовые обеспечить при необходимости экспрессные высокоэффективные вторичные адаптивные ответы.

Микробиом грудного молока матери принимает непосредственное участие в формировании здорового кишечного микробиома ребёнка (*Bifidobacteria*, *Lactobacillus*, и *Bacteroides*) и, соответственно, барьерного кишечного гомеостаза. Первоначально полезные бактерии попадают в грудное молоко из разных источников (кишечник и кожа матери, ротовая полость ребёнка). Из организма матери они переносятся клетками иммунной системы, а затем размножаются в грудной железе.

В клиническом исследовании установлено, что приём внутрь бактерий рода *Lactobacillus* грудного молока 6-месячными детьми на 30–45% уменьшает частоту инфекций желудочно-кишечного тракта и верхних дыхательных путей.

Большой интерес представляет сравнение состава молозива и зрелого грудного молока. Как видно из таблицы 13, молозиво является «гипериммунным» по сравнению со зрелым молоком, что крайне важно для преодоления «микробного шока», который испытывает новорождённый, оказываясь в инфекционном окружении после стерильного состояния.

Таблица 13

Состав молозива и зрелого грудного молока

<i>Показатель</i>	<i>Молозиво</i>	<i>Зрелое грудное молоко</i>
Период лактации	0–4 дня после родов	последующие дни (через фазу переходного молока)
Число клеток	10^6 – 10^9 /мл	10^5 /мл
Иммуноглобулины	sIgA, IgM, IgG (следы)	sIgA, IgG (следы)
Содержание sIgA	12 г/л	1 г/л
Содержание IgM	2,5 г/л	–
Содержание лактоферрина	7,0 г/л	1,0 г/л
Содержание лактозы	22 г/л	12 г/л

Глава 3

ЕСТЕСТВЕННЫЙ ИММУНИТЕТ

В.А. Beutler, J.A. Hoffmann и R.M. Steinman получили Нобелевскую премию (2011) за исследования в области естественного иммунитета, открытие TLR и обобщение связи разных механизмов естественного иммунитета и адаптивных иммунных ответов.

3.1. Острофазные белки

«Острофазная» реакция организма на начало воспаления в форме продукции провоспалительных и противовоспалительных белков является одним из механизмов естественного иммунитета. Существует также деление острофазных белков на позитивные (их концентрация при воспалении повышается) и негативные (их концентрация, наоборот, снижается).

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

СРБ (С-реактивный белок) – пентамер из 5 субъединиц, содержание в сыворотке крови в норме до 8 мг/л, при внедрении бактериальных патогенов в течение 6–48 ч увеличивается до 500 мг/л.

Механизмы действия:

1. Прямой антибактериальный эффект за счёт связывания фосфорилхолина цитолемм.
2. Опсонизация бактерий.
3. Запуск классического пути активации комплемента.

МСЛ (маннозо-связывающий лектин) – белок, конформационно подобный C1q, поэтому он может: 1) запускать комплемент по классическому пути, 2) связывать остатки маннозы на бактериальных цитолеммах и 3) является опсоном.

Сурфактантные белки SP-A, SP-D и фиколины L, M и H имеют похожие механизмы.

IL1 β , IL6, TNF α обладают системными воспалительными эффектами: подъём температуры, снижение аппетита, медленно-волновой сон, падение артериального давления, инфекционно-токсический шок. Наиболее агрессивным является TNF α .

C2a, C3a, C4a, C5a – фрагменты активированного компонента, обладают провоспалительной активностью. Наиболее агрессивным является C5a.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

САА-белок (сывороточный амилоидный белок А) – белок, содержание которого в сыворотке крови в норме не превышает 10–20 мг/л, а в острую фазу воспаления – увеличивается в 1000 раз. Он имеет свойство «экстренной повязки» на повреждённых тканях. При патологии – полимеризация и развитие амилоидоза внутренних органов. Отмечается 20-кратное повышение этого белка при беременности и в старости.

α 2-макроглобулин, α 1-антитрипсин увеличиваются в 2–3 раза в острую фазу воспаления, обладают антипротеиназной активностью и способностью связывать IL1 β , IL6, TNF α .

Церулоплазмин увеличивается в 1,5 раза, обладает антиоксидантной активностью; переносит Cu⁺⁺, мобилизует Fe⁺⁺.

Фибриноген – белок, участвующий в свёртывании крови. Увеличивается в 2–3 раза при остром воспалении.

Гаптоглобин увеличивается в 2–3 раза, связывает гемоглобин.

3.2. Система комплемента

Комплемент (complement) представляет собой систему из 40 функционально связанных между собой плазменных белков, способных к последовательному активационному каскаду с конечным неспецифическим цитотоксическим (микробицидным) эффектом. Наряду с кинин-калликреиновой, свёртывающей и фибринолитической системами комплемент входит в состав мега-системы Хагемана. В 1898 г. С. Bordet, будущий Нобелевский лауреат (1919), установил, что сыворотка иммунизированного животного *in vitro* обладает явным бактериолитическим эффектом,

который отменяется прогреванием до 56 °С или простой недельной экспозицией. Позднее было установлено, что это связано с особенной плазменной системой белков, которую назвали «комплементом» (С).

Система комплемента включает 5 групп белков:

1. *Белки-активаторы (начальные компоненты):* С1qrs, С2, С3, С4.
2. *Белки конечной последовательности (терминальные компоненты):* С5, С6, С7, С8, С9.
3. *Факторы альтернативного пути активации:* D, В, Р (пропердин).
4. *Белки-ингибиторы и белки-инактиваторы:* фактор I, карбокси-пептидазы, С4b-связывающий белок (С4bp), S- белок (витронектин), С1-ингибитор (С1-INH), фактор H, DAF (CD55), протектин (CD59), MCP (CD46) и др.
5. *Рецепторы к белкам комплемента:* CR1 (CD35), CR2 (CD21), CR3 (CD11b/CD18), CR4 (CD11c/CD18), С5aR (CD88) и др.

Основными функциями комплемента являются:

- 1) микробицидная (по отношению к бактериям, вирусам, грибам и простейшим),
- 2) онколитическая,
- 3) участие в воспалительных реакциях,
- 4) активация фагоцитоза,
- 5) взаимодействие в другими плазменными системами мега-системы Хагемана,
- б) участие в регуляции иммунных ответов.

Биосинтез белков комплемента происходит в печени, эпителии тонкого кишечника, макрофагах костного мозга и селезёнки. Синтез и потребление, также как и активация и ингибция, находятся в лабильном равновесии. В некоторых случаях полипептидные цепи одного компонента (С1 и С8) синтезируются отдельно и собираются подобно бинарному оружию непосредственно перед секрецией. У плода синтез белков комплемента регистрируется с 6-й недели, а цитолитическая активность – с 10-й недели.

Система комплемента может активироваться по нескольким путям, главными из которых являются **классический** и **альтернативный**. В процессе активации компоненты комплемента расщепляются на фрагменты, более крупный и более мелкий. Эти фрагменты обладают биологической активностью, вызывая боль

(C2a), отёк (C4a), поддерживая воспаление (C3a, C5a), активируя фагоцитоз (C3b), стимулируя хемотаксис нейтрофилов (Ba). В конце каждого пути активации образуется мембранатакующий комплекс (C5b6789...9), который пробуравливает мембраны клеток-мишеней, нарушая осмотическое равновесие цитоплазмы и межклеточной среды (рис. 27).

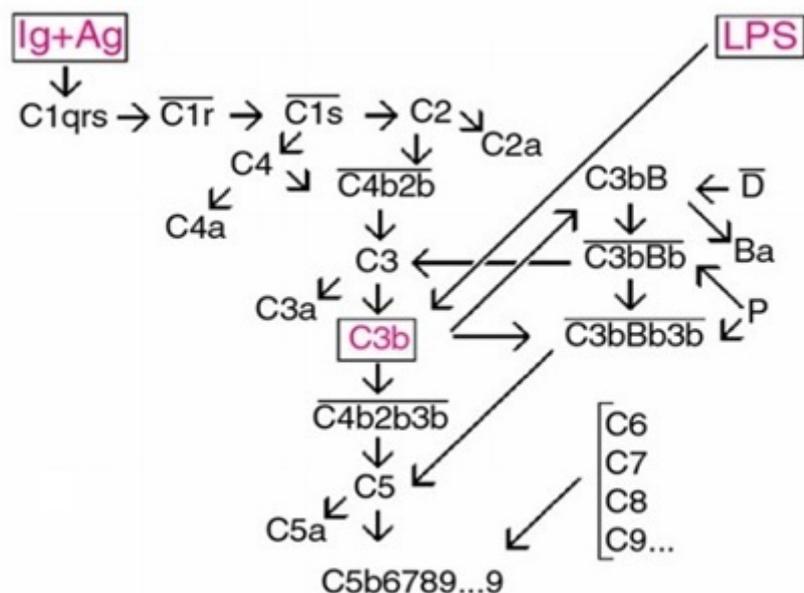


Рис. 27. Каскад активации комплемента

1. Классический путь запускается циркулирующими иммунными комплексами (ЦИК), в состав которых входит IgM или IgG и антиген. Этот путь также может запускаться СРБ, маннозо-связывающим лектином (лектиновый путь), сурфактантными белками SP-A и SP-D. Классический путь имеет большое значение в эффекторных реакциях естественного и адаптивного иммунитета.

C1 имеет сложную «тюльпаноподобную» структуру и состоит из 10 разных молекул: 6 C1q, 2 C1r и 2 C1s. Образование ЦИК меняет конформацию входящих в него иммуноглобулинов, которые фиксируют C1q, что приводит к высвобождению молекул C1r и приобретению ими ферментативных свойств. Субстратами для C1r являются молекулы C1s, которые высвобождаются из C1qrs и также приобретают ферментативные свойства. Субстратами для C1s являются компоненты C2 и C4.

Из схемы активационного каскада комплемента видно, что ключевыми для классического пути являются два фермента – конвертазы:

C4b2b – конвертаза I классического пути;

C4b2b3b – конвертаза II классического пути, а конечным продуктом – мембранатакающий комплекс.

2. Альтернативный путь запускается бактериальными липополисахаридами (ЛПС), денатурированными белками, IgA, IgE, некоторыми лекарствами, клетками, протеиназами (протеиназный путь). Альтернативный путь имеет большое значение в реакциях естественного иммунитета.

ЛПС и другие инициаторы данного пути вызывают высвобождение из C3 исходного «запускающего» количества C3b. C3b связывается с фактором В (относящегося по номенклатуре к активаторам альтернативного пути) в комплекс C3bB, который служит субстратом для другого активатора – постоянно циркулирующей молекулы D, имеющей ферментативные свойства. В дальнейшем в процессе альтернативного пути образуются два ключевых фермента – конвертазы:

C3bBb – конвертаза I альтернативного пути;

C3bBb3b – конвертаза II альтернативного пути, а конечным продуктом, как видно из схемы активационного каскада, также является мембранатакающий комплекс. Роль фактора Р (пропердина) заключается в стабилизации активности конвертаз альтернативного пути. Известно, что он обладает и непосредственным микробицидным действием.

Регуляция комплемента осуществляется за счёт короткого срока жизни фрагментов и с помощью белков-ингибиторов и белков-инактиваторов.

С наследственными дефектами комплемента связаны некоторые болезни: наследственный ангионевротический отёк (**дефицит C1-INH**), пароксизмальная ночная гемоглобинурия (дефицит CD59 и DAF), СКВ-подобные синдромы, гемолитическая анемия (дефициты различных компонентов и регуляторных белков). Считается, что комплементарные дефекты могут ассоциироваться с повышенной чувствительностью к *Neisseria meningitidis*.

3.3. Фагоцитоз

Феномен **фагоцитоза (phagocytosis)** был открыт Нобелевским лауреатом (1908), великим русским учёным И.И. Мечниковым. Нейтрофилы являются самыми быстрыми клетками, которые ми-

грируют к патогену под влиянием хемоаттрактантов: липополисахаридов, С3а, С5а, IL1, IL8, IFN γ , TNF α/β , PAF, LTB4, калликреина и др. При неспецифическом фагоцитозе перед поглощением частица связывается с такими опсонинами (opsonins) как СРБ, МСЛ, С3b, фибриноген и др., которые облегчают её захват. Макрофаги также способны к неспецифическому, но более медленному по сравнению с нейтрофилами поглощению объектов фагоцитоза. Иногда их называют «клетками-мусорщиками».

Основные стадии процесса фагоцитоза следующие:

1. Хемотаксис (chemotaxis).
2. Опсонизация (opsonization) и адгезия (adherence).
3. Эндоцитоз (endocytosis) и цитотоксичность (cytotoxicity).
4. Деградация патогена (pathogen degradation) и экзоцитоз (exocytosis).

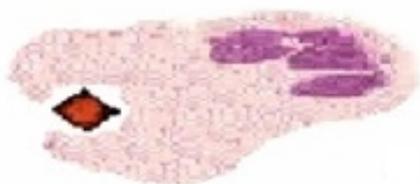


Рис. 28. Образование фагосомы

Хемотаксис – это движение фагоцита по направлению к патогенной частице в градиенте концентрации хемоаттрактанта. В процессе движения фагоциты постоянно меняют свою форму. Как показано выше, **опсонизация** является процессом взаимодействия фагоцита с сывороточным фактором – опсоном.

Фагоцитоз является неспецифическим, если в качестве опсонов служат любые другие вещества кроме антител. С помощью опсонов облегчается процесс **адгезии** объекта фагоцитоза и фагоцита, что приводит к активации мембраны последнего и началу «**респираторного или метаболического взрыва**» («respiratory or metabolic burst»). Уже на этой стадии начинается **микробицидность**. Затем фагоцит с помощью псевдоподий охватывает патогенную частицу и **эндоцитирует** его. Образуется *фагосома* (рис. 28), которая в последующем сливается с лизосомами с формированием *фаголизосом*. В конце концов объект фагоцитоза *разрушается* и *экзоцитируется* во внешнюю среду.

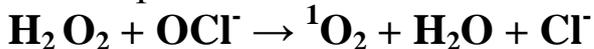
Микробицидный (цитотоксический) потенциал нейтрофилов может быть реализован с помощью **кислородозависимых (oxygen-dependent) и кислородонезависимых микробицидных (oxygen-independent) систем**. При участии кислородозависимых механизмов происходит активация мембраны в ходе «*респираторного или метаболического взрыва*». Реакционные кислород-

ные радикалы: *супероксиданион (superoxide anion)*, *синглетный кислород (singlet oxygen)* и *гидроксильный радикал (hydroxyl radical)* являются короткоживущими токсическими частицами, образующимися при гексозомонофосфатном шунте за счёт повышенного потребления кислорода и глюкозы. Генерация *оксида азота (nitric oxide)* более характерна для макрофагов и служит их главным микробицидным фактором. Эти радикалы индуцируют апоптоз, провоцируют перекисное окисление липидов, инактивируют некоторые ферменты и нарушают синтез ДНК и РНК микробов. Однако респираторный взрыв является потенциально опасным в плане деструкции собственных тканей, поэтому в норме он регулируется *супероксидной дисмутазой, каталазой, неферментными антиоксидантами* (витамины С, Е, А и др.). Ещё один важный микробицидный механизм связан с *системой миелопероксидаза-перекись водорода-галоген (myeloperoxidase-hydrogen peroxide-halide system)*, которая инактивирует микроорганизмы путём галогенизации.

1. Генерация супероксиданиона:



2. Генерация синглетного кислорода:



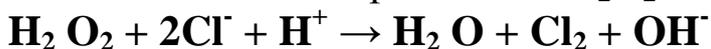
3. Генерация гидроксильного радикала:



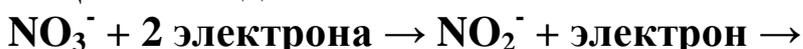
4. Генерация перекиси водорода:



5. Система миелопероксидаза- H_2O_2 -галоген:



6. Цикл оксида азота:



Кислородонезависимые системы связаны с факторами прямого воздействия на микробы. **Лизоцим (lysozyme** или **1,4- β -acetylmuramidase**) деполимеризует мукопептиды, из которых состоят стенки некоторых бактерий, расщепляя 1,4- β -связи между фрагментами пептидогликанов (N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмураминовой кислоты). **Лактоферрин (lactoferrin)** ингибирует активность железосодержащих бактерий за счёт связывания этого элемента и потенцирует эффекты системы миелопероксидаза – перекись водорода – галоген. **α -дефензин (α defensin)**

является неферментным положительно заряженным катионным белком, который взаимодействуя с отрицательно заряженными стенками бактерий, нарушает их целостность. Их синтез снижен при муковисцидозе. Однако, фагоцитоз может быть незавершённым, при этом патоген персистирует. Имеется много иммунологических дефектов, обусловленных фагоцитарными расстройствами (хроническая грануломатозная болезнь, дефекты лейкоцитарной адгезии, синдром «ленивых лейкоцитов» и др.).

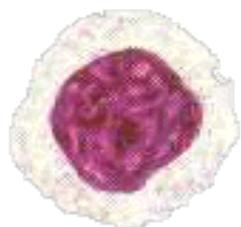
Фагоцитарный процесс сопровождается активацией эпителия, что включает воспалительную реакцию. К сожалению, нейтрофилы сами становятся жертвами своей активности и, как «клетки-камикадзе», погибают в этом процессе, потенцируя воспаление, а за счёт высвобождения ферментов – деструкцию собственных тканей.

Фагоцитоз, который происходит с участием антител, является одним из специфических эффекторных механизмов В-клеток (специфический фагоцитоз). Опсонизация антителами IgM и IgG позволяет макрофагам и нейтрофилам фагоцитировать патогены и нейтрализовать их более эффективно. Посредством такой опсонизации любой патогенный объект превращается в гидрофобную положительно заряженную частицу. Субклассы IgG1 и IgG3 имеют самую высокую опсоническую активность, связываясь с патогеном через Fab-фрагмент, а с фагоцитом – через Fc-фрагмент. Фагоциты экспрессируют высокоаффинные рецепторы RI (CD64), RII (CD32) и RIII (CD16), которые обеспечивают адгезию и последующий эндоцитоз. Элиминация иммунных комплексов достигается по такому же механизму. Эозинофилы могут осуществлять свою антигельминтную активность путём опсонизации с помощью IgE (что может быть также названо антителозависимой клеточной цитотоксичностью), что показано для *Schistosoma larvae*.

3.4. НК-клетки и интерфероны

Цитотоксичность – лизис клеток-мишеней путём апоптоза (без воспаления) под влиянием специализированных клеток и молекул. Неспецифическую цитотоксичность осуществляют субпопуляции **НК-клеток (nature killer cells)**, относящихся к врождённым лимфоидным клеткам (ILC). НК-лимфоциты активируются интерферонами (IFN), IL2, IL15 и другими цитокинами.

Цитостаз – инактивация клеток-мишеней за счёт приостановки биосинтеза белков в них под влиянием специализированных клеток и молекул. Цитостаз осуществляется *интерферонами (IFN)*.



НК-клетки – это большие гранулярные лимфоциты. Основная субпопуляция НК-клеток имеет фенотип $CD16^{hi}CD56^{lo}$. Для осуществления цитотоксической активности принципиально то, что эти клетки обладают двумя типами рецепторов: 1) IR – inhibitory receptors (ингибирующие цитотоксичность) и 2) AR – activating receptors (её активизирующие) (табл. 14).

Таблица 14

Некоторые ингибирующие и активизирующие рецепторы НК-клеток

<i>Рецептор</i>	<i>Название</i>	<i>Лиганд</i>	<i>Активность</i>
KIR	Killer Immunoglobulin-like Receptor	HLA I	Ингибирующий или активизирующий
NKG2/CD94	Natural Killer (lectin-like) Receptor G2/CD94	HLA-E	Ингибирующий или активизирующий
NCR	Natural Cytotoxicity Receptor	Вирусный геммагглютинин	Активирующий
LILR	Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor	HLA I	Ингибирующий
KLRG1	Killer Lectin-like Receptor G1	Кадхерины	Ингибирующий

Большинство этих белков кодируются генами на 19 хромосоме. Характерно, что НК-лимфоциты убивают именно те клетки-мишени, которые в какой-либо момент не экспрессируют молекулы HLA I, распознаваемыми KIR, что является сигналом для активизации KAR (концепция «missing self»).

Клетками-мишенями для НК-клеток являются:

- 1) аутологичные клетки, инфицированные вирусами;
- 2) опухолевые клетки;
- 3) собственные повреждённые и стареющие клетки.

Цитотоксичность реализуется путём апоптоза в течение 30–90 минут. НК-клетки в норме составляют до 10% среди всех лимфоцитов крови. Миграция НК-клеток регулируется хемокинами CCL3-CCL5, CX3CL1.

Интерфероны (interferons, IFN) типа I (α, β) и типа II (γ) являются небольшими белками, которые имеют противовирусный, противоопухолевый, антипролиферативный, радиопротективный и иммунорегуляторный эффекты.

IFN типа I (IFN α и IFN β) продуцируются лейкоцитами, фибробластами и другими клетками и проявляют противовирусную (за счёт подавления репликации вирусов в заражённой и окружающих интактных клетках), иммуномодулирующую (активация цитотоксического потенциала NK- и CD8+T-клеток, стимуляция созревания дендритных клеток и В-лимфоцитов) и преимущественно **противовоспалительную** активность. Индукторами синтеза IFN типа I являются экзогенные «паттерны»: РНК и ДНК вирусов, липополисахариды грамотрицательных бактерий, неметилированные CpG-мотивы ДНК.

IFN типа II (IFN γ) секретируется T- и NK-клетками, имеет более слабый противовирусный и более сильный иммунорегуляторный эффект. Обладает **провоспалительной** активностью.

Для воздействия на клетку-мишень IFN α и IFN β используют рецептор CD118, а IFN γ – CD119. Противовирусная и антипролиферативная активность интерферонов основана на индукции ими в клетках-мишенях специальных энзимов. К настоящему времени известно несколько ферментов, индуцируемых интерферонами внутри клетки, заражённой вирусом. Наиболее исследованы следующие: 1) протеинкиназа R (PKR), 2) 2',5'-олигоденилатсинтетаза в сочетании с рибонуклеазой L (RNase L), 3) ГТФазы белков Mx (Mx protein GTPases). Результатом действия этих ферментов является блокада вирусной транскрипции, деградация вирусной РНК, ингибирование трансляции вирусных белков.

3.5. Образование инфламмасом и пироптоз

Инфламмасома (inflammasome) и связанный с ней **пироптоз (pyroptosis)** являются важными составляющими компонентами простого физиологического и патологических форм воспаления. Инфламмасома – это полипротеиновый комплекс, образующийся в клетках миелоидного ряда при активации каспазы-1, что запускает секрецию клетками провоспалительных цитокинов IL1 β , IL6, IL18 и TNF α и внутриклеточный процесс пироптоза. Пироптоз (от греч. «пиро» – «огонь») – процесс программированной клеточной смерти, отличающийся от апоптоза вовлечением DAMP.

Образование инфламмосомы происходит вследствие сложных многоступенчатых событий, начиная с взаимодействия паттерн-распознающих рецепторов TLR и CLR с «молекулярными паттернами» PAMP и DAMP, которые фагоцитируются с образованием эндосом. Другие рецепторы (NLR, RLR и ALR) способны к распознаванию «молекулярных паттернов», проникающих внутрь, в том числе и через мембранные поры, которые могут создавать микробы, в интрацеллюлярном пространстве. Последующее включение сигнальных путей приводит к экспрессии генов провоспалительных цитокинов и интерферонов типа I (IFN α , IFN β). Одновременно активируется пироптоз и запускается «респираторный взрыв» с образованием сверхокисных кислородных радикалов. Образование инфламмосом – основ воспаления, хорошо регулируется. От качества этой регуляции зависит характер воспаления (табл. 15).

Таблица 15

Простое физиологическое и патологические формы воспаления

<i>Характерные черты</i>	<i>Острое физиологическое</i>	<i>Острое патологическое</i>	<i>Хроническое патологическое</i>
Начало	Быстрое (минуты, часы)	Быстрое (часы)	Медленное (дни)
Продолжительность	Минуты, часы	Часы, дни	Недели, месяцы, годы
Участвующие клетки	Главным образом, нейтрофилы и макрофаги	Главным образом, нейтрофилы и макрофаги	Моноциты, макрофаги, эозинофилы, тучные клетки и лимфоциты
Экссудация	Нет	Есть	Нет
Тромбоз	Нет	Есть	Может быть
Повреждение тканей	Нехарактерно	Может быть тяжёлым и прогрессирующим	Может быть тяжёлым и прогрессирующим
Развитие рубцовой ткани	Нет	Нет	Есть
Ангиогенез	Нет	Нет	Да
Местные и системные симптомы	Отсутствуют	Существенные	От малозаметных до существенных
Потребность в лечении	Нет	Да	Да
Угроза жизни	Нет	Может быть	Может быть

Глава 4

АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ

4.1. Общая характеристика адаптивных иммунных ответов

Иммунный ответ (immune responses) – взаимодействие клеток иммунной системы в связи с внедрением антигена (называемого **иммуногеном**), которое приводит в конечном итоге к удалению этого антигена из макроорганизма и формированию иммунной памяти к нему.

Суть такого взаимодействия состоит в антигензависимой дифференцировке или прайминге лимфоцитарного клона до его способности к эффекторным функциям. Иммунный ответ является специфическим, но не изолированным процессом, который протекает только в периферических органах иммунной системы. Как правило, он сопровождается **реакциями естественного иммунитета** (такими, как фагоцитоз, активация комплемента, НК-клеток и т. д.). В целом все клетки, участвующие в иммунном ответе, могут быть разделены, как уже было сказано в разделе 1.3, на антигенпредставляющие, иммунорегуляторные, эффекторные и клетки памяти.

Нативные антигены внешней среды инициируют естественные, физиологические иммунные ответы. Память при таких ответах, как правило, пожизненная. Вакцины и анатоксины в ходе иммунизации вызывают искусственные иммунные ответы и искусственную иммунную память, длительность которой исчисляется годами. Целью современной биотехнологии является разработка вакцин с максимально долгой (если возможно, то пожизненной) иммунной памятью.

Естественные иммунные ответы на безусловно-патогенные инфекции, если нет иммунодефицитного состояния, носят характер **эрадикационных (immune clearance)**, т. е. патоген уничтожа-

ется в макроорганизме полностью и в последующем к нему формируется пожизненная память. Иммунные ответы вследствие реактивации условно-патогенной инфекции, являющейся неотъемлемой частью макроорганизма (например, стафилококки, стрептококки, клебсиеллы и др.), – по своему характеру **сдерживающие (immune containment)**, так как их эффекторная, «рабочая» фаза продолжается до нескольких месяцев.

Иммунные ответы на аллергены и аутоантигены (эндоантигены) являются **патологическими** и приводят к формированию хронического иммунного воспаления. Такие ответы являются медицинской проблемой.

Иммунологическая толерантность – противовес активному иммунному ответу, «специфическое молчание» на антиген. Он называется в этом случае **толерогеном**. Естественная толерантность наблюдается в отношении аллергенов, пищевых белков, аутоантигенов, антигенов нормальной микробиологической оболочки тела и у женщин – относительно антигенов сперматозоидов мужчины.

СТАДИИ АДАПТИВНЫХ ИММУННЫХ ОТВЕТОВ

1. Эндоцитоз антигена, его обработка внутри антигенпредставляющей клетки (**процессинг**), загрузка на белки HLA I или HLA II и представление лимфоцитам
2. **«Двойное распознавание»**
3. Сигнальная трансдукция и **активация лимфоцитарного клона**
4. Пролиферация лимфоцитарного клона (**клональная экспансия**)
5. Созревание клеток клона (**дифференцировка**) до способности выполнять эффекторные функции и образование клеток памяти
6. **Эффекторная активность** – «работа» клеток клона по эрадикации или деактивации антигена

Типы (направления, пути) адаптивных иммунных ответов нами уже были указаны ранее, в разделе 1.1. Однако здесь нами будет дана их более развёрнутая характеристика.

ТИПЫ ИММУННЫХ ОТВЕТОВ

В-клеточные (гуморальные) ответы

1. Простой В-клеточный ответ – образование антител класса IgM без формирования долговременной памяти.
2. Развёрнутый В-клеточный ответ – образование антител классов: IgM, IgG, IgA, IgE и В-клеток памяти.

Т-клеточные ответы

1. Т-клеточный ответ с образованием цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов (Т-киллеров) и CD8+ Т-клеток памяти.
2. Т-клеточный ответ с образованием CD4+ Т-клеток эффекторов воспаления (ГЗТ) и CD4+ Т-клеток памяти.

Простой В-клеточный ответ запускается не только антигенами, но и «паттернами», являющимися частью внеклеточно-расположенных патогенов, включая условно-патогенные микробы. В результате долгосрочная иммунная память не развивается, а эффекторная активность обусловлена ранними антителами класса IgM.

Развёрнутый В-клеточный иммунный ответ инициируется антигенами внеклеточно расположенных патогенов, протекает с участием CD4+Т-хелперов 2-го типа, включает синтез всех классов антител, включая высоко-аффинные IgG, имеющие высокую эффективность. В результате формируется долговременная иммунная память за счёт В-клеток памяти.

CD8+ Т-клеточный ответ развивается преимущественно на антигены вирусных патогенов. В ходе этого типа ответа требуется «помощь» CD4+Т-хелперов 1-го типа. Эффекторную роль выполняют цитотоксические CD8+Т-лимфоциты, включающие механизмы апоптоза собственных клеток организма, инфицированных вирусом. При этом не происходит запуска воспалительного процесса, а вирус уничтожается. Носителями долговременной иммунной памяти являются CD8+ Т-клетки памяти.

CD4+ Т-клеточный ответ развивается на разнообразные внутриклеточные патогены. Наивные CD4+Т-клетки соответствующего клона в начале выступают как Т-хелперы 1-го типа, в последующем они созревают до эффекторных CD4+Т-клеток воспаления. Носителями долгосрочной иммунной памяти являются формирующиеся в ходе ответа CD4+ Т-клетки памяти.

*** *Анимации по каждому типу иммунного ответа представлены на сайте ssmu.immunology.sibhost.ru*

4.2. Процессинг антигена

Антигенпредставляющие клетки (дендритная клетка, макрофаг и В-лимфоцит) первыми сталкиваются с нативным антигеном и эндоцитирует его. Дендритные клетки, являясь самыми профессиональными антигенпредставляющими клетками, «отлавливают» и пиноцитируют большинство антигенов повсюду и загружают их эпитопы на HLA I и HLA II. Макрофаги фагоцитируют большие либо внутриклеточно расположенные антигенные объекты: бактерии, грибы, простейшие и т.д. и загружают их эпитопы на HLA II. В-клетки пиноцитируют различные токсины и загружают их эпитопы также на HLA II.

Следующее событие, **процессинг (processing)**, предполагает разборку молекулы антигена внутри антигенпредставляющей клетки. Процессированный антиген приобретает иммуногенные свойства, так как экспрессируется на поверхности клетки в комплексе с молекулами HLA I или HLA II, то есть в форме, доступной для распознавания Т-клетками.

Имеются два пути процессинга антигена в зависимости от его типа (рис. 29):

1. **Путь HLA II** – для экзогенных антигенов (участвуют все виды антигенпредставляющих клеток).

2. **Путь HLA I** – для эндогенных антигенов, включая внутриклеточно расположенные антигены микробного (вирусного) происхождения (участвуют только дендритные клетки).

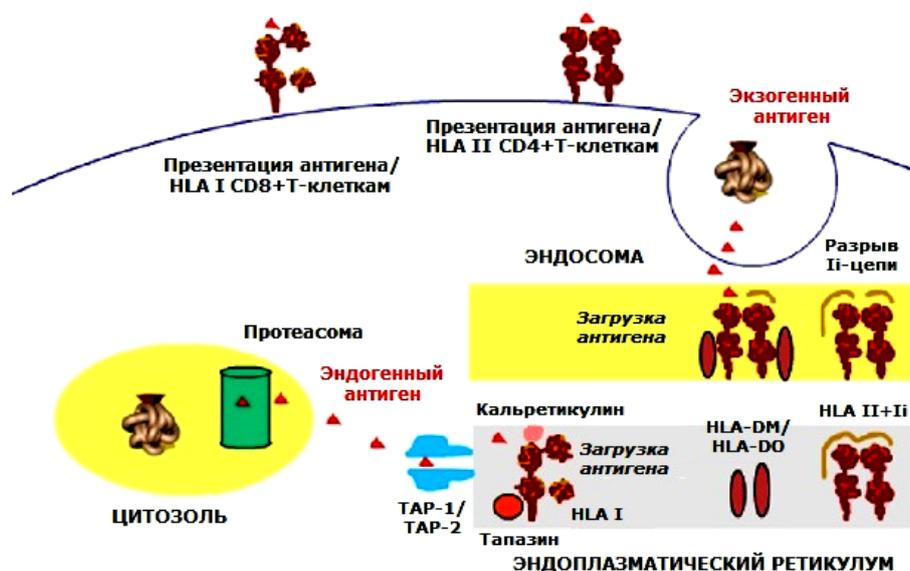


Рис. 29. Процессинг антигенов

ПУТЬ ПРОЦЕССИНГА, СВЯЗАННЫЙ С HLA II

Этот путь предполагает процессинг экзогенных антигенов, которые презентруются в ассоциации с молекулами HLA II наивным CD4⁺ Т-клеткам и В-клеткам. Сначала такие нативные антигены эндоцитируются и расщепляются протеолитическими энзимами в *эндосомах (лизосомах)*. В это время молекулы HLA II в ассоциации с инвариантной цепью (Ii) синтезируются и собираются в *эндоплазматическом ретикулуме*. Шаперон Ii-цепь, включая CLIP-область, необходима для защиты желобка молекулы HLA до того момента, пока антиген не будет загружен. Затем комплекс HLA II/Ii-цепь транспортируется в эндосомы, где Ii-цепь утрачивается, а другие шапероны, HLA-DM и HLA-DO, комплексуются с молекулой HLA II, чтобы стабилизировать «пустоту» желобка последней до момента загрузки антигена. Когда молекула HLA II связывается с антигенным пептидом, весь комплекс транспортируется на поверхность клетки.

ПУТЬ ПРОЦЕССИНГА, СВЯЗАННЫЙ С HLA I

Эндогенные и внутриклеточно расположенные антигены микробного происхождения загружаются на молекулы HLA I для представления наивным CD8⁺ Т-клеткам. Сначала, в противоположность экзогенным антигенам, такие цитоплазматические антигены перемещаются в **цитозоль**, где они расщепляются в крупном протеолитическом комплексе, **протеасоме**, который состоит из трёх компонентов (LMP-2, LMP-7 и MECL-1). После этого антигенные пептиды транспортируются через «туннель» TAP-1/TAP-2 в **эндоплазматический ретикулум**. В то же самое время здесь синтезируются молекулы HLA I, чей желобок находится под «защитой» шаперонов **калнексина**, затем **кальретикулина**, и комплексуется с разными другими шаперонами типа тапазин и др. Затем антигенный пептид загружается на желобок HLA I, и весь комплекс транспортируется на клеточную поверхность.

4.3. Сигналы распознавания

Многие антигены попадают внутрь человеческого тела, но для включения специфических адаптивных иммунных ответов Т- и В-клетки соответствующего клона должны встретиться с антигенпредставляющей клеткой, презентующей соответствующий антиген. «Паттерны» и некоторые антигены распознаются

В-клетками, что не требует помощи со стороны Т-хелперов (просто В-клеточный ответ). Большинство антигенов распознаётся по «полной программе» наивными CD4+ Т-хелперами 1-го типа, наивными CD8+ Т-клетками (чтобы включить Т-клеточные ответы или путь Т-хелперов-1) и наивными CD4+ Т-хелперами 2-го типа (для запуска развёрнутого В-клеточного ответа или пути Т-хелперов-2).

ТИПЫ СТИМУЛОВ

Распознавание в ходе иммунного ответа предполагает восприятие лимфоцитами трёх типов сигналов: одного специфического и двух неспецифических:

1. Антигенный пептид, загруженный на HLA I или HLA II.
2. Цитокины.
3. Костимуляторные/коингибиторные молекулы (эрготипы).

Комплекс антигенный пептид/HLA I или HLA II представляет собой необходимый специфический сигнал (**1-й сигнал**). Секретируемые цитокины и костимуляторные молекулы, экспрессированные на антигенпредставляющей и антигенраспознающей клетках, являются двумя неспецифическими сигналами. Более того, требуется также взаимодействие между адгезивными молекулами для обеспечения устойчивого контакта между клетками.

РАСПОЗНАВАНИЕ КОМПЛЕКСА АНТИГЕН/HLA I или HLA II

Специфический TCR распознаёт антиген, а корцепторы CD4+ или CD8+ - HLA II или HLA I как синхронный специфический стимул. Это так называемое «**двойное распознавание**» (**dual recognition**), т. е. одновременное распознавание «своего» и «не своего». Этот универсальный феномен был открыт Нобелевскими лауреатами (1996) P.C. Doherty и R.M. Zinkernagel.

Контактная зона между TCR и комплексом антиген/HLA I или HLA II называется «**иммунологическим синапсом**». Ассоциированная с TCR молекула CD3 ответственна за трансдукцию сигналов состоявшегося распознавания внутрь распознающей клетки и реэкспрессию TCR.

Специфический BCR В-клетки распознаёт антиген, а корцепторы CD19/CD21/CD81 – соответственно HLA II. Молекулы Igα(CD79a)/Igβ(CD79b), ассоциированные с BCR, способствуют проведению сигнала внутрь В-клетки и реэкспрессию BCR на В-клетке, т. е. функционируют подобно молекуле CD3 на Т-клетках.

На следующих схемах (рис. 30–33) представлено взаимодействие клеток при распознавании, а также все три типа сигналов.

