

10. ИММУННАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ

10.1. Иммунная система

Иммунная система – совокупность лимфоидных органов и тканей, расположенных в различных частях организма, но функционирующих как единое целое в результате постоянной и интенсивной циркуляции лимфоцитов – центральных элементов иммунной системы (рис. 123).

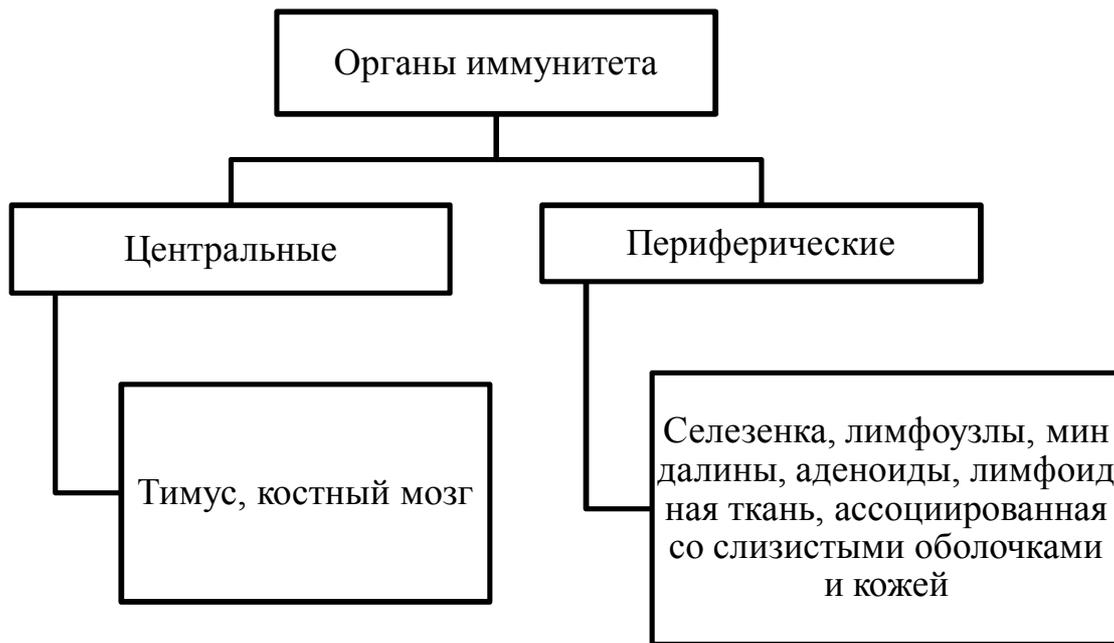


Рис. 123. Классификация органов иммунной системы

Двум центральным органам иммунитета отвечают Т- и В-системы иммунитета. Т-система иммунитета представлена тимусом и Т-лимфоцитами. Различают Т-лимфоциты-киллеры (клетки-убийцы), хелперы, супрессоры, клетки памяти и др. В-система иммунитета представлена костным мозгом, В-лимфоцитами, плазматическими клетками и антителами, которые синтезируются плазматическими клетками.

Кроме двух систем иммунитета существует также ряд факторов неспецифической защиты организма, которые иногда называют неспецифическим иммунитетом. Наибольшее значение имеют такие факторы неспецифической защиты, как комплемент, фагоцитоз, лизоцим и интерфероны.

Действие иммунной системы основывается на ее способности распознавать, перерабатывать и элиминировать чужеродные экзогенные и эндогенные антигены (микробы, чужеродные клетки, ткани, хирургически пересаживаемые органы, мутантные клетки, в том числе опухолевые) и запоминать информацию о чужеродном антигенном материале.

Основные физиологические функции иммунной системы:

участие в процессе контроля дифференцировки вновь обновляющихся клеток и тканей;

утилизация и элиминация отживших клеток тканей;

противоинфекционный иммунитет;

иммунологический контроль беременности;

противоопухолевый иммунитет;

трансплантационный иммунитет.

Иммунная система оказывает регуляторное влияние на другие системы организма. Оказалось, что растворимые продукты иммунной системы (иммуноцитокины) являются мощными регуляторными факторами, действующими на функцию органов кроветворения, на нервную, эндокринную системы и т.д.

В отличие от других систем организма иммунная система (благодаря подвижности составляющих ее клеток) распространена по всему телу. Клетками иммунной системы принято считать все лейкоциты крови, условно разделяемые на 5 групп: моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы и лимфоциты. Во вторичных лимфоидных органах из крови в ткани способны проходить и лимфоциты, часть из которых затем вновь может возвращаться в кровоток. Лимфоциты принято разделять на основе мест их первичного формирования на Т-лимфоциты и В-лимфоциты.

Третьим компонентом иммунной системы являются секретируемые ее клетками молекулы, поскольку некоторые из них способны функционировать в ходе реализации защитных реакций как самостоятельно действующие агенты. Характерным примером таких молекул являются выделяемые В-лимфоцитами иммуноглобулины (называемые также антителами), способные специфически взаимодействовать с конкретными чужеродными антигенами без какого-либо влияния других составляющих иммунной системы.

Помимо иммуноглобулинов присущими именно иммунной системе молекулами принято считать и вещества, регулирующие деятельность как клеток иммунной системы, так и некоторых других клеток организма, – цитокины, лимфокины и интерлейкины. К молекулам иммунной системы, действующим как защитные вещества самостоятельно, следует отнести и присутствующие во внутренней среде организма постоянно или появляющиеся при соответствующей индукции гуморальные факторы, среди которых наиболее известными являются белки системы комплемента, α - и β -интерфероны, белки острой фазы воспаления.

Взаимодействие всех элементов иммунной системы формирует иммунный ответ организма (иммунитет). Различают естественный (врожденный) и искусственный (приобретенный) иммунитет. Оба вида подразделяются на активный и пассивный. Активный врожденный иммунитет формируется после перенесенных заболеваний, пассивный

врожденный иммунитет передается от матери к детям трансплacentарно или с молоком. В случае искусственного иммунитета активный тип формируется при вакцинации, пассивный – при введении сывороточных препаратов.

Формирование иммунного ответа происходит по следующим этапам:

1. Макрофаги захватывают антигенный материал внутриклеточно и представляют фрагменты антигена на клеточной поверхности в иммуногенной форме (эпитопы). Этот процесс сопровождается продукцией интерлейкинов – специфических молекул, способствующих привлечению других иммунокомпетентных клеток (Т-лимфоцитов).

2. Распознавание эпитопов рецепторами Т-лимфоцитов (хелперов).

3. Активация, дифференцировка и пролиферация Т-клеток (хелперов), основная задача которых – «распределение» информации о возбудителе другим иммунным клеткам. Активация Т-хелпера активизирует Т-супрессоры, Т-киллеры. Последние формируют клеточный иммунитет.

4. Активация Т-хелперами В-лимфоцитов приводит к их созреванию в антителопродуцирующие клетки и выработке антител к инфекционному агенту (рис. 124).

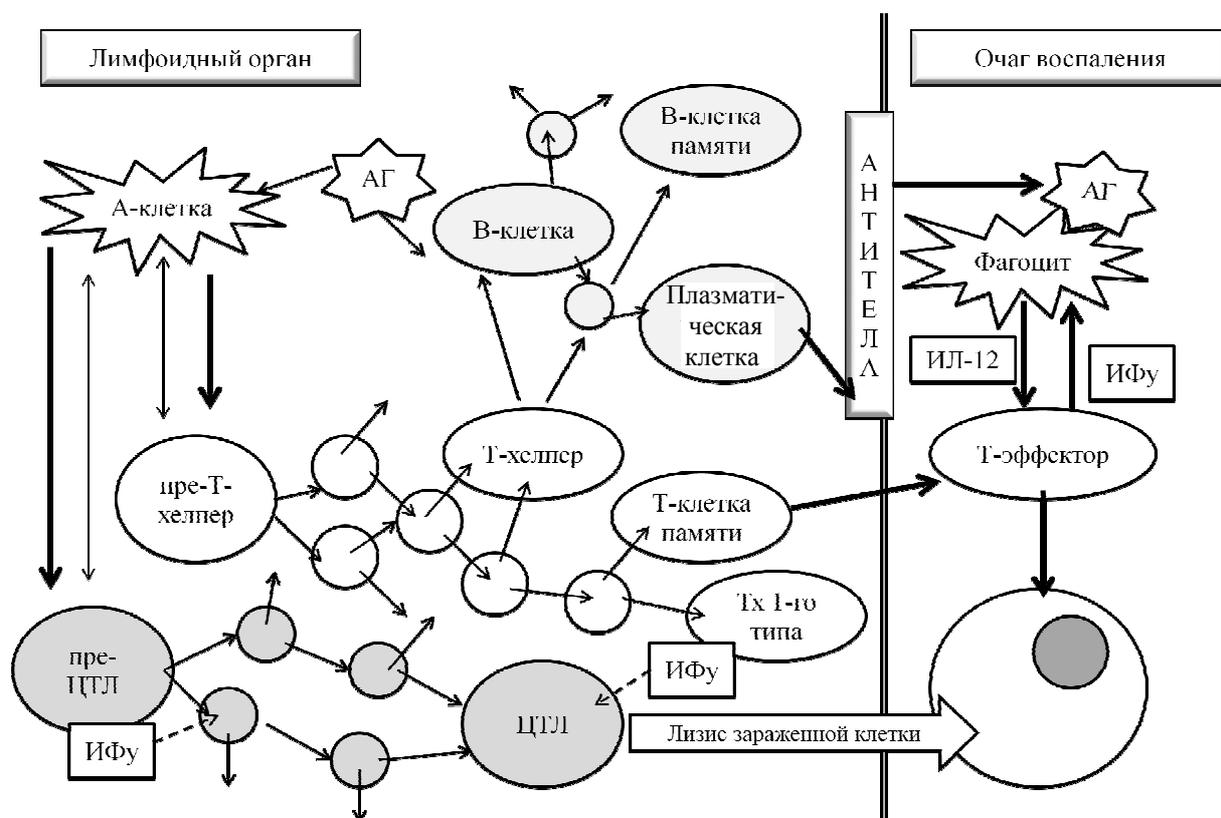


Рис. 124. Формирование иммунного ответа

10.2. Антигены

Антигены – это вещества, которые индуцируют иммунный ответ и взаимодействуют с продуктами иммунной системы.

Основными характеристиками антигенов являются:

специфичность – способность антигена к специфическому взаимодействию с антителами и клеточными рецепторами;

иммуногенность – способность антигена вызывать в организме иммунный ответ;

антигенность – количество антител, формируемое при введении антигена.

Имуногенность антигена определяется следующими свойствами:

1. Чужеродностью для организма.
2. Молекулярным весом.
3. Химическим строением.
4. Доступностью антигена для ферментативных систем антигенпредставляющих клеток (макрофагов, дендритных клеток, В-лимфоцитов).

Антигенами являются органические вещества различного происхождения. Различают полные антигены (сложные органические вещества микробного, растительного и животного происхождения) и неполные антигены (гаптены) (химические вещества, преимущественно с малой молекулярной массой, которые самостоятельно не вызывают иммунный ответ, но приобретают эту способность при конъюгации с высокомолекулярными белками).

По химической природе антигены – белки, полисахариды, липиды и их соединения. Если сравнивать между собой основные классы природных органических веществ, то липиды обладают наименее выраженной иммуногенностью и антигенностью. Это напрямую вытекает из их химического строения. Низкомолекулярные углеводы неиммуногенны по такой же причине, но даже при значительной массе полимерных углеводов их антигенные свойства выражены очень слабо. Причина этого кроется в регулярном строении большинства таких полимеров, из-за чего их пространственная структура слишком проста. Подтверждением роли именно пространственной структуры молекул являются липо-полисахариды. Даже при относительно небольшой молекулярной массе они проявляют ярко выраженные антигенные свойства. Имеющие самую большую массу полимерные нуклеиновые кислоты (например, ДНК) также не являются антигенами. Считается также, что иммуногенность молекул ДНК и РНК резко снижается системами быстрого ферментативного расщепления нуклеиновых кислот в цитоплазме клеток. Белки, будучи сложными гетерополимерами со сложной пространственной структурой,

обладают наиболее хорошо выраженными антигенными характеристиками.

Одно и то же химическое вещество может быть высокоиммуногенным для одних видов животных и неиммуногенным для других. Выделяют следующие виды:

ксеноантигены – антигены тканей и клеток, отличающиеся от реципиента на видовом уровне;

аллоантигены – антигены тканей и клеток, отличающиеся на внутривидовом (индивидуальном) уровне;

аутоантигены – антигены собственных клеток, полимерных молекул;

изоантигены – антигены генетически идентичных организмов.

По структурной организации антигенов их принято делить на две группы: так называемые растворимые антигены и корпускулярные (партикулированные) антигены. В первую группу входят все антигены, представленные собственно молекулами, причем любой сложности. Во вторую – состоящие из множества различных молекул иммуногенные агенты.

Возможно классифицировать антигены по эффекту, который они оказывают на иммунизируемый организм. В частности, агенты, вызывающие после первичного попадания в организм отсутствие реакции иммунной системы на последующие контакты организма с ними (толерантность), называют толерогенами. Агенты с противоположным действием, т.е. вызывающие повышенную реактивность организма на вторичные попадания, чаще всего называют аллергенами.

