МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«АМУРСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»

«УТВЕРЖДАЮ»
Председатель
Координационного совета
по области образования
«Здравоохранение
и медицинские науки»,
ректор П.В. Глыбочко
21.09.2017

В.И. Павленко, И.Ю. Саяпина

КЛЕТКИ И ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Учебное пособие

Благовещенск 2018

УДК 612.017.1 616 -053

Рецензенты:

Б.Я. Рыжавский, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гистологии и биологии ФГБОУ ВО ДВГМУ Минздрава России

А.У. Саибитов, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней и клинической иммунологии, проректор по дополнительному образованию и подготовке ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России.

И.П. Кольцов, к.м.н., доцент, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО ДВГМУ Минздрава России

Авторы:

В.И. Павленко, д.м.н., профессор кафедры факультетской и поликлинической терапии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России

И.Ю. Саяпина, д.б.н., профессор кафедры гистологии и биологии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России

Клетки и органы иммунной системы: учебное пособие - Благовещенск, 2017, 124с.

В учебном пособии отражены современные взгляды на строение и функцию органов и клеток иммунной системы. В первой главе дана подробная характеристика первичных и вторичных органов иммунной системы, указаны их возрастные особенности. Вторая глава содержит сведения о феноменологии и механизмах врожденного и адаптивного иммунитета. Подробно рассмотрены клеточное звено врожденного иммунитета, субпопуляции и дифференцировка Т- и В-лимфоцитов, промежуточных клеток, их биологическая и иммунологическая функции, возрастные и гендерные особенности. Представлена клиническая значимость отклонений основных субпопуляций Т и В-лимфоцитов от нормативных показателей в диагностике инфекционных, аллергических, аутоиммунных, опухолевых заболеваний. Иллюстрированный материал способствует прочному усвоению изложенного материала.

Учебное пособие предназначено для студентов, обучающихся по основным профессиональным образовательным программам высшего образования – программам специалитета по специальностям: Лечебное дело, Педиатрия.

©Павленко В.И.

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений……. 4
Введение…… 6
1. Органы иммунной системы……. 8

©Саяпина И.Ю.
©Амурская государственная медицинская академия, 2018

1.1. Красный костный мозг…… 9
1.2. Тимус……. 12
1.3. Лимфатические узлы…… 16
1.4. Селезенка……... 20
1.5. Рециркуляция лимфоцитов…….. 22
Тестовые задания……. 23
2. Клетки иммунной системы……. 25
2.1. Клетки врожденного иммунитета……... 26
2.1.1. Рецепторы системы врожденного иммунитета……... 27
2.1.2. Уничтожение патогенов клетками врожденного иммунитета. Фагоцитоз……. 30
2.1.3. Полиморфно-ядерные лейкоциты…… 32
2.1.3.1. Нейтрофилы…… 32
2.1.3.2. Эозинофилы…… 41
2.1.3.3. Базофилы……. 44
2.1.4. Тучные клетки…… 45
2.1.5. Моноциты и макрофаги……. 51
2.1.6. Дендритные клетки…… 55
2.1.7. NK-клетки……... 59
Тестовые задания……. 63
2.2. Клетки адаптивного иммунитета…… 65
2.2.1. Общая характеристика лимфоцитов……. 65
2.2.2. В-лимфоциты…….. 68
2.2.3. Т-лимфоциты…….. 82
Тестовые задания……. 94
2.3. Роль промежуточных клеток в иммунном ответе 97
2.3.1. NKT- лимфоциты…… 97
2.3.2. γδТ- лимфоциты……... 102
2.3.3. В-1- лимфоциты……... 109
2.3.4. В-лимфоциты маргинальной зоны……. 114
Тестовые задания……. 118
Ответы к тестовому заданию…….. 120
Рекомендуемая литература……. 120

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

BALT – лимфоидная ткань бронхов (от англ. Bronchus Associated Lymphoid Tissue)
BCR – антиген-распознающий рецептор В-лимфоцитов (от англ. B-Cell Receptor)
CSF – колониестимулирующий фактор (Colony Stimulated Factor)
FcεR – Fc-рецептор к Fc-фрагменту IgE
FcγR – Fc-рецептор к Fc-фрагменту IgG
FcR – Fc-рецептор к Fc-фрагменту молекулы иммуноглобулина
GALT – лимфоидная ткань кишечника (Gut Associated Lymphoid Tissue)
GM-CSF –колониестимулирующий фактор гранулоцитов и моноцитов (Granulocyte-Monocyte Colony Stimulated Factor)
G-CSF – колониестимулирующий фактор гранулоцитов (Granulocyte Colony Stimulated Factor)
M-CSF – колониестимулирующий фактор моноцитов (Monocyte Colony Stimulated Factor)
LPS – липополисахарид (Lipopolisaccharide)
Ig – иммуноглобулин (от англ. Immunoglobulin)
Ig A (M, G, E, D) – иммуноглобулин класса A (M, G, E, D)
KIR – Ig-подобный рецептор натуральных киллеров (Killer Immunoglobulin-Like Receptor)
PRR – паттерн-распознающие рецепторы (Pattern Recognition Receptors)
NLR – NOD-подобные рецепторы (NOD-like receptors)
RLR – RIG-подобные рецепторы (RIG-like receptors).
TLR – Toll-подобные рецепторы (Toll-Like Receptor)
SR – рецепторы-мусорщики (Scavenger Receptors)
MALT – лимфоидная ткань слизистых оболочек (Mucosa Associated Lymphoid Tissue)
MBP – главный основный белок (Major Basic Protein)
Молекулы MHC I – молекулы главного комплекса гистосовместимости I класса (Major Histocompatibility Complex)
Молекулы MHC II – молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса (Major Histocompatibility Complex)
TNF – фактор некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor)
TGF – трансформирующий фактор роста (Transforming Growth Factor)

Th2 – Т-хелпер 2 типа (T-helper)
Th1 – Т-хелпер 1 типа (T-helper)
Th0 – Т-хелпер 0 типа (T-helper)
IFN – интерферон
IL - интерлейкин
TCR – антиген-распознающий рецептор Т-лимфоцитов (от англ. T-Cell Receptor)
NK – натуральный киллер (Natural Killer)
CD – дифференцировочные маркеры (Cluster Differentiation)
HEV – (High Endothelium Venulae)
АГ – антиген
АЗКЦ – антителозависимая клеточная цитотоксичность
АПК – антигенпрезентирующая клетка
АТ – антитело
ИЛ – интерлейкин
ИФН – интерферон
АТ– антитела
СКК– стволовая клетка крови

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе иммунология прочно вошла в каждую врачебную специальность и требует достаточно большого объема новых знаний, которые необходимы для понимания механизмов регуляции иммунного ответа в норме и при патологии.

Система иммунитета имеет две основные ветви, что отражает ее эволюционную историю. Она включает древний компонент – врожденный иммунитет, и более позднее филогенетическое приобретение – адаптивный иммунитет. Функционирование врожденного иммунитета основано на распознавании образов патогенности – чужеродных молекул, экспрессируемых возбудителями инфекций, и уничтожении их носителей с помощью комплекса реакций, из которых наиболее важен фагоцитоз. В рамках врожденного иммунитета сформировался дополнительный механизм ответа на эндогенные сигналы опасности, служащий основой защиты от трансформированных (опухолевых) клеток. Адаптивный иммунитет основан на индивидуальном распознавании антигенов – макромолекул, обычно чужеродных, но не обязательно связанных с патогенами. Это придает адаптивным иммунным процессам высокую избирательность, но создает риск развития аутоиммунного повреждения. Для запуска адаптивного иммунитета необходима активация врожденного иммунитета, поскольку адаптивный иммунитет практически не располагает собственными эффекторными механизмами, но, используя эффекторные механизмы врожденного иммунитета, придает им большую избирательность и повышает их эффективность. Главное преимущество адаптивного иммунитета перед врожденным – формирование иммунологической памяти, резко повышающей эффективность иммунной защиты при повторной встрече с антигеном и фактически предотвращающей при этом развитие заболевания.

Возникновение адаптивного иммунитета эволюционно сопряжено с формированием специализированных органов иммунной защиты – лимфоидных органов. Это обусловлено тем, что лимфоидные клетки нуждаются при выполнении своих функций в межклеточных контактах. Лимфоидные органы разделяют на первичные (центральные) и вторичные

(периферические). Однако это деление условно, так как в ряде случаев в одном и том же органе происходят оба процесса.

Бурное развитие фундаментальной иммунологии, основанное на достижении молекулярной биологии и генной инженерии, позволило выявить пути иммунопатогенеза аллергических, аутоиммунных, онкологических и инфекционных заболеваний. Учитывая стремительный темп развития иммунологии, ее многочисленные пересечения со смежными фундаментальными научными дисциплинами, возникла необходимость систематизировать современные знания об органах и клетках иммунной системы.

Настоящее учебное пособие освещает современные иммунологические взгляды на строение первичных и вторичных органов иммунной системы, а также на феноменологию и механизмы врожденного и адаптивного иммунитета. Особое внимание уделено возрастным и гендерным особенностям, клиническому значению отклонений от нормативных показателей основных субпопуляций Т- и В-лимфоцитов в диагностике патологических состояний. Задача учебного пособия – познакомить студентов с классическими представлениями об основах современной иммунологии, с акцентом на клеточные и молекулярные механизмы врождённого и адаптивного иммунитета, и их компонентов. Пособие не предусматривает углубления в область клинической иммунологии.

Представленный многочисленный иллюстративный материал способствует более доступному восприятию сложных и многоступенчатых механизмов функционирования иммунной системы, что очень важно для правильного истолкования ее изменений при патологиях и разработке путей ее коррекции.

Глава 1. ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Возникновение адаптивного иммунитета эволюционно сопряжено с формированием специализированных органов иммунной защиты. В большинстве органов иммунной защиты функционально ведущей тканью является лимфоидная ткань (совокупность лимфоцитов), поэтому эти органы называются лимфоидными.

В связи с выполняемыми функциями органы иммунной системы разделяются на первичные (центральные) и вторичные (периферические). Существует два первичных органа иммунной системы – это красный костный мозг, в котором происходит образование функционально зрелых В-лимфоцитов, и тимус, в котором образуются функционально зрелые Т-лимфоциты (рис. 1). Необходимым условием для созревания иммунокомпетентных клеток в первичных органах иммунной системы является отсутствие их контакта с антигеном (АГ). Биологическая сущность антигеннезависимой пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов заключается в формировании на поверхности клеток АГ-распознающих рецепторов, благодаря которым клетки будут способны распознавать определенные АГ.

Для прохождения антигензависимой пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоциты из первичных органов мигрируют во вторичные лимфоидные органы. Встреча с АГ вызывает пролиферацию лимфоцитов, в результате которой образуются клоны клеток, специфичных к данному АГ, после чего начинается дифференцировка лимфоцитов в эффекторные клетки и клетки памяти.

К вторичным лимфоидным органам относятся селезенка и лимфатические узлы (рис. 1), а также миндалины (парные небные и трубные, непарные глоточная и язычная), пейеровы бляшки в тонком кишечнике и червеобразный отросток, представляющие собой агрегаты лимфоидных фолликулов. Кроме того, в слизистых оболочках пищеварительного, респираторного, мочеполового трактов и коже имеются одиночные лимфоидные фолликулы и диффузно расположенные лимфоциты. В связи с этим, выделяют лимфоидную ткань, ассоциированную с кожей (skin-associated lymphoid tissue – SALT), и лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистыми оболочками (mucosa-

associated lymphoid tissue – MALT). Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками, разделяется на лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником (gut-associated lymphoid tissue – GALT) и лимфоидную ткань, связанную с бронхами (bronchus-associated lymphoid tissue – BALT), и другие виды лимфоидной ткани.

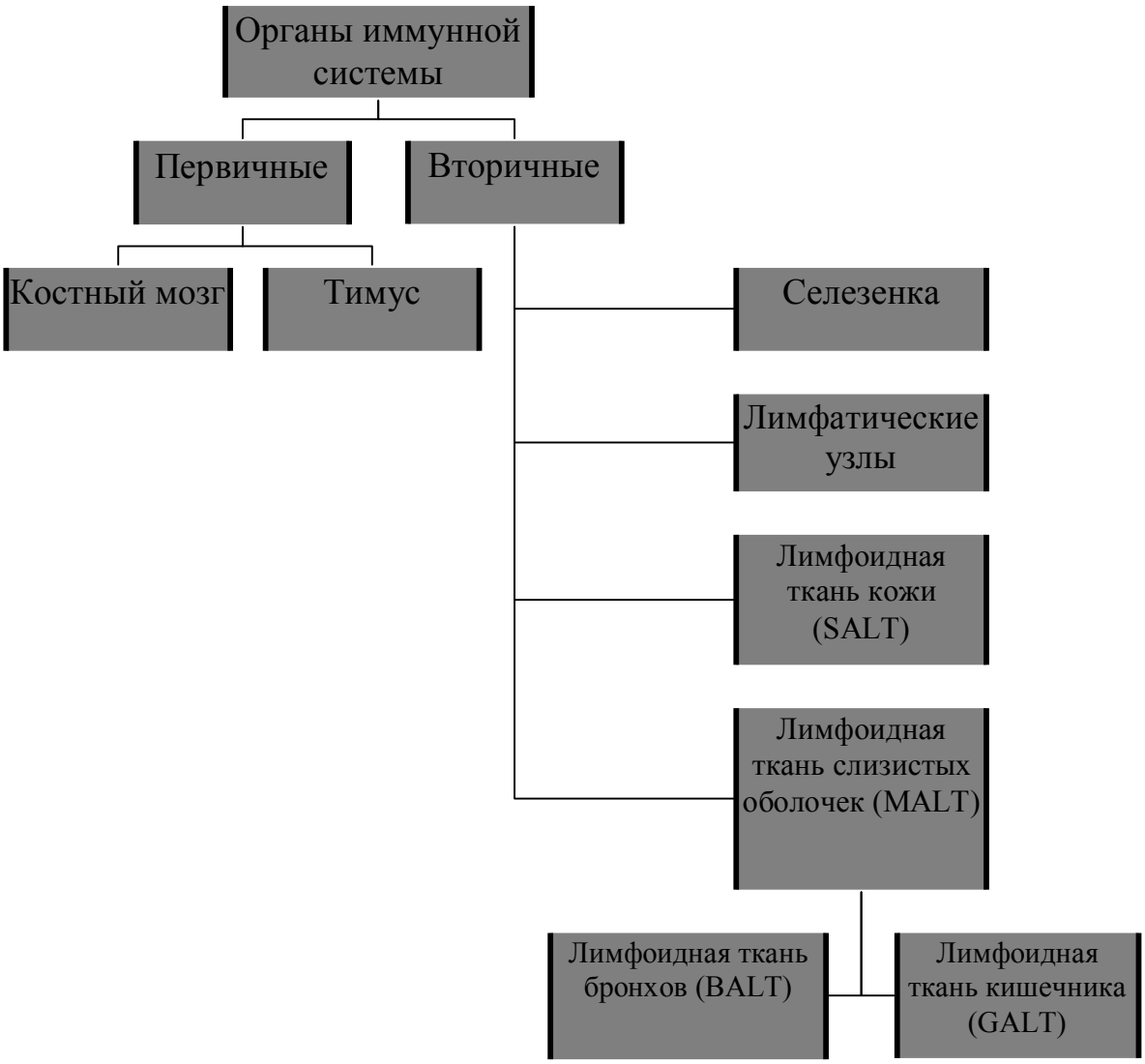


Рис. 1. Органы иммунной системы (схема)

1.1. Костный мозг

Костный мозг – первичный орган иммунной системы. Наряду с иммуногенезом в красном костном мозге осуществляется миелоидное кроветворение, в связи с этим он не является истинно лимфоидным органом.

У взрослого человека красный костный мозг локализуется в эпифизах трубчатых костей и в плоских костях (лопатки, грудина, позвонки, кости черепа), имеет темно-красный цвет и полужидкую консистенцию. В красном костном мозге выделяют три компонента:
1) гемопоэтический; 2) стромальный; 3) сосудистый (рис.2).

Гемопоэтический компонент представлен кроветворными клетками на разных стадиях дифференцировки. В его состав входят стволовые кроветворные клетки, мультипотентные клетки-предшественники миело- и лимфопоэза, олигопотентные клетки-предшественники эритроцитов, мегакариоцитов, гранулоцитов, моноцитов, Т- и В-лимфоцитов, а также созревающие форменные элементы крови на разных стадиях дифференцировки.

Стромальный компонент представлен ретикулярными клетками и

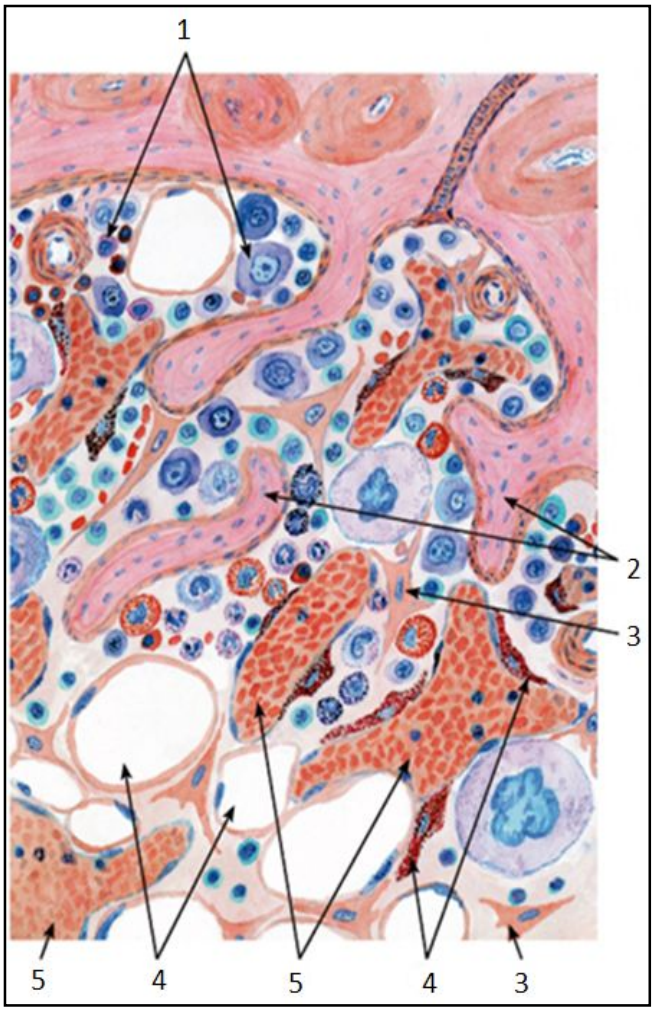


Рис. 2. Красный костный мозг[1]:
1 – гемопоэтический компонент (гемопоэтические клетки);
2 – костные трабекулы;
3 – стромальный компонент (ретикулярные клетки);
4 – макрофаги костного мозга;
5 – сосудистый компонент (венозные синусы);
6 – жировые клетки.

[1] Быков В.Л., Юшканцева С.И. Гистология, цитология и эмбриология. Атлас. М:ГЭОТАР-Медиа, 2013. 296с.

ретикулярными волокнами, адипоцитами (клетками жировой ткани), остеогенными клетками и макрофагами костного мозга.

Клетки стромального компонента создают специфическое микроокружение для развивающихся форменных элементов крови, участвуют в регуляции их пролиферации и дифференцировки.

Сосудистый компонент представлен обычными кровеносными сосудами и особыми тонкостенными сосудами – венозными синусами диаметром 50-75 мкм. Стенки венозных синусов образованы эндотелиальными клетками, которые при помощи мембранных рецепторов определяют степень зрелости гемопоэтических клеток. Благодаря этому в просвет венозных синусов попадают только зрелые форменные элементы, либо клетки на конечной стадии дифференцировки, которые в течение нескольких дней «дозревают» в просвете венозного синуса.

Роль костного мозга, как первичного органа иммунной системы, заключается в образовании из стволовой кроветворной клетки предшественников Т-лимфоцитов, которые в последующем заселяются в тимус, и образовании функционально зрелых В-лимфоцитов. Первоначально из стволовых кроветворных клеток образуются клетки-предшественники В-лимфоцитов, которые приступают к антиген-независимой пролиферации и дифференцировки в В-лимфоциты. Лимфоциты составляют 20% клеток красного костного мозга, из них 3/4 это В-лимфоциты.

Дифференцировка В-лимфоцитов в костном мозге сопровождается реаранжировкой генома, в результате чего на мембране клеток образуются иммуноглобулиновые рецепторы, или BCR (от англ. B-Cell Receptor), способные распознавать АГ. Необходимо отметить, что большая часть В-лимфоцитов (около 75%), образовавшихся в костном мозге, погибает там же путем апоптоза в ходе отбора, включающего положительную селекцию (выживание клеток с нужными рецепторами) и отрицательную селекцию (гибель клеток с рецепторами к собственным АГ). В-лимфоциты, погибающие путем апоптоза, поглощаются макрофагами красного костного мозга. Созревшие В-лимфоциты выходят в просвет венозных синусов, с током крови покидают костный мозг и заселяются во вторичные органы иммунной системы, где происходит их встреча с АГ.

Возрастные изменения. У новорожденных детей красным костным мозгом заполнены все полости губчатого вещества в плоских и трубчатых костях. В постнатальном онтогенезе происходит постепенная замена красного костного мозга на желтый костный мозг, состоящий из жировой ткани. Процесс замены начинается с диафизов трубчатых костей. Желтый костный мозг в диафизах впервые появляется у детей в возрасте 4-5 лет, его количество нарастает к 12-16 годам, и уже к 18 годам он полностью заполняет диафизы трубчатых костей. В позвонках, ключице, ребрах и грудине красный костный мозг сохраняется дольше, чем в других костях. В 50 лет красный и желтый костный мозг находятся в равновесных объемах, после 50 лет начинает преобладать желтый костный мозг. В старческом возрасте костный мозг приобретает слизистую консистенцию, такой мозг называют желатинозным костным мозгом.

1.2. Тимус

Тимус представляет собой первичный орган иммунной системы, в котором происходит антигеннезависимая пролиферация и дифференцировка Т-лимфоцитов из клеток-предшественников (протимоцитов), заселяющихся с током крови из красного костного мозга.

Строение. Снаружи тимус покрыт фиброзной капсулой, от которой вглубь органа отходят перегородки, разделяющие его на дольки (рис. 3). Строма долек образована эпителиальными клетками с отростками (эпителиоретикулоцитами), а паренхима представлена Т-лимфоцитами на разных стадиях дифференцировки (тимоцитами).

В каждой дольке тимуса есть корковое и мозговое вещество. Корковое вещество располагается на периферии долек, оно густо заселено тимоцитами разной степени зрелости. Кроме тимоцитов и эпителиоретикулоцитов в корковом веществе присутствует небольшое количество макрофагов, участвующих в удалении тимоцитов, погибающих апоптозом.

Мозговое вещество располагается в центре долек, оно более светлое, так как содержит небольшое количество тимоцитов. В мозговом веществе также присутствуют макрофаги и дендритные клетки (рис. 3).

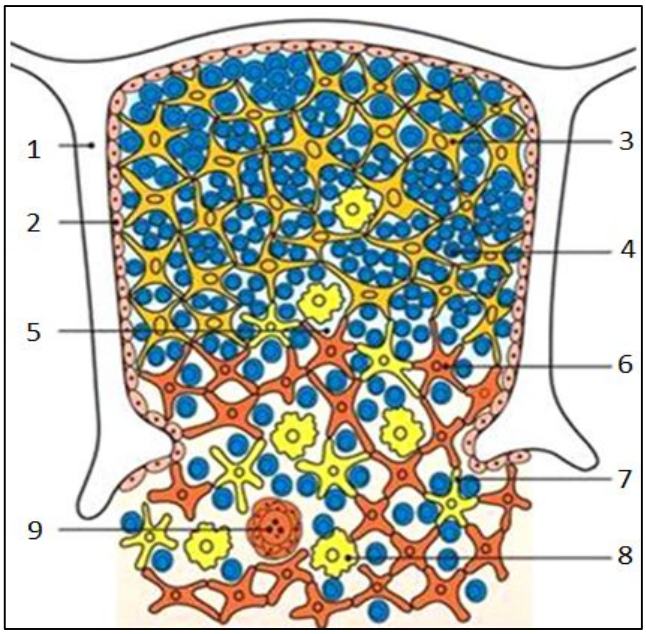


Рис. 3. Долька тимуса[2]:
1 – трабекула;
2 – субкапсулярные эпителиоретикулоциты;
3 – кортикальные эпителиоретикулоциты;
4 – тимоциты;
5 – кортико-медуллярная зона;
6 – мозговые эпителиоретикулоциты;
7 – дендритные клетки;
8 – макрофаги;
9 – тельца Гассаля.

Важную роль по созданию микроокружения для созревающих тимоцитов играют клетки стромы – эпителиоретикулоциты. Все эпителиоретикулоциты имеют на своей поверхности молекулы главного комплекса гистосовместимости I и II класса (молекулы МНС I и II, от англ. Major Histocompatibility Complex).

В корковом веществе выделяют субкапсулярные эпителиоретикулоциты, периваскулярные эпителиоретикулоциты, участвующие в формировании гемато-тимического барьера, и клетки-няньки, в цитоплазме которых происходит созревание тимоцитов.

Эпителиоретикулоциты мозгового вещества вместе с дендритными клетками костномозгового происхождения участвуют в отрицательной селекции тимоцитов. Эпителиоретикулоциты образуют слоистые тельца Гассаля, локализованные в мозговом веществе (рис. 3).

Дифференцировка Т-лимфоцитов. Клетки-предшественники Т-лимфоцитов (протимоциты) заселяются в корковое вещество долек из костного мозга через стенку кровеносных сосудов кортико-медуллярной зоны, откуда мигрируют в субкапсулярную зону.

---

[2]Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Иммунология. Атлас. М : ГЭОТАР-Медиа, 2011. р. 624 с.

В субкапсулярной зоне из протимоцитов образуются тимоциты, которые под влиянием тимических гормонов (тимозина и тимопоэтина) активно пролиферируют и приступают к дальнейшей дифференцировке. По мере созревания тимоциты перемещаются в более глубокие зоны коры, где за счет реаранжировки генома у них формируются специфические рецепторы Т-клеток для распознавания АГ, или TCR (от англ. T-Cell Receptor).

Следующий важный этап созревания корковых тимоцитов – экспрессия молекул корецепторов CD4 и CD8, после которого они становятся дважды позитивными Т-клетками. Дважды позитивные Т-клетки проходят тимическую селекцию, состоящую из двух фаз: первая фаза – положительная селекция, вторая фаза – отрицательная селекция.

В фазу положительной селекции тимоциты взаимодействуют с молекулами МНС I и II класса на поверхности корковых эпителиоретикулоцитов, что играет важную роль в обучении клеток распознавать «свое» и «чужое». Тимоциты, TCR которых не смогли распознать молекулы МНС I или II класса, погибают апоптозом и разрушаются макрофагами. Тимоциты, прошедшие положительную селекцию, перемещаются в мозговое вещество, где взаимодействуют с молекулами МНС I и II класса на поверхности дендритных клеток.

В результате отрицательной тимической селекции формируются мозговые тимоциты, или монопозитивные Т-клетки, у которых сохраняется экспрессия одного из корецепторов – либо CD4 либо CD8.

Аутореактивные Т-клетки в фазу отрицательной селекции погибают путем апоптоза и уничтожаются макрофагами. 90-95% тимоцитов не проходят тимическую селекцию и погибают в тимусе. Т-клетки, прошедшие тимическую селекцию (5-10%), являются функционально зрелыми, они покидают тимус через кровеносные сосуды кортико-медуллярной зоны, и с током крови заселяются в периферические органы иммунной системы.

Процесс созревания Т-лимфоцитов в корковом веществе долек происходит в условиях, предохраняющих клетки от избыточной антигенной нагрузки.

Такие условия обеспечиваются отсутствием контакта тимоцитов с кровеносными капиллярами. Кровеносные сосуды, расположенные в корковом веществе, отделены от созревающих тимоцитов гемато-тимическим барьером (рис. 4).

Основными структурами гемато-тимического барьера являются эндотелий кровеносных капилляров с базальной мембраной, перикапиллярное пространство, заполненное рыхлой соединительной тканью, находящиеся в нем макрофаги, а также периваскулярные эпителиоретикулоциты, расположенные на базальной мембране.

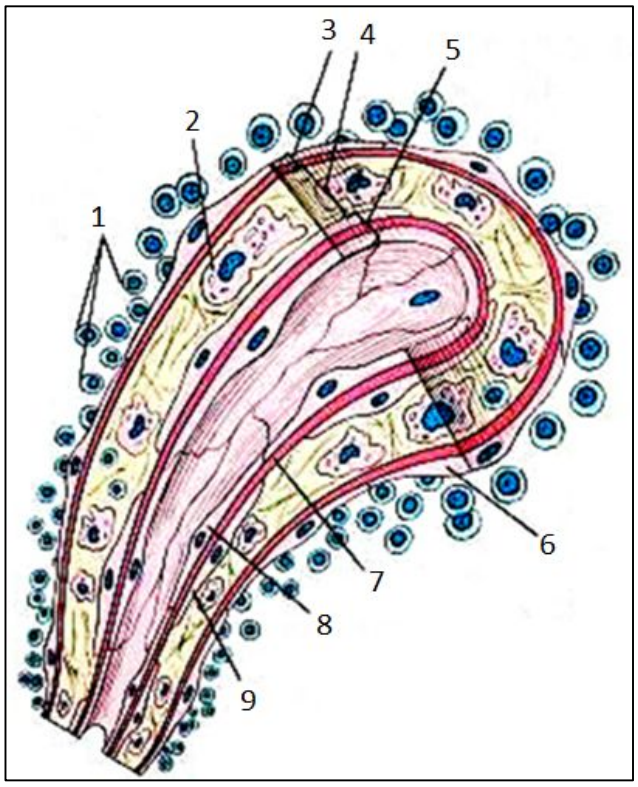


Рис. 4. Гемато-тимический барьер[3]:
1 – тимоциты;
2-5 – барьерные структуры (2 – макрофаг, 3 – эпителиоретикулоциты, 4 – перикапиллярное пространство, 5 – стенка капилляра);
6 – периваскулярный эпителиоретикулоцит;
7 – базальная мембрана;
8 – эндотелиоцит; 9 – перицит.

Возрастные изменения. Через несколько месяцев после рождения тимус приобретает характеристики, свойственные зрелому органу, а его относительный размер достигает максимума. Период максимального функционирования тимуса продолжается до начала полового созревания, когда под влиянием половых гормонов гипофиза запускаются процессы его возрастной инволюции.

---

[3] Ross M.H., Pawlina W./ Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology. 6th . Baltimore: Lippincot Williams&Wilkins, 2011. 977 p.

Возрастная инволюция тимуса идет синхронно с замещением кроветворного костного мозга в диафизах трубчатых костей на желтый костный мозг. В тимусе признаки возрастной инволюции могут обнаруживаться уже с 10-летнего возраста: корковое вещество долек истончается, в нем уменьшается количество тимоцитов, внутри долек разрастается соединительная и жировая ткань. Атрофия коры развивается с 15-летнего возраста, атрофия мозгового вещества – с 25 лет. Если тимус не подвергается возрастной инволюции, сопротивляемость организма к инфекциям резко снижается.

После 40 лет начинается второй этап возрастной инволюции тимуса, который сопровождается снижением функции Т-клеточного звена иммунной системы. В первую очередь возрастной инволюции подвергается эпителиальный компонент тимуса. Снижается секреторная активность эпителиоретикулоцитов, что приводит к угнетению пролиферативной активности тимоцитов, нарушаются процессы дифференцировки клеток, в результате чего происходит обеднение коры тимуса Т-лимфоцитами. Надо отметить, что даже на фоне снижения активности Т-клеточного звена полной атрофии тимуса не происходит до глубокой старости.

1.3. Лимфатические узлы

Лимфатические узлы – это вторичные органы иммунной системы, расположенные по ходу лимфатических сосудов. Лимфатические узлы имеют бобовидную форму: по выпуклой стороне в узел входят приносящие лимфатические сосуды, на противоположной, вогнутой стороне, находятся ворота органа, через которые входят артерии и нервы, выходят вены и выносящий лимфатический сосуд (рис. 5). Общее число лимфатических узлов в организме человека достигает 1000, что составляет около 1% массы тела.

Строение. Снаружи лимфатический узел покрыт фиброзной капсулой, от которой вглубь отходят трабекулы. Строма узла представлена трехмерной сетью ретикулярных клеток и ретикулярных волокон, в петлях которой располагаются макрофаги, дендритные клетки и лимфоидная ткань. В каждом лимфатическом узле можно выделить корковое и мозговое вещество (рис.5).

Корковое вещество состоит из наружной коры, расположенной сразу под капсулой, и глубокой коры, или паракортикальной зоны, лежащей на границе коркового и мозгового вещества. В наружной коре обнаруживаются шаровидные скопления лимфоидной ткани, называемые лимфоидными узелками. Узелки являются **В-зависимой зоной**, в них присутствуют В-лимфоциты, макрофаги и узелковые дендритные клетки. В наружной коре присутствуют первичные и вторичные лимфоидные узелки. **Первичный лимфоидный узелок** имеет округлую форму и небольшие размеры. После стимуляции АГ из первичных узелков развиваются вторичные лимфоидные узелки, имеющие большие размеры.

Вторичный лимфоидный узелок состоит из центра размножения и короны, окружающей центр размножения (рис. 5). Центр размножения – это светлый участок в центре узелка, где происходит пролиферация и дифференцировка антигенспецифичных В-лимфоцитов в плазматические клетки и В-клетки памяти.

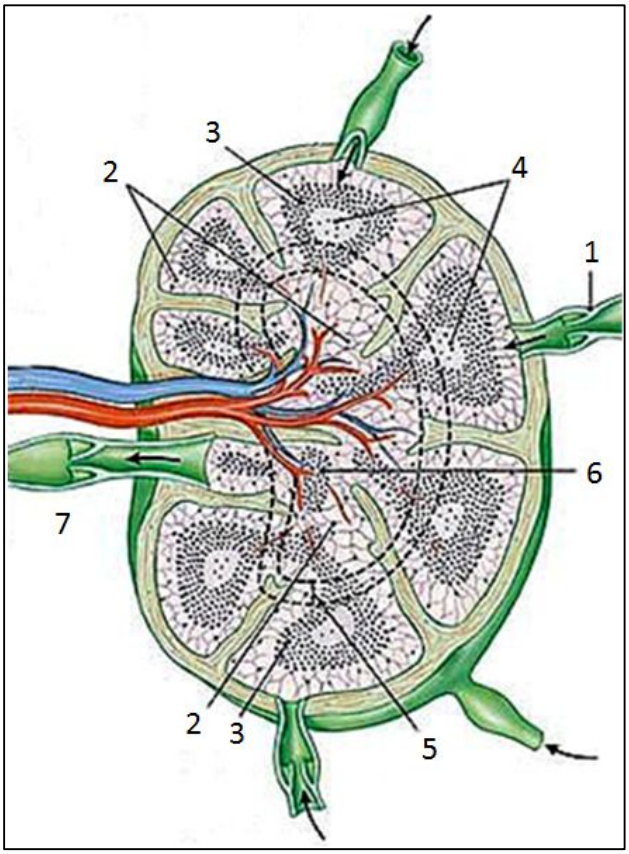


Рис. 5. Лимфатический узел[4]:
1 – приносящий лимфатический сосуд;
2 – лимфатические синусы;
3 – корона вторичных узелков;
4 – центры размножения;
5 – паракортикальная зона;
6 – мозговые тяжи;
7 – выносящий лимфатический сосуд.