Т-ХЕЛПЕР-1-ЗАВИСИМЫЕ ПУТИ

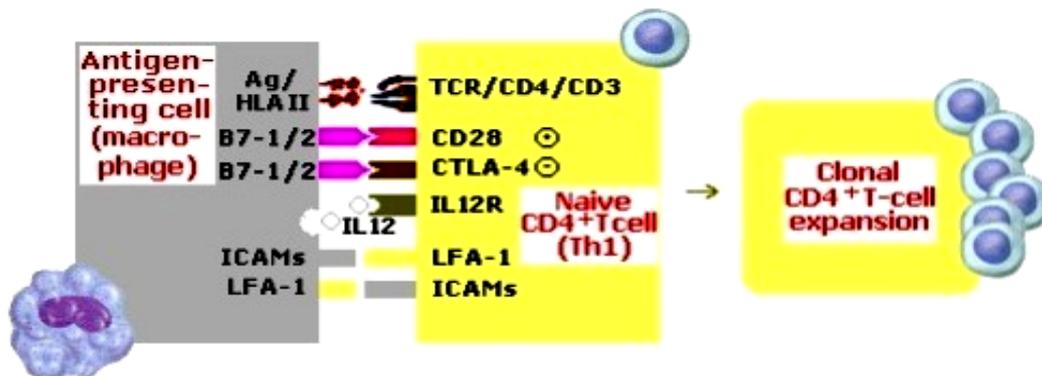


Рис. 30. Распознавание наивными CD4+Т-клетками (Th1)

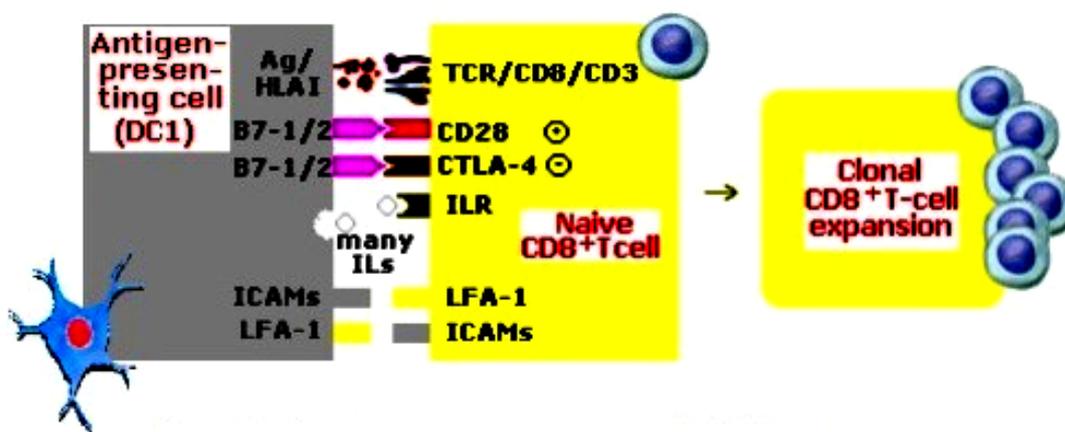


Рис. 31. Распознавание наивными CD8+Т-клетками

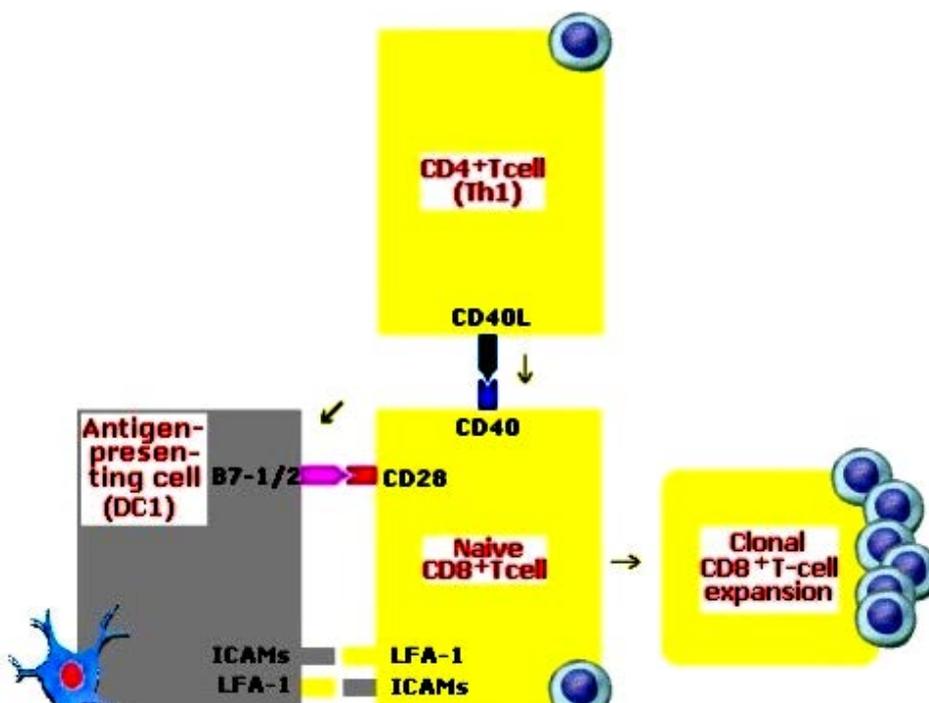


Рис. 32. «Помощь» наивным CD8+Т-клеткам со стороны CD4+Т-клеток (Th1)

Т-ХЕЛПЕР-2/Tfh-ЗАВИСИМЫЙ ПУТЬ

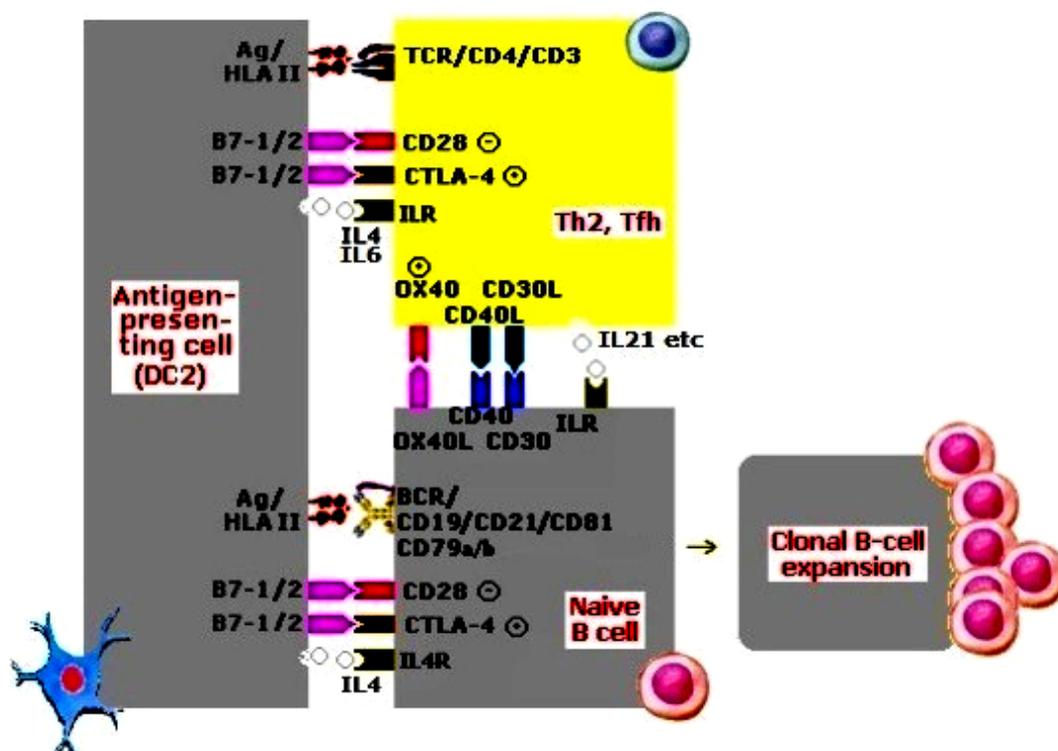


Рис. 33. Распознавание наивными В-клетками с «помощью» CD4+Т-клеток (Th2/Tfn)

РОЛЬ КОСТИМУЛЯТОРНЫХ МОЛЕКУЛ

Костимуляторные/коингибиторные молекулы обеспечивают **2-й сигнал**. Молекулы семейства В7, В7-1 (CD80) и В7-2 (CD86) могут взаимодействовать с двумя контррецепторами: 1) через молекулу CD28, стимулируют Th1 и ингибируют Th2; 2) через молекулу CTLA-4 (CD152), стимулируют Th2 и ингибируют Th1.

Костимуляторная молекула CD40, взаимодействуя со своим лигандом, CD40L (CD154), стимулирует В-клеточную экспансию, синтез иммуноглобулинов и переключение их изотипов. Вероятно, такой же результат имеет связывание CD30 с CD30L (CD153). С другой стороны, обратный сигнал от В-клеток Т-клеткам при взаимодействии OX40L (CD252) с OX40 (CD134) приводит к пролиферации Th2/Tfh. Молекула CD22, которая присутствует только на зрелых В-клетках, обеспечивает ингибирующий сигнал для гуморального ответа.

В настоящее время описано много костимуляторных/ коингибиторных молекул (табл. 16).

Некоторые костимуляторные/ коингибиторные молекулы

<i>Молекула</i>	<i>Экспрессия на лимфоцитах</i>	<i>Лиганды</i>
CD28	CD4+Т-клетки, CD8+Т-клетки, В-клетки	B7-1, B7-2
CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4) (CD152)	CD4+Т-клетки, CD8+Т-клетки, В-клетки	B7-1, B7-2
ICOS (Inducible T-cell Costimulator) (CD278)	CD4+Т-клетки, CD8+Т-клетки	B7-H2
BTLA (B and T Lymphocyte Attenuator)	CD4+Т-клетки, CD8+Т-клетки, В-клетки	HVEM (Herpes Virus Entry Mediator)
CD40L (CD154)	CD4+Т-клетки	CD40
CD40	В-клетки	CD40L (CD154)
OX40 (CD134)	CD4+Т-клетки, CD8+Т-клетки	OX40L (CD252)
CD30	CD4+Т-клетки, CD8+Т-клетки, В-клетки	CD30L (CD153), TRAFs
CD27	CD4+Т-клетки, CD8+Т-клетки, В-клетки	CD70
SLAM (Signaling Lymphocytic Activation Molecule) (CD150)	CD4+Т-клетки, CD8+Т-клетки	SLAM (Signaling Lymphocytic Activation Molecule) (CD150)
2B4 (CD244)	CD4+Т-клетки, CD8+Т-клетки	CD48
CD48	В-клетки	2B4 (CD244)

РОЛЬ ЦИТОКИНОВЫХ СИГНАЛОВ

Т- и В-лимфоциты получают неспецифические цитокиновые стимулы не только от антигенпредставляющих, но и других клеток (**3-й сигнал**). Обратный сигнал, как например через $IFN\gamma$, способствует поддержанию экспрессии HLA I и HLA II на поверхности антигенпредставляющих клеток. Цитокины, стимулирующие

иммунный ответ на ранних стадиях, могут быть разделены на две группы в зависимости от Th1- или Th2-профиля соответственно:

1) IL12, IL2, IL18, IFN γ , TNF α и TNF β (от макрофагов, дендритных клеток, NK-клеток);

2) IL4 (от дендритных клеток, В-лимфоцитов, тучных клеток).

Цитокины действуют, соединяясь со своими рецепторами на антигенраспознающих клетках.

На следующих этапах (рост, дифференцировка, переключение изотипов антител) регулирующее влияние оказывают и другие цитокины.

РОЛЬ ДРУГИХ АДГЕЗИВНЫХ МОЛЕКУЛ

Адгезивные молекулы типа β_2 -интегрин LFA-1 (CD11a/CD18) и его контррецепторы ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102), ICAM-3 (CD50) обеспечивают длительный устойчивый контакт между клетками.

4.4. Активация лимфоцитарного клона и клональная экспансия

СИГНАЛЬНАЯ ТРАНСДУКЦИЯ И АКТИВАЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ

Для **активации клона** специфические и другие сигналы, чтобы иметь последующую эффективность, должны быть преобразованы и усилены внутри принимающей клетки серией реакций. При контактах «антиген-клетка» и «цитокин-клетка» данный лимфоцит активируется и инициирует клональную экспансию других клеток, секрецию ими цитокинов и хемокинов, а также рост моноцитов и гранулоцитов. Проведение сигнала внутрь называется **сигнальной трансдукцией (сигналингом)**, которая имеет следующие стадии:

1. Активация каскада тирозинкиназ (состав уникален для каждой пары лиганд-рецептор!).
2. Вовлечение адаптерных протеинов).
3. Включение первичных сигнальных путей (например, цикла фосфатидилинозитол дифосфата).
4. Транскрипция гена (например, IL2).

Обычно при Т- и В-клеточных ответах активируется не более 0,0001–0,001% от числа всех лимфоцитов. TCR и BCR имеют короткие цитоплазматические хвосты и у них отсутствует фермент-

ная активность. Для проведения сигнала внутрь клеток помогают молекулы CD3 или Igα/Igβ, которые имеют участки ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activating motif), чьи тирозиновые остатки фосфорилируются тирозинкиназами разных семейств.

При Т-клеточном сигналинге в процесс вовлекаются тирозинкиназы Syk, Zap70 и p56^{lck}, которые через адаптерные белки LAT, SLP76, SLP-65/BLNK включают несколько первичных сигнальных путей. Эти пути приводят к транскрипции гена IL2 и пролиферации (митозам) Т-клеток. В первом случае мембранный фосфолипид фосфатидилинозитол дифосфат гидролизуется АТФ-зависимой фосфолипазой Cγ1 (PLCγ1) с образованием инозитол трифосфата и диацилглицерола. Эти продукты соответственно вызывают повышение внутриклеточного содержания Ca²⁺ и активируют протеинкиназу С. Среди эффектов протеинкиназы С выделяется активация ядерных транскрипционных факторов (NF-κB, AP-1, NFAT) для гена IL2. Второй сигнальный путь подразумевает активацию Ras/Rho ГТФаз с помощью фактора Vav, что играет важную роль в пролиферации и дифференцировке Т-клеток.

В-клеточный сигналинг в целом сходен с Т-клеточным, но имеет некоторые особенности. Имеют значение тирозинкиназы Syk и Vtk, адаптерный белок BLNK и фосфолипаза Cγ2 (PLCγ2).

Большую роль в раскрытии механизмов сигнальной трансдукции принадлежит Нобелевскому лауреату (1999) G. Blöbel.

КЛОНАЛЬНАЯ ЭКСПАНСИЯ Т-КЛЕТОК

Клональная экспансия Т-лимфоцитов происходит в паракортикальных зонах лимфатических узлов, периартериолярных пространствах селезёнки и околофолликулярных областях МАЛТ. Клетки, распознавшие антиген, пролиферируют и превращаются в лимфобласты. Если CD8⁺ Т-лимфоциты создают большой клон клеток быстро, то CD4⁺ Т-лимфоциты пролиферируют более медленно. Клональная экспансия регулируется разнообразными цитокинами (IL2, IL7, IL9, IL12, IL15, IFNγ, TNF и т. д. – для CD4⁺Th1 и CD8⁺Т-клеток, а IL2, IL7, IL9, IL15, IL4 – для CD4⁺Th2). IL2 играет ключевую роль как фактор роста и для Т- и для В-клеток. Молекула CD28 оказывает стимулирующее, CTLA-4 – ингибирующее действие на пролиферацию CD4⁺ Т-клеток (Th1) и CD8⁺ Т-клеток.

КЛОНАЛЬНАЯ ЭКСПАНСИЯ В-КЛЕТОК

Для активации и клональной экспансии В-клеток необходимо перекрёстное соединение антигена с несколькими ВСР. Клональная экспансия В-лимфоцитов происходит в фолликулах (зародышевых центрах) лимфатических узлов, селезёнки и МАЛТ. В фолликулах они распознают антиген, представляемый фолликулярными дендритными клетками, вступают в митоз, формируя вторичные фолликулы (центробластная стадия). Рост В-клеток стимулируется цитокинами (IL2, IL4, IL5, IL6, IL10, IL13, IL21, IFN γ , TNF и др.), регулируется фолликулярными Т-хелперами (Tfh), близкими к Th2. Затем центробласты начинают превращаться в centroциты, которые мигрируют во внешние зоны фолликулов (centroцитарная стадия). Повышение аффинности ВСР происходит за счёт соматических мутаций. Имеет место положительная селекция В-клеток с высоко-аффинными ВСР и отрицательная селекция клеток, имеющих низко-аффинные рецепторы.

Если ВСР и цепь CD19 корецептора распознающей В-клетки соответствуют антигену и CD23 (на представляющей фолликулярной дендритной клетке), происходит экспрессия молекул семейства bcl-2, что предотвращает апоптоз В-клетки. В случае негативной селекции В-клетка подвергается апоптозу.

4.5. Дифференцировка лимфоцитов (завершение прайминга)

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА Т-КЛЕТОК

Созревание Т-лимфоцитов происходит в периферических органах иммунной системы, где предшественники Т-эффекторов под влиянием цитокинов дифференцируются в эффекторные CD4+ Т-клетки воспаления, эффекторные цитотоксические CD8+ Т-клетки, CD4+ и CD8+ клетки памяти. Одни и те же цитокины стимулируют рост и созревание Т-клеток.

По ходу дифференцировки Т-клеток нет изменений в их морфологии, но постепенно меняется их фенотип: усиливается экспрессия некоторых адгезивных молекул (**LFA-1, CD2, LFA-3**), появляется экспрессия **VLA-4**, у части – утрачиваются **L-селектины**. Наконец, к 10-му дню клинических проявлений инфекционного эпизода они превращаются в эффекторные клетки, TCR которых имеют аффинность по отношению к антигену, сов-

падающую с исходной. CD8+ Т-клетки созревают быстрее, чем CD4+ Т-клетки. Продолжительность жизни эффекторных Т-лимфоцитов составляет несколько дней.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА В-КЛЕТОК

Созревание В-клеток начинается в лимфатических фолликулах, а заканчивается в костном мозге. Некоторые В-клетки мигрируют в МАЛТ для синтеза секреторного IgA. Дифференцировка В-клеток характеризуется последовательными морфологическими изменениями: **иммунобласт, лимфоплазмоцитоидная и плазматическая** клетки. Последняя является антителопродуцентом.

Экспериментально показано, что иммунизация антигеном с одним и тем же эпитопом приводит к синтезу антител различных изотипов. В начале наблюдается продукция IgM с пиком на 2–3-й дни острой инфекции. Все эти антитела имеют низкую аффинность по отношению к антигену. Затем появляются низкоаффинные IgG, которые постепенно превращаются в высокоаффинные с пиком на 5–7-й дни. Переключение изотипа зависит от влияния цитокинов (табл. 17) и костимуляторных молекул.

Таблица 17

Цитокиновая регуляция переключения синтеза изотипов антител

Регуляторные клетки	Т-хелпер типа 2		Т-хелпер типа 1		Т-хелпер типа 2	
	Секретируемые цитокины	IL4, IL5, IL6, IL13	IL4, IL6, IL10	IFN γ , TNF	TNF	IL5, IL6, IL10
Изотипы (классы) иммуноглобулинов	IgM	IgG1	IgG2, IgG3	IgA	IgA	IgE, IgG4

Продолжительность жизни эффекторных В-лимфоцитов и плазматических клеток составляет несколько дней.

КЛЕТКИ ПАМЯТИ

Существует четыре типа клеток памяти: CD4+ Т-клетки памяти, CD8+ Т-клетки памяти, В-клетки памяти и долгоживущие плазмоциты. Т- и В-клетки памяти живут пожизненно, а долгоживущие плазматические клетки - около 1,5 лет, обеспечивая дополнительный механизм поддержания синтеза антител.

Т-клетки памяти отличаются особым фенотипом: **CD45RO+** (у наивных Т-клеток - CD45RA+), VLA-4^{hi}, CD44^{hi}, LFA-1^{hi}, CD2^{hi}, LFA-3^{hi}, имеют быстрый рециклинг, не зависящий от HLA и ко-стимуляторных молекул, и обладают способностью секретировать цитокины в более высоких концентрациях по сравнению с наивными клетками. В последнее время выделяют **центральные Т-клетки памяти (central memory T cells, T_{CM})**, которые пребывают во вторичных лимфоидных органах, и **эффекторные Т-клетки памяти (effector memory T cells, T_{EM})**, которые постоянно мигрируют между периферическими тканями, кровяным руслом и селезёнкой.

Фенотипическим маркером В-клеток памяти является **IgD⁻IgM⁺IgG⁺IgA⁺CD27⁺** (у наивных В-клеток – IgD⁺IgM⁺CD27⁺). Для образования В-клеток памяти, также как для переключения синтеза изотипов иммуноглобулинов, необходима экспрессия на В-клетках молекулы CD40. Известен X-сцепленный синдром гипер-IgM-емии, при котором отсутствует экспрессия CD40 на В-клетках. Для выживания В-лимфоцитов памяти требуется высокая экспрессия Vcl-2. Рисунок 34 иллюстрирует эффект В-клеток памяти.

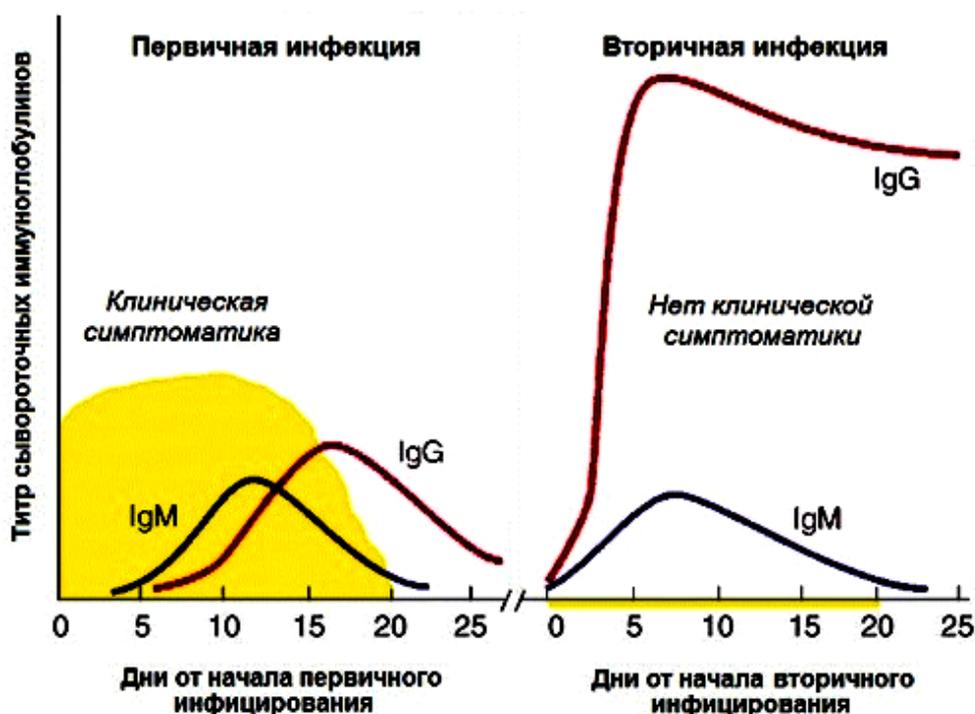


Рис. 34. Титры антител в зависимости от первичного или вторичного В-клеточного ответа

4.6. Эффекторная активность адаптивных иммунных ответов

T-зависимые механизмы осуществляются соответственно эффекторными клетками, которые образуются в ходе двух типов T-клеточных иммунных ответов. Они имеют разные механизмы действия (апоптоз или воспаление):

1. **Апоптоз** клеток-мишеней, которые содержат антиген за счёт цитотоксических CD8⁺ T-клеток с дополнительным участием других клеток (например, НК-лимфоцитов).

2. Деградация антигена при **иммунном воспалении**, которое инициируется CD4⁺ T-эффекторами и опосредуется активированными макрофагами и другими клетками (ГЗТ).

B-зависимые механизмы связаны с участием нарабатываемых иммуноглобулинов в двух механизмах:

1. *Связывание антигенов иммуноглобулинами* является самым частым проявлением эффекторной активности B-клеточных иммунных ответов. Возможно два варианта:

а) **простая нейтрализация** антигена с образованием крупных иммунных комплексов (см. дальше). Утилизация таких иммунных комплексов осуществляется через FcRII (CD32) и FCRIII (CD16), которые экспрессируются на фагоцитах, с последующим расщеплением.

б) деградация антигена при **иммунном воспалении** с участием комплемента, запускающегося по классическому пути, средних и мелких по размеру иммунных комплексов и активированных фагоцитов и других клеток.

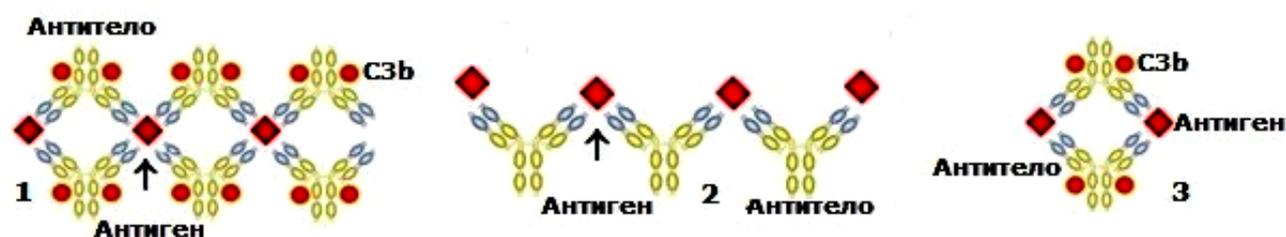


Рис. 35. Иммунные комплексы: крупные (1), средние (2) и мелкие (3)

Иммунные комплексы могут быть по размеру и составу крупными, средними и мелкими (рис. 35). Крупные иммунные комплексы образуются в избытке антител, содержат много молекул иммуноглобулинов, C3b и могут легко фагоцитироваться в

печени и селезёнке, в частности путём доставки туда эритроцитами, экспрессирующими рецептор для компонента – CR1. Формирование таких комплексов является физиологическим процессом. *Средние иммунные комплексы* образуются в избытке антигена, не содержат C3b, плохо утилизируются, вызывают развитие васкулитов, поэтому считаются патологическими. *Мелкие иммунные комплексы* формируются в условиях небольшого избытка антигена, включают C3b, поэтому это позволяет им быть переносимыми эритроцитами и фагоцитироваться. Однако они могут откладываться в тканях и потому считаются условно-патологическими.

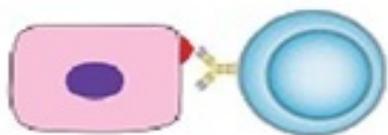


Рис. 36. Антителозависимая клеточная цитотоксичность

2. *Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность (АЗКЦ)*, наблюдается, например, при отторжении трансплантата и санации от гельминтов. АЗКЦ (рис. 36) может осуществляться **НК-клетками**, которые при помощи FcγRIII (CD16) соединяются с IgG, направленным против антигена в стенке клетки-мишени трансплантата. При контакте с ней НК-лимфоциты осуществляют её апоптоз. Эффекторной клеткой при АЗКЦ в случае санации от гельминтов выступают **эозинофилы**, которые экспрессируют FcRII (CD32) для связывания антител IgE и IgA, направленных против антигенов гельминта. Эозинофилы используют свои многочисленные биологические вещества (главный щелочной белок, эозинофильный катионный белок и др.) в попытке атаковать паразитов.

ся с IgG, направленным против антигена в стенке клетки-мишени трансплантата. При контакте с ней НК-лимфоциты осуществляют её апоптоз. Эффекторной клеткой при АЗКЦ в случае санации от гельминтов выступают **эозинофилы**, которые экспрессируют FcRII (CD32) для связывания антител IgE и IgA, направленных против антигенов гельминта. Эозинофилы используют свои многочисленные биологические вещества (главный щелочной белок, эозинофильный катионный белок и др.) в попытке атаковать паразитов.

4.7. Регуляция иммунных ответов

Адаптивные иммунные ответы – хорошо регулируемый процесс. Регуляция имеет большое значение для 1) обеспечения нужного уровня специфичности и иммунной памяти, 2) ограничения эффекторных реакций протективными рамками, 3) защиты организма от нежелательных последствий гиперактивации иммунной системы (иммунное воспаление, аллергии и аутоиммунные расстройства).

Имеется, по крайней мере, несколько уровней такой регуляции:

1. Собственно иммунологические механизмы (внутрисистемные или механизмы ауторегуляции).
2. Контроль со стороны печени.
3. Нейро-эндокринная регуляция.
4. Генетическая регуляция.

К внутрисистемным механизмам относятся:

- 1) механизм отрицательной обратной связи,
- 2) идиотип-антиидиотипические и эрготип-антиэрготипические взаимодействия,
- 3) влияние естественных регуляторных Т-клеток (nT_{reg}),
- 4) влияние адаптивных иммунорегуляторных хелперных субпопуляций Т-клеток.

4.7.1. Отрицательная обратная связь в иммунорегуляции

Принцип **отрицательной обратной связи** заключается в следующем. Выработка высокоспецифических эффекторных Т-лимфоцитов и иммуноглобулинов приводит к элиминации как нативного антигена, так и антигенпредставляющих клеток, что останавливает иммунные ответы. В эксперименте при одновременном введении животному антигена +IgG гуморальный ответ ослабляется, а при введении антигена +IgM усиливается. Если в ходе ответа удалить IgG путём плазмафереза, то ответ пролонгируется.

4.7.2. Идиотип-антиидиотипические взаимодействия

Идиотип-антиидиотипические взаимодействия несколько сложны для понимания. Любая антигенспецифическая молекула имеет уникальную конформацию своего антиген-связывающего сайта, который комплементарен структуре антигена. Этот идиотип сам может быть объектом иммунного ответа с формированием анти-идиотипической молекулы. Её структура будет представлять собой как бы «внутренний образ антигена». Имеется два вида анти-идиотипических антител: гомо-анти-идиотипическое (направленное против антигенсвязывающего сайта) и эпи-антиидиотипическое (направленное против каркасных структур Fab-фрагмента). Идиотип-анти-идиотипические молекулы как рецепторы могут в свою очередь сами распознавать либо связывающие

сайты и их части, либо другие детерминанты снаружи, образуя тем самым устойчивую сеть взаимодействующих рецепторов. Когда антиген попадает в эту систему, он индуцирует продукцию сначала идиотипов, а затем анти-идиотипов и так далее. В конечном счёте, баланс сети восстанавливается, что приводит к окончанию первичного ответа. Эта концепция, предложенная Нобелевским лауреатом (1984) N.K. Jerne имеет много и сторонников и оппонентов. Существует идея создания на её основе идиотипических вакцин, которая пока не получила большого развития.

По аналогии с идиотип-антиидиотипическими взаимодействиями на костимуляторные молекулы (эрготипы) формируются **антиэрготипические антитела**, которые обладают иммуносупрессивными эффектами.

4.7.3. **Натуральные и адаптивные регуляторные клетки**

Натуральные Т-регуляторные клетки (nTreg) – это группа клеток тимического происхождения с фенотипами CD4⁺ или CD8⁺, экспрессирующие CD25^{hi}, FoxP3, CTLA-4. Это неадаптивные регуляторы. Они проявляют супрессорную активность в отношении CD4⁺ и CD8⁺ Т-эффекторов и NK-клеток через выработку TGFβ, IL10 и др. При стимуляции из них образуются индуцибельные iT_{reg}, Th3 и Tr1, играющие разные регуляторные роли, в том числе на мукозальном уровне. Естественные регуляторные Т-клетки (nT_{reg}) и их индуцибельные субпопуляции (iT_{reg}, Tr1, Th3) обладают следующими механизмами действия: 1) продуцируют иммуносупрессорные цитокины (TGFβ, IL10, IL35), 2) могут включать апоптоз аутореактивных лимфоцитов, 3) конкурируют с лимфоцитами за IL2 (имея CD25-цепь рецептора для IL2).

Интересно, что при опухолевом росте и паразитарных инвазиях отмечается существенное повышение числа nT_{reg}, а при атопиях и аутоиммунных расстройствах – снижение.

Открыты натуральные В-регуляторные клетки (**nBreg**) со сходным неспецифическим иммуносупрессивным действием.

Адаптивные иммунорегуляторные хелперные субпопуляции отличаются большой гетерогенностью (табл. 18). В иммунологии долгое время господствовала концепция преимущественной роли ***Т-хелперов типа 1 и Т-хелперов типа 2*** в регуляции всех иммунологических и иммунопатологических процессов. С откры-

тием новых хелперных субпопуляций эта концепция претерпевает свою модернизацию.

Таблица 18

Основные адаптивные хелперные субпопуляции Т-клеток

<i>Субпопуляция</i>	Th1	Th2	Th17	Th22
<i>Название</i>	Т-хелпер 1	Т-хелпер 2	Т-хелпер 17	Т-хелпер 22
<i>Фенотип</i>	CD4+	CD4+	CD4+	CD4+
<i>Цитокиновый профиль (ключевые цитокины)</i>	IFNγ , IL2, TNF β , IL18	IL4 , IL5, IL6, IL10, IL13, IL33	IL17 , IL21, IL22	IL22 , IL13, FGF, CCL15, CCL17
<i>Клетки-мишени</i>	Т- и В-клетки, макрофаги, дендритные клетки	В-клетки, эозинофилы, тучные клетки	Т- и В-клетки, нейтрофилы, эпителиоциты	Эпителиоциты, фибробласты, Т- и В-клетки, гепатоциты, нейроны
<i>Функция</i>	Т-клеточные и В-клеточные ответы (переключение классов Ig)	В-клеточные ответы	Провоспалительные эффекты на слизистых и в коже, защита от оппортунистических инфекций (Staph., Candida), аутоиммунные ответы	Противовоспалительные эффекты на слизистых и в коже
<i>Кооперация</i>	Th17, ILC1, ILC17	Tfh, Th22, Th9, ILC2, ILC22	Th1, ILC1, ILC17, фагоциты	Th2, Th9, ILC2, ILC22, Th17

Классическая парадигма Th1/Th2 предусматривает то, что Th1 включают и регулируют Т-клеточные ответы и переключение синтеза некоторых антител в ходе развёрнутого В-клеточного ответа, а Th2 включают и контролируют течение развёрнутого В-клеточного ответа. Они могут ингибировать друг друга и перенаправлять течение иммунного ответа. Основным инструментом влияния Т-хелперов являются цитокины (табл. 18). На иммунопатологическом уровне, поляризация в сторону Th1 наблюдается

при внутриклеточных инфекциях, одной группе аутоиммунных болезней, повторных спонтанных абортах и др.; поляризация в сторону Th2 имеет место при atopических болезнях (IgE-сенсбилизациях), приживлении несовпадающего по HLA фетального аллотрансплантата, другой группе аутоиммунных болезней.

Соотношения с новыми хелперными субпопуляциями (Tfh, Th9, Th17 и Th22) находятся в стадии исследований и дискуссий.

Фолликулярные Т-хелперы (Tfh) располагаются в лимфатических фолликулах вторичных органов иммунной системы – В-зонах, куда они мигрируют под влиянием CXCL5 и дифференцируются под воздействием IL6, IL21 и других цитокинов. Ключевым цитокином, который они секретируют, является IL21. Tfh и IL21 ответственны в физиологических условиях за активацию своих клеток-мишеней – В-лимфоцитов, их дифференцировку в плазматические клетки, гипермутации, переключение синтеза изотипов иммуноглобулинов, формирование В-клеток памяти. На патологическом уровне Tfh могут участвовать в аутоиммунных расстройствах. В настоящее время пока нет полной ясности, являются ли Tfh самостоятельной хелперной субпопуляцией или стадией развития Th2, с которыми они показывают похожие физиологические эффекты.

Т-хелперы-9 (Th9) относятся к минорным хелперным субпопуляциям Т-клеток, работающим в синергизме с Th2 и Th22. Они генерируются из Т-индукторов под влиянием IL4 и TGFβ; основной их профиль цитокиновой секреции: IL9 и IL10. Th9 воздействуют на следующие клетки-мишени: тучные клетки, эозинофилы, барьерные эпителиоциты и CD8+Т-клетки, что позволяет им в физиологических условиях обеспечивать защиту от паразитов на слизистых оболочках и принимать участие в регуляции противоопухолевой защиты, а на патологическом уровне – участвовать в аллергическом и аутоиммунном воспалении (бронхиальная астма, язвенный колит, псориаз и др.).

Т-хелперы-17 (Th17) функционируют в коже и слизистых оболочках, куда они мигрируют под влиянием хемокина CCL6 и где обеспечивают регуляцию кожно-мукозального иммунитета. Основным цитокином, обеспечивающим дифференцировку Th17, является IL23, а ключевым цитокином, который они секретируют

– IL17. Th17 воздействуют на клетки-мишени (Т- и В-клетки, нейтрофилы, эпителиоциты), активируют их и регулируют защиту от экстрацеллюлярных патогенов (бактерий, грибов). Показано, что в патологических условиях Th17 участвуют в патогенезе аутоиммунных болезней (ревматоидный артрит, болезнь Крона, язвенный колит, псориаз и др.). Наибольший синергизм Th17 проявляют по отношению к Th1.

Т-хелперы-22 (Th22) также действуют в барьерных органах, куда они мигрируют под воздействием хемокина CCL10. Цитокинами-индукторами их дифференцировки из Т-предшественников являются IL6, TNF α и др. Клетки-мишени: эпителиоциты барьерных органов, гепатоциты, нейроны. Th22 является амбивалентной хелперной субпопуляцией, которая может иногда проявлять себя как провоспалительная (в синергизме с Th17). Ключевой цитокин – IL22. В физиологических условиях Th22 стимулирует регенерацию тканей, регулирует защиту от экстрацеллюлярных патогенов (бактерий, грибов). В патологических условиях Th22 вовлекаются в хроническое воспаление при аллергиях и аутоиммунных расстройствах, работая в синергизме с Th2, Th9 и даже Th17.

4.7.4. Печёночная и метаболическая иммунорегуляция

Печеночная регуляция адаптивных иммунных ответов осуществляется через печень – главную «биохимическую лабораторию» макроорганизма, которая обеспечивает общий метаболический контроль гомеостаза. Печень состоит из различных типов клеток. Примерно 2/3 клеточного состава печени представлено гепатоцитами. Непаренхиматозные клетки локализованы преимущественно в печеночных синусоидах. Среди резидентных иммунных клеток печени имеются антигенпрезентирующие клетки (клетки Купфера, дендритные клетки), миелоидные клетки, а также различные субпопуляции врожденных и адаптивных лимфоидных клеток (NK-, NKT-, $\gamma\delta$ T-, $\alpha\beta$ T- и В-клетки). Примечательно, что среди лимфоидных клеток доминируют клетки врожденного иммунитета, составляя примерно 65%, а среди адаптивных Т-лимфоцитов преобладают CD8+, активированные Т-лимфоциты и Т-клетки памяти.

Так как почти все клеточные компоненты иммунной системы присутствуют в печени, этот орган можно рассматривать как один

из иммунорегуляторных в связи с выполнением следующих функций:

- 1) синтез многих структурных компонентов иммунной системы;
- 2) окисление низкомолекулярных ксенобиотиков и превращение их в антигены;
- 3) клиренс иммунных комплексов купферовскими клетками (макрофагами печени);
- 4) синтез иммуносупрессивных факторов;
- 5) участие в поддержании толерантности к некоторым антигенам за счёт $CD16^{lo}/ CD56^{hi}$ субпопуляции НК-клеток, а также НКТ-клеток;
- 6) участие в В-лимфопоэзе в эмбриональном периоде.

Здоровая печень функционирует как иммунологически толерогенный орган, однако в определенных ситуациях в печени успешно осуществляются быстрые и сильные ответы.

Около 80% крови, проходящей через печень, поступает через систему воротной вены из желудочно-кишечного тракта. Эта кровь содержит пищевые и другие экзоантигены, а также антигены микрофлоры, обитающей в ЖКТ. К большинству этих антигенов (пищевые и антигены нормальной микрофлоры) печень обычно индуцирует толерантность, в то же время печени должны быть «замечены» и элиминированы антигены патогенных микробов, опасные ксенобиотики, опухолевые клетки.

Синусоиды печени выстланы особыми синусоидальными эндотелиальными клетками, которые обеспечивают контакт крови с гепатоцитами. Такие морфологические особенности позволяют чужеродным молекулам быстро проникать в печень и быть в ней деградированными. Экзогенные и эндогенные молекулярные паттерны (PAMP, AAMP, DAMP и TAMP) узнаются с помощью паттерн-распознающих рецепторов (PRR), хорошо представленных на гепатоцитах и клетках Купфера, и разрушаются без образования провоспалительных медиаторов, которые обычно сопровождают PRR-сигналинг.

Толерогенный режим в печени обеспечивается несколькими механизмами:

- клетки Купфера отвечают на бактериальные эндотоксины продукцией противовоспалительных цитокинов $TGF\beta$, $IL10$ и про-

стагландинов, что ограничивает возможность развития адаптивных иммунных ответов;

- печеночные миелоидные и плазмацитоидные дендритные клетки, а также макрофаги, выделяя IL10 во время презентации антигенов, способствуют преимущественно экспансии nTreg;

- в дальнейшем толерогенное микроокружение в печени поддерживается миелоидными супрессорными клетками (MDSC) через супрессорные цитокины TGF β , IL10, IL35, аргиназу и индолеамин-2,3-диоксигеназу, которые ингибируют пролиферацию и дифференцировку;

- NK- и NKT-клетки тормозят активность дендритных клеток, продуцируя TGF β , IL10 и IL35.

Гепатоциты здоровых людей в таких условиях продуцируют широкий спектр сывороточных белков: альбумин, фибриноген, факторы свертывания крови, транспортные белки, белки комплемента, протеазные ингибиторы, липопротеины. Эти белки вовлечены в транспорт нутриентов, регуляцию осмотического давления или являются предшественниками различных медиаторов врожденного иммунитета.