В структурном отношении антиген состоит из 2 частей – высокомолекулярного носителя и низкомолекулярной антигенной детерминанты (эпитопа) (рис. 125).

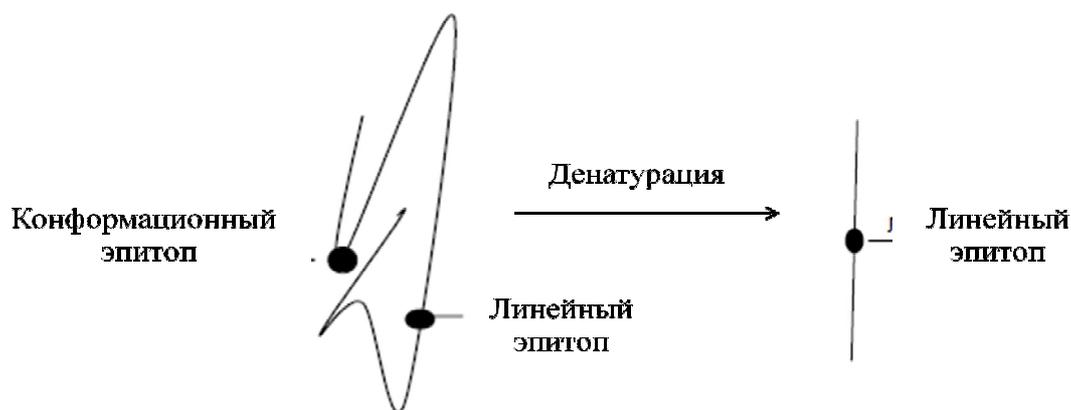


Рис. 125. Строение антигена

Носителем является белок или полисахарид, а детерминантами специфичности – различные простые соединения, кислотные радикалы, концевые моносахариды и др. (рис. 126). Роль носителя состоит в

стабилизации стереохимической структуры детерминанта в положении, которое наиболее выгодно для соединения с рецепторной группой антитела (паратопом).

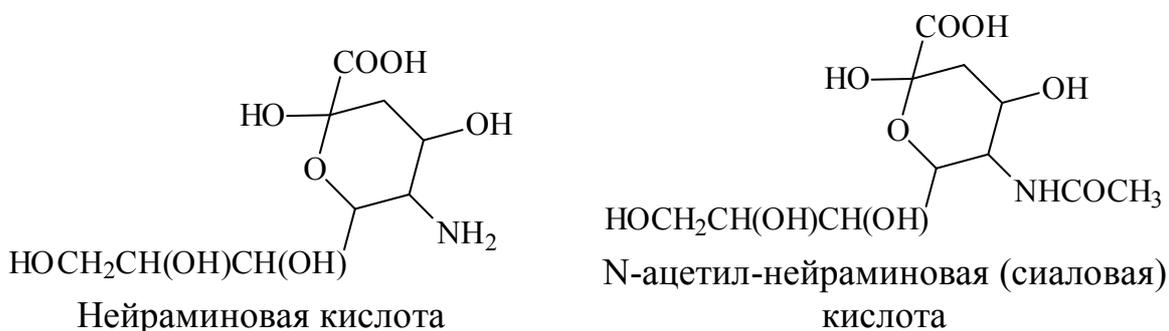


Рис. 126. Примеры детерминантов антигенов

10.3. Антитела

Представление об антителах и вызывающих их продукцию антигенах начало формироваться в конце XIX века. Основополагающими стали проведенные в 1890 году исследования Э. фон Беринга и Ш. Китацато, которые доказали наличие в плазме крови млекопитающих особых веществ, способных нейтрализовать действие токсинов бактерий. Такие вещества отсутствовали в крови изначально и появлялись в организме как ответ на действие токсина. Первоначально их называли антитоксинами, однако позже стало понятно, что данный термин слишком узок, и его заменили на термин «антитела».

Антитела – это иммуноглобулины, способные специфически соединяться с антигеном. Иммуноглобулинами называют совокупность сывороточных белков, обладающих преимущественно гамма-электрофоретической подвижностью и проявляющих активность антител.

К иммуноглобулинам относят: иммуноглобулиновые рецепторы лимфоцитов, молекулы главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) 1-го и 2-го классов, адгезивные белки, а также белки, которые схожи с антителами по химической структуре и антигенной специфичности, – миеломные белки, белки Бенс-Джонса и субъединицы иммуноглобулинов.

Функциональная молекула иммуноглобулина представляет собой белок в четвертичной структуре, образованный 4 полипептидными цепями (рис. 127). Две из них принято называть легкими и обозначать буквой L (light – легкий), две другие – тяжелыми, или H-цепями (от англ. heavy – тяжелый). Легкие цепи имеют массу около 25 кДа, и количество аминокислотных остатков в них колеблется в пределах от 210 до 220. Тяжелые цепи как минимум в два раза тяжелее легких, и протяженность их (в зависимости от класса) – от 440 до 550 аминокислотных остатков.

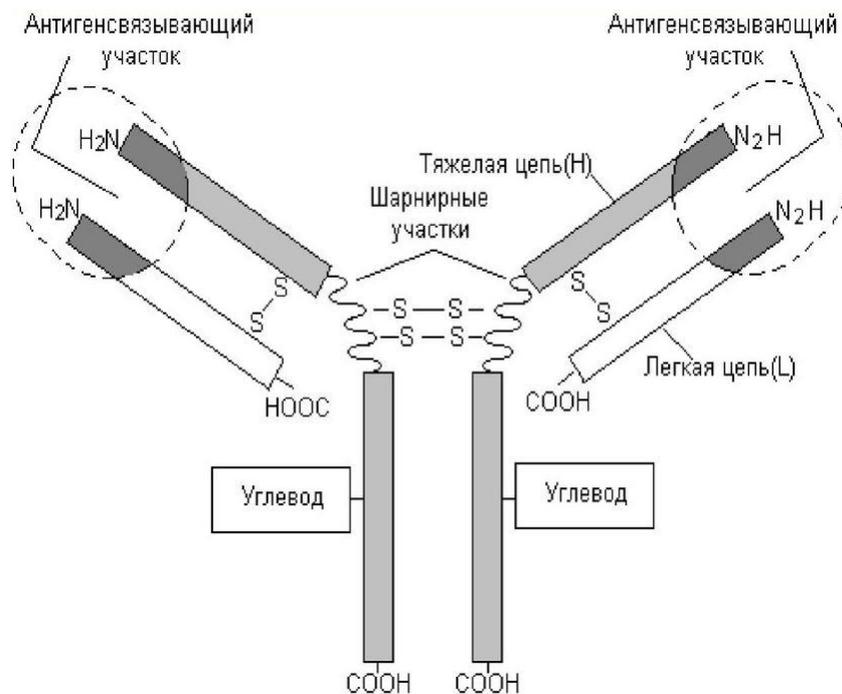


Рис. 127. Схема строения иммуноглобулина

Все цепи имеют доменную структуру. Протяженность одного домена в среднем – около 110 аминокислотных остатков, приблизительно 60 из них образуют скрепленную ковалентными S-S-связями глобулярную часть домена. В легких цепях таких доменов всегда два, в тяжелых – 4 или 5. Домены принято номеровать, начиная от NH₂-концов полипептидной цепи. В легких и тяжелых цепях первый домен обозначается латинской буквой V (от англ. variable – вариабельный), последующие – латинской буквой C (от англ. constant – константный). Для обозначения принадлежности домена к определенной цепи и положения домена в ней используется правый нижний подстрочный индекс. Например, вариабельный домен легкой цепи обозначается как V_L, а второй константный домен тяжелой – как C_H².

На константных доменах легких и тяжелых цепей могут присутствовать углеводные компоненты. Количество, химический состав и локализация этих олигосахаридов варьируются в зависимости от класса или подкласса иммуноглобулинов. Порядок расположения субъединиц в четвертичной структуре следующий: две одинаковые H-цепи ориентированы в молекуле так, что их COOH-концы сближены, а цепи закручены относительно друг друга участками, включающими домены C_H², C_H³ и, если таковой имеется, C_H⁴.

Между доменами двух цепей образуется не только множество характерных для четвертичной структуры слабых химических связей, но и несколько ковалентных S-S-связей, что и обеспечивает жесткую фиксацию этих участков субъединиц относительно друг друга. Количество S-S-связей и их положение варьируется в зависимости от класса и подкласса

иммуноглобулинов, но большинство из них располагается в районе вторых константных доменов.

В каждой из H-цепей между доменами C_H^1 и C_H^2 имеется богатый остатками пролина так называемый шарнирный участок, обеспечивающий подвижность состоящих из доменов V и C_H^1 частей субъединиц относительно остальной части молекулы. Именно к этим подвижным частям присоединены идентичные друг другу легкие цепи, NH_2 -концы которых тесно сближены с NH_2 -концами тяжелых цепей.

Легкая цепь жестко фиксирована относительно тяжелой множеством слабых химических взаимодействий между переменными и константными доменами и, как правило, одной ковалентной связью между доменами C_H^1 и C_L . Таким образом, подвижными относительно друг друга и относительно остальной части иммуноглобулина оказываются два участка четвертичной структуры, включающие легкие субъединицы и домены V и C_H^1 тяжелых субъединиц. Такое строение молекулы обеспечивает наилучшие условия для выполнения антителами их главной функции – связывания с антигеном.

Иммуноглобулины, в зависимости от особенностей строения константных областей тяжелых цепей, подразделяются на 5 основных классов: IgA, IgD, IgE, IgG, IgM. Каждый класс иммуноглобулинов характеризуется определенными свойствами и функциями. Принадлежность иммуноглобулина к тому или иному классу или подклассу зависит от характерных особенностей строения тяжелых цепей (количества и последовательности аминокислотных остатков, молекулярной массы, количества доменов и др.). Тяжелые цепи бывают 5 типов (α , γ , δ , ϵ , μ). Легкие – только двух разновидностей – κ и λ . Тяжелые цепи независимо от принадлежности к тому или иному классу или подклассу образуют комплекс либо с κ -, либо с λ -типом.

Иммуноглобулин A (молекулярный вес – 170 000) составляет около 16 % сывороточных иммуноглобулинов и встречается в виде мономера (80 %), димера (9S), тримера (1 IS) и более крупных полимеров (рис. 128). Установлено, что IgA в основном функционирует на поверхности слизистых оболочек, непрерывно контактирующих с разнообразными антигенами. Это свойство IgA-антител тормозит развитие хронических местных воспалительных процессов. Связываясь с антигенами, IgA-антитела задерживают их прилипание к поверхности клеток эпителия и препятствуют их проникновению во внутреннюю среду организма. В отличие от IgG- и IgM-антител, IgA-антитела не способны активировать комплемент по классическому пути и не вызывают выделения медиаторов воспаления при реакции с антигенами.

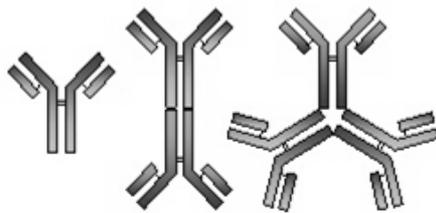


Рис. 128. Схема строения иммуноглобулина А

Иммуноглобулин М (молекулярный вес – 950 000) составляет 5–10 % от общего количества иммуноглобулинов, а его концентрация в сыворотке приближается к 1 г/л. К IgM-антителам относятся, например, изогемагглютинины, классический ревматоидный фактор, антитела, выявляемые в реакции Вассермана, большинство естественных антител, особенно против грамотрицательных бактерий. IgM называют и макроглобулином, так как он является полимером и состоит из пяти четырехцепочных субъединиц (рис. 129). IgM-антитела появляются на первом этапе иммунного ответа и находятся в основном в сосудистом русле, поэтому им отведена важная защитная роль при бактериемии, на ранних стадиях различных инфекционных процессов.

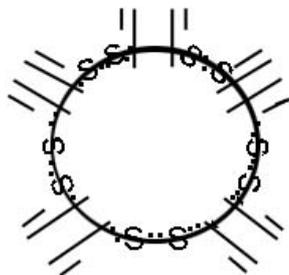


Рис. 129. Схема строения иммуноглобулина М

Иммуноглобулин D (молекулярный вес – 160 000) составляет всего 0,2 % сывороточных иммуноглобулинов. Основная функция заключается в том, что на определенной стадии IgD выполняет роль антигенного рецептора В-лимфоцита (рис. 130). Также установлено, что с IgD могут быть связаны антитела против пенициллина, противоинсулиновые антитела у больных сахарным диабетом, некоторые другие аутоантитела.

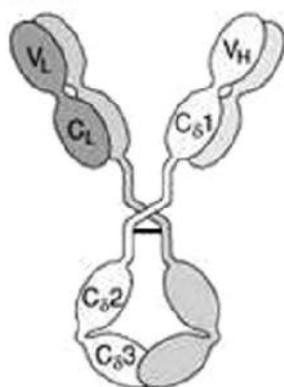


Рис. 130. Схема строения иммуноглобулина D

Иммуноглобулин E (молекулярный вес – 190 000) присутствует в сыворотке в самой низкой концентрации (0,00002–0,0002 г/л). Однако IgE обладает высокой биологической активностью, цитотрофностью, т.е. способностью присоединяться к клеткам (тучным клеткам и базофилам), что приводит к их дегрануляции, выделению иазоактивных аминов, которые ответственны за проявление бронхиальной астмы, сенной лихорадки и других аллергических заболеваний. В настоящее время выделяют два вида IgE (общий и специфический) (рис. 131).