Стрелки – пути притока и оттока лимфы.

[4]Bartholomew M.N./ Fundamentals of Anatomy & Physiology. 9th. Pearson Education Inc., 2012. Power Point Lecture Presentations: The Lymphatic system and Immunity. 227 p.

Пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов в плазматические клетки и В-клетки памяти в зародышевых центрах происходит при участии узелковых дендритных клеток (рис. 6). Узелковые дендритные клетки имеют большое ядро, длинные и ветвящиеся отростки. Эти клетки способны длительное время удерживать на своей поверхности АГ и тем самым активировать В-лимфоциты.

Плазматические клетки из центров размножения через глубокую кору мигрируют в мозговые тяжи, расположенные в мозговом веществе.

Антигеннеспецифичные В-лимфоциты, не участвующие в пролиферации, и В-клетки памяти перемещаются в наружную зону узелка, где образуют корону вторичного узелка. Корона имеет форму полумесяца и более темную окраску, широкой стороной она обращена к капсуле лимфатического узла.

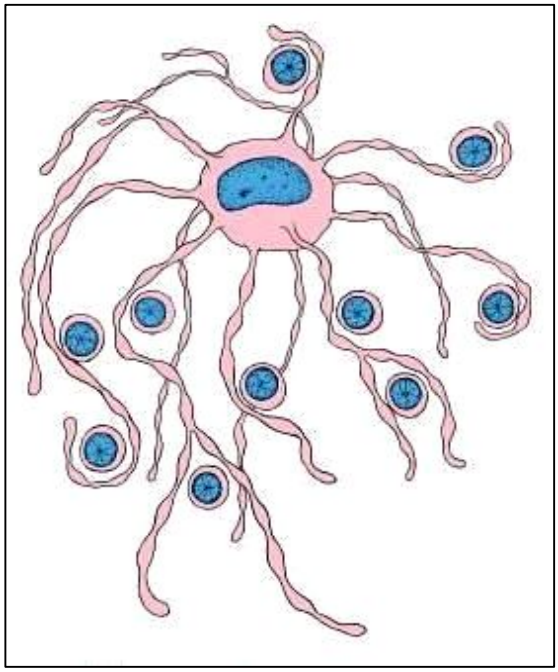


Рис. 6. Узелковая дендритная клетка и пролиферирующие В-лимфоциты[5]

Глубокая кора (паракортикальная зона) – это Т-зависимая зона лимфатического узла (рис. 5). Сюда из тимуса с током крови заселяются зрелые Т-лимфоциты, которые после стимуляции АГ приступают к пролиферации и дифференцировке в эффекторные клетки и Т-клетки памяти. Пролиферация и дифференцировка Т-лимфоцитов происходит при взаимодействии с дендритными клетками (разновидность антигенпрезентирующих клеток – АПК), мигрирующими в лимфатические узлы из кожи и слизистых оболочек. В паракортикальной зоне располагаются венулы с высоким эндотелием, который взаимодействует с хоминг-рецепторами Т- и В-лимфоцитов, обеспечивая их миграцию из сосудистого русла в ткани лимфатического узла.

---

[5] M.H. Ross, W.Pawlina / Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology. 6th . Baltimore : Lippincot Williams&Wilkins, 2011. 977 p.

В мозговом веществе находятся мозговые тяжи, представленные анастомозирующими тяжами лимфоидной ткани, трабекулы из соединительной ткани, и мозговые лимфатические синусы (рис. 5). Мозговые тяжи являются В-зависимой зоной, в них находятся многочисленные плазматические клетки, секретирующие в лимфу антитела. В небольшом количестве в составе мозговых тяжей находятся В-лимфоциты и макрофаги.

Лимфа циркулирует в лимфатических узлах по лимфатическим синусам, представляющим систему внутриорганных лимфатических сосудов в корковом и мозговом веществе, обеспечивающих медленный ток лимфы через узел, в результате чего происходит ее очищение, а также обогащение антителами и лимфоцитами. Из приносящих сосудов лимфа попадает в субкапсулярные (краевые) синусы, расположенные между капсулой узла и узелками. Продолжением субкапсулярных синусов являются межузелковые синусы, расположенные между трабекулами и лимфоидными узелками. Межузелковые синусы переходят в мозговые синусы, которые находятся между трабекулами и мозговыми тяжами. Лимфа из мозговых синусов попадает в выносящий лимфатический сосуд, выходящий из узла в области ворот.

Участие лимфатических узлов в иммунном ответе. Размеры и строение лимфатического узла зависят от наличия АГ, а также от его свойств. После попадания АГ В-лимфоциты, производящие иммуноглобулины (Ig) класса М, появляются в мозговых тяжах спустя 3-4 суток. На 7-10 сутки во вторичных узелках появляются В-лимфоциты, секретирующие Ig других классов (G, A, E). К 14-м суткам мозговые тяжи достигают максимального объема. Зародышевые центры могут существовать во вторичных узелках от нескольких недель до нескольких месяцев.

При повторном попадании АГ В-клетки памяти быстро дифференцируются в плазматические клетки – продуценты антител. При попадании в организм тимуснезависимых АГ вторичные лимфоидные узелки с зародышевыми центрами не образуются. В-клетки размножаются в краевой зоне первичных узелков, продуцируют Ig класса М, В-клетки памяти не образуются.

Возрастные изменения. С возрастом вторичные лимфоидные узелки постепенно исчезают, понижается фагоцитарная активность макрофагов лимфатических узлов, разрастается соединительная ткань трабекул, развивается атрофия узлов и их замещение жировой тканью.

1.4. Селезенка

Селезенка – вторичный орган иммунной системы, расположенный по ходу кровеносных сосудов. В связи с этим селезенка эффективно улавливает АГ, переносимые с кровью. Большая часть Ig класса M и класса G, циркулирующих в крови, вырабатывается плазматическими клетками селезенки.

Строение. Снаружи селезенка покрыта брюшиной и фиброзной капсулой, от которой вглубь органа отходят трабекулы. Между трабекулами находится пульпа селезенки, основу которой составляет ретикулярная ткань. В селезенке различают белую и красную пульпу. Белая пульпа селезенки – это совокупность лимфоидной ткани, на долю которой приходится 25% объема органа. Белая пульпа представлена лимфоидными узелками и периартериолярными лимфоидными муфтами (рис. 7).

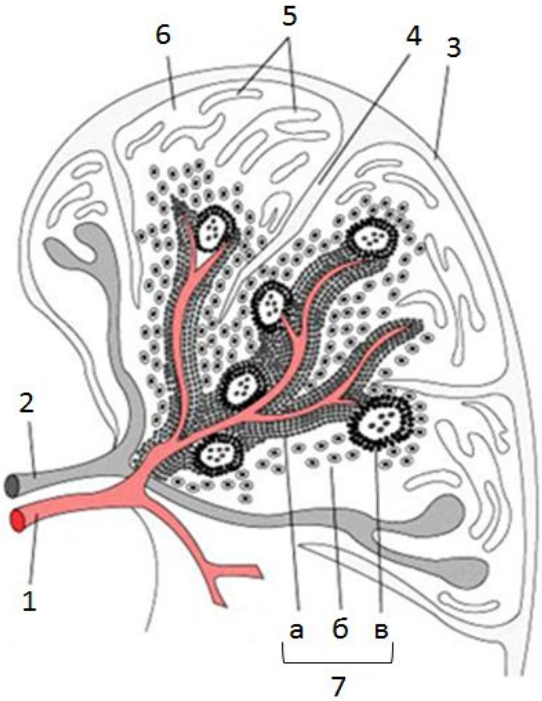


Рис. 7. Селезенка[6]:
1 – артерия; 2 – вена; 3 – фиброзная капсула; 4 – трабекула; 5 – венозные синусы; 6 – красная пульпа;
7 – белая пульпа:
а – периартериальная лимфоидная муфта;
б – периартериальная макрофагальная муфта,;
в – лимфоидный узелок.

[6] Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Иммунология. Атлас. М : ГЭОТАР-Медиа, 2011. р. 624 с.

Лимфоидные узелки селезенки по строению и функции сходны с лимфоидными узелками в лимфатических узлах. Они являются В-зависимой зоной, где происходит антиген-зависимая пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов в В-клетки памяти и плазматические клетки.

Первичные лимфоидные узелки представляют собой округлые структуры, состоящие из малых В-лимфоцитов, прошедших антиген-независимую дифференцировку в красном костном мозге, ретикулярных клеток и узелковых дендритных клеток. Вторичные лимфоидные узелки образуются из первичных узелков только при наличии стимуляции АГ и участии Т-хелперов. Во вторичных узелках формируется центр размножения, где происходит пролиферация В-лимфоцитов, и их дифференцировка в плазматические клетки, и корона, куда выселяются В-клетки памяти и В-лимфоциты, не обладающие специфичностью к данному АГ. **Периартериолярные лимфоидные муфты** окружают центральные артерии сразу после их выхода из трабекул селезенки и являются Т-зависимой зоной. Они состоят из Т-лимфоцитов, макрофагов и интердигитирующих клеток (разновидность АПК). Кнаружи от лимфоидной муфты, на границе белой и красной пульпы располагается **маргинальная зона белой пульпы**, или периартериолярная макрофагальная муфта. В маргинальной зоне наряду с макрофагами обнаруживаются Т- и В-лимфоциты, а также плазматические клетки, направляющиеся в красную пульпу.

Красная пульпа селезенки представлена венозными синусами и пульпарными тяжами. Пульпарные тяжи образованы скоплениями форменных элементов крови, макрофагов и плазматических клеток, лежащих в петлях ретикулярной ткани. Венозные синусы – это тонкостенные сосуды с диаметром до 50 мкм, образующие большую часть красной пульпы.

Участие селезенки в иммунном ответе. Вне зависимости от вида АГ и способа его введения формирование иммунного ответа начинается в маргинальной зоне белой пульпы селезенки. АПК появляются в маргинальной зоне через несколько минут после попадания АГ в кровоток, а через 1–2 часа мигрируют в периартериолярные лимфоидные муфты, где

на 2-е сутки начинается пролиферация Т-лимфоцитов, и их миграция в лимфоидные узелки. На 4-е сутки после иммунизации в лимфоидных узелках формируются центры размножения, состоящие из пролиферирующих антигенспецифичных В-лимфоцитов. Пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов происходит в тесном контакте с узелковыми дендритными клетками, фиксирующими на своих отростках АГ. Образующиеся В-клетки памяти выселяются из центров размножения в корону лимфоидных узелков, а плазматические клетки мигрируют в красную пульпу селезенки, где секретируют в кровь и лимфу антитела. Через 2-3 недели пролиферативная активность В-лимфоцитов снижается.

1.5. Рециркуляция лимфоцитов

Несмотря на топографическую разобщенность, органы иммунной системы функционируют как единое целое. Важную роль в процессе интеграции органов иммунной системы играет рециркуляция лимфоцитов. После того, как зрелые лимфоциты покидают тимус и костный мозг, они находятся в процессе непрерывной циркуляции. Из крови клетки мигрируют в периферические лимфоидные органы, и из них обратно в кровь и лимфу. В процессе циркуляции создаются оптимальные условия для встречи лимфоцитов с АГ и другими клетками иммунной системы, участвующими в иммунном ответе. Критическим моментом циркуляции лимфоцитов является возвращение клеток из кровотока в лимфоидные органы. Этот процесс называется хоминг лимфоцитов, его обеспечивают молекулы адгезии на эндотелии особых кровеносных сосудов – посткапиллярных венул с высоким эндотелием, или HEV (high endothelial venulae), которые имеются только в лимфоидных органах.

В заключение необходимо отметить, что кроме органов иммунной системы, описанных в данной главе, важную роль в защите организма от АГ играет печень. Роль печени в иммунном ответе заключается в синтезе гепатоцитами белков острой фазы (С-реактивный белок, маннозосвязывающий лектин), белков системы комплемента, белков свертывающей системы крови, обеспечивающих коагуляционный каскад при воспалении; в печени имеются звездчатые макрофаги, составляющие 80% всех макрофагов организма; в печени находится большинство клеток со свойствами натуральных киллеров.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ

1. ПЕРВИЧНЫЕ ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ
   1) костный мозг и селезенка
   2) костный мозг и тимус
   3) селезенка и лимфатические узлы
   4) тимус и селезенка

2. ВТОРИЧНЫЕ ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ
   1) костный мозг, тимус и лимфатические узлы
   2) тимус, селезенка и лимфатические узлы
   3) селезенка, лимфатические узлы, миндалины
   4) селезенка, печень, лимфатические узлы

3. В ПЕРВИЧНЫХ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ ПРОИСХОДИТ
   1) бласттрансформация В-лимфоцитов
   2) антигензависимая дифференцировка Т- и В-лимфоцитов
   3) антигеннезависимая дифференцировка Т- и В-лимфоцитов
   4) образование эффекторных клеток и клеток памяти

4. ФУНКЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА КАК ПЕРВИЧНОГО ОРГАНА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЗАКЛЮЧАЕТСЯ В ОБРАЗОВАНИИ
   1) предшественников Т-лимфоцитов и функционально зрелых В-лимфоцитов
   2) предшественников В-лимфоцитов и функционально зрелых Т-лимфоцитов
   3) плазматических клеток из В-лимфоцитов
   4) дендритных клеток и макрофагов из моноцитов

5. ВТОРИЧНЫЕ ЛИМФОИДНЫЕ УЗЕЛКИ ОБРАЗУЮТСЯ ИЗ ПЕРВИЧНЫХ
   1) при участии базофилов и тучных клеток
   2) после заселения В-лимфоцитов из костного мозга

3) после заселения Т-лимфоцитов из тимуса
4) после стимуляции антигеном и участии Т-хелперов

6. ВТОРИЧНЫЙ ЛИМФОИДНЫЙ УЗЕЛОК ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ
   1) большим размером и отсутствием центра размножения
   2) большим размером и наличием центра размножения
   3) маленьким размером и отсутствием центра размножения
   4) большим размером при наличии паракортикальной зоны

7. ПРЕДОХРАНЯЕТ КОРКОВЫЕ ТИМОЦИТЫ ОТ ИЗБЫТОЧНОЙ АНТИГЕННОЙ НАГРУЗКИ
   1) гемато-тимический барьер
   2) тельца Гассаля
   3) эпителиоретикулоциты
   4) венулы с высоким эндотелием

8. В-ЗАВИСИМЫЕ ЗОНЫ ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА
   1) паракортикальная область и межузелковые синусы
   2) лимфоидные узелки и мозговые синусы
   3) паракортикальная область и мозговые тяжи
   4) лимфоидные узелки и мозговые тяжи

9. Т-ЗАВИСИМАЯ ЗОНА БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ
   1) периартериолярная макрофагальная муфта
   2) периартериолярная лимфоидная муфта
   3) маргинальная зона белой пульпы
   4) селезеночные тяжи

10. ПРОЛИФЕРАЦИЯ В-ЛИМФОЦИТОВ В ЗАРОДЫШЕВЫХ ЦЕНТРАХ ФОЛЛИКУЛОВ ПРОИСХОДИТ С УЧАСТИЕМ
    1) корковых тимоцитов
    2) тучных клеток
    3) узелковых дендритных клеток
    4) ретикулярных клеток

ГЛАВА 2. КЛЕТКИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Клетки иммунной системы условно разделяют на клетки врожденного и адаптивного иммунитета (рис. 8). Главным различием этих клеток является специфичность распознавания АГ. Клетки врожденного иммунитета характеризуются низкой специфичностью распознавания АГ, клетки адаптивного иммунитета характеризуются высокой специфичностью в распознавании АГ.

Существует и третья группа клеток – промежуточная, несущая признаки обеих групп (рис. 8). Наличие клеток промежуточной группы доказывает единство происхождения и способов защиты организма от чужеродных веществ антигенной природы.

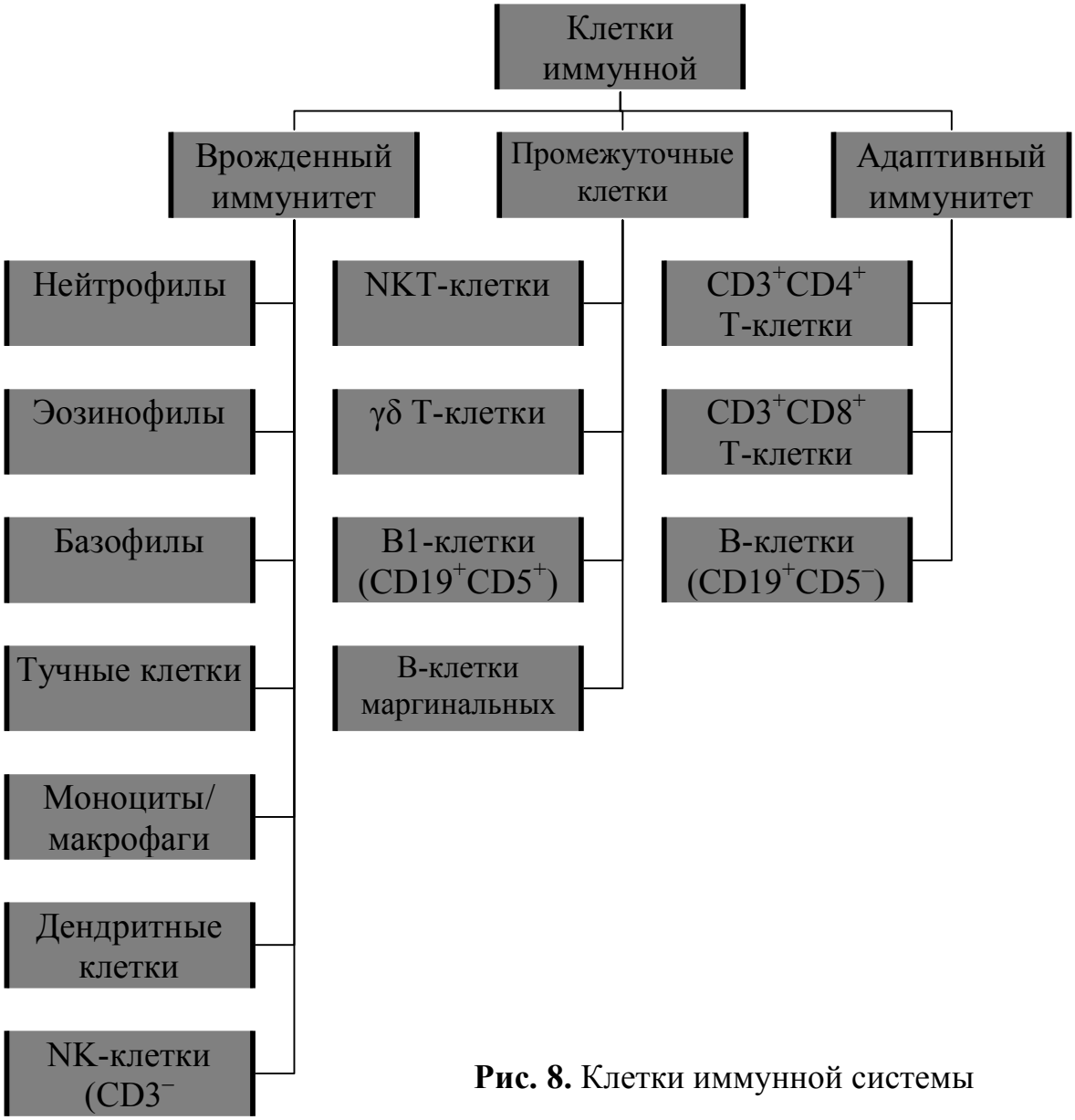


Рис. 8. Клетки иммунной системы

2.1. Клетки врожденного иммунитета

Если патогенный микроорганизм преодолевает первую линию обороны, представленную анатомическими, физиологическими и химическими барьерами, он встречается со следующей линией обороны, представленной клеточными и гуморальными факторами врожденного иммунитета, которые должны его уничтожить. При исходно высокой функциональной активности клеточных и гуморальных факторов врожденного иммунитета, патогены могут быть элиминированы из организма без развития адаптивного иммунного ответа.

Клеточное звено врожденного иммунитета представлено полиморфно-ядерными лейкоцитами (нейтрофилами, эозинофилами, базофилами), моноцитами/макрофагами, дендритными клетками, натуральными киллерами и тучными клетками, или тканевыми базофилами (рис. 9). Некоторые авторы относят к клеткам врожденного иммунитета эпителиоциты и эндотелиальные клетки в связи с их способностью представлять АГ и вырабатывать некоторые цитокины.

Согласно современной схеме кроветворения все клетки врожденной системы иммунитета развиваются из стволовой гемопоэтической клетки, дающей начало двум типам полустволовых клеток – общему предшественнику миелопоэза и общему предшественнику лимфопоэза (рис. 9). Из миелоидной клетки-предшественника образуется еще одна прогениторная клетка – предшественник гранулоцитов и моноцитов, от которого берут начало полиморфно-ядерные лейкоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) и моноциты (рис. 9). Таким образом, все этапы дифференцировки клеток гранулоцитарно-моноцитарного ряда проходят в красном костном мозге (рис. 9).

Общая клетка-предшественник лимфопоэза дает начало предшественникам В-лимфоцитов, дальнейшее развитие которых продолжается в костном мозге, NK-клеткам (большим гранулярным лимфоцитам) и предшественникам Т-лимфоцитов, которые покидают костный мозг и заселяются в тимус (рис. 9). В тимусе из клеток-предшественников Т-лимфоцитов образуются клетки адаптивного иммунитета с высокой специфичностью распознавания АГ – αβТ-клетки

(фенотип $CD4^+$ или $CD8^+$) и промежуточные клетки иммунной системы – NKT-клетки и γδT-клетки (рис. 9).

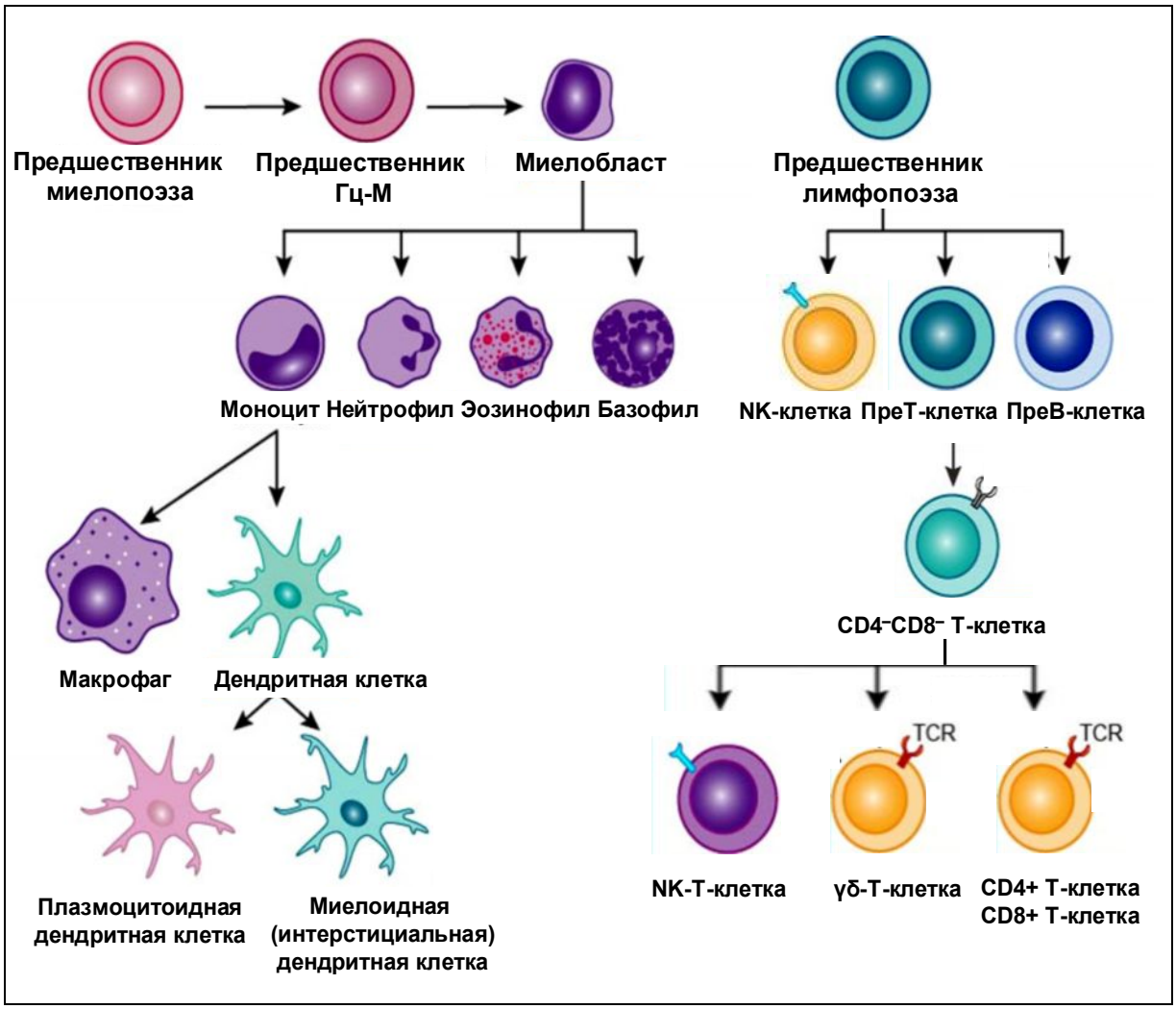


Рис. 9. Обобщенная схема развития клеток иммунной системы

2.1.1. Рецепторы системы врожденного иммунитета

Клетки, относящиеся к системе врожденного иммунитета, имеют на своей поверхности специальные рецепторы для распознавания патогенных микроорганизмов. Рецепторы системы врожденного иммунитета получили название паттерн-распознающих рецепторов (Pattern Recognition Receptors, PRR). PRR распознают ограниченное количество наиболее консервативных молекулярных структур на поверхности микроорганизмов, которые на клетках макроорганизма не встречаются.

Консервативные молекулярные структуры, распознаваемые PRR, являются полисахаридами клеточной стенки или липополисахаридами капсулы бактерий. Многократно повторяясь, эти молекулы образуют на

поверхности микроорганизма паттерны (в переводе с англ. – *pattern* – узор, последовательность), которые и распознаются PRR. Взаимодействие PRR с паттерном молекул на поверхности патогенного микроорганизма инициирует каскад внутриклеточных реакций, который заканчивается передачей сигнала в ядро клетки и синтезом провоспалительных цитокинов. В настоящее время выделяют три вида PRR: TLR (Toll-like receptors), NLR (NOD-like receptors) и RLR (RIG-like receptors).

Toll-подобные рецепторы (TLR) – играют важную роль в распознавании специфичных компонентов, присущих микроорганизмам. Семейство Toll-рецепторов первоначально было открыто у плодовых мушек *Drosophila melanogaster*. Было установлено, что Toll-рецепторы играют важную роль в защитных реакциях мушек на микробную инфекцию. Дальнейшие исследования подтвердили наличие Toll-подобных рецепторов у млекопитающих и человека. На сегодняшний день у человека обнаружено 10 TLR-рецепторов, из которых на поверхности моноцитов, макрофагов и дендритных клеток находятся TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10.

TLR1, TLR2 и TLR6 образуют единый комплекс, распознающий липопептиды, липотейхоевые кислоты, пептидогликаны и зимозан бактериальной стенки.

TLR4 является рецептором для главного компонента грамотрицательных бактерий – липополисахарида (LPS). В сыворотке крови человека содержится специальный белок LBP (LPS–Binding Protein), который связывает бактериальные LPS и доставляет к молекуле CD14 на поверхности макрофагов, а TLR4 проводит сигнал от CD14 внутрь клетки.

TLR5 распознает флагеллин, входящий в состав локомоторного аппарата бактерий.

Рецепторы TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 являются внутриклеточными, они находятся в цитозоле фагоцитирующих клеток в составе эндосомально-лизосомального компартмента. Внутриклеточные TLR-рецепторы распознают молекулярные структуры (нуклеиновые кислоты вирусов и бактерий), высвобождающиеся только после ферментативной деградации микроорганизмов внутри лизосом.

TLR3 распознает двухцепочечную вирусную РНК, TLR7 и TLR8 распознают одноцепочечную вирусную РНК, TLR9 распознает ДНК.

Распознавание специфических микробных структур при помощи TLR-рецепторов приводит к активации клеток врожденной системы иммунитета. Активированные макрофаги и дендритные клетки начинают вырабатывать провоспалительные цитокины – TNFα, IL-1, IL-6, IL-12, и хемокины – IL-8, экспрессируют молекулы MHC II класса и костимулирующие молекулы B 7.1 (CD80) и B 7.2 (CD86), необходимые для презентации АГ Т-лимфоцитам.

После активации макрофаги и дендритные клетки мигрируют из места внедрения и распознавания микроорганизма в региональные лимфатические узлы, где взаимодействуют с клетками адаптивного иммунитета. Таким образом, TLR-рецепторы можно рассматривать как мост, связывающий врожденный и приобретенный иммунитет.

NOD-подобные рецепторы (NLR) являются внутриклеточными рецепторами. NOD-рецепторы находятся в цитозоле фагоцитирующих клеток и распознают мурамилпептиды – вещества, образующиеся после ферментативного гидролиза пептидогликана бактериальной стенки. NOD1-рецепторы распознают мурамилпептиды грамотрицательных бактерий, а NOD2-рецепторы распознают мурамилпептиды как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий. Распознавание NOD-рецепторами мурамилпептидов приводит к активации клетки и секреции провоспалительных цитокинов – TNFα, IL-1, IL-6, IL-12, IL-18.

RIG-подобные рецепторы (RLR) являются внутриклеточными рецепторами, локализующимися в цитозоле клеток. RIG-рецепторы распознают вирусную РНК, проникшую в клетку. Распознавание вирусной РНК приводит к активации клетки. Активированные клетки секретируют провоспалительные цитокины – TNFα, IL-1, IL-6, IL-12, IFNγ, а также белки с противовирусной активностью – IFNα и IFNβ.

Кроме PRR-рецепторов на поверхности макрофагов имеются **рецепторы-мусорщики (SR –** scavenger receptors**)**. Они распознают специфические анионные полимеры и ацетилированные липопротеины низкой плотности, экспрессируемые определенными патогенными микроорганизмами, а также стареющими и поврежденными эритроцитами.

2.1.2. Уничтожение микроорганизмов клетками врожденного иммунитета. Фагоцитоз

Существуют два способа уничтожения микроорганизмов клетками врожденной системы иммунитета: фагоцитоз и внеклеточный киллинг. Основными фагоцитирующими клетками являются полиморфно-ядерные лейкоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы), моноциты и тканевые макрофаги. Внеклеточный киллинг, как основной способ уничтожения патогенов, характерен для NK-клеток, он будет подробно рассмотрен в разделе 2.1.8. настоящей главы.

Впервые учение о фагоцитозе, как о защитной реакции многоклеточных организмов, разработал великий русский ученый И.И. Мечников (1845-1916 гг.). Ученый экспериментальным путем установил наличие у многоклеточных организмов специализированных клеток, уничтожающих чужеродные объекты, для обозначения которых предложил термины «макрофаги». Позже он установил, что к фагоцитозу способны и нейтрофилы, которых он назвал «микрофаги». За создание фагоцитарной теории иммунитета в 1902 году И.И. Мечников был удостоен Нобелевской премии. Фагоцитоз – это комплекс клеточных событий, в основе которых лежит распознавание, поглощение и элиминация из организма корпускулярных частиц диаметром более 0,5 мкм специализированными клетками фагоцитами. Последовательные стадии фагоцитоза и их краткая характеристика представлены в таблице 1.

Фагоцитоз бывает *завершенным и незавершенным*. Если в процессе фагоцитоза наступает гибель и полная деградация микроорганизма, фагоцитоз считается завершенным. Если микроорганизм сохраняет жизнеспособность внутри фагоцита, фагоцитоз называется незавершенным.

Фагоцитоз может быть усилен рядом факторов, которые получили название опсонинов. К опсонинам относятся антитела и белки системы комплемента. Бактерии и другие патогены, покрытые опсонинами, лучше распознаются клетками-фагоцитами.

Таблица 1

Фагоцитоз микроорганизмов

Стадии фагоцитоза и их характеристика	Морфологическое выражение
1. Хемотаксис Направленная миграция фагоцитов в очаг воспаления. Обеспечивается наличием на мембране фагоцитов специальных рецепторов для хемоаттрактантов. Хемоаттрактантами являются продукты распада тканей, продукты жизнедеятельности микроорганизмов, комплемент, ИЛ-8 и др.	
2. Адгезия микроорганизма к поверхности фагоцита Фагоциты имеют на своей плазмолемме рецепторы, для распознавания паттернов молекул, ассоциированных с микроорганизмами (PRR – Pattern Recognition Receptor). Для связи с опсонизированными объектами имеются Fc-рецепторы и рецепторы к C3b компоненту комплемента.	
2. Активация мембраны фагоцита и поглощение Усиливается экспрессия интегринов – белков, от которых зависит поглощение опсонизированных бактерий, в месте погружения микроорганизма образуется инвагинация плазмолеммы за счет перестройки цитоскелета фагоцита.	
4. Образование фагосомы Процесс поглощения микроорганизма завершается отшнуровкой участка плазмолеммы фагоцита с находящимся внутри микроорганизмом. Такой мембранный пузырек, содержащий поглощенный микроорганизм, называется фагосома.	
5. Образование фаголизосомы Происходит при слиянии фагосомы и первичных лизосом, содержащих набор ферментов, в том числе гидролитических. Слияние сопровождается развитием «респираторного взрыва», продукты которого вызывают гибель фагоцитированного микроорганизма.	
6. Деградация микроорганизма Разрушение, или деградация, микроорганизма в фаголизосоме происходит с участием активных форм кислорода, образовавшихся при «респираторном взрыве», ферментов лизосом (гидролазы и протеазы) и ряда веществ, обладающих микробицидным действием.	
7. Экзоцитоз продуктов пищеварения Содержимое фаголизосомы после завершения деградации может выделяться за пределы клетки. При этом во внеклеточное пространство попадают ферменты, АФК, микробицидные вещества, вызывающие повреждение тканей в очаге воспаления.	

