

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И
СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ЧЛЕН-КОРРЕСПОНДЕНТ РАМН, ПРОФЕССОР
ПОРЯДИН ГЕННАДИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ**

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ИММУНОПАТОЛОГИИ**
(Состояние и перспективы развития исследований)

АКТОВАЯ РЕЧЬ

Москва - 2008

Глубокоуважаемые учителя,

коллеги,

единомышленники, друзья!

Для меня большая честь выступить с актовой речью в стенах родного университета. Это не только большая честь, но и огромная ответственность, совпавшая с пятидесятой (с 1948г), юбилейной актовой речью – высшего признания ученого медицинского сообщества нашей «Alma mater».

Я чрезвычайно благодарен всем, кто проявил интерес к моему выступлению и, несмотря на свою занятость, нашел возможным присутствовать в этом зале и поддержать меня в этот чрезвычайно волнительный момент в моей жизни. Наука – самое трудное, но и самое интересное из увлечений человека. Все годы пребывания в университете я постоянно чувствовал поддержку и понимание коллег – представителей самых различных научных школ.

Мое приобщение к науке началось на втором курсе обучения в институте, благодаря творческой обстановке на кафедрах института, захватывающей в круговорот научного поиска студенческую молодежь.

Моя регулярная научная деятельность началась в 1966 году и постоянно проходила под влиянием школы, в которой мне посчастливилось постичь азы научного поиска, приобрести навыки научной работы и приумножить ее достижения.

ВВЕДЕНИЕ

Интерес, проявляемый к заболеваниям, вызываемым повреждением иммунной системы, обусловлен как практическим, так и теоретическим значением этой проблемы. Речь идет о тяжелой и распространенной во всем мире виде патологии – **иммунопатологии**, борьба с которой имеет большое социальное значение. Иммунопатологические заболевания характеризуются необратимостью течения, приводят к потере трудоспособности и значительно сокращают срок жизни больных. Несмотря на определенный прогресс, отсутствуют эффективные методы их лечения. Риску развития иммунопатологических заболеваний подвергаются лица, находящиеся в наиболее трудоспособном возрасте.

Задача поиска и разработки рациональных подходов к профилактике и терапии иммунопатологических заболеваний может успешно решаться только на основе достоверных представлений об их патогенезе. Интенсивная разработка этой проблемы в последние десятилетия вскрыла ее чрезвычайную сложность и тесную связь со многими аспектами общей патологии и молекулярной биологии. Это привлекает к изучению патогенеза иммунопатологических заболеваний большой круг специалистов различного профиля и придает проблеме интерес, выходящий далеко за рамки теоретической медицины.

Приверженность автора к изучению иммунопатологии обусловлена во многом, тем обстоятельством, что в начале профессиональной деятельности мне представилась счастливая возможность попасть в научный коллектив, который возглавлял выдающийся патофизиолог – аллерголог нашей страны ака-

демик АМН СССР, заслуженный деятель науки Российской Федерации – **Андрей Дмитриевич АДО**.



Жизнь показала, что выбор был оптимальным. Исследования, проведенные коллективом кафедры патофизиологии в тесном содружестве с другими научными и медицинскими коллективами, позволили внести свой вклад в решение актуальной задачи - более глубокому пониманию основных молекулярных и клеточных механизмов заболеваний, имеющих в своей основе повреждение иммунной системы, и позволили обосновать пути поиска средств патогенетической терапии и профилактики многих из них.

Учитывая, что решение этой чрезвычайно важной как с научной, так и с практической точки зрения проблемы должно осуществляться на основе имеющихся знаний о природе дисфункции иммунной системы, часть наших исследований была посвящена углублению этих представлений.

В последние десятилетия отечественные и зарубежные исследователи значительное внимание уделяют изучению нарушений иммунной системы у больных аллергическими и аутоиммунными заболеваниями [Мазуров В.И., Лила А.М., 2000; Ковальчук Л.В. и соавт., 1999; Порядин Г.В. и соавт., 2002; Салмаси Ж.М. и соавт., 2003; Aarvak T. et al., 2000; Takemura S. et al., 2001; Esch T., Stefano G., 2002; Ishihara K., Hirano T., 2002; Simpson C.R. et al., 2002; Sheikh A. et al., 2003].

Несмотря на различия в этиологии и патогенезе, клинике, морфологической сущности и исходам эти иммунопатологические заболевания объединены одним общим патогенетическим механизмом – значительными отклонениями в иммунной системе организма.

Механизмы активации иммунной системы при иммунопатологических процессах различного происхождения недостаточно изучены, а особенности перестройки иммунной системы при разных формах иммунопатологии практически в литературе не описаны.

Вместе с тем, проблема перестройки иммунной системы и, в частности, механизмы этой перестройки, а также особенности функционирования иммунной системы при иммунно-опосредованных заболеваниях, учитывая их распространенность, представляют особую актуальность.

В настоящее время отсутствуют иммунологические критерии, позволяющие прогнозировать развитие воспалительного процесса. Неясным остается вопрос о специфичности иммунологических изменений при воспалении, сопровождающем иммунопатологические заболевания.