Печень также играет центральную роль в распознавании и реагировании на воспалительные сигналы, поступающие из других тканей. На начальных этапах внепеченочного воспаления цитокины, продуцируемые иммунными клетками на периферии, поступают с током крови в печень и активируют гепатоциты, которые обеспечивают острофазный воспалительный ответ. Острофазные белки (С-реактивный белок, маннозо-связывающий протеин) выполняют прямые эффекторные функции (глава 3) и отвечают за системные воспалительные эффекты (стимуляция лейкопоэза, лихорадка, клеточная инфильтрация в зоне воспаления и др.). Одновременно в острую фазу воспаления включаются ограничительные механизмы, предотвращающие разрушение тканей: в печени усиливается продукция ингибиторов протеаз (α 2-микроглобулина), подавляется продукция TNF α , за счет сывороточного амилоида А привлекаются миелоидные супрессорные клетки в очаг воспаления.

Резидентные иммунocyты печени могут стать и организаторами печеночного воспаления и фиброза в случае проникновения гепатотропных микроорганизмов (вирусы гепатита, описторхии,

лямблии), травматического и токсического повреждения печени. В этих случаях иммунные реакции направлены на удаление патогенных агентов, что реализуется посредством локальной продукции воспалительных цитокинов (IL1, IL6, TNF α , IFN γ и IL17), вовлечения и активации лейкоцитов, индукции фиброза в зоне воспаления.

Таким образом, комплекс воспалительных и иммунорегуляторных механизмов печени обеспечивает поддержание гомеостаза как внутри самого органа, так и на системном уровне, а также необходим для быстрой мобилизации воспалительных механизмов защиты от инфекций, опухолевых метастазов и тканевого повреждения.

Направление исследований, изучающих **метаболическую регуляцию** иммунных реакций в современной терминологии обозначается как *иммунометаболизм (immunometabolism)*. Иммунные клетки используют множество различных метаболических путей для поддержания адекватного уровня энергетических и пластических ресурсов с целью выживания или продукции медиаторов, контролирующих рост и пролиферацию. Главными метаболическими путями, определяющими особенности функционирования иммунных клеток в условиях здоровья или патологии, являются: гликолиз, цикл трикарбоновых кислот, пентозо-фосфатный путь, окисление жирных кислот, синтез жирных кислот и метаболизм аминокислот.

Гликолиз превращает глюкозу в пируват, который затем может быть конвертирован в лактат, секретироваться или вовлекаться в цикл трикарбоновых кислот с последующей генерацией НАДН и ФАДН₂ для транспорта электронов и синтеза АТФ. Гликолиз также необходим для пентозо-фосфатного пути, где генерируется рибоза, используемая в синтезе нуклеотидов, аминокислот и НАДФН. НАДФН требуется для синтеза жирных кислот, в котором используется цитрат из цикла трикарбоновых кислот. Жирные кислоты в процессе окисления превращаются в НАДН и ФАДН₂, которые снова вовлекаются в производство АТФ из электронной транспортной цепи. Метаболизм аминокислот может подпитывать цикл трикарбоновых кислот, а также поддерживать клеточный рост и белковый синтез.

Гликолиз играет доминирующую роль в метаболизме быстро пролиферирующих клеток. Продукты гликолиза необходимы для восстановления НАД⁺ в НАДН, который является кофактором многих ферментов, а также играют ключевую роль в синтезе рибозы, аминокислот и жирных кислот. Гликолиз обеспечивает функционирование «ростовых» сигнальных путей, в том числе с участием фосфатидилинозитол 3-киназы (PI3K) и митоген-активированной протеин киназы (МАРК).

Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса), протекающий в митохондриях, – главный метаболический путь покоящихся (не пролиферирующих) клеток. Два его основных продукта – НАДН и ФАДН₂, обеспечивающих транспорт электронов для окислительного фосфорилирования и высокоэффективной генерации АТФ, используются большинством клеток для базального функционирования.

Пентозо-фосфатный путь протекает в цитозоле и его ключевая роль – поддержание клеточной пролиферации и жизнеспособности.

Путь окисления жирных кислот приводит к появлению многочисленных продуктов (включающих ацетил-КоА, НАДН и ФАДН₂), которые клетки в дальнейшем могут использовать для генерации энергии.

Путь синтеза жирных кислот приводит, с использованием метаболитов других путей, к наработке липидов, необходимых для клеточного роста и пролиферации.

Метаболизм аминокислот важен не только потому, что аминокислоты являются составными компонентами для синтеза белков и жирных кислот. Некоторые аминокислоты играют особую роль в метаболических процессах. Так, глутамин и аспарат требуются для синтеза пуринов и пиримидинов; глутамат в активно пролиферирующих клетках может служить альтернативным источником для наработки АТФ или цитрата; аргинин и триптофан включаются в метаболические пути для поддержания клеточного роста и пролиферации.

На примерах разных клеточных субпопуляций можно увидеть особенности метаболической регуляции иммунных процессов:

- провоспалительные макрофаги (M1) используют гликолиз, цикл трикарбоновых кислот, пентозо-фосфатный путь, синтез

жирных кислот и метаболизм аминокислот для пролиферации, продукции провоспалительных цитокинов и кислородных радикалов;

- в популяции противовоспалительных макрофагов (M2) активно реализуются цикл трикарбоновых кислот и окисление жирных кислот, а аргинин включается в аргиназный путь, который ассоциирован с толерантностью;

- быстро пролиферирующие клетки (Th1, Th17, CD8+Т-лимфоциты) используют гликолиз, синтез жирных кислот и метаболизм аминокислот для пролиферации и продукции цитокинов;

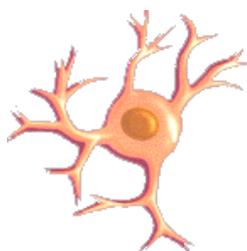
- иммуносупрессорная популяция nTreg для своей работы преимущественно использует цикл трикарбоновых кислот и окисление жирных кислот.

В настоящее время интенсивно изучаются особенности иммунометаболизма при различных иммунопатологических состояниях. Показано, что ожирение и инсулинорезистентность ассоциированы с хроническим воспалением в жировой ткани и печени, которое является результатом аккумуляции в этих тканях M1-макрофагов, CD8+Т-клеток, Th1, В-лимфоцитов, NK-клеток и нейтрофилов и снижением численности M2-макрофагов, nTreg и ILC2. Особенности метаболизма опухолевых клеток (усиленная утилизация глюкозы и глутамина) приводят к ослаблению функциональной активности дендритных клеток и Т-эффекторов, способствуют поляризации макрофагов в сторону M2-клеток. Дисбаланс между Th17 и nTreg при аутоиммунных расстройствах также связан с нарушениями иммунометаболизма.

Т-лимфоциты подвергаются метаболическому репрограммированию на всей продолжительности их жизненного цикла, и успешность регуляции обменных процессов, протекающих в них, непосредственно сказывается на эффективности иммунного ответа. Для покоящихся лимфоцитов требуется мало энергии, и практически весь АТФ клетка получает в результате окислительного фосфорилирования. При активации лимфоцита анаболизм преобладает над катаболизмом, и происходит усиление аэробного гликолиза, даже при наличии достаточного количества кислорода для утилизации глюкозы по пути окислительного фосфорилирования (аналогично эффекту Варбурга в клетках злокачественных опухолей).

Изучение иммунометаболизма и *метаболическое репрограммирование иммунных реакций* (модуляция клеточных функций путем изменения метаболизма) – перспективные направления развития современной иммунологии. На основе использования так называемых *малых молекул* (соединений с молекулярной массой не более 900 дальтон) разрабатываются новые подходы к лечению инфекционных болезней, аутоиммунных расстройств и злокачественных опухолей.

4.7.5. Нейро-эндокринная иммунорегуляция



Нейро-эндокринная регуляция может быть рассмотрена в аспекте общего адаптационного синдрома и накапливающихся данных по *нейротрансмиттерам* – особым медиаторам, синтезируемым нейронами и обеспечивающим связь с клетками иммунной системы. Великий учёный Н. Selye первым обратил внимание на нейро-иммунные взаимодействия. С одной стороны, первичные и вторичные лимфоидные органы иннервируются нервной системой, а с другой стороны, клетки иммунной системы экспрессируют рецепторы для нейротрансмиттеров и нейропептидов и секретируют цитокины и хемокины, которые оказывают воздействие на нейроны. Через ось «гипоталамус – гипофиз – надпочечники» стресс, включая инфекцию, влияет на иммунную систему. Провоспалительные цитокины IL1, IL6 и TNF α могут активировать эту ось, но в ответ глюкокортикоиды в высоких концентрациях оказывают ингибирующее влияние, в частности за счёт стимуляции синтеза иммуносупрессивных цитокинов IL10, TGF β и IL35. Такие нейротрансмиттеры-моноамины как норэпинефрин, допамин и серотонин наиболее важны в регуляции оси «гипоталамус–гипофиз–надпочечники».

Норэпинефрин (норадреналин) является стресс-мобилизующим симпатическим нейротрансмиттером. Он продуцируется в нейронах головного мозга, преимущественно в области моста, симпатических ганглиях, расположенных вдоль спинного мозга, а также в мозговом веществе надпочечников. Норэпинефрин оказывает иммуномодулирующее действие, т. е. может проявлять иммуностимулирующие и провоспалительные эффекты путём подавления активности nTreg и иммуносупрессив-

ные и противовоспалительные эффекты за счёт ингибирования продукции $TNF\alpha$, $IL1\beta$ и $IFN\gamma$.

Допамин – нейротрансмиттер, ответственный за эмоциональную сферу, чувство удовольствия и справедливости. Он секретируется клетками головного мозга, почек и иммунной системы. В физиологических концентрациях допамин оказывает иммуномодулирующее действие, вызывая поляризацию Th1/Th2 в сторону активации Th1. В экспериментах при иммунных ответах концентрация допамина в головном мозге резко возрастает. Однако *in vitro* продемонстрирован иммуносупрессивный эффект допамина.

Серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ) – нейротрансмиттер, синтезируемый энтерохромаффинной тканью и захвачиваемый тромбоцитами, базофилами и тучными клетками. Серотонин является ответственным за настроение, сон, аппетит, чувство удовольствия и беспокойства. Он подавляет продукцию таких провоспалительных цитокинов как $TNF\alpha$ и $IL12$ и отменяет поляризацию Th1. В экспериментах при иммунных ответах концентрация серотонина в головном мозге резко снижается.

Ацетилхолин, парасимпатический нейротрансмиттер, продуцируется в моторных нейронах, парасимпатической нервной системе и головном мозге. Он оказывает преимущественно иммуносупрессивное и противовоспалительное действие. В экспериментах при иммунных ответах концентрация ацетилхолина в головном мозге резко снижается, а при начале воспаления – повышается.

γ -аминомасляная кислота (ГАМК) является главным тормозным нейротрансмиттером в ЦНС, который образуется в ГАМК-эргических нейронах головного и спинного мозга. ГАМК проявляет противовоспалительные и иммуносупрессивные эффекты, например, подавляя продукцию $IL1\beta$, $IL6$, $IFN\gamma$ и $IL17$. В экспериментах концентрация ГАМК в головном мозге при начале инфекционного процесса возрастает.



Гипофиз состоит из трёх долей: передней, промежуточной и задней. Передняя доля вырабатывает **соматотропин (гормон роста, СТГ)**, **тиреотропный гормон (ТТГ)**, **адренокортикотропный гормон (АКТГ)**, **лактотропный гормон (пролактин, ЛТГ)**, **β -эндорфины** и **гонадотропины**. Эти гормоны высвобождаются из гипофиза под влиянием гипоталамических релизинг-факторов. Гормоны передней доли гипофиза проявляют пре-

имущественно иммуностимулирующие эффекты, в частности стимулируя Т-лимфоциты в тимусе. Однако β -эндорфины в высоких концентрациях могут оказывать иммуносупрессивное действие.

Гормон промежуточной доли гипофиза, **меланоцит-стимулирующий гормон (МСГ)**, имеет противовоспалительные и иммуносупрессивные эффекты.

Задняя доля гипофиза является продолжением гипоталамуса. Здесь вырабатываются **антидиуретический гормон (вазопрессин, АДГ)** и **окситоцин**. Эти гормоны могут подавлять активность оси «гипоталамус–гипофиз–надпочечники», но проявляют мягкое иммуномодулирующее влияние.

Мелатонин, гормон эпифиза (шишковидного тела), является регулятором многих иммунных процессов, рассматриваемых как проявления стресса. Он имеет также снотворное действие (восстановление нарушенных биоритмов), антиоксидантный эффект, способность снижать концентрацию холестерина (холестерина) в крови.

Щитовидная железа вырабатывает **трийодтиронин (Т3)** и **тироксин (Т4)**, которые влияют на иммунную систему как иммуностимуляторы. К сожалению, аутоиммунные болезни щитовидной железы (аутоиммунный тиреоидит, болезнь Грейвса и др.) связаны со срывом аутоотолерантности и активацией иммунной системы под влиянием нескольких дополнительных факторов.

Поджелудочная железа вырабатывает несколько важных гормонов: **инсулин** (β -клетки), **глюкагон** (α -клетки) и **соматостатин** (δ -клетки), которые оказывают иммуномодулирующее действие с преимущественными иммуностимулирующими эффектами. Сахарный диабет типа 1 является серьёзным аутоиммунным заболеванием, обусловленным неадекватной активацией иммунной системы и аутоиммунным повреждением структур поджелудочной железы.

Надпочечники продуцируют более 30 различных гормонов, включая стероиды в корковом веществе и норэпинефрин и эпинефрин в мозговом веществе. В клубочковой зоне коры надпочечников вырабатываются минералокортикоиды, в пучковой зоне – глюкокортикоиды, а в сетчатой зоне – дегидроэпиандростерон (ДГЭА) и половые гормоны.

Альдостерон, минералокортикоид, является частью ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), вовлечённой в па-

тогенез гипертонической болезни. Относительно иммунной системы альдостерон оказывает иммуностимулирующее влияние. В настоящее время проводятся исследования о роли этого влияния на патогенез гипертонии.

Глюкокортикоиды проявляют заметный противовоспалительный и иммуносупрессивный эффекты, которые обусловлены подавлением синтеза провоспалительных цитокинов на транскрипционном уровне.

ДГЭА не ответственен за сексуальную активность, но этот гормон является ключевым посредником в синтезе половых гормонов. **Эстрогены** стимулируют активность Th2, а **ДГЭА** и **андрогены** – Th1. Таким образом, в целом действие половых гормонов на иммунную систему является иммуномодулирующим.

4.7.6. Генетическая иммунорегуляция

Генетическая регуляция иммунных ответов важна для двух основных задач: 1) обеспечение нужного уровня специфичности эффекторов в конце иммунных ответов и 2) достижения необходимой силы иммунных ответов.

По ходу иммунных ответов должна **специфичность** достигается реаранжировками генов иммуноглобулинов и TCR и посредством соматических гипермутаций (для антител). Сила иммунных ответов связана с продуктами HLA II- и HLA I-генов и стимулирующим влиянием соответствующих цитокинов.

Основные гены, кодирующие синтез цепей иммуноглобулинов, располагаются на хромосомах 2, 14 и 22 (рис. 37).

На рисунке 37 видно, что имеются гены для переменных (V) и константных последовательностей (C), а также гены, обеспечивающие разнообразие (D) и синтез соединяющих последовательностей аминокислот (J).

При В-лимфопоэзе, как было сказано ранее, процессы рекомбинации при синтезе, например, H-цепей иммуноглобулинов, катализируются уникальными ферментами лимфоцитов – рекомбиназами, синтезируемыми на основе генов RAG-1 и RAG-2.

При рекомбинации в непрерывную последовательность ДНК соединяются сначала DJ, затем LVDJ, потом LVDJC.

При поступлении антигена в ходе прайминга (иммунного ответа) «доводка» специфичности V-сегмента производится за счёт гипермутаций.

За открытие генетического принципа генерации разнообразия антител S. Tonegawa был удостоен Нобелевской премии (1987). Похожим образом располагаются гены, синтезирующие цепи TCR Т-клеток (хромосомы 7 и 14) (рис. 39).

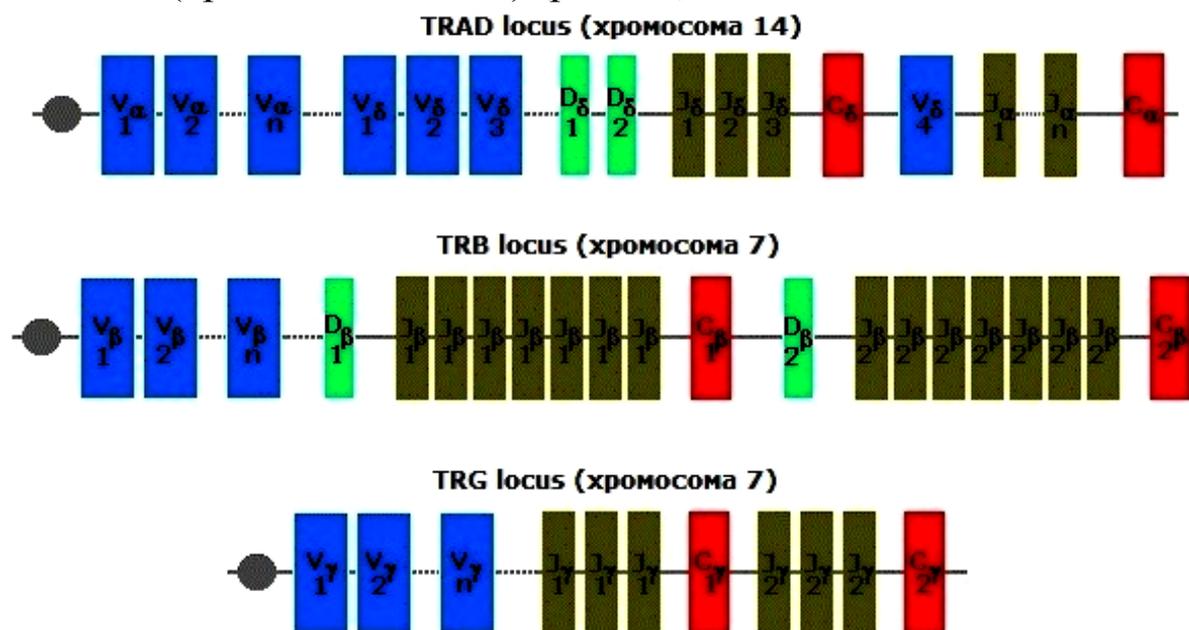


Рис. 39. Гены TCR

Контроль нужного уровня **силы иммунных ответов** обеспечивается HLA-генами на 6-й хромосоме, синтезирующими соответствующие белки HLA I и HLA II (рис. 40).

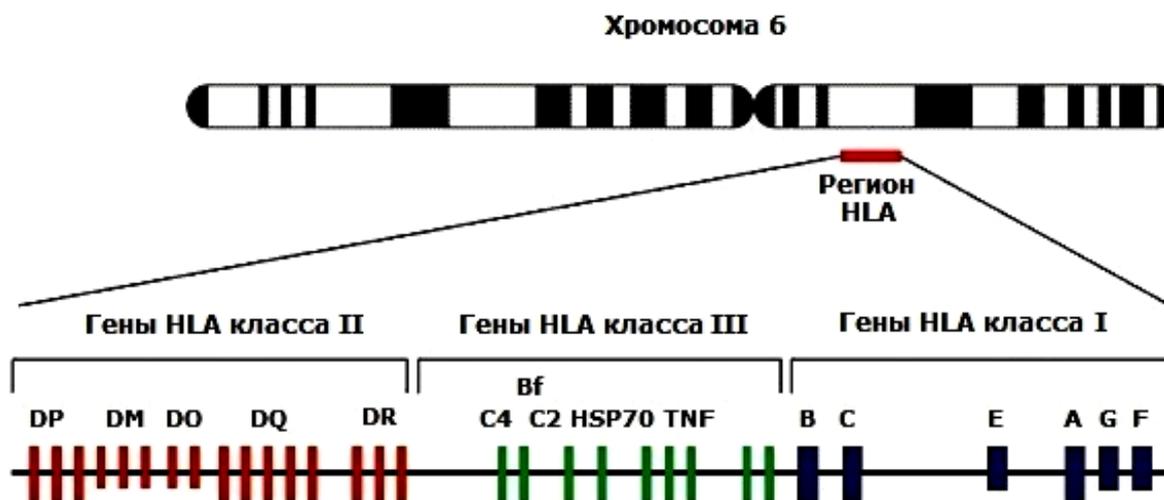


Рис. 40. Гены HLA

Желобок отдельной молекулы HLA у конкретного индивидуума может загружать различные антигены с разной эффективностью. Поэтому в отдельном организме возможно развитие сильного ответа к одним антигенам и более слабого к другим. Именно в этом смысле можно говорить о так называемых «генах иммунного ответа», локализованных в локусах HLA.

4.8. Механизмы поддержания иммунологической толерантности

Иммунологическая толерантность (immunological tolerance) – это активный антигенспецифичный иммунный процесс (в отличие от неспецифической иммуносупрессии и иммунодефицита). Поддержание толерантности требует персистенции антигена (толерогена) в организме. Толерантность может быть индуцирована ко всем эпитопам какого-либо антигена или к одному или нескольким эпитопам. Носителями толерантности являются толерогенные Т- и В-клетки.

Возможна полная (Т+В) толерантность, либо отдельно Т-толерантность и В-толерантность. В эксперименте отдельная Т-толерантность чаще низкодозовая и более продолжительная, а В-толерантность чаще высокодозовая и менее продолжительная.

За работы в области толерантности F.McFarlane Burnet и P.V. Medawar были удостоены Нобелевской премии (1960).

Естественная толерантность наблюдается в отношении: 1) аллергенов, 2) белков пищи, 3) аутоантигенов (эндоантигенов), 4) антигенов нормальной микробиологической оболочки тела (если нет реактивации условно-патогенной инфекции) и 5) у женщин – относительно антигенов сперматозоидов мужчины и во время беременности – к отцовским антигенам плода. Некоторые антигены скрыты в *иммунологически привилегированных органах* (ЦНС, глаз, хрящ, эндокринные железы и др.). Они не приходили в соприкосновение с лимфоцитами в ходе коммитмента. Кроме того они отграничены тканегематологическими барьерами, клетки которых вырабатывают большое количество супрессорных цитокинов (например, TGFβ). Эти аутоантигены из забарьерных органов не попадают в лимфоток. При срыве естественной толерантности развиваются соответственно аллергические, аутоиммунные

болезни или женское иммунологическое бесплодие. Мужское иммунологическое бесплодие сродни аутоиммунной болезни.

Существуют следующие механизмы поддержания естественной толерантности:

1. Центральная толерантность (формируется в первичных органах иммунной системы):

– клональная делеция.

2. Периферическая толерантность (формируется во вторичных органах):

– активационно-индуцированный апоптоз;

– клональная анергия;

– клональное игнорирование;

– естественные регуляторные Т-клетки и их цитокины.

Центральная толерантность формируется в ходе лимфопоза и отрицательной селекции в тимусе для Т-клеток и костном мозге для В-клеток, когда происходит апоптоз лимфоцитов, экспрессирующих высоко-аффинные TCR и BCR к собственным антигенам (**клональная делеция**). Однако, небольшая часть таких лимфоцитов избегает апоптоза и поступает в периферические органы иммунной системы в неактивном виде – в состоянии анергии.

Периферическая толерантность обеспечивается рядом других механизмов, а именно:

1. **Активационно-индуцированный апоптоз** является апоптозом аутореактивных Т-клеток, предварительно активированных аутоантигенами, связавшими их TCR (рис. 41). Это в свою очередь стимулирует экспрессию Fas (CD95), а затем FasL (CD178) на каждой из двух аутореактивных Т-клетках и включение апоптоза по Fas (CD95)-пути. Однако при костимуляции Т-клеток через CD28 активационно-индуцированный апоптоз этих Т-клеток ингибируется. Поэтому для данного механизма поддержания естественной толерантности и профилактики аутоиммунных расстройств отсутствие костимуляторного сигнала обязательно.

2. **Клональная анергия** – отсутствие функционирования аутореактивных Т-клеток за счёт низкой экспрессии TCR, корцепторов (CD4 или CD8), CD28, высокой экспрессии CTLA-4; отсутствие функционирования аутореактивных В-клеток за счёт шеддинга (сброса) BCR при воздействии больших доз антигена

(высокодозовая толерантность), низкой экспрессии корцептора (CD19/CD21/CD81), высокой экспрессии CD28.



Рис. 41. Активационно-индуцированный апоптоз

3. **Клональное игнорирование** – отсутствие иммунного ответа лимфоцитов по отношению к аутоантигенам «привилегированных зон» в низких концентрациях.

4. **Естественные регуляторные Т-клетки (nTreg)** и их индуцибельные субпопуляции (iTreg, Tr1, Th3), как уже было описано выше, 1) продуцируют иммуносупрессорные цитокины (TGF β , IL10, IL35), 2) могут включать апоптоз аутореактивных лимфоцитов, 3) конкурируют с лимфоцитами за IL2 (имея CD25-цель рецептора для IL2). Это главный механизм поддержания ауто толерантности.

Искусственная толерантность – ареактивность к чужеродным антигенам (например, аллергенам при аллергических болезнях, антигенам трансплантата). Индукция такой толерантности может быть медицинской целью.

Существует также *патологическая толерантность* – это состояние ареактивности к антигенам патогенных микробов и опухолей, которое является следствием «иммуноредактирования». Срыв такой толерантности является медицинской целью.

Соответственно, отмена или индукция толерантности может быть естественной и искусственной (медицинской).

Глава 5

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С целью выявления характера иммунопатологических процессов и назначения адекватной иммунокоррекции используются разнообразные методы иммунодиагностики.

На клиническом этапе проводится сбор анамнеза, оценка жалоб пациента и выявление путем физикального осмотра клинических маркеров функциональных нарушений в иммунной системе. При необходимости визуализации органов иммунной системы (объемные образования или изменения размеров органов) используют инструментальные методы диагностики (рентгенологическое, УЗ- исследование, магниторезонансная или компьютерная томография). На лабораторном этапе иммунодиагностики проводится оценка особенностей функционирования клеток и молекул иммунной системы, что имеет большое значение для постановки окончательного клинико-иммунологического диагноза.

Современная иммунологическая лаборатория, наряду со вспомогательным оборудованием, должна быть оснащена двумя основными устройствами: проточным цитофлуориметром и иммуноферментным анализатором. Забор крови на иммунологические исследования производится в соответствующих стерильных условиях в процедурном кабинете опытной процедурной медицинской сестрой. Кровь разделяется на клеточную и сывороточную фракции. Проточный цитофлуориметр используется для определения клеточных показателей функционирования иммунной системы, а иммуноферментный анализатор – гуморальных. Также оснащение иммунологической лаборатории предполагает наличие ламинарного бокса, иммунофлюоресцентного микроскопа, сцинтилляционного спектрофотометра, люминометра и других устройств.

*****Анимации по каждому иммунологическому методу представлены на сайте ssmu.immunology.sibhost.ru .*

5.1. Иммунофлуоресцентный анализ

Иммунофлуоресцентный анализ (immunofluorescence) позволяет выявлять поверхностные и внутриклеточные антигены в клеточных суспензиях или тонких тканевых срезах. Метод основан на использовании специфических антител, конъюгированных с флуоресцентными маркерами. При проведении *прямого* иммунофлуоресцентного анализа антитела, меченные флуоресцентным красителем, вносят непосредственно в суспензию клеток или на гистологический препарат. При *непрямом* варианте анализа на первом этапе исследуемый материал обрабатывают антигенспецифическими антителами («первые» антитела), а затем добавляют видоспецифичные антитела против иммуноглобулинов («вторые»), конъюгированные с флуоресцентной меткой (рис. 42). Оценка результатов может

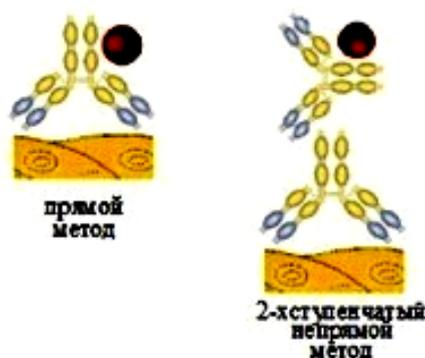


Рис. 42. Иммунофлуоресцентный анализ

выполняться при помощи флуоресцентного микроскопа или в автоматическом режиме с использованием проточного цитометра (flow cytometer) или микрочипового цитометра (chip cytometer). Современные автоматизированные технологии позволяют в одном образце одновременно анализировать около 50 различных антигенов.

5.2. Проточная цитофлюориметрия

Эта технология (flow cytofluorometry) широко используется, главным образом, для быстрого определения субпопуляций клеток в периферической крови, образцах ткани и клеточных суспензиях, связывания гормонов и вирусов к рецепторам на поверхности клеток, измерения внутриклеточных компонентов (общей ДНК, новообразованной ДНК и т. д.) и оценки процессов (апоптоз, мобилизация внутриклеточного кальция и др.). Метод основан на связывании меченных флюорохромами моноклональных антител к поверхностным маркерам клеток и учёте некоторых физических свойств этих клеток (диаметр ядра и соответственно размер клет-

ки, а также гранулярность) при пропускании через них лазерного излучения (рис. 43).

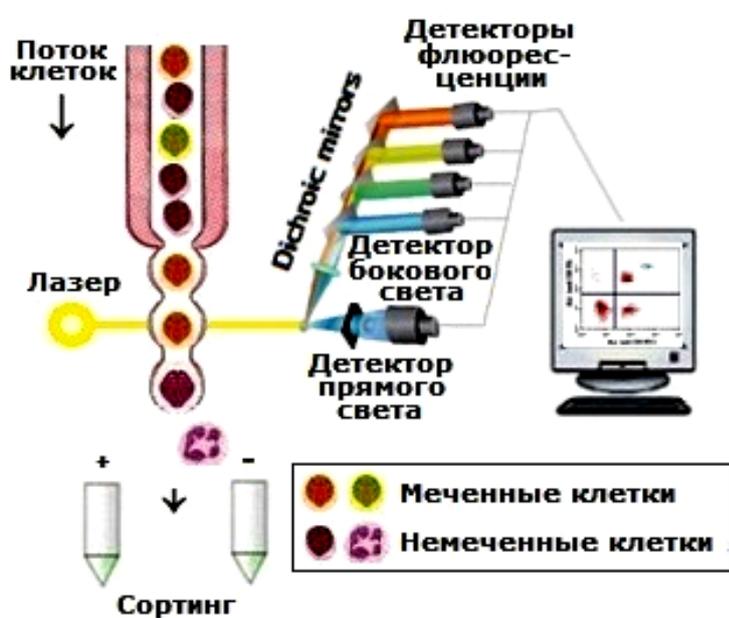


Рис. 43. Проточная цитофлуориметрия

Лучи лазера трёх типов (двух рассеянных и одного флуоресцирующего) последовательно пропускаются через каждую клетку. Фотодетекторы преобразуют фотоны света в электронные сигналы, которые анализируются компьютером. Клетки отображаются на плотах – диаграммах, показывающих клеточные скопления с одинаковыми параметрами рас-

сеивания света и спектра флуоресценции.

Сначала предварительно меченные моноклональными антителами с флюорохромами клетки пропускаются через рассеянный свет, направленный прямо, и рассеянный свет под углом 90° . Световые сигналы фокусируются с помощью линз в фотодиодной трубке на фотодетекторы, усиливаются и измеряются. Первый параметр, Forward Scatter Count (FSC), позволяет идентифицировать размер клетки (большой или маленький), а второй, Side Scatter Count (SSC), – даёт возможность определить наличие или отсутствие гранул в цитоплазме данной клетки. Этих двух параметров бывает достаточно, чтобы отличить лимфоциты от моноцитов и полиморфно-ядерных лейкоцитов.

Затем с помощью иммунофлуоресценции устанавливается наличие или отсутствие антигенных маркёров на поверхности клетки, что позволяет отнести её к соответствующей субпопуляции. Для этих целей клетки, как указывалось выше, были предварительно мечены моноклональными антителами, конъюгированными с различными флюорохромами, которые имеют разный спектр флуоресценции. Например, fluorescein isothiocyanate (FITC) показывает зелёное свечение, а R-phycoerythrin (PE) – оранжевое. Каждая клетка может быть помечена одновременно 4

маркерами и более. Новейшие цитометры в наиболее полной комплектации позволяют оценивать до 50 параметров на одной клетке. Световые сигналы в многоскладчатых фототрубках (Photo Multiplier Tubes – PMT) фокусируются на фотодетекторы, усиливаются и регистрируются по отдельности как параметры Fluorescence Light (FL). Каждый параметр FL позволяет оценить содержание клеток, имеющих соответствующую метку и относящихся к соответствующей субпопуляции. В дальнейшем эти данные исследователь может представить графически в виде плотов – гистограмм или точечных диаграмм (рис. 44), и распечатать.

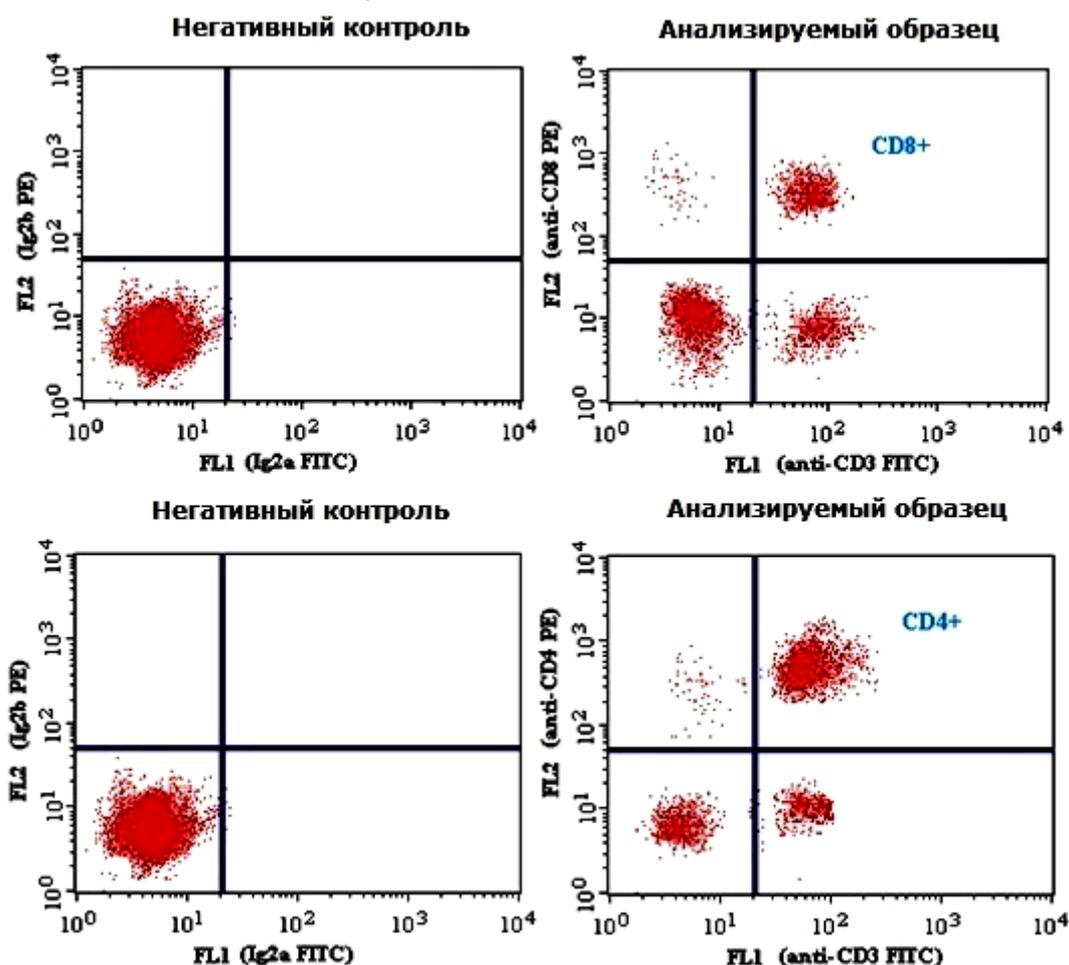


Рис. 44. Плоты флюориметрии в потоке

С помощью проточной цитометрии можно определять не только поверхностные мембранные маркеры, но и внутриклеточные молекулы (цитокины, транскрипционные факторы), что особенно важно для идентификации различных субпопуляций Т-лимфоцитов. Например, Th1 идентифицируют по внутриклеточной продукции $IFN\gamma$, Th2 – IL4, nTreg – транскрипционного

фактора FoxP3. Для этого клетки предварительно пермеабилзируют («продырявливают») с помощью специальных реагентов, чтобы сделать внутриклеточные молекулы доступными для соответствующих моноклональных антител.

В настоящее время разрабатываются новые подходы к анализу образцов методом проточной цитометрии. В некоторых приборах гидродинамическое фокусирование дополняется ультразвуковым, чтобы увеличить разрешение и скорость работы приборов. Разработаны наборы реагентов, которые позволяют оценивать методом проточной цитометрии концентрацию различных молекул (например, цитокинов или хемокинов) в растворе. В ходе анализа растворенные молекулы специфически реагируют с гранулами, различающимися по своему спектру флуоресценции, а затем детектируются на приборе.

К недостаткам проточной цитометрии можно было бы отнести более низкую чувствительность по сравнению с современными микроскопами и отсутствие информации о распределении меток на клеточной поверхности. Эту проблему позволили решить относительно недавно разработанные проточные цитометры с визуализацией (ПЦВ-приборы). В них вместо фототрубок используются камеры, на которые последовательно записываются изображения клеток по мере их прохождения в потоке. В результате создаются галереи изображений клеток, которые позволяют выявить и количественно проанализировать распределение флуоресцентно меченых молекул на поверхности и внутри клеток. Это предоставляет исследователям новые возможности для анализа отдельных клеток и клеточных популяций. Одновременно сохраняются такие преимущества традиционной проточной цитометрии, как быстрый анализ тысяч и десятков тысяч событий.

5.3. Иммуноферментный анализ (ИФА)

Иммуноферментный анализ (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) является очень точным методом определения любых концентраций разных белков (иммуноглобулинов, белков комплемента, цитокинов и др.) в жидких биологических средах. Моноклональное антитело (антитело1), специфичное к какому-либо искомому белку (антигену), предварительно абсорбируется на стенках микролунок пластиковых планшетов (рис. 45). Если

антиген присутствует в опытном образце, он будет связан и иммобилизован. В противном случае антиген будет удалён при отмывании. Затем добавляется второе моноклональное антитело, направленное против данного антигена и конъюгированное с ферментом типа пероксидазы хрена (антитело2+фермент).

В результате образуется «сэндвичподобный» комплекс антитело1/антиген/антитело2+фермент, который постепенно оказывается иммобилизованным на стенке микролунки. Добавление субстрата с хромогеном приводит к образованию окрашенного продукта, количество которого пропорционально количеству антитела2 и, следовательно, антигену, что может быть измерено фотометрически.

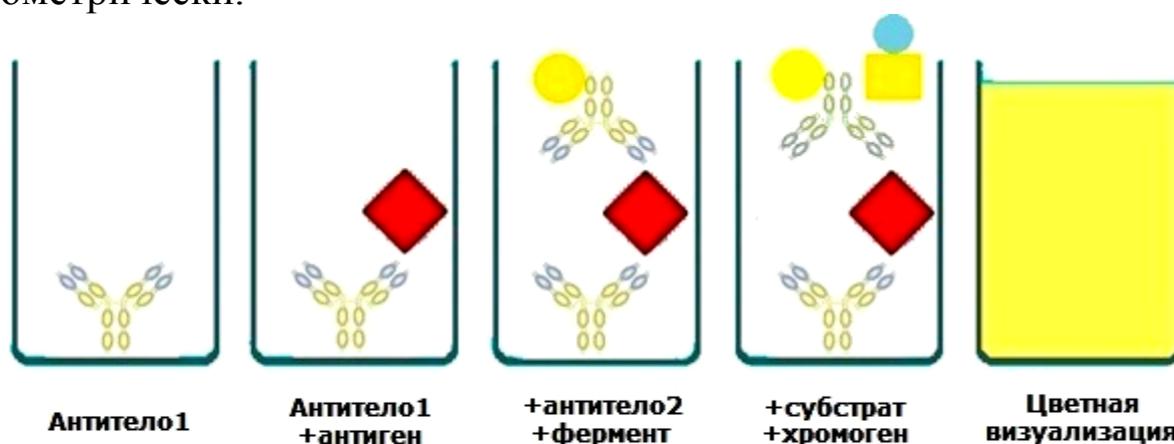


Рис. 45. Иммуноферментный анализ

5.4. Иммуноблоттинг (вестерн-блот)

Иммуноблоттинг (immunoblotting, Western blot) – высокочувствительный метод выявления белков, основанный на сочетании электрофореза и иммуноферментного анализа. Иммуноблоттинг обычно применяется для идентификации конкретного антигена в смеси разных антигенов (например, белков ВИЧ).