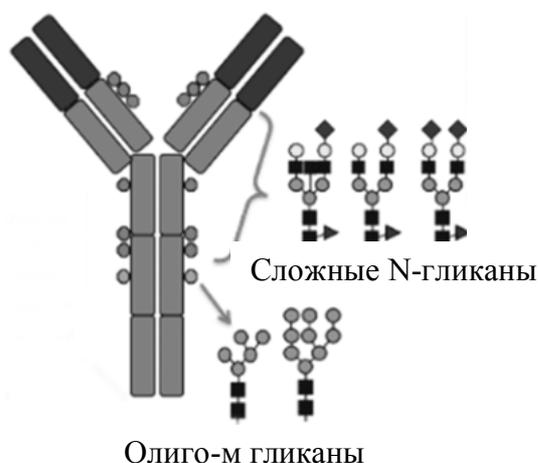


Рис. 131. Схема строения иммуноглобулина E

Иммуноглобулин G (молекулярный вес – 160 000) составляет около 80 % всех иммуноглобулинов человека и животных (рис. 132). Он не только содержится во внутрисосудистом русле, но и легко проникает в extravascularные пространства, где осуществляет важнейшую защитную функцию благодаря токсиннейтрализующей, вируснейтрализующей, опсонизирующей и бактерицидной активности связанных с ним антител.

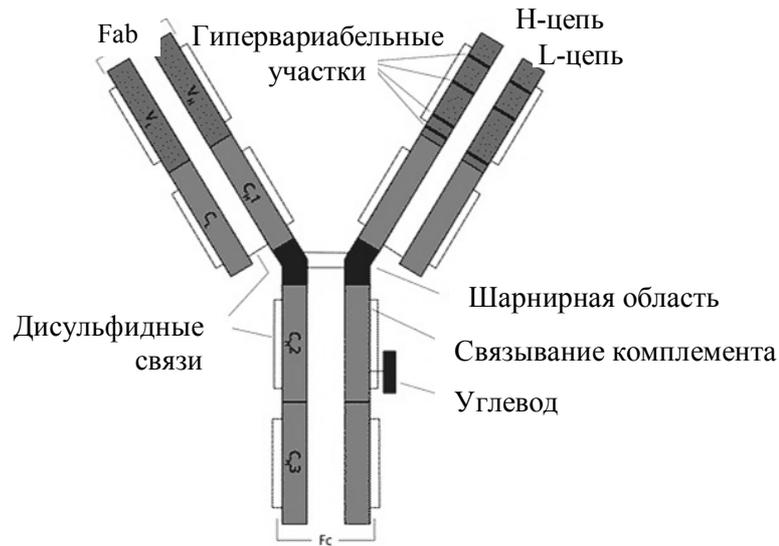


Рис. 132. Схема строения иммуноглобулина G

Синтез антител осуществляется по общим путям белкового синтеза. L- и H-цепи синтезируются двумя различными типами полирибосом. Размеры полирибосом обоих t_{Fc} таковы, что в их составе может находиться мРНК, кодирующая всю тяжелую цепь. Результаты изучения скорости синтеза антител свидетельствуют о том, что синтез L-цепей заканчивается раньше; они освобождаются с полирибосом, образуя небольшой фонд свободных цепей, которые присоединяются к частично синтезированным H-цепям, еще находящимся на рибосомах. Освобождение H-цепей с полирибосом происходит только после образования их комплекса с L-цепями. Затем к H-цепям присоединяется углеводный компонент. Образование комплекса H- и L-цепей, необходимое для освобождения первых с полирибосом, возможно, является одним из звеньев механизма регуляции скорости синтеза молекулы всего антитела.

Установлено также, что мРНК H-цепей кодирует последовательность белка-предшественника, содержащего на 19–22 аминокислотных остатка больше, чем L-цепь. Эти остатки находятся на N-конце предшественника; в их число входят в основном гидрофобные аминокислоты, преимущественно лейцин. Они удаляются после завершения сборки интактной молекулы иммуноглобулина.

10.4. Взаимодействие антител и антигенов

В основе реакции антиген – антитело лежит взаимодействие между эпитопами антигена и паратопами антитела, основанное на их пространственном соответствии (комплементарности). Эти связи обусловлены следующими типами межмолекулярных сил: электро-

статических (ионными, полярными); водородных; гидрофобных; сил Ван-дер-Ваальса.

Значение константы равновесия взаимодействия антиген – антитело является количественным выражением силы (прочности) связывания одного паратопа с одним эпитопом. Эту силу называют сродством, или аффинностью (аффинитетом). Учитывая, что обычное антитело имеет два антигенсвязывающих участка и антиген может иметь несколько повторяющихся антигенных детерминант, общую силу связывания всего антигена с антителом приходится выражать таким понятием, как авидность. Авидность также называют суммарным выражением аффинности.

Связывание антигена с антиген-связывающими участками антител осуществляется путем следующих реакций (рис. 133):

агглютинации – осаждения антителами корпускулярных антигенов (клеток, вирусных частиц или состоящих из множества молекул их фрагментов);

преципитации – осаждения молекул, обладающих антигенными свойствами;

нейтрализации – связывания различных возбудителей или их метаболитов;

торможения гемагглютинации – блокады, подавления антигенов вирусов антителами иммунной сыворотки, в результате чего вирусы теряют свойство агглютинировать эритроциты;

связывания комплемента – бактериолиза и гемолиза комплемента (бактериологической системы).



Рис. 133. Взаимодействие антиген – антитело

10.5. Гормоны и медиаторы иммунной системы

Иммунная система обладает высокой степенью автономности в распознавании и элиминации генетически чужеродных клеток и субстанций. Вместе с тем она находится под сложным влиянием нервных, эндокринных и медиаторных воздействий, что обеспечивает гармоничное функционирование всего организма. Проблема гормональной регуляции иммунного ответа может быть разделена на 2 больших раздела. Первый касается механизмов действия гормонов эндокринной системы на иммунитет. Второй касается роли гормонов и медиаторов, вырабатываемых самой иммунной системой.

Гормоны при физиологическом повышении их уровня в первую очередь действуют на высокочувствительные к ним иммунорегуляторные клетки, что обуславливает ингибицию их активности и стимуляцию иммунологических процессов. Дефицит гормонов паращитовидных желез (паратормона) ингибирует иммунные реакции, вызывая гипоплазию костного мозга, инволюцию тимуса и понижение переваривающей способности макрофагов. Инсулин необходим для реализации фагоцитарной и антителообразующей функций. Нейтрогипофизарные гормоны – вазопрессин и окситоцин – способны активировать макрофаги и синтез антител. Гормоны тимуса определяют активность Т- и В-лимфоцитов. Регуляция гормонами и медиаторами иммунных реакций осуществляется на всех этапах: активации, пролиферации, дифференцировки и созревания.

Важную роль в функционировании клеток иммунной системы играют регуляторные пептиды костномозгового происхождения (миелопептиды), которые стимулируют антителогенез, восстанавливают дисбаланс в Т-системе. Гормоны и медиаторы иммунной системы являются не только регуляторами иммунных реакций, но и ключевыми факторами, инициирующими и ингибирующими воспалительную реакцию и острофазовый ответ организма, участвующими в элиминации опухолевых клеток, модифицирующими состояние нервной и эндокринной систем.

В настоящее время сформулировано представление о системе цитокинов – группе растворимых пептидных медиаторов, продуцируемых разными клетками организма и играющих важную роль в обеспечении физиологических процессов.

Система цитокинов включает:

- 1) клетки-продуценты;
- 2) цитокины;
- 3) клетки-мишени с рецепторами, специфичными для конкретных цитокинов;
- 4) в ряде случаев – антагонистов цитокинов или их рецепторы.

Цитокины различаются по строению, биологической активности и другим свойствам, однако все они также обладают и общими свойствами. В основном цитокины низкомолекулярны (средняя молярная масса – менее 30 кДа); вырабатываются клетками в низкой концентрации (пг/мл) не постоянно, а в ответ на активирующий стимул; участвуют в иммунных и воспалительных реакциях, регулируя их продолжительность и силу. Одни и те же цитокины вырабатываются различными клетками, могут действовать на различные клетки-мишени, регулируя их функции. Цитокины оказывают действие через рецепторы на поверхности клеток-мишеней. Они работают по принципу сети: индуцируют секрецию друг друга, действуют как синергисты или антагонисты, действуют как паракринные, аутокринные или эндокринные факторы регуляции функций клеток-мишеней.

Основную группу клеток-продуцентов цитокинов составляют лимфоциты. Кроме того, цитокины синтезируют и секретируют клетки фагоцитарного ряда и антигенпредставляющие клетки, клетки соединительной ткани, эндотелия, эпителия. Различают несколько типов цитокинов (рис. 134).



Рис. 134. Классификация цитокинов

10.6. Биохимические основы защитных механизмов

Строение организма животных и все присущие им физиологические функции в какой-то мере обеспечивают и защиту от вредных факторов, что и позволяет разделить все защитные механизмы на конститутивные и индуцибельные. Отличительными чертами конститутивных (врожденных) защитных механизмов являются их постоянное присутствие в организме вне зависимости от действия дестабилизирующих факторов и отсутствие выраженной специфичности, т.е. схожесть проявления при действии различных факторов. Такого рода защитные механизмы способны одновременно защищать организм от целого ряда факторов практически сразу после рождения. В то же время индуцибельные защитные реакции отсутствуют в организме изначально, возникают в течение жизни в результате контакта с конкретным дестабилизирующим фактором и обладают ярко выраженной специфичностью, т.е. защищают только от того фактора, который и вызвал проявление этого механизма.

К конститутивным защитным барьерам традиционно относят непроницаемость покровов, лизоцим, гидролитические ферменты и соляную кислоту желудочно-кишечного тракта, интерфероны, воспаление, фагоцитоз, действие естественных киллеров (NK-клеток), систему комплемента и другие присутствующие в крови гуморальные факторы конститутивной защиты. Индуцибельные защитные механизмы – это все формы иммунного ответа, основанные на специфическом распознавании чужеродных антигенов. Как правило, для их реализации требуется гораздо больше времени, чем для проявления конститутивных факторов защиты, а также обязательным является участие иммунокомпетентных клеток лимфоцитарной группы. Основными и наиболее изученными среди них являются: ответ на тимусзависимые антигены, приводящий к появлению специфических антител и соответствующих клеток иммунологической памяти; действие Т-киллеров, ограниченных по молекулам ГКГС; гиперчувствительность замедленного типа; гиперчувствительность немедленного типа.

10.6.1. Воспаление

Воспаление как многокомпонентная местная сосудисто-тканевая реакция развивается поэтапно. Первым этапом (или фазой) воспалительной реакции является появление в тканевой жидкости веществ, называемых медиаторами воспаления (табл. 5). Главными продуцентами основных медиаторов воспаления являются тучные клетки. Превращение базофилов в тучные клетки необходимо именно для того, чтобы любой орган мог достойно ответить воспалительной реакцией на повреждающее действие.

Медиаторы воспаления

| Медиатор | Источник | Функция |
|------------------------|--|---|
| Гистамин | Тучные клетки, базофилы | Расширение сосудов, повышение проницаемости стенок капилляров, сокращение гладкой мускулатуры |
| Кинины | Плазма крови | Расширение сосудов, повышение проницаемости стенок капилляров, сокращение гладкой мускулатуры, индукция болевых ощущений |
| Компоненты комплемента | Плазма крови | Способствуют выделению медиаторов воспаления тучными клетками, являются хемотаксическими факторами, повышают проницаемость стенок капилляров |
| Плазмин | Плазма крови | Разрушение фибрина, образование кинина |
| Простагладины | Нейтрофилы, эозинофилы, моноциты, тромбоциты | Расширение сосудов, повышение проницаемости стенок капилляров, индукция болевых ощущений |
| Лейкотриены | Нейтрофилы, тучные клетки, базофилы | Расширение сосудов, повышение проницаемости стенок капилляров, сокращение гладкой мускулатуры, индукция клеточного прикрепления и хемотаксиса |
| Цитокины | Лимфоциты, макрофаги | Являются хемотаксическими факторами, колонийстимулирующими факторами, активируют макрофаги и другие иммунокомпетентные клетки |

Время появления и характер воздействия медиаторов воспаления на кровеносные сосуды и клетки различаются, но в совокупности их действие заключается в следующем. В кровеносной системе в районе формирующегося очага воспаления изменяется просвет кровеносных сосудов, что увеличивает количество притекающей к месту воспаления крови. В то же время проницаемость стенок капилляров изменяется таким образом, что из кровотока в тканевую жидкость проникает гораздо больше, чем в норме, воды, ионов солей и белков плазмы крови. Такие изменения в кровеносных сосудах лежат в основе проявления видимых симптомов воспаления – покраснения и отечности, что характерно для второго этапа воспаления – сосудистой реакции. Через стенки капилляров в очаг воспаления активно мигрируют фагоцитирующие клетки – нейтрофилы и моноциты. По мере увеличения их числа в тканях возрастает и количество выделяемых уже этими клетками медиаторов воспаления, т.е. имеет место лавинообразное усиление воспалительной реакции.