Недостаточная эффективность механизмов специфической и неспецифической защиты организма при иммунопатологических процессах и тяжелый характер течения иммунопатологических заболеваний могут объясняться нарушениями экспрессии поверхностных рецепторов клеток, принимающих участие в развитии воспаления [Ковальчук Л.В. и соавт., 2002]. Полноценное представление об особенностях иммунопатогенеза при иммунопатологических заболеваниях различного происхождения, можно получить при исследовании широкого спектра поверхностных рецепторов лимфоцитов, с учетом популяционных и субпопуляционных параметров, состояния активационного процесса с учетом готовности лимфоцитов к активационному апоптозу.

Однако исследования такого рода практически отсутствуют. Приводимые в литературе исследования проведены с использованием ограниченного набора параметров, что не позволяет выделить главные факторы патогенеза.

Экспрессия активационных рецепторов лимфоцитов определяет характер и темпы развиваемой иммунологической ответной реакции и в значительной степени определяется стимуляцией рецепторов адгезионного каскада [Barclay A.N. et al., 1997; Nishibori M. et al., 2003; Rhee J.S. et al., 2003].

Изучение особенностей популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов крови, экспрессии лимфоцитами маркеров активации и рецепторов адгезии позволит раскрыть механизмы участия иммунной системы в защите организма при воспалении; позволит понять механизмы развития выраженной вторичной альтерации вследствие чрезмерной активации иммунной системы при иммунопатологических заболеваниях.

В свою очередь, выявление главного звена иммунопатогенеза различных воспалительных процессов позволит не только расширить наши представления о дисфункции иммунного процесса, но и разработать патогенетически обоснованную терапию и существенно повысить эффективность лечения этих тяжелых болезней.

Проблема исследования механизмов формирования, диагностики и коррекции аллергических и аутоиммунных заболеваний особенно актуальна, поскольку в настоящее время происходит повсеместный рост заболеваемости и смертности, а также отмечается утяжеление течения этих заболеваний, появляются формы высоко резистентные к фармакотерапии, растет инвалидность среди больных.

I. МЕЖКЛЕТОЧНАЯ КООПЕРАЦИЯ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ.

Межклеточные взаимодействия в функционировании иммунной системы играют ключевую роль, занимая особое место в реализации иммунного ответа. Эти взаимодействия проявляются как в форме прямых контактов клеток, так и гуморальных влияний (рис. 1).

Контактные взаимодействия клеток в иммунном ответе осуществляются в следующих направлениях:

- Взаимодействия, связанные с презентацией антигена с участием антиген-представляющих клеток (АПК – дендритные клетки, макрофаги, В-лимфоциты) и Т-хелперов.
- Взаимодействия, связанные с реализацией иммунного ответа с участием Т-хелперов и предшественников эффекторных клеток (В-лимфоциты и предшественники Т-киллеров).

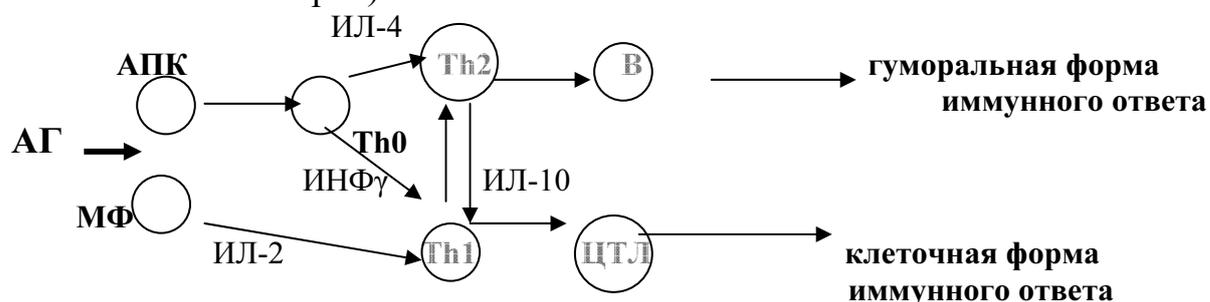


Рис.1. Схема межклеточных взаимодействий в иммунном ответе.

В обоих случаях основой для контакта клеток служит распознавание антигенного эпитопа рецепторами лимфоцитов [Nicholson L.B., Kichroo V.K., 1997; Banchereau J., Steinman R.M., 1998; Хаитов Р.М., 1999; Корнева Е.А., 2000; Хаитов Р.М., 2000; Agace W.W. et all., 2000; Akdis M. et all., 2000].

В случае взаимодействия АПК и Т-хелперов – распознавание комплекса антигенного пептида с молекулой главного комплекса гистосовместимости (МНС) II класса Т-клеточным рецептором (TCR-CD3) при участии молекулы CD4.

При взаимодействии Т-хелперов с В-клеткой также имеет место указанный тип распознавания (поскольку В-лимфоцит выполняет функцию АПК), однако специфичность ответа В-лимфоцитов определяется связыванием свободного антигена с иммуноглобулиновым компонентом BCR.

Взаимодействие антигенного эпитопа со специфическим рецептором не обеспечивает прочной адгезии клеток и генерации полноценного сигнала, достаточного для активации лимфоцитов.

Усиление адгезии и формирование полного сигнала достигается с помощью взаимодействия ряда вспомогательных адгезивных молекул (CD4, CD8αβ или CD8αα – корецепторы; CD28, CD152 (CTLA4), CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), CD40, CD154 (CD40L) – костимуляторы; CD2 (LFA2), CD58 (LFA-3), CD11a/CD18 (LFA-1), CD54 (ICAM-1) – молекулы адгезии – индукторы иммунного ответа) [Bertho N. Et all., 2000; Хаитов Р.М., 2001].