Первоначально смесь белков (антигенов) разделяется с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. При этом белки в зависимости от их молекулярной массы под действием электрического поля мигрируют на разные расстояния от стартовой лунки. На следующем этапе разделенные белки переносятся из геля на твердую подложку (нитроцеллюлозную мембрану). Нитроцеллюлоза связывает любой белок, с которым она приходит в соприкосновение, поэтому она захватывает все мигрирующие белки. Они оказываются на мембране в том же месте, в котором были в геле.

Таким образом, мембрана является «блотом» геля («blot» – промокать, пятно).

В настоящее время выпускают наборы в виде стрип-мембран (нитроцеллюлозных полосок) с электрофоретически разделенными антигенами. Сыворотку больного, содержащую специфические антитела к антигенам, наносят на нитроцеллюлозную мембрану. Антитела при взаимодействии с антигенами образуют иммунные комплексы. Не связавшиеся с фиксированными в нитроцеллюлозной мембране антигенами антитела отмывают. Иммунные комплексы (антиген+антитело) выявляют методом ИФА, добавляя конъюгаты антииммуноглобулиновых антител с ферментом и хромогенный субстрат. При добавлении субстрата происходит его расщепление ферментом и окрашивание полос в месте локализации иммунных комплексов.

5.5. Радиоиммунологический метод

За разработку радиоиммунологического анализа (radioimmunoassay) R. Yalow получила Нобелевскую премию (1977). Метод используется для высокочувствительного измерения белков. Он основан на конкуренции антигена в образце и того же самого антигена, меченного радиоактивной меткой (например, ^{125}I), за антитела, содержащиеся в среде в определённом количестве. Если уровень антигена в образце низкий, преципитат покажет при сцинтилляционной спектрометрии высокий уровень радиоактивности, и наоборот.

5.6. Иммуногистохимическое исследование

Иммуногистохимия – метод микроскопических исследований тканей для выявления четкой локализации в них антигенов, основанный на обработке тканевых срезов мечеными специфическими антителами. В качестве маркирующих веществ (меток) используют обычно флуоресцентные красители (флуоресцеин, родамин и др.) или ферменты (пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза).

В *прямом* иммуногистохимическом тесте меченые антитела связываются непосредственно с выявляемым антигеном. Большей чувствительностью обладает *непрямой* иммуногистохимический метод, в котором с искомым антигеном на первом этапе связыва-

ются немеченые антитела, а на втором этапе их выявляют с помощью вторичных меченых антииммуноглобулиновых антител.

Метод позволяет очень точно определить месторасположение и распределение искомого антигена в образце ткани и используется для диагностики аутоиммунных заболеваний. Иммуногистохимические исследования широко применяются в онкологии с целью выявления злокачественно трансформированных клеток, прогноза развития опухолевого процесса (выявление метастазов) и оценки эффективности противоопухолевой терапии.

В настоящее время в лабораториях с большой пропускной способностью используются автоматизированные системы (иммуностейнеры), которые позволяют выполнять все этапы в полностью автоматизированном режиме, что исключает влияние человеческого фактора на результат окрашивания.

Один из современных подходов в исследовании тканевых образцов – *конфокальная флуоресцентная микроскопия*. Этот метод позволяет послойно исследовать живые образцы тканей. Тканевые образцы обрабатывают флуоресцентными красителями, позволяющими визуализировать не только клетки и внутриклеточные органеллы, а даже отдельные флуоресцентно меченые молекулы. С помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии появилась возможность исследовать ткани на клеточном уровне в физиологических условиях и оценивать динамику клеточной активности.

5.7. Оценка пролиферативной активности лимфоцитов

Лимфоциты – единственная клеточная популяция, обладающая способностью к пролиферации в периферических лимфоидных органах. Антигензависимая пролиферация (клональная экспансия) – обязательный этап любых адаптивных иммунных ответов. Интенсивность пролиферативного ответа лимфоцитов на антиген расценивают как показатель иммуногенности антигена или численности клона клеток, реагирующих на данный антиген. Фактически данный метод позволяет оценивать способность клеток к клональной экспансии, а также может использоваться для установления сенсibilизации при типе IV гиперчувствительности (часть II, глава 2).

Лимфоциты способны также к поликлональной или олигоклональной пролиферации под воздействием неспецифических активаторов – *митогенов*. В качестве митогенов для лимфоцитов используют различные вещества: *липополисахариды* (*lipopolysaccharides*) грамотрицательных бактерий – для В-клеток, *митоген лаконоса* (*pokeweed mitogen – PWM*) – для Т- и В-клеток, *фитогемагглютинин* (*phytohaemagglutinin – РНА*) и *конканаваллин А* (*concanavallin A – ConA*) – для Т-клеток. Выраженность ответа на митогены свидетельствует о потенциальной способности Т- или В-лимфоцитов к активации и пролиферации.

Методы оценки пролиферативной активности основаны на выявлении в культурах *in vitro* делящихся или готовящихся к делению лимфоцитов.

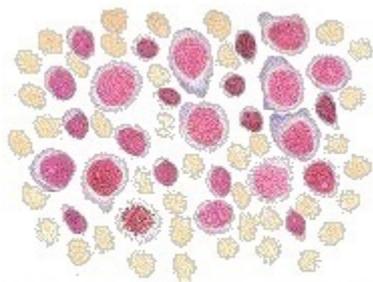


Рис. 46. РБТЛ

Одним из первых методических подходов был предложен *морфологический (микроскопический) анализ* – реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) (*lymphoblast transformation test – ЛТТ*). Метод основан на способности сенсibilизированных лимфоцитов вступать в митозы с образованием лимфобластов

под влиянием соответствующего антигена или неспецифических митогенов *in vitro*. Клетки, прошедшие S-фазу перед делением (претерпевшие бласттрансформацию), имеют удвоенное количество ДНК. Морфологически они отличаются от не делящихся большими размерами, изменением соотношения ядра и цитоплазмы, тонкосетчатой структурой ядра (рис. 46).

Колориметрический метод основан на использовании внутриклеточных прижизненных красителей, отражающих метаболическую активность клеток. Например, желтый МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил тетразолиум бромид)) в присутствии НАДФ-Н-зависимых оксидоредуктаз, активно функционирующих в делящихся клетках, восстанавливается в пурпурный формазан. Растворяющий компонент (диметилсульфоксид или додецилсульфат натрия) переводит нерастворимый формазан в растворимую форму. Результат учитывают спектрофотометрически.

Цитофлуориметрический метод основан на флуоресцентном окрашивании ДНК после предварительной пермеабиллизации (увеличения проницаемости) клеточных мембран. В качестве флуоро-

хрома чаще всего используют пропидия иодид, который избирательно связывается с ДНК. Анализ пролиферативного процесса на уровне конкретных клеток и оценка интенсивности митозов для каждой клетки проводится с использованием красителя, который связывается не с ДНК, а с белками цитоплазмы (CFSE – carboxyfluorescein diacetate succinilimide ester). CFSE, связавшись с аминогруппами внутриклеточных молекул, полностью разделяется при митозе, что позволяет отследить число делений по степени «разбавления» метки.

Наиболее распространенным и надежным для оценки пролиферативной активности лимфоцитов является *радиометрический метод*. Метод основан на включении в ДНК пролиферирующих клеток нуклеотида (тимидина), меченного тритием (^3H). Тимидин – единственный нуклеотид, который включается только в состав ДНК (но не в РНК). Для проведения исследования требуются ламинарный бокс и сцинтиляционный спектрофотометр. Мононуклеарные клетки (лимфоциты и моноциты) выделяют из гепаринизированной крови методом градиентного центрифугирования на слое фикола-верографина плотностью $1,077 \text{ г/см}^3$. Мононуклеары собирают из интерфазного кольца и несколько раз отмывают. Отмытые клетки помещаются в специальную культуральную среду. В качестве стимуляторов в разные лунки, содержащие стандартизованную клеточную суспензию, вносят антиген и митоген. В контрольную пробу добавляют эквивалентный объем культуральной среды. Клетки инкубируются в стерильных условиях в течение 3–5 дней при 37°C в CO_2 -инкубаторе. За 18 часов до окончания инкубации в лунки добавляют ^3H -тимидин, который будет включаться в состав ДНК пролиферирующих клеток. Пролиферативную активность лимфоцитов оценивают с помощью жидкостного сцинтиляционного спектрофотометра. Для оценки ответа лимфоцитов на активирующий стимул (антиген или митоген) рассчитывают *индекс стимуляции* – отношение уровня радиоактивности (число импульсов в минуту) в присутствии и в отсутствии активатора.

5.8. Тесты на цитотоксичность

Методы (cytotoxicity assays) основаны на инкубации исследуемых клеток (цитотоксические CD8+ Т-лимфоциты или НК-клетки) с клетками-мишенями, меченными ^{51}Cr , с последующим измерением повышения радиоактивности в культуральной среде (рис. 47). В качестве клеток-мишеней для цитотоксических Т-клеток могут использоваться собственные HLA-

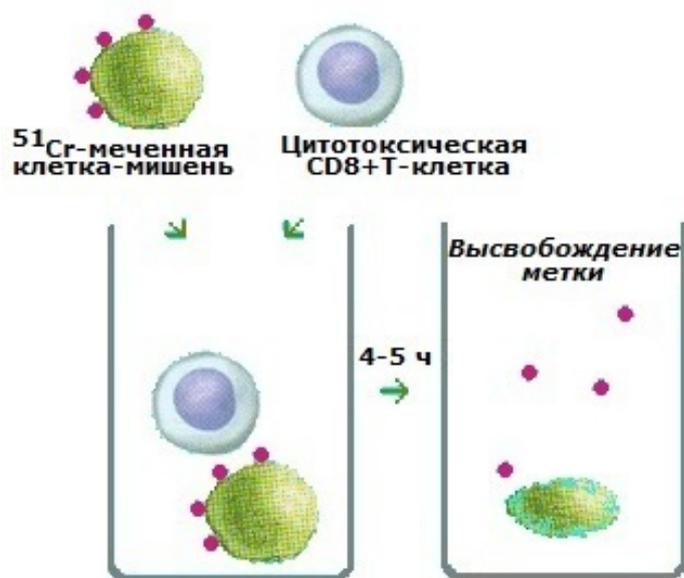


Рис. 47. Тест на цитотоксичность

идентичные клетки пациента (например, клетки, инфицированные вирусом). Для оценки активности НК-клеток применяется линия, которая высоко чувствительна к их действию (например, линия клеток эритролейкемии K562). Исследование проводится с использованием культур тканей в ламинарном боксе.

5.9. Оценка микробицидности фагоцитов

«Респираторный взрыв» фагоцитов может быть оценен люцинометрически при люцигенин – (для супероксиданиона) или люминолзависимой (для синглетного кислорода) хемилюминесценции. Тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) (Nitro Blue Tetrazolium Test, NBT-test) является простым скрининговым тестом для определения кислородзависимой цитотоксичности



Рис. 48. НСТ-тест

нейтрофилов. При «респираторном взрыве» жёлтый краситель НСТ восстанавливается до нерастворимого формазана, выпадающего в цитоплазме в виде тёмно-синих гранул (нормальный показатель не превышает 10%) (рис. 48). NBT-тест может проводиться также в стимулированном варианте с применением *S. albicans* или других тест-

микробов. Этот тест необходим для скрининг-диагностики хронической гранулематозной болезни (ХГБ) или других нарушений завершённости фагоцитоза.

5.10. Молекулярно-биологические методы

В настоящее время разработаны различные протоколы молекулярно-биологических методов, которые широко используются в иммунологии и смежных науках. Аналогично реакциям, основанным на комплементарности между антигеном и соответствующим антителом, молекулярно-биологические методы основаны на взаимодействии двух комплементарных нуклеотидов в нуклеиновых кислотах, которые становятся в целом тоже комплементарными (*кДНК* и *кРНК*). Искомая молекула ДНК в исследуемом материале обычно имеет двуцепочечную структуру, которая в процессе денатурации становится одноцепочечной.

Гибридизация ДНК – метод, основанный на детекции в составе исследуемой ДНК нуклеотидных последовательностей с помощью комплементарных меченых одноцепочечных ДНК или РНК с известной последовательностью нуклеотидов. В качестве меток для последующей визуализации могут быть использованы изотопы, флуорохромы или ферменты. Меченые молекулы обычно называют *зондами*. Искомая нуклеотидная последовательность может быть также обнаружена методом гель-электрофореза или секвенирования.

Блоттинг. Саузерн- и Нозерн-блоттинг (табл. 19) являются вспомогательными методами, посредством которых искомая нуклеиновая кислота (ДНК или РНК), аналогично белкам при проведении Вестерн-блоттинга, может быть электрофоретически перенесена из жидкой фазы на нитроцеллюлозную мембрану. Молекулы аналита сначала разделяют по размеру с использованием электрофореза в полиакриламидном геле, затем также электрофоретически переносят на нитроцеллюлозную мембрану для гибридизации с *кДНК* (или *кРНК*). После этого мембрану отмывают, чтобы удалить не связавшиеся с твердой фазой молекулы *кДНК* (или *кРНК*). Нуклеотидные последовательности *кДНК* (или *кРНК*) могут быть затем обнаружены с помощью какого-либо метода визуализации.

Технологии блоттинга

<i>Метод</i>	<i>Аналит</i>	<i>Определение</i>	<i>Возможности</i>
Саузерн-блот (работан Е.М. Southern)	ДНК	ДНК-гибридизация с радиоактивной (или другой) меченой кДНК	Обнаружение определенного гена в исследуемой ДНК
Нозерн-блот	РНК	РНК-гибридизация с радиоактивной (или другой) меченой кРНК	Выделение РНК из различных тканей с целью оценки тканевой экспрессии определенных генов (например, при первичных иммунодефицитах)
Вестерн-блот	Белки (антигены)	Связывание с антителами, конъюгированными с какой-либо меткой	Обнаружение определенных белков

Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) используется для обнаружения молекулярных аномалий (мутаций) в генах, для картирования хромосом человека и идентификации лиц, в том числе – при судебно-медицинских исследованиях. Методика основана на секвенировании ДНК посредством ее разрезания с помощью эндонуклеаз (*рестриктаз*), которые узнают строго определенные последовательности нуклеотидов. Дальнейший анализ размеров образующихся фрагментов (рестриктов) проводится с помощью гель-электрофореза.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) (Polymerase Chain Reaction, PCR). Классический принцип ПЦР, автором которой является Нобелевский лауреат К. Mullis (1993), состоит из многократного копирования уникальной последовательности нуклеотидов искомого гена в молекуле ДНК с помощью *праймеров* (*затравок*) и *ДНК-полимеразы*. Результатом является накопление (*амплификация*) миллиардов копий (*ампликонов*) искомого гена. Исследуемая ДНК должна содержать искомый ген с хорошо известной последовательностью нуклеотидов. *Праймер* представляет собой короткий фрагмент ДНК (20–30 нуклеотидов), синтезированный *in vitro*, который является комплементарным искомой последова-

тельности нуклеотидов. Пара отличающихся праймеров (прямой и обратный) всегда комплементарны 3'-концам каждой из цепей исследуемой ДНК. Нити ДНК расплетаются (*денатурируются*) под влиянием высокой температуры. При изменении температурного режима праймеры будут комплементарно присоединяться (*отжигаться*), чтобы сформировать путём удлинения (*элонгации*) двуспиральную копию искомого гена, а затем вновь на новом цикле расплетаться и т. д. Полимеризация происходит с участием термостабильной ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* (*Taq*) или *Pyrococcus furiosus* (*Pfu*) в *амплификаторе* (или *термоциклере*). Амплификатор – это термостат, в котором тепловой режим может быть изменен автоматически.

Каждый цикл ПЦР включает следующие этапы:

1) *денатурация* двуспиральной ДНК при 94°C и получение одноцепочечной ДНК;

2) *отжиг* парных праймеров при 40–60°C для обнаружения и связывания с комплементарной последовательностью на каждой цепочке ДНК;

3) *элонгация* праймеров при 70–74°C с помощью ДНК-полимеразы.

Циклы повторяются 20–30 раз. Нуклеотидную последовательность в этих копиях (ампликонах) можно окончательно идентифицировать путем секвенирования, гель-электрофореза, гибридизации или других методов.

Одна из модификаций реакции, *ПЦР в реальном времени (real-time PCR)*, позволяет наблюдать процесс накопления ампликонов в ходе амплификации, что дает возможность количественной или полуколичественной оценки результата. Для выявления и учета ампликонов используют флуоресцентные красители, связывающиеся непосредственно с ДНК, или *ДНК-зонды*, которые флуоресцируют после гибридизации с комплементарными участками ДНК.

ПЦР используется для: 1) селективного выделения ДНК и клонирования генов; 2) обнаружения мутаций; 3) типирования HLA для трансплантации; 4) оспаривания отцовства и идентификации личности (включая судебно-медицинские исследования); 5) диагностики инфекций, за исключением РНК-содержащих вирусов; 6) научных исследований древних источников и т. д.

Модификация ПЦР, *ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) (Reverse Transcription PCR, RT-PCR)* подразумевает выделение мРНК из клеточной суспензии, синтез кДНК с помощью обратной транскриптазы и проведение в дальнейшем общепринятого протокола ПЦР (рис. 49) или других известных методов. Этот количественный и функциональный метод позволяет диагностировать РНК-вирусные инфекции, такие как ВИЧ и гепатит С, а также анализировать транскрипты мРНК, участвующие в синтезе молекул иммунной системы.

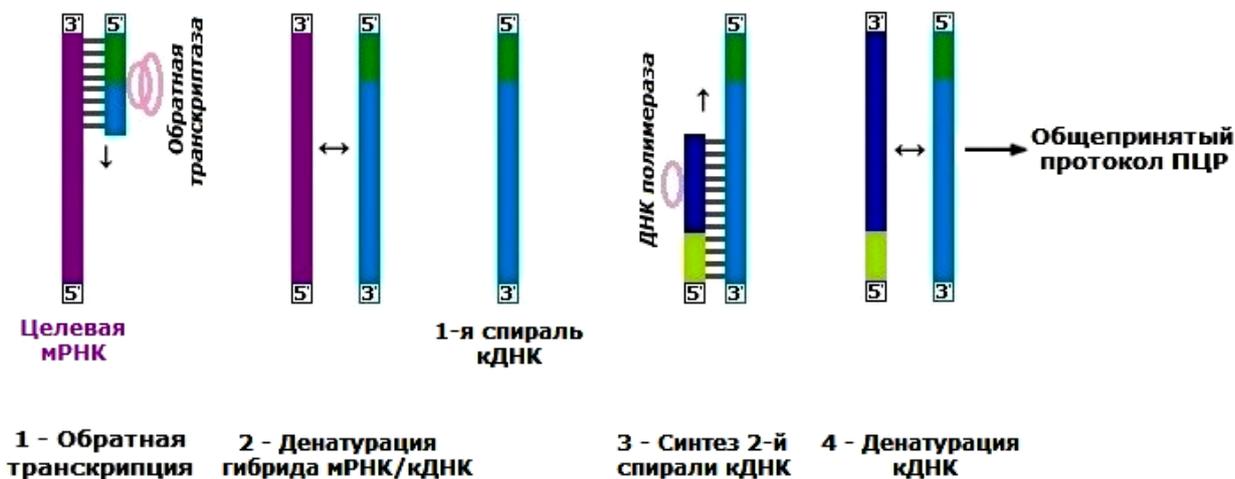


Рис. 49. Обратная полимеразная цепная реакция

Комбинация ПЦР-ПДРФ используется для выявления внутривидовых и межвидовых вариаций, например, простых нуклеотидных полиморфизмов.

ДНК-микрочипы (DNA Micro-array) – технология, которая является инструментом для одновременного эффективного анализа огромного количества генов, включая гены иммуногенома. В основе работы ДНК-микрочипов лежит метод гибридизации. ДНК-микрочипы представляют собой небольшие пластинки, на которые нанесены и прикреплены множество небольших уникальных по нуклеотидной последовательности одноцепочечных молекул ДНК (олигонуклеотидов), комплементарных ДНК изучаемых генов. Исследуемые образцы ДНК или РНК обычно предварительно метят флуоресцентными метками и наносят на микрочип для гибридизации. Все некомплементарные молекулы удаляются в процессе отмывки. Затем микрочип сканируют при помощи лазерного ридера, который оценивает флуоресценцию каждого сайта и устанавливает нуклеотидную последовательность ДНК или РНК

из образца. Современные ДНК-микрочипы позволяют анализировать целый геном.

5.11. Общие принципы иммунодиагностики

В иммунодиагностике вышеуказанные методы применяются для оценки *иммунного статуса*. Понятие «иммунный статус» используется для обозначения состояния иммунной системы в момент обследования. Иммунный статус является основой для клинической интерпретации патогенеза иммуно-опосредованных заболеваний, построения иммунологического диагноза и прогноза, а также проведения иммунотерапии, иммунопрофилактики и иммунореабилитации.

Методические подходы к оценке состояния иммунной системы впервые были предложены Р.В. Петровым и соавт в 1984 г. В соответствии с предложенными рекомендациями все методы иммунодиагностики ранее условно были разделены на тесты 1-го и 2-го уровней. Тесты 1-го уровня (ориентировочные) были направлены на идентификацию выраженных изменений в работе иммунной системы (прежде всего первичных иммунодефицитов) и предполагают количественную оценку основных компонентов врожденного и адаптивного иммунитета. Тесты 2-го уровня (аналитические) использовались для углубленного изучения функционального состояния иммунной системы.

К тестам 1-го уровня были отнесены:

- подсчет абсолютного количества лейкоцитов; относительного и абсолютного количества нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов;
- количественная оценка содержания в крови основных популяций лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+CD56+ клеток);
- определение концентрации общего белка и γ -фракции белков;
- определение концентрации сывороточных IgG, IgA, IgM, IgE;
- оценка гемолитической активности комплемента;
- оценка поглотительной активности нейтрофилов или НСТ-тест.

В качестве тестов 2-го уровня, перечень которых определялся для каждого пациента индивидуально в зависимости от клинической картины, использовались:

- подсчет количества субпопуляций Т-лимфоцитов: Th1, Th2, Th17, nTreg, НКТ-клеток, $\gamma\delta$ Т-клеток и др.;
- определение фенотипических маркеров, характеризующих различные этапы иммунопозеза и иммуногенеза;
- оценка экспрессии маркеров: CD25, CD69, HLA-DR и др.;
- оценка пролиферативной активности лимфоцитов под влиянием митогенов или антигенов;
- оценка функциональной активности хелперных популяций лимфоцитов и nTreg по внутриклеточному содержанию и интенсивности продукции в клеточных культурах ключевых цитокинов (IFN γ , IL4, IL17, IL10 и др.);
- оценка содержания различных цитокинов в крови и других биологических жидкостях;
- определение активности цитотоксических лимфоцитов;
- определение подклассов иммуноглобулинов и их аффинности;
- выявление аутореактивных антител и Т-лимфоцитов;
- оценка содержания секреторного IgA в различных биологических жидкостях (слюна, слезная жидкость, назальный или бронхиальный секрет);
- исследование рецепторного аппарата фагоцитов и различных этапов фагоцитарного процесса;
- оценка миграционной активности клеток;
- исследование интерферонового статуса (оценка содержания интерферонов в крови и в супернатантах клеточных культур);
- оценка экспрессии паттерн-распознающих рецепторов (TLR, NLR и др.);
- определение концентрации различных белков системы комплемента;
- оценка результатов кожных тестов на антигены и аллергены.

В настоящее время уже применяется системный патогенетический подход, когда из большого спектра иммунодиагностических тестов на основе результатов клинического исследования выбираются наиболее информативные и специфичные для данного варианта иммунопатологии. Т. е. алгоритм иммунодиагностики подбирается строго индивидуально для каждого больного на основании клинической картины и предполагаемого диагноза.

Для диагностики *иммунодефицитных состояний* проводится по возможности полное исследование иммунного статуса, так как

дефект может быть локализован в любом из звеньев иммунной системы. При подозрении на первичный (генетически детерминированный) иммунодефицит в качестве подтверждающих используют молекулярно-генетические методы исследований.

У пациентов с клиническими проявлениями *аллергических заболеваний* на этапе лабораторной диагностики проводится уточнение патогенетического варианта реакции гиперчувствительности и выявление причинно-значимого аллергена.

При диагностике *аутоиммунных заболеваний* наибольшую диагностическую ценность имеет определение аутореактивных антител или Т-лимфоцитов в циркулирующей крови или тканевых биоптатах.

С целью диагностики *лимфопролиферативных процессов* исследуют иммунофенотип клеток крови, красного костного мозга и/или биоптата из опухоли.

В таблице 20 приводятся параметры карты современных иммунологических исследований.

Таблица 20

Карта иммунологических исследований

<i>Показатель</i>	<i>Норма</i>
Лейкоциты (на 1 мкл крови)	4000–9000
Лимфоциты (%)	19–37
Лимфоциты (на 1 мкл крови)	1200–3000
CD3+ Т-клетки (% лимфоцитов)	55–80
CD3+ Т-клетки (на 1 мкл крови)	800–2200
CD4+ Т-хелперы (% лимфоцитов)	31–51
CD4+ Т-хелперы (на 1 мкл крови)	600–1600
CD8+ цитотоксические Т-клетки (% лимфоцитов)	19–40
CD8+ цитотоксические Т-клетки (на 1 мкл крови)	300–800
Индекс CD4+/ CD8+	1,0–2,5
HLA-DR+ (%)	5–20
CD19+ В-клетки (% лимфоцитов)	5–19
CD19+ В-клетки (на 1 мкл крови)	100–500
Спонтанная пролиферация лимфоцитов (РБТЛ)	500–1500
Ответ на Т-митоген – фитогемагглютинин (ФГА)	20000–80000
Индекс стимуляции	20–75
Ответ на Т-, В-митоген – митоген лаконоса (МЛ)	5000–15000
Индекс стимуляции	5–25
НК-активность (%)	>25
CD3+CD4+CD8+ (% лимфоцитов)	<2
CD3-CD16+CD 56+ НК-клетки (% лимфоцитов)	6–20

Окончание таблицы 20

<i>Показатель</i>	<i>Норма</i>
CD3-CD16+CD 56+ NK-клетки (на 1 мкл крови)	0–300
CD3+CD16+CD 56+ NK-клетки (% лимфоцитов)	<10
CD3+CD16+CD 56+ NK-клетки (на 1 мкл крови)	150–600
IgD+CD27- наивные В-клетки (% В-клеток)	43–82
IgM+CD27- наивные В-клетки (% В-клеток)	43–82
IgD+CD27+ В-клетки маргинальной зоны (% В-клеток)	7,5–32,5
IgM+CD27+ В-клетки маргинальной зоны (% В-клеток)	7,5–32,5
IgD-IgM+CD27+ В-клетки памяти (% В-клеток)	6,5–29
IgD+CD38++ переходные В-клетки (% В-клеток)	0,6–3,4
IgM+CD38++ переходные В-клетки (% В-клеток)	0,6–3,4
IgM-CD38 +++ плазмобласты (% В-клеток)	0,4–3,6
CD21 ^{lo} CD38- активированные В-клетки (% В-клеток)	0,9–7,6
BAFF-R -клетки (% В-клеток)	>95
Фагоцитарный индекс, нейтрофилы, Staph. aureus	95–99
Фагоцитарный индекс, моноциты, Staph. aureus	85–95
Тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), %	5–12
IgM (г/л)	0,8–2,5
IgG (г/л)	9,0–18,0
IgA (г/л)	1,0–3,5
IgE (МЕ/мл)	<130

ЧАСТЬ II. ОБЩАЯ ИММУНОПАТОЛОГИЯ

Имунопатология – это болезни иммунной системы. Нередко пусковым механизмом соматических заболеваний являются расстройства в иммунной системе, приводящие к реактивации условно-патогенных микробов на слизистых разных локализациях и коже и даже срыву естественной толерантности.

Можно выделить **4 группы иммунопатологий**.

- 1. Иммунодефицитные состояния** – недостаточность со стороны функционирования иммунной системы:
 - первичные (наследственные и врождённые) иммунодефициты;
 - вторичные иммунокомпрометации (вторичные иммунодефициты).
- 2. Аллергические болезни** с вовлечением иммунологических механизмов. Эта группа обычно дополнительно разделяется с учётом иммунопатологических реакций по Gell и Coombs:
 - атопические аллергические состояния (тип I);
 - цитотоксические реакции (тип II);
 - иммунокомплексные расстройства (тип III);
 - состояния на основе замедленной гиперчувствительности (тип IV).
- 3. Аутоиммунные заболевания** – патологии, обусловленные срывом естественной ауто толерантности к эндоантигенам.
- 4. Опухолевые заболевания** – новообразования рост которых обусловлены нарушениями иммунологического надзора и иммунорегуляцией.

В Российской Федерации иммунодефицитные состояния и аллергические болезни отнесены к преимущественной компетенции врача-аллерголога-иммунолога, который также выступает консультантом при аутоиммунных заболеваниях и при онкопатологии. Аллергические болезни в настоящее время также относятся к компетенции и других специалистов: отоларингологов, пульмонологов, педиатров, терапевтов, врачей общей практики, дерматологов.

Глава 1

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АНОМАЛИИ В ИММУНОГЕНОМЕ КАК ОСНОВА ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ

Первичные иммунодефициты – это гетерогенная группа наследственных заболеваний, обусловленных нарушениями в работе генов, контролирующих работу врожденного или адаптивного иммунитета. В настоящее время идентифицировано около 300 подобных заболеваний, являющихся следствием мутаций более 350 генов. Число их быстро возрастает, благодаря внедрению новых технологий для молекулярно-генетических исследований.

Большинство первичных иммунодефицитов является моногенными заболеваниями, которые подчиняются менделевским законам наследования, но некоторые имеют комплексную полигенную природу. Фенотипические проявления заболеваний гетерогенны и зависят как от особенностей генетических нарушений, так и от факторов окружающей среды. Однако главным клиническим проявлением является повышенная частота и тяжелое течение инфекционных заболеваний (часть III, раздел 2.1).

Первичные иммунодефициты классифицируются в зависимости от компонентов иммунной системы, работа которых нарушается в результате генетических дефектов. У больных выявляются повреждения генов (делеции, транслокации, мутации), кодирующих белки с важными свойствами для естественного и адаптивного иммунитета (сигнальные молекулы, клеточные адгезивные молекулы, ферменты, иммуноглобулины, перфорины, гранзимы, цитокины и др.), а также белки цитоскелета, белки-регуляторы клеточного цикла и т. д.

Степень клинической выраженности первичного иммунодефицита определяется уровнем генетического дефекта, т. е. этапом развития иммунных клеток или систем, на котором проявится нарушение работы гена.

Тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД) (*Severe Combined Immunodeficiency, SCID*) – это целая группа редких форм первичного иммунодефицита, обусловленная нарушениями дифференцировки клеток-предшественников лимфопоэза. Снижение выживаемости этих клеток регистрируют при **ретикулярной дисгенезии** и при **дефиците аденозиндезаминазы (АДА)**, которые сопровождаются выраженной лимфопенией. У больных с ретикулярной дисгенезией, кроме того, имеется тяжелая нейтропения и нейросенсорная глухота. Оба этих варианта первичных иммунодефицитов являются аутосомно-рецессивными. Ретикулярная дисгенезия – это очень редкая форма первичного иммунодефицита, связанная с мутацией гена аденилаткиназы 2 (АК2) – митохондриального фермента, регулирующего уровень аденозиндифосфата (АДФ). АДА – фермент, который опосредует превращение аденозина (и дезоксиаденозина) в инозин (и дезоксиинозин). В отсутствие АДА высокие концентрации токсических фосфорилированных метаболитов аденозина и дезоксиаденозина вызывают апоптоз лимфоидных предшественников в костном мозге и тимусе. Дефицит АДА составляет 10–15 % от всех форм ТКИД.

Похожие на ТКИД по клинической тяжести формы первичных иммунодефицитов могут затрагивать только **Т-клетки**. Они связаны с мутациями генов, ответственных за синтез γ - и δ -цепей молекулы CD3-ассоциированной с TCR, α -цепи рецептора IL7, пуриннуклеозидфосфорилазы, ZAP-70-тирозинкиназы и регуляторных белков, необходимых для сигналинга на различных этапах Т-лимфопоэза.

Недостаточность антителопродукции может зависеть от различных генетических дефектов, которые связаны с развитием, созреванием и функциональной активностью В-лимфоцитов. Так, дефект гена брутоновской тирозинкиназы (Btk), которая участвует в BCR-сигналинге уже на ранних этапах развития В-клеток, приводит к **болезни Брутона (Bruton)** – резкому уменьшению количества циркулирующих В-клеток и агаммаглобулинемии.

У большинства больных с **общей вариабельной иммунной недостаточностью (ОВИН)** количество В-лимфоцитов может быть не изменено, но при этом выявляются нарушения дифференцировки и активации как Т- так и В-лимфоцитов. Описано шесть мутаций генов, ответственных за эту форму первичного иммуно-

дефицита. Болезнь манифестирует в любом возрасте и характеризуется тяжёлыми бактериально-гнойными инфекциями.

Некоторые варианты первичного иммунодефицита имеют *комплексный фенотип*, в котором иммунная недостаточность является лишь частью симптомокомплекса. Например, **синдром Вискотта-Олдрича (*Wiskott-Aldrich Syndrome – WAS*)** – это X-сцепленное заболевание, характеризующееся экземой, тромбоцитопенией и иммунологической недостаточностью. Характерны частые инфекции, аутоиммунные расстройства и лимфопролиферативные заболевания. Синдром Вискотта–Олдрича чаще всего возникает в результате мутаций гена WASP, ответственного за синтез белка-регулятора актинового цитоскелета, который экспрессируется в гемопоэтических клетках. Известны формы первичного иммунодефицита в форме мутаций генов AIRE, FAS, FASLG, FOXP3, которые сочетаются с яркими *аутоиммунными расстройствами* (глава 8), хотя отдельные мало выраженные аутоиммунные реакции могут встречаться при многих первичных иммунодефицитах.

Описаны варианты первичных иммунодефицитов, связанные с *нарушениями репарации ДНК* или с *поломками ДНК*.

Одним из примеров является **синдром ДиДжорджи (*Di-George Syndrome*)**, обусловленный нарушением развития 3 и 4 глоточных карманов в эмбриогенезе, приводит к тяжелым последствиям: нарушению развития тимуса, паращитовидных желез, аномалиям сердца и крупных сосудов, лицевого скелета и психическим расстройствам. У большинства больных с этим синдромом выявляют делецию хромосомы 22q11 и выраженный Т-клеточный дефицит вследствие нарушения развития тимуса, иногда дефекты антителообразования. Другим примером является **атаксия-телеангиэктазия (синдром Луи-Бар) (*Ataxia-Telangiectasia, Louis-Bar Syndrome*)** – аутосомно-рецессивная болезнь, связанная с мутацией гена АТМ. Продукт этого гена – белок семейства ДНК-зависимых протеинкиназ, контролирующих клеточный цикл. У больных выявляются нарушения репарации ДНК, различные хромосомные аномалии. Клинически болезнь проявляется мозжечковой атаксией, телеангиэктазиями в области склер, хроническими инфекциями и злокачественными опухолями. Иммунодефицит обусловлен прогрессирующим снижением количества и функциональной активности Т-лимфоцитов и гипогаммаглобули-

немией. При **синдроме Ниймеген (Nijmegen Breakage Syndrome)** иммунологическая недостаточность сочетается с микроцефалией, аномалиями лицевого скелета и злокачественными опухолями, что обусловлено мутацией гена NBS1, контролирующего клеточный цикл и ДНК-репарацию.

Первичные иммунодефициты, связанные с нарушением **фагоцитоза**, могут быть обусловлены дефектами разных генов. **Хроническая гранулематозная болезнь (Chronic Granulomatous Disease)**, проявляющаяся пневмониями, холодными абсцессами, остеомиелитом и другими тяжелыми бактериальными инфекционно-воспалительными процессами, развивается при наличии генетических дефектов оксидазного комплекса (дефекты НАДФН-оксидазы) на хромосоме X. Описано несколько похожих, не сцепленных с хромосомой X, форм, например, **синдром Джоба (Job Syndrome)**.

Дефекты лейкоцитарной адгезии типов I-III (Leukocyte Adhesion Deficiency, LAD1, LAD2, LAD3) связаны с нарушениями работы генов, кодирующих соответственно интегриновые молекулы, E-селектины и белки интегринового сигналинга. Клинически характерны бактериальные инфекции и замедление заживления ран.

Сравнительно недавно обнаружены генетические дефекты адаптерных белков, участвующих в проведении сигнала с **TLR (IRAK4 и MyD88)**, которые проявляются в раннем детском возрасте тяжелыми гнойными инфекциями без воспалительной реакции.

Известны разнообразные варианты первичных иммунодефицитов, связанные с нарушениями в работе **системы комплемента**. Генетически детерминированная недостаточность белков начального этапа классического пути активации системы комплемента (C1q, C1r, C1s, C4, C2, и C3) проявляется как синдром, подобный системной красной волчанке. Дефицит C2 и C3 сопровождается повышенным риском инфекций, вызванных капсулообразующими бактериями. Дефекты терминальных белков комплементарного каскада (C5–C9) ассоциированы с рецидивирующими менингококковыми инфекциями. Недостаточность регуляторных белков комплемента сопровождается гломерулонефритом, атипичным гемолитическим синдромом (пароксизмальная ночная гемоглобинурия), а также наследственным ангио-отёком.

Клинические проявления первичных иммунодефицитов очень разнообразны, однако во всех случаях ранняя диагностика и лечение помогают предотвратить тяжелые инфекции, развитие необратимых изменений внутренних органов, улучшить прогноз и качество жизни пациентов.

В настоящее время основные усилия направлены на создание и совершенствование молекулярно-генетических методов выявления первичных иммунодефицитов в неонатальном и даже в пренатальном периодах. Например, скрининговое генетическое тестирование новорожденных с целью выявления методом количественной ПЦР кольцевых участков ДНК, формирующихся в процессе VDJ-рекомбинаций Т- и В-клеточных рецепторов (ТРЕК и КРЕК), позволяет очень рано диагностировать тяжелые варианты первичного иммунодефицита. В развитых странах внедрение этого метода генодиагностики позволило перевести ТКИД из разряда фатальных болезней в группу предотвратимых.

В табл. 21 суммирована информация по молекулярным аномалиям в основе различных форм первичного иммунодефицита.