Переходящие в очаг воспаления нейтрофилы и моноциты практически сразу проявляют свои фагоцитирующие свойства, что со временем приводит к уменьшению количества кислорода (гипоксии) и

сдвигу рН в кислую сторону (ацидозу) в воспаленной ткани. Белки плазмы крови также обеспечивают защитный эффект. В частности, белки системы комплемента и иммуноглобулины оказывают характерное воздействие на чужеродный агент и стимулируют фагоцитоз. Плазмин и кинины усиливают и поддерживают на максимальном уровне воспалительную реакцию. Белки острой фазы воспаления (амилоидный протеин, маннозосвязывающий белок и С-реактивный протеин), продуцируемые клетками печени (епатоцитами) в ответ на действие интерлейкина-6, интерлейкина-1 и фактора некроза опухолей альфа, запускают и поддерживают процесс активации системы комплемента даже в отсутствие специфических для патогена антител.

Воспалительная реакция, являясь сама по себе защитной реакцией, создает условия для максимального проявления других защитных механизмов. Их совокупное действие и приводит к устранению причин, вызвавших воспаление, после чего происходит третий этап воспаления – постепенное исчезновение симптомов воспаления и восстановление нарушенных функций подвергнувшегося атаке органа или ткани.

10.6.2. Фагоцитоз

Основные фагоцитирующие клетки организма млекопитающих разделены на микро- и макрофаги. Эти клетки развиваются из стволовых кроветворных клеток красного костного мозга (гематопоэтических стволовых клеток), дающих при делении стволовую миелоидную клетку. Стволовая миелоидная клетка в зависимости от воздействующих на нее гуморальных факторов (цитокинов) в дальнейшем способна развиваться в гранулоцитарно-моноцитарную клетку. Последняя имеет два потенциальных пути развития – либо в монобласт (моноцитарную клетку), либо в миелобласт (гранулоцитарную клетку). Монобласты при воздействии таких гуморальных факторов, как моноцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и интерлейкин-6, превращаются в промоноциты, а те – в моноциты. Моноциты проходят через стенки капилляров, превращаясь в тканевые макрофаги.

Зрелые макрофаги отличаются наличием на своей поверхности специфических молекул, необходимых для проявления свойственных им функций. Макрофаги обладают связывающими бактериальные липополисахариды рецепторами. В закреплении на поверхности макрофагов подлежащих фагоцитированию частиц играют существенную роль рецепторы для Fc-частей иммуноглобулинов G и рецепторы для компонентов комплемента. Крайне важными поверхностными молекулами являются также рецепторы для интерлейкинов и молекулы, участвующие в процессах взаимодействия с другими клетками. Главными фагоци-

тирующими клетками среди макрофагов являются нейтрофилы – самая многочисленная группа из всех лейкоцитов. На поверхности нейтрофилов также присутствуют рецепторы для бактериальных липополисахаридов, Fcγ-рецепторы, рецепторы для хемокинов и интерлейкинов. Вторая группа макрофагов – эозинофилы, содержащие так называемый главный щелочной белок в кристаллической форме, перекиси, кислую фосфатазу, арилсульфатазу и ряд других гидролитических компонентов с бактерицидным действием. На поверхности зрелых эозинофилов находятся Fcγ-рецептор и Fcε-рецептор, рецептор для компонентов комплемента и специфический маркер. Базофилы представляют собой самую малочисленную группу гранулоцитов, содержащих хондроитинсульфаты А и С, гепарин и кислые глюкозаминогликаны, а также серотонин или гистамин. Кроме того, в гранулах базофилов присутствуют пероксидаза, рибонуклеаза, гистидинкарбоксилаза, различные дегидрогеназы и протеиназы, близкие по действию к пищеварительным ферментам.

Процесс фагоцитоза может различаться в некоторых деталях у различных групп фагоцитов. Общая схема его осуществления представлена на рис. 135.



Рис. 135. Схема фагоцитоза

Процесс фагоцитоза протекает по следующим стадиям:

1. Хемотаксическое перемещение фагоцитирующей клетки к объекту фагоцитирования. Аттрактантами для фагоцитов являются как антигены, так и возникшие в ответ на их действие цитокины. Среди наиболее типичных хемоаттрактантов собственного происхождения можно назвать медиаторы воспаления, продукты активации системы комплемента, образующиеся при запуске системы свертывания крови вещества (тромбин, фибрин), и выделяемые различными клетками крови цитокины. Для этих веществ на поверхности фагоцитирующих клеток имеются

специфические рецепторы, присоединение к которым действующего агента вызывает изменение связанного с рецепторами белка G, что и приводит к запуску целого ряда процессов – увеличения секреторной активности, перестройки цитоскелета, появления на мембране интегринов (специфических молекул для усиления адгезии). Сам же чужеродный агент в это время, как правило, опсонизируется, т.е. к его поверхности прикрепляются молекулы из системы комплемента и иммуноглобулины класса G, комплементарные антигенным детерминантам чужеродного агента.

2. Связывание фагоцита и чужеродного объекта. Данный процесс (часто называемый адсорбцией или адгезией) может происходить тремя способами: для слабо опсонизированных агентов – прилипание за счет лектиноподобной активности поверхностных молекул наружной мембраны грамотрицательных бактерий либо за счет имеющихся на поверхности фагоцита интегринов; для опсонизированных частиц – прикрепление за счет специализированных рецепторов для молекул системы комплемента или рецепторов Fcγ.

3. Формирование фagosомы. Взаимодействие специфических поверхностных структур фагоцита со специфическим для них субстратом служит одним из сигналов для его активации. Активация начинается с диссоциации связанного с рецепторами внутриклеточного белка G, который в диссоциированном состоянии активирует фосфолипазу C, катализирующую распад фосфоинозитидов до ДАГ и инозитол-3-фосфата. Под влиянием последнего начинается мобилизация из внутриклеточных депо ионов Ca^{2+} , а ДАГ в присутствии ионов кальция активирует протеинкиназу C. Под воздействием последней происходит перемещение белков цитоскелета к рецепторам, связанным с адгезированной частицей, и в данном месте клетки возникают псевдоподии, охватывающие частицу. Внутри псевдоподии низкомолекулярный G-актин полимеризуется в нитевидный F-актин, из которого формируются цитофилламенты псевдоподии. Вследствие сокращения этих филаментов и изменения вязкости цитоплазмы за счет сшивания актиновых филаментов специальным белком актиногелином возникает зона повышенной жесткости цитоплазмы, что обеспечивает ее локальное вдавливание в области контакта с фагоцитируемой частицей. При этом частица полностью охватывается мембраной фагоцита и происходит замыкание ее по принципу застешки «молния».

4. Превращение фagosомы в фаголизосому. Происходит благодаря объединению с ней имеющихся в цитоплазме фагоцитирующей клетки лизосом. Условно лизосомы нейтрофилов делят на три группы: азурофильные (первичные, отличительным маркером содержимого таких гранул является фермент миелопероксидаза), специфические (вторичные, содержат бактерицидные факторы, действующие без участия кислорода,

их отличительным признаком считается наличие в них лактоферрина), желатиназные (третичные, содержат гидролитические ферменты, действующие на последнем этапе фагоцитоза).

5. Инактивация фагоцитированных микроорганизмов. Различают два основных механизма инактивации: кислородзависимый (кислородный взрыв) и кислороднезависимый. В основе кислородного взрыва лежит ряд последовательно происходящих реакций, начинающийся с накопления в первичных лизосомах значительных количеств восстановленного НАДФ в процессах превращения глюкозы. Присутствующий в мембране первичных лизосом неактивный фермент НАДФН-оксидаза сразу же после слияния лизосомы с фагосомой активируется и катализирует превращение молекулярного кислорода в супероксид-анион (надпероксидный анион), при участии которого образуются еще несколько агентов: перекись водорода, синглетный (атомарный) кислород и гидроксил-радикал. Считается, что после слияния фагосомы с лизосомами в сформированной фаголизосоме появляются миелопероксидаза, СОД и каталаза. Под влиянием первой образуются дополнительные бактерицидные радикалы гипохлорит-анион и гипойодит-анион, а каталаза и СОД обеспечивают удаление избыточных количеств перекиси и супероксид-аниона. Кислород-независимый механизм инактивации начинает проявлять себя после образования фаголизосомы и заключается в накоплении и действии группы катионных белков, включающих дефензины. Считается, что действие дефензинов проявляется сразу же после реализации кислородзависимых защитных механизмов, когда среда в фаголизосоме еще имеет щелочные значения pH. Установлено, что щелочная среда сохраняется в фаголизосоме около 15 минут, а затем за счет поглощения фаголизосомой ионов водорода pH сдвигается до значений 4,5. Это создает благоприятные условия для проявления активности близких по действию к пищеварительным гидролитическим ферментов.

6. Полная деструкция фагоцитированного объекта.

10.6.3. Система комплемента

Было установлено, что лишенная клеток кровь (сыворотка) также обладает бактерицидными свойствами. При этом помимо относительно термоустойчивых белковых молекул, т.е. антител, в реализации бактерицидности сыворотки существенную роль играют термолabileльные (теряющие активность при 56 °С) белки, названные П. Эрлихом комплементом, т.е. «дополнительными» белками. Дальнейшее изучение данных белков показало, что эта фракция белков плазмы крови является не дополнительной, а основной в разрушении чужеродных клеток и что

антитела лишь стимулируют деятельность этих белковых молекул. Комплемент представляет собой совокупность последовательно взаимодействующих при определенных условиях специфических протеинов, присутствующих в плазме крови млекопитающих изначально и постоянно. Действие этих белков на любые чужеродные клетки практически одинаково. Исходя из этого, систему комплемента рассматривают как отдельный конститутивный фактор защиты организма.

В настоящее время в систему комплемента включают 19 основных белков, условно разделяемых на группы в связи с их функциями. Все эти белки продуцируются и секретируются в плазму крови моноцитами и гепатоцитами. Их количества в норме постоянны для млекопитающих конкретных видов.

Первую группу составляют 6 белков, обозначаемых заглавной латинской буквой С (от лат. complement) с соответствующим индексом: C1q, C1r, C1s, C2, C4, C3. Это белки так называемого классического пути активации. Наиболее сложным по строению и наиболее важным с точки зрения инициации активации системы комплемента по классическому пути является белок C1q (рис. 136).

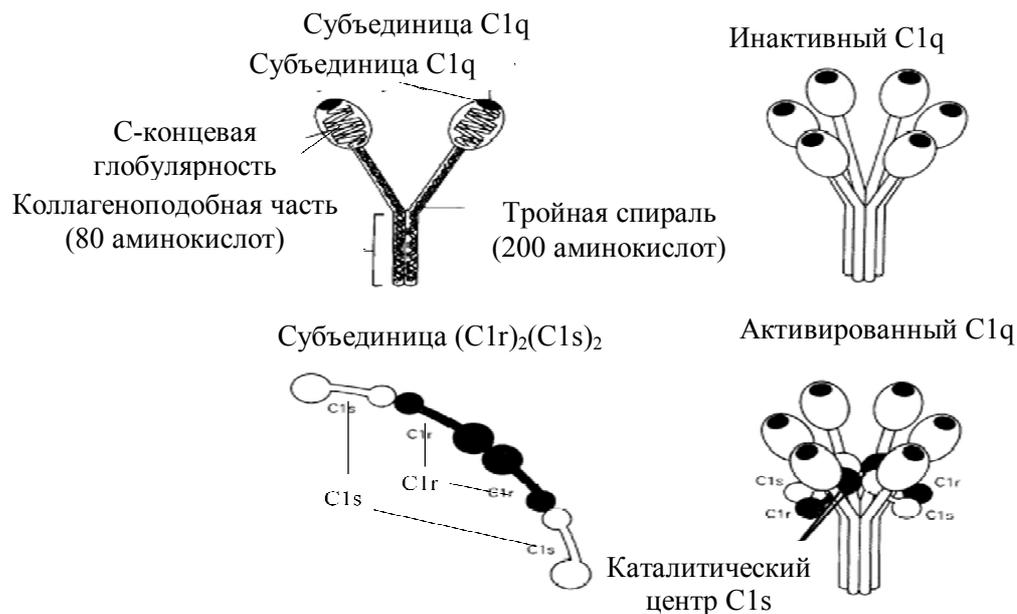


Рис. 136. Структура компонентов комплекса C1

Молекула комплекса C1 представлена шестью одинаковыми субъединицами, каждая из которых состоит из трех различных (α , β , γ) белковых цепей. N-концевые участки трех цепей спирально закручиваются относительно друг друга, а 78 аминокислотных остатков от N-конца обеспечивают объединение двух таких трехспиральных молекул с образованием парной субъединицы C1q. Следующие 200 аминокислотных остатков образуют свободный «стеблеобразный» участок, заканчивающийся имеющим глобулярную структуру С-концевым доменом, в

составе которого – 103–108 аминокислот. Три такие парные субъединицы дополнительно объединяются, что приводит к формированию четвертичной структуры белка C1q.

Белок C1r состоит из двух одинаковых цепей по 95 кДа каждая, а протеин C1s – также из двух одинаковых, но имеющих массу 87 кДа цепей. Белок C3 является ключевым и состоит из двух полипептидных цепей – α и β , имеющих массы 120 кДа и 75 кДа соответственно. В своей третичной структуре α -цепь имеет удерживаемую дисульфидной связью петлю, а не входящий в петлю домен образует дисульфидную связь с β -цепью. При так называемой спонтанной активации C3 – взаимодействии с молекулой воды – некоторые из молекул приобретают развернутую конформацию и переходят в активированное состояние, получая при этом наименование C3i. При ферментативном отщеплении небольшого фрагмента α -цепи, получившего название C3a, образуется фрагмент C3b, имеющий ярко выраженное сродство к амино- и гидроксигруппам. Благодаря такому сродству C3i- и C3b-молекулы способны ковалентно связываться с большинством находящихся рядом белковых и углеводных молекул.