При взаимодействии АПК и Т-хелперов ключевую роль играет взаимное связывание молекул CD28 Т-лимфоцита и вариантов молекул В7 (CD80 или CD86) АПК (рис. 2). Связывание CD28 порождает сигналы, без которых оказываются недостаточно действенными каскады реакций, которые завершаются активацией цитокиновых генов, в первую очередь интерлейкина-2 (ИЛ-2). В результате под влиянием связывания CD28 усиливается выработка ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, фактора некроза опухоли (ФНО α) и интерферона γ [Chambers С.А., Allison J.P.,1997].

Костимуляция через CD28 усиливает экспрессию фактора, подавляющего развитие апоптоза (Bcl-X_L), что способствует усилению иммунных процессов, зависящих от Т-клеток (в отсутствие этой костимуляции активированные Т-клетки быстро погибают).

Костимуляция через CD28 (путем связывания с молекулой CD80) способствует индукции Th1-зависимых реакций – цитотоксического ответа, отторжения аллотрансплантата, противоопухолевой защиты.

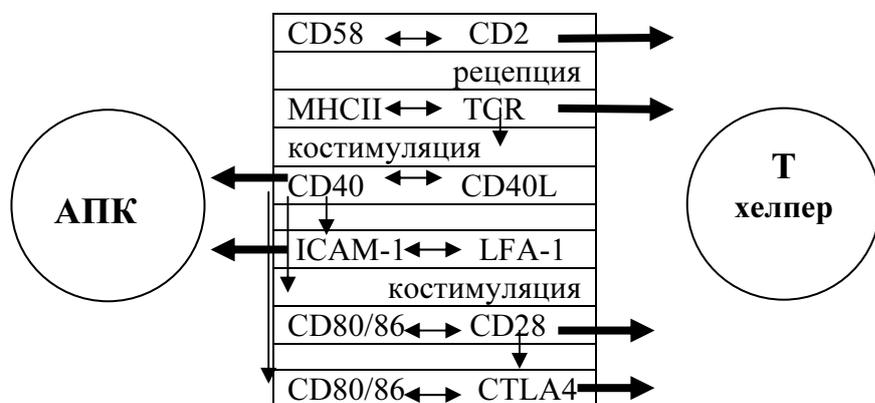


Рис. 2. Последовательность формирования межмолекулярных связей при взаимодействии АПК и Т-хелперов (жирные стрелки – направление сигналов).

Костимуляция через CD28 (путем связывания с молекулой CD86) способствует дифференцировке Т-клеток хелперной (CD4⁺) субпопуляции в Th2-хелперы гуморального ответа и выработке ИЛ-4.

При дефекте экспрессии CD28 дифференцировка CD4⁺ клеток идет исключительно в направлении формирования хелперов Th1-типа.

Отсутствие взаимодействия CD28 с CD80/CD86 ослабляет активацию Т-клеток (вследствие недостаточной выработки ИЛ-2), осуществление иммунного ответа, обуславливает анергию Т-лимфоцитов (отсутствие ответа на последующую стимуляцию).

Как и при взаимодействии АПК с Т-хелперами, при Т-В-кооперации имеет место двусторонняя направленность сигналов, однако преобладающее направление их в этом случае – от Т- к В-клетке, поскольку в данном случае именно В-лимфоцит вовлекается в иммунную реакцию, а Т-хелпер способствует этому. Хелперная функция Т-лимфоцитов реализуется двояко – через выде-

ление гуморальных факторов (цитокины) и через прямые контакты между Т- и В- клетками.

В осуществлении контактного типа кооперации основная роль принадлежит взаимодействию пары молекул: CD40 В-клетки и CD40L (CD154) Т-хелпера. При этом имеет место и взаимодействие молекул CD80/CD86 В-клеток и CD28 Т-клеток, но возникающий при этом сигнал имеет противоположную направленность, которая обуславливает функционирование В-лимфоцита в качестве АПК.

Взаимодействие CD40 и CD40L (CD154) с участием цитоплазматического белка CRAF-1 (от «CD40 receptor associated factor»), перекрестно сшивающего цитоплазматические участки CD40:

- индуцирует выработку В-клетками ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО α и β , ГМКСФ,
- обеспечивает выживание В-клеток, предотвращая развитие апоптоза, путем повышения экспрессии защитных факторов (Bcl-2 либо Bcl-X_L),
- обеспечивает переключение изотопов иммуноглобулинов в В-клетках,
- подает сигнал к дифференцировке В-клеток (кратковременный – обеспечивает созревание плазматических клеток, более длительный – В-клеток памяти).

Аналогичный сигнал, генерируемый в макрофагах, эндотелиальных клетках, фибробластах, включает активационные события, важные для осуществления воспалительной реакции и развития Th1-ответа.

Итак, распознавание антигена специфическими рецепторами лимфоцитов не способно само по себе обеспечить полноценный ответ клетки. Оно лишь определяет участие в иммунном ответе соответствующего клона лимфоцитов.

Полноценная же активация лимфоцитов и последующие реакции обеспечиваются действием костимулирующих сигналов, среди которых основная роль принадлежит рассмотренным выше контактными взаимодействиям лимфоцитов со вспомогательными клетками.