Таблица 21

Молекулярные аномалии при первичных иммунодефицитах

<i>Локализация дефекта</i>	<i>Название</i>	<i>Молекулярная аномалия</i>	<i>Клинические проявления</i>
Комбинированный	Тяжёлый комбинированный иммунодефицит (ТКИД), X-сцепленный	Мутации в гене γ -цепи (CD132) рецепторов к IL2, IL4, IL7, IL9, IL12, IL13, IL15 в Xq13.1-Xq13.3	Тяжёлые инфекции с момента рождения
Комбинированный	Ретикулярная дисгенезия (группа ТКИД)	Мутации в гене АК2 (митохондриальная аденилаткиназа-2) в 1p34	Тяжёлые инфекции с рождения, панцитопения
Комбинированный	Дефицит аденозин-дезаминазы (группа ТКИД)	Мутации в гене ADA в 20q13.11, обусловленные токсическими метаболитами	Тяжёлые инфекции с рождения, поражения хрящей
Комбинированный	Дефицит HLA I (синдром «голых лимфоцитов», тип 1) (группа ТКИД)	Мутации в генах TAP1/TAP2 в 6p21.3	Тяжёлые инфекции с рождения

Продолжение таблицы 21

<i>Локализация дефекта</i>	<i>Название</i>	<i>Молекулярная аномалия</i>	<i>Клинические проявления</i>
Комбинированный	Дефицит HLA II (синдром «голых лимфоцитов», тип 2) (группа ТКИД)	Мутации в генах Регуляторных факторов MHC2TA, RFXAP, RFX5, RFXANK в 19p12, 16p13, 13q14, 1q21.1-1q21.3	Тяжёлые инфекции с рождения
Т-клетки	Дефицит Т-клеток	Мутации в гене IL7R (α-цепь) в 5p13.2	Тяжёлые инфекции с рождения
Т-клетки и NK-клетки	Дефицит Т- и NK-клеток	Мутации в гене JAK3 в 19p13.1	Тяжёлые инфекции с рождения
Т-клетки	Дефицит CD3γ или CD3δ	Аномальная транскрипция CD3γ или CD3δ-цепей в 11q23	Тяжёлые инфекции с рождения
Т-клетки	Дефицит CD8+ Т-клеток	Мутации в гене ZAP-70 в 2q12	Тяжёлые инфекции с рождения
В-клетки	Х-сцепленная агаммаглобулинемия (болезнь Bruton)	Мутации в гене Btk (брутоновская тирозинкиназа) в Xq21.3-q22	Тяжёлые инфекции на 1-м году жизни, синдром малабсорбции, гипотрофия, гипоплазия лимфоидной ткани, тяжёлый полиомиелит после вакцинации полиовакциной
В-клетки	Общий вариабельный иммунодефицит (ОВИН)	Разные мутации: (1) ген ICOS в 2q33; (2) ген TNFRSF13B в 17p11.2; (3) ген CD19 в 16p11.2; (4) ген TNFRSF13C в 22q13; (5) ген CD20 в 11q13; (6) ген CD81 в 11p	Тяжёлые инфекции (в любом возрасте); диарея (лямблиоз, энтеровирусы); аутоиммунные расстройства; опухоли из гемопоэтических клеток

Продолжение таблицы 21

<i>Локализация дефекта</i>	<i>Название</i>	<i>Молекулярная аномалия</i>	<i>Клинические проявления</i>
В-клетки	Гипер-IgM-синдром, X-сцепленный	Мутации в гене CD40L (CD154) в Xq26	Оппортунистические инфекции; гиперплазия лимфоидных органов; нейтропения; тромбоцитопения; гемолитическая анемия; склерозирующий холангит
В-клетки	Селективный дефицит IgA	Мутация в гене IGAD1 (IgA-deficiency locus-1) в 6p21.3 и IGAD2 (IgA-deficiency locus-2) в 17p11	Инфекции на слизистых или их отсутствие, предрасположенность к атопии и аутоиммунным расстройствам
Смешанный	Синдром Wiskott-Aldrich	Мутации в гене WASP (протеин Wiskott-Aldrich) в Xp11.22-p11.23, что приводит к дефекту цитоскелета	Инфекции в раннем возрасте, тромбоцитопения; ранняя экзема; аутоиммунные расстройства; опухоли из кроветворных клеток
Нарушения ДНК	Синдром Di-George	ДНК-несущий протеин в 22q11.2 (частичная моносомия). Множественный эмбриональный дефект, приводящий к нарушению развития тимуса	Гипопаратирозидизм (гипокальциемия и судороги с рождения); врождённые пороки сердца и лицевого скелета, гипоплазия тимуса
Нарушения ДНК	Атаксия телеангиэктазия (синдром Louis-Bar)	Мутация в гене фермента, подобного фосфатидилинозитол-3'-киназам, в 11q22.3, что приводит к расстройству клеточного цикла и нестабильности хромосом	Инфекции, атаксия; телеангиэктазия; опухоли из кроветворных клеток; повышение α-фетопротеина

Окончание таблицы 21

<i>Локализация дефекта</i>	<i>Название</i>	<i>Молекулярная аномалия</i>	<i>Клинические проявления</i>
Нарушения ДНК	Синдром Nijmegen	Мутация в гене NBS1 в 8q21.3, кодирующем белок, который контролирует клеточный цикл и репарацию ДНК	Инфекции, микроцефалия, задержка роста, предрасположенность к опухолям
Нейтрофилы	Хроническая грануломатозная болезнь, X-сцепленный вариант	Мутация цепи 91kD цитохрома b в Xp21.1	Инфекции, "холодные" абсцессы, грануломы с раннего возраста
Лейкоциты	Дефект лейкоцитарной адгезии, тип I	Мутация в CD18 в 21q22.3	Инфекции, замедление заживания ран, хронические язвы кожи, периодонтит
Лейкоциты	Дефект лейкоцитарной адгезии, тип II	Неспособность синтезировать сиалил Lewis (11p11.2)	Инфекции, замедление заживания ран, хронические язвы кожи, периодонтит, олигофрения
Лейкоциты	Дефект лейкоцитарной адгезии, тип III	Мутации в гене FERMT3 в 11q13.1, кодирующем внутриклеточный белок, который необходим для обратного сигналинга с генома клетки на интегрины	Инфекции, замедление заживания ран, склонность к кровотечениям на слизистых
Комплемент	Дефицит C3	19p13.3-p13.2	Рецидивирующие пиогенные инфекции, повышенная восприимчивость к менингококковой инфекции
Комплемент	Наследственный ангионевротический отёк (дефицит C1-INH)	11q11-q13.1	Рецидивы ангиоотёков с манифестацией в подростковом и взрослом возрасте

***Информацию о мутациях в генах, лежащих в основе первичных иммунодефицитов, можно найти на сайте Online Mendelian Inheritance in Man® (OMIM) – www.omim.org.

Глава 2

ТИПЫ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА

Аллергические реакции, синдромы и болезни могут возникать на основе нескольких механизмов: 1) без существенного участия иммунной системы (псевдоаллергические), 2) с участием иммунной системы (иммунопатологические). Псевдоаллергические реакции чаще всего реализуются в связи с прямым воздействием факторов на тучные клетки и базофилы с высвобождением медиаторов (гистамина и др.), активацией комплемента по альтернативному пути, асимметрией обмена арахидоновой кислоты (дисбаланс циклогеназного и липоксигеназного путей), нейровегетативными влияниями.

Все аллергические болезни с вовлечением иммунологических механизмов развития можно рассмотреть под углом иммунопатологических реакций четырёх типов, классифицированных Gell и Coombs. А.Д. Адо предложил рассматривать патогенез иммунопатологических реакций в три стадии: 1) иммунологическая, 2) патохимическая, 3) патофизиологическая.

ТИП I (атопии)

Большинство атопий являются полигенно-наследуемыми патологиями, поэтому большое значение имеет понятие *атопической конституции*. На основе полигенно-наследуемой атопической конституции возможно развитие клинической атопической патологии. На рисунке 50 представлена гипотетическая версия происхождения атопической конституции у человека в филогенезе.

Для атопической конституции характерны следующие черты, которые характерны для пациента: наследственная отягощённость атопическими болезнями в анамнезе, склонность к гиперпродукции IgE в ответ на экзоаллергены, селективный дефицит sIgA, повышение сроков жизни эозинофилов и тучных клеток, ускоренная

регрануляция тучных клеток, повышение экспрессии $Fc\epsilon RI$, повышение экспрессии H1-рецепторов (гистаминовых рецепторов 1-го типа).

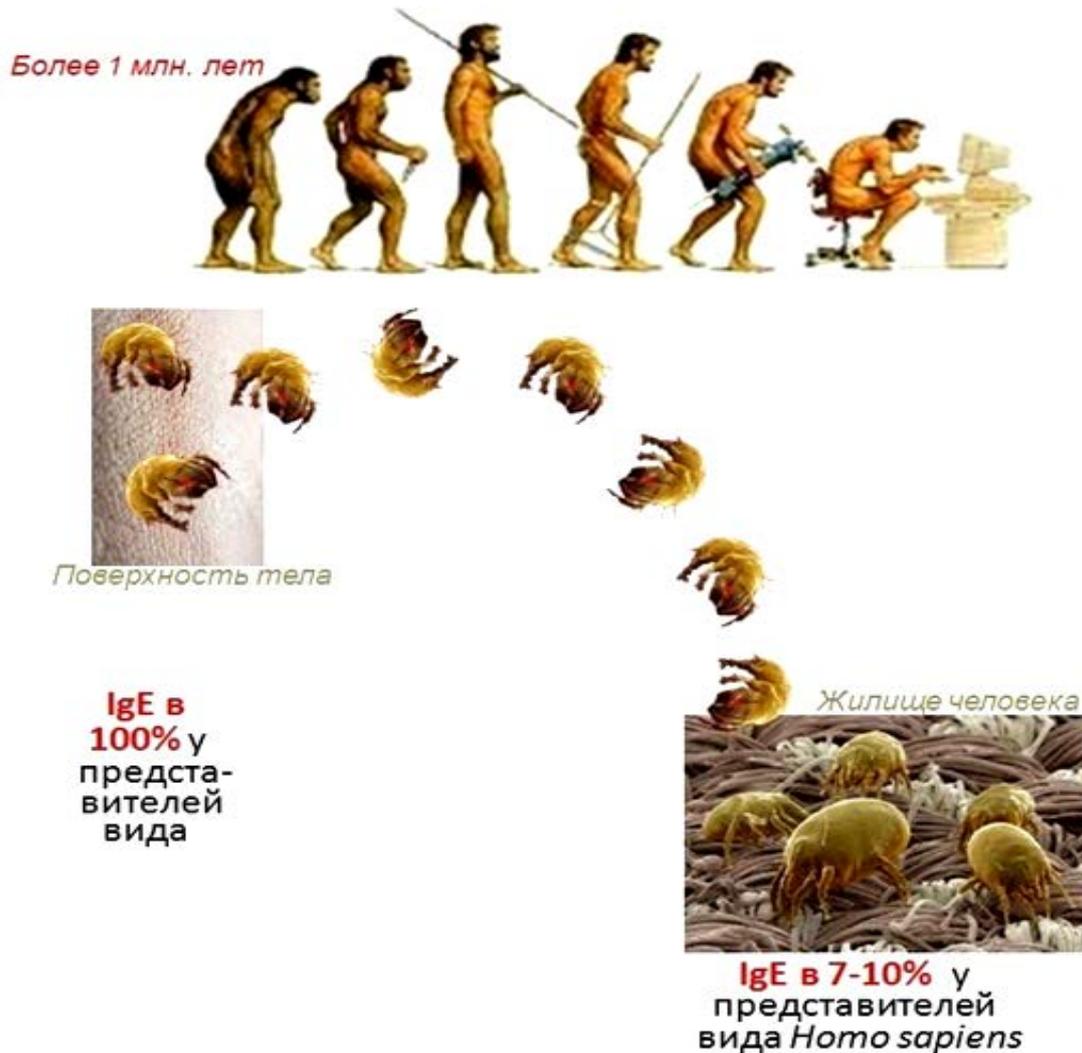


Рис. 50. Гипотетическая версия происхождения атопий

Аллергенами для атопической аллергической реакции являются продукты жизнедеятельности домашних клещей рода *Dermatophagoides*, тараканов, грибков, слюна и шерсть животных, пищевые продукты (молоко, яйца, морепродукты, орехи и т. д.), пыльца растений, латекс и другие.

В связи со срывом естественной толерантности иммунная система развивает иммунный ответ на данные аллергены с образованием антител класса IgE с пожизненной памятью. Иммунный ответ при аллергиях называется сенсibilизацией. В ходе *иммунологической стадии (сенсibilизации)* происходит взаимодействие следующих клеток: дендритные клетки (обеспечивают эндоцитоз аллергена, его процессинг и презентацию в комплексе с HLA II),

Т-хелперы-2 (вырабатывают цитокины соответствующего профиля, которые нужны для регуляции) и В-лимфоциты (они дифференцируются в плазматические клетки-антителопродуценты и В-клетки памяти). Секретируемые иммуноглобулины цитотфильные, имеют высоко-аффинный рецептор к IgE, который экспрессируется тучными клетками. При соединении иммуноглобулина с рецептором (*патохимическая стадия, две фазы*) тучная клетка выбрасывает разнообразные медиаторы аллергического воспаления, главным из которых является гистамин. *Ранняя фаза атопии* (через 20 мин от контакта) включает отёк, зуд кожи и слизистых, гиперсекрецию, спазм гладких мышц. Через 4–6 часов в очаг контакта привлекаются эозинофилы и нейтрофилы, медиаторы которых формируют аллергическое воспаление *поздней фазы атопии*. Воспаление в позднюю фазу более выраженное. Клинические симптомы конкретных атопических проявлений (дерматит, отёк, бронхоспазм и др.) развиваются в *патофизиологическую стадию*. В целом тип I является ГНТ.

Примерами таких атопических болезней являются атопический дерматит, круглогодичный и сезонный аллергический ринит (риноконъюнктивит), бронхиальная астма, инсектная аллергия. Самое тяжёлое проявление атопий – анафилактический шок. За открытие анафилаксии С.Р. Richet получил Нобелевскую премию (1913).

Важными диагностическими приёмами выявления атопий являются кожные алергопробы (с 4–5 лет) и исследование алергопанели (определение специфических IgE к алергенам в крови). Эффективное лечение включает два подхода: **аллергенспецифическую иммунотерапию (АСИТ)** и хорошо разработанную медикаментозную терапию (см. часть III, глава 5).

ТИП II (цитотоксические реакции)

Аллергенами (антигенами) для этого типа являются лекарства и другие химические вещества, которые либо адсорбируются на мембранах клеток (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и др.), либо всегда присутствуют в клетках: антигены А и В эритроцитов (разные группы крови), Rh-фактор эритроцитов. В *иммунологическую стадию* развивается развёрнутый В-клеточный ответ (дендритная клетка процессирует алерген-антиген и представляет его Т-хелперам-1, которые взаимодействуют с соответствующим клоном В-клеток). Образовавшиеся антитела классов IgM и IgG свя-

зываются с аллергеном-антигеном в иммунные комплексы, которые активируют *комплемент по классическому пути* на мембранах клеток-мишеней (*патохимическая стадия*), что вызывает их лизис. По схожему механизму реализуется феномен *антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ)* (рис. 36 в разделе 4.6). Симптоматика болезней на основе типа II связана с функциональной недостаточностью клеток, которые были лизированы и с продуктами их распада (*патофизиологическая стадия*).

Примерами болезней на основе цитотоксической реакции являются лекарственные лейкопении, анемии, лекарственные и другого генеза тромбоцитопении, гемолитическая болезнь новорождённых, антибактериальный гломерулонефрит, тяжёлая миастения, вульгарная пузырчатка, хроническая крапивница, острое отторжение аллотрансплантата.

Диагностика основывается на цитотоксических тестах. Лечение предполагает элиминацию причинного аллергена, симптоматическую терапию. В случае ожидаемого Rh-конфликта мать во время беременности получает вакцинацию антирезус-иммуноглобулином. При тромбоцитопении иногда назначается капельное введение человеческого иммуноглобулина.

ТИП III (иммунокомплексные расстройства)

Аллергенами для этого типа чаще всего выступают лекарственные, микробные и химические агенты. В *иммунологическую стадию* на аллерген развивается развёрнутый В-клеточный ответ с образованием IgM, IgG1-IgG3, IgA, которые связываются с ним в иммунные комплексы. Иммунные комплексы могут быть крупными, средними и мелкими (рис. 35 в разделе 4.6). Проблемой является то, что средние и мелкие иммунные комплексы не могут эффективно элиминироваться через лейкоциты, экспрессирующие FcRII и FcRIII, и печень, поэтому поступают в стенки мелких артериол. Здесь начинается *патохимическая стадия* с участием эндотелия, когда запускается иммунное воспаление артериол под воздействием фрагментов комплемента, цитокинов, метаболитов арахидоновой кислоты, кислородных радикалов, энзимов и др. метаболитов, при этом всегда наблюдается серьёзное повреждение тканей. В связи с этим основу симптоматики составляют проявления хронического пролиферирующего артериолита в разных органах и тканях (*патофизиологическая стадия*).

Примерами иммунокомплексных болезней могут служить сывороточная болезнь, экзогенный аллергический альвеолит, постстрептококковый нефрит, подострый септический эндокардит, васкулиты, серозиты, артриты разных локализаций и др. Радикальными диагностическими приёмами являются биопсия кожно-мышечного лоскута с гистологическим выявлением пролиферирующего васкулита, иммуногистохимическое исследование.

Лечение противовоспалительное, дезинтоксикационное, симптоматическое.

ТИП IV (замедленная гиперчувствительность)

Аллергенами для этого типа являются химические вещества, пломбировочный материал, металлы коронок и протезов, лекарства, латекс, антигены внутриклеточных патогенов (например, *M. tuberculosis*). В ходе *иммунологической стадии (сенсibilизации)* развивается CD4+T-клеточный ответ, результатом которого в месте встречи T-клеток и аллергенов, локализованных, как правило, в макрофагах за счёт их активации развивается хроническое иммунное воспаление (*патохимическая стадия*). Оно обусловлено многочисленными провоспалительными медиаторами, высвобождающимися из клеток, что приводит к повреждению тканей, грануломатозу, фиброзу и ангиогенезу. Эти процессы на клиническом уровне в *патофизиологическую стадию* определяют симптоматику болезней.

Примерами болезней и состояний на основе типа IV являются аллергический контактный дерматит, грануломатозные осложнения при хронических инфекциях и инвазиях (туберкулёз, проказа, микозы, сифилис, шистозоматоз и др.), хроническое отторжение аллотрансплантата, локальные реакции на зубные протезы, ювелирные изделия, косметику, лекарства и т. д. Диагностика основывается на аппликационных кожных пробах, реакции бласттрансформации лимфоцитов.

Лечение противовоспалительное (системное и местное), дезинтоксикационное, симптоматическое.

Глава 3

МЕХАНИЗМЫ СРЫВА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ И АУТОИММУННЫЕ РАССТРОЙСТВА

Аутоиммунные расстройства обусловлены неадекватной атакой иммунной системы на собственные клетки и ткани. Начальная стадия иммунопатогенеза аутоиммунных болезней – это механизмы срыва ауто толерантности к эндоантигенам (аутоантигенам).

Как было описано в разделе 4.8, механизмом центральной ауто толерантности является клональная делеция, а на периферии ауто толерантность поддерживается благодаря клональному игнорированию, клональной анергии и контролю со стороны nTreg. Хотя в организме постоянно присутствуют аутореактивные Т- и В-клетки, однако за счёт указанных механизмов поддержания толерантности агрессивный аутоиммунный ответ не развивается. При наличии ряда дополнительных условий (*мутации* некоторых генов) и внешних воздействий (*хроническая травма, хроническая инфекция*) происходит срыв ауто толерантности и развитие агрессивного аутоиммунного ответа.

Показано, что мутации гена AIRE, ответственного за полноту отрицательной селекции аутореактивных клонов в тимусе, приводят к развитию синдрома (Autoimmune Polyendocrinopathy, Candidiasis, Ectodermal Dystrophy, APECED). Мутации генов белков Fas (CD95) и FasL (CD178), вовлечённых в апоптоз, способствуют возникновению аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома (Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome, ALPS). Мутация гена FOXP3, ответственного за созревание nTreg, приводит к развитию X-сцепленного синдрома иммунной дисрегуляции, полиэндокринопатии и энтеропатии (Immune dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy X-linked syndrome, IPEX), сочетающего черты

системного аутоиммунного расстройства и первичного иммунодефицита. Кроме того уже вне зависимости от наследственных мутаций, в ходе адаптивных иммунных ответов, включая аутоиммунные, не исключено возникновение мутаций TCR и особенно BCR, что неизбежно приводит к появлению аутореактивных клонов.

Не зависимо от мутаций, есть предположение, что в связи с наличием у 30% Т-клеток двух разных по специфичности TCR, один из которых может взаимодействовать с экзоантигеном, а другой – с аутоантигеном, иммунный ответ к экзоантигену может привести к накоплению эффекторов, способных реагировать и с аутоантигеном.

Некоторые бактерии и вирусы содержат антигенные детерминанты, схожие с человеческими (*молекулярная мимикрия*), что позволяет им «маскироваться» и избегать активных иммунных ответов. Однако в условиях длительной персистенции микробов защитные антитела, в силу способности к перекрестному взаимодействию со сходными структурами, могут индуцировать аутоиммунное повреждение тканей. Роль молекулярной мимикрии подтверждена в патогенезе рассеянного склероза (вирусы Эпштейна–Барр и кори) аутоиммунных артропатий (клебсиелла и другие бактерии), сахарного диабета 1 типа (герпесвирусы, вирус Коксаки и др.), ревматической лихорадки (М-протеин стрептококка группы А) и ряда других аутоиммунных болезней. Некоторые микробы, обладающие молекулярными структурами со свойствами *суперантигенов*, способны стимулировать анергичные аутореактивные клоны лимфоцитов к поликлональной стимуляции и *отмене клональной анергии*. В эффекторную фазу аутоиммунного ответа развивается персистирующее иммунное воспаление, которое реализуется по механизмам II–IV типов иммунопатологических реакций по Gell и Coombs. Происходящие при этом воспалительно-деструктивные процессы способствуют дополнительному появлению в циркуляции большого количества аутоантигенов, включая секвестрированные аутоантигены «привилегированных зон», что приводит к отмене аутоотолерантности, в том числе и в связи с *нарушением механизма клонального игнорирования*.

Значимую роль в патогенезе срыва аутоотолерантности играют и *нарушения механизмов иммунорегуляции*, включая сдерживающий эффект неадаптивных nTreg и иммуносупрессивных цитоки-

нов (IL10, TGF β , IL35). При этом наблюдается поляризация баланса адаптивных Т-хелперов в сторону избыточной активации Th1 и Th17 клеток, повышенная секреция провоспалительных цитокинов (IFN γ , TNF, IL1, IL6 и др.) и воспалительных хемокинов со всеми вытекающими последствиями. Наблюдается повышение экспрессии костимуляторных и снижение экспрессии коингибиторных молекул, возникает неадекватная экспрессия молекул HLA-II на соматических клетках, что превращает их в антигенпредставляющие клетки.

Иммунологическая диагностика в настоящее время позволяет проводить молекулярное обоснование наличия или отсутствия той или иной аутоиммунной патологии. Диагностические подходы направлены в основном на выявление аутореактивных антител, которые определяют методом ИФА или иммунофлуоресценции (при наличии тканевых срезов).

В таблице 22 приведены иммунологические маркёры большинства аутоиммунных болезней.

Таблица 22

Аутоиммунные болезни и их маркёры

<i>Аутоиммунная патология</i>	<i>Иммунологический маркёр</i>
Аутоиммунная гемолитическая анемия	Аутоантитела против Rh-антигена
Пернициозная анемия	Аутоантитела против внутреннего фактора Касла
Аутоиммунная тромбоцитопения	Аутоантитела к тромбоцитам (интегрин GpIIb/IIIa)
Вульгарная пузырчатка	Аутоантитела против кадгерина эпидермиса, десмосом кожи
Хроническая идиопатическая крапивница	Аутоантитела против Fc ϵ RI
Витилиго	Аутоантитела к меланоцитам
Аутоиммунный тиреоидит	Аутоантитела против тиреоидной пероксидазы (ТПО), тиреоглобулина, микросомальной фракции
Болезнь Грейвса (диффузный токсический зоб)	Аутоантитела к рецепторам ТТГ
Инсулинзависимый сахарный диабет (типа I)	Аутоантитела к глутаматдекарбоксилазе, тирозинфосфатазе, инсулину, мембранному аутоантигену β -клеток островков Лангерганса

Продолжение таблицы 22

<i>Аутоиммунная патология</i>	<i>Иммунологический маркёр</i>
Женское бесплодие	Аутоантитела к стероидпродуцирующим клеткам надпочечников, плаценты и текальным клеткам яичника; аутоантитела к белку ZP3 яйцеклетки; антиспермальные аллоантитела (общие); аллоантитела к антигенам сперматозоидов (FA-1, CS-1 и др.)
Мужское бесплодие	Аутоантитела к стероидпродуцирующим клеткам яичка; антиспермальные аутоантитела (общие); аутоантитела к антигенам сперматозоидов (FA-1, CS-1 и др.)
Синдрома Дресслера, идиопатическая дилатационная кардиомиопатия, ревматический кардит	Аутоантитела к миокарду
Синдром Гудпасчера	Коллаген типа IV
Атрофический гастрит А с пернициозной анемией	Аутоантитела к париетальным (обкладочным) клеткам желудка (АПКЖ)
Первичный билиарный цирроз печени	Аутоантитела к митохондриям (АМА)
Аутоиммунный гепатит типа 1	Аутоантитела к гладким мышцам (АГМА)
Аутоиммунный гепатит типа 2	Аутоантитела к микросомам печени-почек (LKM)
Аутоиммунный панкреатит	Аутоантитела к IgG4, экзокринной части поджелудочной железы
Целиакия (глютеновая энтеропатия)	Аутоантитела к эндомизию (АЭА), тканевой трансглутаминазе, глиадину, ретикулину (АРА)
Болезнь Крона	Аутоантела к <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , ретикулину (АРА) в 30%, экзокринной части поджелудочной железы в 40%
Аутоиммунный гломерулонефрит	Аутоантитела к базальной мембране клубочков
Неспецифический язвенный колит	Аутоантитела к бокаловидным клеткам кишечника, цитоплазме нейтрофилов (АНЦА) в 75%
Системная красная волчанка	Аутоантитела к двуспиральной ДНК, кардиолипину, антинуклеарный фактор, LE-клетки
Антифосфолипидный синдром	Аутоантитела к фосфолипидам, фосфатидилсерину, кардиолипину
Ревматоидный артрит	Аутоантитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), коллагену, агрегированному IgG (ревматоидный фактор), ядерным антигенам

Окончание таблицы 22

<i>Аутоиммунная патология</i>	<i>Иммунологический маркёр</i>
Васкулиты	Аутоантитела к эндотелиальным клеткам (HUV-EC), миелопероксидазе, цитоплазме нейтрофилов (АНЦА), протеиназе 3 (PR3)
Гипокомплементемический уртикарно-геморрагический васкулит	Аутоантитела к C1q
Тяжёлая миастения (myasthenia gravis)	Аутоантитела против n-ацетилхолиновых рецепторов, к скелетным мышцам
Рассеянный склероз	Аутоантитела против основного белка миелина, миелинового олигодендроглиального антигена, миелин-ассоциированного гликопротеина, протеолипидного протеина миелина

Подробная клиническая характеристика некоторых аутоиммунных болезней будет дана в части III главе 6.

Глава 4

ИММУНОПАТОГЕНЕЗ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

Концепция о существовании иммунного надзора за опухолевым ростом была выдвинута еще в 50-е годы прошлого века (L. Thomas, F.M. Burnet). В соответствии с этой концепцией иммунная система способна подавлять опухолевый рост, распознавая антигены опухолевых клеток и уничтожая их, как это происходит с клетками чужеродного трансплантата. Частота возникновения опухолей у людей преклонного возраста тесно связана со старением иммунной системы (immunosenescence). Известно много факторов, подтверждающих позитивную роль иммунной системы в контроле над опухолевой прогрессией:

- высокий риск развития опухолей у пациентов с первичными иммунодефицитами и вторичными иммунокомпрометациями;
- дремлющие опухоли хорошо растут после иммуносупрессорной терапии;
- наличие опухолинфильтрирующих лимфоцитов продлевает жизнь опухоленосителей.

Значение могут иметь накопление мутаций, эпигеномные нарушения, аномалии регуляции апоптоза, гиперинсулинемия и др. факторы. Клинические данные подтверждены экспериментами, доказывающими, что канцероген-индуцированные опухоли легко развиваются в организме иммунодефицитных животных. Однако достаточно часто опухоли развиваются в организме индивидов с активно функционирующей иммунной системой. Способность опухоли развиваться в присутствии функционирующей иммунной системы послужила основой для создания современной **концепции опухолевого иммуноредактирования**, согласно которой иммунная система последовательно меняет стратегию от *противоопухолевой* к *проопухолевой* «предательской», по мере развития опухолевого процесса.

Можно выделить три стадии иммуноредактирования:

1-я стадия. Контроль иммунной системы над опухолевым ростом и элиминация опухоли.

Иммунная система узнает и элиминирует опухолевые клетки, фенотипически отличающиеся от нормальных и экспрессирующие опухолевые антигены. Включаются в полной мере механизмы противоопухолевого иммунитета: макрофаги, NK-клетки, NKT-клетки, $\gamma\delta$ T-клетки, CD8+T-клетки.

Результатами 1-й стадии могут быть:

- полная элиминация (благоприятный исход);
- частичная (жизнеспособность опухоли сохраняется, но она не прогрессирует и не метастазирует).

2-я стадия. Равновесие между активностью опухоли и иммунной системой («балансирование»).

При частичной элиминации опухолевые клетки могут находиться в «дремлющем» состоянии или продолжать эволюционировать (ДНК-мутации, изменение экспрессии генов) без прогрессии. Результатами «балансирования» являются:

- контроль за опухолевой прогрессией и формирование дремлющей опухоли;
- селекция опухолевых клонов, устойчивых к иммунным механизмам, или супрессирующих иммунный ответ, при этом имеется высокий риск опухолевой прогрессии.

3-я стадия. Избегание опухолью иммунных механизмов защиты (ускользание из-под иммунологического надзора, патологическая толерантность).

Иммунная система прекращает сдерживание роста опухоли и даже способствует ее дальнейшему развитию. Результатами являются инвазивный опухолевый рост (опухолевая прогрессия) и метастазирование.

Механизмы ускользания опухолей из-под контроля иммунной системы могут быть обусловлены свойствами самих опухолевых клеток или свойствами *опухолевого микроокружения (tumor microenvironment)*. Опухолевое микроокружение – это сложная сеть опухолевых, иммунных, сосудистых и стромальных клеток, характеризующаяся ремоделированием экстрацеллюлярного матрикса, иммуносупрессией и гипоксией вследствие измененной

васкуляризации. *Супрессивные свойства опухолевого микроокружения* могут быть обусловлены следующими факторами:

- увеличение численности nTreg (CD4+CD25^{hi}FoxP3+) в опухолевом микроокружении;
- инфильтрация опухоли иммуносупрессорными миелоидными клетками (MDSC);
- секреция ингибиторных молекул клетками опухолевого микроокружения (TGFβ, IL10, индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO));
- нарушение ответа иммунокомпетентных клеток на цитокины и др.

Опухолевое микроокружение способствует росту, инвазии и метастазированию опухолей.

Супрессивные свойства опухоли могут проявляться в результате изменения гено- и фенотипических характеристик непосредственно опухолевых клеток, приводящих к снижению иммуногенности. Для большинства злокачественно трансформированных клеток характерны следующие особенности:

- низкая экспрессия опухолевых антигенов;
- низкая степень экспрессии дифференцировочных антигенов и белков гистосовместимости (HLA);
- модуляция мембранных антигенов опухолевых клеток;
- растворимые формы мембранных антигенов;
- отсутствие экспрессии или слабая экспрессия костимуляторных молекул CD80 и CD86;
- экспрессия ингибиторных молекул (TGFβ, IL10, IL4, PGE2, CTLA-4, PD-1, LAG-3, Tim-3) и снижение экспрессии рецепторов к ингибирующим факторам роста;
- повышенная экспрессия антиапоптотических молекул.

Методы иммунодиагностики используются в онкологии для оценки состояния иммунной системы пациентов, для фенотипирования опухолевых клеток и для выявления сывороточных онкоспецифических маркёров (табл. 23).

Таблица 23

Онкоспецифические маркёры

<i>Онкопатология</i>	<i>Онкоспецифический маркёр</i>
1. Рак молочной железы	СА 15-3, СЕА, гормоны (пролактин, эстрадиол)
2. Опухоли яичников	СА 125, НЕ-4, ХГЧ, эстрадиол

<i>Онкопатология</i>	<i>Онкоспецифический маркер</i>
3. Рак предстательной железы	PSA
4. Первичный рак печени	AFP, CEA, CA 19-9, ферритин
5. Рак пищевода	SCC, CEA
6. Рак желудка	CA72-4, CEA, CA 19-9
7. Рак поджелудочной железы	CA19-9, CEA, NSE
8. Рак кишечника	CA 19-9, CEA, Tumor M2-РК (кал)
9. Рак мочевого пузыря	UBC (моча), Cyfra-21-1
10. Рак почки	Tumor M2-РК
11. Рак легкого	
– мелкоклеточный	NSE
– немелкоклеточные	Cyfra-21-1, SCC
12. Меланома	S100
13. Нейроэндокринные	NSE
14. Онкогематологические	β_2 -микроглобулин

CEA – раково-эмбриональный антиген, HE-4 – человеческий эпидермальный белок-4, AFP – α -фето-протеин, NSE – нейроспецифическая энолаза, Cyfra-21-1 – фрагмент цитокератина 19, UBC – Urinary Bladder Cancer, SCC – плоскоклеточная карцинома, Tumor M2-РК – опухолевая M-2 пируваткиназа

Онкоспецифические маркеры – это белки, которые синтезируются и секретируются в значительно больших количествах опухолевыми клетками по сравнению с нормальными. Для солидных опухолей большинства локализаций подобраны 2–5 опухолевых маркеров. Следует отметить, что повышенная концентрация этих белков в крови может наблюдаться и при некоторых воспалительных процессах, поэтому их использование рационально для динамического наблюдения за пациентом после радикально проведенного лечения – с целью раннего выявления субклинических рецидивов и контроля эффективности терапии.

Идентификация ключевых иммунных клеток и молекул, вовлеченных в динамические взаимоотношения между опухолью и иммунной системой, необходима для разработки и внедрения новых диагностических и прогностических критериев, а также новых терапевтических подходов.

Глава 5

ИММУНОЛОГИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ И ОСНОВЫ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ

5.1. Иммунология инфекционных процессов

В процессе филогенеза сложились разные формы взаимоотношений между макроорганизмом и микробами:

- Комменсализм – нейтральные взаимоотношения микроба и макроорганизма.
- Мутуализм – взаимовыгодные взаимоотношения.
- Паразитизм – отношения, выгодные только микробу с вредом для макроорганизма.

В связи с этим можно сгруппировать все микробы следующим образом (рис. 51).

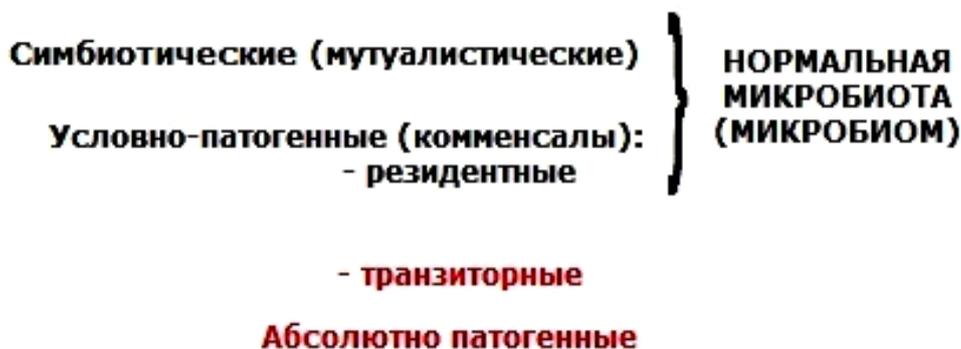


Рис. 51. Нормальная микробиота организма и патогенные микробы

Человеческий организм окружает большое число микробов, часть из которых является *безусловно-патогенными* для него. В самом теле человека, главным образом, в барьерных органах (на коже и слизистых оболочках), присутствуют микробы (общая совокупность – микробиом или микробиота), которые либо в подавляющем числе случаев безопасны (*симбионты*), либо в некоторых

условиях могут быть причиной воспалительного процесса (*условные патогены*). Отличительной чертой условно-патогенных микробов по сравнению с безусловными патогенами является их возможность длительного (пожизненного) пребывания в человеческом организме в латентном состоянии. Внутри рода и даже вида могут быть представители разных групп: например, *Mycoplasma hominis* – условный патоген, а *Mycoplasma genitalium* – безусловно-патогенная бактерия – возбудитель патологии мочевыводящих путей, *Escherichia coli* – условный патоген, а *Escherichia coli* 0157:H7 – безусловно-патогенная бактерия для желудочно-кишечного тракта.

К микробиому человеческого макроорганизма относятся представители всех микробных царств: бактерии, грибки, простейшие, вирусы. Заселение микробами начинается с первых часов рождения человека и продолжается долгие годы. Первичное инфицирование условными патогенами, в зависимости от их количества, может быть скрытым или клинически выраженным (например, стафилодермия новорождённых, ветряная оспа или инфекционный мононуклеоз). Общая биомасса микробиома у взрослого человека измеряется килограммами, его состав очень индивидуален, претерпевает колебания в зависимости от многих условий (сезон года, климат, контакты с другими людьми, использование типа одежды, средств гигиены и т. д.). Проект Human Microbiome Program позволил сделать открытие того, что пейзаж микробиома наследуется, т. е. генотип человека влияет на его формирование в барьерных органах после рождения.

Ситуация, в которой условно-патогенные микробы выходят из-под контроля и могут вызывать воспаление, называется **реактивацией**.

Причины реактивации условных патогенов следующие:

1. Ослабление иммунной системы.
2. Дисбаланс в составе микробиома со снижением взаимовлияния антагонистических видов условно-непатогенных и условно-патогенных микробов.
3. Транслокация в несвойственные ниши (места пребывания).
4. Суперинфекция.

Возможны три варианта поведения условно-патогенных микробов в макроорганизме (табл. 24).

Варианты реактивации условно-патогенных микробов

<i>Критерий</i>	<i>Латентное состояние</i>	<i>Субклиническая реактивация</i>	<i>Клиническая реактивация</i>
Локализация условно-патогенных микробов	Места постоянно-го пребывания (ткани, клетки), где происходит иммунологическое сдерживание	Секреты	Кровь, ЦНС, периферические нервы, кожа, слизистые оболочки, печень, глаза и др.
Клиническое значение	Нет клинической и эпидемиологической значимости	Нет клинической значимости (лечение не требуется), но есть эпидемиологическая (возможность распространения)	Есть клиническая значимость (требуется лечение) и эпидемиологическая значимость

Все иммунологические механизмы естественного и адаптивного иммунитета бывают задействованы при внедрении безусловно-патогенных микробов, которые вызывают инфекционные болезни, и при реактивации условных патогенов. Преобладание того или иного механизма определяется филогенетически сформированной локализацией микроба в макроорганизме (табл. 25).

Преобладание иммунологического механизма

<i>Локализация микроба</i>	<i>Иммунологический механизм</i>
Все патогены (<i>паттерны</i>)	Реакции естественного иммунитета
Внеклеточные патогены (<i>паттерны</i>)	Простой В-клеточный адаптивный ответ
Внеклеточные патогены (<i>антигены</i>)	Развёрнутый В-клеточный адаптивный ответ с развитием памяти
Внутриклеточные патогены - вирусы (<i>антигены</i>)	CD8+ Т-клеточный адаптивный ответ с памятью
Другие внутриклеточные патогены (<i>антигены</i>)	CD4+ Т-клеточный адаптивный ответ с памятью

Лабораторным критерием реактивации является появление специфического IgM в крови. Функционирование эффекторов естественного и адаптивного иммунитета, которые направлены против микробов, отличается по конечному результату, что зави-

сит от того, произошло ли внедрение безусловного патогена или реактивация условного. Естественный иммунитет (фагоцитоз, комплемент, НК-клетки и т. д.), как правило, обеспечивает кратковременный защитный эффект:

- *эрадикация* или *сдерживание* (на ранних стадиях инфицирования безусловными патогенами);
- *сдерживание* (на ранних стадиях реактивации условных патогенов).