Вторая группа – белки альтернативного пути активации системы комплемента, которые именуются факторами – фактором В, фактором D и фактором Р.

Белки атакующего мембрану комплекса – белки третьей группы – это белки C5, C6, C7, C8 и C9. В отличие от большинства белков других групп их участие в функционировании системы комплемента не приводит к появлению комплексов, обладающих ферментативной активностью, и сами они в ходе активации комплемента не подвергаются никакому ферментативному воздействию.

Четвертая группа – регуляторные белки системы комплемента – наоборот, обладают выраженной ферментативной активностью, которую проявляют по отношению к определенным возникающим при активации системы комплемента комплексам. Таковыми являются: ингибитор C1-эстеразы (сокращенно C1EI), C4-связывающий белок (сокращенно C4bp), фактор I (от англ. inhibitor) и белок S (от англ. soluble – растворимый, растворяющий), который также имеет второе название – витронектин.

Система комплемента является, конститутивным защитным механизмом, поэтому ее следует относить к факторам врожденного иммунитета, однако один из путей ее проявления связан с наличием у организма приобретенного иммунитета. Классический путь активации системы комплемента реализуется только в том случае, когда в организме уже имеются иммуноглобулины, комплементарно связывающиеся с антигенами попавших во внутреннюю среду чужеродных клеток. Объясняется это тем, что иммуноглобулины двух классов могут перевести

белок C1q в активированное состояние. Для этого необходимо, чтобы как минимум две из шести глобулярных частей этого белка специфически связались либо с C_H²-доменом иммуноглобулина G, либо с C_H³-доменом иммуноглобулина M.

Связывание двух и более глобулярных участков молекулы C1q придает ей активность сериновой протеиназы (эстеразы), субстратом для которой являются молекулы C1r. Катализируемая такой эстеразой реакция приводит к проявлению каталитических свойств у до этого момента неактивной молекулы C1r, причем активируется как минимум две молекулы. Две активные молекулы C1r соединяются и совместно с активной молекулой C1q осуществляют активирование также двух молекул C1s, которые объединяются между собой, затем с двумя молекулами C1r, а уже все вместе с молекулой C1q образуют новую сериновую протеиназу.

Образовавшийся ферментный комплекс C1q(C1r)₂(C1s)₂ обычно называют C1-эстеразой или активированным C1, и субстратом для него являются две следующие молекулы из системы комплемента – C4 и C2. Если молекула C4 оказывается рядом с поверхностью, на которой закреплен активированный C1, то она расщепляется последним на два фрагмента. Меньший по размерам фрагмент, обозначаемый как C4a, остается свободным, а больший, C4b, присоединяется к мембране клетки. C4b оказывается в непосредственной близости от активированного C1 и, будучи рецептором для молекулы C2 из системы комплемента, обеспечивает связывание последней. Активированный C1 расщепляет связанную молекулу C2 также на два фрагмента, причем меньший из них, обозначаемый в данном случае как C2b, отсоединяется и в дальнейшем в активации комплемента не участвует, а больший, C2a, остается связанным с молекулой C4b. Возникший комплекс C4bC2a представляет собой фермент, субстратом которого является молекула C3, поэтому этот комплекс обычно называют C3-конвертазой классического пути активации.

Действие C3-конвертазы на молекулу C3 приводит к появлению небольшого фрагмента C3a, далее в активации комплемента не участвующего, и C3b, обладающего активной тиоэфирной группой фрагмента, за счет которой этот фрагмент присоединяется к мембране рядом с уже существующим комплексом. В результате присоединения C3b субстратная специфичность комплекса изменяется, он приобретает способность расщеплять молекулу C5 и называется C5-конвертазой классического пути.

Поскольку иммобилизованный C3b обладает максимально высоким сродством к C5-белку, C5-конвертаза присоединяет к себе молекулу C5 и расщепляет ее на C5a и C5b. Меньший фрагмент C5a отсоединяется, а больший, C5b, остается в составе комплекса. Фактически с этого момента

заканчиваются связанные с проявлением ферментативной активности этапы активации комплемента и начинается завершающий этап – формирование атакующего мембрану комплекса (рис. 137).

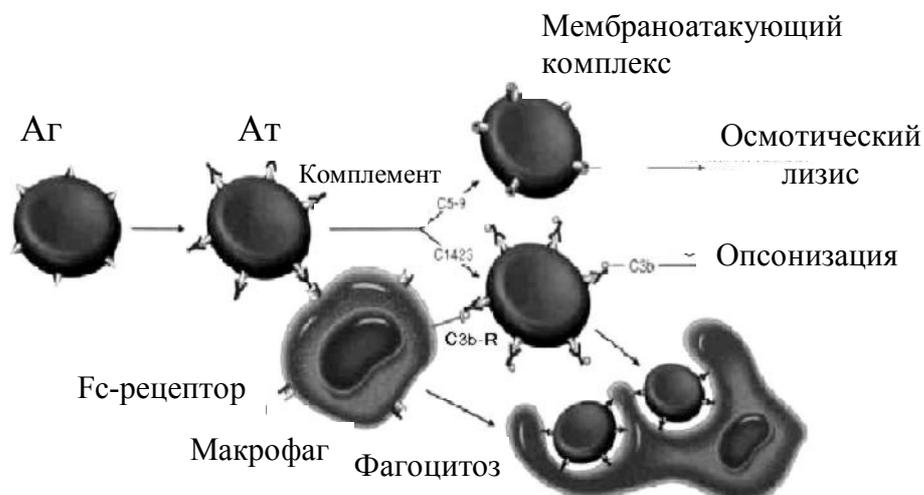


Рис. 137. Формирование атакующего мембрану комплекса

Образовавшаяся молекула C5b обладает ярко выраженным сродством к следующей молекуле системы комплемента – белку C6, благодаря чему C6 также присоединяется к мембране. Сочетание C5bC6 представляет собой рецептор для молекулы C7, которая имеет в своем составе гидрофобный участок. Благодаря наличию такого участка присоединившаяся молекула C7 прочно закрепляет комплекс на поверхности мембраны и, кроме того, делает возможным присоединение к нему белка C8. Этот белок имеет еще более протяженный, чем у C7, гидрофобный домен, что позволяет ему насквозь пронизывать мембрану чужеродной клетки, так что уже на этом этапе возможно образование в мембране узких, диаметром до 3 нанометров, пор, через которые в клетку начинают нерегулируемо проникать низкомолекулярные соединения и ионы. Наличие в составе комплекса белка C8 обеспечивает присоединение нескольких молекул C9, которые формируют более широкую, 8–12 нанометров в диаметре, пору. Фактически из молекул C9 собираются полые цилиндры, прочно удерживающиеся в мембране благодаря гидрофобности своей наружной поверхности и обеспечивающие направленный внутрь клетки мощный поток молекул воды и растворенных в ней ионов за счет гидрофильности внутренней поверхности цилиндра. В этом и заключается механизм литического действия системы комплемента.

Ключевым соединением альтернативного пути активации является белок C3. Небольшая часть молекул этого белка может переходить в активное состояние C3i. Если молекула C3i оказывается рядом с фактором В и здесь же присутствуют ионы Mg^{2+} , то молекулы объеди-

няются ковалентно. Возникшее сочетание молекул является субстратом для фактора D. Эта протеиназа отщепляет небольшой фрагмент Ва от фактора В, придавая тем самым возникшему комплексу C3iVb ферментативную активность. Субстратом для такого первоначально образующегося фермента является нативный белок C3, поэтому он и получил название жидкофазной C3-конвертазы альтернативного пути активации. Под действием этого фермента, работающего так же, как и C3-конвертаза классического пути, появляются молекулы C3а и C3b. Если рядом находится чужеродная поверхность, то C3b-молекулы взаимодействуют с ней. Тем самым запускается активация по альтернативному пути.

Фиксированные на поверхности чужеродной клетки молекулы C3b присоединяют фактор В, а тот, будучи фиксированным, подвергается атаке фактора D, благодаря чему появляется твердофазная C3-конвертаза альтернативного пути – C3bVb, которая может легко превратиться в C5-конвертазу, для чего достаточно присоединения к ней еще одной молекулы C3b. Комплекс (C3b)₂Vb является нестабильным и легко диссоциирует. Стабилизация комплекса осуществляется за счет присоединения еще одного белка альтернативного пути активации – фактора Р, известного также как пропердин. Сформировавшийся комплекс (C3b)₂VbP далее воздействует на белок C5. Все дальнейшие события, т.е. образование атакующего мембрану комплекса и лизис чужеродной клетки, происходят в той же последовательности, что и после активации по классическому пути (рис. 138).

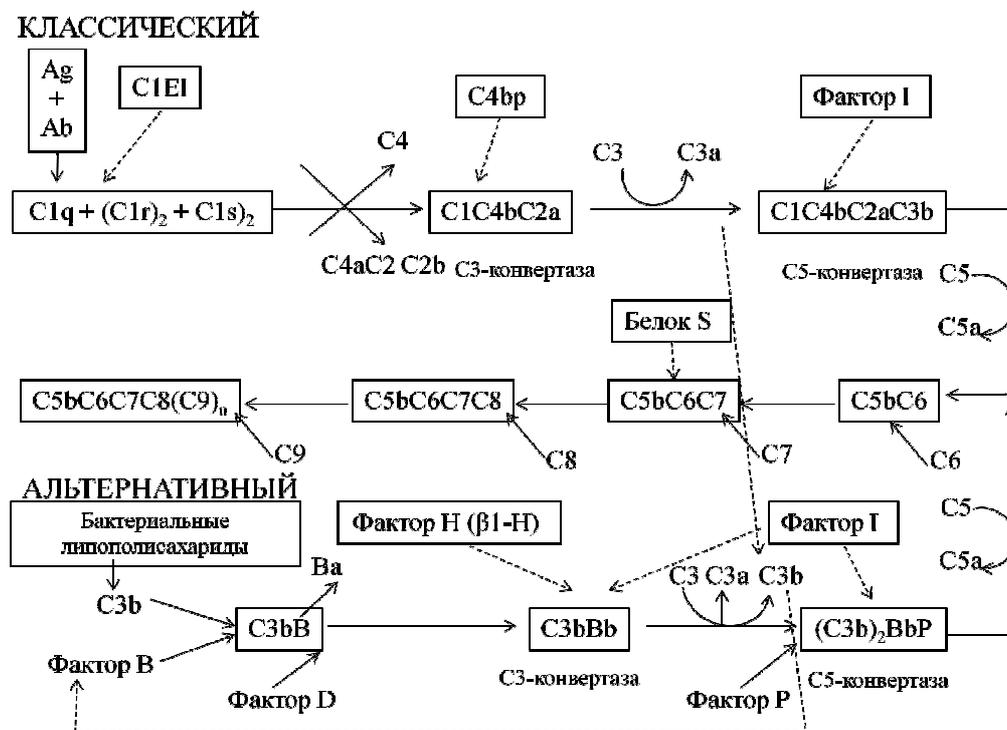


Рис. 138. Схема путей активации системы комплемента

10.6.4. Активация врожденного иммунитета

Клетки врожденного иммунитета способны активироваться в ответ на воздействие множества разнородных агентов. Концепция врожденного иммунитета включает два главных положения:

1) врожденный иммунитет базируется на специфическом распознавании не конкретных антигенов, а так называемых образов патогенности;

2) реакции приобретенного иммунитета (иммунный ответ) запускаются только на базе уже активированного врожденного иммунитета и дополняют его действие специфическим ответом только на конкретный антиген.

Активация врожденного иммунитета формируется при взаимодействии специальных рецепторов с различными, но имеющими общие черты строения молекулами, которые есть у большинства патогенных микроорганизмов и отсутствуют в организмах высших животных. Такие молекулы Чарльз Джейнуэй и предложил рассматривать как условные образы патогенности (PAMP). Эти рецепторы называют PRR (сокращение от английского Pathogen-recognizing receptors – рецепторы, распознающие патоген).

Некоторые такие рецепторы получили название толл-подобных (от английского Toll-like receptors, сокращенно – TLR). Название происходит от сходства этой группы рецепторов на лейкоцитах человека с толл-рецепторами клеток плодовой мушки дрозофилы, от которых зависит правильное распределение клеток насекомого в период эмбрионального развития. У млекопитающих имеется 13 разновидностей TLR, представляющих собой гомо- (TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8, TLR9) или гетеродимеры (TLR1, TLR2, TLR6, TLR10), которые имеют большое количество остатков лейцина во внеклеточных доменах, предназначенных для связывания с PAMP. Содержащие лейцин последовательности состоят из 24–29 аминокислотных остатков и имеют обязательный участок ххLxLxL, где L – лейцин, х – остатки любых других аминокислот, из-за чего эти домены получили название LRR-доменов (от англ. Leucine-rich repeats). Толл-подобные рецепторы располагаются как на наружной поверхности клеток, так и в мембранах лизосом фагоцитирующих клеток (рис. 139).