На каждом этапе ответа на внешние стимулы (действие антигена) лимфоцит оказывается перед выбором между двумя вариантами реакций:

- активация с последующей пролиферацией,
- активация с развитием апоптоза.

Вслед за пролиферацией осуществляется дифференцировка, предполагающая возможность расхождения путей развития клетки в разных направлениях (например, дифференцировка Т-хелперов в клетки типов Th1 и Th2, последствия которой проявляются в различных формах иммунного ответа).

В осуществлении выбора типа ответной реакции ключевую роль играют костимулирующие сигналы, особенно сигналы, обусловленные контактными взаимодействиями клеток.

Рассмотренные межмолекулярные и межклеточные взаимодействия реализуются при нормальном ответе, в основе которого лежит активация лимфоидных клеток.

II. МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ АЛЛЕРГИИ (АТОПИИ).

Аллергические заболевания, основу которых составляет повреждение иммунного ответа (иммунологической реактивности), занимают важное место среди болезней человека.

В большинстве стран мира отмечается неуклонный рост числа аллергических заболеваний, значительно превышающий в ряде случаев заболеваемость злокачественными опухолями, сердечно-сосудистыми заболеваниями [Федоскова Т.Г., 2004]

Аллергия в наши дни становится по существу национальным бедствием для многих стран мира, включая и Россию.

Высокий уровень заболеваемости аллергией - обратная сторона прогресса, своего рода расплата за цивилизацию.

Одним из тяжелейших аллергических заболеваний является бронхиальная астма – занимающая первое место среди болезней органов дыхания. Ежегодно растет число вызовов по скорой медицинской помощи по поводу аллергических реакций, возникающих на введение вакцин, сывороток, лекарственных препаратов [Федосеев Г.Б с соавт., 1997; Пыцкий В.И., с соавт., 1999].

Загрязнение биосферы токсичными, раздражающими и сенсибилизирующими веществами, эмоциональные стрессы, выраженная химизация условий труда и быта, злоупотребление фармакологическими средствами способствуют постоянному напряжению гомеостатических механизмов с вовлечением резервных возможностей жизнедеятельности, создает почву для срыва механизмов адаптации, развития различных заболеваний, в том числе и аллергических. А, учитывая, что все неблагоприятные факторы действуют на человека, год из года наращивая свой эффект и то обстоятельство, что предрасположенность к аллергии имеет наследственную основу, в ближайшие десятилетия следует ожидать сохранения неблагоприятной тенденции к росту, утяжелению и многообразию проявлений аллергических заболеваний.

В течение многих лет сотрудники кафедры особое внимание уделяют изучению характера дефекта **клеточного звена** иммунной системы при аллергии (Г.В.Порядин, Ж.М.Салмаси, Ву Минь Тхук, А.Н.Казимирский, В.С.Курмангалиев, Н.Е.Журавлева, Л.Ю.Семенова, А.И.Макаров, О.В.Сычева, А.М.Оршанко, Е.А.Бусарова, Е.В.Гаврилова, З.В.Рябинина, Ю.В.Шарпань).

Эти исследования ведутся в теснейшем контакте с клиникой, что всегда характеризовало наш коллектив.

Изучение характера дефекта клеточного звена иммунной системы ведется в нескольких направлениях:

1. Исследования поверхностного фенотипа лимфоцитов (популяционные и субпопуляционные маркеры);
2. Оценка функционального состояния иммунорегуляторных механизмов;

3. Изучение функциональной роли цитокинов и рецепторного аппарата лимфоцитов;
4. Анализ активационных процессов в иммунной системе;
5. Состояние Fas-зависимого апоптоза иммунокомпетентных клеток.

1. Поверхностный фенотип лимфоцитов (популяционные и субпопуляционные маркеры) при атопии.

Внедрение в экспериментальную и клиническую иммунологию моноклональной технологии позволило проводить интенсивные исследования поверхностного фенотипа лимфоцитов (популяционные и субпопуляционные маркеры).

Определение поверхностных маркеров лимфоцитов позволяет оценивать как количественные нарушения лимфоцитов периферической крови, так и нарушения функции лимфоцитов, возникающие при патологии.

Количественное содержание Т-лимфоцитов оценивается по экспрессии мембранных гликопротеидных молекул: CD3, CD4, CD8.

CD3 –антиген - маркер количественной оценки всей популяции Т-клеток.

CD4-антиген - маркер количественной оценки хелперно-индукторной субпопуляции Т- лимфоцитов.

CD8-антиген - маркер количественной оценки цитотоксической субпопуляции Т- лимфоцитов.

В качестве маркеров В-лимфоцитов используется экспрессия мембранных гликопротеидных молекул: CD20, CD72, mIgM, mIgG, CD38, CD23.

CD20-антиген - характеризует общее количество зрелых В-лимфоцитов, находящихся в состоянии покоя – фаза G₀.

CD72-антиген - характеризует примированные антигеном В-лимфоциты.

mIgM, mIgG – поверхностные иммуноглобулиновые молекулы.

CD38-антиген – поверхностный гликопротеид мембраны В-лимфоцитов, трансформирующихся в плазматические клетки.

CD23-антиген - низкоаффинный рецептор для IgE, на активированных В-лимфоцитах, моноцитах, макрофагах и эозинофилах.