2.1.3. Полиморфно-ядерные лейкоциты

Популяция полиморфно-ядерных лейкоцитов (гранулоцитов) представлена короткоживущими фагоцитирующими клетками, содержащими большое количество лизосом, ферменты которых способны разрушать поглощенные микроорганизмы.

Для всех гранулоцитов характерны следующие морфологические особенности: наличие в цитоплазме специфической зернистости и сегментированного ядра; по окрашиванию специфической зернистости гранулоциты подразделяются на три вида: нейтрофильные, эозинофильные и базофильные (рис. 10).

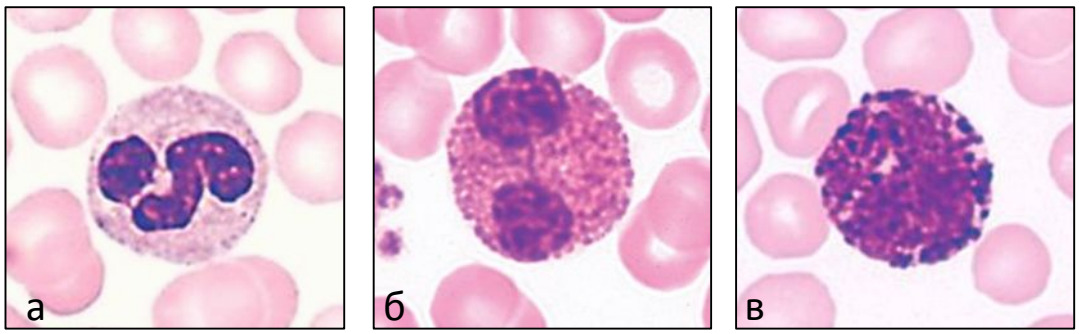


Рис. 10. Полиморфно-ядерные лейкоциты в мазке крови.
Окрашивание азуром II и эозином.
а) нейтрофил; б) эозинофил; в) базофил.

Жизненный цикл гранулоцитов состоит из трех этапов: 1) развитие в костном мозге; 2) кратковременная циркуляция в кровеносном русле; 3) выселение в ткани для выполнения своих функций.

Основной функцией гранулоцитов является фагоцитоз микроорганизмов, поэтому нарушения функции гранулоцитов всегда сопровождаются хроническими или рецидивирующими инфекциями.

2.1.3.1. Нейтрофилы

Нейтрофилы, циркулирующие в периферической крови, составляют 60-70% от общего количества лейкоцитов. Образуются нейтрофилы в костном мозге, являясь продуктом миелоидного кроветворения (рис. 9).

Основные регуляторы гранулопоэза – это IL-23, IL-17 и G-CSF. Основными продуцентами IL-23 являются активированные макрофаги и дендритные клетки, а клетками-мишенями – регуляторные Т-клетки.

Под влиянием IL-23 регуляторные Т-клетки синтезируют IL-17, индуцирующий выработку клетками стромы костного мозга, эндотелия и фибробластами G-CSF. G-CSF обеспечивает пролиферацию, дифференцировку и миграцию нейтрофилов из костного мозга в кровеносное русло.

По степени зрелости нейтрофилы делятся на сегментоядерные, палочкоядерные и юные формы (рис. 11). Сегментоядерные нейтрофилы имеют хорошо сегментированное ядро, состоящее из 3-5 сегментов, соединенных тонкой перемычкой. Палочкоядерные нейтрофилы имеют ядро в виде изогнутой палочки, по форме напоминающее букву «С» (рис. 11) или английскую «S», юные нейтрофилы (метамиелоциты) имеют бобовидное ядро.

Костный мозг покидают дефинитивные формы дифференцировки клеток – сегментоядерные нейтрофилы, но в небольшом количестве (1-6%) в периферический кровоток могут выходить палочкоядерные нейтрофилы и юные нейтрофилы (0,5%). После выхода из костного мозга нейтрофилы циркулируют с током крови 8-12 часов, после чего выходят в ткани, где живут 2-3 дня и погибают путем апоптоза. В очаге воспаления продолжительность жизни нейтрофилов резко сокращается и составляет 1-4 часа.

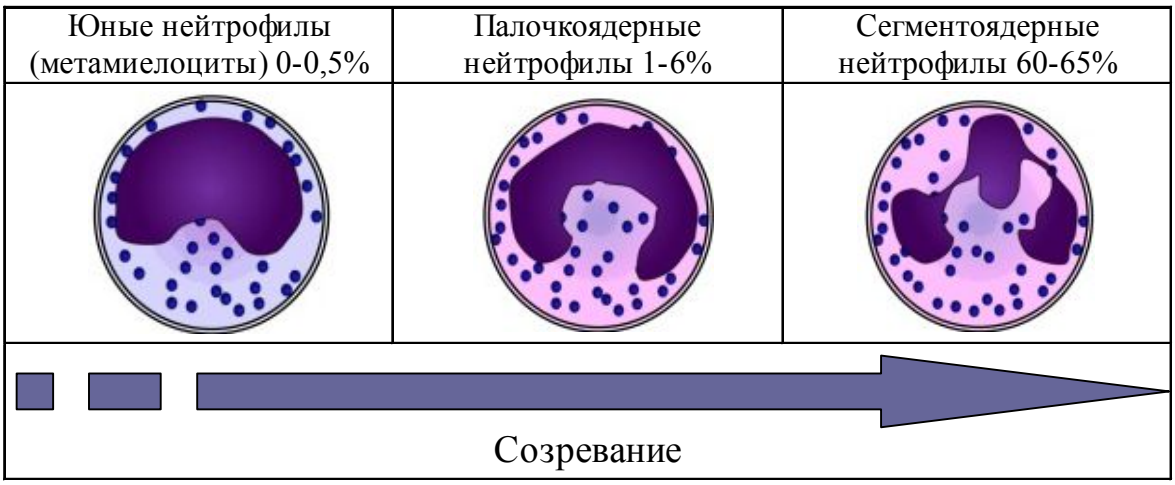


Рис. 11. Классификация нейтрофилов по степени зрелости. Содержание нейтрофилов различной степени зрелости в лейкоцитарной формуле выражено в процентах (%).

Нейтрофилы имеют сферическую форму и небольшие размеры, на мазках крови их диаметр не превышает 10-12 мкм. При окрашивании азуром II и эозином цитоплазма нейтрофилов окрашивается светло-оксифильно, в ней присутствует азурофильная зернистость и мелкая специфическая зернистость, окрашивающаяся в лиловый цвет (рис. 10). При электронной микроскопии (рис. 12) в цитоплазме клеток обнаруживаются три типа гранул: первичные гранулы (азурофильные), вторичные гранулы (специфические) и секреторные везикулы.

Азурофильные гранулы представляют видоизмененные первичные лизосомы, содержащие набор гидролитических ферментов (кислых протеаз и гидролаз) с оптимумом pH 4,0. В составе азурофильных гранул нейтрофилов также содержится большое количество микробицидных веществ (рис. 13). Азурофильные гранулы всегда первыми сливаются с фагосомой. Маркером азурофильных гранул является фермент миелопероксидаза. Специфические гранулы по химическому составу отличаются от азурофильных гранул (рис. 13), и сливаются с фагосомой уже после азурофильных гранул. Маркером специфических гранул является белок лактоферрин.

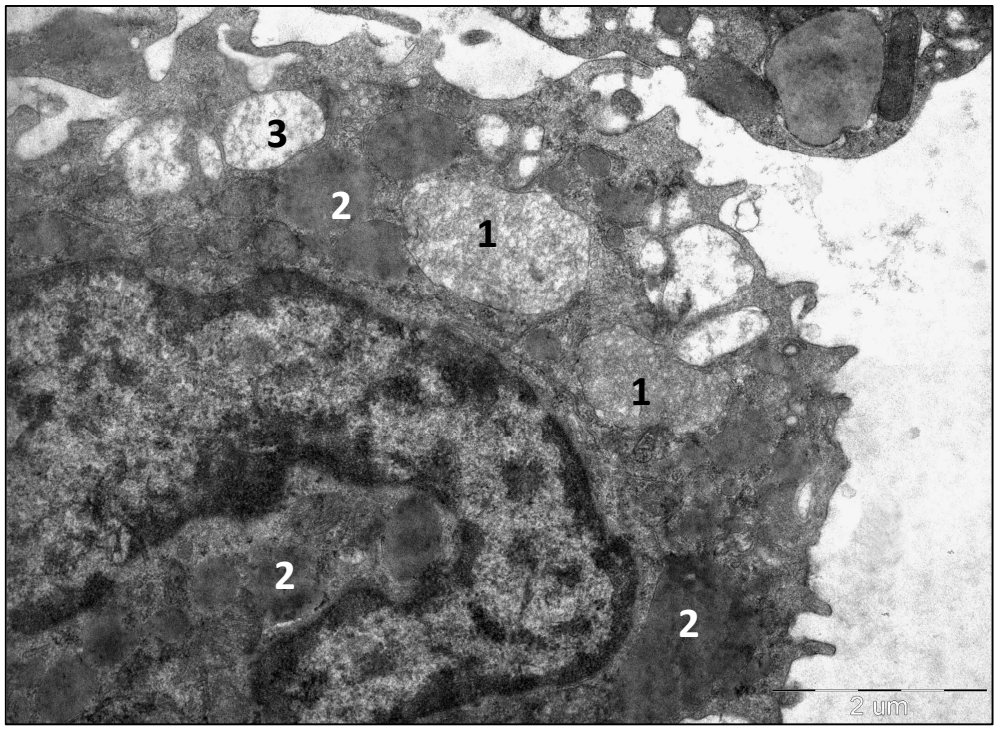


Рис.12. Палочкоядерный нейтрофил. Электронная микрофотография. 1). Азурофильные гранулы. 2). Специфические гранулы. 3). Секреторные везикулы.

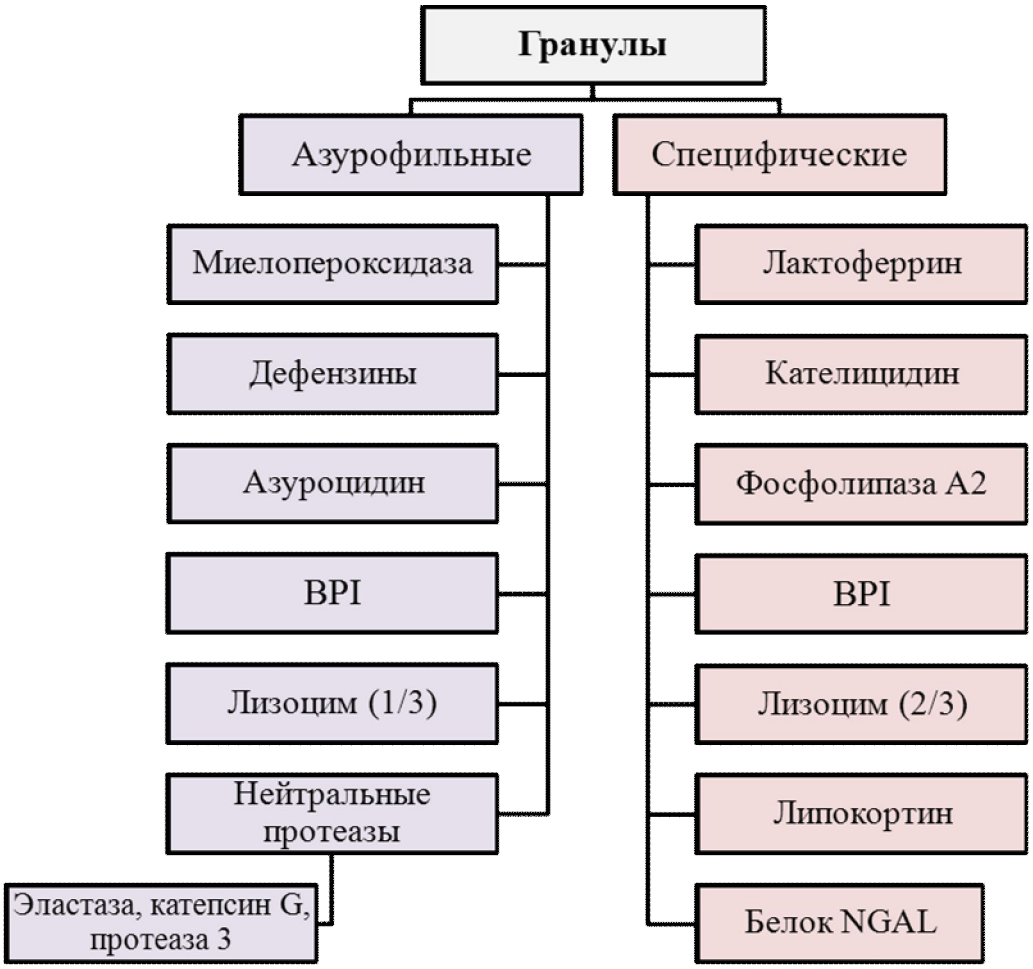


Рис.13. Химический состав гранул нейтрофилов

Разновидностью специфических гранул нейтрофилов являются желатинозные гранулы, содержащие вместо лактоферрина фермент желатиназу.

Секреторные везикулы необходимы нейтрофилам для восстановления цитоплазматической мембраны, утраченной в процессе фагоцитоза. В связи с этим мембраны секреторных везикул в большом количестве содержат Fc-рецепторы, рецепторы комплемента, молекулы CD14 и интегрины.

Миелопероксидаза – фермент, катализирующий образование хлорноватистой кислоты ($HOCl^-$) и других активных форм кислорода (АФК), обладает прямым бактерицидным действием.

Дефензины – катионные полифункциональные белки. Нейтрофильные лейкоциты секретируют α-дефензины, играющие важную роль в процессе фагоцитоза и воспалении: а) дефензины способны убивать

бактерии, грибы, оболочечные вирусы; б) дефензины являются хемоатрактантами, одновременно индуцируют синтез хемокина IL-8; в) дефензины стимулируют дифференцировку дендритных клеток и выработку ими цитокинов; г) на заключительных этапах воспаления дефензины стимулируют ангиогенез, заживление ран, индуцируют апоптоз нейтрофилов.

Азуроцидин – катионный белок, проявляющий избирательную активность в отношении Гр (–) бактерий.

BPI (белок, повышающий проницаемость бактерий) – разрушает клеточную стенку Гр (–) и Гр (+) микроорганизмов, однако более эффективен в отношении Гр (–) бактерий за счет высокой аффинности к липополисахаридам наружной оболочки бактерий.

Лизоцим – фермент, разрушающий пептидогликан клеточной стенки бактерий. Более чувствительны к лизоциму Гр (+) бактерии, для разрушения Гр (–) бактерий необходимо совместное действие лизоцима и комплемента. 1/3 лизоцима содержится в азурофильных гранулах, а 2/3 лизоцима находится в специфических гранулах нейтрофилов.

Сериновые нейтральные протеазы (эластаза, катепсин G, протеаза 3) – обеспечивают внутриклеточную гибель и переваривание бактерий. Эластаза способна расщеплять компоненты экстрацеллюлярного матрикса – эластин, протеогликаны, коллаген, фибронектин.

Лактоферрин – белок, связывающий ионы Fe^{3+}, используемые многими микроорганизмами в метаболических целях. Дефицит Fe^{3+} ограничивает рост бактерий и патогенных грибов.

Кателицидин – катионный белок, обладающий широким спектром бактерицидного действия. Проявляет активность, как против Гр (+), так и против Гр (–) бактерий, грибов, некоторых вирусов и простейших. Проявляет синергические эффекты с дефензинами, является хемоатракта.

Фосфолипаза А2 – способна разрушать клеточную стенку как Гр (–), так и Гр (+) и бактерий.

Белок NGAL (липокалин 2) – обладает бактериостатическим действием. Связывание белком бактериальных сидерофоров угнетает рост бактерий.

Основная функция нейтрофильных гранулоцитов – фагоцитоз и участие в воспалительных реакциях (рис. 14). Нейтрофильные гранулоциты первыми приходят в очаг воспаления и обнаруживаются там уже через 30-60 минут. Главным хемоаттрактантом для нейтрофилов является хемокин IL-8, под влиянием которого они мигрируют в очаг воспаления. Под воздействием цитокинов TNFα и IFNγ, синтезируемых моноцитами и макрофагами в очаге воспаления, нейтрофилы сами начинают секретировать IL-8, привлекающий в очаг воспаления новые нейтрофилы, и ряд хемокинов для NK-клеток, моноцитов и Th1-клеток. Кроме IL-8 хемотаксис нейтрофилов к месту инфицирования обеспечивает f-Met-Leu-Phe-рецептор, связывающий N-формилированные пептиды, присутствующие на многих бактериях.

Активированные нейтрофилы выделяют содержимое азурофильных и специфических гранул путем экзоцитоза, создавая в очаге воспаления высокие концентрации АФК, сериновых протеаз, лизоцима, дефензинов, лактоферрина и других веществ. Накопление содержимого гранул нейтрофилов в экстрацеллюлярном матриксе сопровождается гибелью микроорганизмов и повреждением собственных тканей. Находясь в очаге воспаления, нейтрофилы секретируют хемокины и цитокины. Нейтрофилы способны к секреции IL -1, TNFα, GM-CSF, TGFβ. TNFα, выделяемый нейтрофилами, важен для созревания дендритных клеток. Под влиянием TNFα дендритные клетки усиливают экспрессию молекул MHC II класса, костимулирующих молекул, увеличивают секрецию IL-12, необходимого для дифференцировки Th1.

Для распознавания и фагоцитоза неопсонизированных микроорганизмов на плазмолемме нейтрофилов имеются TLR1, TLR2 и TLR6, образующие единый комплекс, лигандами которого являются липопептиды, липотейхоевые кислоты, пептидогликаны бактериальной стенки и зимозан. TLR4 является рецептором для липополисахарида (LPS) грамотрицательных бактерий. Бактериальные LPS связываются с молекулой CD14 на поверхности нейтрофила, а TLR4 проводит сигнал от CD14 внутрь клетки. TLR9 имеет внутриклеточную локализацию, он распознает бактериальные олигонуклеотиды, образующиеся в результате деградации бактерий.

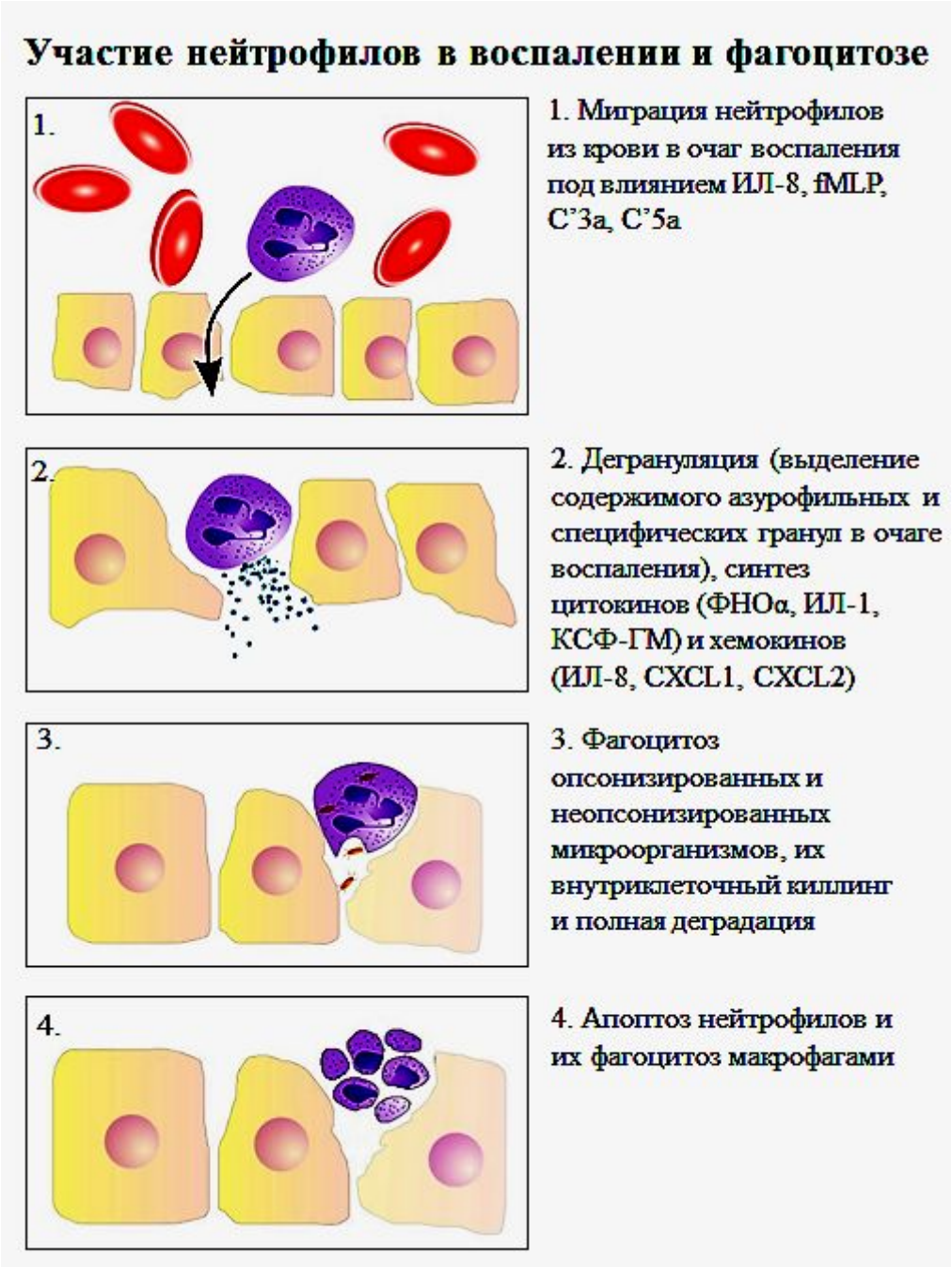


Рис.14. Участие нейтрофильных лейкоцитов в воспалении и фагоцитозе

Респираторный взрыв. Взаимодействие TLR нейтрофила с бактериальными паттернами приводит к активации клетки. В течение первых секунд после активации нейтрофилы резко увеличивают поглощение кислорода, который быстро утилизируется клеткой в ходе образования активных форм кислорода (АФК). Респираторный взрыв начинается при слиянии фагосомы с азурофильными и специфическими гранулами. С участием фермента НАДФН-оксидазы образуется синглетный кислород ($^1O_2$), супероксидный анион (O_2^-), однако они

обладает слабой антимикробной активностью. С участием фермента супероксиддисмутазы (СОД) из супероксидного аниона образуется пероксид водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал (OH^-). Фермент миелопероксидаза конвертирует пероксид водорода в хлорноватистую кислоту ($HOCl^-$). Пероксид водорода, гидроксильный радикал и хлорноватистая кислота обладают выраженной бактерицидной активностью, они обеспечивают внутриклеточный киллинг микроорганизма (гибель внутри фаголизосомы). Дальнейшее переваривание фагоцитированного объекта происходит при помощи гидролитических ферментов (эластаза, катепсин G, протеаза 3, коллагеназа, желатиназа, фосфолипаза А2 и др.) и завершается его полной деградацией.

Опсонизация резко усиливает фагоцитарную активность нейтрофилов. Фагоцитоз опсонизированных объектов обеспечивается присутствием на плазмолемме нейтрофилов рецепторов к C3b компоненту комплемента и Fcγ-рецепторов к Fc-фрагменту IgG (рис. 15).

Апоптоз нейтрофилов и их фагоцитоз макрофагами являются важными составляющими воспалительного процесса. Своевременное удаление нейтрофилов предотвращает дальнейшую деструкцию тканей в очаге воспаления и создает условия для регенерации.

Функциональные дефекты нейтрофилов

Недостаточность НАДФН-оксидазы. Делает невозможным развитие респираторного взрыва. Респираторный взрыв является важным механизмом, позволяющим фагоциту добиться полной деградации поглощенных микроорганизмов. Отсутствие или поломка одного из компонентов респираторного взрыва в нейтрофилах приводит к развитию иммунодефицита, который проявляется рецидивирующими респираторными инфекциями.

Недостаточность миелопероксидазы. Является причиной снижения или отсутствия сопротивляемости организма к бактериальным и грибковым инфекциям. Нейтрофилы с дефицитом миелопероксидазы продуцируют необходимое количество H_2O_2, но не способны конвертировать H_2O_2 в $HOCl^-$.

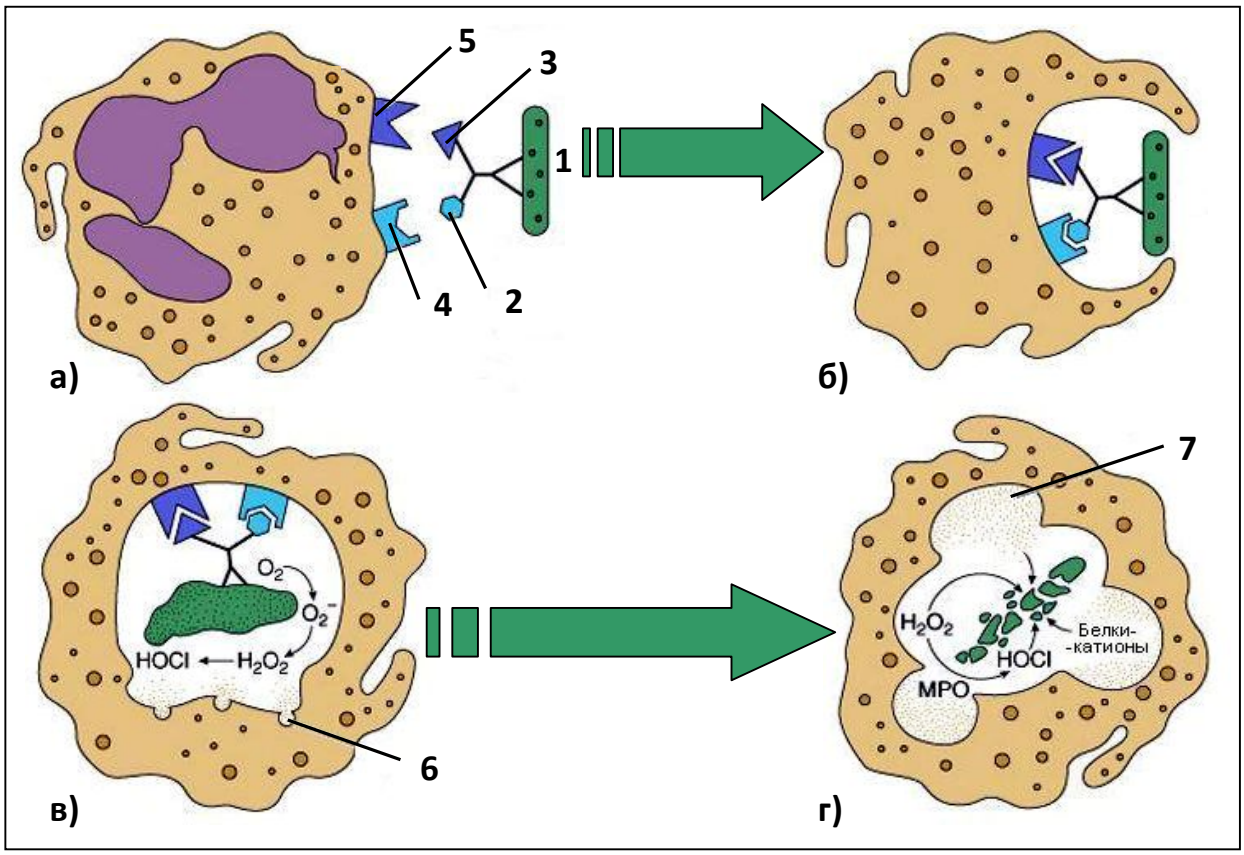


Рис.15. Фагоцитоз опсонизированного микроорганизма
а) бактерия (1), опсонизированная антителами и комплементом,
2 – Fc-фрагмент антитела, 3 – C3b компонент комплемента,
4 – Fc-рецептор к Fc-фрагменту на поверхности нейтрофила;
5 – рецептор к C3b компоненту комплемента (C3R);
б) связывание Fc-рецепторов и рецепторов C3R с соответствующими лигандами упрощает поглощение бактерии;
в) слияние фагосомы с азурофильными гранулами (6) приводит к формированию фаголизосомы, внутри которой образуются АФК;
г) специфические гранулы (7) сливаются с фаголизосомой, происходит внутриклеточный киллинг и деградация бактерии с участием АФК, гидролаз, протеаз и катионных белков нейтрофила.

Дефицит катепсина G. Катепсин G является нейтральной сериновой протеазой, обеспечивающей внутриклеточную гибель и переваривание как Гр (+), так и Гр (–) бактерий. При недостатке катепсина G нарушается бактерицидная активность нейтрофилов.

Недостаточность адгезии лейкоцитов. Дефекты экспрессии и функционирования молекул адгезии сопровождаются нарушением трансэндотелиальной миграции нейтрофилов в очаг воспаления. Проявляется рецидивирующими бактериальными инфекциями.

Нарушение хемотаксиса и миграции нейтрофилов. Редко встречающееся нарушение функциональной активности нейтрофилов. Проявляется в виде рецидивирующих бактериальных и вирусных инфекций.

2.1.3.2. Эозинофилы

Составляют 1-5% лейкоцитов, циркулирующих в крови. Эозинофилы развиваются в костном мозге, где они созревают в течение 5 дней. Дифференцировка эозинофилов происходит под влиянием аутокринных и паракринных цитокинов – IL-3, IL-5 и CSF-GM. Особую роль играет IL-5, обеспечивающий рост, дифференцировку и мобилизацию эозинофилов для их миграции в кровеносное русло.

Зрелые эозинофилы выходят из костного мозга в периферический кровоток, где они циркулируют 18-24 часа, после чего выходят в органы, контактирующие с внешней средой (слизистые оболочки воздухоносных путей, желудочно-кишечного тракта, органов мочеполовой системы), где выполняют защитную функцию. Миграция эозинофилов в ткани регулируется IL-4, IL-5, IL-13, продуцентами которых являются Th2-клетки. В направленной миграции эозинофилов важную роль играют эотаксины, синтезируемые эпителиальными клетками и фибробластами. В тканях эозинофилы живут предположительно 8-14 дней.

Эозинофилы имеют сферическую форму, размеры в крови составляют 12 мкм, после выхода в ткани размеры эозинофилов увеличиваются до 12-14 мкм. Ядро эозинофила состоит из двух крупных сегментов, соединенных тонкой перемычкой. Цитоплазма окрашивается слабо-оксифильно, в ней находятся азурофильные гранулы и крупные ярко-оксифильные специфические гранулы (рис. 10). При электронной микроскопии в цитоплазме эозинофилов выявляются специфические гранулы овоидной формы, в центре которых располагается удлиненный кристаллоид (рис. 16), состоящий из главного основного белка (MBP – major basic protein). Также в специфических гранулах содержится нейротоксин (белок X), эозинофильная пероксидаза, гистаминаза, фосфолипаза D, кислая фосфатаза, коллагеназа, цинк, катепсин. Мелкие гранулы содержат арилсульфатазу, кислую фосфатазу, пероксидазу,

катионный белок эозинофилов. Эозинофилы имеют Fc-рецепторы к Fc-фрагментам IgG, IgM и IgE, рецепторы комплемента.

В тканях эозинофилы могут находиться в двух состояниях – активированном и неактивированном. Главную роль в активации эозинофилов играют IL-4, IL-5, IL-13, продуцируемые Th2-клетками. Активированные эозинофилы продуцируют цитокины GM-CSF, IL-3, IL-5, которые их аутокринно стимулируют. При дегрануляции эозинофила происходит выброс катионных белков – MBP (major basic protein), ECP (eosinophil cationic protein), EPO, EDN (eosinophil-derived neurotoxin), липидных медиаторов – тромбоцитактивирующего фактора – PAF (platelet-activating factor) и лейкотриенов LTC_4, LTD_4 и LTE_4, ферментов – эозинофильной пероксидазы и коллагеназы.

Рис.16. Электронная микрофотография эозинофила.
В цитоплазме клетки находятся специфические гранулы овоидной формы с кристаллоидом в центре (*).

Белки MBP, ECP и EDN являются токсичными для паразитов и клеток собственного организма. ECP и EDN обладают противовирусной активностью. Лейкотриены вызывают сокращение гладкой мускулатуры, секрецию слизи, повышают проницаемость сосудов. PAF усиливает синтез

липидных медиаторов, активирует тромбоциты, нейтрофилы и эозинофилы, ускоряет миграцию лейкоцитов.

Основными функциями эозинофилов являются уничтожение паразитов, участие в аллергических и воспалительных реакциях.

Участие эозинофилов в уничтожении паразитов. Многие паразитарные инфекции сопровождаются выраженной эозинофилией, что связано с участием эозинофилов в защитных реакциях против паразитов. Эозинофилы активно уничтожают паразитов в местах их внедрения в организм. Активированный эозинофил выделяет содержимое гранул и липидные медиаторы, что оказывает повреждающее действие на паразитов. Секреция содержимого гранул запускается в течение нескольких минут и может продолжаться несколько часов. Наиболее активен в отношении паразитов главный основной белок MBP, содержащийся в специфических гранулах. Адгезия эозинофилов к личинкам гельминтов, опсонизированных IgE и комплементом, в экспериментальных моделях in vivo завершалась гибелью личиночных форм паразитов. Однако взрослые особи гельминтов не чувствительны к цитотоксическим белкам, секретируемым эозинофилами.

Участие эозинофилов в аллергических реакциях. Содержимое гранул эозинофилов блокирует дегрануляцию тучных клеток, инактивирует гистамин и LTC4, выделяемые базофилами и тучными клетками.

Участие эозинофилов в воспалительных реакциях. Активированные эозинофилы перемещаются по градиенту факторов хемотаксиса – бактериальные и паразитарные факторы, фактор хемотаксиса эозинофилов (ECF), гистамин, выделяемый тучными клетками, белки комплемента, эотаксин, IL-5. В очаге воспаления одновременно происходят респираторный взрыв и экзоцитоз содержимого гранул эозинофилов. После дегрануляции эозинофилы погибают путем апоптоза.

Вещества, секретируемые эозинофилами, могут повреждать нормальные ткани организма. Например, при бронхиальной астме продукты секреции эозинофилов повреждают бронхиальный эпителий, активируют комплемент и систему свертывания крови. Хроническая

секреция содержимого гранул эозинофилов может приводить к тромбоэмболическим повреждениям и некрозу тканей, разрастанию фиброзной ткани.

2.1.3.3. Базофилы

Базофилы образуются в костном мозге из общей клетки-предшественника гранулоцитов и моноцитов (рис. 9). В кровеносное русло выходят зрелые формы клеток, которые составляют 0-1% от общего числа лейкоцитов, циркулирующих в крови.