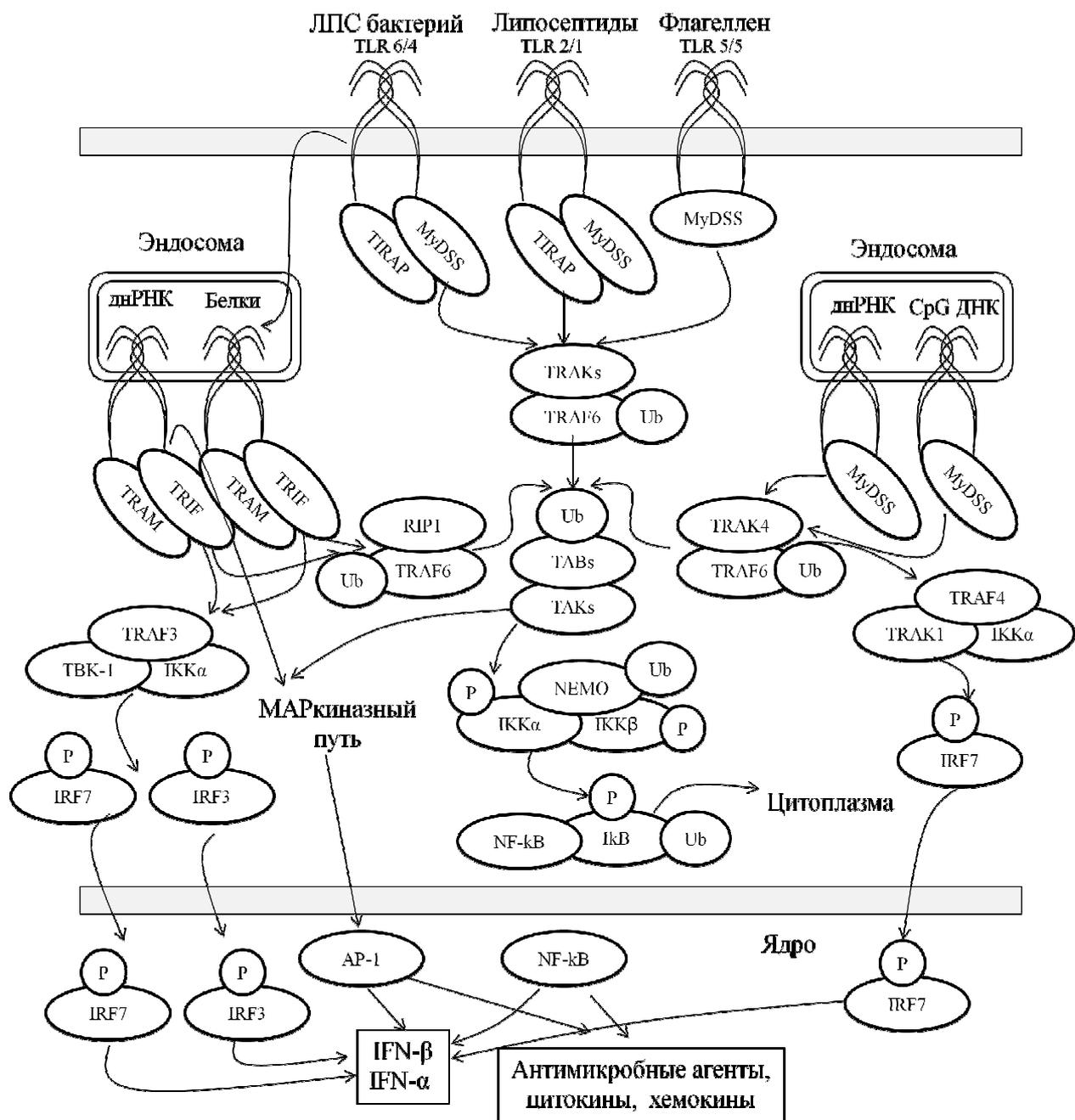


Рис. 139. Механизм работы TLR

Кроме TLR к патогенраспознающим рецепторам (PRR) относятся также С-лектиновые рецепторы – белки, способные связываться с определенными последовательностями углеводных остатков, присутствующими в различных сложных по составу молекулах. В настоящее время с ними связывают также активацию клеток на продукцию цитокинов (рис. 140).

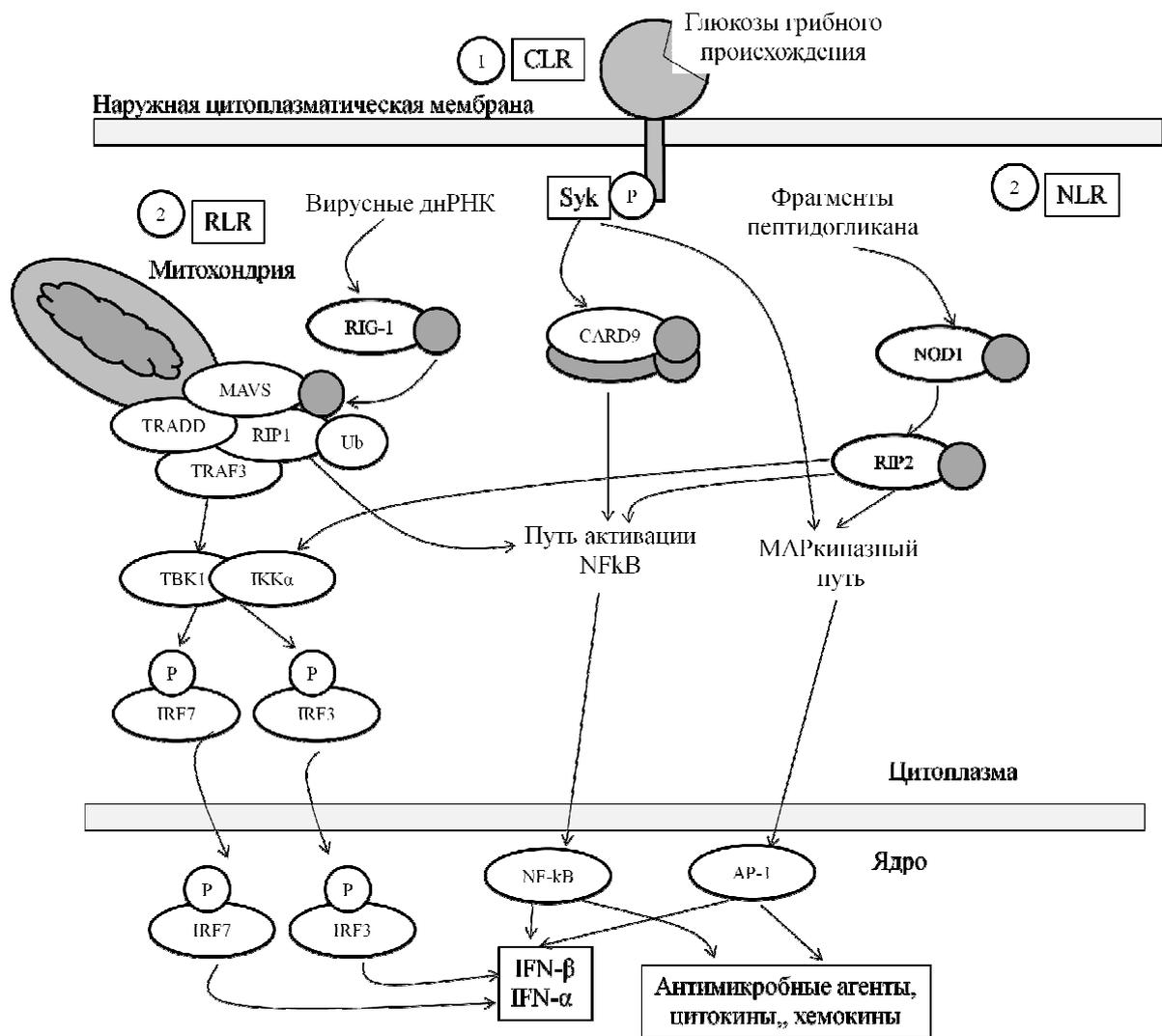


Рис. 140. Механизм работы С-лектиновых рецепторов

Помимо мембрансвязанных PRR описаны и локализованные в цитоплазме клетки, из-за чего их называют также растворимыми PRR. К таковым относят рецепторы семейства RLRs (от английского *Retinoic acid-inducible gene-I-like receptors*) и рецепторы семейства NLRs (от английского *nucleotide oligomerization domain-like receptors*). Первая группа способна запускать внутриклеточные сигнальные пути, приводящие в конечном итоге к продукции интерферонов и цитокинов. Вторая группа рецепторов запускает стандартные сигнальные пути, ведущие к активации транскрипции генов врожденного иммунитета.

По современным представлениям клетки первой линии защиты переходят в активное состояние, улавливая с помощью специальных рецепторов сигналы опасности. Это не только активирует их непосредственно на выполнение защитных функций, например на фагоцитоз, но и обеспечит образование этими клетками молекул – так называемых провоспалительных цитокинов (интерлейкинов), сигнали-

зирующих остальным клеткам об имеющейся в организме опасности. Такого рода сигналы также хорошо воспринимаются клетками первой линии защиты, поскольку у них для этого имеются специальные рецепторы. В самом широком смысле интерлейкины являются основным «средством общения» клеток иммунной системы. Благодаря им лейкоциты целенаправленно перемещаются в организме, поддерживаются в организме в нужном количестве и состоянии, переходят в активированную форму в нужное время и в нужном месте (рис. 141).

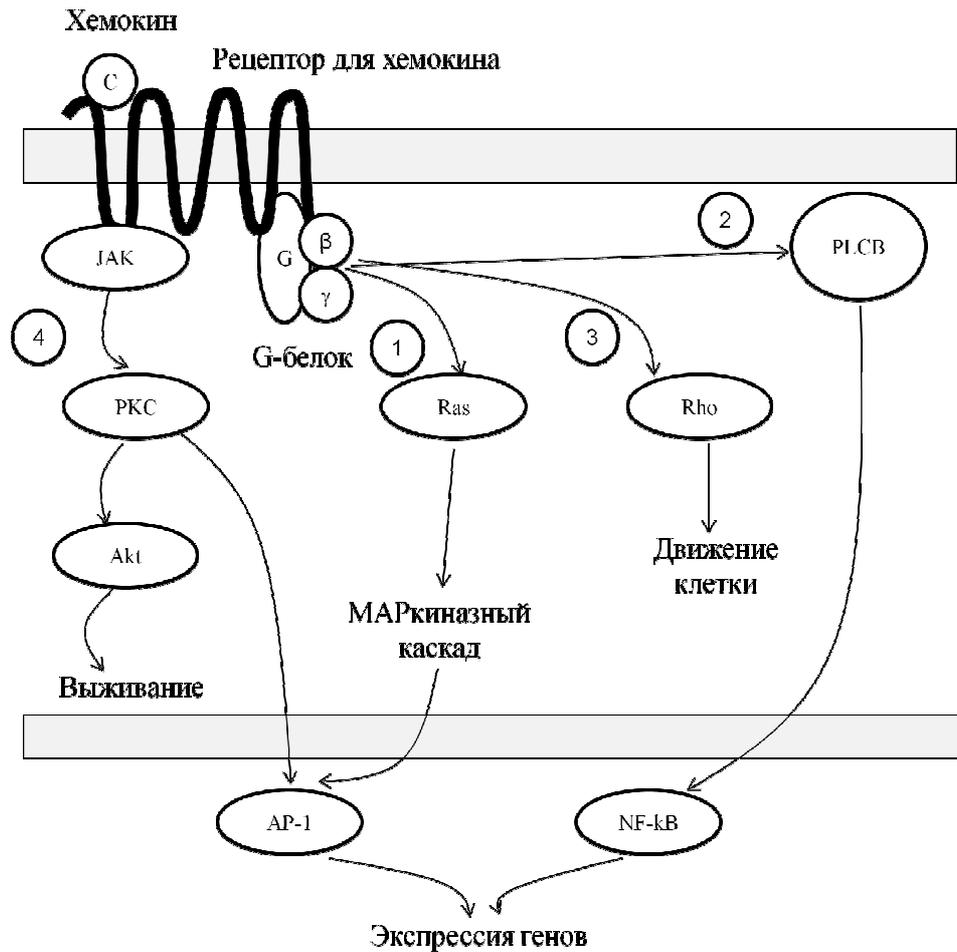


Рис. 141. Механизм работы рецепторов интерлейкинов (хемокинов)

Еще одним важным провоспалительным интерлейкином (цитокином) является фактор некроза опухоли. Присоединяясь к соответствующим рецепторам на различных клетках, ФНО стимулирует происходящие в ходе воспаления изменения. В частности, в клетках эндотелия кровеносных сосудов усиливается синтез молекул адгезии, что влечет за собой более эффективный выход фагоцитирующих клеток в очаг воспаления (рис. 142).