Исследования, проведенные сотрудниками кафедры (**Г.В. Порядин, Ж.М.Салмаси, Ву Минь Тхук, О.В.Сычева, Л.Ю.Семенова, Е.А.Бусарова, Е.В.Гаврилова, З.О.Алиева, З.В.Рябинина**), показали, что общим для атопии является существенное (на 7-11%) снижение содержания в периферической крови Т-лимфоцитов, обусловленное преимущественным уменьшением количества цитотоксических лимфоцитов(CD8⁺).

У атопических пациентов повышено содержание В-лимфоцитов, экспрессирующих поверхностный рецептор CD20, примированных антигеном В-клеток, несущих поверхностный рецептор CD72, что свидетельствует о способности В-лимфоцитов вести интенсивный синтез иммуноглобулинов.

Количество В-лимфоцитов, несущих поверхностные (мембранные) иммуноглобулины (mIgM⁺ - mIgG⁺-лимфоциты), увеличено в 2-3 раза.

Представляет интерес в диагностическом плане определение содержания в крови atopических больных лимфоцитов, экспрессирующих антиген CD38.

У всех пациентов с atopией (по сравнению со здоровыми) выявляется более чем 2-х кратное повышение содержания CD38⁺-лимфоцитов.

2. Функциональное состояние иммунорегуляторных механизмов при atopии

80-е годы прошлого столетия ознаменовались активизацией исследований, посвященных оценке функционального состояния иммунорегуляторных механизмов при аллергии. Убедительные данные в пользу существования дефицита регуляторных клеток при аллергии были получены нами при изучении функции иммунорегуляторных клеток у больных atopией (Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, Ву Минь Тхук, Н.Е. Журавлева, Е.А. Бусарова).



Рис. 3. Роль снижения активности Т-супрессорных лимфоцитов в патогенезе аллергии.

Исследование состояния клеточного иммунитета у больных с различными формами проявления аллергии (поллиноз, атопическая бронхиальная астма) позволило установить у подавляющего большинства из них достоверное снижение индуцированной супрессорной активности Т-лимфоцитов. Причем у 68% больных атопической формой бронхиальной астмы индуцированная супрессорная активность лимфоцитов отменялась полностью уже в первые 5 лет болезни. При поллинозе же функциональные изменения в Т-системе лимфоцитов имели тенденцию к постепенному нарастанию в зависимости от длительности заболевания. Полная отмена супрессорной активности лимфоцитов у всех больных поллинозом выявилась после 15 лет заболевания.

Основываясь на данных о сниженной, по сравнению с нормой, способности Т-лимфоцитов подавлять выработку иммуноглобулина Е, мы сформулировали концепцию аллергии как вторичное иммунодефицитное состояние, развивающееся в результате срыва иммунорегуляторных механизмов (рис. 3).

Как и при других формах иммунного ответа, клетками-продуцентами IgE-антител являются дифференцированные В-лимфоциты, тогда как регуляторами синтеза иммуноглобулина Е являются Т-клетки. Угнетение или усиление IgE-ответа зависит от соотношения Т-хелперной и Т-цитотоксической активности. При чем, в регуляции синтеза реагинов преобладают супрессивные механизмы, приводящие в норме к ограниченной продукции IgE-антител. Продукция аллергических антител, относящихся к классу иммуноглобулина Е, является значительно более чувствительной к регулирующим механизмам, чем выработка иммуноглобулинов других классов. В результате длительного воздействия аллергенов избирательно элиминируется субпопуляция Т-цитотоксических лимфоцитов, что ведет в свою очередь к увеличению образования аллергических антител.

Если этот механизм повреждается и его подавляющие способности снижаются, то момент сенсibilизации индивидуума одним или несколькими аллергенами может привести к "аллергическому прорыву" и образованию высоких; достаточных для проявления аллергических симптомов концентраций иммуноглобулина Е.

3. Цитокины и рецепторный аппарат лимфоцитов при атопии.

Согласно последних данных сложные кооперативные взаимодействия между клетками обеспечиваются посредством секреции и рецепции гуморальных факторов (цитокинов), активирующих рост или влияющих на функциональную активность лимфоцитов [Хаитов Р.М., 2001; 2002].

Изучение субпопуляций Т-лимфоцитов и их функции при аллергии привело к выявлению дефекта в генерации индуцированных супрессорных Т-клеток, что позволило рассматривать аллергические заболевания как вторичные иммунодефициты, развивающиеся в результате срыва иммунорегулирующих механизмов [Г.В. Порядин, 1985]. Однако уровень дефекта иммунорегуляции при аллергии может быть связан либо с продукцией, либо с характером захвата интерлейкинов лимфоидными клетками. Особенно, если принять во внимание современные представления, согласно которым интенсивность большинства им-

мунных реакций связана с активностью пролиферации специфических клонов клеток-эффекторов, регулируемой интерлейкинами [Медуницын Н.В., 1993; Балаболкин И.И. и др., 1994].

Для решения этой задачи на кафедре (**Ж.М. Салмаси, Н.Е.Журавлева, Е.А.Бусарова**) были проведены исследования влияния основных цитокинов, синтезируемых Т-хелперами 1 типа на регуляторное звено иммунной системы больных аллергией, которые показали, что введение в культуру лимфоцитов больных аллергией одного из цитокинов (ИЛ-2, ИФН- α , ИФН- γ) смещало функциональный баланс индуцированных иммунорегуляторных клеток в сторону усиления супрессорных влияний, что вызывало повышение числа лимфоцитов, экспрессирующих поверхностный CD8-антиген и в 2 раза подавляло спонтанную продукцию IgE in vitro.