Эффекторы адаптивного иммунитета (антитела, CD8+ Т-клетки, CD4+ Т-клетки и клетки памяти) могут функционировать на трёх уровнях:

- защитный уровень:
 - *эрадикация* (при ответе на безусловные патогены);
 - *сдерживание* (при ответе на условные патогены);
- уровень «свидетелей» (при недостижении эрадикации или сдерживания);
- патологический уровень (при перекрёстных реакциях микробных антигенов с аутоантигенами, а также в целом при аутоиммунных болезнях).

Безусловно-патогенные инфекции могут иметь острое и хроническое течение, а реактивация условных патогенов иногда имеет волнообразный характер (рис. 52).

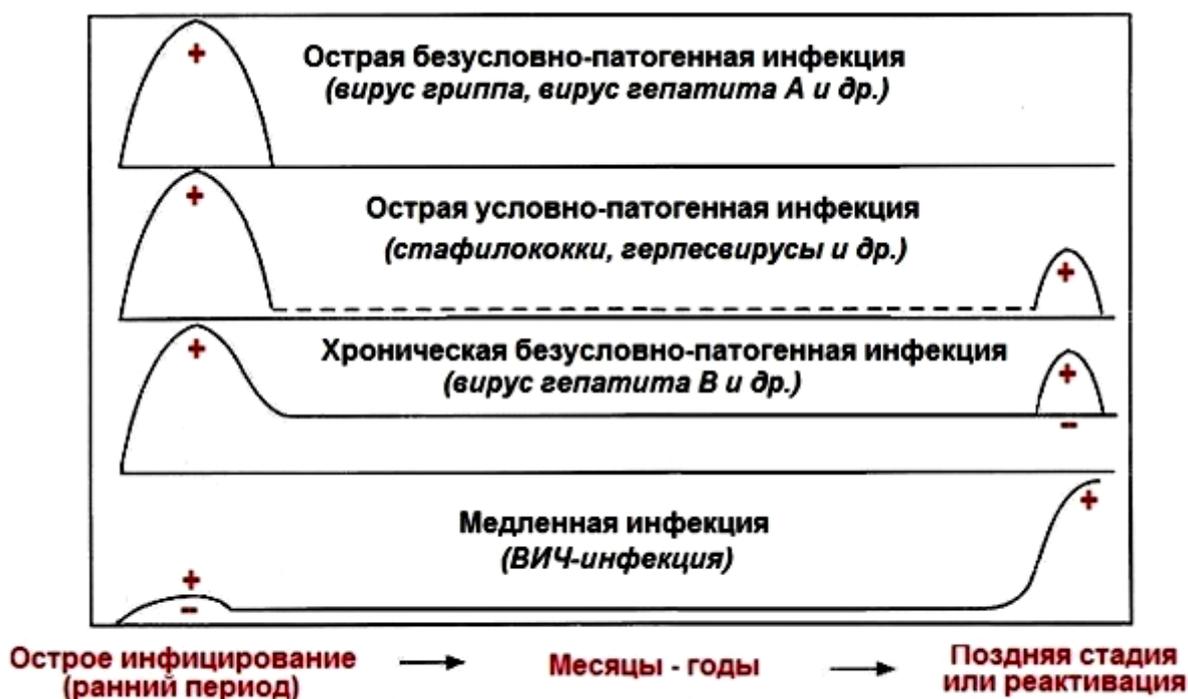


Рис. 52. Типы течения разных типов инфекций

В случаях хронического или волнообразного течения, наряду с механизмами активного иммунитета, может формироваться антипод активного иммунитета – иммунологическая толерантность (табл. 26).

Таблица 26

Иммунологические феномены при разных вариантах течения инфекции

<i>Вариант течения инфекции</i>	<i>Иммунологический механизм</i>
Компоненты нормального микробиома	Отсутствие реакций естественного иммунитета. Естественная толерантность
Острая безусловно-патогенная инфекция	Реакции естественного иммунитета Иммунные ответы эрадикационного типа
Хроническая безусловно-патогенная инфекция (включая медленную инфекцию без выздоровления)	Дефекты естественного иммунитета. Патологическая толерантность
Острая условно-патогенная инфекция (первичное инфицирование)	Реакции естественного иммунитета. Иммунные ответы с достижением сдерживающего эффекта
Волнообразная реактивация условно-патогенной инфекции (частые эпизоды реактивации)	Дефекты естественного иммунитета. Иммунные ответы без достижения сдерживающего эффекта и патологическая толерантность

При иммунодефицитных состояниях (иммунокомпрометации) безусловно-патогенные инфекции протекают более тяжело (до так называемых «молниеносных» форм) и могут приобретать хроническое течение. Реактивация условных патогенов в этих случаях также отличается большей тяжестью и приобретает либо перманентный, либо волнообразный характер. В связи с этим необходима терапевтическая иммунокоррекция.

5.2. Вакцины и основы вакцинации

В прошлом существовало наблюдение, что доярки, переболевшие коровьей оспой, никогда не заболевают смертельно опасной натуральной оспой. Впервые была экспериментально доказана возможность безопасности профилактических прививок, когда в

1796 году Е. Jenner привил 8-летнему мальчику коровью оспу, а через полтора месяца и человеческую оспу – и ребёнок не заболел натуральной оспой. В дальнейшем вакцинопрофилактика получила большое развитие, став настоящим достижением цивилизации, поскольку позволила спасти большое количество человеческих жизней от многих опасных инфекций.

Вакцинопрофилактика является специализацией врачебной специальности аллергология и иммунология, однако в практике здравоохранения вопросами вакцинации занимаются преимущественно педиатры, врачи общей практики и терапевты. Вакцины – иммунобиологические препараты, содержащие антигены. Введение вакцины в организм приводит к формированию долговременной иммунной памяти к антигенам вакцины. Классически вакцины подразделяются на *живые (аттенуированные или ослабленные) и убитые (инактивированные)* вакцины. Это важно знать, поскольку в условиях первичного иммунодефицита аттенуированные патогены живых вакцин могут проявлять себя как настоящие патогены и вызывать инфекционные болезни.

Большинство вакцин имеют цель формирования иммунитета против безусловных патогенов (например, полиомиелита, дифтерии, кори и др.). В этом случае иммунитет носит характер эрадикационного. Некоторые вакцины и анатоксины направлены против условно-патогенных микробов (например, инфекции *H. influenzae*, *Str. pneumoniae*, стафилококковой инфекции и др.), поэтому они вырабатывают сдерживающий иммунитет, не имея цели искоренения данных условных патогенов, что не возможно и не целесообразно.

Субъединичные вакцины (subunit vaccines) содержат только антигены и антигенные эпитопы, но не микробы полностью. Поэтому они более безопасны. Субъединичные вакцины разделяются на четыре типа:

1) *химические*, в которых микробы расщепляются на отдельные белки (например, бесклеточная вакцина против коклюша и вакцина против гепатита В);

2) *рекомбинантные субъединичные вакцины*, которые создаются на основе рекомбинантной технологии (например, некоторые вакцины против гриппа);

3) *конъюгированные вакцины*, в которых технологически производят соединение низкоиммуногенных поверхностных бактери-

альных полисахаридов с анатоксинами (например, вакцины против гемофильной палочки типа b, менингококков и пневмококков);

4) *вакцины на основе принципа virus-like particle (VLP)*, которые используют внутреннюю способность некоторых вирусных капсидов к самосборке в вирусоподобные частицы, не включающие вирусные геномы (например, вакцина против человеческого папилломавируса).

Недостатками субъединичных вакцин по сравнению с классическими является их более низкая иммуногенность, более короткая продолжительность формируемой иммунной памяти и потребность в адьювантах.

Рекомбинантные векторные вакцины (recombinant vector vaccines) пока ещё находятся на экспериментальной стадии разработки. Они предполагают введение микробных ДНК от аттенуированных, в прошлом опасных вирусов и бактерий непосредственно в клетки человеческого организма. «Вектор» – это гены аттенуированных микробов, кодирующие антигены, которые могут быть введены в организм. Рекомбинантные векторные вакцины имитируют естественную инфекцию и, следовательно, по мнению разработчиков, могут запускать эффективные адаптивные ответы. В настоящее время на стадии разработки находятся рекомбинантные векторные вакцины против ВИЧ, бешенства и кори. Недостатками таких вакцин является то, что 1) отсутствует полноценный вирион, часто необходимый в естественных условиях для проникновения в клетку хозяина, 2) существует опасение, что аттенуированный вектор может быть потенциально опасным в условиях иммунокомпрометации.

ДНК вакцины (DNA vaccines) пока также находятся на экспериментальной стадии. В частности, осуществляются разработки ДНК вакцин против гриппа и герпесвирусных инфекций. Предполагается, что введение микробных ДНК в клетку превратит её в «минифабрику» по производству антигенов, которые будут запускать адаптивные иммунные ответы. ДНК вакцины безопасны, так как в организм не вводятся полноценные микробы. Недостатками ДНК вакцин является то, что 1) они могут индуцировать вместо нужного иммунного ответа толерантность или запускать аутоиммунный ответ, 2) могут вмешиваться в работу генов, контролирую-

ющих клеточный рост, 3) ограничиваются возможностью использовать для вакцинации только антигены-белки.

О *дендритно-клеточных вакцинах* рассказано в главе 17. Вакцины нового поколения разрабатываются на основе *CRISPR/Cas9* – новой технологии редактирования генов микробов.

Большая часть вакцин вводится согласно национального календаря прививок (табл. 27). Некоторые вакцины применяются по эпидемиологическим показаниям (например, против гепатита А, гриппа, клещевого вирусного энцефалита, бешенства и др.). Также в настоящее время в России девочкам до 13 лет рекомендуется вакцинация против папилломавирусной инфекции, а детям, перенесшим пневмонию, и пожилым пациентам – введение пневмококковой вакцины (пожилым – каждые 5 лет жизни).

Таблица 27

Национальный календарь прививок в Российской Федерации

<i>Возраст</i>	<i>Название вакцинации</i>
Новорождённые (в первые 24 ч жизни)	Первая вакцинация против вирусного гепатита В
Новорождённые (3–7 дн.)	Вакцинация против туберкулёза
Дети 1 мес.	Вторая вакцинация против вирусного гепатита В
Дети 2 мес.	Третья вакцинация против вирусного гепатита В (в группах риска)
Дети 3 мес.	Первая вакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка, полиомиелита
Дети от 3 до 6 мес.	Первая вакцинация против гемофильной палочки
Дети 4,5 мес.	Вторая вакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка, гемофильной инфекции и полиомиелита
Дети 6 мес.	Третья вакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка, гемофильной инфекции, вирусного гепатита В (если не проводилась в 2 мес.) и полиомиелита
Дети 1 г.	Вакцинация против кори, краснухи и эпидемического паротита; четвёртая ревакцинация против вирусного гепатита В (в группах риска)
Дети 1,5 г.	Первая ревакцинация против дифтерии, коклюша, столбняка, полиомиелита; ревакцинация против гемофильной инфекции
Дети 1 г. 8 мес.	Вторая ревакцинация против полиомиелита

<i>Возраст</i>	<i>Название вакцинации</i>
Дети 6 лет	Ревакцинация против кори, краснухи и эпидемического паротита
Дети 6–7 лет	Вторая ревакцинация против дифтерии и столбняка
Дети 7 лет	Ревакцинация против туберкулёза
Дети 14 лет	Третья ревакцинация против дифтерии, столбняка, полиомиелита
Взрослые старше 18 лет	Ревакцинация против дифтерии и столбняка (каждые 10 лет от даты последней ревакцинации) и туберкулёза

Абсолютные противопоказаниями к вакцинации устанавливаются в случае высокого риска развития угрожающих жизни состояний:

- **тяжелые аллергические и неврологические реакции**, ранее возникавшие при введении одной и той же вакцины; тяжелой реакцией на введение вакцины считается повышение температуры тела выше 40 °С, ангио-отёк или покраснение более восьми сантиметров в диаметре в месте введения вакцины;

- **осложнения при введении предыдущей дозы этой же вакцины**; к осложнениям на введение вакцины относят анафилактический шок, коллапсоидное состояние, энцефалит, судороги на фоне нормальной температуры тела;

- **иммунодефицитные состояния**; не проводится вакцинация живыми вакцинами (в частности живой вакциной против полиомиелита) детям раннего возраста с клиническими признаками иммунодефицитного состояния; ВИЧ-инфицированным или рожденным от ВИЧ-инфицированных матерей; с установленным диагнозом онкогематологических заболеваний и/или длительно получающим иммуносупрессивную терапию; детям, находящимся на 2-м этапе выхаживания и достигшим 3-месячного возраста; воспитанникам домов ребенка (вне зависимости от состояния здоровья); детям из семей, где имеются больные с иммунодефицитными заболеваниями. Введение инактивированных (убитых) вакцин при иммунодефицитах не противопоказано, но следует иметь в виду, что вакцинация при иммунодефицитах имеет сниженную эффективность в аспекте выработки иммунитета.

В таблице 28 представлены примеры разных вакцин.

Некоторые живые и убитые вакцины

<i>Вакцина</i>	<i>Против инфекций</i>	<i>Характеристика</i>
БЦЖ, БЦЖ-М (Россия)	Туберкулёз	Живая (аттенуированная)
Энджерикс (Бельгия, Россия)	Вирусный гепатит В	Субъединичная
Пентаксим (Франция)	Коклюш, дифтерия, столбняк, полиомие- лит и гемофильная па- лочка	Субъединичная, инактивированная
Инфанрикс (Бельгия)	Коклюш, дифтерия, столбняк	Инактивированная
АКДС (Россия)	Коклюш, дифтерия, столбняк	Инактивированная
Полиорикс (Бельгия)	Полиомиелит	Инактивированная
Имовакс полио (Франция)	Полиомиелит	Инактивированная
Оральная полиомие- литная вакцина (ОПВ) (Россия)	Полиомиелит	Живая (аттенуированная)
Хиберикс (Бельгия)	Гемофильная инфек- ция, столбняк	Субъединичная, инактивированная
Приорикс (Бельгия)	Корь, краснуха, паротит	Живая (аттенуированная)
Вакцина коревая культуральная живая (ЖКВ) (Россия)	Корь	Живая (аттенуированная)
Живая паротитная вакцина (ЖПВ) (Россия)	Эпидемический паротит	Живая (аттенуированная)
Дивакцина паротитно-коревая культуральная живая сухая (ЖПКВ) (Россия)	Эпидемический паротит, корь	Живая (аттенуированная)
Варилрикс (Бельгия), окавакс (Франция), проквад (США)	Ветряная оспа	Живые (аттенуированные)
Гардасил (США), церварикс (Бельгия)	Папилломавирусная инфекция	Субъединичная
Пневмо23 (Франция)	Пневмококковая инфекция	Субъединичная

Относительными противопоказаниями к вакцинации считаются временные состояния, при которых проведение прививки может не обеспечить должного иммунного ответа или быть временно небезопасным:

- острое респираторное вирусное заболевание (ОРВИ), протекающее с высокой температурой; в таких случаях плановую прививку откладывают на 1–4 недели до выздоровления;
- при наличии у пациента серьёзного хронического заболевания (сахарный диабет, гломерулонефрит и др.) вакцинация проводится только после консультации со специалистом;
- после гемотрансфузий и введения иммуноглобулинов вакцинация откладывается на 3 месяца.

Недоношенность с хорошей прибавкой массы тела и хронические аллергические болезни (атопический дерматит, аллергический ринит, бронхиальная астма) не являются противопоказанием для прививания. При вакцинации пациентов с аллергическими болезнями профилактически применяются короткие курсы противоаллергических препаратов.

ЧАСТЬ III. КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ И АЛЛЕРГОЛОГИЯ

Глава 1

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Иммунная система претерпевает существенные возрастные изменения в ходе индивидуального развития. Ю.Е. Вельтищев предложил выделять несколько критических периода функционирования иммунной системы с учётом возраста.

1. Период новорожденности (1–30 день) характеризуется функциональным дисбалансом иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов с повышением активности CD8⁺ клеток, дефицитом IgM и IgA, дефицитом C1, C2, C3, C4, NK-клеток, IFN γ , дефектом хемотаксиса фагоцитов (физиологический синдром «ленивых лейкоцитов»); отмечается склонность к персистенции вирусных инфекций, внутриклеточным инвазиям, туберкулезу, имеется риск развития дисэмбриональных опухолей.

2. Период физиологической гипогаммаглобулинемии IgG (3–6 мес.) характеризуется снижением IgG за счет катаболизма плацентарного (материнского) и недостаточного синтеза собственного в связи с чем гуморальный ответ ограничивается продукцией низкоаффинных антител класса IgM, что предполагает отсутствие иммунологической памяти; отмечается склонность к инфекциям бактериальной природы (особенно при отмене грудного вскармливания и снятия «прикрытия» материнскими IgA), а также развитие дисбиоза кишечника, пищевой аллергии.

3. Второй год жизни характеризуется повышением антигенной нагрузки в связи с ростом контактов ребенка с внешним миром (поступление в детское дошкольное учреждение, поездки в транспорте, посещение других семей и т. д.), при этом массивность антигенных нагрузок не адекватна уровню развития иммунной системы; отмечается склонность к частым респираторным инфекциям, дебюту ингаляционной аллергии, формированию локализованных очагов хронической инфекции в носоглотке и других органах.

4. Третий – шестой годы жизни. В этом возрасте отмечается серьезная перестройка гемопоэтического аппарата, характеризующаяся формированием физиологического «перекреста» нейтрофилов и лимфоцитов, под контролем колониестимулирующих факторов иммунной системы. Происходит медленное торможение лимфопоэза на фоне активации гранулоцитарного ростка. Второй причиной дисбалансов иммунной системы в этом возрасте является формирование «новых» взаимоотношений эндокринной и иммунной системы за счет повышения количества и экспрессии кортизоловых рецепторов лимфоцитов к гормонам надпочечников. Психологи называют этот возраст «первым переходным периодом», так как ребенок формирует собственный «психотип – я», чаще через реакции стресса.

В результате этих причин имеется наибольший риск развития лейкозий (лейкозов) и других лимфопролиферативных заболеваний. Средняя концентрация IgG и IgM в крови соответствует уровню таковой у взрослых, уровень IgA еще не достигает окончательных значений, существенно может повышаться концентрация IgE у детей с atopической конституцией. Характерно накопление зрелых В-лимфоцитов и В-клеток памяти, что создаёт иммунитет ребёнка к тимуснезависимым антигенам инкапсулированных бактерий. Система кожно-мукозального иммунитета у большинства детей к концу этого периода также завершает свое развитие. Характерна высокая частота atopических, паразитарных, иммунокомплексных заболеваний. Формируются многие хронические заболевания.

5. Пубертатный возраст (у девочек с 12–13 лет, у мальчиков с 14–15 лет) характеризуется формированием новых взаимоотношений иммунной системы и системы половых гормонов, нараста-

нием действия на организм и его иммунную систему ряда неблагоприятных факторов: алкоголя, курения, наркотиков. Эндокринная перестройка способствует дисбалансу В-клеточного и Т-клеточного иммунитета. Функциональная активность тимуса в этот период имеет максимальное напряжение, и в то же время по окончании этого возраста начинается постепенная медленная его инволюция (часть I, раздел 1.3). Изменяется активность большинства гормонов. Об их влиянии на иммунную систему описано в разделе 4.7.5. части I. В частности, андрогены способствуют поляризации Т-хелперных субпопуляций в сторону Th1, а эстрогены – Th2. В этот период имеется склонность к развитию аутоиммунных и аллергических процессов, а также к острым и персистирующим вирусным и другим внутриклеточным инфекциям (включая дебют туберкулеза), злокачественным новообразованиям.

6. Климактерический период и старение иммунной системы организма (immunosenescence) характеризуется эндокринной перестройкой и отменой иммуномодулирующего воздействия половых гормонов на иммунную систему, угасанием влияния тимических факторов, что сказывается на уменьшении резервов адаптации организма к разным неблагоприятным факторам в целом и снижении эффективности вакцинации. Постепенное формирование характерных черт метаболического синдрома (повышение концентрации низкоплотных липидов, холестерина, глюкозы, кортизола, понижение инсулина с утратой прежней чувствительности клеток-мишеней к гормонам) способствует и сопровождает отмену толерантности иммунной системы к аутоантигенам. В этот период отмечаются сниженная активность Т-лимфоцитов и многих механизмов естественного иммунитета, персистенция ЦИК и гипериммуноглобулинемия как отражение ответов на аутоантигены. Клинически появляется склонность к тяжёлому течению бактериальных инфекций, реактивация ЦМВ, формируется высокая подверженность аутоиммунным процессам, псевдоаллергическим реакциям и злокачественным новообразованиям.

Глава 2

ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ СОСТОЯНИЯ

2.1. Первичные иммунодефициты

Среди иммунодефицитных состояний **первичные иммунодефициты** отличаются ранней манифестацией, тяжёлым, нередко неблагоприятным исходом, но, к счастью, встречаются крайне редко. Современные технологии по трансплантации костного мозга существенно улучшают прогноз таких пациентов. Иммунопатогенез, основные формы и лежащие в их основе молекулярные мутации подробно изложены в главе 6. Дефект может локализоваться в Т- и В-системах, клетках естественного иммунитета, заключаться в недостаточности синтеза антител и других важных для иммунной системы молекул (табл. 29).

Таблица 29

Группировка первичных иммунодефицитов

<i>Характер дефекта</i>	<i>Формы</i>
Комбинированные (Т- и В-клетки)	Тяжёлый комбинированный иммунодефицит (ТКИД) X-сцепленный, Ретикулярная дисгенезия (относится к группе ТКИД), Дефицит аденозиндезаминазы (относится к группе ТКИД) Синдром «голых лимфоцитов» (относится к группе ТКИД)
Т-клетки	Дефицит Т-клеток, Дефицит Т- и NK-клеток, Дефицит CD3 γ или CD3 δ , Дефицит CD8 ⁺ Т-клеток
В-клетки	X-сцепленная агаммаглобулинемия (болезнь Bruton), Общий переменный иммунодефицит (ОВИН), Гипер-IgM-синдром X-сцепленный, Селективный дефицит IgA

<i>Характер дефекта</i>	<i>Формы</i>
Смешанный	Синдром Wiskott–Aldrich
Нарушения ДНК	Синдром DiGeorge, Атаксия-телеангиэктазия (синдром Louis–Bar), Синдром Nijmegen
Нейтрофилы	Хроническая грануломатозная болезнь X-сцепленная
Лейкоциты	Дефекты лейкоцитарной адгезии (типы I–III)
Комплемент	Дефицит C3, Наследственный ангионевротический отёк (дефицит C1-INH) и др.

Основным проявлением первичных иммунодефицитов являются тяжёлые, требующие постоянной антибиотикотерапии инфекции, часто повторного, рецидивирующего и злостного течения. Характерно наличие многочисленных врождённых стигм дисморфогенеза. Но существуют первичные иммунодефициты (например, селективный дефицит IgA) с минимальной симптоматикой или даже совсем без неё.

Сбор *иммунологического анамнеза* у пациентов и их родителей при подозрении на первичный иммунодефицит имеет следующие особенности:

- случаи ранней смерти у родственников мужского пола;
- возраст начала первой и повторных инфекций;
- этиология, характер и локализация этих инфекций;
- потребность в антибиотиках и, какая терапия была эффективной;
- календарь прививок, наличие или отсутствие реакций и осложнений;
- сопутствующие болезни.

При *клиническом осмотре* пациентов с подозрением на первичные иммунодефициты должно обращать внимание на следующие особенности:

- наличие стигм дисморфогенеза (например, синдактилий, грыж, эписпадий, крипторхизма и др.);
- локализация инфекций;
- симптомы дисбиозов в барьерных органах;
- лимфаденопатия;
- гепатоспленомегалия;
- сыпи;
- телеангиэктазии;

– неврологические расстройства.

Главными методами лечения первичных иммунодефицитов, в зависимости от формы локализации дефекта, являются пожизненное внутривенное **введение иммуноглобулинов и трансплантация костного мозга**. Дети с первичными иммунодефицитами могут прививаться, но живые вакцины им противопоказаны.

2.2. Вторичные иммунокомпрометации

Вторичные иммунокомпрометации наблюдаются в практике большинства врачей разных специальностей почти ежедневно.

Основные факторы иммунокомпрометации следующие:

- иммуотропные инфекции и интоксикации (например, ВИЧ);
- острый и хронический стресс;
- белковая, витаминная и микроэлементная недостаточность (особенно витамины D и C, микроэлементы Zn, Cu, Se);
- сахарный диабет;
- уремия;
- объёмные оперативные вмешательства, кровопотеря;
- ожоговая болезнь;
- удаление (утрата иммунокомпетентных органов: аппендикса, миндалин, селезёнки, тимуса, отделов тонкого кишечника);
- терапия кортикостероидами, цитостатиками, лучевая терапия и диагностика (например, при онкопатологии, трансплантации, аутоиммунных болезнях);
- профессиональные и экопатогенные факторы (ионизирующая радиация, ксенобиотики и др.);
- ожирение, метаболический синдром;
- спорт высоких достижений.

Среди вторичных иммунодефицитов неуточнённого характера (малых аномалий иммунитета) скрывается много состояний, с которыми некоторые люди встречаются очень часто. Это повторные простудные заболевания носоглотки у детей и взрослых, грибковые инфекции полости рта, кожи и половых органов, гнойничковые болезни кожи и лимфатических узлов, дисбиозы всех локализаций, бактериальный вагиноз, проявления герпесвирусных ин-

фекций, чаще простого герпеса, длительная необъяснимая субфебрильная температура и др.

Синдром частых респираторных инфекций у детей развивается в связи с незрелостью мукозального иммунитета носоглотки, сниженной способностью развивать ответ на Т-независимые антигены инкапсулированных бактерий и инактивировать эти патогены, в частности из-за недостаточного количества зрелых В-клеток и В-клеток памяти, а также дефицита IgA. У взрослых этот синдром развивается на фоне хронического стресса и в связи с воздействием неблагоприятных мукотропных факторов. Синдром частых респираторных инфекций широко распространён и требует комплексного лечебно-профилактического подхода, поскольку его осложнениями могут быть пневмонии, кистозные образования в ЛОР-органах и бронхэктазы в нижних дыхательных путях, а также расстройства со стороны сердца, почек и ЦНС.

Герпетические инфекции в фазе реактивации - это яркий показатель вторичной иммунокомпрометации. Для α -герпесвирусов: *Herpes simplex virus 1 (HSV-1)*, *Herpes simplex virus 2 (HSV-2)*, *Varicella zoster virus (VZV)* – характерны нейро- и эпителиотропность, быстрый рост, длительное латентное пребывание в чувствительных спинальных ганглиях спинного мозга. При реактивации они вызывают везикулёзную сыпь на эритематозном фоне на коже и слизистых рта, носа и половых органов, очень редко – тяжёлый герпетический энцефалит. Опоясывающий герпес – поражение кожи по ходу межрёберных нервов с сильным болевым синдромом – типичное проявление реактивации VZV.

Для β -герпесвирусов *Cytomegalovirus (CMV)* и *Human herpes virus 6 (HHV-6)* характерны нейро-, лимфо- и эпителиотропность, медленный рост, латентное пребывание в слюнных и других экзокринных железах и почках (CMV), миелоидных клетках. При реактивации CMV возможны длительный субфебрилитет, поражение некоторых внутренних органов и глаз; CMV относится к группе тератогенных инфекций и опасным инфектом при пересадке органов. Реактивация HHV-6 приводит к хронической фибромиалгии и, вероятно, синдрому хронической усталости.

Для γ -герпесвирусов *Epstein-Barr virus (EBV)* и *Human herpes virus 8 (HHV-8)* характерны лимфо- и эпителиотропность, латентное пребывание в лимфоидной ткани. При реактивации эти вирусы являются потенциально онкогенными. При реактивации EBV

развиваются длительный субфебрилитет, лимфаденопатия, рост волосатоклеточных лейкоплаций во рту и мочеполовых органах; EBV может способствовать возникновению ходжкинских, неходжкинских лимфом и карцином. Реактивация HHV-8, как правило, связана с ВИЧ-инфекцией.

Грибковые инфекции поражают кожу и слизистые и также являются ярким показателем вторичной иммунокомпрометации. Наиболее часто происходит реактивация *Candida albicans*, которая протекает в форме афтозного стоматита, фаринго- и отомикоза, кандидозного кольпита, реже - кандидозного дерматита. Рост мицелия выявляется лабораторными методами, но иногда заметен невооружённым глазом.

Грибковые инфекции характеризуются рецидивирующим течением, отсутствием ярких симптомов и необходимостью длительного лечения.

Гнойничковые инфекции кожи и лимфатических узлов вызваны реактивацией гноеродных кокков, в частности *Staphylococcus aureus*. Они могут протекать в виде острого и рецидивирующего фурункулёза, гидраденита, панарициев, гнойного лимфаденита и даже абсцессов. К этой же группе можно отнести послеоперационные гнойно-септические осложнения.

Главным инструментом лечения состояний на основе вторичных иммунокомпрометаций является иммунокоррекция – назначение **иммуномодуляторов**. Также требуется этиотропная терапия.

2.3. ВИЧ-инфекция и СПИД

Вирус иммунодефицита человека (Human Immunodeficiency Virus, HIV) были открыты Нобелевскими лауреатами 2008 г. L.A. Montagnier и F. Barré-Sinoussi. Большую роль в открытии вируса сыграл также R.C. Gallo. Последовательно были идентифицированы ВИЧ-1 и ВИЧ-2. ВИЧ передаётся через незащищённый сексуальный контакт, переливание инфицированной крови, использование общих шприцев, а также от матери к ребёнку во время беременности, родов и кормления.

Ключевыми популяциями с повышенной чувствительностью к ВИЧ являются: (1) работники сексуального бизнеса, (2) люди, употребляющие инъекционные наркотики через общие шприцы,

(3) мужчины, практикующие сексуальные контакты с мужчинами, (4) трансгендеры, (5) мужчины, не использующие презервативы при рискованных сексуальных контактах, (6) необрезанные мужчины. В настоящее время ВИЧ распространён повсеместно, но за пандемию ответственен ВИЧ группы М.

ВИЧ инфицирует хелперные CD4+ Т-клетки и макрофаги и постепенно приводит к разоружению иммунной системы и утрате способности к адаптивным иммунным ответам. Когда число CD4+Т-клеток снижается до **200 клеток/μL**, появляются клинические симптомы, включая неконтролируемые и необычные инфекции, рост опухолей, потеря веса и др. Это состояние принято

называть синдромом вторичного иммунодефицита (СПИД) (Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS).

ВИЧ относится к односпиральным РНК-ретровирусам, содержащим обратную транскриптазу (reverse transcriptase), два поверхностных гликопротеина gp120 и gp41, матриксный протеин p17, капсидный протеин p24, двухслойную липидную мембрану и другие протеины

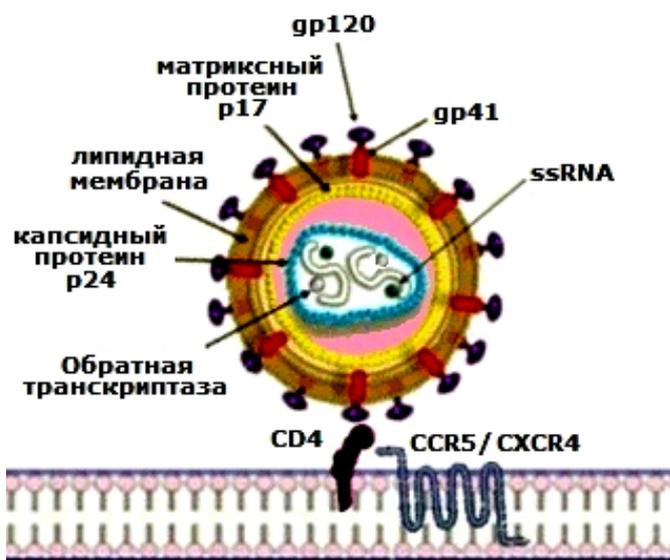


Рис. 53. Связывание ВИЧ с CD4+ Т-клеткой

ины (рис. 53). К необходимым ферментам относят также протеазу Р, RNase H и интегразу. Поверхностные гликопротеины позволяют вирусу связаться с молекулой CD4+ и мембраной клетки. В процессе слияния также участвуют два корецептора на Т-клетке – CCR5 и CXCR4, являющиеся хемокиновыми рецепторами. Капсидный протеин p24 способствует проникновению вирусной РНК в ядро клетки и её обратной транскрипции. Обратная транскриптаза превращает односпиральную РНК в двуспиральную ДНК. Внутри клетки ВИЧ сохраняется в 2-х формах: интактная вирусная частица с односпиральной РНК и интегрированная в геном клетки двуспиральная ДНК (провирусная ДНК). Провирусная ДНК использует клетку хозяина для транскрипции и трансляции, а

матриксный протеин p17 помогает ВИЧ в репликации и входе в оболочку нового вириона.

ВИЧ-инфекция является медленной инфекцией. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) рекомендует выделять несколько стадий ВИЧ/СПИД (табл. 30).

Таблица 30

Стадии ВИЧ-инфекции

Стадия	Клинические симптомы
Первичная ВИЧ-инфекция	Нет симптомов; Острый ретровирусный синдром по типу ОРЗ
Клиническая стадия 1	Нет симптомов; Персистирующая генерализованная лимфаденопатия
Клиническая стадия 2	Умеренная потеря веса (<10 %); Рецидивирующие респираторные инфекции (синусит, тонзиллит, средний отит и фарингит); Инфекция <i>Herpes Zoster Virus (HZV)</i> ; Ангулярный хейлит; Рецидивирующий язвенный стоматит; Пиодермия с зудом; Себорейный дерматит; Онихомикоз
Клиническая стадия 3	Необъяснимая тяжёлая потеря веса (>10 %); Необъяснимая хроническая диарея >1 месяца; Необъяснимые интермиттирующие или постоянные подъёмы температуры >1 месяца (>37,6 °C,); Персистирующий стоматит, вызванный <i>Candida albicans</i> (молочница);
	Волосатоклеточная оральная лейкоплакия (<i>Epstein-Barr Virus, EBV</i>); Лёгочный туберкулёз; Тяжёлые бактериальные инфекции (пневмония, эмпиема, пиомиозит, остеомиелит, менингит, бактериемия и др.); Острый язвенно-некротический стоматит, гингивит или периодонтит; Необъяснимая анемия (гемоглобин <80 g/L); Нейтропения (нейтрофилы <500 клеток/μL); Хроническая тромбоцитопения (тромбоциты <50.000 клеток/μL)

Стадия	Клинические симптомы
Клиническая стадия 4	<p>Пневмония, вызванная <i>Pneumocystis carini</i>;</p> <p>Тяжёлая рецидивирующая бактериальная пневмония;</p> <p>Хроническая <i>Herpes Simplex Virus (HSV)</i>-инфекция (оролабиальный, генитальный или аноректальный герпес >1 месяца или висцеральный герпес любой локализации);</p> <p><i>Candida albicans</i>-инфекция пищевода, трахеи, бронхов и лёгких;</p> <p>Внелёгочный туберкулёз;</p> <p>Саркома Кароси (<i>Type 8 Human Herpes Virus, HHV-8</i>);</p> <p><i>Cytomegalovirus (CMV)</i>-инфекция (ретинит или другой локализации);</p> <p><i>Toxoplasma gondii</i>-инфекция ЦНС;</p> <p>ВИЧ-энцефалопатия;</p> <p>Экстрапульмональная <i>Cryptococcus</i>-инфекция (включая менингит);</p> <p>Диссеминированный атипичный туберкулёз (<i>M. bovis</i> и др.);</p> <p>Прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия;</p> <p>Хронический криптоспоридиоз (с диареей);</p> <p>Хронический изоспориаз, вызванный <i>Isospora belli</i>;</p> <p>Диссеминированный микоз (гистоплазмоз, кокцидиомикоз, пенициллиноз и др.);</p> <p>Рецидивирующая нетифозная бактериемия, вызванная <i>Salmonella</i>;</p> <p>Лимфома (церебральная или В-клеточная неходжкинская);</p> <p>Инвазивная карцинома шейки матки;</p> <p>Атипичный диссеминированный лейшманиоз;</p> <p>Симптоматическая ВИЧ-ассоциированная нефропатия;</p> <p>Симптоматическая ВИЧ-ассоциированная кардиопатия;</p> <p>Реактивация американского трипаносомоза (менингоэнцефалит или миокардит)</p>

Эффективной вакцины против ВИЧ пока не разработано. Современная химиотерапия ВИЧ-инфекции носит комбинированный характер. Существует 6 различных классов антиретровирусных средств:

- нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы;
- ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы;

- ингибиторы протеазы;
- ингибиторы интегразы;
- ингибиторы слияния;
- ингибиторы проникновения.

Высокоактивная комбинированная ретровирусная терапия в наше время способна уменьшить заболеваемость и смертность при ВИЧ/СПИД. Однако существует и проблема постепенной утраты ВИЧ к действию некоторых антиретровирусных препаратов.

Глава 3

ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ

Иммуностимулирующие препараты (иммуномодуляторы) можно сгруппировать по нескольким критериям:

А. По происхождению:

1. Микробного происхождения (включая пробиотики)
2. Экстракты и продукты иммунных органов и клеток человека и высших животных, иммуноглобулины
3. Экстракты и продукты из низших животных и растений
4. Синтетические и рекомбинантные препараты

Б. По преимущественному спектру действия:

1. На Т-систему
2. На В-систему (включая иммуноглобулины)
3. На естественный иммунитет
4. На клеточную кооперацию (цитокины и их индукторы)

В. По направленности действия:

1. Иммуностимуляторы
2. Иммунодепрессанты

Иммуномодуляторы обладают следующими механизмами действия:

- Паттерноподобное действие – активация факторов естественного иммунитета (фагоцитоза, комплемента, НК-клеток и др.) без формирования иммунологической памяти.
- Вакциноподобное действие с формированием иммунологической памяти против некоторых патогенов.
- Активация/блокада отдельных рецепторов (сигнальных молекул) с влиянием на соответствующие функции и процессы в иммунной системе (пролиферация клеток, метаболизм, миграция, секреция цитокинов и др.).
- Заместительное действие (иммуноглобулины, цитокины).

- Противовоспалительное действие за счёт подавления активности некоторых цитокинов, антиоксидантного действия и т. д.
- Другие эффекты.

Наиболее широко распространёнными иммуномодуляторами, имеющими солидный опыт клинической апробации, являются только несколько препаратов, в то время как в России имеется проблема избыточности назначения разнообразных препаратов с иммуностропным действием. Многие из этих препаратов не имеют достаточного опыта клинической апробации, а некоторые признаны устаревшими в мире.

Способы введения иммуномодуляторов:

- парентеральный (в/в, в/м/, п/к и др.);
- внутрь;
- ректальный, вагинальный;
- внутрь лимфатических узлов;
- местный (кожа, нос, конъюнктивы и др.);
- экстракорпоральный (клеточная терапия).

МУКОЗАЛЬНЫЕ АУТОВАКЦИНЫ

Мукозальная аутовакцина 2-го поколения **рибомунил** представляет собой антигенный экстракт из 4-х условных респираторных патогенов: *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. Influenza* и стимулирует: 1) образование специфического IgA и формирование иммунологической памяти к данным микробам на 1,5 года; 2) локальные факторы естественного иммунитета (фагоцитоз, интерферонпродукцию), 3) образование неспецифического секреторного IgA.



Показания: рецидивирующие инфекции ЛОР-органов и респираторного тракта (хронический бронхит, затяжная пневмония), бронхиальная астма, дополнение к аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ).

Противопоказания: повышенная чувствительность к препарату, с осторожностью при аутоиммунных расстройствах, возраст до 6 мес.

Побочные эффекты: гиперсаливация, субфебрилитет.

Режим дозирования: по 1 дозе 0,75 (3 мал. табл.=1 бол. табл.=1 пакетик) утром натощак циклами по 4 дня в неделю: 1-й месяц – 3 цикла, последующие 4 месяца – по 1 циклу в начале каждого месяца (рис. 54). Курс повторяется 1 раз в 1,5–2 года.