Базофил представляет собой клетку сферической формы диаметром 10-12 мкм. Ядро базофила состоит из нечетко выраженных трех долек, в цитоплазме клетки имеются крупные специфические гранулы, окрашивающиеся метахроматически основными красителями (рис. 10). При электронной микроскопии в цитоплазме базофила обнаруживаются все виды органелл, свободные рибосомы и включения гликогена. Специфические гранулы разнообразны по форме и размеру, содержимое гранул имеет разнообразную электронную плотность. В гранулах содержатся такие вещества, как гепарин, гистамин, нейтральные протеазы (триптазы, химазы), фактор хемотаксиса эозинофилов. Азурофильные гранулы содержат набор лизосомальных гидролаз, характерный для лизосом.

Основная функция базофилов – участие в аллергических реакциях. При стимуляции хемокинами базофилы через эндотелий кровеносных сосудов мигрируют в очаг аллергического воспаления, где происходит их активация и дегрануляция. Существуют два пути активации базофилов в очаге аллергического воспаления: 1) IgE-зависимый путь активации; 2) IgE-независимый путь активации.

IgE-зависимый путь активации. При контакте организма с аллергеном плазматические клетки синтезируют IgE. Базофилы на своей поверхности имеют высокоаффинные Fcε-рецепторы, которые связываются с Fc-фрагментами IgE, формируются комплексы «IgE-базофил». При повторном проникновении аллергена происходит перекрестное связывание АГ (аллергена) с несколькими молекулами IgE на поверхности базофила, что вызывает быструю дегрануляцию

базофилов. Параллельно экзоцитозу содержимого специфических гранул, базофилы синтезируют цитокины IL-4, IL-13, *de novo* образуются метаболиты арахидоновой кислоты (лейкотриены и тромбоксаны). Цитокины, выделяемые базофилами, а также вещества, выделяющиеся при дегрануляции базофилов, привлекают в очаг аллергического воспаления эозинофилы и нейтрофилы.

IgE-независимый путь активации. Данный путь активации может запускаться фактором созревания базофилов IL-3. После совместной стимуляции IL-3 и IL-18 базофилы приступают к продукции IL-4. Базофилы могут быть активированы при взаимодействии TLR2, находящимся на их поверхности, с пептидогликаном клеточной стенки бактерий. Кроме TLR2 на поверхности базофилов имеются TLR1, TLR4 и TLR6, однако отсутствие молекулы CD14 делает базофилы нечувствительными к липополисахаридам бактерий.

Участие базофилов в адаптивном иммунитете. Синтез и секреция цитокинов, основным из которых является IL-4, запускается в активированных базофилах уже через 10 минут после активации. Базофилы продуцируют IL-4 в большем количестве, чем Т-лимфоциты. В связи с этим на ранних этапах иммунного ответа базофилы являются главными индукторами образования Th2-клеток. Под влиянием ИЛ-4 Th0-клетки дифференцируются в Th2-клетки. Взаимодействие CD40L на поверхности базофила с молекулой CD40 на поверхности В-лимфоцита в сочетании с IL-4, переключает В-лимфоциты на синтез IgE.

2.1.4. Тучные клетки

Тучные клетки (мастоциты), и их предшественники происходят из стволовых кроветворных клеток костного мозга. В отличие от лейкоцитов, тучные клетки не циркулируют в крови, а заканчивают свою дифференцировку в рыхлой соединительной ткани, где локализуются группами по ходу сосудов микроциркуляторного русла (рис. 17, а). Основные факторы, определяющие дифференцировку мастоцитов – SCF(Stem-Cell Factor) и IL-3, в качестве кофакторов выступают IL-4, IL-9, IL-10 и фактор роста нервов (NGF). Тучные клетки сохраняют способность к делению и имеют длительный срок жизни – месяцы и даже годы.

У человека тучные клетки обнаруживаются везде, где имеются прослойки рыхлой соединительной ткани, однако наибольшее число мастоцитов находится в органах, контактирующих с внешней средой – коже, слизистых оболочках воздухоносных путей и желудочно-кишечного тракта, много тучных клеток находится в железах. Мастоциты, как и другие лейкоциты, способны к движению, что определяет их высокую миграционную активность. Форма тучных клеток разнообразна. Клетки могут быть округлой, овальной или неправильной формы, благодаря способности к амебоидным движениям, клетки могут иметь отростки. Диаметр тучных клеток варьирует от 10 до 20 мкм. Ядра тучных клеток имеют округлую или овальную форму. Отличительным морфологическим признаком мастоцитов является наличие в цитоплазме крупных специфических гранул, окрашивающихся основными красителями, которые нередко маскируют ядро клеток (рис. 17, а). Специфические гранулы в цитоплазме тучных клеток характеризуются высокой электронной плотностью (рис. 17, б). Величина, состав и количество гранул варьируют, однако они всегда содержат вазоактивные амины, основным из которых является гистамин.

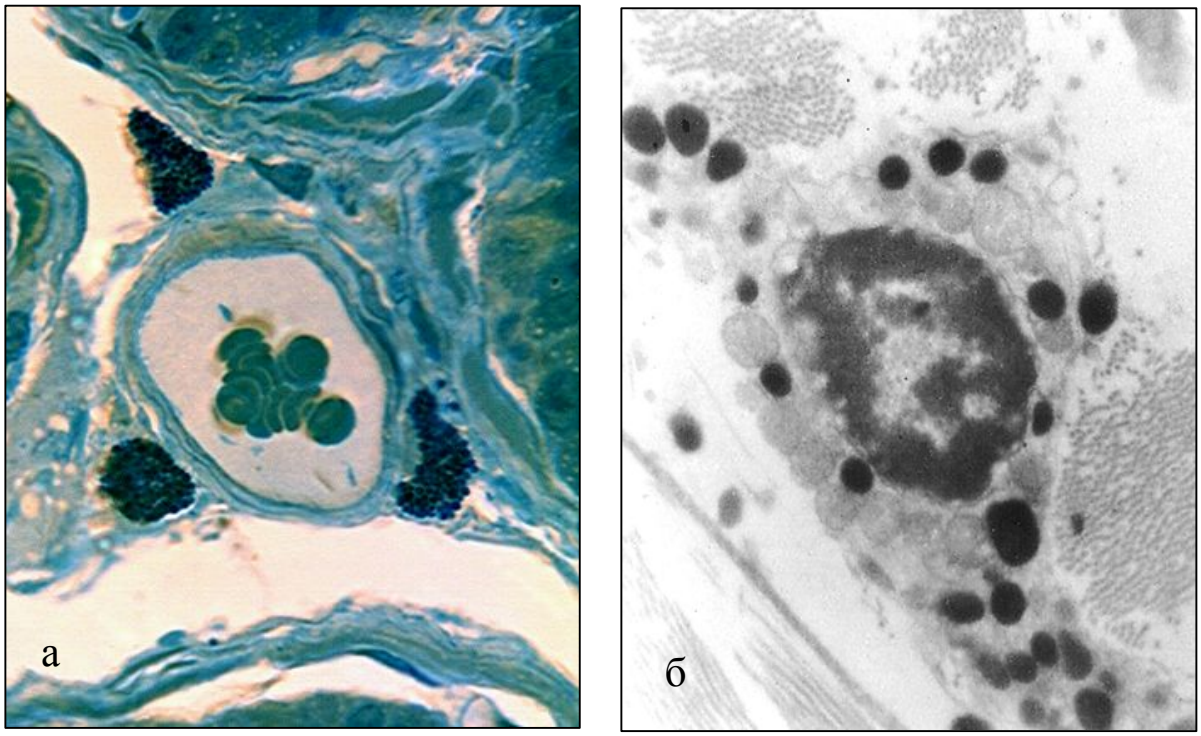


Рис.16. а) тучные клетки с периваскулярной локализацией. Окрашивание толуидиновым синим. б) электронная микрофотография тучной клетки со специфическими электронно-плотными гранулами в цитоплазме.

Мастоциты реагируют на повреждающие воздействия разного рода, участвуют в развитии воспаления, служат основными эффекторными клетками при гиперчувствительности немедленного типа и входят в первую линию иммунной защиты от многоклеточных паразитов. В отличие от базофилов, которым требуется время на миграцию из крови в ткани, тучные клетки, изначально локализующиеся в тканях, немедленно реагируют на любое повреждение, инициируя развитие реакций врожденного иммунитета.

Медиаторы тучных клеток. Медиаторы воспаления, выделяемые тучными клетками при активации, можно условно разделить на три группы (рис. 17): предсуществующие медиаторы, медиаторы липидной природы, синтезированные *de novo*, и цитокины.

Из предсуществующих медиаторов наибольшее значение имеет гистамин, который при высвобождении связывается с двумя основными типами рецепторов (H_1 и H_2). При связывании гистамина с H_1 рецепторами гладких миоцитов, гистамин вызывает их сокращение. При связывании гистамина с H_1 рецепторами эндотелиальных клеток, увеличивается сосудистая проницаемость. Связывание гистамина с H_2 рецепторами приводит к увеличению секреции слизи, увеличению сосудистой проницаемости и повышению секреции HCl слизистой оболочкой желудка. Все эти эффекты отвечают за основные симптомы анафилаксии: затруднение дыхания и снижение давления крови. Высвобождение гепарина (природный антикоагулянт) понижает свертываемость крови, однако напрямую не влияет на проявление симптомов анафилаксии. Протеолитические ферменты (триптазы, химазы и карбоксипептидаза А) оказывают разнонаправленные эффекты в очаге воспаления (рис. 19).

Медиаторы липидной природы образуются из мембранных липидов тучных клеток. Первоначально при помощи фермента фосфолипазы образуется арахидоновая кислота, которая подвергается дальнейшему окислению при помощи циклооксигеназы и липооксигеназы. При окислении с помощью циклооксигеназы из арахидоновой кислоты образуются простагландины и тромбоксаны, при окислении с участием липооксигеназы образуются лейкотриены (рис. 17). Все медиаторы липидной природы вызывают повышение сосудистой проницаемости,

спазм гладкой мускулатуры, обладают хемотаксическими свойствами, привлекая в очаг воспаления все виды гранулярных лейкоцитов и моноциты.

Цитокины и хемокины, выделяемые тучными клетками (рис. 17), участвуют в воспалении и аллергических реакциях, вызывают повреждение тканей и влияют на их восстановление в завершающую фазу воспаления, участвуют в регуляции гемопоэза и лимфопоэза, реакциях врожденного и адаптивного иммунитета.

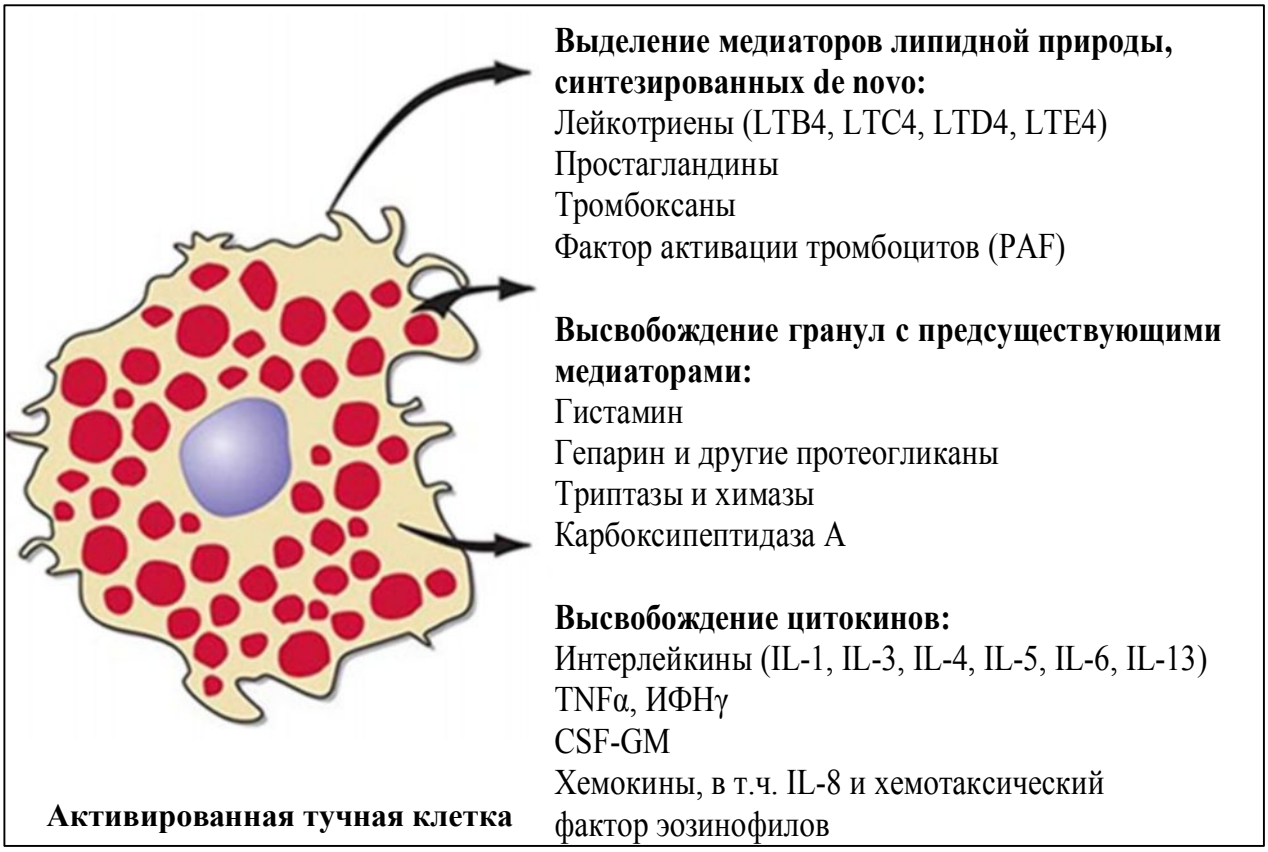


Рис.17. Медиаторы, высвобождаемые при активации тучных клеток

Рецепторы тучных клеток. Главной чертой тучных клеток наряду с базофилами и эозинофилами, является наличие на плазмолемме высокоафинного Fcε-рецептора к Fc-фрагменту IgE. На поверхности тучных клеток имеются TLR2, TLR3, TLR4/CD14, TLR5, TLR7, TLR8, TLR9 для распознавания пептидогликана клеточной стенки бактерий, липополисахаридов, вирусных РНК и бактериальных ДНК. На поверхности тучных клеток присутствуют молекулы МНС I и II класса. Наличие молекул МНС II класса и костимулирующих молекул CD86

придает тучным клеткам способность выполнять функции АПК, особенно при индукции Th2-клеток.

Существует два пути активации тучных клеток: 1) IgE-зависимый путь активации; 2) IgE-независимый путь активации.

IgE-зависимый путь активации.

При контакте организма с аллергеном плазматические клетки синтезируют IgE. Тучные клетки на своей поверхности имеют высокоаффинные Fcε-рецепторы, которые связываются с Fc-фрагментами IgE, формируются комплексы «IgE-тучная клетка». При повторном проникновении аллергена происходит перекрестное связывание АГ (аллергена) с несколькими молекулами IgE на поверхности тучной клетки, что вызывает их быструю дегрануляцию). Параллельно экзоцитозу содержимого специфических гранул, тучные клетки синтезируют цитокины IL-4, IL-13, *de novo* образуются метаболиты арахидоновой кислоты (лейкотриены и тромбоксаны). Цитокины, выделяемые тучными клетками, а также вещества, выделяющиеся при дегрануляции мастоцитов, привлекают в очаг аллергического воспаления эозинофилы и нейтрофилы.

IgE-независимый путь активации.

Активаторами тучных клеток являются продукты расщепления комплемента (C3a, C5a, C3b, C4b), β-дефензины, кателицидины, цитокины и медиаторы воспаления, многочисленные эндогенные пептиды; физические и химические факторы, повреждение тканей. Тучные клетки также могут быть активированы продуктами микробного и вирусного происхождения при их взаимодействии с TLR мастоцитов, а также самими бактериями, вирусами и паразитами (рис. 18).

В заключение необходимо отметить, что комплекс ферментов, липидных медиаторов, ростовых факторов, цитокинов и хемокинов, освобождающихся при дегрануляции тучных клеток, оказывает как положительное, так и отрицательное действие на организм (рис. 19).

Тучные клетки играют ведущую роль в развитии воспаления, увеличении проницаемости сосудов, развитии отека, активации тромбоцитов, индуцируют инфильтрацию слизистых оболочек лейкоцитами, при бронхиальной астме – эозинофилами (рис. 19).

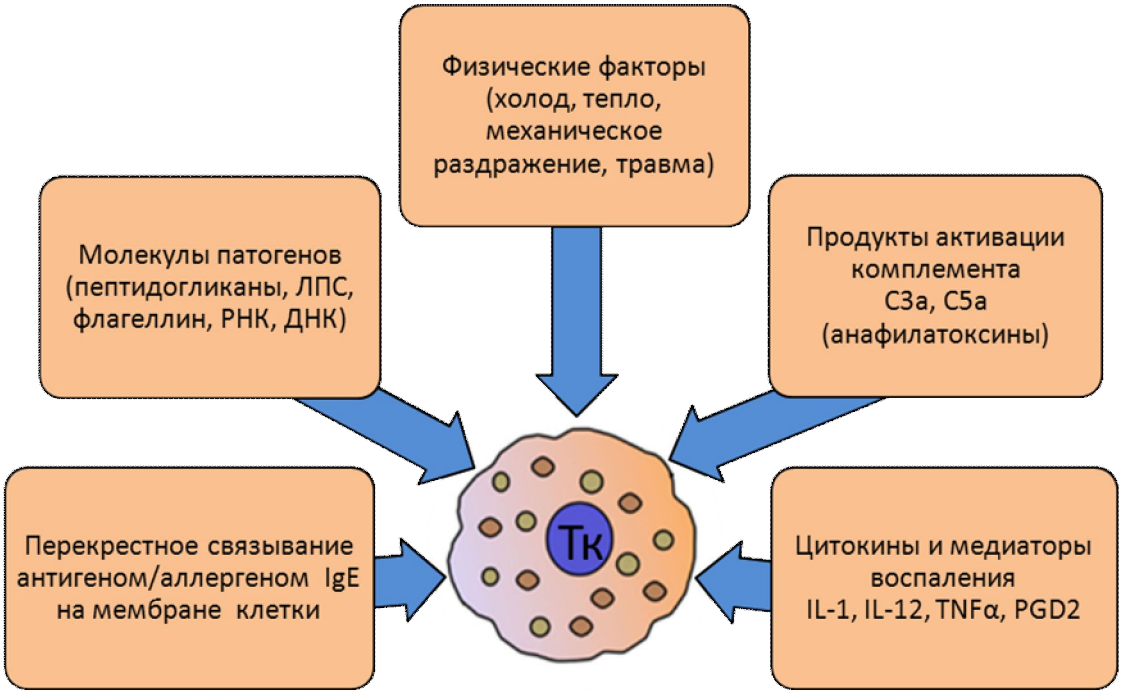


Рис.18. Возможные пути активации тучных клеток

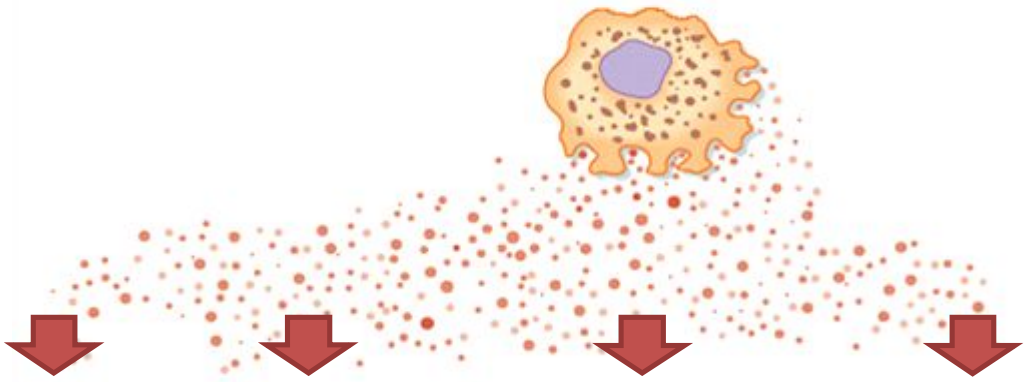
Активация и дегрануляция тучной клетки			
			
Биологические эффекты медиаторов воспаления, выделившихся из тучной клетки при активации			
Реакция лейкоцитов	**Реакция фибробластов**	**Реакция экстрацеллюлярного матрикса**	**Реакция микроциркуляторного русла**
Адгезия Хемотаксис Активация и дегрануляция эозинофилов Секреция IgE Пролиферация тучных клеток	Активация Пролиферация Синтез коллагена	Активация матриксных металлопротеиназ Активация коагуляционного каскада	Повышение проницаемости сосудистой стенки Выход плазмы и развитие отека Появление молекул клеточной адгезии на эндотелиоцитах Дилатация

Рис.19. Биологические эффекты медиаторов тучных клеток при воспалении и аллергии

2.1.5. Моноциты и макрофаги

Моноциты составляют 5-10% лейкоцитов периферической крови. Образуются моноциты в красном костном мозге из общего предшественника моноцитов-гранулоцитов (рис. 9), который под воздействием M-CSF дает начало предшественнику моноцитов. Через последовательные стадии монобласта и промоноцита из клетки-предшественника образуется моноцит, который поступает в системный кровоток. Моноциты крови представляют собой сферической формы клетки с ядром бобовидной формы диаметром 10-12 мкм. На окрашенных мазках крови цитоплазма моноцитов имеет светло-базофильную окраску с пепельным оттенком, ядро клетки окрашивается в оттенки вишневого цвета. Размеры клетки в мазке крови увеличиваются до 18-20 мкм, форма клетки может изменяться от сферической до неправильной, форма ядра также может быть различной. В цитоплазме моноцита имеются органеллы общего значения, умеренно развитая эндоплазматическая сеть и большое количество лизосом.

Моноциты циркулируют с током крови 8-12 ч, после чего выселяются в различные ткани, где дифференцируются в тканевые макрофаги (рис. 20). Тканевые макрофаги – это фагоциты, развивающиеся из моноцитов крови. Они присутствуют в определенных зонах лимфоидных органов и практически во всех нелимфоидных органах: клетки Купффера в печени, альвеолярные макрофаги в легких, макрофаги слизистых оболочек и серозных полостей (перитонеальные макрофаги, плевральные макрофаги), микроглия в ЦНС, клетки Лангерганса в коже (рис. 20), остеокласты, макрофаги интерстициальной ткани сердца, поджелудочной железы, почек и др. (на рис. 20 не представлены). Таким образом, макрофаги локализуются в различных тканях и органах, имеют различные названия, но их объединяет общее происхождение и ярко выраженная способность к фагоцитозу.

Макрофаги способствуют поддержанию тканевого гомеостаза путем очищения организма от стареющих и апоптических клеток, участвуют в восстановлении тканей после повреждения и воспаления. Макрофаги слизистых оболочек играют ведущую роль в защите организма от инфекции. При микробной инвазии в очаг воспаления дополнительно

мигрирует большое количество моноцитов, которые под влиянием цитокинов дифференцируются в воспалительные макрофаги. Все макрофаги экспрессируют большое количество PRR, снабжены кислородзависимыми и кислороднезависимыми механизмами киллинга микроорганизмов. Важной функцией макрофагов является их участие в доиммунном и иммунном воспалении. Продолжительность жизни тканевого макрофага в среднем составляет 30 дней, после чего они погибают путем апоптоза.

Рис.20. Дивергентная дифференцировка моноцитов в тканевые макрофаги (МФ)

PRR рецепторы макрофагов. Макрофаги экспрессируют полный набор Toll-подобных рецепторов (поверхностные TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10, и цитозольные TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9), цитозольные NOD-подобные рецепторы (NOD1 и NOD2), цитозольные RIG-подобные рецепторы. На поверхности макрофагов имеются SR (скэвенджер-рецепторы), распознающие липопротеины низкой плотности и анионные полимеры, расположенные на стареющих клетках и некоторых

патогенных бактериях. MR (маннозный рецептор) находится на поверхности макрофага, связывает маннозу и фукозу микроорганизмов. Дектин-1 – распознает углеводы (β-глюканы растительного, бактериального и грибкового происхождения). Распознавание рецепторами макрофага паттернов молекул, ассоциированных с патогенными микроорганизмами, завершается их фагоцитозом.

Активация макрофагов происходит в процессе фагоцитоза. Это проявляется в ряде клеточных событий, ведущих к усилению двух важных функций макрофага: бактерицидной и антигенпрезентирующей. В ходе активации изменяются морфологические и функциональные свойства макрофага. Клетка увеличивается в размере, на ее поверхности появляется множество цитоплазматических выростов, в цитоплазме увеличивается число цистерн шероховатой эндоплазматической сети, аппарата Гольджи, появляется множество лизосом. Усиление процессов эндоцитоза сопровождается появлением большого числа везикулярных структур в виде вакуолей различного размера и окаймленных пузырьков (рис. 21).

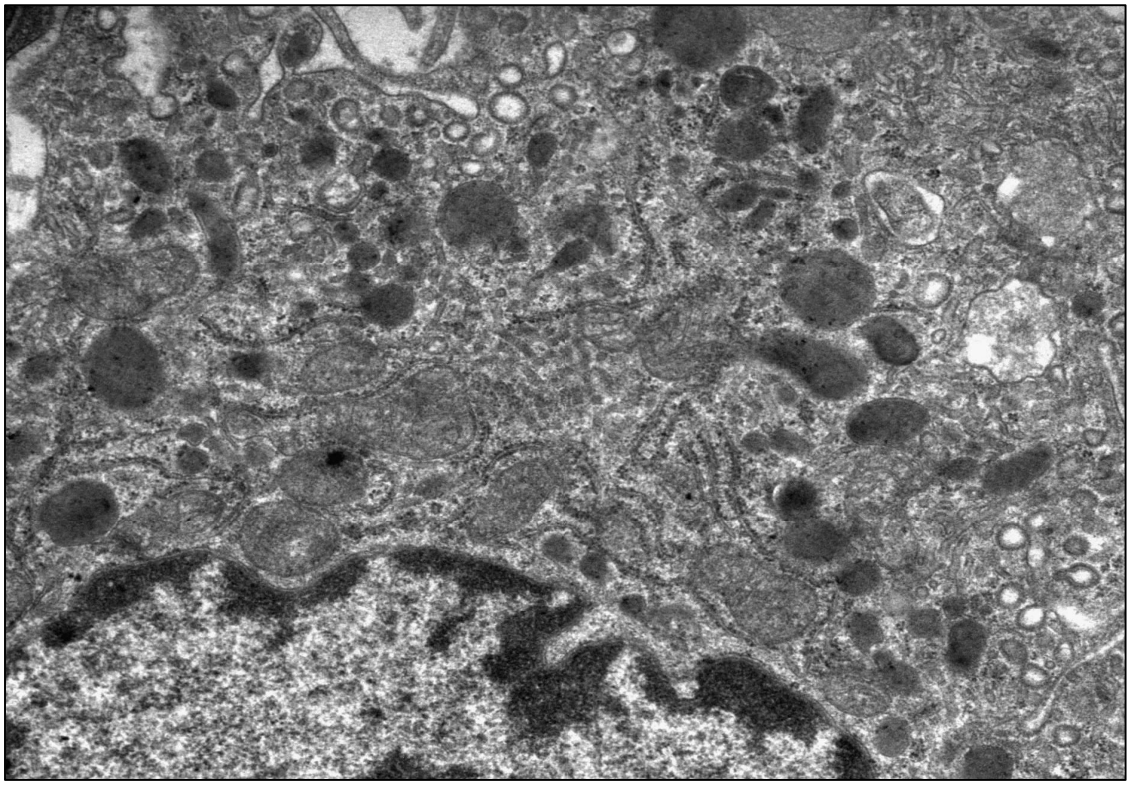


Рис.21. Электронная микрофотография активированного макрофага. В цитоплазме клетки хорошо развита шероховатая эндоплазматическая сеть, наблюдается обилие лизосом, фаголизосом, вакуолей и окаймленных пузырьков.

Моноциты/макрофаги, мигрировавшие из крови в очаг воспаления, могут подвергаться:

1. Классической активации посредством цитокинов IFNγ и TNFα.
2. Альтернативной активации посредством IL-4/IL-13.
3. Дезактивации, опосредованной IL-10 и TGFβ.

Классическая активация запускается цитокинами IFNγ и TNFα, микроорганизмами и их продуктами, направлена на элиминацию патогенных микроорганизмов. Стимулирующие сигналы, поступающие от цитокиновых рецепторов и PRR в ядро макрофага, вызывают развитие «респираторного взрыва». Образующиеся активные формы кислорода и оксида азота (NO) обладают выраженной микробицидной активностью и обеспечивают внутриклеточный киллинг фагоцитированных бактерий.

IFNγ и TNFα активируют лизосомальные гидролазы, что еще больше повышает бактерицидность макрофага. Активированные макрофаги секретируют провоспалительные цитокины – IL-1, IFNγ, IL-6, IL-12, IL-18, TNF-α, отвечающие за развитие доиммунного воспаления, а также ряд хемокинов. Секреция провоспалительных цитокинов активирует антигенпрезентирующую функцию макрофагов и развитие адаптивного иммунного ответа.

IL-12, синтезируемый макрофагами, направляет дифференцировку наивных Т-хелперов по Th1-пути, повышает активность NK-клеток, нейтрофилов и макрофагов.

TNFα, синтезируемый макрофагами, путем аутокринной регуляции усиливает функциональную активность клеток.

Важным свойством TNFα является его способность повышать продукцию оксида азота (NO), что приводит к дальнейшему повышению бактерицидных свойств макрофага. Под влиянием цитокиновой стимуляции резко усиливается экспрессия макрофагом молекул MHC II класса и костимулирующих молекул (CD40, CD54, CD80/CD86). В результате этого макрофаги приобретают способность представлять АГ $CD4^+$ Т-лимфоцитам.

Альтернативная активация. Тучные клетки, базофилы и затем Th2-клетки синтезируют противовоспалительные цитокины – IL-4/IL-13, которые угнетают синтез IFNγ. Под влиянием IL-4/IL-13 в макрофагах

снижается активность индуцибельной NO-синтетазы, за счет чего угнетается образование активных форм азота. В то же время под влиянием IL-4/IL-13 на макрофагах усиливается экспрессия маннозного рецептора (MR) и Дектина-1, что приводит к усилению эндоцитоза.

Дезактивация макрофагов. IL-10 полностью подавляет эффекты провоспалительных цитокинов. Под влиянием IL-10 в макрофагах угнетается экспрессия MHC II класса и костимулирующих молекул, угнетается образование активных форм азота, блокируется экспрессия маннозного рецептора и эндоцитоз, макрофаги теряют отростки и приобретают округлую форму.

Необходимо отметить, что некоторые микроорганизмы, в том числе и *M. tuberculosis*, сохраняют жизнеспособность внутри макрофагов. Это связано с тем, что бактерии подавляют образование оксида азота (NO) и предотвращают слияние фагосомы и лизосомы. Данные приспособительные механизмы позволяют *M. tuberculosis* размножаться внутри фагосомы, и распространяться по организму вместе с инфицированными макрофагами.

Таким образом, моноциты и тканевые макрофаги вместе с полиморфно-ядерными лейкоцитами (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) являются основными фагоцитирующими клетками нашего организма.

Однако, несмотря на общность происхождения и выраженную способность к фагоцитозу, между макрофагами и полиморфно-ядерными лейкоцитами (микрофагами) имеется ряд структурных и функциональных отличий, представленных в таблице 3.

2.1.3. Дендритные клетки

Дендритные клетки – это специализированные АПК, способные активировать наивные Т-клетки и Т-клетки памяти. В организме человека дендритные клетки представлены тремя субпопуляциями: миелоидные (интерстициальные), плазмоцитоидные и клетки Лангерганса (рис. 22). Дендритные клетки каждой субпопуляции имеют определенную локализацию в организме и связанные с этим морфологические особенности.

Таблица 3

Сравнительная характеристика макрофагов и микрофагов

Критерий сравнения	Макрофаги	Микрофаги (нейтрофилы)
Источник развития	Клетка-предшественник гранулоцитов-моноцитов	Клетка-предшественник гранулоцитов-моноцитов
Дифференцировка	Дифференцируются in situ в тканях из моноцитов крови	Выходят из крови в ткани в дифференцированном виде
Продолжительность жизни	Живут в тканях около 30 дней	Живут в тканях 2-3 дня, при участии в воспалении 1-4 часа
Повторный фагоцитоз	Способны к многократному фагоцитозу на протяжении всей жизни	Способность к повторному фагоцитозу отсутствует, после фагоцитоза погибают апоптозом
Участие в воспалительной реакции	Участвуют как в острых, так и в хронических воспалительных реакциях	Участвуют преимущественно в острых воспалительных реакциях
Презентация антигена ИКК	Презентируют антигенные пептиды в комплексе с MHC II класса $CD4^+$T-клеткам	Экспрессия MHC II класса отсутствует, не участвуют в презентации антигена ИКК
Активные формы кислорода	Оксид азота NO АФК	Супероксидный анион (O_2^-) Синглетный кислород ($^1O_2$) Гидроксильный радикал (OH^-) Пероксид водорода (H_2O_2) Хлорноватистая кислота ($HOCl^-$)
Секреторная функция	Хорошо выражена. Активированные макрофаги секретируют хемокины, цитокины IL-1, IFNγ, IL-6, IL-12, IL-18, TNFα, IL-10, TGFβ, CSF-GM.	Выражена умеренно. Активированные клетки секретируют хемокины, в том числе ИЛ8, цитокины IL-1, TNFα, CSF-GM, TGFβ.

Вне зависимости от локализации, все дендритные клетки дифференцируются в тканях из моноцитов крови (рис. 9), где и находятся в незрелом состоянии. Основная функция незрелых дендритных клеток заключается в распознавании и поглощении АГ, поступающих в организм через барьерные зоны (кожа, слизистые оболочки). В связи с этим на всех типах дендритных клеток имеются PRR рецепторы.

Миелоидные дендритные клетки распознают все основные бактериальные паттерны (липополисахариды, пептидогликан, тейхоевые кислоты, липопротеины) с помощью TLR1, 2, 4, 5, 6, двухцепочечную вирусную РНК (с помощью TLR3) и одноцепочечную вирусную РНК (с помощью TLR8), также они имеют NOD1 и NOD2 рецепторы. Плазмоцитоидные дендритные клети распознают одноцепочечную вирусную РНК (с помощью TLR7) и микробную ДНК (с помощью TLR9).