Таким образом, у больных с атопией не нарушена экспрессия рецепторов к цитокинам на иммунорегуляторных клетках, речь может идти, скорее всего, о нарушении синтеза цитокинов регуляторными лимфоцитами больных атопией, ответственных за формирование иммунного ответа, что, вероятно, может быть одним из механизмов, приводящих к нарушению супрессорной функции регуляторных лимфоцитов.

С учетом сведений полученных сотрудниками кафедры, и экспериментальных данных других исследователей, механизм направленного синтеза IgE можно представить следующим образом (рис. 4).

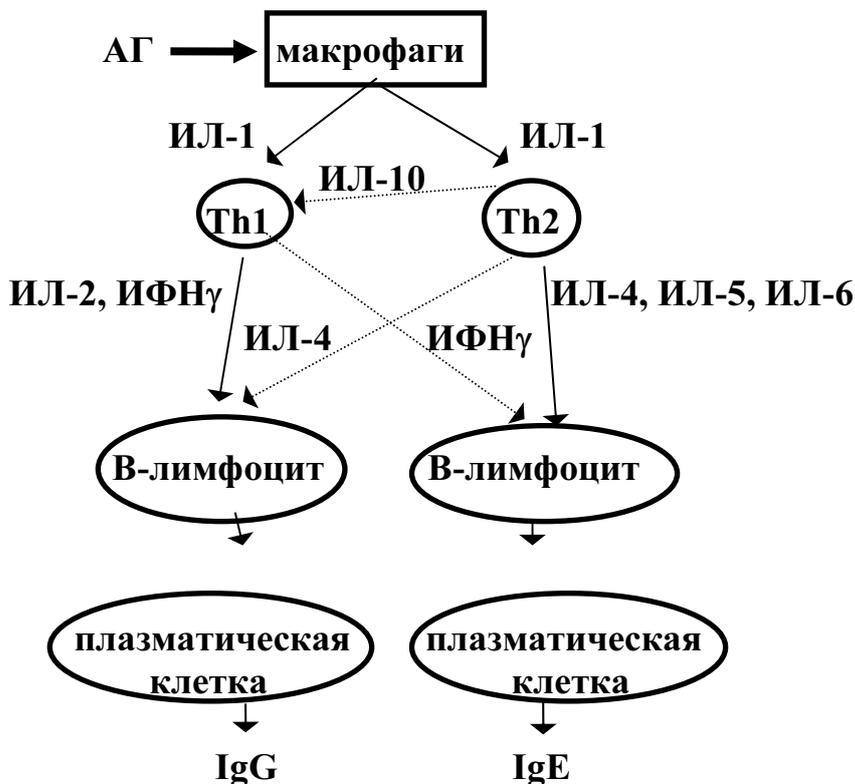


Рис. 4. Схема цитокин-опосредованной регуляции специфичности изотипа иммуноглобулинов у человека. *Обозначения:*

- > - активирующий эффект,
- > - тормозящий эффект.

Попадание в организм антигена (АГ) активирует макрофаги (МФ) и вызывает секрецию ими клеточных факторов (ИЛ-1, интерферонов), стимулирующих Т-клетки. Активированные Т-лимфоциты в свою очередь секретируют набор цитокинов. Для регуляции гуморального иммунного ответа особое значение имеют два фактора: ИЛ-4 и ИФН γ . Если Т-клетка продуцирует преимущественно ИФН γ , активированная при антигенспецифическом контакте В-клетка дифференцируется под действием своего регуляторного сигнала в IgG-продуцирующую плазматическую клетку. Напротив, если происходит преимущественная продукция ИЛ-4, это индуцирует экспрессию Fc ϵ R2/CD23 на В- и Т-клетках, моноцитах, альвеолярных макрофагах и завершается продукцией плазматическими клетками IgE.

Кроме ИЛ-4, В-клетки нуждаются для запуска продукции IgE в другом сигнале, осуществляемом прямым клеточным контактом. К взаимодействиям Т/В-типа, необходимым для индукции синтеза антител независимо от изотипа, продуцируемого в каждом случае, относятся тримолекулярный комплекс из молекулы II класса главного комплекса гистосовместимости антигенпрезентирующей клетки с Т-клеточным антигенспецифическим рецептором и молекулой CD4, контакт между участвующим в активации Т-клетки мембранным белком CD2 с LFA-3 (антиген, ассоциированный с функцией лейкоцита), а также взаимодействие между CD40 В-клетки и гликопротеидом (gp33/39) Т-клеточной мембраны, который экспрессируется только на активированных Т-лимфоцитах.

Под действием набора цитокинов (ИЛ-3, ИЛ-4 и ИЛ-5), секретируемых Th2-клетками, в процесс вовлекается весь спектр эффекторных клеток, являющихся атрибутом IgE опосредованного иммунного ответа: тучные, базофильные и эозинофильные клетки – их пролиферация, созревание, тканевое распределение и активация. Тучные клетки и базофилы после антигениндуцированного перекрестного взаимодействия рецепторов для IgE на их клеточной мембране секретируют не только медиаторы аллергических реакций, но и цитокины, соответствующих набору цитокинов Th2-клеток. Тем самым происходит пролонгирование и усиление IgE-опосредованного иммунного ответа, замыкается порочный круг.