1-й месяц							Последующие 5 месяцев						
1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14	8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21	15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28	22	23	24	25	26	27	28
29	30	31					29	30	31				

Рис. 54. Схема назначения рибомунила



Исмиген, мукозальная вакцина 2-го поколения. Содержит лиофилизированные экстракты (паттерны) и сохранившиеся в связи с новой технологией лизиса под давлением антигены 8 видов условных респираторных патогенов: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Haemophilus influenzae B*, *Neisseria catarrhalis*. Стимулирует: 1) образование специфического и неспецифического IgA и формирование иммунологической памяти к данным микробам на 1,5 года; 2) локальные факторы естественного иммунитета (макрофагальный фагоцитоз, интерферонпродукцию, активность НК-клеток); подавляет активность ИЛ4 и образование IgE.

Показания: рецидивирующие инфекции ЛОР-органов и респираторного тракта (хронический бронхит, затяжная пневмония), аллергический ринит, бронхиальная астма, дополнение к аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ).

Противопоказания: повышенная чувствительность к препарату, возраст до 3 лет, беременность, лактация.

Побочные эффекты: гиперсаливация, субфебрилитет.

Режим дозирования: по 1 табл. внутрь путём растворения во рту натошак циклами по 10 дней каждого из 3-х последующих месяцев. Курс можно повторить ещё 1 раз в течение данного года.

Уроваксом – мукозальная аутовакцина 1-го поколения, которая представляет собой экстракт («паттерны») из 18 штаммов



E.coli. Стимулирует факторы естественного иммунитета в урогенитальных путях, включая секреторный IgA.

Показания: хронические инфекции урогенитального тракта у детей, мужчин и женщин, включая бактериальный вагиноз.

Противопоказания: повышенная чувствительность к препарату.

Побочные эффекты: незначительные желудочно-кишечные расстройства, кожные аллергические реакции, изредка – субфебрилитет в начале приёма.

Режим дозирования: по 1 капсуле внутрь утром натошак во рту циклами по 10 дней каждого из 3-х последующих месяцев. Курс можно повторить ещё 1 раз в течение данного года. В особо упорных случаях 3 месяца непрерывно.

ЭКСТРАКТЫ ИЗ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНОВ ЖИВОТНЫХ



Тактивин – белковый экстракт из тимуса крупного рогатого скота, который оказывает: 1) стимулирующее действие на Т-лимфопоз и функциональную активность Т-клеток; 2) мягкое активирующее действие на НК-клетки и интерфероны; 3) гепатопротективный эффект.

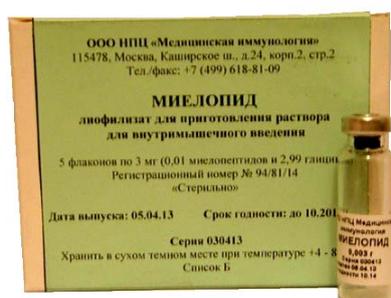
Показания: хронические внутриклеточные инфекции и состояния на фоне Т-дефицита, лучевая и химиотерапия у онкологических пациентов, хронический стресс, профилактика послеоперационных осложнений.

Противопоказания: беременность, atopическая бронхиальная астма, возраст до 6 мес.

Побочные эффекты: нет.

Режим дозирования: по 1 мл 0,01% раствора п/к 1 раз в день в течение 7 дней, затем ещё 3 инъекции 1 раз в неделю. Особенностью является быстрая тахифилаксия.

Миелонид – экстракт костного мозга свиней и крупного рогатого скота, оказывает стимулирующее действие на 1) В-лимфоциты, 2) антителопродукцию на пике иммунного ответа, 3) гранулоцитопоз и фагоцитоз, 4) интерфероноподукцию.



Показания: гнойно-септические состояния, остеомиелит, рецидивирующий фурункулез, периодонтит, осложнённый кариес, осложнённый послеоперационный период, транзиторная гипогаммаглобулинемия детского возраста.

Противопоказания: беременность, осложнённая Rh-конфликтом; с осторожностью при аутоиммунных расстройствах, возраст до 1 года.

Побочные эффекты: болезненность в месте инъекции.

Режим дозирования: по 6 мг (2 фл.) в/м в физиологическом растворе 1 раз в 2 дня; на курс 3–5 инъекций.

ЧЕЛОВЕЧЕСКИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ

Поколения иммуноглобулинов:

1-е поколение

Имуноглобулин человека

Имуновенин

2-е поколение

Сандоглобулин

Хумаглобин

Интраглобин

3-е поколение

Пентаглобин

Габриглобин

4-е поколение

Гамимун Н

Октагам



Эффекты иммуноглобулинов:

1. Связывание токсинов.
2. Связывание провоспалительных цитокинов.
3. Усиление эффектов β -лактамных антибиотиков.

Показания к назначению:

1. Первичные и вторичные иммунодефициты (сепсис, тяжёлые инфекции) – заместительная терапия.
2. Невынашивание беременности.
3. Аутоиммунные болезни.

Проблемы иммуноглобулинотерапии:

1. Вирусная безопасность.
2. Образование аутоантител к IgA.
3. Высокая стоимость лечения.

У новых поколений иммуноглобулинов данные проблемы уменьшаются.

Показания: синдромы первичных иммунодефицитов с недостаточностью антител, вторичная гипогамма-глобулинемия при лимфолейкозе и миеломной болезни, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, болезнь Кавасаки, трансплантация костного мозга.

Противопоказания: повышенная чувствительность, особенно при наличии аутоантител к IgA.

Побочные эффекты: гриппоподобный синдром, различные расстройства со стороны желудочно-кишечного тракта, дыхательной, сердечно-сосудистой и нервной систем, кожная сыпь.

Режим дозирования: с заместительной целью в/в капельно 200–400 мг/кг каждые 3–4 недели.

СИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ



Полиоксидоний (азоксимера бромид) – синтетический высокомолекулярный иммунопрепарат; активирует: 1) моноцитарно-макрофагальную систему, включая секрецию иммуностимулирующих цитокинов (что усиливает последующие иммунные отве-

ты), 2) активность НК-клеток, 3) антителообразование, а также имеет 4) антиоксидантное, мембраностабилизирующее и детоксическое действие.

Показания: острые и хронические инфекции на фоне вторичного иммунодефицита: бактериальные (гнойно-септические инфекции, фурункулёз, хронический бронхит); внутриклеточные (герпетические, хламидиоз), осложнённый атопический дерматит, вторичные иммунодефициты на фоне терапии аутоиммунных болезней, лучевая и химиотерапия у онкологических пациентов.

Противопоказания: беременность, лактация, повышенная чувствительность, возраст до 6 мес.

Побочные эффекты: болезненность в месте введения.

Режим дозирования: *при хронических инфекциях* по 6 мг в/м в физиологическом растворе (воде для инъекций) или в виде свечей по 9 мг через день и реже; на курс 5–10 введений. *При острых инфекциях* по 6 мг в/м или в/в ежедневно (3 дня), затем продолжить как при хронических.



Циклоферон (меглюмина акридонацетат) – синтетический индуктор интерферонпродукции.

Показания: вирусные и внутриклеточные инфекции, бактериальные и грибковые инфекции на фоне иммунодефицитов, нейроинфекции, коллагенозы, дегенеративно-дистрофические болезни суставов, вторичные иммунодефициты на фоне терапии аутоиммунных болезней.

Противопоказания: гиперчувствительность к препарату, декомпенсированный цирроз печени, беременность, лактация, возраст до 4-х лет.

Побочные эффекты: аллергические реакции.

Режим дозирования: по 2 мл (1 амп.) в/м через день (всего 7–12 инъекций); по 2–4 табл. 1 раз в 5 дней в течение 2,5 мес.



РЕКОМБИНАНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Виферон – рекомбинантный интерферон- α_2 человека с витаминами Е и С, имеющий противовирусное, противоопухолевое, противовоспалительное действие.

Показания: острые и хронические вирусные и другие внутриклеточные инфекции, герпетический стоматит, глоссит,

хейлит, урогенитальные инфекции у беременных женщин, хронические гепатиты, инфекционно-воспалительные болезни новорождённых.

Противопоказания: повышенная чувствительность к маслу какао.

Побочные эффекты: температурная реакция.

Режим дозирования: по 150.000 МЕ – 500.000 МЕ (дети) – 1.000.000 МЕ – 3.000.000 МЕ (взрослые) в форме свечей 1–2 раза в день циклами по 10 дней; продолжительность курса от 1 мес. до 12 мес.

Недостатки интерферонотерапии

1. Гриппоподобный синдром.
2. Аллергические реакции.
3. Утрата эффекта в связи с образованием блокирующих антител при длительной терапии.
4. Высокая стоимость лечения.

Преимущества индукторов интерферонов

1. Выработка собственных интерферонов.
2. Реже побочные реакции.
3. Более низкая стоимость лечения.



Ронколейкин – рекомбинантный ИЛ2 человека; стимулирует пролиферацию большинства клеток в ходе иммунных ответов, активирует НК-клетки и цитотоксические CD8+Т-клетки.

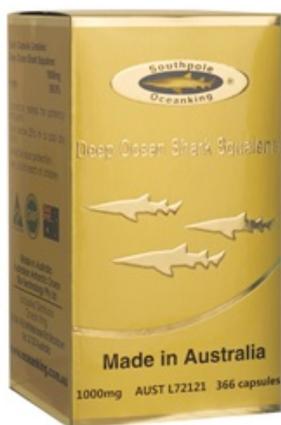
Показания: септические состояния, тяжёлые вирусные инфекции, ожоговая болезнь, злокачественные новообразования.

Противопоказания: гиперчувствительность к препарату, аллергия к дрожжам, беременность, аутоиммунные болезни, тяжёлые сердечно-сосудистые болезни.

Побочные эффекты: гриппоподобный синдром.

Режим дозирования: в/в капельно 0,5–1,0 г (500.000–1.000.000 МЕ) в 400 мл физиологического раствора со скоростью 1–2 мл/мин (в течение 4–6 ч) 3 раза в неделю. Может вводиться п/к, внутривенно, местно.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ



Сквален является углеводородной субстанцией (с известной формулой), получаемой из печени глубоководных акул, также содержится в амарантовом масле. Обладает следующими свойствами: 1) активация факторов естественного иммунитета в МАЛТ, адъювантная способность, 2) улучшение микроциркуляции и торможение образования атеросклеротических бляшек, 3) гепатопротективная, антиоксидантная, канцеропротективная активность.

Показания: рецидивирующие условно-патогенные инфекции слизистых оболочек, повышенная свёртываемость крови, в комплексе лечения сердечно-сосудистых заболеваний, болезней печени и онкопатологии.

Противопоказания: склонность к кровотечениям, индивидуальная непереносимость.

Побочные эффекты: не отмечены.

Режим дозирования: по 1000 мг 1–2 раза в день в течение 1 года, детям по 500 мг 1–2 раза в день 6 мес.

Глава 4

АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ БОЛЕЗНИ

Аллергические болезни имеют разные механизмы развития и высокий клинический полиморфизм. Выделяют аллергии, не связанные с вовлечением иммунной системы (псевдоаллергические реакции), и аллергии с вовлечением иммунной системы, последние разделяются на четыре типа по Gell–Coombs.

Наиболее часто встречаются **атопические аллергические патологии** на основе типа I гиперчувствительности (до 7 % в общей человеческой популяции), характеризуются необычно высоким IgE-ответом на группу внешних субстанций, которые называют **аллергенами**. Смена органов-мишеней при атопии (кожа, затем нос и конъюнктивы, потом бронхи) носит название «атопического марша».

4.1. Аллергены и общие принципы аллергодиагностики

Аллергены (allergens) – это T-зависимые антигены белковой природы, способные вызывать развёрнутый B-клеточный ответ с преимущественным образованием IgE, который заканчивается острым или хроническим аллергическим воспалением. Аллергический иммунный ответ называется *сенсibilизацией*. Современная номенклатура аллергенов была пересмотрена в 1994 г. и включает три буквы родового названия, одну букву видового названия и арабскую цифру, означающую номер в порядке обнаружения, например, **Der p 1** (аллерген домашнего клеща *Dermatophagoides pteronissinus* первый). Многообразие аллергенов, выявляемое современными молекулярно-биологическими методами, учитывает выделение изоформ, которые указываются после основного наименования после точки, например, **Amb a**

1.0101. Информацию о любом аллергене можно получить на сайте www.allergen.org.

Мажорные аллергены (major allergens) – это доминантные антигенные детерминанты в составе аллергена, которые содержатся в большем количестве, более крупные по размеру и более иммуногенные. Обычно они устойчивы к нагреванию. Как правило, аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ) более эффективна при использовании аллергенов, содержащих мажорные детерминанты.

Минорные аллергены (minor allergens) – антигенные детерминанты в составе аллергена, которые обычно содержатся в меньшем количестве, но встречаются часто и в других аллергенах, обеспечивая *перекрёстную аллергию*. Они более мелкие по размеру и менее иммуногенные. Обычно такие аллергены не устойчивы к нагреванию.

Аллерген-ассоциированные молекулярные паттерны (ААМР) – олигомерные компоненты молекул аллергенов, которые облегчают взаимодействие аллергена с BCR и IgE и также имеют отношение к перекрёстной аллергии.

Рекомбинантные аллергены (recombinant allergens) в противоположность натуральным (natural allergens) – это искусственно созданные детерминанты аллергенов, которые могут использоваться для диагностики и лечения (АСИТ). Ожидается, что с внедрением рекомбинантных аллергенов повысится диагностическая значимость кожных алергопроб и алергопанелей, а также эффективность АСИТ.

В практике алерголога-иммунолога до сих пор широко используется принцип простого разделения всех алергенов на бытовые, эпидермальные, пыльцевые, пищевые, инсектные, грибковые и химические (табл. 31). Но в настоящее время большинство алергенов имеют молекулярно-биологическую характеристику.

В диагностике алергопатологии большое значение имеют сбор алергологического анамнеза, проведение кожных алергопроб и определение специфических IgE в крови (алергопанель).

Номенклатура аллергенов

<i>Происхождение (группа)</i>	<i>Номенклатурное название</i>	<i>ММ (кДа)</i>	<i>Гомология/функция</i>
Бытовые			
Домашний клещ (<i>Dermatophagoides pteronissinus</i>)	Der p 1	25	Цистеиновая протеаза
	Der p 2	15	Липидсвязывающий белок (семейство NPC2)
	Der p 3	30	Трипсин
	Der p 5	14	Не известно
	Der p 10	36	Тропомиозин
Домашний клещ (<i>Dermatophagoides farinae</i>)	Der f 1	27	Цистеиновая протеаза
	Der f 2	15	Липидсвязывающий белок (семейство NPC2)
	Der f 3	29	Трипсин
	Der f 10	37	Тропомиозин
Таракан (<i>Blattella germanica</i>)	Bla g 2	36	Неактивная аспарагиновая протеаза
Эпидермальные			
Кошка (<i>Felis domesticus</i>)	Fel d 1	36	Секретоглобин
Собака (<i>Canis familiaris</i>)	Can f 1	25	Липокалин
Пыльцевые			
Берёза (<i>Betula verrucosa</i>)	Bet v 1	17	Белок, относящийся к патогенезу
Тимофеевка (<i>Phleum pratense</i>)	Phl p 5	32	Предположительно рибонуклеаза
Полынь (<i>Artemisia vulgaris</i>)	Art v 1	28	Дефензиноподобный белок
Амброзия (<i>Ambrosia artemisiifolia</i>)	Amb a 1	38	Пектатлиаза
Пищевые			
Молоко коровье (<i>Bos domesticus</i>)	Bos d 5	18	β -лактоглобулин (липокалин)
	Bos d9	23,6	α S1-казеин
	Bos d10	25,2	α S2-казеин
	Bos d11	24	β -казеин
	Bos d12	19	κ -казеин
Куриное яйцо (<i>Gallus domesticus</i>)	Gad c 1	28	Овомукоид (трипсиновый ингибитор)
	Gad c 2	44	Овальбумин

Окончание таблицы 31

<i>Происхождение (группа)</i>	<i>Номенклатурное название</i>	<i>ММ (кДа)</i>	<i>Гомология/функция</i>
Треска (<i>Gadus callarias</i>)	Gad c 1	12	Са-связывающий белок (мышечный парвальбумин)
Индийская белая креветка (<i>Penaeus indicus</i>)	Pen i 1	34	Тропомиозин
Арахис (<i>Arachis hypogaea</i>)	Ara h 1	64	Висилин
<i>Инсектные</i>			
Пчела (<i>Apis mellifera</i>)	Api m 1	19,5	Фосфолипаза А2
Оса (<i>Polistes annularis</i>)	Pol a 5	23	Гиалуронидаза
<i>Грибковые</i>			
Аспергиллус (<i>Aspergillus fumigatus</i>)	Asp f 1	18	Цитотоксин (митогиллин)
Альтернария (<i>Alternaria alternata</i>)	Alt a 1	29	Альдегид-дегидрогеназа

Аллергологический анамнез является одним из главных инструментов диагностики аллергии, назначения тестирования, дифференциации с неаллергическими заболеваниями и назначения эффективной терапии. Сбор аллергологического анамнеза включает опрос с целью выявления следующей информации:

1. Характерные жалобы (сыпи, уртикарии, зуд кожи, заложенность носа, дискомфорт в органах дыхания и т. д.).

2. Продолжительность, характер и ситуации, когда проявляются или усиливаются данные жалобы и симптомы.

3. Наследственная предрасположенность к аллергическим atopическим болезням у родственников 1 и 2 степени.

4. Наличие или отсутствие реакций на облигатные аллергены среди пищевых продуктов, а также на лекарственные средства, домашнюю пыль, плесневые грибы, скошенную траву, домашних животных, насекомых), неспецифические загрязняющие и раздражающие вещества и факторы (дым, выхлопные газы, пахучие вещества), холод, резкое изменение погоды.

5. Изучение бытовых особенностей проживания (дом деревянный или каменный, система отопления, наличие домашних животных, пуховых одеял, перьевых подушек, ковров, цветущих растений, роста плесени в подсобных помещениях и т. д.).

6. Профессия, увлечения, контакт с органической пылью, пластмассами, резиной, строительными материалами, инсектицидами, химикатами.

7. Ранее предшествующие аллергические проявления, проводившиеся исследования, прием антигистаминных средств, эффективность лечения эпизодов аллергии.

8. Профессиональные вредности, контакт с аллергенами, курение.

9. Эмоциональный фон в семье и на работе.

10. Перенесенные заболевания.

Аллергопанель – это группа специфических IgE, концентрация которых определяется в сыворотке крови одним из иммунологических методов. В прошлом специфические IgE исследовали радиоиммунным способом, затем иммуноферментным. В настоящее время разработан новый иммунохимический метод (ImmunoCAP). Следует иметь в виду, что IgE относится к цитофильным антителам, основное расположение которых не в крови, а в тканях, поэтому во многих случаях исследование аллергопанели не позволяет выявлять сенсibilизацию.



Рис. 55. Кожные аллергопробы

Кожные аллергопробы (рис. 55) остаются самым надёжным и в то же время простым и недорогим методом выявления сенсibilизации. Правильное проведение кожных аллергопроб, учёт всех обстоятельств при их постановке (возраст, информация о назначенных пациенту фармакологических препаратах, индивидуальная особенность глубины расположения в коже тучных клеток и др.) позволяет практически в 100% получать полную и подлинную информацию о сенсibilизации. Пробы с инсектными и лекарственными аллергенами не проводятся из-за риска развития системных аллергических реакций. Постановка кожных аллергопроб с пищевыми аллергенами имеет риск ошибочной трактовки результатов в связи с возможными псевдо-аллергическими ответами.

При отрицательных или сомнительных скарификационных пробах желательно проведение внутрикожных.

Аллергопробы проводятся детям старше 4–5 лет и взрослым на коже предплечья. За несколько дней до проведения аллергопроб отменяются антигистаминные препараты (цетиризин, лоратадин др.), мембраностабилизаторы (кетотифен), системные стероидные гормоны (преднизолон и др.) и некоторые другие препараты. У пациента должна быть ремиссия аллергической болезни (отсутствие обострения). Обязательными условиями корректного учета результатов кожных аллергопроб являются два вида контроля:

- отрицательная реакция с тест-контрольной жидкостью;
- положительная реакция на 0,01% раствор гистамина.

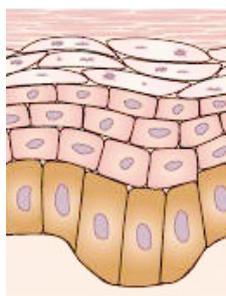
В большинстве случаев результаты кожного алерготестирования становятся известны через 20 минут. О результатах кожных проб судят по зудящемуся волдырю и папуле (табл. 32).

Таблица 32

Кожные аллергопробы

<i>Тип гиперчувствительности и проба</i>	<i>Время чтения</i>	<i>Кожные элементы</i>	<i>Размеры</i>	<i>Степень</i>
Тип I, ранняя фаза (скарификационная, прик, внутрикожная проба)	Через 20 минут	Зудящийся волдырь, эритема, псевдоподии	2–3 мм	+
			4–5 мм	++
			6–10 мм	+++
			>10 мм	++++
Тип I, поздняя фаза (внутрикожная проба)	Через 4–6 ч	Папула, эритема, псевдоподии	5–7 мм	+
			8–14 мм	++
			15–20 мм	+++
			>20 мм	++++
Тип IV (внутрикожная проба)	Через 48–72 ч	Папула (инфильтрат)	5–7 мм	+
			8–14 мм	++
			15–20 мм	+++
			>20 мм	++++

4.2. Атопический дерматит



Атопический дерматит (АтД) – мультифакториальное рецидивирующее воспалительное заболевание кожи, которое характеризуется различными сыпями и сильным зудом, имеет раннее начало в возрасте до 1 года, иногда прогрессирует и сохраня-

ется в течение всей жизни. АтД характеризуется широким распространением (по некоторым данным 250 случаев на 100000 населения), резистентностью к лечению (другие атопии поддаются лечению лучше), нередким присоединением вторичной инфекции (гноеродные кокки, простой герпес), развитием депрессий и, как следствие, снижением качества жизни и социальной активности.

Иммунопатогенез АтД следует рассматривать с позиций механизмов гиперчувствительности I типа (глава 7). Если в раннем возрасте определённое значение имеют пищевые аллергены, то с возрастом основными аллергенами является аллергены домашних клещей рода *Dermatophagoides* (*эпикутанная сенсibilизация*). В работах последних лет уделяется много внимания роли поляризации хелперных субпопуляций в сторону Th2/Th22, дефектам pTreg, роли мутаций кожного белка филаггрина, процессам ремоделирования кожи. Ремоделирование кожи – это обратимые (в отличие от старения) морфологические изменения кожи вследствие хронического иммунного воспаления.

Клиническая картина. При АтД просматривается три периода развития:

I период (младенческий, до 2-х лет) характеризуется преобладанием экссудативного воспаления кожи. Наблюдаются симптомы: гиперимия кожи, отечность, экскориации, мокнутие, образование корок; преимущественной локализацией являются лицо, шея, ягодицы, конечности.

II период (детский, от 2-х до 13 лет) характеризуется хроническим экссудативно-пролиферативным воспалением кожи. Наблюдаются следующие признаки: папулы, шелушение, утолщение кожи (инфильтрация), усиление кожного рисунка (лихенизация), множественные экскориации (расчесы), трещины, очаги гипер- или гипопигментации. Высыпания локализуются преимущественно в локтевых, коленных складках, задней поверхности шеи, голеностопных и запястных суставах, в заушных областях.

III период (подростковый и взрослый, от 13 лет и старше) характеризуется пролиферативным воспалением кожи с лихенизацией, эритемой до синюшного оттенка, очаговой папулёзной инфильтрацией. Процесс локализуется Папулы в верхней половине туловища, лица, шеи, верхних конечностях, стопах.

Для определения степени тяжести АтД в баллах используют разные индексы. Критерий *SCORAD* (*Scoring of Atopic Dermatitis*

учитывает площадь поражения кожи, характеристику морфологических изменений (папулы, лихенификация, эрозии), интенсивность зуда, психо-эмоциональные расстройства (раздражительность, нарушения сна, нарушения концентрации внимания).

Лечение АтоД включает местное применение в течение длительного периода увлажняющих кремов и мазей, цинкосодержащих кремов, в течение короткого времени гормональных кремов. По возможности устраняют триггерные факторы в питании, в быту и на работе. При зуде назначаются антигистаминные препараты и мембраностабилизаторы. Самым перспективным методом является аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ), которая, однако менее эффективна, чем при других атопиях.

4.3. Аллергический ринит



Аллергический ринит (АР) и аллергический ринокоъюнктивит являются наиболее часто встречающимися формами атопий. В мире около 600 млн человек страдает ринитами, из них большинство – АР; существует тесная связь АР и астмы. Выделяют две основных формы АР: круглогодичный (КАР) и сезонный (САР), или поллиноз.

Иммунопатогенез АР как и АтоД следует рассматривать с позиций механизмов гиперчувствительности I типа (глава 7). Ведущими аллергенами при КАР являются аллергены домашних клещей рода *Dermatophagoides*, среди которых есть как мажорные, так и минорные варианты. Дебют КАР происходит после 3–5 лет, но иногда в более позднем возрасте.

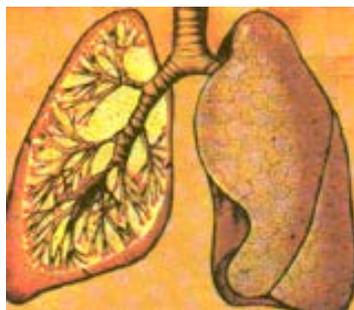
Главными аллергенами при САР являются пыльцевые аллергены растений. В средней полосе России, включая Сибирь, выделяют три волны поллинации аллергенных растений: 1) май (берёза и другие деревья: осина, дуб, ясень, ива и др.), 2) июнь-июль (луговые травы: тимopheевка, мятлик, пырей, райграсс, ежа, костёр и др.), 3) август (сорные травы, например, полынь). В южной полосе России 3-ю волну представляет также амброзия. Некоторые растения (одуванчик, клевер и др.) цветут в течение всего лета. Любое пыльцевое зерно состоит из интины и экзины. Собственно аллерген находится в интине. Чтобы иметь возможность приходить

в соприкосновение с иммунной системой слизистых оболочек, размер пылевого зерна должен быть в диапазоне 10–100 мкм. Дебют САР обычно происходит позже, чем КАР.

Клиническая картина. Самым типичным симптомом КАР является хроническая, часто изнуряющая заложенность носа, также отмечаются нециклический насморк, нарушение обоняния, чихание, зуд в носу и глазах, покашливание за счёт стекания носового экссудата в бронхи. Для САР характерны ежегодная сезонность в конкретный месяц/месяцы лета, выраженный экссудативный компонент (насморк с обильным отделяемым, зуд в носу, чихание, покраснение и зуд глаз). При ринологическом осмотре отмечаются выраженный отёк слизистой носа с синюшным колоритом.

Лечение. Среди медикаментозных средств, применяемых в лечении АР, наиболее эффективными являются назальные топические кортикостероиды. Назначаются антигистаминные средства, мембраностабилизаторы, антилейкотриеновые препараты. Применение сосудосуживающих капель и спреев в настоящее время считается нецелесообразным. Самым эффективным методом является аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ). При САР её эффективность достигает 99%.

4.4. Астма



Бронхиальная астма (БА) – хроническое воспаление слизистых дыхательных путей, обязательным механизмом которого является гиперчувствительность бронхов и обратимая обструкция, обусловленная острым бронхоспазмом, отеком слизистой бронхов и формированием слизистых пробок. Астма широко распространена, заболеваемость ею составляет 2–4 % с преобладанием в развитых странах и экологически депрессивных регионах Земли. Существует много национальных, международных организаций, проектов по исследованию этиологии, патогенеза и разработке эффективных способов реабилитации пациентов с БА. Одной из таких программ является GINA (Global Initiative for Asthma).

Иммунопатогенез БА следует рассматривать в аспекте механизмов гиперчувствительности I типа (глава 7). По морфологическим особенностям иммунное воспаление в бронхах иногда назы-

вают «эозинофильным». Наряду с участием большого числа воспалительных медиаторов I типа гиперчувствительности с конкретными точками приложения действия, включая химергические рецепторы, о чём рассказывалось, большое значение имеет активность бронхиальных адрено- и холинорецепторов. Стимуляция m-холинорецепторов усиливает бронхорею, а блокада β_2 -адренорецепторов вызывает бронхоспазм. Многолетний воспалительный процесс при астме приводит к необратимому фиброзу в подслизистых оболочках бронхах и стойкому обструктивному типу нарушения функции внешнего дыхания. **Клиническая картина.** Характерны следующие симптомы, которые варьируют в зависимости от лёгкой, среднетяжёлой и тяжёлой форм БА: сухой кашель до закашливания, дискомфорт в грудной клетке, затруднённое на выдохе дыхание до поверхностного дыхания, свистящие хрипы, эпизоды диспноэ, бледность и цианоз по мере нарастания дыхательной недостаточности, синкопальные состояния от физических нагрузок. Серьёзной проблемой является дифференциальная диагностика БА с обструктивной болезнью лёгких и другой пульмонологической патологией.

Лечение. Ведущим в лечении являются ингаляционные топические кортикостероиды, которые вводятся через портативные аэрозольные ингаляторы, в форме распыления твёрдых лекарственных форм из дисков, через ультразвуковой ингалятор – небулайзер. По потребности (если возникает нарушение дыхания) применяются ингаляции β_2 -адреномиметиков и m-холинолитиков. Если базисная терапия топическими кортикостероидами эффективна, БА считается контролируемой и не требует употребления β_2 -адреномиметиков и m-холинолитиков. Самым перспективным методом при БА является аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ), которая позволяет получать многолетнюю ремиссию и существенно улучшать качество жизни.

4.5. Токсико-аллергические реакции

4.5.1. ПИЩЕВАЯ АЛЛЕРГИЯ

Пищевая аллергия по атопическому или одному из псевдоаллергических механизмов встречается достаточно часто у детей раннего возраста, но у взрослых истинная пищевая аллергия на

основе I типа гиперчувствительности наблюдается не более чем в 0,5% общей популяции. Это обусловлено незрелостью у детей раннего возраста механизмов толерантности к пищевым белкам, низкой активностью пищеварительных ферментов и в целом барьерной функции желудочно-кишечного тракта и печени. **Пищевые токсико-аллергические реакции** могут наблюдаться как у детей, так и взрослых, поскольку причинными факторами являются не только пищевые белки, но и токсические вещества, попавшие в пищу, а также в связи с паразитарными инвазиями и кишечными инфекциями.

Патогенез. Чаще всего пищевые токсико-аллергические реакции вызываются псевдоаллергическими механизмами: 1) прямым высвобождением воспалительных медиаторов из базофилов и тучных клеток, 2) активацией комплемента по альтернативному пути, 3) нарушением обмена арахидоновой кислоты.

Клиническая картина. Такие реакции могут протекать как папулёзно-эритематозные кожные сыпи, крапивница или ангиоотёк (Квинке). Зуд не характерен.

Лечение. Отменяется пищевой продукт, содержащий возможные провоцирующие факторы, назначаются энтеросорбенты, антигистаминные препараты, гепатопротекторы, в тяжёлых случаях вводятся коротким курсом кортикостероидные гормоны. Также проводится местное лечение увлажняющими и гормональными кремами. При выявлении паразитарных инвазий назначается соответствующая терапия.

4.5.2. ЛЕКАРСТВЕННАЯ АЛЛЕРГИЯ

Лекарственные токсико-аллергические реакции наблюдаются у предрасположенных пациентов и в определённых ситуациях. В норме лекарственный препарат не должен вызывать подобных реакций. Однако всякое лекарство может иметь побочные эффекты, которые могут быть подразделены на следующие группы: 1) аллергические; 2) псевдоаллергические (без вовлечения иммунных механизмов); 3) идиосинкразические; 4) токсические; 5) тератогенные); 6) проонкогенные; 7) синергические или антагонистические (лекарственное взаимодействие при одновременном использовании двух и более препаратов).

Факторами, предрасполагающими к проявлениям неблагоприятных побочных эффектов лекарств, являются:

- патология печени;
- экологические проблемы среды обитания и питания;
- наследственная предрасположенность (энзимопатии и др.);
- повышение потребления лекарственных препаратов населением, экспансия фарминдустрии;
- полипрагмазия, общедоступность лекарств;
- наличие пациентов, получающих лекарственные препараты длительно (годами);
- длительный профессиональный контакт с аллергенами, воздействие солнечной радиации;
- пубертатный возраст, беременность, климактерический период.

Иммунотопогенез. Синдромы лекарственной аллергии имеют различный патогенез, который может быть реализован как с вовлечением иммунной системы, при этом возможны все четыре типа гиперчувствительности по Gell и Coombs (глава 7), так и по псевдоаллергическим механизмам. Наиболее важной группой являются лекарственные аллергические реакции с вовлечением иммунологических механизмов. Некоторые лекарства – гаптены (табл. 33) – непосредственно не могут индуцировать иммунный ответ, поэтому они должны претерпеть изменения внутри организма, которые протекают в три этапа:

1-й этап – биотрансформация препарата в организме с образованием метаболита-гаптена;

2-й этап – конъюгация гаптена с белком-носителем и превращение в полный антиген;

3-й этап – иммунный ответ организма на данный новообразованный антиген.

Таблица 33

Лекарственные гаптены	
<i>Гаптен</i>	<i>Лекарственный препарат</i>
β-лактамное кольцо	Пенициллины и цефалоспорины
Анилин	Местные анестетики (новокаин, лидокаин и др.), сульфаниламиды, ПАСК
Бензосульфамидная группа	Сульфаниламиды, диуретики (тиазидовые, фуросемид, ингибиторы карбангидразы)
Фенотиазин	Нейролептики (аминазин), пипольфен, метиленовый синий
I (йод)	Рентгенконтрастные вещества, соли I, тироксин

В табл. 34 сгруппированы лекарственные препараты, которые могут вызывать токсико-аллергические реакции по разным типам гиперчувствительности по Gell и Coombs.

Таблица 34

Лекарственные препараты, вызывающие токсико-аллергические реакции по разным иммунопатологическим механизмам

<i>Тип</i>	<i>Лекарственный препарат</i>	<i>Реакции</i>
I	β-лактамы антибиотики (пенициллины, цефалоспорины) Инсулин Гетерогенные сыворотки Вакцины (выращенные на куриных эмбрионах) Сульфаниламиды Местные анестетики (новокаин, лидокаин и др.) Латекс	Они могут вызывать анафилактический шок, крапивницу, ангио-отёк (Квинке), бронхоспазм и проявляются через 20 минут
II	Производные хинолина (хлорохин и др.) Дифенин α-метилдофа	Они могут вызывать лекарственные лейкопению, тромбоцитопению, анемию и проявляются в течение 1 недели
III	Сульфаниламиды НПВП (производные пиразолона) Производные анилина (фенацетин и др.) ПАСК	Они могут вызывать хроническую лекарственную (сывороточноподобную) болезнь, многоформную эритему, синдром Лайелла, лекарственные экзантемы и васкулиты, синдром, подобный системной красной волчанке, и проявляются через 1–2 недели.
IV	Соединения металлов (золото, никель и др.) Антисептики Местные анестетики Сульфаниламиды Производные фенотиазина (аминазин, пипольфен) Пломбировочные материалы Латекс	Они могут вызывать контактный дерматит, стоматит, хейлит, гингивит, глоссит, лекарственную лихорадку, лекарственный гепатит, энцефаломиелит и проявляются через 2–3 недели.

Псевдоаллергические токсико-аллергические реакции могут вызывать местные анестетики (новокаин, лидокаин и др.), йодсодержащие рентгенконтрастные вещества, ацетилсалициловая кислота, витамины группы В, ципрофлоксацин, протаминсульфат и др. Такие реакции могут проявляться как идиосинкразия (необычная реакция на препарат в связи наследственными мутациями генов, кодирующих некоторые ферменты), анафилактоидный шок, псевдоаллергический ангио-отёк, крапивница. Обычно они проявляются также быстро, как и реакции I типа – через 20 минут.

Диагностика лекарственной аллергии проводится *in vitro* и основана на выявлении специфических антител класса IgE (аллергопанель), тестов на лейкоцитоллиз и тромбоцитоллиз, а также методом РБТЛ с препаратом.

Клиническая картина. Клиническая симптоматика лекарственной аллергии очень полиморфна, чаще всего носит острый характер и иногда является угрозой для жизни. Острая токсико-аллергическая реакция развивается в ответ на лекарство в терапевтической дозе. Её патогенез обусловлен иммунными и псевдоаллергическими механизмами, а проявления могут быть как местными, так и системными:

1. Транзиторные сыпи.
2. Эритема.
3. Лекарственный ангио-отёк (Квинке), лекарственная крапивница.
4. Анафилактический (анафилактоидный) шок.
5. Многоформная эритема.
6. Тяжёлая степень выраженности многоформной эритемы (синдром Стивенса–Джонсона).
7. Токсический эпидермальный некролиз (синдром Лайелла).

Лекарственный ангио-отёк и лекарственная крапивница проявляются местным отёком мягких тканей, высыпаниями волдырей (уртикариев) на коже с зудом. Опасность представляет отёк в области гортани и тонкого кишечника.

Лечение. Отменить лекарство, назначить кортикостероиды, антигистаминные препараты внутримышечно (супрастин, тавегил) и внутрь, энтеросорбенты, гепатопротекторы, желчегонные.

При *лекарственном анафилактическом (анафилактоидном) шоке* в первые минуты возникают острые нарушения гемодина-

мики (падение АД), утрата сознания, судороги, бронхоспазм, уртикарии, в последующем (на 2–3 сутки) – симптомы васкулита, печёночной, почечной недостаточности, отёка мозга и др.

Лечение. Прекратить введение лекарства, обколоть место введение раствором эпинефрина (адреналина), ввести внутривенно кортикостероиды (гидрокортизон), дофамин, антигистаминные препараты (супрастин, тавегил), плазмозамещающие растворы, эуфиллин (при бронхоспазме), седуксен (при судорогах), увлажнённый кислород, искусственная вентиляция лёгких (ИВЛ).

Многоформная эритема и токсический эпидермальный некролиз отличаются очень тяжёлой разнообразной клинической симптоматикой, при этом на первый план выступают поражение кожи с отслаиванием эпидермиса и интоксикация, приводящая к отказу функций главных внутренних органов.

Лечение проводится в стационаре с использованием целого комплекса терапевтических, хирургических и реанимационных мероприятий.

4.5.3. ИНСЕКТНАЯ АЛЛЕРГИЯ

Инсектная аллергия чаще всего имеет черты **инсектных токсико-аллергических реакций** и вызывается ядом пчёл, ос, муравьёв, комаров и других насекомых при укусах. Яд насекомых является одновременно и токсином, и аллергеном. У лиц без атопической конституции такие реакции носят маловыраженный характер и, как правило, не требуют лечения, но у людей с предрасположенностью к I типу гиперчувствительности проявления могут быть очень серьёзными. **Иммунопатогенез** следует рассматривать в аспекте атопического механизма с выработкой большого количества антител класса IgE и развитием аллергического воспаления.

Клиническая картина. Реакции при укусах насекомых могут протекать в форме местной волдырной сыпи, ангио-отёка (Квинке) или иметь тяжёлый системный характер в виде анафилактического шока. **Лечение.** Местно назначают антигистаминный гель и кортикостероидные кремы, вводят антигистаминные препараты, а в тяжёлых случаях назначается короткий курс кортикостероидных гормонов. Люди с инсектной аллергией в течение лета должны иметь в пределах быстрого доступа специальную аптечку скорой

медицинской помощи. Лечение анафилактического шока, вызванного укусами насекомых, такое же, как при лекарственном анафилактическом шоке. Единственным этиопатогенетическим лечением, имеющим профилактическое значение, является аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ).