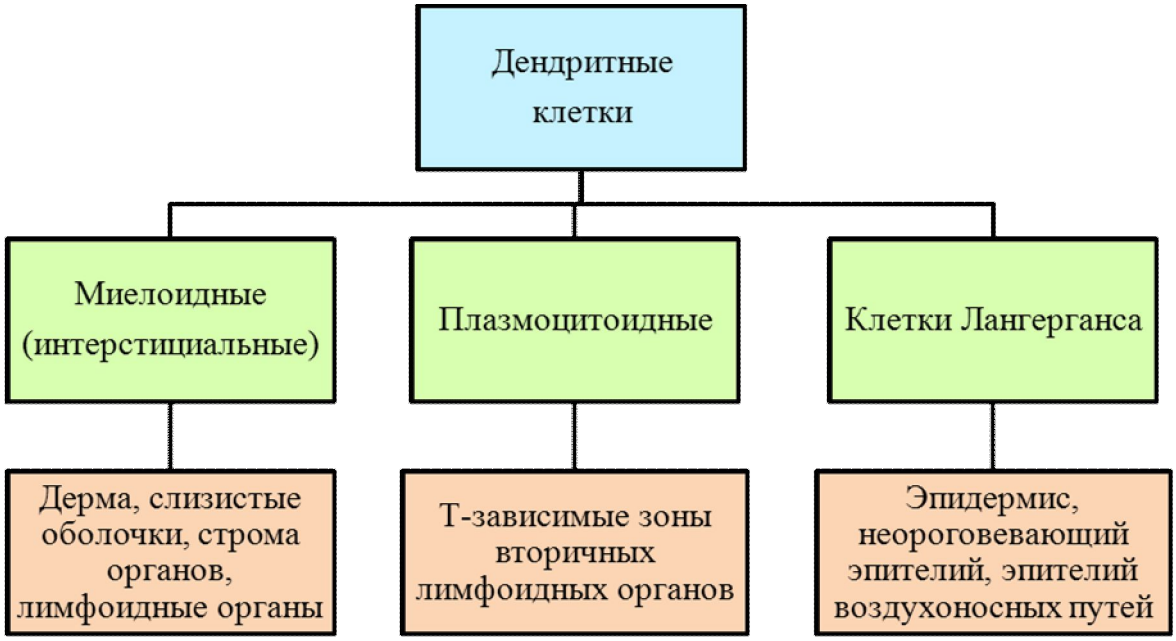


Рис. 22. Основные субпопуляции дендритных клеток

Все типы дендритных клеток имеют Fc-рецепторы к Fc-фрагментам Ig и рецепторы C3R к C3b компоненту комплемента, необходимые для фагоцитоза опсонизированных объектов (табл. 4).

Процесс созревания дендритных клеток в очаге воспаления начинается с момента распознавания АГ. Кроме продуктов микробного происхождения, активаторами дендритных клеток являются провоспалительные цитокины IL-1 и TNFα, продуцируемые макрофагами, а также IFNγ, секретируемый NK-клетками и NKT-клетками. В ходе созревания дендритных клеток значительно усиливается их способность к процессингу и презентации АГ. В то же время, способность к фагоцитозу у дендритных клеток по мере созревания снижается (табл. 4).

Таблица 4

Сравнительная характеристика зрелых и незрелых дендритных клеток (на примере миелоидных дендритных клеток)

Незрелые дендритные клетки	Зрелые дендритные клетки
Имеют амебоидную форму с псевдоподиями	Имеют многочисленные нитевидные отростки
Локализуются в дерме, слизистых оболочках, строме органов	Локализуются в Т-зависимых зонах лимфатических узлов и селезенки
Экспрессия рецепторов фагоцитоза: FcγR ↑, C3R↑	Экспрессия рецепторов фагоцитоза: FcγR ↓, C3R↓
Экспрессия молекул костимуляции: CD80↓, CD86↓, CD40↓	Экспрессия молекул костимуляции: CD80↑, CD86↑, CD40↑
Экспрессия молекул MHC II класса для презентации АГ ↓	Экспрессия молекул MHC II класса для презентации АГ ↑↑
Процессинг АГ –	Процессинг АГ +
Способность к хемотаксису –	Способность к хемотаксису ++
Способность активировать Т-клетки ±	Способность активировать Т-клетки ++

После созревания в очаге воспаления, дендритные клетки перемещаются во вторичные лимфоидные органы, где заселяются в Т-зависимые зоны. Во вторичных лимфоидных органах зрелые дендритные представляют АГ детерминанты неимунным Т-клеткам, индуцируя их дифференцировку в направлении Th1 или Th2-клеток. Для этого на всех ДК экспрессируются молекулы главного комплекса гистосовместимости – MHC I класса и MHC II класса, костимулирующие молекулы (CD40, CD80, CD86) и молекулы адгезии (табл. 4).

Самым ранним цитокином, синтезируемым дендритными клетками, является ФНОα, достигающий пика через 3 ч после стимуляции. Скорость синтеза других цитокинов (IL-1, IL-6, IL-23, IL-10) находится в диапазоне между 6 и 18 ч.

IL-12 является одним из важнейших цитокинов, синтезируемых зрелыми дендритными клетками. Под влиянием IL-12 из неимунных Th0-клеток дифференцируются Th1-клетки. После распознавания Т-хелпером

комплекса пептид-МНС II класса на поверхности дендритной клетки, продукция IL-12 усиливается. Дальнейшая продукция IL-12 дендритными клетками способна активировать наивные $CD8^+$ Т-клетки. При соответствующем цитокиновом окружении (наличие IL-10) из Th0-клеток дифференцируются Th2-клетки.

Таким образом, макрофаги и дендритные клетки играют важную роль в системе врожденного иммунитета. Эти клетки одновременно индуцируют развитие адаптивных иммунных реакций, играя ключевую роль в афферентном звене приобретенного иммунитета. Кроме этого, макрофаги участвуют в эфферентном звене адаптивного иммунитета на его завершающей стадии, осуществляя фагоцитоз иммунных комплексов АГ-антитело.

2.1.4. NK-клетки

Особая субпопуляция лимфоцитов – NK-клетки, или натуральные киллеры. NK-клетки представляют собой большие гранулярные лимфоциты, не экспрессирующими маркеров Т- и В-клеток (таких, как CD3 и CD19). Они дифференцируются в костном мозге из общей лимфоидной клетки-предшественницы (рис. 9), ростовым фактором для NK-клеток является IL-15. Главными маркерами зрелых NK-клеток являются молекулы CD56 и CD16.

В периферической крови натуральные киллеры составляют от 10% 15% всех лимфоцитов, также NK-клетки находятся в печени, селезенке и слизистых оболочках. Большинство NK-клеток содержат в цитоплазме азурофильные гранулы, в которых депонируются цитотоксические белки перфорин, гранзимы и гранулизин. NK-клетки способны спонтанно (т.е. без предварительной активации) уничтожать опухолевые клетки и клетки, инфицированные вирусами.

Рецепторы натуральных киллеров. NK-клетки не имеют антигенспецифических TCR, однако на их мембране есть рецепторы, способные связывать молекулы MHC-I на поверхности клеток-мишеней. При связывании этих рецепторов с лигандами (сингенные молекулы MHC-I) киллерная активность NK-клеток угнетается.

Кроме ингибиторных рецепторов на поверхности NK-клеток имеются активационные рецепторы, которые соединяются с активационными лигандами. Основной тип рецепторов NK-клеток, распознающих лиганды MHC-I, является семейство иммуноглобулиновых рецепторов KIR (Killer Cell Immunoglobulin like Receptor).

К рецепторам, лигандами которых не являются молекулы MHC-I , относятся рецепторы из группы NCR (NK Cell Receptors), являющиеся активационными. Рецептор FcγRIII (CD16) связывается с Fc-фрагментами Ig класса G на поверхности клетки-мишени, обеспечивая важнейшую защитную реакцию – антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ). Таким образом, исход взаимодействия NK-клетки с клеткой-мишенью зависит от баланса сигналов, поступающих от активационных и ингибиторных рецепторов натурального киллера.

Варианты взаимодействия NK-клетки с потенциальной клеткой-мишенью представлены на рисунке 23. Если при прямом контакте NK-клетки и потенциальной клетки-мишени ингибиторные рецепторы связывают определенное количество молекул MHC-I, в клетку поступает ингибирующий сигнал, киллерная функция NK-клетки угнетается и киллинга клетки-мишени не происходит (рис. 23, а).

Опухолевые клетки и клетки, инфицированные вирусом, характеризуются пониженной или нарушенной экспрессией молекул MHC I класса, в то же время такие клетки экспрессируют активационные лиганды (рис. 23).

Именно поэтому опухолевые и инфицированные клетки становятся мишенями для натуральных киллеров. Когда NK-клетка не может связать необходимого количества MHC-I, от ингибиторных рецепторов поступает слабый сигнал, выделяются цитотоксические вещества и клетка-мишень подвергается внеклеточному киллингу (рис. 23, б).

Как упоминалось ранее, NK-клетки способны уничтожать клетки-мишени без предварительной активации, однако активность NK-клеток значительно усиливается под влиянием IL-2, IL-12, и интерферонов (IFNα, IFNβ и IFNγ). Например, под влиянием IL-12 цитотоксичность NK-клеток увеличивается почти в 100 раз. Активированные NK-клетки, в свою очередь, продуцируют IFNγ, TNFα, GM-CSF, IL-5, IL-8.

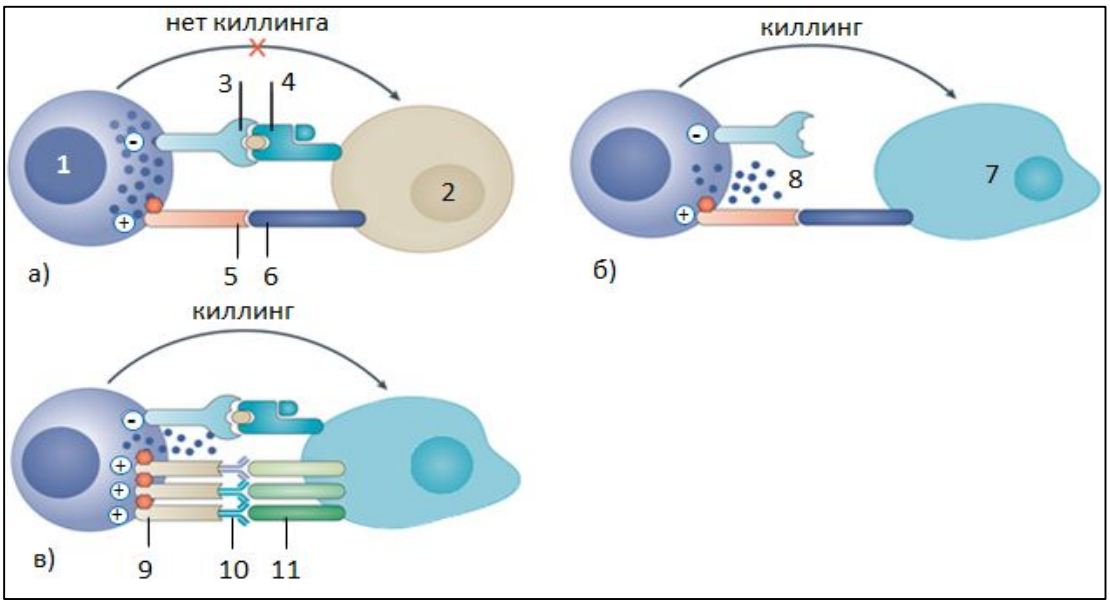


Рис.23. Варианты взаимодействия NK-клетки с клетками-мишенями. 1. NK-клетка; 2. Клетка-мишень; 3. Ингибиторный рецептор для MHC I класса; 4. Молекула MHC I класса; 5. Активационный рецептор; 6. Активационный лиганд; 7. Опухолевая клетка, утратившая MHC-I; 8. Цитотоксические вещества; 9. FcγR; 10. Fc-фрагменты IgG; 11. Опухолевые антигены.

Механизмы внеклеточного киллинга. По эффекторным механизмам NK-клетки близки к цитотоксическим Т-лимфоцитам. Это означает, что NK-клетки уничтожают клетки-мишени при помощи перфоринов и гранзимов, содержащихся в их гранулах. После образования иммунного синапса (прикрепления к поверхности клетки-мишени), начинается процесс дегрануляции NK-клетки, или выделение содержимого гранул путем экзоцитоза (рис. 24).

Белок перфорин, содержащийся в гранулах, внедряется в мембрану клетки-мишени, при полимеризации перфорина в мембране клетки-мишени образуются каналы, через которые проникают сериновые протеазы – гранзимы. Гранзимы активируют в клетке-мишени другие сериновые протеазы – каспазы, запускающих каскад внутриклеточных реакций, приводящий к активации эндонуклеаз, фрагментации ДНК и апоптозу клетки-мишени.

Другой механизм апоптоза клетки-мишени связан с белком гранулизином, который опосредованно нарушает проницаемость мембран митохондрий. Из митохондрий выходит цитохром С, активирующий

каспазы, которые активируют эндонуклеазы, наступает фрагментация ДНК и апоптоз клетки-мишени (рис. 24).

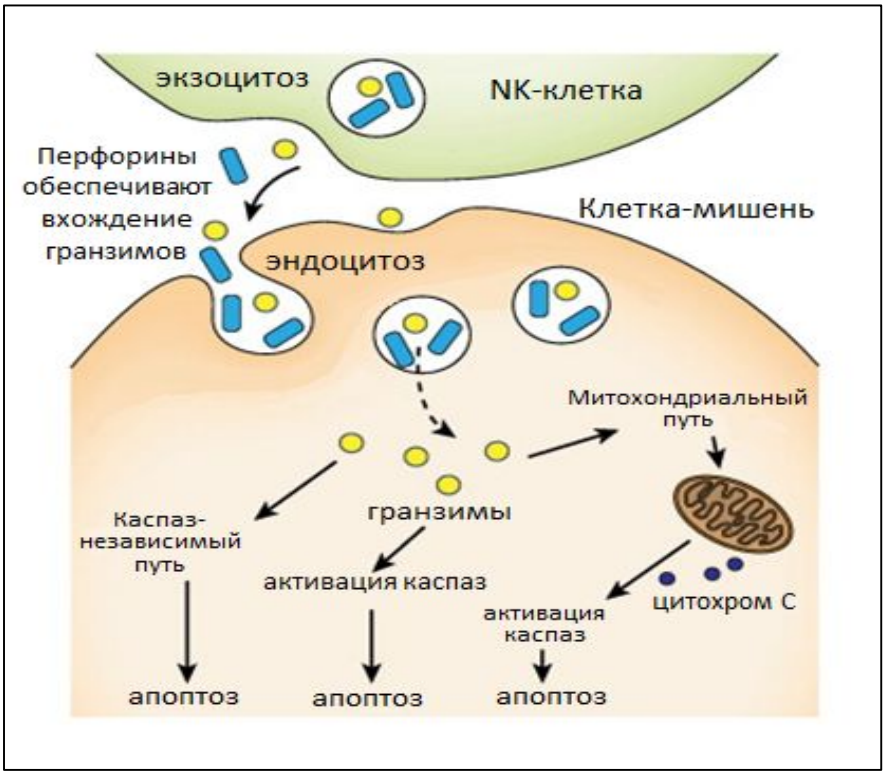


Рис. 24. Механизм уничтожения клетки-мишени NK-клетками

Необходимо отметить, что индукция апоптоза может осуществляться альтернативным путем (каспаз-независимый механизм апоптоза). После уничтожения клетки-мишени NK-клетка готова атаковать и уничтожать другие клетки-мишени.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ

1. РЕЦЕПТОРЫ КЛЕТОК ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА, РАСПОЗНАЮЩИЕ ПАТТЕРНЫ МОЛЕКУЛ МИКРООРГАНИЗМОВ

1) молекулы MHC I и II класса
2) Fc-рецепторы к Fc-фрагментам Ig
3) TOLL-подобные, NOD-подобные и RIG-подобные рецепторы
4) TCR и BCR

2. ДЕГРАДАЦИЯ (РАЗРУШЕНИЕ) ФАГОЦИТИРОВАННОГО ОБЪЕКТА ПРОИСХОДИТ С УЧАСТИЕМ

1) перфоринов и гранзимов
2) лизосомальных ферментов
3) хемоаттрактантов
4) опсонинов

3. КЛЕТОЧНОЕ ЗВЕНО ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРЕДСТАВЛЕНО

1) NK-клетками, Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами
2) макрофагами, гранулярными лейкоцитами, NK-клетками
3) Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами, макрофагами
4) гранулоцитами, мастоцитами, Т-лимфоцитами

4. ОСНОВНАЯ ФУНКЦИЯ ПОЛИМОРФНО-ЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ

1) выделение медиаторов воспаления
2) фагоцитоз, процессинг и презентация АГ Т-лимфоцитам
3) фагоцитоз опсонизированных микроорганизмов
4) участие в аллергических реакциях

5. СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫМИ АПК ЯВЛЯЮТСЯ

1) гранулярные лейкоциты
2) NK-клетки
3) тучные клетки
4) дендритные клетки

6. ПОСЛЕ ФАГОЦИТОЗА МИКРООРГАНИЗМОВ НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ЛЕЙКОЦИТЫ

1) способны к повторному фагоцитозу
2) дифференцируются в АПК
3) погибают путем апоптоза
4) выселяются в ткани

7. МИКРОБИЦИДНЫЕ ВЕЩЕСТВА, СОДЕРЖАЩИЕСЯ В ГРАНУЛАХ НЕЙТРОФИЛОВ

1) оксид азота, пероксид водорода, $HOCl^-$
2) лизоцим, лактоферрин, дефензины
3) гепарин, гистамин, лейкотриены
4) перфорин, гранзимы, гранулизины

8. ДЕГРАНУЛЯЦИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ПРИВОДИТ К

1) развитию доимунного воспаления
2) синтезу иммуноглобулинов
3) процессингу АГ
4) обновлению содержимого гранул

9. NK-КЛЕТКИ УНИЧТОЖАЮТ

1) простейших и гельминтов
2) неопсонизированные микроорганизмы
3) опухолевые клетки и клетки, инфицированные вирусом
4) опсонизированные микроорганизмы

10. NK-КЛЕТКИ УНИЧТОЖАЮТ КЛЕТКИ-МИШЕНИ ПРИ ПОМОЩИ

1) фагоцитоза
2) активных форм кислорода
3) лизосомальных ферментов
4) перфоринов и гранзимов

2.2. КЛЕТКИ АДАПТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

Факторы естественного иммунитета (первая линия обороны) эффективны в элиминации многих патогенов, однако их эффективности недостаточно. Многие мембранные молекулы микроорганизмов в процессе эволюции оказались «экранированными» (например, с помощью защитных капсул). В таких случаях запускается вторая линия защиты, связанная развитием адаптивного (приобретенного) иммунного ответа. Специфические (адаптивные) механизмы защиты обеспечиваются работой лимфоидной системы и делятся на **клеточные и гуморальные**.

Необходимо отметить, что для запуска адаптивного иммунного ответа необходима активация врожденного иммунитета, поскольку адаптивный иммунитет практически не располагает собственными эффекторными механизмами. Главным преимуществом адаптивного иммунного ответа над врожденным является формирование иммунологической памяти, которая резко повышает эффективность иммунной защиты при повторной встрече с АГ и фактически предотвращает развития патологического процесса.

Отличительные особенности врожденного и адаптивного иммунитета представлены в таблице 5.

2.2.1. Общая характеристика лимфоцитов

Ключевыми клетками адаптивного иммунного ответа по праву считаются лимфоциты, поскольку они обеспечивают гуморальный и клеточный иммунитет и регулируют деятельность клеток других типов, участвующих в защите организма. Они координируют и осуществляют иммунный ответ за счет продуцирования воспалительных цитокинов и антигенспецифических связывающих рецепторов, отвечают за формирование специфического иммунитета, осуществляют функцию иммунного надзора в организме, обеспечивают защиту от всего чужеродного, сохраняя генетическое постоянство внутренней среды.

Лимфоциты представляют собой разновидность лейкоцитов группы агранулоцитов, белых кровяных клеток и обладают уникальным свойством - способностью распознавать АГ. В крови взрослых людей они

составляют 20-40% (у детей – 50%) от общего количества лейкоцитов. В то же время кровь содержит только около 2% лимфоцитов, находящихся в организме, остальные 98 % находятся в тканях. Эти мононуклеары, в отличие от большинства других клеток крови, сохранили способность к пролиферации и дифференцировки

Таблица 5

Отличительные особенности специфического и неспецифического иммунного ответа

Виды иммунитета	Особенности иммунного ответа
Врожденный иммунитет	- реакция на антиген неспецифична; -столкновение с инфекцией приводит к немедленной максимальной реакции; -участие неспецифических клеточных и гуморальных факторов защиты; -не обладает иммунологической памятью.
Адаптивный иммунитет	реакция специфическая, привязанная к чужеродному антигену; -между контактом с инфекцией и максимальным ответом развивается латентный период; -участие специфических клеточных и гуморальных факторов защиты; -столкновение с чужеродным агентом приводит к формированию иммунологической памяти.

Лимфоциты – нефагоцитирующие лейкоциты, не имеют ферментативно-рецепторного аппарата фагоцитоза, что используется для дифференцировки лимфоидных и миелоидных клеток-предшественниц. В отличие от других видов лейкоцитов, лимфоциты способны не только проникать сквозь стенки капилляров в другие ткани, но и возвращаться обратно в кровь после выполнения своей функции. Живет лимфоцит, в среднем, 90 дней. Но могут встречаться лимфоциты, возраст которых достигает 20 лет.

Лимфоцит образуется из лимфобласта в костном мозге, так же как и другие клетки крови, несколько раз делится в процессе созревания. Однако в костном мозгу лимфоциты проходит лишь «общую подготовку», после чего окончательно созревает в тимусе, селезенке и лимфоузлах. На

окрашенных по Романовскому-Гимзе мазках крови (рис. 25) лимфоцит – округлая клетка различных размеров, имеющая крупное круглое, овальное или бобовидное ядро (у малых лимфоцитов чаще всего круглое). Цитоплазма лимфоцита окружает ядро в виде узкого светло-синего ободка, просветляющегося к ядру. У широкопротоплазменных лимфоцитов она бледно-голубая. У больших и средних лимфоцитов. протоплазменный ободок значительно шире. Зернистость в протоплазме обычно отсутствует, могут встречаться и азурофильные зерна темно-вишневого цвета.

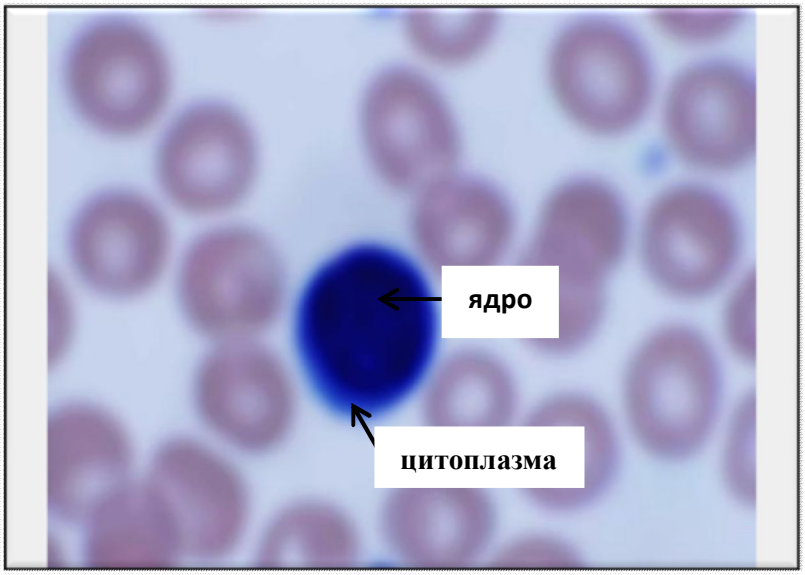


Рис 25. Лимфоцит нормальной крови человека

Лимфоциты делятся на группы по двум основным критериям – размеру и функции (таблица 6).

Таблица 6

Морфологические и функциональные признаки лимфоцитов

Размер лимфоцитов	Большие (диаметр 10 мкм и более)
	Малые (диаметр 4,5-6 мкм)
	Средние (диаметр 7-10 мкм)
Функциональная группа лимфоцитов	Т-лимфоциты
	В-лимфоциты
	NK-клетки

Малые лимфоциты составляют большую часть (85-90%) всех лимфоцитов крови человека. Большие лимфоциты встречаются в крови

новорожденных и детей. В крови здоровых взрослых людей находятся в основном малые лимфоциты. При электронной микроскопии в их ядрах выявляются небольшие выпячивания; гетерохроматин расположен преимущественно по периферии ядра. В цитоплазмазме обнаруживаются везикулы, лизосомы, свободные рибосомы, полисомы, митохондрии, аппарат Гольджи, центриоли, небольшое количество элементов гранулярной эндоплазматической сети. Среди малых лимфоцитов различают светлые и темные. При весьма сходной морфологии малые лимфоциты по функциональному признаку делятся на две популяции - В и Т-лимфоциты.

В-лимфоциты распознают чужие белковые структуры и участвуют в выработке АТ, обеспечивая гуморальный иммунный ответ.

Т-лимфоциты отвечают за цитотоксический клеточный иммунитет и контролируют работу В-лимфоцитов, ответственных за гуморальный иммунный ответ.

К большим лимфоцитам относятся *NK-лимфоциты, или натуральные киллеры* (10-12 мкм в диаметре), играющие важную роль в реализации врожденного иммунного ответа. Главное отличие NK-клеток от других популяций лимфоцитов - отсутствие антигенспецифических рецепторов, кодируемых генами, перестраиваемыми в процессе дифференцировки клеток (как это свойственно другим лимфоцитам). NK-клетки не относятся ни к зрелым Т- или В-лимфоцитам, ни к моноцитам. Они уничтожают те видоизмененные клетки организма (например, раковые клетки или другие дефектные клетки), которые не смогли распознать и уничтожить Т-лимфоциты (подробная характеристика NK-клеток представлена в разделе 2.1.7.).

2.2.2. В-лимфоциты

В – лимфоциты впервые были обнаружены в фабрициевой сумке птиц (bursa Fabricius), поэтому и получили соответствующее название. Они образуются у эмбриона человека из стволовых клеток – в печени и костном могзге, а у взрослого человека – в костном мозге. В-лимфоциты составляют около 15-18% всех лимфоцитов, находящихся в периферической крови. После распознавания специфического АГ эти

клетки размножаются и дифференцируются, трансформируясь в плазматические клетки. Плазматические клетки вырабатывают большое количество АТ (Ig), которые являются собственными рецепторами В-лимфоцитов в растворенном виде.

Главной функцией В-лимфоцитов является специфическое распознавание АГ, которое ведет к их активации, пролиферации и дифференцировке в плазматические клетки-продуценты специфических АТ – Ig-ов, т. е. к гуморальному иммунному ответу. Чаще всего В-лимфоциты для развития гуморального иммунного ответа нуждаются в помощи Т-лимфоцитов в виде продукции активирующих цитокинов. Каждая В-клетка генетически запрограммирована на синтез молекул Ig, встроенных в цитоплазматическую мембрану. Ig функционируют как антигенраспознающие рецепторы, специфичные к определенному АГ. На поверхности каждого В-лимфоцита экспрессируется около ста тысяч молекул рецепторов. Встретив и распознав АГ, соответствующий структуре антигенраспознающего рецептора, В-клетки размножаются и дифференцируются в плазматические клетки, которые образуют и выделяют в растворимой форме АТ. Благодаря своей идентичности исходным рецепторным молекулам они взаимодействуют с тем АГ, который первоначально активировал В-клетки, проявляя, таким образом, строгую специфичность. Необходимо отметить, что АТ формируются до появления АГ, и АГ сам отбирает для себя АТ, распознающие его с высокой эффективностью.

Выделяют несколько субпопуляций В-лимфоцитов:

- В1 – лимфоциты;
- В2 – лимфоциты;
- В – лимфоциты маргинальной зоны.

Деление В-лимфоцитов на субпопуляции В1 и В2 зависит от их способности экспрессировать Т-клеточный маркер-CD5. Большинство В-лимфоцитов не несут данный АГ – это В2-лимфоциты или «обычные» лимфоциты. На долю В-1 клеток, экспрессирующих CD5, приходится 20% от числа В-лимфоцитов.

В2-лимфоциты являются основными клетками адаптивного гуморального иммунитета. Они локализуются преимущественно в

селезенке, костном мозгу, лимфоузлах, пейеровых бляшках и отдельных фолликулах лимфоидной ткани кишечника. Гистологическая единица, являющаяся местом сосредоточения В2-клеток – лимфоидный фолликул. В связи с этим В2-клетки иногда называют фолликулярными В-лимфоцитами. Эти клетки составляют подавляющее большинство циркулирующих В-лимфоцитов и играют основную роль в гуморальном иммунном ответе. Необходимо отметить, что практически все данные о В-лимфоцитах получены на В2-клетках. Именно эти В-клетки будут разобраны в данной главе.

В1-лимфоциты и В-лимфоциты маргинальной зоны участвуют в формировании первой линии иммунной защиты и являются промежуточным звеном от врожденного к адаптивному иммунитету (подробная характеристика этих субпопуляций представлена в разделах 2.2.5.3 и 2.2.5.4.).

Дифференцировка В2-лимфоцитов

Созревание В-лимфоцитов в эмбриональном периоде происходит в печени. Предшественники В-лимфоцитов обнаружены в островках гемопоэтической ткани эмбриональной печени на 8-9-й неделе внутриутробного развития. После рождения исходные стволовые клетки перемещаются в костный мозг, здесь и происходит дальнейшее образование зрелых В-лимфоцитов с высокой скоростью – 100 млн. клеток в сутки.

Весь путь развития В2-лимфоцитов от стволовой кроветворной клетки (СКК) до плазмоцита включает несколько стадий и процессов: формирование В-клеточного рецептора (B-Cell Receptor – BCR): экспрессию генов молекул, обеспечивающих проведение сигнала с BCR внутрь клетки; экспрессию генов мембранных молекул, необходимых для взаимодействия с другими клетками (в первую очередь с Т-лимфоцитами и дентритными клетками); экспрессию на мембране корецепторных комплексов. В процессе дифференцировки В-лимфоцитов выделяют два основных этапа – антигензависимую и антигеннезависимую дифференцировку (рис 26).

Антигеннезависимая дифференцировка В-лимфоцитов в течение всего постэмбрионального периода происходит в костном мозге под контролем клеточного мозгового микроокружения и гуморальных факторов костного мозга и не определяется контактом с АГ.

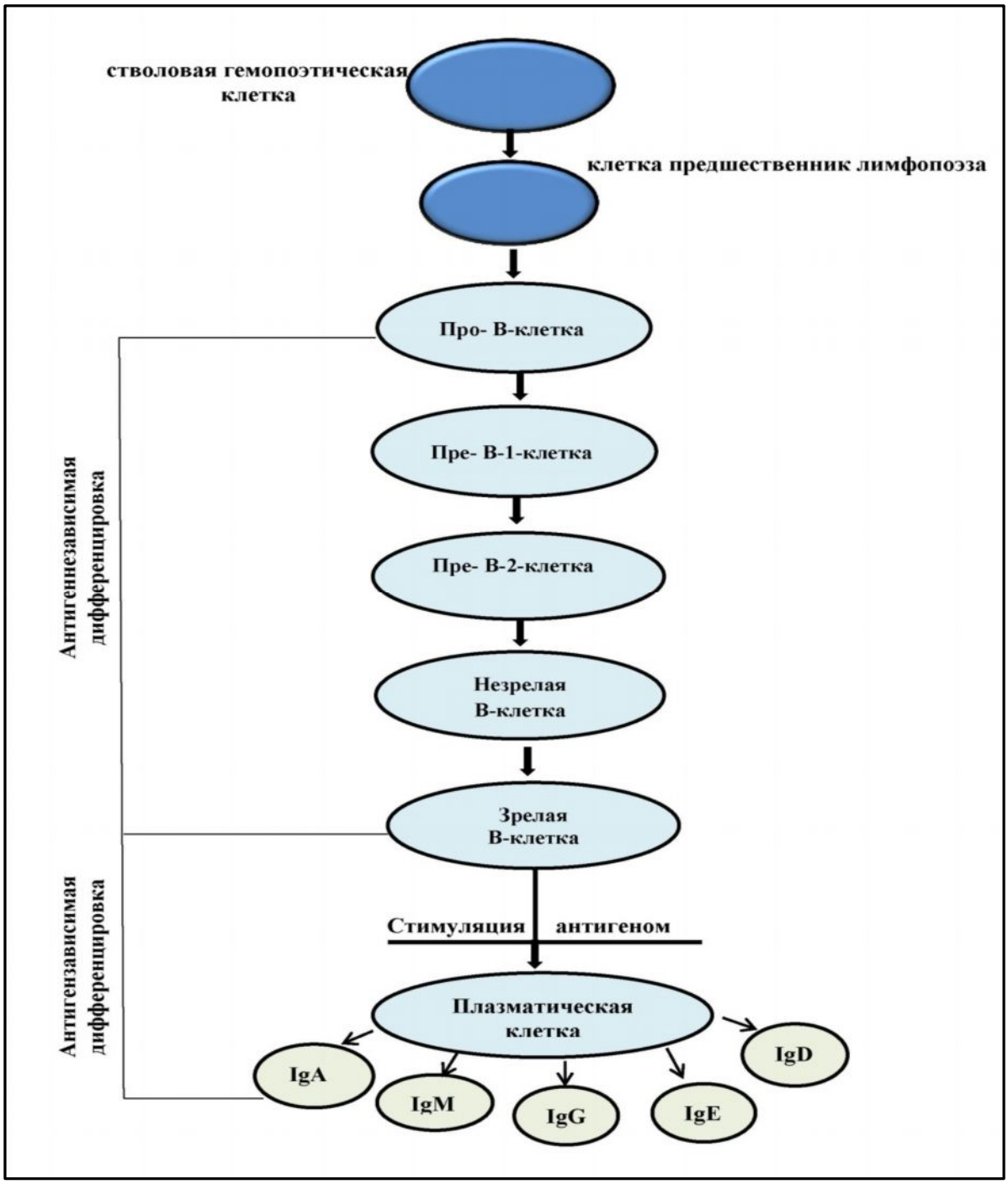


Рис 26. Стадии дифференцировки В2-лимфоцитов

Взаимодействие наиболее ранних предшественников В-клеток (ранних про-В-лимфоцитов) со стромальными элементами осуществляется с помощью поверхностных адгезивных молекул CD44, c-kit и фактора

стволовых клеток (Stem cell factor – SCF). В результате этих контактов происходит усиление пролиферации В-лимфоцитов и переход их на следующую стадию развития – поздних про-В-клеток. На поверхности поздних про-В-клеток экспрессируется рецептор к ИЛ-7, под влиянием которого про-В-лимфоциты пролиферируют и дифференцируются в ранние пре-В-клетки. Для этих клеток характерно наличием в их цитоплазме мембранной (m) полипептидной цепи Ig.

В дальнейшем эти клетки трансформируются в малые пре-В-лимфоциты, у некоторых из которых в цитоплазме помимо m-тяжелой (H - heavy) полипептидной цепи выявляются легкие (L - *light*) цепи Ig. Легкие цепи содержат 2, а тяжелые – 4-5 гомологичных сегмента – **домена**.