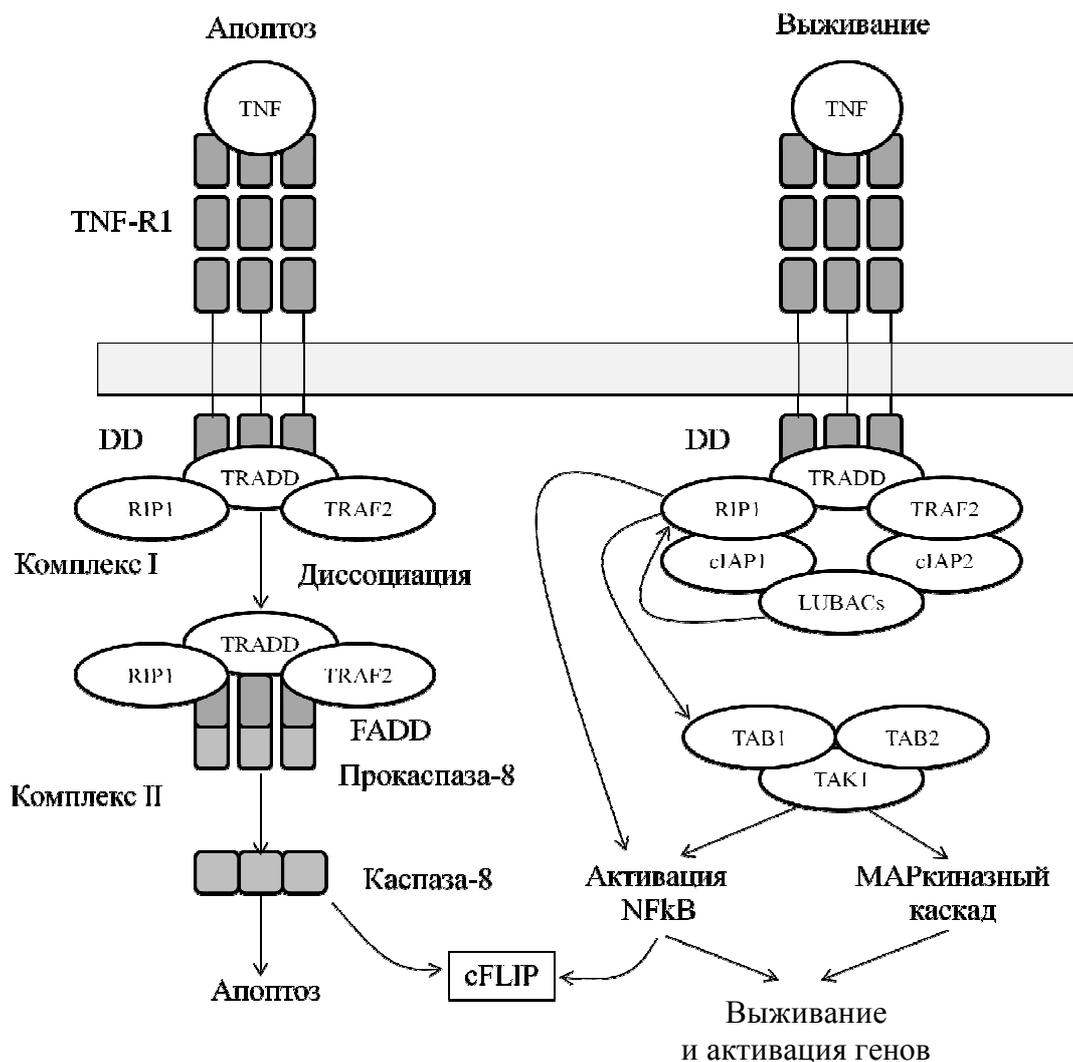


Рис. 142. Механизм работы рецепторов ФНО

Следующая группа влияющих на функционирование врожденных факторов защиты молекул – это интерфероны. По характеру действия на клетки их разделяют на три семейства (или типа). Активация интерферонами различных клеток приводит к развитию в них механизмов ограничения репродукции вирусов. Один из таких механизмов – это индукция образования 2'5'-олигонуклеотид-синтетазы. Появляющиеся в результате действия этого фермента 2'5'-олигонуклеотиды связываются с неактивной формой РНКазы L, которая, став активной, расщепляет одноцепочечную вирусную РНК. Второй механизм связан синтезом в клетке протеинкиназы R, серин-треониновой киназы, которая активируется при взаимодействии с двунитевой вирусной РНК и фосфорилирует эукариотический фактор инициации трансляции 2α. Третий путь противовирусной защиты заключается в образовании специфических белков Мх, которые связываются с белками транскрипционных комплексов, блокируя тем самым транскрипцию вирусных РНК (рис. 143).

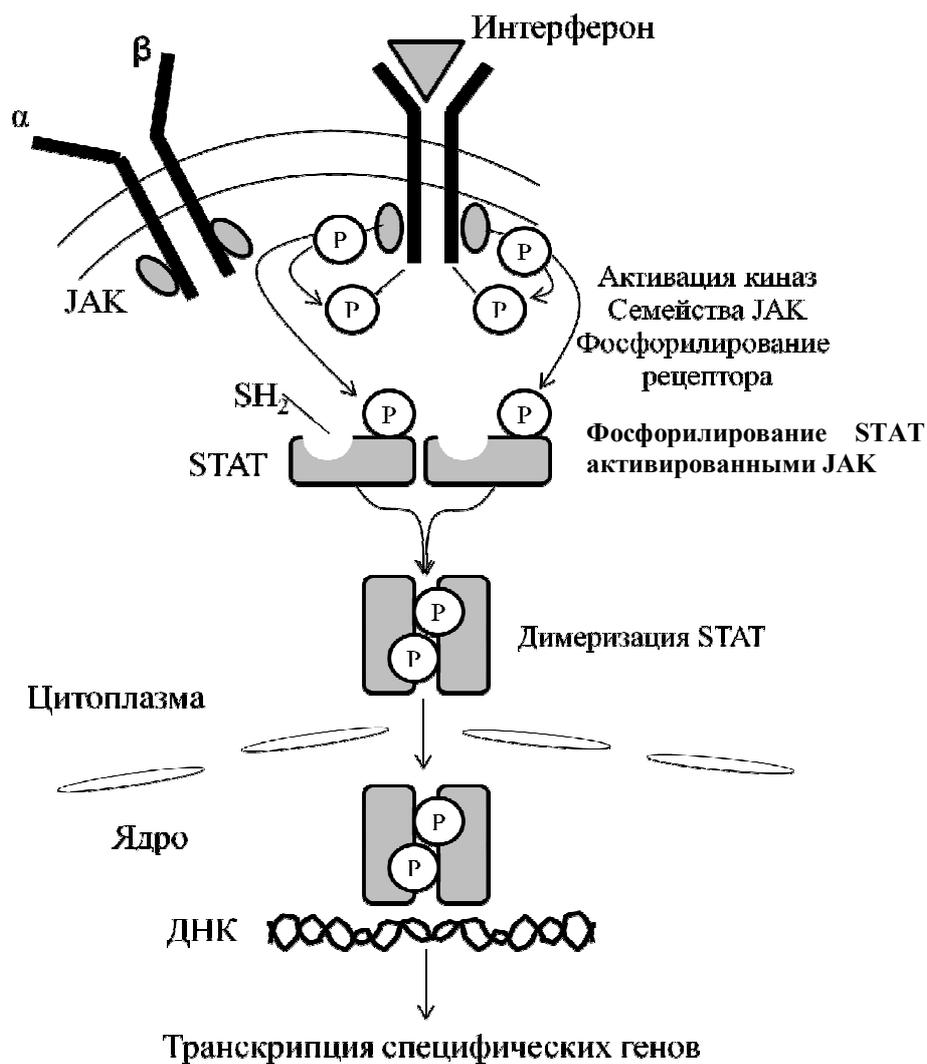


Рис. 143. Механизм работы рецепторов интерферонов

Только те клетки, у которых имеются рецепторы для определенного вещества, будут на них реагировать. Однако в зависимости от условий состояние и количество таких рецепторов изменяется. Более того, сигнал, воспринимаемый через один и тот же рецептор, приводит иногда прямо к противоположным эффектам. Таким образом, изучение путей передачи сигналов от рецепторов внутри клетки в последние десятилетия является одной из важнейших задач современной иммунологии. Под передачей сигналов внутри клетки в этом контексте понимаются процессы, приводящие к экспрессии определенных генов, продукты которых и определяют конечный эффект воздействия того или иного фактора. В общем смысле путь передачи подобных сигналов представляет собой цепь поэтапного взаимодействия молекул, конечным итогом которого является появление белков, определяющих транскрипцию конкретных генов. Обобщенная схема нескольких подобных путей выглядит следующим образом (рис. 144).

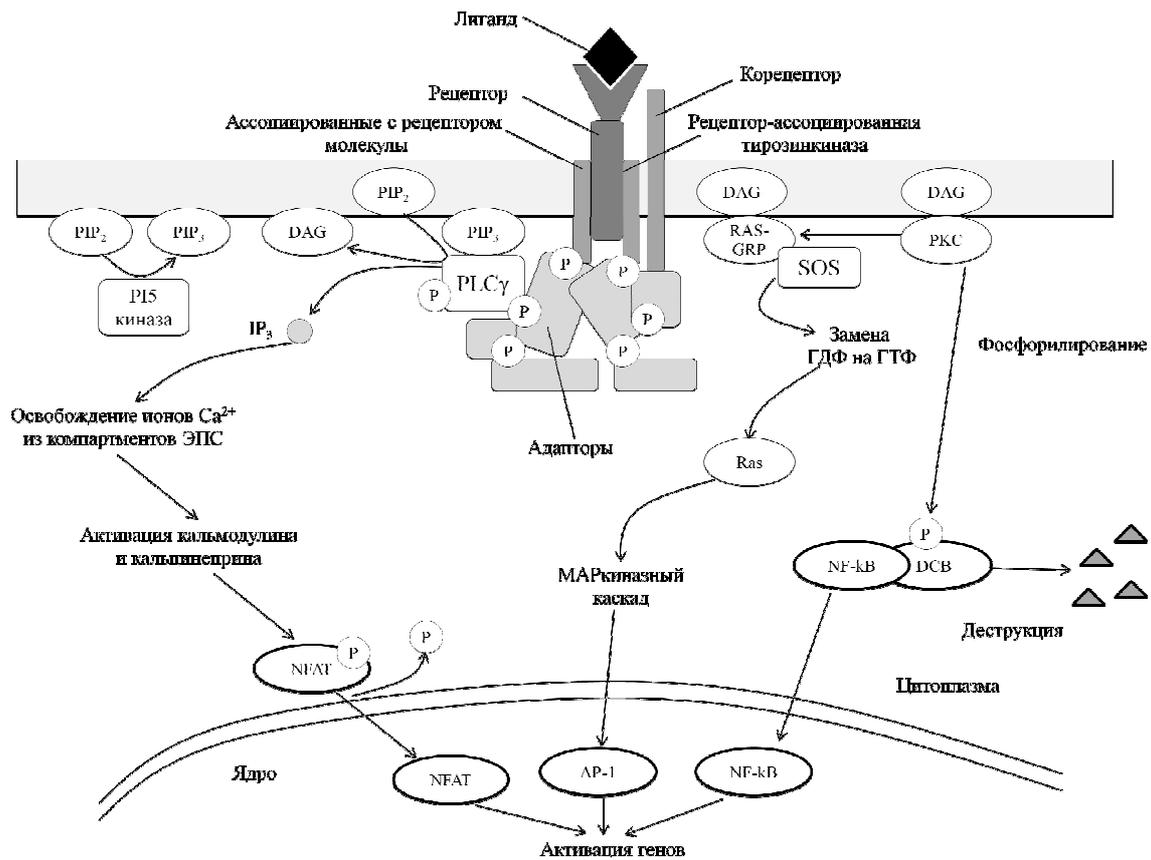


Рис. 144. Схема реализации сигнальных путей активации врожденного иммунитета

Находящиеся на наружной поверхности клетки те или иные специфические рецепторы предназначены для взаимодействия с конкретными веществами. Достаточно часто у таких рецепторов в их цитоплазматической части имеются домены, предназначенные для активации первых участников внутриклеточных сигнальных путей. Если же рецепторный белок не имеет таких доменов, рядом с ним располагаются молекулы ассоциированных с рецепторами белков, внутриклеточные части которых могут запускать активацию.

Многие сигнальные пути начинаются с фосфорилирования остатков тирозина в определенных молекулах, для чего используются соответствующие ферменты, называемые тирозинкиназами. В роли такого фермента может выступать либо сам белок-рецептор (тогда в его цитоплазматической части должен быть соответствующий домен), либо один из адаптерных белков, закрепленных в мембране с цитоплазматической стороны. Помимо фосфорилирования тирозиновых остатков в белках в ходе реализации сигнальных путей используется также фосфорилирование остатков серина и треонина. Соответствующие этим реакциям ферменты называются серин-треониновыми киназами. Кроме фосфорилирования белков важным для проведения определенных

сигналов является и фосфорилирование фосфолипидов. Специальный фермент фосфатидилинозитол-3-киназа в ходе восприятия клеткой рецепторного сигнала может превращать фосфатидилинозитол-бифосфат (PIP₂) в фосфатидилинозитол-трифосфат (PIP₃). При этом PIP₃ остается в составе мембраны и служит для прикрепления к ней с цитоплазматической стороны ряда белков, важных для дальнейшей передачи сигнала. Это обеспечивает некоторым адаптерным белкам возможности взаимодействия с изменившимися белками рецепторного комплекса и, более того, способствует переводу их в активное состояние. PIP₂ определяет и еще один путь реализации сигнала. Для этого нужен фермент фосфолипаза C. Она отщепляет от PIP₃ трифосфатинозитол (IP₃), а остающийся при этом в мембране DAG связывает, в свою очередь, некоторые адаптерные белки и тем самым способствует их активации.