Таким образом, аллергическое заболевание представляет собой нарушение сложнейших регулирующих и модулирующих взаимоотношений между отдельными звеньями иммунокомпетентной системы (находящихся под контролем генов иммунного ответа), реализующееся при сочетании неспецифических повреждающих факторов и массовой антигенной агрессии. При разработке методов иммунокоррекции у больных с атопией целесообразно учитывать особенности патогенеза основных форм этого заболевания. В свою очередь, высокая иммунокорригирующая эффективность ИЛ-2 и ИФН γ в отношении лимфоцитов больных атопией *in vitro*, позволяет, с одной стороны, предположить возможную роль нарушения их продукции, например при снижении активности Т-хелперов I типа, а с другой - обсуждать перспективы применения этих цитокинов или индукторов их синтеза для лечения атопических заболеваний.

4. Активационные процессы в иммунной системе при атопии.

Иммунный ответ – это физиологическая реакция, направленная на поддержание генетического постоянства внутренней среды организма, то есть его гомеостаза (Р.М. Хаитов, 2001). Материальным субстратом, обеспечивающим антигенное постоянство, является иммунная система, а точнее – ее функционирование. Функционирование иммунной системы как единого целого субстрата, так и отдельных клеточных популяций обеспечивается постоянной рециркуляцией иммунокомпетентных клеток и их взаимодействием. В свою очередь, сбалансированность иммунного ответа на антигенную агрессию (нагрузку) в прямую зависит от основных, физиологических процессов происходящих в самой иммунной системе: восполнение (пролиферация) пула иммунокомпетентных клеток (в лимфоидных органах), дифференцировка лимфоидных популяций, их рециркуляция и миграция, приобретение иммунокомпетентной клеткой способности распознавать антиген (обеспечивается присутствием на ее поверхности специализированных антигенраспознающих рецепторов), установление межклеточных контактов (обуславливается взаимодействием молекул адгезии ICAM-1, VCAM-1).

Взаимодействие антигена с рецептором иммунокомпетентной клетки вызывает активацию лимфоцитов, то есть их выход из фазы покоя G_0 в фазу клеточного цикла G_1 . Это подготавливает клетки к пролиферации, заставляя их функционировать и вовлекаться в иммунный ответ.

Для развития пролиферации иммунокомпетентной клетки требуется участие ростовых факторов (в первую очередь, ИЛ-2, в случае Т-клеток, и ИЛ-4, ИЛ-5, в случае В-клеток).

Передача активационного сигнала, приводящего к активации лимфоцитов, состоит в развитии каскада реакций, завершающихся экспрессией различных генов и их рецепторов на поверхности клетки (рис.2).

Иммунный ответ на антигенную стимуляцию существенно изменяет структуру иммунной системы. Однако, при успешной элиминации антигена и несущих его агентов, включаются механизмы обратного развития иммунного ответа, направленные на восстановление структуры иммунной системы, которые приводят ее к состоянию близкому к исходному, но с появлением некоторых новых и весьма существенных черт (клетки памяти).

По мнению Р.М. Хаитова (2000, 2001) качество иммунного ответа непосредственно связано с активностью различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток. Это диктует необходимость оценки способности иммунной системы человека отвечать на генетически чужеродные агенты.

Одним из таких перспективных направлений является оценка и анализ активационного профиля субпопуляций иммунокомпетентных клеток. Такая возможность появилась благодаря внедрению в иммунологическую практику моноклональной технологии.

При анализе антигенного профиля лимфоцитов следует учитывать, что на его поверхности экспрессируется, по меньшей мере, 2 типа рецепторов:

1. Поверхностные рецепторы (распознающие структуры, с помощью которых клетки узнают антиген и воспринимают другие стимулы, необходимые для их жизнедеятельности) присутствующие постоянно, так называемые конститутивные антигены. К ним относятся все популяционные и субпопуляционные маркеры.
2. Поверхностные рецепторы клеток лимфоидной ткани, экспрессирующиеся только в определенные периоды клеточного цикла, так называемые активационные антигены лимфоцитов.

Повышение уровня экспрессии этих антигенов связано с усилением активности иммунной системы и, как правило, совпадает с обострением патологического процесса (заболевания).

Наш многолетний экспериментальный опыт показал, что определение экспрессии на поверхности лимфоцита активационных маркеров является наиболее простым и эффективным способом оценки активационных процессов в иммунной системе [Г.В. Порядин с соавт., 1996, 1997, 2004, 2005, 2006].

На сегодня известно большое количество активационных антигенов, экспрессирующихся на мембране лимфоцитов [Р.М. Хаитов с соавт., 1995, 2000; Barclay et al., 1997]. В свою очередь все активационные антигены могут быть разделены на три категории:

К первой категории следует отнести активационные антигены дифференцировочного характера. Их экспрессия сопровождается прохождением определенного этапа клеточного цикла (CD25, CD71, HLA-DR и CD95).

Ко второй категории – функциональные активационные антигены – их экспрессия связана с определенным изменением функционального состояния клетки (ICAM-1, CD23, CD30, CD95L).