На следующей стадии развития В-лимфоцитов происходит экспрессия мембраносвязывающего IgM (mIgM). Эти структуры и являются антигенраспознающими рецепторами В-клеток. Далее происходит экспрессия на клетках mIgD. С экспрессией на лимфоцитах mIgD завершается этап антигеннезависимого созревания В-клеток.

На зрелых В-лимфоцитах поверхностные Ig-молекулы представлены IgM и IgD. На одной В-клетке одновременно присутствовуют оба типа молекул, причем они имеют одинаковую специфичность, и, возможно, что эти антигенные рецепторы могут взаимодействовать между собой, осуществляя контроль за активацией лимфоцитов и их супрессией. mIg – специфический маркер В-клеток, поскольку он экспрессируется на всех зрелых В-лимфоцитах и отсутствует на других клетках.

Антигенная специфичность рецепторов генетически детерминирована и определяется первичной структурой антигенраспознающих доменов, называемых вариабельными, или V-доменами (от variable). При этом все Ig, представленные на одной В-клетке, имеют одинаковый идиотип, так как кодируются одними и теми же V-генами.

Конечная стадия антигеннезависимой дифференцировки – образование зрелого В-лимфоцита. Он характеризуется наличием двух мембранных рецепторов, обладающих одной антительной специфичностью: mIgM и mIgD, способных распознать только «свой» АГ.

Формированием рецепторного mIgD завершается процесс антигеннезависимой дифференцировки предшественника В-лимфоцита в зрелый В-лимфоцит.

Таким образом, основное событие дифференцировки В-клеток – формирование BCR, а точнее, лежащая в его основе перестройка V-генов Ig. Компоненты BCR представлены на рисунке (27).

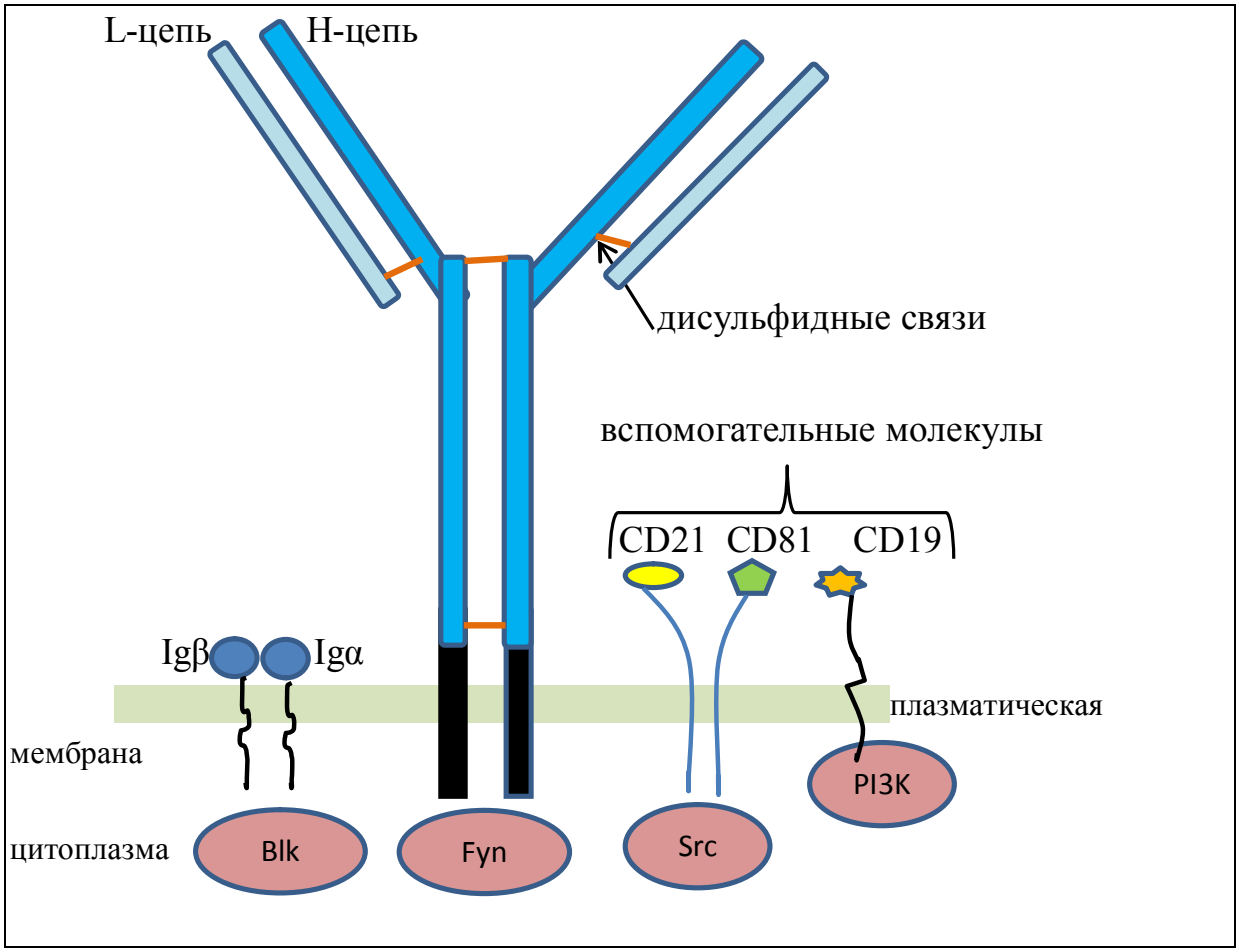


Рис 27. Компоненты В-клеточного рецептора (BCR)

В состав BCR помимо мембранной формы Ig (M или D) входит еще несколько молекул, относящихся к суперсемейству Ig. Две из них - CD79α и CD79b - составляют интегральную часть BCR, еще три - CD19, CD21 и CD81 функционально ассоциированы с ним и формируют физическую связь с BCR только при активации клетки. Варианты молекул CD79- α и b - называют еще Igα и Igβ. При помощи нековалентных связей они формируют гетеродимеры, связанные с мембранным Ig. Эти молекулы имеют сходные размеры и молекулярную массу (около 40 кДа). Каждый

гетеродимер содержит экстрацеллюлярный Ig-подобный сегмент, мембранный участок и цитоплазматический хвост, который связан с внутриклеточными сигнальными молекулами. Гетеродимеры Ig-α/Ig-β участвуют в трансдукции сигнала с Ig в ядро клетки. Дефектность этих молекул нарушает проведение сигнала с рецептора внутрь клетки.

CD19 играет важную сигнальную функцию, поскольку эта молекула связана с киназой PI3K. CD21 – рецептор для компонентов комплемента (CR2), участвующий в усилении АГ сигнала, а также в регуляции активности В-лимфоцитов. CD81 относят к тетраспанинам (4 раза пронизывают мембрану). Функция этой молекулы точно не определена.

С цитоплазматическими участками мембранного Ig связана тирозинкиназа Fyn, а с молекулами CD79, CD19 и CD81 – тирозинкиназы Blk, Lyn, Lck, а также Syk, участвующие в передаче активационного сигнала. Кроме того, около цитоплазматической части молекулы CD19 располагается липидная киназа PI3K (фосфатидилинозитол3-киназа). Такое обилие сигнальных ферментов, связанных с BCR, обеспечивает запуск и передачу активационных сигналов при связывании АГ.

Молекулы, связанные с BCR, рассматривают как маркеры В-лимфоцитов и их экспрессию определяют (с помощью моноклональных АТ) для подсчета численности В-клеток. Однако строгоспецифичной для В-лимфоцитов является только молекула CD19. Маркером фолликулярных В2-клеток является мембранная молекула CD23.

В-клетки экспрессируют также многочисленные рецепторы для цитокинов, из которых наиболее важны рецепторы для IL-4, IL-5, IL-6, IL-2, IL-1, IL-10 и др. На их поверхности присутствуют рецепторы для цитокинов семейства TNF: BAFF (*B-cell activating factor of TNF family*) - BAFF-R, BCMS, TAC-1, а также APRIL (*A proliferation inducing ligand*) - HSPG. Эти цитокины защищают В-клетки от развития апоптоза и выполняют гомеостатическую функцию, поддерживая численность этих клеток на постоянном уровне. На В-лимфоцитах также представлены рецепторы для хемокинов: CXCR4,5 (от англ. C-X-C chemokine receptor), CCR3,6 (C-C chemokine receptor). Например, CCR3 это высокоаффинный рецептор для следующих хемокинов: эотаксин (CCL11), эотаксин-3 (CCL26), MCP-3 (CCL7), MCP-4 (CCL13) и RANTES (CCL5). Кроме этого,

он также связывается с хемокинами CCL4 (MIP-1 бета) и CCL2 MCP-1, участвует в аккумулировании эозинофилов, базофилов и других провоспалительных клеток в воздушных путях при аллергической реакции и, возможно, на участках паразитической инфекции и может служить ко-рецептором вируса HIV-1 наряду с CD4.

На поверхности В-клеток, начиная со стадии про-В-клеток, экспрессируются также молекулы главного комплекса гистосовместимости (ГКС) I и II класса, а также костимулирующие молекулы CD40, CD86, а при активации - молекулы CD80. Благодаря экспрессии этих молекул В-лимфоциты могут выполнять роль «профессиональных» АПК. Кроме того, В-клетки экспрессируют молекулы адгезии (β1-интегрины VLA-2 и VLA-4, β2-интегрин LFA-1, L-селектин CD62L и др.), позволяющие им мигрировать из сосудов и перемещаться в тканях.

Рецепторы к С3 компоненту комплемента (RC3b) и Fc- фрагменту Ig (RFc) впервые обнаруживаются в небольшом количестве на незрелых В-клетках. На зрелых клетках эти молекулы имеют большую плотность и легко выявляются. Количество этих рецепторов на зрелых клетках составляет около 10^5 молекул.

В костном мозге в процессе развития В-лимфоцитов происходит селекция клонов, способных реагировать только на чужеродные АГ. Клетки, экспрессирующие Ig рецепторы к своим собственным АГ, либо погибают в результате запуска механизма апоптоза, либо переходят в состояние ареактивности (анергии). Апоптоз развивается в тех случаях, когда распознавание АГ как «своего» происходит на поверхности клетки. Распознавание свободного АГ приводит к анергии. В результате реализации механизма отрицательной селекции в В-клеточной популяции формируется толерантность к собственным АГ.

В-клетки, прошедшие полную программу развития в костном мозге, покидают его и мигрируют на периферию, где заселяют В-зоны лимфоидных органов и лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистыми покровами, где их дифференцировка «замораживается» до встречи с соответствующим АГ. Хоминг лимфоцитов к соответствующим зонам определяется их поверхностными адгезивными молекулами (селектинами, интегринами, адгезинами суперсемейства Ig-ов,

муциноподобными молекулами).

Антигензависимая стадия развития В-лимфоцитов начинается с момента контакта этих клеток с Аг (в том числе - аллергеном). В результате происходит активация В-лимфоцитов, протекающая в два этапа: пролиферации и дифференцировки. Пролиферация В-лимфоцитов обеспечивает два важных процесса:

1. Увеличение числа клеток, дифференцирующихся в ***плазматические клетки,*** продуцирующие АТ (Ig). Плазматические клетки это результат конечной дифференцировки В-лимфоцитов. Они не имеют на наружной мембране рецепторов для АГ, осуществляют интенсивный синтез Ig-ов (один плазмоцит может продуцировать 3000 молекул АТ в сутки). Продолжительность жизни плазмоцитов составляет несколько недель. После завершения продукции АТ плазмоциты прекращают свое существование.

Процессы деления и специализации В-клетки осуществляются не только под влиянием АГ, но и при обязательном участии Т-лимфоцитов-хелперов, а также выделяемых ими и фагоцитами цитокинов: факторов роста и дифференцировки. Поскольку лимфоцит запрограммирован на синтез АТ только одной специфичности, АТ, секретируемые плазматической клеткой, будут идентичны своему оригиналу, т.е. поверхностному рецептору лимфоцита и, следовательно, будут хорошо связываться с АГ. Так АГ сам отбирает АТ, распознающие его с высокой эффективностью.

2. Образование **В-лимфоцитов иммунологической памяти**. Эти клоны В-клеток представляют собой долгоживущие рециркулирующие малые лимфоциты. Они не превращаются в плазматические клетки, но сохраняют иммунную «память» об АГ. Клетки памяти активируются при повторной их стимуляции тем же самым АГ. В этом случае В-лимфоциты памяти (при обязательном участии Т-клеток-хелперов и ряда других факторов) обеспечивают быстрый синтез большого количества специфических АТ, взаимодействующих с чужеродным АГ, и развитие эффективного иммунного ответа или аллергической реакции.

Таким образом, обладая функциями клеток адаптивного иммунитета, В2-лимфоциты играют важную роль в гуморальном иммунном ответе, а

именно:

- способны дифференцироваться в плазматические клетки и продуцировать АТ, которые обеспечивают эффективную защиту от внеклеточных паразитов (бактерий) и токсинов;
- выполняют роль АПК;
- продуцируют IL-12, который активирует NK-клетки и «наивные» Т-лимфоциты;
- участвуют в регуляции гемостаза.

Клиническое значение. Информативность определения содержания В-лимфоцитов как отдельно взятого показателя невелика в связи с их замедленной и непостоянной реакцией на развитие воспалительного процесса. Довольно часто воспалительный процесс протекает без повышения В-лимфоцитов. Стойкое их повышение характерно для аутоиммунных заболеваний.

Норма $CD19^+$лимфоцитов *для взрослых - 6-18% или 0,15 – 0,45x10^9/л; для детей - 12-20% или 0,25 – 0,45x10^9/л.*

В ответ на введение АГ иммунная система вырабатывает АТ – белки, способные специфически соединяться с АГ, вызвавшим их образование, и таким образом участвовать в иммунологических реакциях.

Относятся АТ к γ-глобулинам, т. е. наименее подвижной в электрическом поле фракции белков сыворотки крови. В организме γ-глобулины вырабатываются особыми клетками - плазмоцитами. γ-глобулины, несущие функции АТ, получили название иммуноглобулинов и обозначаются символом Ig.

Первичная функция Ig состоит во взаимодействии их активных центров с комплементарными им детерминантами антигенов. Вторичная функция состоит в их способности:

• связывать АГ с целью его нейтрализации и элиминации из организма, т. е. принимать участие в формировании защиты от АГ;
• участвовать в распознавании «чужого» АГ;
• обеспечивать кооперацию иммунокомпетентных клеток (макрофагов, Т- и В-лимфоцитов);

• участвовать в различных формах иммунного ответа (фагоцитоз, киллерная функция, ГНТ, ГЗТ, иммунологическая толерантность, иммунологическая память).

Характеристика классов Ig

Известно 5 классов Ig (G, M, A, E, D). Субклассы имеются у IgG и у IgA. Варианты классов и подклассов Ig по тяжелым цепям называют изотипами Ig. У человека 9 изотипов Ig (M, G1, G2, G3, G4, A1, A2, E, D).

IgG – мономерный белок, единственный из Ig, проникающий через плаценту в организм плода и обеспечивающий защиту ребенка от инфекции в первые недели жизни. Он участвует в антибактериальном лизисе, противовирусной защите, опсонизации, агглютинации. Содержится в сыворотке крови, молозиве. IgG неоднороден по строению Fc-фрагмента и делится на 4 субкласса (Gl,G2,G3,G4). Являясь тимусзависимыми, IgG вырабатываются лишь при обязательном участии Т–лимфоцитов.

IgM – это АТ острого периода иммунного ответа, которые синтезируются плазматическими клетками при первом контакте с определенным патогеном. IgM по строению пентамер и имеет сразу 10 центров связывания АГ, что особенно актуально именно в острый период инфекции, когда существует необходимость в быстром распознавании и уничтожении большого количества патогена. Этому требованию отвечает и наиболее сильная среди всех Ig способность IgM активировать комплемент, что обеспечивает реализацию комплемент-зависимой цитотоксичности. Секреторная форма IgM обнаруживается в небольших количествах в некоторых секреторных тканях, например, в секрете околоушных желез.

IgA – это основной Ig слизистых оболочек, содержится в секреторных жидкостях (слюне, молозиве и др.) и играет особую роль в обеспечении местной защиты слизистой бронхов, кишок, носа от инфекционных патогенов (вирусных, бактериальных). Имеется 2 подкласса IgA (A1и A2). В отличие от IgM и IgG, IgA не активирует комплемент по классическому пути и не вызывает выделение медиаторов воспаления. Различают сывороточную IgA и секреторную формы (sIgA).

Дефицит sIgA может быть связан как со снижением концентрации сывороточной формы, которая является предшественницей секреторной, так и с нарушением деятельности эпителия, где для IgA синтезируется секреторный компонент, защищающий молекулу Ig от расщепления пищеварительными ферментами. Поэтому для адекватной оценки обмена IgA необходимо проводить параллельное исследование уровней его сывороточных и секреторных форм. При дефиците sIgA отмечается высокая восприимчивость к инфекциям (особенно вирусной природы), входные ворота которых формируются на слизистых оболочках. Недостаточность этого Ig является причиной хронического вирусного лимфаденита и тимомегалии. Кроме того, дефицит sIgA может лежать в основе сочетанных воспалительных процессов на слизистых различных органов (например, хронического гайморита и гастродуоденита), что является результатом нарушения поддержании иммунной памяти иммунной солидарности слизистых оболочек.

IgE – является АТ второго уровня защиты слизистых оболочек. Он значительно отличается от других АТ, прежде всего, своей цитотоксичностью. Если патоген преодолевает защитный барьер sIgA, он распознается Ig-ми класса Е, которые продуцируется в миндалинах, лимфоузлах, солитарных лимфатических фолликулах, что приводит к дегрануляции тучных клеток и развитию воспаления слизистой оболочки. Другими словами, механизм, связанный с деятельностью IgE, является альтернативой нейтрализующему эффекту sIgA. Кроме того, Ig E играет ключевую роль в антипротозойном и противогельминтном иммунитете. Плохую репутацию у клиницистов IgE получил благодаря участию в атопических реакциях.

IgD – это Ig с неустановленной функцией. В основном IgD присутствует на клеточных мембранах В-лимфоцитов и в качестве АГ рецептора участвует в В-клеточной активации. Его биологические свойства изучены недостаточно. Он обнаруживается в составе АТ к пенициллину, инсулину и дифтерийному токсину. Плазматические клетки, секретирующие IgD, локализуются преимущественно в миндалинах и аденоидной ткани.

Нормальные значения Ig в сыворотке крови взрослого человека

представлены в таблице 7.

Возрастные нормы концентрации Ig в сыворотке крови у детей представлены в таблице 8.

Таблица 7

Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови взрослого человека в норме

Показатель	Значение
Ig A	0,5-4,1 г/л
Ig M	0,6-2,8 г/л
Ig G *IgG1* *IgG2* *IgG3* *IgG4*	6,5-15,0 г/л *70%* *20%* *6%* *4%*
Ig D	0,03-0,05 г/л
Ig E	20-100 кЕ/л

Таблица 8

Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови у детей разного возраста в норме

Возраст	IgG г/л	IgA г/л	IgM, г/л	IgE, мг/л
5-11 месяцев	3,4-9,4	0,20-0,80	0,40-1,30	0-90
1 год	5,0-10,8	0,35-1,35	0,42-1,37	0-105
2-3 года	5,7-10,8	0,33-1,13	0,49-1,11	0-170
4-5 лет	5,9-9,8	0,41-0,93	0,47-0,93	15-190
6-8 лет	6,5-12,8	0,74-1,84	0,63-1,41	20-240
9-11 лет	6,3-12,7	1,03-2,65	0,60-1,60	20-290

Определение уровня Ig-ов продолжает оставаться важным и надежным методом гуморального звена иммунной системы и является главным методом диагностики всех форм ИДС, связанных с нарушением синтеза АТ. ***Клинические ситуации,*** при которых чаще всего отмечается отклонения уровня основных классов Ig-ов от нормы, отражены в таблице 8.

Таблица 8

Клиническое значение отклонения концентрации основных классов иммуноглобулинов от нормы

Увеличение концентрации Ig A, M, G	**Снижение концентрации Ig A, M, G**
- острые и хронические бактериальные, грибковые и паразитарные инфекции - хронические заболевания почек - аутоиммунные заболевания -хронический лимфолейкоз -миеломная болезнь - болезнь Вальденстрема	- болезнь Брутона -транзиторная гипогаммаглобулинемия -общий вариабельный иммунодефицит -новообразования иммунной системы -спленэктомия -гипопротеинемия -острая вирусная (Ig A) и хроническая (для Ig M, G) инфекция -лечение иммунодепрессантами -химиотерапия -действие ионизирующего излучения - синдром Вискотта-Олдрича (Ig M) -селективные иммунодефициты (в зависимости от формы)
Повышение уровня Ig E	**Снижение уровня Ig E**
- аллергические заболевания -алкогольный цирроз печени -инфекционный мононуклеоз -целиакия -гельминтозы -синдром Вискотта-Олдрича -синдром гиперпродукции Ig E -некоторые васкулиты (гранулематоз Вегенера, болезнь Кавасаки, синдром Чарга-Стросса) - атопическая бронхиальная астма -алергический бронхолегочный аспергиллез	- синдром Луи-Бар

Возрастные и гендерные особенности показателей адаптивного гуморального иммунитета

При рождении содержание АТ низкое, затем оно быстро увеличивается в 20 раз и достигает максимума в возрасте 5-10 лет, а затем медленно снижается, приближаясь в 80 лет к величинам первого года жизни. Вырабатываемые в старости АТ качественно отличаются - это, главным образом, АТ класса М, выработка АТ класса G и А существенно уменьшена. Это приводит к тому, что снижается регенеративная способность тканей и органов, и это сразу обозначается на коже и слизистых оболочках организма. Например, у старого человека рана заживает в 3-5 раз медленнее, чем у молодого. Старые люди чаще болеют вирусными заболеваниями, а также заболеваниями бронхолегочной системы. С другой стороны, в преклонном возрасте повышается уровень Ig-ов, т.е. организм вырабатывает АТ к собственным клеткам. Поэтому с возрастом увеличивается риск возникновения аутоиммунных заболеваний. Выработка IgE с возрастом уменьшается, проявление аллергических реакций при старении смягчается, поэтому контакт с АГ может проходить благополучно у лиц, у которых ранее была аллергическая реакция.

У юношей андрогенная стимуляция вызывает увеличение абсолютного числа В-лимфоцитов ($CD19^+$). У девушек усиление гуморального звена иммунитета связано с повышением количества и активизацией Th2. С возрастом относительное содержание В-лимфоцитов увеличивается.

2.2.3. Т-лимфоциты

Т-лимфоциты (*Т-клетки)* – это лимфоциты, развивающиеся у млекопитающих в тимусе из предшественников – претимоцитов, поступающих в него из красного костного мозга.

Обозначение Т-лимфоцитов происходит от первой буквы названия thymus – тимус, или вилочковая железа. Находясь в тимусе Т-клетки приобретают поверхностные рецепторы к различным АГ, после чего выходят в кровь и заселяют периферические лимфоидные органы. Здесь эти еще незрелые клетки могут реагировать на АГ, к которым уже имеют рецепторы, пролиферацией с последующей дифференцировкой в Т-лимфоциты. Важной особенностью Т-лимфоцитов является способность

распознавать только антигенпрезентированные (представленные) на поверхности вспомогательных АПК (дендритных, макрофагов или В-лимфоцитов) в комплексе с собственными АГ МНС.

Т-лимфоциты ответственны за клеточный иммунный ответ, к ним относят 70—80% всех лимфоцитов крови. Больше всего Т-клеток находится в тимусе и грудном лимфатическом протоке, где они составляют соответственно 95-100% и 80-90%, в крови и в лимфатических узлах их 55-85%, в селезенке и лимфоидной ткани слизистых оболочек - 25-40% (тимусзависимые зоны). Вне Т-зон Т-лимфоциты непосредственно соседствуют с В-клетками.

Дифференцировка Т-лимфоцитов

Весь путь развития Т-лимфоцитов от СКК до зрелых Т-лимфоцитов включает несколько этапов и процессов: формирование Т-клеточного рецептора (T-Cell Receptor – TCR): экспрессию генов молекул, обеспечивающих проведение сигнала с TCR внутрь клетки; экспрессию генов мембранных молекул, необходимых для взаимодействия с другими клетками (дентритными клетками, макрофагами, В-клетками); экспрессию на мембране корецепторных комплексов.

В процессе дифференцировки Т-лимфоцитов выделяют два основных этапа – антигензависимый и антигеннезависимый (рис.28)

Антигеннезависимая дифференцировка Т-лимфоцитов

Родоначальной клеткой Т-лимфоцитов, как и всех клеток крови, является плюрипотентная стволовая гемопоэтическая клетка. Ее маркером является молекула CD34. Предшественники Т-лимфоцитов обнаружены в островках гемопоэтической ткани эмбриональной печени на 8-й неделе внутриутробного развития. На 9-й неделе протимоциты колонизируют тимус. Еще в период эмбрионального развития в тимусе создается микроокружение, имеющее значение для дифференцировки Т-лимфоцитов. В субкапсулярной зоне из протимоцитов образуются тимоциты, которые под влиянием тимических гормонов (α- и β-тимозины, тимулин, тимопоэтин, тимический гуморальный фактор), «клеток нянек», эпителиальных клеток тимуса активно пролиферируют и приступают к дальнейшей дифференцировке.

По мере созревания тимоциты перемещаются в более глубокие зоны коры, где за счет реаранжировки генома у них формируются специфические рецепторы Т-клеток (TCR) для распознавания различных АГ. Причем, для каждого АГ в организме предназначен отдельный лимфоцит или его клональные дочерние лимфоциты-потомки, которые имеют специфичный антигенраспознающий TCR.

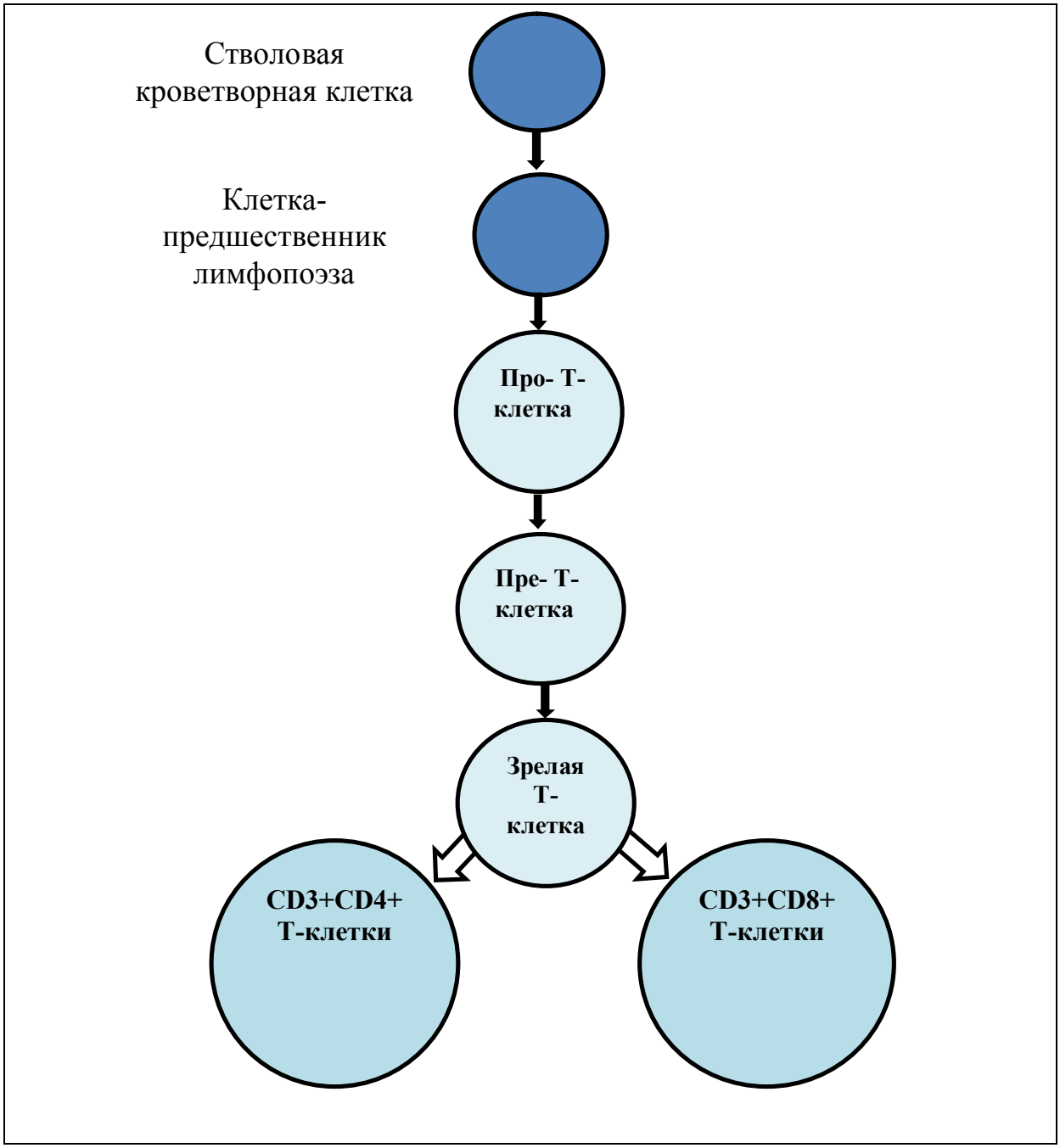


Рис.28. Стадии антигеннезависимой дифференцировки αβТ-лимфоцитов

Кроме того, тимоциты одновременно с TCR в процессе дифференцировки приобретают специфический мембранный маркер CD3, который тесно связан с TCR. CD3 необходим для передачи сигнала от TcR в цитоплазму.

По своему строению молекулы TCR напоминают Ig-ны (Fab-фрагмент) и состоят из α и β - цепей (их подавляющее большинство) или γ и δ - цепей. αβ- и γδ – формы TCR весьма сходны по структуре (рис. 29). Каждая цепь TCR состоит из двух областей (доменов): наружный вариабельный (V) , внутренний – константный (C).

Отдельные гены, кодирующие всю вариабельную область (V) α и β цепей TCR , отсутствуют. Фрагменты вариабельных доменов кодируются тремя группами генов обозначаемых V, D, J. В клеточном геноме гены, кодирующие V-, J- и D-сегменты вариабельной области, представлены в виде многочисленных вариантов. Именно различные сочетания V-, J- и D сегментов V области, образующиеся в процессе генной перестройки, называемой реаранжировкой, обеспечивают разнообразие молекул TcR.

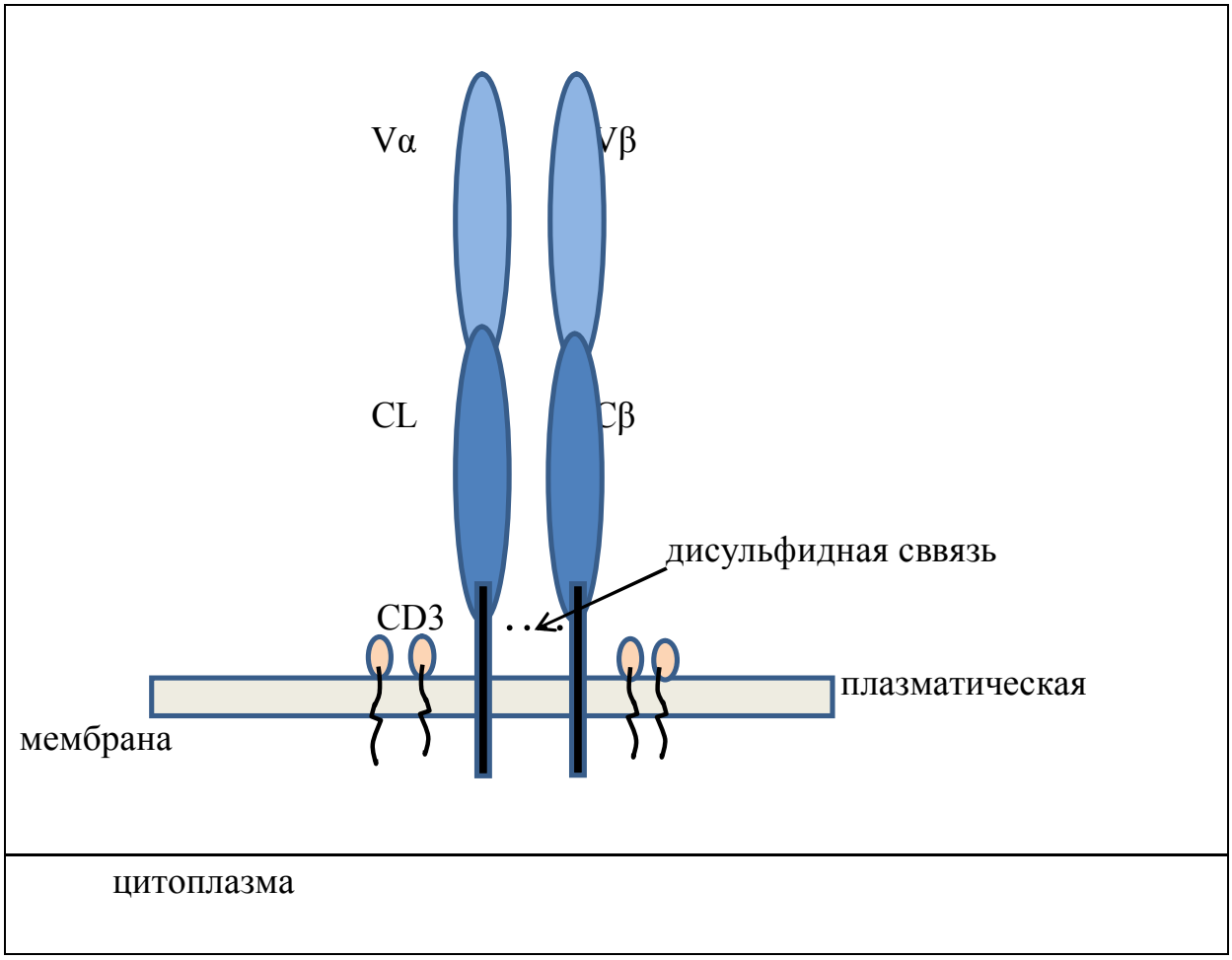


Рис.29. Строение αβТ-рецептора

Таким образом, ограниченное число генов (около 400) может кодировать рецепторы для почти бесконечного числа АГ (многих миллионов). Причем различные комбинации генов V, D, J-сегментов – это только один из способов достижения многообразия антигенраспознающих рецепторов Т-лимфоцитов.