Свободный IP₃ диффундирует в цитоплазму и взаимодействует со специальными рецепторами на поверхности мембран ЭПС, что приводит к выходу из этих участков ЭПС хранящихся там ионов Ca²⁺. Эти ионы переводят в активное состояние Ca²⁺-зависимые белки, в частности кальмодулин, который связывает и активирует различные цитоплазматические белки.

Для понимания процесса дальнейшей передачи сигналов необходимо упомянуть и о таком веществе, как убиквитин. Это небольшой (включающий 76 аминокислотных остатков) белок, который используется клетками как специфическая метка для белков, которые уже выполнили свои функции в клетке и должны быть расщеплены протеазами на аминокислоты. Если к белку присоединяется много молекул убиквитина, то убиквитин может в таком положении полимеризоваться, и тогда полиубиквитинированный белок подвергается расщеплению протеазами.

Все три описанных выше явления (фосфорилирование белков киназами, освобождение ионов кальция, убиквитинирование) являются первыми подготовительными этапами передачи сигнала дальше. Выделяют несколько вариантов дальнейшей передачи сигнала:

1. Кальцийзависимый. Кальмодулин, присоединив к себе четыре Ca²⁺-иона, связывает белок с фосфатазной активностью кальциневрин. Эта фосфатаза в норме находится в цитоплазме в неактивном состоянии, но после связывания с кальмодулином активируется и дефосфорилирует также до этого неактивный белок NFAT (ядерный фактор активированных T-клеток).

2. Ras-путь. Начинается с активации Ras-белка, который представляет собой ГТФ-связывающий белок (G-белок). При соединении Ras-белка с DAG в мембране он связывает еще один адаптерный белок в этом пути, который называется Son of Sevenless (SOS). Именно этот белок быстро переводит Ras-ГДФ в Ras-ГТФ, который и активирует первую из серин-треониновых киназ (MAP-киназа) в сигнальном пути. Это приводит к

появлению MAP-каскадов активированных киназ, способных влиять на образование определенных факторов транскрипции в ядре клетки.

3. Сигналомный путь. Протеинкиназа С-тэта (PKC θ) фосфорилирует адаптерный белок Carma1, который связывается с белком Bcl10, а это дает возможность присоединения белка MALT1. Образовавшееся сочетание CARMA1/Bcl10/MALT1 (CBM) называют сигналомной, т.е. тельцем, специально формирующимся для дальнейшей передачи сигнала. Суть этой передачи состоит в связывании убиквитинлигазы TRAF6, которая частично активирует и полиубиквитинирует киназный комплекс ИКК. В этом случае присоединение полиубиквитина служит сигналом для расщепления ингибитора протеазами, что в конечном итоге и приводит к появлению свободного фактора транскрипции NF κ B, который может проникать в ядро и активировать транскрипцию.

10.6.5. Развитие ответа на тимусзависимые антигены. Формирование белков главного комплекса гистосовместимости

Сведения о том, что в организме переболевших определенной болезнью людей появляются отсутствовавшие до болезни специфические белки, так называемые антитела, были получены еще в конце XIX века. Но первые сведения о том, какие именно клетки продуцируют эти молекулы, удалось получить только во второй половине XX века. Первые предположения о роли находящихся в кровотоке клеток были высказаны в 1950 году А. Фаргеусом, а первое подтверждение таких предположений датируется 1954 годом. Исследования *in vivo*, проведенные в конце 50-х – начале 60-х годов, подтвердили роль лимфоцитов в продукции антител. Выяснилось, что лимфоциты, в формировании которых участвует тимус (так называемые Т-клетки), синтезировать антитела не способны, тогда как основной функцией В-лимфоцитов как раз и является продукция иммуноглобулинов. Однако для того чтобы В-клетки могли осуществлять такой синтез, им необходим контакт с Т-лимфоцитами. Наглядно это было продемонстрировано в ряде работ конца 60-х годов. Подтверждением причастности макрофагов к развитию ответа на антиген стали эксперименты, в которых к утратившим пролиферативный ответ на антиген суспензиям Т- и В-клеток добавляли суспензию макрофагов, и это восстанавливало способность к пролиферации. Более детальные исследования роли макрофагов в этих процессах не только подтвердили их иницирующую роль, но и позволили описать механизм их участия в формировании иммунного ответа.

Полученные сведения легли в основу ныне общепринятой схемы трехкооперативного клеточного взаимодействия в ходе развития иммунного ответа на тимусзависимые антигены. Согласно этой схеме в отвечающем на проникновение антигена организме происходит:

1) восприятие и переработка заключенной в антигене информации дендритными клетками или клетками макрофагальной системы;

2) передача этой информации клеткам лимфоцитарной системы, а именно Т-лимфоцитам-помощникам (Т-хелперам);

3) активация воспринявших информацию Т-хелперов и их пролиферация;

4) передача информации об антигене третьей группе иммунокомпетентных клеток (либо специализированным макрофагам – так называемый клеточный тип иммунного ответа, реализуемый Т-хелперами подтипа 1, либо В-лимфоцитам – тип иммунного ответа, приводящий к продукции специфических по отношению к вызвавшему иммунный ответ антигену антител и реализующийся за счет Т-хелперов подтипа 2);

5) активация воспринявших информацию клеток третьей группы и либо уничтожение активированными макрофагами собственных клеток, измененных воздействием антигена (иммунный ответ клеточного типа), либо образование активированными В-лимфоцитами множества специфически взаимодействующих с вызвавшим иммунный ответ антигеном антител (иммунный ответ антителопродуцирующего типа).

Начальные этапы взаимодействия макрофага с антигенами практически не отличаются от обычного фагоцитоза, но после образования фagosомы происходит не уничтожение поглощенного антигена, а ферментативное разделение его на небольшие фрагменты. Для этого с образовавшейся фagosомой объединяются специфические лизосомы, содержащие гидролитические ферменты, преимущественно так называемые кислые (действующие при низких значениях pH) протеазы.

В это же время в клетке (в определенных участках эндо-плазматической сети) происходит формирование белков главного комплекса гистосовместимости класса II (ГКГС II). По этим молекулам клетки иммунной системы узнают друг друга. Белки ГКГС II состоят из двух полипептидных цепей α и β с молекулярными массами 33 и 28 кДа. Каждая из цепей имеет небольшой (15–25 аминокислотных остатков) цитоплазматический участок, трансмембранный домен (30 аминокислотных остатков) и внеклеточный регион, представленный двумя доменами по 90 аминокислотных остатков каждый.

Цепи закрепляются на мембране ЭПС таким образом, чтобы между их внеклеточными областями формировалась так называемая щель для связывания антигенного пептида. При отсутствии фрагментов чужеродных пептидов эта щель заполняется специальным белком с молекулярной

массой около 35 кДа, который называется инвариантной цепью. Предполагается, что такое заполнение антигенсвязывающей щели защищает формирующийся комплекс от случайного попадания в него собственных пептидов клетки, присутствующих в этом же участке цитоплазматической сети. Другой конец инвариантной цепи имеет трансмембранный участок и выходящий с противоположной стороны мембраны фрагмент. Считается, что эти обращенные в цитоплазму фрагменты инвариантных цепей способствуют образованию специфических мембранных везикул.

Если антигенпредставляющая клетка осуществляет фагоцитоз или пиноцитоз, то реализуется так называемый процессинг экзогенных антигенов (рис. 145, правая часть). В этом случае идущие от поверхности клетки сигналы определяют такое движение содержащих ГКГС II везикул, при котором они сливаются с лизосомами, содержащими кислые протеазы (так называют протеазы, активные при низких значениях pH). После этого осуществляется слияние мембранной везикулы с наружной цитоплазматической мембраной, причем таким образом, чтобы белки ГКГС II со встроенными чужеродными пептидами оказались на поверхности клетки. С этого момента клетка действительно становится способной представлять антиген другим иммунокомпетентным клеткам.

От описанной выше схемы отличается процессинг чужеродных антигенов, проникших в клетку без формирования фаголизосомы, например антигенов вирусов (рис. 145, левая часть). В этом случае чужеродные антигены находятся непосредственно в цитозоле, и для расщепления их на фрагменты используются протеосомы. Установлено, что в активированных образцами патогенности или цитокинами антигенпредставляющих клетках формируются варианты протеосом, отличающиеся от обычных протеосом клетки. Они называются иммунопротеосомами и отличаются повышенной способностью расщеплять белки на короткие пептиды.

Попавший в иммунопротеосому чужеродный антиген гидролитически фрагментируется, и образующиеся фрагменты связываются со специальными белками TAP-1 и TAP-2. Эти закрепленные в мембранах ЭПС белки, действуя совместно, обеспечивают перемещение фрагментов внутрь тех участков ЭПС, в которых происходит сборка молекул главного комплекса гистосовместимости класса I (ГКГС I).

Молекула ГКГС I также состоит из двух белковых цепей α и β , однако, в отличие от ГКГС II, в мембране закрепляется только α -цепь, а β -цепь не имеет трансмембранного и цитоплазматического доменов и нековалентно присоединяется к α -цепи после закрепления последней в мембране. α -цепь белка ГКГС I (молекулярная масса – 45 кДа) имеет три внеклеточных домена по 90 аминокислотных остатков каждый,

трансмембранный домен протяженностью 25 аминокислотных остатков и цитоплазматический – 30 аминокислотных остатков. β -цепь значительно легче (12 кДа) и короче. Фактически она соответствует по размерам и расположению в молекуле ГКГС II второму домену β -цепи – β_2 -домену, поэтому β -цепь в молекуле ГКГС I гораздо чаще называют β_2 -микροглобулином. Щель для присоединения фрагментов чужеродного антигена в такой молекуле находится не между двумя цепями, а между доменами α_1 и α_2 .

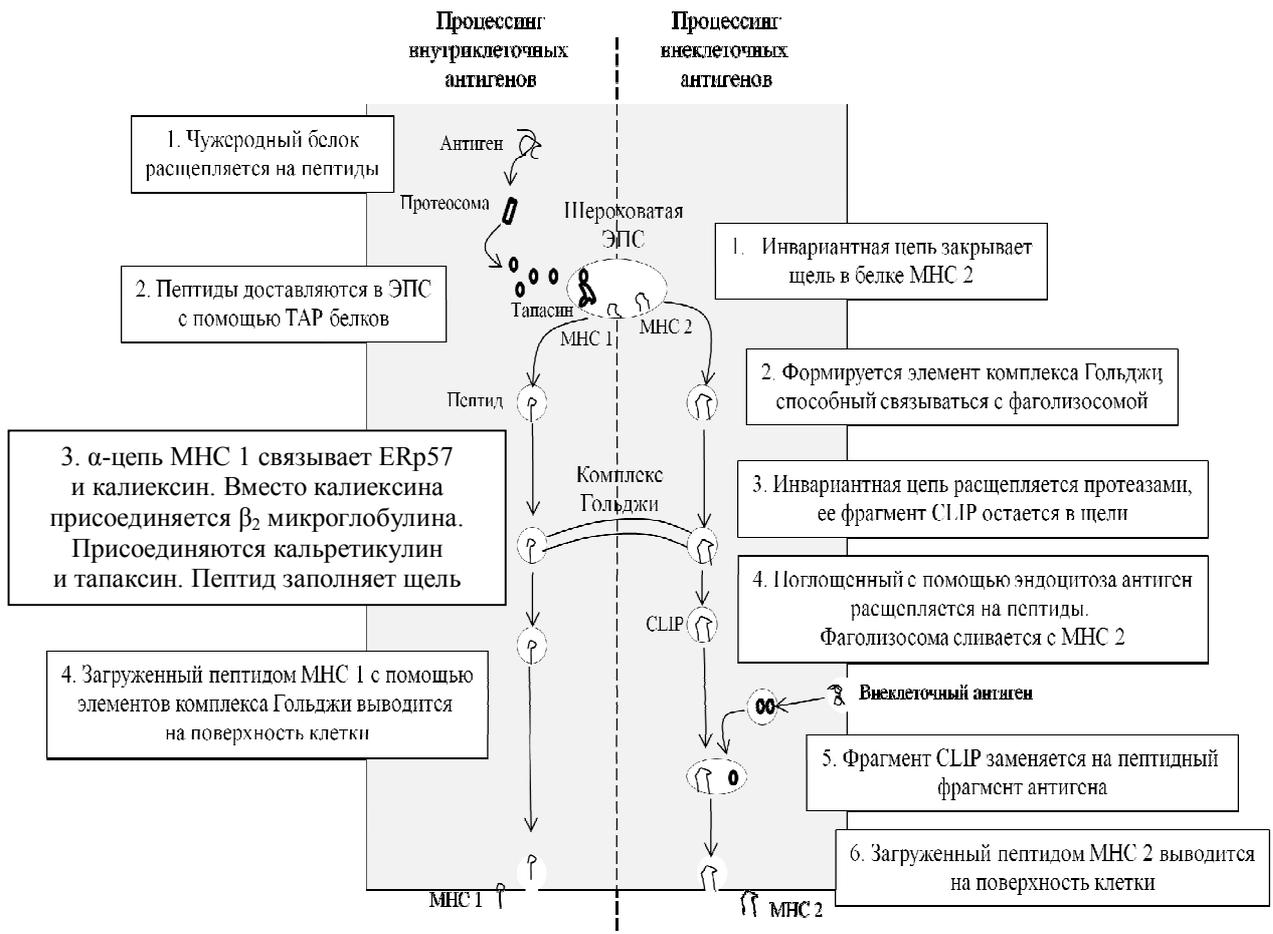


Рис. 145. Схема процессинга антигенов