Глава 5

МЕДИКАМЕНТОЗНОЕ ЛЕЧЕНИЕ АЛЛЕРГИЙ И АЛЛЕРГЕНСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ (АСИТ)

АНТИГИСТАМИННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Первый антигистаминный препарат синтезировал бельгийский учёный D. Bovet, за что получил Нобелевскую премию (1957). На рисунке 56 представлены формулы гистамина и антигистаминного препарата: гистамин (вверху) и общая формула антигистаминного препарата (внизу).

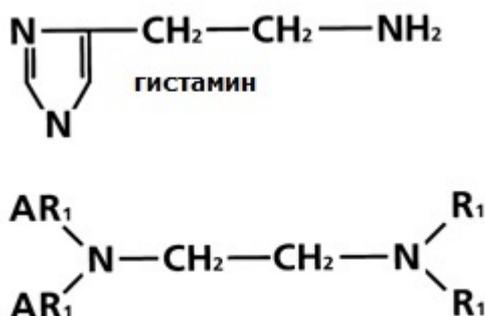


Рис. 56. Гистамин и формула антигистаминного препарата

Известно несколько типов гистаминовых рецепторов (табл. 35), но в аллергологии наибольший интерес представляют H1-рецепторы.

Механизмы действия антигистаминных препаратов (H1-блокаторов):

- конкуренция за H1-рецепторы;
- торможение выделения гистамина, кислородных радикалов, лейкотриенов, фактора активации тромбоцитов;
- инактивация гистамина;
- ингибирование синтеза адгезивных молекул воспаления;
- нарушение процессов активации клеток за счёт иммобилизации ионов кальция.

Гистаминовые рецепторы

<i>Тип</i>	<i>Экспрессия на клетках</i>	<i>Эффекты</i>
H1	Миоциты, эндотелий, железистый эпителий, нейтрофилы, эозинофилы, моноциты, макрофаги	Спазм гладких мышц. Повышение проницаемости капилляров. Повышение слизеобразования. Усиление хемотаксиса нейтрофилов и эозинофилов. Повышение продукции простаноидов. Повышение цГМФ
H2	Железистый эпителий, нейтрофилы, эозинофилы, тучные клетки, базофилы	Повышение секреции HCl. Расслабление гладких мышц. Ингибирование продукции провоспалительных цитокинов. Синусовая тахикардия. Торможение хемотаксиса нейтрофилов и эозинофилов. Повышение цАМФ
H3	Нейроны, тучные клетки, базофилы	Торможение передачи нервного импульса, опосредованного норэпинефрином, серотонином и ацетилхолином
H4	Лейкоциты, клетки кишечника, гепатоциты, спленоциты, тимоциты, железистый эпителий	Регуляция миграции нейтрофилов и тучных клеток. Влияние на функцию эозинофилов

Антигистаминные препараты 1-го поколения – это «пролекарства» с неизбирательным действием.

Дифенгидрамин (димедрол)

Клемастин (тавегил)

Прометазин (пипольфен)

Хлоропирамин (супрастин)

Ципрогептадин (перитол)

Квифенадин (фенкарол)

Мебгидролин (диазолин)



Препараты этого поколения обладают седативным побочным эффектом. В настоящее время применяются главным образом хлоропирамин (супрастин) и клемастин (тавегил) в ампулирован-

ных формах с целью оказания помощи при острых аллергических реакциях.

Антигистаминные препараты 1-го поколения назначаются курсом не более 10 дней.

Антигистаминные препараты 2-го поколения – это «пролекарства» с избирательным действием.

Азеластин (аллергодил)

Лоратадин (кларитин, кларотатид, кларисенс)

Астемизол (гисманал)

Активастин (семпрекс)

Оксатомид (тинсет)

Рупатидин (рупафин)

Эбастин (кестин)

Диметинден (фенистил)

Цетиризин (зиртек, парлазин, зодак, цетрин)

Отдельные препараты 2-го поколения (астемизол) могут оказывать аритмогенное действие, поэтому в настоящее время не рекомендуются к употреблению. Некоторые препараты всё-таки имеют побочный седативный эффект.



Зиртек (цетиризин)

6 мес–1 год – по 5 кап. × 1 раз в день

1–2 года – по 5 кап. × 2 раза

2–6 лет – по 5 мг (10 кап.) × 1 раз в день или по 5 кап. × 2 раза в день

Ст. 6 лет и взрослым – по 1 табл. (10 мг или 20 кап.) × 1 раз в день

Антигистаминные препараты 3-го поколения – это действующие вещества без побочных эффектов.

Фексофенадин (телфаст, фексадин)

Деэлоратадин (эриус, лордестин)

Левоцетиризин (ксизал, супрастинекс)

Антигистаминные препараты 2-го и 3-го поколений назначаются курсом до 3-х недель.

Преимущества препаратов 3-го поколения:

- быстрое наступление терапевтического эффекта;
- длительность эффекта 24 часа;
- снижение потребности в топических кортикостероидах;
- отсутствие тахифилаксии;

- отсутствие побочных эффектов (влияния на цнс, сердце, печень);
- возможность профилактического назначения.



Телфаст (фексофенадин)

6–11 лет – по 30 мг × 2 раза в день

Ст. 12 лет и взрослым – по табл. 120 мг – 180 мг × 1 раз в день



Эриус (дезлоратадин)

1–5 лет – 1,25 мг (2,5 мл) сиропа

6–11 лет – 2,5 мг (5 мл) сиропа

Ст. 12 лет и взрослым – 5 мг × 1 раз



Ксизал (левоцетиризин)

2–6 лет – по 1,25 мг (= 5 капель) × 2 раза в день; суточная доза – 2,5 мг (10 капель)

6 лет и взрослым – суточная доза составляет 5 мг (= 20 капель)

В педиатрии важное значение имеет учёт возраста пациентов (табл. 36).

Таблица 36

Назначение антигистаминных средств в зависимости от возраста

<i>Возраст</i>	<i>Препарат</i>
С 1 месяца	Хлоропирамин (супрастин), диметинден (фенистил)
С 6 месяцев	Цетиризин (зиртек, парлазин, зодак, цетрин)
С 1 года	Клемастин (тавегил), дезлоратадин (эриус, лордестин)
С 2 лет	Левосетиризин (ксизал, супрастинекс), лоратадин (кларитин, кларотатид, кларисенс)
С 6 лет	Фексофенадин (телфаст, фексадин), эбастин (кестин)

Назначение антигистаминных средств при беременности и лактации

Информация по назначению большинства препаратов при беременности и лактации противоречивая, либо ещё не проведены

всеобъемлющие исследования по безопасности. Не допускается назначения следующих средств: супрастин, эриус (лордестин), кестин, рупафин.

Назначение некоторых препаратов возможно лишь в крайних случаях, когда предполагаемая польза превышает потенциальный риск: тавегил, кларитин (кларотадин, кларисенс), ксизал (супрастинекс), зиртек (парлазин, зодак, цетрин), телфаст (фексадин).

Фенистил разрешается применять в II и III триместрах беременности.

Топические антигистаминные препараты:



Фенистилгель *Опатадол* (олопатадин)
Аллергодил (азеластин)

Назальные спреи и глазные капли применяются главным образом при сезонном аллергическом риноконъюнктивите по 1–2 капле 2 раза в день, а фенистилгель – при инсектной аллергии. Нанесение на место укуса до 3-х раз в день.

МЕМБРАНОСТАБИЛИЗАТОРЫ

Старой, но эффективной группой препаратов, которые составляют дополнительный резерв для лечения аллергических болезней, являются **мембраностабилизаторы**. К ним относятся кетотифен (задитен), кромоглициевая кислота (интал, кромоСТ) и недокромил натрия (тайлед). Часть из них принимается внутрь, другая часть – в топических вариантах (капли, спреи, ингаляторы). Механизм действия мембраностабилизаторов связан с инактивацией мембран тучных клеток, что на длительный период препятствует высвобождению из них медиаторов аллергического воспаления. Препараты назначаются на несколько недель и месяцев, а эффект у них развивается только со 2-й недели.

ТОПИЧЕСКИЕ КОРТИКОСТЕРОИДЫ

Топические кортикостероиды внесли большой вклад в лечение аллергических болезней дыхательных путей и значительно

улучшили качество жизни таких пациентов. В отличие от кортикостероидов первых поколений системного действия они обладают минимальной биодоступностью и не имеют тех серьезных побочных эффектов, которые характерны для первых.

У этой группы препаратов имеется высокий потенциал противовоспалительного и противоаллергического действия. Основные механизмы эффективности топических кортикостероидов заключаются в следующем:

- иммуносупрессия атопического иммунного ответа с приостановкой образования IgE;
- перенаправление иммунного ответа с Th2-пути на Th1-путь;
- ингибция хемотаксиса эозинофилов, нейтрофилов и макрофагов в очаг воспаления;
- снижение продукции и высвобождения медиаторов воспаления (гистамина, простагландинов, лейкотриенов, провоспалительных цитокинов);
- замедление регрануляции тучных клеток;
- укорочение жизненного цикла эозинофилов и других клеток аллергического воспаления.



В терапии *аллергического ринита и риноконъюнктивита* применяются **авамис (флутиказон)** и **назонекс (мометазон)**. Назначаются детям старше 2-х лет и взрослым по 1–2 впрыскивания в нос в день в период обострения ринита.



Побочные эффекты назальных кортикостероидов могут проявляться в виде носового кровотечения, изъязвления слизистой, кожных аллергических сыпей; системные эффекты наблюдаются только при длительных курсах применения.



Рис. 57. Небулайзер

В лечении *бронхиальной астмы* используется значительное количество топических кортикостероидов, которые ингалируются через небулайзер (рис. 57), распыляются в виде порошков (из дисков), вдыхаются с

помощью уже готовых ингаляторов. Они применяются в период обострения астмы.



Пульмикорт (будесонид) назначается детям старше 6 мес. и старше, а также взрослым по 0,25–0,5 мг 1–2 раза в сутки.

Фликсотид (флутиказон)

применяется у детей после 1 года и старше, а также у взрослых в дозах 50 мкг, 100 мкг, 250 мкг, 500 мкг 2 раза в день.

Побочные эффекты ингаляционных кортикостероидов могут проявляться в виде реактивации грибковой инфекции, осиплости голоса, кожных сыпей; системные эффекты наблюдаются только при длительных курсах применения.



В терапии *атопического дерматита* широкое применение нашли кремы с содержанием топических кортикостероидов. Имеется классификация гелей, кремов и мазей, содержащих гормональные субстанции всех поколений, по силе действия:

Кортикостероиды с низкой активностью (класс 1)

- гидрокортизон (локоид);
- преднизолон.

Кортикостероиды с умеренной активностью (класс 2)

- аклометазона дипропионат (афлодерм);
- дезоксиметазон;
- триамцинолона ацетонид (фторокорт);
- флуметазона пивалат (лоринден).

Кортикостероиды с высокой активностью (класс 3)

- бетаметазон (акридерм, целестодерм);
- будесонид (апулеин);
- фторцинолона ацетонид (синафлан, флуцинар);
- метилпреднизолона ацепонат (адвантан);
- мометазона фураат (элоком);
- флутиказона пропионат (кутивейт).

Кортикостероиды с очень высокой активностью (класс 4)

- клобетазола пропионат (дермовейт).

Гормональные кожные средства наносятся на кожу 1–2 раза в день коротким курсом в период обострения дерматита. Побочными эффектами могут быть усиление проявлений дерматита до серьезных аллергических манифестаций (при индивидуальной непереносимости), реактивация условно-патогенных кожных инфекций, атрофический процесс кожи, однако эти эффекты наблюдаются чаще при длительных курсах лечения.



Целестодерм (бетаметазон) Элоком (мометазон)

АНТИЛЕЙКОТРИЕНОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

При атопических аллергических болезнях иногда весьма выраженной является поздняя фаза воспаления, которая в значительной степени обусловлена активностью лейкотриенов – метоболитов липоксигеназного пути обмена арахидоновой кислоты. В этих случаях, чаще при кашлевом синдроме на фоне аллергического ринита и бронхиальной астмы применяются антилейкотриеновые препараты – антагонисты лейкотриеновых рецепторов. К этим препаратам относятся монтелукаст натрия (сингуляр), зафирлукаст натрия (аколат) и другие.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА К IgE

Омализумаб (ксолар) – препарат гуманизированных моноклональных антител, направленных против IgE. Связываясь с IgE, нарушает соединение IgE с FcεRI, что останавливает дальнейшие патологические события. Предназначен для длительного лечения (более 1 года). Вводится подкожно. Уровень IgE не может служить ориентиром для подбора дозы препарата. Лечение имеет много побочных эффектов.

Самым перспективным этиопатогенетическим методом лечения атопических аллергических болезней в период ремиссии является **аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ)**. Этот

англо-американский метод известен с 1911 года. Основоположниками АСИТ были англичане Leonard Noon и John Freeman, которым принадлежат первые публикации в Lancet (1911, 1914). Дальнейшая разработка метода велась в США в 1-й половине XX в. Robert Cooke, потом William Sherman.

В настоящее время проведено значительное количество многоцентровых плацебо-контролируемых исследований, подтвердивших, что метод является высокоэффективным.

Принцип классического метода состоит в постепенном введении причинного аллергена в низких концентрациях (от очень низких к более высоким) для индукции иммунологической толерантности к нему. Одновременно вводится от 1 до 3 аллергенов. Продолжительность АСИТ может быть от нескольких месяцев (классическая схема) до нескольких недель (ускоренная схема). Разведения аллергена вводятся до момента достижения *наиболее переносимой дозы*, которая не вызывает локальной реакции и становится *поддерживающей дозой*. Эта доза затем вводится в интервале 2–4 недели в течение нескольких месяцев.

Способы введения аллергенов:

- 1) подкожный;
- 2) сублингвальный.

Применяются аллергены отечественного и зарубежного производства.



Сталораль аллерген берёзы
для сублингвального приёма



Фосталь аллерген берёзы
для подкожного введения



Алюсталь аллерген клещей для подкожного введения



Сталораль аллерген клещей для сублингвального приёма



Алюсталь аллерген луговых трав для подкожного применения

Оралеяр смесь луговых трав для сублингвального приёма

Основным показанием для АСИТ является атопическая аллергическая болезнь на основе типа I гиперчувствительности в периоде ремиссии при наличии положительных аллергопроб. Проводится АСИТ взрослым и детям в возрасте 5 лет и старше.

Дополнительные показания к АСИТ:

- при невозможности избежать контакта с аллергеном;
- пациентам с доказанной ролью IgE;
- при персистенции симптомов аллергии в течение более чем 6 месяцев и недостаточной эффективности или выраженных побочных эффектах фармакотерапии.

Противопоказания для АСИТ:

- обострение аллергической патологии;
- аутоиммунные болезни;
- тяжёлые формы иммунодефицитов;
- острые инфекции, включая вирусные гепатиты;
- декомпенсированные болезни внутренних органов и ЦНС;
- туберкулёз;
- опухоли;
- психические расстройства;
- возраст до 4–5 лет.

Патогенез атопических аллергических болезней был описан в главе 6.

Доказательством атопической природы (тип I) аллергической болезни у пациента является обследование у врача-аллерголога-иммунолога. Наряду со сбором аллергологического анамнеза, специальными исследованиями (такими, как риноскопия, оценка функции внешнего дыхания и др.), важнейшим методом исследований являются кожные аллергопробы.

Для бытовых, эпидермальных, пыльцевых и грибковых аллергенов с высокой эффективностью используются скарификационные (или прик) и внутрикожные аллергопробы, для химических – аппликационные кожные пробы, для пищевых – пищевые тесты (пищевое наблюдение или пищевой дневник) и определение IgE (аллергопанель). Не проводятся кожные аллергопробы с инсектными и лекарственными аллергенами. Пробы с пищевыми аллергенами могут отражать псевдоаллергические реакции.

Механизмы действия АСИТ:

Основным принципом действия АСИТ является восстановление толерантности иммунной системы организма к экзоаллергенам. Это достигается следующими механизмами:

- 1) формирование анергии периферических CD3+ Т-клеток за счет усиления продукции IL10 и смещения цитокинового профиля с Th2 в сторону Th1 (снижение уровня IL4 и нормализация уровня IFN γ , IL2);
- 2) продукция блокирующих IgG, конкурирующих за аллерген с IgE;
- 3) образование анти-IgE-антител;
- 4) снижение экспрессии Fc ϵ RI на тучных клетках;
- 5) увеличение экспрессии CD28, уменьшение – CTLA-4 (CD152);
- 6) увеличение содержания аллергенспецифических CD8+ Т-клеток;
- 7) постепенное истощение пулов эозинофилов и тучных клеток в органах-мишенях.

Клиническая эффективность АСИТ

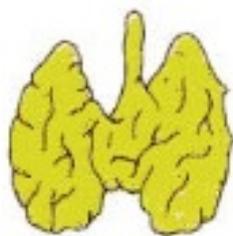
- исчезновение или уменьшение клинических симптомов;
- уменьшение потребности в противоаллергических лекарственных препаратах;
- длительность эффекта;
- более высокая эффективность при проведении на ранних этапах болезни, особенно в детском возрасте;
- снижение риска утяжеления атопической патологии и вовлечения в процесс новых органов (например, развития на фоне аллергического ринита бронхиальной астмы).

Глава 6

АУТОИММУННЫЕ БОЛЕЗНИ

Аутоиммунные болезни развиваются вследствие срывов поддержания аутоотолерантности (глава 8). В этиопатогенетическом аспекте аутоиммунные расстройства относятся к мультифакториальным формам патологии, но клинические проявления возникают и нарастают по мере накопления аутореактивных клонов Т- или В-лимфоцитов. Значительный вклад вносят особенности образа жизни и генетическая предрасположенность – для большинства нозологических форм аутоиммунных болезней выявлены ассоциации с определенными аллелями генов HLA, чаще – II класса (DR, DP, DQ). Пусковым фактором может быть любое воздействие, нарушающее механизмы иммунорегуляции: перенесенная инфекция, стрессовая ситуация, травма, воздействие этиопатогенных и других негативных факторов внешней среды. Однажды начавшись, аутоиммунный процесс обычно прогрессирует, так как иммунные ответы реализуются с участием Т-хелперов и сопровождаются формированием иммунологической памяти. С клинической точки зрения, аутоиммунные болезни обычно характеризуются как хроническая рецидивирующая, неуклонно прогрессирующая патология. В данной главе представлена краткая характеристика некоторых наиболее часто встречающихся аутоиммунных заболеваний.

6.1. Аутоиммунный тиреоидит



Аутоиммунный тиреоидит (тиреоидит Хасимото) – хроническое воспалительное заболевание щитовидной железы аутоиммунного генеза, при котором в результате хронически прогрессирующей лимфоидной инфильтрации происходит постепенная деструкция паренхимы щитовидной железы с конечным исходом в гипотиреоз. Впервые аутоиммунный тиреоидит

дит (АИТ) как отдельную нозологическую единицу в 1912 г. описал *H. Hashimoto* у женщин как *struma lymphomatosa*. В настоящее время аутоиммунным тиреоидитом страдают примерно 1–3 % населения Земли и регистрируется тенденция к распространенности этой болезни. У женщин АИТ регистрируется в 5–10 раз чаще, чем у мужчин, и частота увеличивается с возрастом (большинство случаев начинается в интервале от 45 до 60 лет). В педиатрической практике АИТ обычно встречается в подростковом возрасте, хотя крайне редко может проявляться даже у младенцев.

В *иммунопатогенезе АИТ* ведущую роль отводят клеточно-опосредованному иммунному воспалению с участием Th1 и Th17 клеток. Существенный вклад в нарушении структуры и функции щитовидной железы вносят и В-клеточный ответ, эффекторная фаза которого реализуется по цитотоксическому типу: комплементзависимый цитолиз и антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность, АЗКЦ. В качестве главных аутоантигенов выступают *тиреоглобулин*, *тиреоидная пероксидаза (йодпероксидаза, ТПО)*, реже – другие поверхностные и цитоплазматические (*микросомальная фракция*) антигены клеток щитовидной железы.

Нарушение целостности тиреоцитов или появление новых детерминант тиреоспецифичных белков способствуют запуску в регионарных лимфатических узлах иммунных ответов с активацией и пролиферацией тиреоспецифичных CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов. Под влиянием хемокинов, поступающих от дендритных клеток щитовидной железы, различные клетки мигрируют в паренхиму органа и формируют инфильтраты, в состав которых вовлекаются макрофаги. Неконтролируемая активация Th1 и Th17 клеток сопровождается избыточной продукцией IFN γ и IL17. Под воздействием IFN γ фолликулярные клетки щитовидной железы начинают продуцировать воспалительные хемокины, которые рекрутируют новые Т-клетки из системного кровотока и усиливают деструктивное аутоиммунное воспаление. Аутоиммунному ответу способствует дефицит nTreg.

Обнаружение аутоантител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе могут служить диагностическими маркерами АИТ. Гистологическая картина АИТ характеризуется лимфоцитарной и плазмочитарной инфильтрацией, разрушением фолликулов и пролифера-

цией фиброзной ткани, которая замещает нормальную структуру щитовидной железы.

Клиническая картина. Дефицит тиреоидных гормонов (трийодтиронина – Т3 и тироксина – Т4) в циркуляции индуцирует увеличение продукции тиреотропного гормона (ТТГ), который по принципу обратной связи способствует росту эпителия железы и узлов в ней. В связи с этим одним из первых симптомов заболевания может быть увеличение размеров щитовидной железы.

В зависимости от фазы и длительности процесса меняется функциональная активность щитовидной железы. АИТ может длительное время протекать бессимптомно. Начальный период вследствие разрушения структуры фолликулов и ускоренного высвобождения гормонов характеризуется склонностью к развитию *гипертиреоза*. В последующем функция железы в связи с усилением продукции ТТГ может вернуться к норме (*эутиреоз*). Однако постепенно, по мере разрушения ткани щитовидной железы и фиброзирования, развивается *гипотиреоз*.

Лечение направлено на нормализацию функциональной активности щитовидной железы. При повышении уровня ТТГ и снижении уровня Т4 показана заместительная терапия препаратами тироксина (L-тироксин, тиреокомб и др.). Перспективой является разработка методов восстановления аутоотолерантности.

6.2. Ревматоидный артрит



Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное ревматическое заболевание, которое проявляется синовитом, хроническим деструктивным артритом и системным поражением внутренних органов. Распространённость РА среди взрослого населения составляет от 0,5% до 2% (у пожилых женщин – около 5%). Пик начала заболевания – 40–55 лет, однако вовлекаются все возрастные группы, включая детей. Чаще болеют женщины, и соотношение женщин к мужчинам составляет 2,5:1. Заболевание является полигенным и генетически гетерогенным, в частности наиболее тесная ассоциация установлена для гена HLA-DRB1, а для отдельной формы РА – анкилозирующего спондилоартрита (болезни Бехтерева) – HLA-B27. Среди факторов окружающей среды значимыми являются гормональные факторы,

персистентные инфекции, негативные профессиональные факторы, а также особенности состава микробиоты макроорганизма.

Иммунопатогенез РА. Внутрисуставное воспаление – это результат взаимодействия между резидентными клетками синовиальной оболочки (синовиоцитами), макрофагами, дендритными клетками, НК-клетками, нейтрофилами и эффекторными клетками адаптивных иммунных ответов, которые являются источниками большого числа различных воспалительных медиаторов. Преобладающим механизмом адаптивных иммунных ответов считается Th1-путь.

Неизвестный *артритогенный эпитоп* фагоцитируется макрофагами, распознаётся CD4+ Т-клетками с последующей клональной экспансией аутореактивных CD4+ Т-клеток (Th1, а также Th17), которые проникают в синовиальную оболочку, где протекает эффекторная стадия аутоиммунного ответа с активацией антигенпредставляющих макрофагов и продукцией разных медиаторов воспаления, включая провоспалительные цитокины (IL2, IL17, IL18, IFN γ , TNF α , и др.). Локальное воспаление приводит к повреждению синовиоцитов, миграции разных клеток и дальнейшему прогрессированию процесса. Привлеченные в сустав нейтрофилы, макрофаги, а также резидентные дендритные клетки и остеокласты выделяют, наряду с провоспалительными цитокинами, активные метаболиты кислорода, оксид азота, лизосомальные ферменты и металлопротеиназы, что приводит к разрушению хрящевой и костной ткани. Количественный или качественный дефицит nTreg, часто выявляемый у больных РА, и другие иммунорегуляторные дефекты вносят вклад в усиление воспалительно-деструктивных процессов.

В качестве индукторов В-клеточного ответа при РА могут выступать *ДНК поврежденных клеток* и другие *ядерные антигены, коллаген, агрегированный IgG, цитруллинированные протеины*. Наибольшей специфичностью обладают тесты на выявление *антител к цитруллинированным протеинам (АЦЦП)*. Цитруллин – аминокислота, которая образуется из аргинина в результате посттрансляционной модификации белков лизосомальными ферментами. У некоторых больных РА обнаруживают антитела к агрегированному IgG – *ревматоидный фактор (РФ)*. Этот тест всё ещё используют в качестве одного из дополнительных диагностических критериев РА. С участием аутоантител реализуется иммуно-

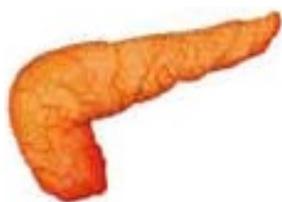
комплексный механизм иммунного воспаления, которое может затрагивать и другие органы и ткани (васкулит в почках, легких, сердце, ЦНС), что является основой системных и комбинированных форм РА. Однако, описанные аутоантитела могут присутствовать в высоких концентрациях у пациентов с другими аутоиммунными расстройствами, а также у пожилых людей. Предполагается, что *аутоиммунные процессы* играют ведущую роль на ранних стадиях РА, на поздних стадиях большее значение имеют *неиммунные механизмы*, а именно ремодулирование – разрастание фиброзной ткани и разрушение суставного хряща, что существенно нарушает функцию вовлечённых суставов.

Клиническая картина. В зоне разрастания воспаленной синовиальной оболочки формируется грануляционная ткань – *паннус*, состоящая из пролиферирующих фибробластов, мелких сосудов, лимфоцитов, макрофагов, плазматических клеток. Паннус, являясь источником гидролитических ферментов и провоспалительных цитокинов, проникает в хрящ и костную ткань, разрушает их. Первоначальными симптомами являются *артралгии*, чаще в области мелких суставов, *нарушение подвижности и утренняя скованность движений*. В месте разрушений постепенно развивается *анкилоз* – зарастание полости сустава грануляционной тканью, что почти полностью нарушает функцию сустава. Хроническое воспаление околосуставных тканей, капсулы суставов, связок, сухожилий могут приводить к *деформации суставов, подвывихам, контрактурам*.

Основное место в *лечении РА* занимает медикаментозная терапия: нестероидные противовоспалительные препараты; глюкокортикоиды; синтетические базисные противовоспалительные препараты.

В последние годы большое место имеют *генно-инженерные биологические препараты*: моноклональные антитела, способные связываться с провоспалительными цитокинами (например, TNF) или их рецепторами, блокаторы костимуляторных молекул, антитела против В-лимфоцитов.

6.3. Сахарный диабет 1-го типа



Сахарный диабет (СД) 1 типа – органоспецифическое аутоиммунное заболевание, при котором аутоантигены инсулин-продуцирующих β -клеток поджелудочной железы распознаются и повреждаются в эффекторную фазу аутоиммунного CD4+Т-клеточного ответа, что приводит к стойкой инсулиновой недостаточности. В большинстве случаев манифестация заболевания происходит до 40 лет, возрастной пик заболеваемости отмечается в возрасте 10–13 лет. Наследственная предрасположенность к развитию заболевания в частности ассоциирована с некоторыми генами локусов *DR* и *DQ* HLA-II. В роли негативных факторов внешней среды рассматриваются инфекционные агенты (прежде всего вирусные инфекции), состав кишечной микробиоты, стресс.

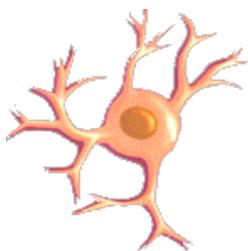
Имунопатогенез СД 1 типа. Хотя ведущим механизмом аутоиммунного воспаления считается CD4+Т-клеточный ответ, тем не менее у большинства больных выявляют антитела к аутоантигенам инсулярных β -клеток поджелудочной железы, таким как *глутаматдекарбоксилаза (GAD)*, *тирозинфосфатаза* и *инсулин*. Аутоантигены β -клеток захватываются дедритными клетками и процессируются. Затем они презентуются CD4+Т-клеткам, которые дифференцируются в Th1 и Т-эффекторы (CD4+ и CD8+Т-клетки) и мигрируют в ткань поджелудочной железы. Под влиянием IFN γ , продуцируемого CD4+Т-клетками, происходит активация макрофагов. Активированные макрофаги посредством цитотоксических метаболитов (таких как активные формы кислорода, оксид азота, лизосомальные ферменты и металлопротеиназы) некротически повреждают β -клетки поджелудочной железы. Цитотоксические CD8+ Т-лимфоциты реализуют в отношении β -клеток перфорин-гранзимовый или Fas-опосредованный апоптоз.

Роль антител в патогенезе СД 1 типа не является ведущей, тем не менее, аутоантитела могут служить маркерами аутоиммунного процесса, так как выявляются более чем у 90 % больных с впервые диагностированным заболеванием. Присутствие двух или более специфичностей аутоантител связано с высоким риском прогрессирования болезни.

Клиническая картина. Болезнь проявляется клинически при разрушении около 80% β -клеток поджелудочной железы. У больных СД 1 типа выявляются общие для всех типов сахарного диабета симптомы, связанные со снижением уровня инсулина и гипергликемией: полидипсия, полиурия, кожный зуд. Постепенно развиваются микроангиопатии, нефропатия, нейропатии, офтальмопатия. Результатом абсолютного дефицита инсулина является похудение, достигающее 10–15 кг в течение нескольких недель. Ярко выражены общая и мышечная слабость, снижение работоспособности, сонливость. При отсутствии лечения возможно наступление гипергликемической комы.

Лечение основано на заместительной сахароснижающей терапии (введение препаратов инсулина). Большую роль играет соблюдение диеты и обучение пациентов. Иммуноterapia, направленная на достижение контроля над аутоиммунным воспалением, рассматривается как одно из перспективных направлений.

6.4. Рассеянный склероз



Рассеянный склероз (РС) – хроническое воспалительное аутоиммунное демиелинизирующее и нейродегенеративное заболевание. Заболевание начинается преимущественно в возрасте от 15 до 40 лет, реже – в детском и пожилом возрасте. Женщины болеют в 2 раза чаще. Наследственная предрасположенность ассоциирована, как и при многих других аутоиммунных расстройствах, с генами локуса HLA DR. Точный опеределяющий этиологический фактор неизвестен. Среди инфекционных агентов возможную роль играют некоторые вирусы (герпесвирусы, вирусы кори, краснухи, паротита и др.), а также прионы.

Имунопатогенез РС. Пусковые механизмы заболевания неизвестны. Ведущим механизмом аутоиммунного воспаления и демиелинизации считается аутоиммунный адаптивный CD4+ Т-ответ по направлению Th1. В качестве аутоантигенов могут выступать *основной белок миелина, миелиновый олигодендроцитарный антиген, миелин-ассоциированный гликопротеин, протеолипидный протеин.*

Будучи активированными нейроантигенами в региональных лимфатических узлах, CD4+ Т-лимфоциты проникают в перивас-

кулярные пространства ЦНС. Наряду с Th1 клетками значимую роль в развитии РС отводят Th17 лимфоцитам, которые посредством IL17 и IL22 способны увеличивать проницаемость гематоэнцефалического барьера. Локальная продукция Th1 клетками провоспалительных цитокинов (IFN γ , IL2, TNF β) приводит к активации эндотелиоцитов, резидентных макрофагов и микроглии. Выделение большого количества хемокинов привлекает иммунные клетки (моноциты/макрофаги, дендритные клетки, T- и В-лимфоциты) из кровотока. Активация клеток макрофагального ряда сопровождается высвобождением активных метаболитов кислорода и оксида азота, гидролитических ферментов, металлопротеиназ, что приводит к разрушению миелиновой оболочки нейронов. CD8+ T-лимфоциты также вносят определенный вклад в разрушение глиальных клеток путём апоптоза.

В-лимфоциты, нарабатывая аутоантитела к компонентам миелина, могут оказывать повреждающее действие посредством активации системы комплемента и путём АЗКЦ.

Высвобождение аутоантигенов миелина вовлекает в патологический процесс новые аутореактивные клоны в ближайших лимфоузлах. Индукция аутоиммунных ответов становится возможной и непосредственно в нервной ткани, где выявляются лимфоцитарно-макрофагальные инфильтраты и демиелинизация. В очагах воспаления в головном и спинном мозге происходит разрастание микроглии, соединительной ткани, и с течением времени формируются множественные очаги демиелинизации.

Клиническая картина. Главным методом диагностики РС является магнитно-резонансное сканирование мозга и выявление очагов демиелинизации. Заболевание носит прогрессирующий характер с разными вариантами течения. Могут наступать периоды временной ремиссии. Неврологическая симптоматика зависит от степени органического поражения нервной системы. Часто первыми симптомами РС могут быть признаки поражения глазодвигательного нерва, пирамидные и мозжечковые расстройства, нарушения чувствительности в конечностях. При прогрессировании заболевания возникают новые симптомы (нарушения функций тазовых органов, поражение лицевого и тройничного нервов и др.). Когнитивные расстройства возникают обычно на поздних стадиях болезни.

Лечение. В периоды обострений симптоматическая терапия сочетается с противовоспалительной и иммуносупрессорной терапией (глюкокортикоиды, цитостатики). В качестве превентивной терапии используются препараты интерферона-бета (IFN β), которые способствуют ингибированию иммунных реакций и созданию противовоспалительного фона. Терапия с использованием синтетического аналога миелина (глатирамера ацетата), направленная на подавление антигенспецифических аутоиммунных реакций, оказывает менее выраженный эффект.

Новые подходы к иммунотерапии РС: моноклональные антитела, направленные против интегрина $\alpha 4\beta 1$, CD20, CD25, CD52, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Глава 7

ОНКОПАТОЛОГИЯ И ПОХОДЫ К ИММУНОТЕРАПИИ

Все опухоли подразделяются на доброкачественные и злокачественные. Для злокачественных опухолей характерны клеточная атипия, склонность к инвазивному росту и метастазированию. Заболеваемость злокачественными опухолями в мире составляет в среднем 200 на 100000 населения, при этом наблюдается её неуклонный рост. Смертность от онкопатологии находится на 2–3 местах. Чаще других локализаций встречаются: у мужчин – рак предстательной железы и лёгких, у женщин – рак молочных желез. Об иммунопатогенезе рака рассказано в главе 9.

Клиническая картина зависит от морфологического типа опухоли, её локализации, стадии развития, возраста больных. Среди общих симптомов характерны похудание, немотивированная слабость, длительный субфебрилитет, кровянистые выделения, хроническая анемия, в зависимости от локализации, либо видимое уплотнение, либо нарушение функции внутренних органов за счёт роста опухоли.

Лечение. С целью определения стратегии и тактики лечения используется классификация TNM.

T – tumor.

T₀ – нет клинического выявления опухоли.

T_{is} – карцинома «in situ» («рак на месте»), не прорастающая базального слоя эпителия.

T₁₋₄ – различная степень роста первичного ракового очага. Для каждого из органов существует отдельная расшифровка каждого из индексов.

T_x – первичный очаг не выявлен, а метастазы определяются (временный критерий).

N – nodulus.

N_x – не известно наличие регионарных метастазов (чаще в лимфоузлы), поскольку исследования не проводились.

N_0 – регионарных метастазов (чаще в лимфоузлы) не обнаружено даже при проведении исследования.

N_{1-3} – разная степень регионарных метастазов.

M – metastasis.

M_x – не известно наличие отдалённых метастазов, поскольку исследования не проводилось.

M_0 – отдалённых метастазов не обнаружено даже при проведении исследования.

M_1 – отдалённые метастазы выявлены.

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что **иммунотерапия** злокачественных новообразований обязательно должна сочетаться с другими видами терапии (хирургическое лечение, лучевая терапия, химиотерапия), которые позволяют уменьшить размеры опухоли и сделать ее более иммуногенной.

Иммунотерапевтические стратегии, предложенные в последние три десятилетия, включают в себя следующие подходы:

- цитокиноterapia (препараты интерферонов, IL2);
- клеточная терапия (стволовые кроветворные клетки) и адаптивный Т-клеточный перенос (генетическая или лекарственная модификация *in vitro* аутологичных Т-клеток с целью усиления функциональной активности и возвращение их пациенту);
- таргетная терапия (препараты на основе использования моноклональных антител к опухолевым антигенам);
- блокада «контрольных иммунных точек» (моноклональные антитела, блокирующие ингибиторные молекулы CTLA-4, PD-1, LAG-3, TIM-3 и др.);
- противораковые вакцины (лечебные и профилактические).

Цитокиноterapia наиболее эффективна при лечении метастатической меланомы и почечно-клеточного рака. *Клеточная терапия*, основанная на трансплантации аллогенных стволовых гемопоэтических клеток и адаптивном Т-клеточном переносе, используется в лечении гематологических опухолей и злокачественной меланомы. *Моноклональные антитела* против опухолевых антигенов применяют в комплексной терапии лимфом, рака молочной железы, колоректального рака, а моноклональные антитела к ингибиторным молекулам – у пациентов с меланомой, раком

почки, раком легкого. *Противоопухолевые вакцины* используются в лечении больных меланомой, раком молочной железы, яичника, предстательной железы, колоректальным раком. В частности, с целью приготовления *дендритно-клеточных вакцин (dendritic cell-based vaccines)* используются либо аутологичные раковые лизаты, либо молекулы HLA I в ассоциации с раковыми пептидами, либо трансфекция РНК, ответственной за трансляцию раковых антигенов. Затем вакцины созревают, чтобы дендритные клетки стали полноценными антигенпредставляющими клетками. Введение дендритно-клеточных вакцин осуществляется интрадермально, внутривенно или внутрь лимфатических узлов. Однако в этой технологии остаются некоторые нерешённые проблемы.

Основные усилия при разработке новых иммунотерапевтических стратегий направлены на исследование взаимоотношений между опухолью и иммунной системой в опухолевом микроокружении. Для достижения максимальной эффективности иммунотерапия злокачественных новообразований должна сочетать методы, повышающие специфический противоопухолевый иммунный ответ с одновременным снижением активности супрессорных влияний в опухолевом микроокружении.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Хаитов, Р.М. Иммунология: учебник / Р.М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 496 с.

Дополнительная

1. Иммунология. Практикум: учебное пособие / под ред. Л.В. Ковальчука, Г.А. Игнатъевой, Л.В. Ганковской. – 2012. – 176 с. – Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru>
2. Клиническая иммунология и аллергология: учебное пособие для студентов медицинских вузов / под ред. В.В. Климова. – Сибирский медицинский университет (Томск). – 2-е изд., до-работ. – Томск: Печатная мануфактура, 2008. – 212 с. – Режим доступа: <http://ssmu.immunology.sibhost.ru>
3. Ярилин, А.А. Иммунология: учебник / А.А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с. – Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru>
4. Klimov, V.V. Basic Immunology Overview: Multimedia Course. – Режим доступа: <http://www.immunology.klimov.tom.ru>

Учебное издание

Владимир Васильевич Климов
Елена Николаевна Кологривова

Иммунология

Учебное пособие

Иллюстрации В.В. Климов

Издательство СибГМУ
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107
тел. 8 (3822) 51–41–53
E-mail: otd.redaktor@ssmu.ru

Редактор А.Ю. Коломийцев
Технический редактор О.В. Коломийцева
Верстка, обложка С.Б. Гончаров

Подписано в печать 20.08.2018 г.
Формат 60x84 $\frac{1}{6}$. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Гарнитура «Times». Печ. лист. 15. Авт. лист. 9
Тираж 200 экз. Заказ №

Отпечатано в Издательстве СибГМУ
634050, Томск, ул. Московский тракт, 2
E-mail: lab.poligrafii@ssmu.ru