Следующий важный этап созревания корковых тимоцитов – экспрессия молекул корецепторов $CD4^+$ и $CD8^+$, после которого они становятся двойными позитивными Т-клетками. Двойные позитивные Т-клетки проходят тимическую селекцию, состоящую из двух фаз:

- первая фаза – *положительная селекция*;
- вторая фаза – *отрицательная селекция.*

В фазу положительной селекции тимоциты взаимодействуют с молекулами МНС I и II класса на поверхности корковых эпителиоретикулоцитов, что играет важную роль в обучении клеток распознавать «свое» и «чужое». Тимоциты, TCR которых не смогли распознать молекулы МНС I и II класса, погибают апоптозом и разрушаются макрофагами. Тимоциты, прошедшие положительную селекцию, перемещаются в мозговое вещество, где взаимодействуют с молекулами МНС I и II класса на поверхности дендритных клеток.

В результате отрицательной тимической селекции формируются мозговые тимоциты, или одиночные позитивные Т-клетки, у которых сохраняется экспрессия одного из корецепторов – либо CD4+ либо CD8+. Аутореактивные Т-клетки в фазу отрицательной селекции погибают путем апоптоза и уничтожаются макрофагами. 90-95% тимоцитов не проходят тимическую селекцию и погибают в тимусе. После такой селекции путем подтверждения адекватности корецептора клетка приобретает функциональные свойства, соответствующие ее назначению.

Так, $CD8^+$Т-клетки (Т-киллеры) приобретают способность формировать цитолитический молекулярный комплекс, что обеспечивает функционирование такой Т-клетки в качестве цитотоксического

Т-лимфоцита (ЦТЛ). В CD4+ Т-лимфоцитах (Т-хелперах) формируются внутриклеточные механизмы, необходимые для выполнения «хелперной» функции, прежде всего – способность активно вырабатывать цитокины при активации. Развитие Т-клеток в тимусе длится около 20 сут.

Т-клетки, прошедшие тимическую селекцию (5-10%), являются функционально зрелыми, они покидают тимус через кровеносные сосуды кортико-медуллярной зоны, и с током крови заселяются в периферические органы иммунной системы. Следует отметить, что созревшие тимоциты довольно долго (7–14 сут.) не покидают тимус, пребывая преимущественно в наружных слоях мозгового слоя, богатых дендритными клетками. В этот период завершается формирование аутотолерантности и Т-клетки приобретают свойства, важные для поддержания их жизнеспособности вне тимуса. Вследствие активации сиалилтрансфераз происходит сиалирование мембранных гликопротеинов, защищающее лимфоциты от поглощения макрофагами.

Созревшие Т-лимфоциты начинают экспрессировать набор мембранных молекул адгезии и рецепторов для хемокинов (селектин L (CD62L), β7-интегрины, хемокиновый рецептор CCR7 и рецептор SIP-1 для сфингозин-1-фосфата), необходимые для направленной миграции клеток в специализированные участки иммунной системы и для последующей рециркуляции. Мигрирующие из тимуса неиммунные Т-лимфоциты (наивные Т-лимфоциты) являются короткоживущими.

Антигензависимая дифференцировка происходит в периферических органах иммунной системы только при контакте Т-лимфоцита с АГ. Необходимо отметить, что Т-хелперы и ЦТЛ распознают АГ по-разному. Так, $CD4^+$Т-лимфоциты распознают АГ в комплексе с HLA II класса, $CD8^+$Т-лимфоциты - в комплексе АГ HLA I класса. В результате взаимодействия с АГ Т-лимфоциты активируются, пролиферируют (экспансия клона), секретируют разнообразные цитокины (лимфокины), вновь поступают в кровь, а из нее - повторно в ткани (процесс рециркуляции), где они и осуществляют свои защитные функции. Часть Т-лимфоцитов превращается в долгоживущие Т-клетки памяти (с фенотипом $CD45^+$ RO^+), которые сохраняют в течение всего времени своего существования усиленную экспрессию TCR и ряда маркеров, что

определяет их высокую чувствительность к повторному воздействию данного АГ. Рециркулирующие Т-лимфоциты живут до 4-6 месяца. Т-клетки памяти сохраняются преимущественно в лимфоидных органах в течение многих лет.

Специфика участия Т-лимфоцитов в различных защитных реакциях обусловлена их принадлежностью к одной из функциональных групп (субпопуляций).

Субпопуляционный состав Т-лимфоцитов весьма гетерогенный. Выделяют две главные разновидности Т-клеток, кардинально различающиеся по структуре TCR и функциям: γδТ-клетки и αβТ-клетки. Большинство (>95%) Т-клеток, локализующихся во вторичных лимфоидных органах, циркулирующих в крови и лимфе, имеют рецептор αβ-типа («классические» Т-лимфоциты). γδТ-клетки составляют минорную субпопуляцию (1–3%), представленную преимущественно в барьерных тканях, особенно в слизистой оболочке кишечника, где их содержание достигает 20–30% от общего числа Т-лимфоцитов.

Основными субпопуляциями αβТ-лимфоцитов являются:

1. ***Т-киллеры***, или убийцы (от англ. to kill – убивать). Эти клетки, обладая цитотоксичностью, непосредственно либо через выделяемые ими цитокины (лимфокины) разрушают чужеродные клетки.

2. ***Антигенреактивные Т-лимфоциты***. Они имеют рецепторы к АГ для его распознавания. Узнав “свой” АГ, Т-лимфоцит превращается в иммунобласт и начинает продуцировать медиатор, под влиянием которого активируются и размножаются Т-хелперы, т.е. стимулируется ход последующих иммунных реакций. После окончания реакции бласт вновь превращается в малый лимфоцит.

3. ***Т-хелперы,*** или помощники (от англ.to help - помогать) поставляют вспомогательные сигналы при активации В-лимфоцитов и макрофагов. Взаимодействие Т-хелперов с дендритными клетками служит пусковым событием Т-зависимого иммунного ответа.

4. ***Т-амплифайеры*** усиливают функции и Т- и В-лимфоцитов, но в большей степени первых.

5. ***Т-эффекторы ($T_{ГЗТ}$),*** обеспечивают реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

6. ***Т-клетки иммунной памяти*** хранят информацию о ранее действующих АГ и регулируют вторичный иммунный ответ. На их долю приходится около 10% из всех Т-лимфоцитов. Т-клетки иммунной памяти без деления циркулируют в организме до 10 лет.

7. ***Т-дифференцирующие лимфоциты (Td-лимфоциты)*** участвуют в регуляции гемопоэза. Они продуцируют ИЛ-2, ИЛ-4, колониестимулирующий фактор и др., которые оказывают модулирующий эффект на дифференцировку и пролиферацию клеток-предшественниц разного уровня созревания в гранулоцитарно-макрофагально-эритроидном ряду кроветворения.

8. Особую субпопуляцию Т-лимфоцитов образуют **NKT-клетки,** формирующиеся в процессе Т-лимфопоэза, но на поздних этапах развития приобретающие признаки NK-клеток.

Несмотря на большое разнообразие Т-лимфоцитов, основными клетками адаптивного иммунного ответа являются 2 субпопуляции, которые отличаются по экспрессии корецепторов $CD4^+$ и $CD8^+$.

$CD4^+$Т-лимфоциты (Т-хелперы) играют основную роль в деятельности иммунной системы - распознавании АГ, запуске реакций клеточного и гуморального иммунитета, регуляции взаимодействий Т-лимфоцитов друг с другом и между Т- и В-лимфоцитами, продукции лимфокинов.

Среди них выделяют *регуляторные и эффекторные клетки.* Регуляторные Т-хелперы (клетки-помощники) осуществляют распознавание АГ в комплексе с АГ МНС II класса и стимулируют пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, выделяя ИЛ. На поверхности Т-хелперов имеются макромолекулы CD2, CD3, а также **молекула $CD4^+$**, которая является основным маркером Т-хелперов. Кроме того, Т-хелперы имеют рецепторы к IgM.

Выделяют несколько типов Т-хелперов:

- *Т-хелперы 0 (Th0)* – «наивные» Т-хелперы, не прошедшие антигензависимую дифференцировку;
- *Т-хелперы 1 типа (Th1),*секретирующие ИЛ-2, ИЛ-3, ИФН-γ, фактор некроза опухоли альфа (ФНО-α) и др. и обеспечивающие реакции Т-клеточного иммунитета;
- *Т-хелперы 2 типа (Th2)*, выделяющие ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-10,

ИЛ-13 и стимулирующие синтез АТ;

- *Т-хелперы 3 типа* (Т-reg, Т-регуляторы) – экспрессируют на поверхности молекулы CD25 и экспрессируют транскрипционный фактор Foxp3, секретируют интерлейкин-10 и трансформирующий фактор роста-beta (TGF-beta) и супрессируют иммунный ответ;

- *Т-хелперы 17 типа* (Th17) – подтип Т-хелперов, который в больших количествах продуцирует провоспалительный цитокин – ИЛ-17. Показана роль Th17-клеток в развитии аутоиммунной патологии.

- *Т-хелперы 22 типа* (Th22) – выявляются при воспалительных заболеваниях кожи. Их роль в защите организма остается неясной, поскольку эти клетки охарактеризованы недавно. Они продуцируют провоспалительный цитокин ИЛ-22.

Между Th1 и Th2 существует **антагонизм**: при повышении активности одних, угнетается функция других. В итоге преобладает Т-клеточный (Th1-Т киллеры) или В-клеточный (Th2-В-лимфоциты – АТ). Именно от Th зависит будет преобладать гуморальный или клеточный иммунный ответ.

Т-хелперы обладают морфогенетической активностью, заключающейся в их способности накапливаться и стимулировать пролиферацию клеток в регенерирующих тканях, например, гепатоцитов при резекции печени, клеток почечного эпителия интактной почки после односторонней нефрэктомии. Поэтому количество Т-хелперов в крови увеличивается при усилении регенераторных процессов в различных тканях организма.

Нормальное содержание **$CD4^+$Т-лимфоцитов в периферической крови** *для взрослых - 31-46% или 0,57-1,1x10^9/л; для детей старше 9 месяцев – 33-41% или 0,65-1,05x10^9/л.*

$CD8^+$Т-лимфоциты (Т-киллеры – цитотоксические лимфоциты-ЦТЛ) – это эффекторные клетки иммунного ответа. Активированные АГ ЦТЛ связываются с АГ на поверхности клеток и, выделяя белок **перфорин**, разрушают их. При этом Т-киллер остается жизнеспособным и может разрушать следующую клетку.

Действие перфорина подобно мембраноатакующему комплексу системы комплемента. Белок перфорин, полимеризуясь в мембране клетки-мишени, образует поры – каналы, тем самым, вызывая ее

осмотический лизис. Кроме того, ЦТЛ через пору, образованную перфорином в клетке-мишени, вбрасывает гранзимы (ферменты – сериновые протеазы), которые запускают программу апоптоза. Известно, что свое цитотоксическое действие ЦТЛ могут реализовывать путем экспрессии FasL и с его помощью индуцировать Fas-опосредованный апоптоз мишени. Активация Т-киллеров обычно требует очень сильного сигнала активации от комплекса белка гистосовместимости с АГ, либо дополнительной активации факторами Т-хелперов. Механизмы разрушения клеток-мишеней ЦТЛ аналогичны таковым, развиваемым NK-клетками, также развиваются без участия Ig и комплемента. Однако, в отличие от NK-клеток ЦТЛ формируют клетки-памяти.

Роль Т-киллеров очень велика в реализации трансплантационного иммунитета, развитии аутоиммунных заболеваний, в противоопухолевой, противовирусной защите. Они осуществляют лизис патологически измененных своих собственных клеток (пораженных вирусом, мутантных или опухолевых), а также микробов, грибков, микобактерий. Цитотоксическая активность Т-киллеров – важный механизм клеточного иммунитета.

В норме в периферической крови у взрослых их содержание 23-40% или 0,45-0,85x10^9/л; у детей старше 9 месяцев – 27-35% или 0,55-0,85x10^9/л.

К категории эффекторных ЦТЛ относят также Т-инактивирующие лимфоциты и так называемые клетки Пиноккио (Pinocchio cells). Т-инактивирующие лимфоциты локализуются в центральных и периферических органах иммунитета (в костном мозгу, тимусе, лимфатических узлах, селезенке, периферической крови), обладают способностью взаимодействовать с генетически чужеродными стволовыми клетками и в результате такого взаимодействия инактивировать процессы их размножения и дифференцировки. Т-инактивирующие лимфоциты неоднородны и включают, по меньшей мере, 2 фракции. Т-клетки одной из них взаимодействуют с СКК и инактивируют их самостоятельно, тогда как Т-клетки второй фракции инактивируют СКК при помощи Т-хелперов.

Клетки Пиноккио представлены гранулярными клетками фенотипа CD3+CD4-CD8-, отвечающими на ИЛ-2 *in vitro*. Это лимфоциты с

выпуклым и гранулярным выростом мембраны, которым они прикрепляются к опухолевым клеткам и опосредуют их лизис. Такие атипичные клетки достаточно гетерогенны, отличаются от ЦТЛ и от NK-клеток, обнаруживаются в периферической крови человека после курса внутривенных инъекций ИЛ-2 в количестве примерно 20 тыс./мкл, однако их отношение к Т-лимфоцитам с активностью естественных киллеров (NKT-лимфоциты) не изучено.

γδТ-клетки и NKT-клетки участвуют в реакциях как врожденного, так и адаптивного иммунитета, поэтому эти клетки относятся к «промежуточным клеткам» (более подробная характеристика этих субпопуляций Т-лимфоцитов представлена в разделах 2.2.5.1 и 2.2.5.2.).

Таким образом, Т-лимфоциты выполняют следующие важные функции:

- являются основными эффекторами клеточного иммунитета (эти клетки опосредуют клеточные цитотоксические реакции, а также реакции ГЗТ);
- являются регуляторами воспаления, иммунных реакций и гемопоэза;
- участвуют в процессах репаративной и физиологической регенерации различных тканей.

Возрастные особенности: Относительное количество Т-лимфоцитов у новорожденных понижено по сравнению с взрослыми, но в связи с возрастным лимфоцитозом абсолютное количество в крови новорожденных даже выше, чем у взрослых. Особенности Т-лимфоцитов новорожденных связаны с выходом в кровь недозрелых предшественников. Именно в связи с дефектностью клеточных механизмов защиты на протяжении всего периода детства сохраняется высокая степень риска возникновения инфекционных заболеваний, особенно вирусных и грибковых.

При старении уменьшается общее число зрелых Т-лимфоцитов в крови, снижается их иммунный ответ на поликлональные митогены (фитогеммагглютинин, конканавалин А) и на Т-зависимые АГ, уменьшается количество Т-хелперов. В значительной ступени эти изменения в иммунитете при старении обусловлены возрастной инволюцией тимуса, в результате которой уменьшается выработка

тимических гормонов, а, следовательно, и созревание Т-лимфоцитов. Важнейшим следствием изменения функций иммунной системы в этом периоде является повышение чувствительности к инфекциям. Они протекают более тяжело, нередко принимают затяжное течение с переходом в хронические формы. В этом возрасте чаще наблюдаются внутрибольничные заражения, в том числе условно-патогенной микрофлорой. Нередко возникают осложнения в виде пневмоний, циститов, пиелоциститов и др. Понижение иммунитета увеличивает риск развития опухолевых заболеваний.

Клинические ситуации, при которых чаще всего отмечается отклонения у основных субпопуляций αβТ-лимфоцитов отражены в таблице 9.

Таблица 9

Клиническое значение отклонения основных субпопуляций Т-лимфоцитов от нормы

Увеличение уровня $CD4^+$Т-лимфоцитов	**Снижение уровня $CD4^+$Т-лимфоцитов**
-аллергические заболевания - аутоиммунные заболевания -болезнь Вальденстрема -активации антитрансплантационного Иммунитета -системный склероз, коллагенозы - тромбоцитопения - приобретённая гемолитическая анемия - цирроз печени, гепатиты - на фоне лимфоцитоза	- Т-клеточные иммунодефициты - СПИД - туберкулез - злокачественные опухоли - цитомегаловирусная инфекция - ожоговая болезнь, тяжелые травмы - стресс, старение - голодание - прием глюкокортикостероидов, цитостатиков - химиотерапия -действие ионизирующего излучения
Увеличение уровня $CD8^+$Т-лимфоцитов	**Снижение уровня $CD8^+$Т-лимфоцитов**
- опухолевые заболевания - поствакцинальный период - аллотрансплантация - вирусные, бактериальные, протозойные инфекции	- аутоиммунные заболевания - аллергические заболевания - инфекционные и опухолевые заболевания (за счет миграции ЦТЛ в патологический очаг

-ВИЧ-инфекция	- вирусные гепатиты - герпес

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите один правильный ответ

1. КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ОБЕСПЕЧИВАЮТ
   1) нейтрофилы
   2) тромбоциты
   3) Т-лимфоциты
   4) эозинофилы

2. ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ОБЕСПЕЧИВАЮТ
   1) нейтрофилы
   2) В-лимфоциты
   3) Т-лимфоциты
   4) Тромбоциты

3. КОЛИЧЕСТВО КЛАССОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ У ЧЕЛОВЕКА
   1) 3
   2) 5
   3) 7
   4) 2

4. УРОВЕНЬ IgG В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВОГО ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА ОТ ОБЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ IG СОСТАВЛЯЕТ
   1) 30%
   2) 55%
   3) 75%
   4) 90%

5. ЧЕРЕЗ ПЛАЦЕНТАРНЫЙ БАРЬЕР ПРОНИКАЕТ
   1) IgM
   2) IgG
   3) IgA
   4) IgD

6. В-ЛИМФОЦИТЫ В ЭМБРИОНАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ СОЗРЕВАЮТ В
   1) тимусе
   2) печени
   3) селезенке
   4) лимфатических узлах

7. СЕЛЕКЦИЯ В-ЛИМФОЦИТОВ ПРОИСХОДИТ В

1) костном мозге
2) тимусе
3) печени
4) лимфатических узлах

8. КЛЮЧЕВУЮ РОЛЬ В ЗАЩИТЕ ОТ ГЕЛЬМИНТОВ ИГРАЕТ

1) IgM
2) IgA
3) IgE
4) IgD

9. IGM УЧАСТВУЕТ В

1) первичном иммунном ответе
2) лизисе клеток-мишеней
3) активации фагоцитов
4) запоминании антигена

10. IGA УЧАСТВУЕТ В

1) представлении антигена
2) аллергических реакциях
3) трансплантационном иммунитете
4) запоминании антигена

11. В НОРМЕ УРОВЕНЬ В-ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА СОСТАВЛЯЕТ

1) 5-10%
2) 8-19%
3) 20-25%
4) 25-30%

12. ПЕНТАМЕРНУЮ СТРУКТУРУ ИМЕЕТ МОЛЕКУЛА IG

1) A
2) D
3) E
4) M

13. СУБПОПУЛЯЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ ЭТО

1) Т-хелперы, цитотоксические лимфоциты
2) Т-хелперы, макрофаги
3) натуральные киллерные клетки, цитотоксические лимфоциты
4) натуральные киллерные клетки, нейтрофилы

14.СПЕЦИФИЧЕСКИЙ МЕМБРАННЫЙ МАРКЕР Т-ЛИМФОЦИТОВ

1) CD3
2) CD19
3) CD72
4) CD22

15. ПОЛОЖИТЕЛЬНУЮ СЕЛЕКЦИЮ Т-КЛЕТКИ ПРОХОДЯТ В

1) костном мозге
2) тимусе
3) печени
4) лимфатических узлах

16. В НОРМЕ УРОВЕНЬ $CD4^+$Т-ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА СОСТАВЛЯЕТ

1) 33-41%
2) 31-46%
3) 20-25%
4) 25-30%

17. ФЕНОТИП ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ЛИМФОЦИТОВ

1) CD3+CD4+CD8-
2) CD3+CD4+
3) CD3+CD8+
4) CD3+CD4-CD8-

18. В НОРМЕ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ВЗРОСЛОГО ЧЕЛОВЕКА $CD8^+$Т-ЛИМФОЦИТОВ СОДЕРЖИТСЯ

1) 23-40%
2) 31-46%
3) 20-25%
4) 25-30%

2.3. РОЛЬ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ КЛЕТОК В ИММУНОМ ОТВЕТЕ

Проникновение патогенов во внутреннюю среду организма приводит к мобилизации иммунной системы. Ключевое событие при этом – контакт патогена с клетками иммунной системы, присутствующими почти во всех тканях (прежде всего, в барьерных). Эти клетки формируют первую линию защиты. Помимо «классических» факторов врожденного иммунитета, в ответ на проникновение патогена активируются и другие факторы первой линии защиты. К ним относятся специализированные лимфоциты – натуральные киллерные клетки (NKT – от англ. Natural Killer T-cell), γδT-клетки, B1-лимфоциты, B-клетки маргинальной зоны селезенки, которые играют важную роль в реакциях врожденной защиты, но могут также принимать участие и в адаптивном (приобретенном) иммунитете. Эти субпопуляции лимфоцитов обычно обозначают как «подобные клеткам врожденного иммунитета» (*innate-like cells*) или промежуточными клетками.

2.3.1. NKT- лимфоциты

NKT-лимфоциты представляют собой уникальную субпопуляцию Т-лимфоцитов с фенотипом $CD3^{+}2$-TCR+$CD56^{+}16^{+}$, так как одновременно обладают характеристиками как NK-клеток, так и Т-лимфоцитов. NKT-клетки играют важную роль в регуляции иммунного ответа, связывая механизмы естественной резистентности и специфической иммунной реактивности. NKT-клетки обнаруживаются в различных органах: в тимусе – 0,5%, среди покидающих тимус Т-клеток – 5%, среди лимфоцитов крови и лимфатических узлов – менее 1%, в селезенке – 2%. Много NKT-клеток содержится в костном мозгу, легких и печени, где их концентрация максимальная и составляет около 10% от всех лимфоцитов, находящихся в органе. Такое распределение NKT-клеток в тканях регулируется набором экспрессируемых ими рецепторов для хемокинов

(CCR7, CCR2, CXCR6). Лиганд CXCR6 (CXCL16) секретируют, главным образом, клетки синусоидов печени; лиганд CCR2 (MCP-1, или CCL2) продуцируется в селезенке, что определяет тропность NKT-клеток к указанным органам. Благодаря наличию CCR7 NKT клетки способны мигрировать в Т-зоны лимфоидных органов.

Дифференцировка NKT-лимфоцитов

Антигеннезависимая дифференцировка. NKT-лимфоциты развиваются в тимусе из гемопоэтических предшественников в результате положительной селекции незрелых корковых $CD4^+8^+$ Т-клеток наряду с субпопуляцией $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток под влиянием ИЛ-7 и ИЛ-15. В процессе дифференцировки Т-клеток обособление субпопуляции NKT-клеток происходит после инвариативной перегруппировки генов TCR (выбора сегмента Vα14/Vα24). Лиганд Val4 NKT-клеток человека представляет собой гликосфинголипид а-галактозилцерамид (aGalCer), презентируемый молекулами CDld, которые кодируются генами, локализованными в I-й хромосоме человека и не относятся к классическим MHC-белкам. Инвариативный TCR NKT-клеток распознает гликолипидный АГ в комплексе с неклассической молекулой MHC-I класса- CDld. NKT-клетки могут экспрессировать $CD4^+$ или $CD8^+$, а также быть дубль-позитивными и дубль-негативными по этим маркерам. На своей поверхности NKT-клетки также содержат KIR-рецепторы (от анг. Killer cell-Ig-like Receptors), аналогичные таким же рецепторам NK-клеток. KIR-рецепторы относятся к супрсемейству Ig-ов и являются разновидностью так называемых паттерн-распознающих рецепторов врожденного иммунитета, к которым также относятся Толл-подобные рецепторы и NOD-рецепторы. KIR-рецепторы кодируются генами, расположенными в 19-й паре хромосом. В их составе содержится 2 или 3 внеклеточных домена и несколько внутриклеточных, с помощью которых (в зависимости от их структуры) KIR-рецепторы могут подавлять или активировать цитотоксичность клеток.

Антигензависимая дифференцировка. Самый последний этап развития NKT-клеток, реализуемый уже на периферии иммунной системы – экспрессия ими маркеров NKT-клеток. Связывание TCR с презентируемым АГ приводит к быстрой выработке провоспалительных

цитокинов (IFN-γ, TNF-α ИЛ-10, ИЛ-13), влияющих на другие иммунные клетки, в том числе на NK-, T- и B-лимфоциты, дендритные клетки.

Существует несколько *субпопуляций* ***NKT-клеток,*** различающихся по экспрессии различных поверхностных молекул, а также по продукции цитокинов (табл.10). На их формирование могут влиять условия активации, а также микроокружение этих клеток. Гетерогенность субпопуляций NKT-клеток определяет широкую вариабельность продуцируемых ими цитокинов а, следовательно, и выполняемых ими функций.

Таблица 10

Характеристика субпопуляций NKT-клеток

Субпопуляции NKT-клеток	**Рецептор для АГ**	**Фенотип**	**Иммунологические функции**
NKT-клетки I типа	αβTCR	$CD4^{+}8^{-}$	синтез IFN-γ, ИЛ-4 и ИЛ-13
NKT-клетки II типа	γδTCR	$CD4^{+}8^{+}$ $CD4^{-}8^{-}$	синтез IFN-γ, TNF-α ИЛ-10, ИЛ-13 синтез ИЛ-10 и ИЛ-13

NKT-клетки I типа (инвариантные NKT-клетки, или классические NKT-клетки) – это NKT-клетки, которые обладают инвариантным αβTCR и рестриктированы по белкам CD1d. Они составляют большую часть субпопуляции NKT-клеток человека. В активированном состоянии эти клетки имеют фенотип $CD4^{+}8^{-}$ и продуцируют IFN-γ, ИЛ-4 и ИЛ-13.

NKT-клетки II типа (неклассические NKT-клетки) – это *NKT-клетки, которые экспрессируют γδ*TCR *и не рестриктированы по белкам CD1d*. Эти клетки продуцируют ИЛ-10 и ИЛ-13, но не ИЛ-4. Фенотип этих клеток может быть $CD4^{+}8^{+}$ или $CD4^{-}8^{-}$. *NKT-клетки II типа* с фенотипом $CD4^{-}8^{-}$ имеют Th1-профиль цитокинов (IFN-γ, TNF-α) и экспрессируют NKG2d – маркер, ассоциированный с цитотоксическим действием на инфицированные вирусами и опухолевые клетки. Под действием ИЛ-2 и ИЛ-12 клетки этой субпопуляции повышают продукцию перфорина и их цитотоксичность усиливается.

Субпопуляция NKT-клеток II типа с фенотипом $CD4^{+}8^{+}$ продуцирует цитокины Th1- и Th2-типа (то есть, IFN-γ, TNF-α, а также ИЛ-13 и ИЛ-10).

Под влиянием ИЛ-2 и ИЛ-12 в этих клетках повышается продукция перфорина. Они также экспрессируют Fas-лиганд (CD95L), что обеспечивает их участие в прямой клеточной цитотоксичности. Стимулированные NKT-клетки начинают активно продуцировать цитокины в течение 1–2 часов с момента связывания *γδ*TCR с презентируемым АГ.

NKT-клетки I и II типа влияют на активность друг друга. Активированные сульфатидом NKT-клетки II типа, стимулируют плазмоцитоидные дендритные клетки к продукции IL-12, а также макрофагального воспалительного протеина 2 (MIP-2), подавляющих активность NKT-клеток I типа. Незрелые дендритные клетки и CD11b+Gr-1+-миелоидные клетки также способны ингибировать активность инваритивных NKT-клеток. Действуя на баланс между двумя этими типами НКТ-клеток, можно повлиять на исход инфекционного, аутоиммунного заболевания и злокачественного новообразования. Th1-цитокины связаны с защитным ответом, тогда как Th2-цитокины связаны с подавлением противоопухолевого иммунитета. Защитный эффект NKT-клеток не обязательно основан на их литической активности и прямом лизисе опухолевых клеток, но на их продукции IFN и тем самым рекрутировании NK клеток и $CD8^+$ Т-клеток, которые начинают продуцировать IL-12.

Благодаря большому спектру продуцируемых цитокинов NKT-лимфоциты могут выполнять самые разнообразные *функции,* характерные как для врожденного, так и для адаптивного иммунного ответа а именно:

– способствуют защите организма от внутриклеточных инфекций различной природы (*Mycobacterium tuberculosis* и *Pseudomonas aeruginosa*, *Leishmania major* и *Toxoplasma gondii*, *Cryptococcus neoformans*, вирус гепатита В) без участия молекул МНС;

– ограничивают интенсивность иммунного ответа, а также аутоагрессию;

– играют ключевую роль в индукции противоопухолевого иммунного ответа за счет продукции IFN-γ, активирующего NK-клетки, $CD8^+$Т-лимфоциты и макрофаги;

– являются важным источником цитокинов (IFN-γ, ИЛ-4, ИЛ-13);

– участвуют в аутокринных, паракринных и эндокринных взаимодействиях, тем самым они оказывают влияние на многие типы клеток;

– стимулируя или подавляя отдельные звенья адаптивного иммунного ответа с помощью IFN-γ, ИЛ--4 и ИЛ-13, NKT-клетки влияют на баланс Th1/ Th2.

Несмотря на многие сходные свойства по ряду показателей NKT-клетки существенно отличаются от Т-лимфоцитов и NK клеток (табл.11).

Таблица 11

Сравнительная характеристика NKT-клеток с Т-лимфоцитами и NK- клетками

Сходство NKT-клеток с Т-лим-фоцитами	Различия NKT-клеток с Т-лимфоцитами	Сходство NKT-клеток с NK- клетками	Различия NKT-клеток с NK-клетками
экспрессируют αβTCR и корецептор CD3	содержат только одну комбинацию генов кодирующих α- и β-цепи	экспрессируют поверхностные молекулы $CD56^+$, $CD16^+$, KIR-рецепторы	не экспрессируют маркер $CD2^+$
	TCR NKT-клеток распознают гликолипиды, представленные в комплексе с неполиморфной молекулой CD1d и участвуют в противоопухолевом ответе	осуществляют немедленный неспецифический ответ на патогены, не проходя стадии антигензависимой дифференцировки	распознают гликолипидные АГ собственного организма
	не формируют клеток памяти и не экспрессируют маркер CD2	при активации осуществляют быструю секрецию цитокинов (IFN-γ, TNF-α), в процесседегрануляции выделяют перфорин и гранзимы	продуцируют цитокины ИЛ--4, ИЛ-13 и ИЛ-10, участвуют в индукции Th2-ответа и подавлении T1h-1-ответа
	осуществляют немедленный ответ, не проходя стадии антигензависимой дифференцировки	индуцируют и регулируют адаптивный и врожденный иммунный ответ	

Возрастные и гендерные особенности. Снижение количества NKT-клеток наблюдается у женщин в менопаузальном периоде и лиц обоих полов в пожилом возрасте, но может наблюдаться и у части взрослых здоровых лиц.

Клиническое значение определения NKT-клеток. *Уровень NKT-клеток в периферической крови повышается* при острых тяжелых воспалительных процессах, онкологических заболеваниях (Т-клеточная лимфома, плазмоклеточная миелома). Повышение количества NKT-клеток, сопровождающееся снижением В-лимфоцитов, а также количества $CD3^{+}CD4^{+}$Т-клеток, наиболее характерно для хронического воспалительного процесса в период реконвалесценции. Отсутствие восстановления этих показателей до нормы более чем через 1 месяц после выздоровления свидетельствует о хронизации инфекционно-воспалительного процесса.

Понижение уровня NKT-клеток наблюдается при следующих заболеваниях: болезни Брутона, гипер-IgM-синдроме, облучении, лечении кортикостероидами и цитостатиками, СПИДе, паразитарных заболеваниях, аутоиммунных заболеваниях, стрессе, дефиците цинка.

Таким образом, изучение динамики NKT-клеток в клинической практике может играть важную роль для контроля эффективности терапии, прогноза развития и течения заболевания.

2.3.2. γδТ- лимфоциты

γδТ-лимфоциты представляют основную МНС-нерестриктированную популяцию Т-лимфоцитов, проявляющую сочетанные свойства как адаптивного, так и врожденного иммунитета. δТ-лимфоциты впервые были описаны в середине 1980-х годах Сайто С. с соавт. (Saito S. et al.,1984) и Бренером М. соавт. (Brenner et al.,1986) как гетерогенная субпопуляция Т-клеток с Т-клеточным рецептором, состоящим из γ- и δ-цепей (γδTCR.) С эволюционной точки зрения γδТ-клетки занимают уникальное место между высоко специфичными αβТ- клетками и врожденной иммунной системой для выполнения защиты организма от патогенов. Преобладающее место локализации γδТ-клеток - барьерные ткани: слизистая оболочка кишечника и респираторного тракта,

эпидермис кожи. Такая характерная локализация γδТ-клеток обусловлена экспрессией соответствующих хемокиновых рецепторов – CCR9 (направляют миграцию этих клеток в тонкий кишечник), CCR4, CCR10 (способствуют миграции в кожу и легкие). Более 80% γδТ-клеток крови экспрессируют хемокиновый рецептор CCR5, что дает им возможность мигрировать в очаги воспаления. Кроме того активированные γδТ-клетки слизистых оболочек способны экспрессировать хемокиновый рецептор CCR7, что позволяет им перемещаться в Т-зоны лимфоидных органов, несмотря на то, что способность этих клеток к рециркуляции очень ограничена. В периферической крови человека содержание γδТ-клеток составляет около 5% от числа лимфоцитов.

Дифференцировка γδТ-лимфоцитов. Для γδТ-лимфоцитов характерно тимическое и внетимическое (слизистые оболочки, костный мозг, эмбриональная печень) развитие.

Анигеннезависимая дифференцировка. В тимусе созревает небольшая популяция γδТ-клеток, которая впоследствии мигрирует в другие органы и ткани. Формирование γδТ-лимфоцитов происходит, в основном, в эмбриональном и неонатальном периодах, позднее образование этих клеток резко снижается. Они образуются из незрелых $CD4^-8^-$ корковых тимоцитов, для их дифференцировки необходим ИЛ-7. Реанжировка генов γδTCR у человека происходит на 8,5-10-й неделе развития, а перестройка генов αβTCR – на 10-14-й неделе развития. На клеточной поверхности γδ-антигенраспознающие рецепторы Т-клеток располагаются непосредственно рядом с полипептидным комплексом, имеющим групповое название CD3. Это соседство и ассоциация с CD3 является необходимым условием для экспрессии всего рецепторного комплекса на поверхности клеток.

Фенотип большинства выходящих из тимуса γδТ-лимфоцитов – $CD3^+\gamma\delta TCR^+CD4^-8^-$ $CD56^+$, однако у небольшой части этих клеток экспрессируется белок $CD8^+$.

Таким образом, **γδТ-лимфоциты имеют общие CD-маркеры как с Т-лимфоцитами ($CD3^+$,$CD8^+$), так и с NK-клетками ($CD56^+$)**. Подобно $CD8^+$Т-лимфоцитам, они обладают цитотоксической активностью. Подобно «классическим» αβТ-лимфоцитам могут распознавать

чужеродные для организма АГ. Как NK-клетки γδТ-клетки распознают незамеченные цитотоксическими $CD8^+$ Т-клетками АГ HLA-независимым путем.

Антигензависимая дифференцировка. После реаранжировки Vγ-сегментов γδТ-лимфоциты выходят из тимуса на определенном периоде фетального или неонатального развития заселяют различные ткани организма. Так, среди γδТ-лимфоцитов периферической крови, селезенки и лимфатических узлов доминируют субпопуляции $V\gamma1^+$ и $V\gamma4^+$Т-клеток; в легких, матке и языке преимущественно локализованы $V\gamma6^+$Т-лимфоциты.

С помощью γδTCR γδТ-лимфоциты распознают характерные молекулярные структуры патогенов и индуцированные повреждением клеток белки теплового шока**.** Распознаваемые γδТ-клетками АГ могут быть пептидной и непептидной природы, но обязательно должны содержать *алкиламины* и *фосфоросодержащие соединения (*фосфоантигены). Фосфоантигены входят в состав многих бактерий (микобактерий, грамм-положительных и грамм-отрицательных кокков), ряда вирусов (ВИЧ, цитомегаловируса, вируса Эпштейна-Барра), а также токсоплазмоза и малярийного плазмодия. Они содержатся в поверхностных АГ некоторых злокачественных опухолей (лимфомы Беркита, меланомы). Механизм распознавания АГ с помощью γδTCR пока мало изучен. Известно, что γδТ-лимфоциты непосредственно распознают АГ без представления их в комплексе с молекулами МНС, осуществляемого АПК. Иначе говоря**,** распознавание АГ γδТ-лимфоцитами не рестриктировано по белкам МНС **(**в отличие от «классических» αβТ-лимфоцитов). Такие клетки могут взаимодействовать с АГ, представляемым им в комплексе с неклассическими молекулами МНС, в частности, с молекулами CD1.

Активированные γδТ-лимфоциты продуцируют широкий спектр биологически активных медиаторов, включая *перфорин, гранулизин, серглицин, катепсин С, серпины, факторы роста эпителия и кератиноцитов, хемокины и цитокины***.** Среди цитокинов, синтезируемых γδТ-лимфоцитами**,** находятся провоспалительные цитокины – ИЛ-1,6,

ИЛ-17, ГМ-КСФ и TNF-α, а также они синтезируют IFN-γ, ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-13, ИЛ-4, ИЛ-10.

Активация γδТ-лимфоцитов при контакте с клеткой-мишенью может происходить в результате 3 типов рецептор-лигандного взаимодействия:

– с участием TCR;

– с участием адгезивных молекул LFA1/ICAM1 (leukocyte-function associared antigen-1/ intercellular adhesion molecule-1);

– при помощи рецепторов NK-клеток -NKRs.

Существует несколько субпопуляций γδТ-лимфоцитов – *циркулирующие и резидентные* (табл.12).

Таблица12

Характеристика субпопуляций γδТ-лимфоцитов

Субпопуляции γδТ-лимфоцитов	Рецептор для АГ	Фенотип	Биологические эффекты
Циркулирующие	$CD3^+V\gamma9V\delta2^+TCR$	$CD3^+CD4^-CD8^-$	Элиминация патогена
Резидентные	$CD3^+V\delta1^+$ или $CD3^+V\delta3^+TCR$	$CD3^+CD4^-CD8^-$ или $CD3^+CD4^-$ $CD8^+$/ $CD8\alpha^+$	Имунорегуляторная Цитотоксическая Иммунологический надзор

Циркулирующие γδТ-лимфоциты составляют, в среднем, 1-10% от мононуклеаров периферической крови и экспрессируют $CD3^+V\gamma9V\delta2^+TCR$. Для циркулирующих γδТ-лимфоцитов более характерен тимусзависимый способ развития. Частота $V\gamma9V\delta2^+$Т-клеток во время их постнатальной экспансии и селекции определяется факторами окружающей среды, главным образом инфекционными агентами. Циркулирующие γδТ-лимфоциты характеризуются экспрессией $CD3^+$-маркера и отсутствием $CD4^+$ и $CD8^+$ костимулирующих молекул. *Основной биологической функцией* $V\gamma9V\delta2^+$Т-клеток является элиминация патогенов.

Резидентные γδТ-лимфоциты имеют $CD3^+V\delta1^+$ или $CD3^+V\delta3^+TCR$ и доминируют в слизистых оболочках желудочно-кишечного, респираторного и урогенитального трактов. Большинство резидентных γδТ-клеток развиваются тимус-независимым способом. Резидентные γδТ-клетки имеют фенотип ($CD3^+CD4^-$ $CD8^-$). Некоторые резидентные внутриэпителиальные Т-клетки с γδTCR (γδIEL) могут также экспрессировать $CD8^+$ или $CD8\alpha^+$. γδIEL-клетки характеризуются высоким уровнем экспрессии генов, кодирующих эффекторные молекулы (гранзим

A и B), апоптоз-индуцирующий FasL, CC-хемокин RANTES, ранний активационный антиген CD69, и имеют потенциал для дальнейшей активации.

Помимо выполнения эффекторной цитотоксической функции, резидентные γδT-лимфоциты играют большую роль в иммунорегуляции и иммунологическом надзоре организма.

В пуповинной крови до 40% *Vγ9Vδ2^{+}T-клеток несут маркеры памяти*, количество которых в противоположность другим γδT- или αβT-клеточным субпопуляциям увеличивается до 90-95% уже к 2 годам. Кроме маркеров клеток-памяти γδT-лимфоциты экспрессируют *Toll-like receptors* (TLRs) и активирующие и/или ингибирующие рецепторы NK-клеток (NKRs/iNKRs). Предполагается, что TLRs наряду с TCR участвуют в трансдукции сигнала и трансформации γδT-лимфоцитов в АПК. Миграция Vγ9Vδ2+T-лимфоцитов в лимфоузлы подтверждается присутствием этих клеток в зародышевых центрах B-клеточных фолликулов. Их наличие может предполагать прямое влияние на B-клеточный иммунный ответ. Активированные Vγ9Vδ2+T-лимфоциты экспрессируют основные костимулирующие молекулы-лиганды для B-лимфоцитов CD154(CD40L), CD134 (OX40), CD70 (CD27L), CD278(ICOS). Характерно, что активированные тонзилярные Vγ9Vδ2+T-лимфоциты имеют цитокиновый и хемокиновый рецепторный профиль, аналогичный TFH (T follicular helper-T-хелперы с потенциальной B-хелперной активностью). Подобно TFH Vγ9Vδ2+T-лимфоциты выполняют in vitro хелперную функцию в отношении B-клеток, влияют на продукцию АТ, в том числе на переключение классов иммуноглобулинов и формирование аутоантител. Повышенная активность γδT-клеток у человека ассоциируется с высоким титром аутореактивных антител.

В силу своей гетерогенности популяция γδT-лимфоцитов обладает многообразными биологическими и иммунологическими функциями, которые определяются многими факторами: структурой антигенных рецепторов, распределением клеток в тканях, локальным микроокружением, способом активации клеток и стадией иммунного ответа, на которой происходит их активация.

Несмотря на многие сходные свойства с αβТ-лимфоцитами и В-лимфоцитами по ряду показателей γδТ-лимфоциты существенно от них отличаются от (табл.13).

Таблица 13

Сравнительная характеристика γδТ-лимфоцитов с популяциями Т- и В-лимфоцитов

Характеристика	γδТ-лимфоцитами		αβТ-лимфоциты	В-лимфоциты
	циркулирующие	резидентные		
Иммунологическая принадлежность	Врожденный/ приобретенный иммунитет	Врожденный иммунитет	Приобретенный иммунитет	
Онтогенез	рано		поздно	
Развитие	тимус	Тимус/экстратимус	Тимус/ экстратимус	Костный мозг
Конфигурация АГ рецептора	CD3 комплекс + Vδ2 TCR	CD3 комплекс + Vδ1/ γδ3 TCR	CD3 комплекс + αβTCR	Ig
Распознавание АГ	Непептидные АГ бактерий и растений	Собственные АГ структуры	Пептид+МНС	Пептиды и небелковые структуры
МНС-рестрикция	Нет	Нет	Да	Да
Фенотип	Большинство CD4- CD8-	CD4- CD8- , некоторые CD8+ или CD8αα+	CD4+ или CD8+	$CD19^+$, $CD20^+$
Распределение	Периферическая кровь, лимфоидные ткани	Слизистые оболочки, эпителий, лимфоидные ткани	Периферическая кровь, лимфоидные ткани, слизистые оболочки	Периферическая кровь, лимфоидные ткани
Эффекторные свойства	Цитотоксическая регуляторная	Цитотоксическая, регуляторная	ЦТЛ, продукция цитокинов Th1/Th2	Продукция Ig
Функции	Элиминация патогенов	Иммунорегуляция, иммунологический надзор	Иммунологическая защита и уничтожение патогенов	Гуморальный иммунный ответ

Основные функции γδТ-лимфоцитов:

- участвуют в формировании 1-й линии иммунной защиты против бактериальных, вирусных инфекций, играя роль цитотоксических клеток;
- усиливают иммунный ответ за счет продукции *IFN-γ,* TNF-α и хемокинов;

- ограничивают чрезмерно интенсивный иммунный ответ и аутоагрессию, выступая в качестве регуляторных Т-клеток;
– поддерживают иммунологическую толерантность;
– участвуют в противоопухолевом иммунитете;
– играют роль АПК и инициируют антигенспецифический ответ у наивных αβТ-лимфоцитов;
– Vγ9Vδ2+Тлимфоциты выполнять функцию клеток памяти;
– Vγ9Vδ2+Т-лимфоциты участвуют в гуморальном иммунитете;
– резидентные Т-клетки с γδTCR синтезируют IL-16, который регулирует ответ Th2-лимфоцитов и созревание дендритных клеток, а также IL-17B, который опосредует повышение синтеза IL-6 и IL-8;
– индуцируют первичный ответ αβ$CD4^+$Т-лимфоцитов, а также пролиферацию и дифференцировку $CD8^+$αβТ-клеток в ЦТЛ;
– участвуют в репарации поврежденных тканей, выделяя различные типы ростовых факторов.

Возрастные и гендерные особенности. Существуют половые и возрастные различия в содержании γδТ-клеток в периферической крови. Так, количество этих клеток нарастает с рождения до половозрелости, а после 30 лет постепенно снижается. У женщин содержание γδТ-клеток выше, чем у мужчин и сохраняется на высоком уровне дольше.

Клиническое значение определения γδТ-клеток. *Повышение содержания γδТ-лимфоцитов* в периферической крови наблюдается при ряде бактериальных инфекций (туберкулез легких, легионеллез, туляримия, сальмонелезом, боррелиоз), вирусных инфекциях (ВИЧ, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Бар), аутоиммунных заболеваниях (склеродермия, болезнь Грависа, ревматоидном артрите), первичных иммунодефицитах, атопическом дерматите (у детей). Обнаружение увеличенной субпопуляции γδТ-лимфоцитов, особенно на слизистых оболочках, позволяет предположить наличие недавней или продолжающейся хронической стимуляции иммунной системы.

Снижение количества этих клеток наблюдается у взрослых при атопическом дерматите, бронхиальной астме.

Таким образом, в развитии многих заболеваний важная роль принадлежит γδТ-лимфоцитам и разработка лечебных препаратов,

созданных на их основе, являются перспективными направлениями лечения аутоиммунных, аллергических, онкологических заболеваний и бактериальных инфекций.

2.3.3. В1- лимфоциты

В1- лимфоциты являются субпопуляцией В-лимфоцитов и имеют общие черты как с клетками адаптивного, так и врожденного иммунитета. В1-клетки локализуются преимущественно в серозных полостях - брюшной и плевральной (около 70%). Небольшое количество В1-лимфоцитов выявляется в селезенке, где на их долю приходится 1-5% от числа В-клеток. Некоторые В1-клетки мигрируют (через сальник) в слизистую оболочку кишечника и брыжеечные лимфоузлы. В периферической крови человека содержание В1- лимфоцитов составляет около 0,5% от числа лимфоцитов. В1-лимфоциты, как и γδТ-клетки, относят к категории ILL-лимфоцитов (Innate-like lymphocytes), т.е. к лимфоцитам, подобным эффекторам врожденного иммунитета.

В1-клетки вызывают значительный интерес за счет того, что их ассоциируют с продукцией аутоантител и, как следствие, с аутоиммунными заболеваниями.

Дифференцировка В1-лимфоцитов

Антигеннезависимая дифференцировка. В1-В-клетки развиваются раньше, чем традиционные В-лимфоциты, их образование завершается в эмбриональном и раннем постнатальном периодах. В эмбриональном периоде В1-клетки появляются из стволовых клеток костного мозга, имеющих характеристики, сходные с B_0-лимфоцитами. Предшественники В-лимфоцитов обнаруживаются в островках гемопоэтической ткани эмбриональной печени на 8-9-й неделе беременности. Клетка-предшественница отселяется из кроветворной ткани на свою анатомическую нишу — в брюшную и плевральную полости - еще в эмбриональном периоде.

В1-клетки экспрессируют BCR, содержащий мембранную форму IgM и не экспрессируют IgD (или экспрессируют его в очень малых

количествах). Известны исключения: возможно переключение синтеза IgM на IgA в lamina propria кишечника. На поверхности этих клеток часто экспрессируется маркер $CD5^+$ (известный как один из маркеров Т-клеток). $CD5^+$ ассоциирован с BCR, участвует в процессах распознавания АГ и активации В1-лимфоцитов, относится к категории «рецепторов для уборки мусора», взаимодействует с лигандами TLR. Однако он не является обязательным компонентом клеточной поверхности. ***Фенотип большинства В1-клеток*** $CD19^+CD5^+CD27^-CD45^+$. Считается, что этот тип клеток специально проходит положительную селекцию на реакцию с аутоантигенами, что позволяет им приобрести крайне важную в эволюционном плане специфичность к наиболее распространенным антигенным эпитопам.

У половозрелых особей пул В1-лимфоцитов поддерживаются за счет пролиферации и дифференцировки кроветворных клеток-предшественников, мигрировавших из фетальной печени в эмбриональном периоде в брюшную и плевральную полости и локализующихся в прибарьерных полостях на протяжении последующей индивидуальной жизни особи. В отличие от нормальных В-лимфоцитов, пополняемых из костного мозга, В1- лимфоциты часто вырабатывают аутоантитела.

В костном мозге и в пейеровых бляшках В1-лимфоциты отсутствуют, в небольших количествах выявляются в селезенке, обнаруживаются в незначительных количествах и в лимфатических узлах. Для В1-клеток характерен *активированный фенотип*, что проявляется в экспрессии на их поверхности костимулирующих молекул **$CD80^+$ и $CD86^+$.** Это свойство обеспечивает способность В1-лимфоцитов выполнять функции АПК.

В1-клетки постоянно циркулируют между селезенкой и брюшной полостью, но не поступают в фолликулы, поскольку не экспрессируют CXCR5 – рецептор хемокина BLC (CXCL13).

Известны 2 субпопуляции В1- лимфоцитов - В1а и В1b. Основной дифференциальный признак – экспрессия мембранной молекулы $CD5^+$. В1*а* - лимфоциты одновременно несут на поверхности молекулы IgM и $CD5^+$.

В1а-клетки в онтогенезе появляются еще до рождения. Они

развиваются в печени плода при участии IL-5 и IL-10 из клеток-предшественников, отличных от таковых у обычных В-клеток. Перестроенные V-гены мембранного IgM B1a-клеток не содержат N-вставок (т.е. в их перестройке не участвует фермент TdT – терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза). Еще в эмбриональном периоде B1-клетки мигрируют в серозные полости, где они существуют в течение всей жизни организма. B1a-лимфоциты, часто специфичны к микробным АГ и опсонизируют патогены, играя важную роль в реакциях врожденного иммунитета.

B1b-клетки также развиваются в печени эмбриона, а после рождения - в костном мозгу из других клеток-предшественников. При перестройке V-генов в B1b-клетках формируется некоторое количество N-вставок. B1b-лимфоциты расселяются на периферии непосредственно перед рождением и сразу после него. B1b-клетки также мигрируют в серозные полости и сохраняются там путем самоподдержания.

Антигензависимая дифференцировка. Обе разновидности B1-клеток могут дифференцироваться в антителообразующие клетки без стимуляции АГ (предсуществующие АТ). При этом они секретируют преимущественно АТ класса IgM (в кишечнике - также IgA). Большинство этих АТ специфично к собственным белкам организма (одноцепочной ДНК, гистонам, коллагену, компонентам цитоскелета, антигенам групп крови и т.д.); многие из них полиспецифичны, т.е., способны взаимодействовать с несколькими АГ, в том числе аутологичными. Эти АТ имеют низкое сродство (аффинность) к АГ, включая аутоантигены, и не способны вызвать повреждение тканей. Естественные АТ, продуцируемые B1a-лимфоцитами, часто специфичны к микробным АГ и опсонизируют патогены, играя важную роль в реакциях врожденного иммунитета. Эти клетки могут принимать участие в адаптивном иммунном ответе, что в большей степени свойственно B1b-клеткам. В слизистых такие клетки являются важным источником АТ класса IgA. Отдельные B1-лимфоциты вырабатывают АТ класса IgG. Однако, осуществляя защиту плевральной и перитонеальной полостей, B1-клетки могут синтезировать низкоаффинный IgM и IgA в ответ на контакт с липополисахаридными Т-независимыми АГ бактерий. B1-В-клетки в этом случае осуществляют распознавание

эпитопов возбудителя с помощью BCR, получая тем самым *первый, специфический сигнал*. *Второй, пролиферативно-дифференцировочный сигнал*, они получают с помощью Толл-подобных рецепторов (англ. Toll-like receptors – TLR), распознающих повторяющиеся структуры бактериальных липополисахаридов (патоген-ассоциированные молекулярные структуры).

Синтезированные B_1–лимфоцитами АТ не имеют значительного разнообразия вариабельных участков молекул Ig, но, напротив, ограничены в репертуаре распознаваемых АГ, и эти АГ - наиболее распространенные соединения клеточных стенок бактерий. По своему действию эти АТ при связывании с АГ напоминают действие опсонинов врожденной иммунной системы, таких как *коллектины*.

В целом естественные АТ, продуцируемые В1-клетками, представляют собой первую линию противомикробной защиты, обеспечивают выведение из организма поврежденных собственных компонентов, являются компонентами взаимодействий идиотипической сети в иммунной системе.

Необходимо отметить, что В1-клетки изредка способны отвечать и на Т-зависимые АГ, кооперируясь с Th2, однако при этом они не образуют клеток памяти. Помимо продукции естественных сывороточных АТ В1-лимфоциты могут участвовать в процессах становления толерантности и представления АГ Т-лимфоцитам. Поскольку В1-лимфоциты конкурируют с В2-лимфоцитами за АГ и снижают антигенную нагрузку для В2- лимфоцитов, считается, что В1-лимфоциты участвуют в регуляции иммунного ответа. Обеспечивая гуморальный иммунный ответ, В1-лимфоциты существенно отличаются от В2-лимфоцитов (табл. 14).

Таким образом, обладая функциями клеток врожденного и адаптивного иммунитета, В-1-лимфоциты играют важную роль в гуморальном иммунном ответе, а именно:

- являются отрядом противобактериальных «пограничников» в прибарьерных полостях, предназначенных для быстрой реакции на «просачивающиеся» через барьеры инфекционные микроорганизмы из числа широко распространенных;

- продуцируют низкоаффинный сывороточный IgM (более 50%) и IgA (до 40%) в ответ на контакт с липополисахаридными Т-независимыми АГ бактерий;
- выполняют функции АПК;
- являются компонентами взаимодействий идиотипической сети в иммунной системе;
- участвуют в регуляции иммунного ответа;
- оказывают противовоспалительное действие (нейтрализация суперантигенов, индукция синтеза противовоспалительных цитокинов, аттенуация комплементзависимого повреждения тканей);
- B1b-лимфоциты участвуют в продукции АТ к Т-независимым АГ, а также обеспечивают длительную иммунную память к некоторым организмам.

Таблица 14

Сравнительная характеристика В-1-лимфоцитов с традиционными В-лимфоцитами

Свойства	В1-лимфоциты		В2-лимфоциты
	B1b-клетки	*B1a-клетки*	
Появление в эмбриогенезе	рано	рано	поздно
Происхождение	Печень плода	Печень плода, частично костный мозг	Костный мозг
Локализация	Брюшная и другие серозные полости, частично - селезенка, Lamina propria	Там же	В-зоны вторичных лимфоидных органов (до 75% в лимфатических узлах)
Селекция клонов	нет	нет	есть
Маркеры	$CD5^+$,$CD45^+$, преимущественно Ig M	$CD45^+$, преимущест-венно IgM	CD5-, $CD45^+$, CD19, IgM и IgD
Продуцируемые АТ	На тимуснезависимые АГ: низкоаффинные АТ (IgM, IgA, очень редко IgG_3). Синтез аутоантител	То же	На тимусзависимые АГ: высокоаффиные АТ (IgM, IgA, IgE, IgG)

Возрастные особенности. В норме у человека повышенное содержание В-1-клеток часто выявляются в пуповиной крови и у детей в первые годы жизни. Со временем их количество снижается, очевидно, по мере того, как в дополнение к системе врожденного иммунитета

развивается система адаптивного иммунитета. Второй всплеск повышения количества CD5+ В-клеток наблюдается у людей пожилого возраста (повышенный В-лимфоцитоз).

Клиническое значение определения В1-лимфоцитов. Повышение количества В1-лимфоцитов наблюдается при аутоиммунных заболеваниях (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, аутоиммунный тиреоидит, синдром Шегрена, миастения, инсулинзависимый сахарный диабет) и при лейкозах.

2.3.4. В-лимфоциты маргинальной зоны

В-клетки маргинальной зоны (MzB – от англ. Marginal zone B cells) относятся к субпопуляции эффекторных клеток В-системы иммунитета, *локализуются в маргинальной зоне селезенки*, пограничной между красной и белой пульпой, и рассматриваются в качестве переходной формы между адаптивной и врожденной формой иммунитета. Их основной задачей является ответ на Т-независимые антигены, находящиеся в крови.

Дифференцировка лимфоцитов маргинальной зоны селезенки

Анигеннезависмая дифференцировка. В отличие от В1-клеток, образующихся из стволовых клеток в эмбриональной печени, MzB-клетки у человека начинают образовываться после первого года жизни из переходных (между незрелыми и зрелыми В-клетками) В-лимфоцитов в костном мозге. При этом переходный В-лимфоцит может дать начало фолликулярной В-клетке или MzB-клетки. Выбор дифференцировки переходной В-клетки в фолликулярный В-лимфоцит или в маргинальную В-клетку определяется двумя факторами – уровнем сигнала, формируемого ее рецептором Noth-2, лиганды которого (Noth-2L) экспрессируются стромальными клетками, и уровнем сигнала, формируемого рецептором для АГ в ответ на связывание собственных АГ. Умеренный уровень реакции на собственные АГ сопровождается блокированием сигнала, формируемого рецептором Noth-2 и дифференцировкой переходного В-лимфоцита в фолликулярную В-клетку. Однако низкий уровень сигнала в ответ на взаимодействие рецептора для АГ с АГ не мешает образованию сигнального пути

рецептором Noth-2 и дифференцировке переходной В-клетки в лимфоцит MzB.

Основной мембранный Ig MZB-клеток – IgM, экспрессируемый сильнее, чем на В2-клетках. В то же время IgD и молекула $CD5^+$ практически отсутствуют. Известны 2 фенотипа этих клеток – IgD-непереключенные ($CD19^+CD27^+IgD^+$) и IgM-непереключенные ($CD19^+CD27^+IgM^+$).

По своему фенотипу MZB-лимфоциты сходны с активированными В-лимфоцитами. На их поверхности присутствуют молекулы MHC-II, $CD21^+$ (рецептор для комплемента $CD69^+$, $CD25^+$, $CD38^{+)}$, в малом количестве $CD23^+$. Обращает на себя внимание наличие молекулы CD1d, участвующей в презентации липидных АГ и ряд Toll-подобных рецепторов. Благодаря сильной экспрессии молекул MHC-II и костимулирующих молекул MZB обладают выраженной способностью к взаимодействию с Т-хелперами, однако их участие в тимусзависимом иммунном ответе изучено плохо.

Образовавшаяся MzB-клетка удерживается в маргинальной зоне в результате экспрессии интегринов αLβ2 и α4β1 и их взаимодействия с лигандами маргинальной зоны, а также в результате слабого ответа MzB-клеток на хемокин CXCL13, привлекающий клетки в фолликулярную зону селезенки.

Антигензависимая дифференцировка. В маргинальной зоне селезенки реализуются В-клеточные иммунные ответы на тимуснезависимые АГ (против полисахаридов капсульных бактерий), циркулирующие в периферической крови. Дифференцировка лимфоцитов маргинальной зоны в плазматические клетки и синтез АТ (как правило, низкоаффиный IgM) начинается через 48 часов после контакта с бактериальными АГ. MzB-лимфоциты распознают АГ, представляемые им CD1-неклассическими молекулами MHC. Характер их взаимодействия с АГ разнообразен, а именно, они могут связывать свободный АГ; АГ в составе комплекса АГ-АТ или АГ, представляемый им дендритными клетками.

Подобно В1-лимфоцитам, MzB-лимфоциты спонтанно секретируют полиспецифические АТ класса IgM и в небольших количествах IgG3. С

помощью синтезируемых АТ В-лимфоциты маргинальной зоны осуществляют защиту протекающей крови через селезенки от ряда инфекционных заболеваний и препятствуют развитию сепсиса. При ответе на АГ MZB-клетки дифференцируются в короткоживущие антителообразующие клетки. Продуцируемые MzB-лимфоцитами АТ связывают компоненты комплемента (C3b), что сопровождается отложениями комплекса, а при соединении с АГ его фрагментаций в составе комплекса АГ-АТ и выведением из организма. Более того, MzB-лимфоциты проявляют способность связываться через рецептор CR2 (CD21) с комплементом и комплексом АГ-АТ. Такое связывание приводит к миграции MzB-клеток в В-клеточный фолликул, где комплекс АГ-АТ передается дендритным клеткам, которые его удерживают до взаимодействия с фолликулярными В-клетками и BCR. Следовательно, MzB-лимфоциты неспецифически через CR2 связывают АГ из крови, транспортируют его в лимфоидные фолликулы и фактически выступают в роли АПК.

Поскольку В-лимфоциты маргинальной зоны экспрессируют целый ряд TLR, в первую очередь TLR4, то одновременная стимуляция BCR и TLR вызывает экспрессию молекул B7 и ИЛ-4, что обеспечивает костимулирующий сигнал Т-хелперам. В свою очередь активированные Т-хелперы индицируют синтез АТ против Т-зависимых АГ.

Отдельные MzB обладают свойствами клеток памяти. V-гены MZB редко затрагиваются мутациями, что характерно для развития плазматических клеток вне зародышевых центров.

Однако в этих клетках не происходит переключения классов Ig и даже *MZB-клетки памяти* несут на своей поверхности IgM, а не IgG. В-клетки маргинальной зоны, как и В-1-лимфоциты не циркулируют через лимфоузлы, а прямо мигрируют в очаги, где находятся АГ, и там осуществляют синтез АТ. Однако, они осуществляют «челночные» миграции до лимфоидных фолликулов и обратно, получая информацию об АГ, поступающих в селезенку с кровью. Срок жизни этих клеток сопоставим со сроком жизни организма, а снижение их численности, вызываемое повреждающими факторами, достаточно быстро устраняется.

Несмотря на многие сходные свойства MzB с B1 и B2-лимфоцитами по ряду показателей они существенно от них отличаются (табл.15).

Формируя ранние этапы защиты от генетически чужеродных АГ, лимфоциты маргинальной зоны селезенки выполняют ***ряд важных функций***:

– участвуют в гуморальном иммунном ответе;

– обуславливают нейтрализацию эндотоксинов, транспорт возбудителей в селезенку и ускорение элиминации патогена из жизненно важных органов на ранних этапах инфекции (антибактериальный иммунитет);

– осуществляют тимуснезависимый иммунный ответ на инкапсулированные патогены;

– связывают иммунные комплексы, содержащиеся в крови;

– обеспечивают костимулирующий сигнал Т-хелперам;

– могут выполнять функцию АПК.

Таблица 15

Сравнительная характеристика MzB и B1-лимфоцитов

Показатели	MzB	B-1 лимфоциты
Происхождение	В-клетки костного мозга	Стволовые кроветворные клетки
Появление в эмбриогенезе	После рождения	У плода
Перестройка генов Ig	Многообразие частично ограничено	Используется ограниченное число V-сегментов
Локализация	Маргинальные зоны селезенки	в серозных полостях
Способ поддержания	Долгоживущие	Самоподдержание
Оседлость	Нециркулирующие	Мигрирующие
Основные маркеры	BCR, TLR	BCR, $CD5^+$, $CD\ 21^+$, TLR
Необходимость взаимодействия с Т-лимфоцитами	Не требуется	Для отдельных АГ
Синтез АТ	индуцированный	спонтанный
Ответ на белковые АГ	развивается	возможен

Возрастные особенности: С возрастом происходит снижение количества MzB-лимфоцитов.

Клиническое значение определения MzB-лимфоцитов: *Повышение количества MzB-лимфоцитов* наблюдается при лимфомах маргинальной зоны селезенки. При воспалительных заболеваниях наблюдается значительное их снижение. Особенно это ярко выражено при сепсисе. *Снижение MzB-лимфоцитов* с фенотипом $CD19^+CD27^+IgD^+$

отмечается при антилимфопролиферативном синдроме.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один правильный ответ

1. NKT –КЛЕТКИ ОБРАЗУЮТСЯ В

1) тимусе
2) костном мозге
3) селезенке
4) эмбриональной печени

2. ФЕНОТИП NKT –КЛЕТОК

1)$CD3^{+}$2-TCR+$CD56^{+}16^{+}$
2) $CD3^{+}$ $CD4^{+}$
3) $CD3^{+}$ $CD8^{+}$
4) $CD3^{+}$ $CD56^{+}$ $CD16^{+}$

3. NKT-КЛЕТКИ II ТИПА В ОТЛИЧИЕ ОТ I ТИПА NKT-КЛЕТОК ВЫРАБАТЫВАЮТ

1) ИЛ-1, ИЛ- 4
2) TNF-α, ИЛ-4
3) ИЛ-10, ИЛ-13
4) ИЛ-4, IFN-γ

4. ОСНОВНОЕ МЕСТО ЛОКАЛИЗАЦИИ γδT-КЛЕТОК

1) лимфатические узлы
2) печень
3) барьерные ткани
4) селезенка

5. СНИЖЕНИЕ УРОВНЯ γδT-КЛЕТОК НАБЛЮДАЕТСЯ ПРИ

1) туберкулезе легких
2) цитомегаловирусной инфекции
3) бронхиальной астме

4) ревматоидном артрите

6. ФЕНОТИП БОЛЬШИНСТВА B1-ЛИМФОЦИТОВ

1) $CD3^{+}2$-TCR+$CD56^{+}16^{+}$
2) $CD19^{+}CD5^{+}CD27^{-}CD45$
3) $CD3^{+}$ $CD8^{+}$
4) $CD3^{+}$ $CD8^{+}$

7. B1α-КЛЕТКИ РАЗВИВАЮТСЯ В

1) эмбриональной печени
2) тимусе
3) костном мозге
4) лимфатических узлах

8. ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ B1-ЛИМФОЦИТОВ НАБЛЮДАЕТСЯ ПРИ

1) туберкулезе легких
2) лейкозе
3) бронхиальной астме
4) герпетической инфекции

9. ЛИМФОЦИТЫ МАРГИНАЛЬНОЙ ЗОНЫ СЕЛЕЗЕНКИ

1) активируют нейтрофилы
2) участвуют в гуморальном иммунном ответе
3) подавляют функцию Т-клеток
4) обеспечивают противовирусный иммунитет

10. СНИЖЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ЛИМФОЦИТОВ МАРГИНАЛЬНОЙ ЗОНЫ СЕЛЕЗЕНКИ ОТМЕЧАЕТСЯ ПРИ

1) ревматоидном артрите
2) лимфоме
3) сепсисе
4) лейшманиозе

Ответы к тестовым заданиям

Глава 1

Глава 1	1-2	2-3	3-3	4-1	5-4	6-2	7-1	8-4	9-2	10-3

Глава 2

Раздел 2.1.	1-3	2-2	3-2	4-3	5-4	6-3	7-2	8-1	9-3	10-4
Раздел 2.2.	1-3	2-2	3-2	4-2	5-2	6-2	7-1	8-3	9-1	10-2
	11-2	12-4	13-1	14-1	15-1	16-2	17-3		18-2	
Раздел 2.3.	1-1	2-1	3-3	4-3	5-3	6-2	7-1	8-2	9-2	10-3

Рекомендуемая литература:

Основная

1. Гистология, эмбриология, цитология: учебник / Ю.И. Афанасьев, Н.А. Юрина, Б.В. Алешин, и др.; под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. – 6-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. С.423-470.

2.Хаитов Р.М. Иммунология: учебник, второе издание, переработанное и дополненное. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. С. 175-233.

3. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология. Учебник. 3-е изд., М., Медицина, 2010. 752с.

4. Ярилин А.А. Иммунология. Учебник. ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752с.

5. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. Учебник.М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 640с.

Дополнительная

1. Гистология, цитология и эмбриология. Атлас. / Быков В.Л., Юшканцева С.И. 2013. М: ГЭОТАР-Медиа. 2013. 296с.

2. Иммунология. Атлас / Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.Н. 2011.М.: ГЭОТАР-Медиа. 2011. 624с.

3. Решетникова Л.К. Клиническая иммунология: учебное пособие (второе издание). Благовещенск, 2006. С. 28-65.

4. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник.М: ГЭОТАР – Медиа, 2011. С.247-381.

5. Павленко В.И. Основные термины в иммунологии: учебное пособие. Благовещенск, 2014. 73с.

6. Чепель Э., Хейно М., Мисбах С., Сновдев Н. Основы клинической иммунологии. 5-издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. С.175-233.

7. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы (2 тома) / Серия учебных пособий. 2000. 231с.

8. Бурместер Г.Р., Пецутто А., Улрихс Т., Айхер А. Наглядная иммунология Color Atlas of Immunology. Издательство: Бином. Лаборатория знаний, 2009. 320с.

9. Terminologia Histologica. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов /под ред. В.В. Банина и В.Л. Быкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 272 с.

Подписано в печать 22.10.2017. Форма 60х84. Усл. печ. л 7,21. Бумага «Госзнак». Гарнитура тип Таймс. Тираж 100 экз. Зак. №605

Отпечатано в типографии ФГБОУ ВО
Амурская ГМА Министерства здравоохранения
Российской Федерации, г. Благовещенск, ул. Горького 95