К третьей категории могут быть отнесены рецепторы адгезионного каскада и в частности рецепторы хоминга, благодаря экспрессии которых лимфоциты достигают региональных лимфатических органов.

В практическом плане при исследовании активационных процессов в иммунной системе наиболее эффективно использовать сочетанную экспрессию дифференцировочных и функциональных активационных маркеров.

Функциональный смысл поверхностных антигенов лимфоцитов.

Антиген CD23 – FcεRII (45 кДа) - представляет собой низкоаффинный рецептор для IgE, экспрессируется на активированных В-лимфоцитах, моноцитах, макрофагах и эозинофилах. Экспрессия CD23 регулируется ИЛ-4, поэтому повышение уровня экспрессии CD23 на поверхности зрелых В-лимфоцитов является косвенным указанием на присутствие ИЛ-4 в период клеточной активации.

Антиген CD25 (28 кДа) является α-субъединицей рецептора для ИЛ-2. Экспрессируется на поверхности активированных Т-, В-лимфоцитов и макрофагов. Экспрессия CD25 является обязательным этапом активации иммунной системы и признаком готовности лимфоцитов к вступлению в пролиферацию и дифференцировку. Особенностью рецептора CD25 является его способность к экспрессии под влиянием ИЛ-2.

Антиген CD71 (180-190 кДа) представляет собой рецептор для трансферрина. Экспрессируется на поверхности большинства готовых к делению клеток, обеспечивая поступление в клетку ионов железа, необходимых для пролиферации. Недостаточность экспрессии рецептора CD71 ведет к нарушению пролиферации клеток.

По современным представлениям система HLA, обеспечивая регуляцию иммунного ответа, осуществляет такие важнейшие функции как взаимодействие иммунокомпетентных клеток организма, распознавание своих и чужеродных, в том числе измененных собственных клеток, запуск и реализацию иммунного ответа, обеспечивая выживание человека как вида в условиях экзогенной и эндогенной агрессии [Р.М. Хаитов, 2001]. Согласно современным представлениям система HLA состоит из молекул 3-х классов: гены HLA класса I, гены HLA класса II и гены HLA класса III, что и позволяет ей выполнение всего многообразия физиологических функций.

HLA-DR-антигены относятся к антигенам главного комплекса гистосовместимости II класса и могут экспрессироваться на всех активированных иммунокомпетентных клетках. HLA-DR-антигены встречаются и затем связываются с пептидом экзогенного происхождения, что ведет к формированию популяции Th1- и Th2-клеток.

Помимо регуляции иммунного ответа система HLA обеспечивает также и такой «терминальный» этап регуляции этой реакции как апоптоз различных типов антигенпредставляющих клеток (АПК). Роль антигенов HLA-DR не ограничивается регуляцией апоптоза «профессиональных» АПК. Они принимают также непосредственное участие и в апоптозе В-лимфоцитов. Возрастание экспрессии молекул HLA-DR на клеточных мембранах, по мнению Bertho N. et all. [2000], является одним из механизмов апоптоза, особенно в отношении лимфоцитов, утративших способность к экспрессии Fas-антигена.

Изучение экспрессии такого активационного маркера, как **CD95** (Apo-1, Fas-антиген – 45 кДа), который при взаимодействии с Fas-L лигандом запускает процессы апоптоза в клетке после ее активации и выполнения возложенной на нее функции, позволяет выявить способность иммуноцитов к иммунному ответу. Fas-антиген экспрессируется повсеместно, включая и активированные Т- и В-клетки.

В ряде исследований показано, что при активации клетки экспрессия перечисленных антигенов, как правило, происходит в следующем порядке: **CD25→CD71→HLA-DR→CD95**. В связи с этим CD25 и CD71 рассматривают как ранние активационные маркеры, а HLA-DR и CD95 - как поздние активационные маркеры (Г.В. Порядин с соавт., 2002).

Ряд рецепторов лимфоцитов не относят, напрямую, к группе активационных, однако, увеличение их экспрессии в значительной степени связано с иммунной активацией. Так активированные клетки несут на своей поверхности такие молекулы адгезии, как L-селектины и интегрины (распознают иммуноглобулиноподобные молекулы группы ICAM), а также рецепторы этих молекул, способствующих проникновению иммунокомпетентных клеток в ткани, контакту и взаимодействию эффекторных клеток с клетками-мишенями.

Анализ активационного профиля субпопуляций иммунокомпетентных клеток (при использовании расширенного набора антигенов) позволяет:

- провести характеристику активационного процесса в иммунной системе,
-
- оценить вхождение клеток в активационный апоптоз,
- отнести скорости образования и дифференцировки лимфоцитов, с одной стороны, со скоростью входа в апоптоз с другой, что в совокупности позволяет дать обоснованное заключение о нарушении популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов, о причинах этого нарушения и необходимой иммунокорректирующей терапии.

Комплекс работ, проведенных на кафедре в течение последних 10 лет (Ж.М.Салмаси, А.Н. Казимирский, Н.Е. Журавлева, О.Л.Сычева, А.М. Оршанко, З.В. Рябинина, З.О. Алиева), позволил нам установить ряд чрезвычайно важных закономерностей, раскрывающих патогенетические особенности развития атопии, что легло в основу разработки принципиально новых подходов к диагностике, терапии и профилактики аллергических состояний.

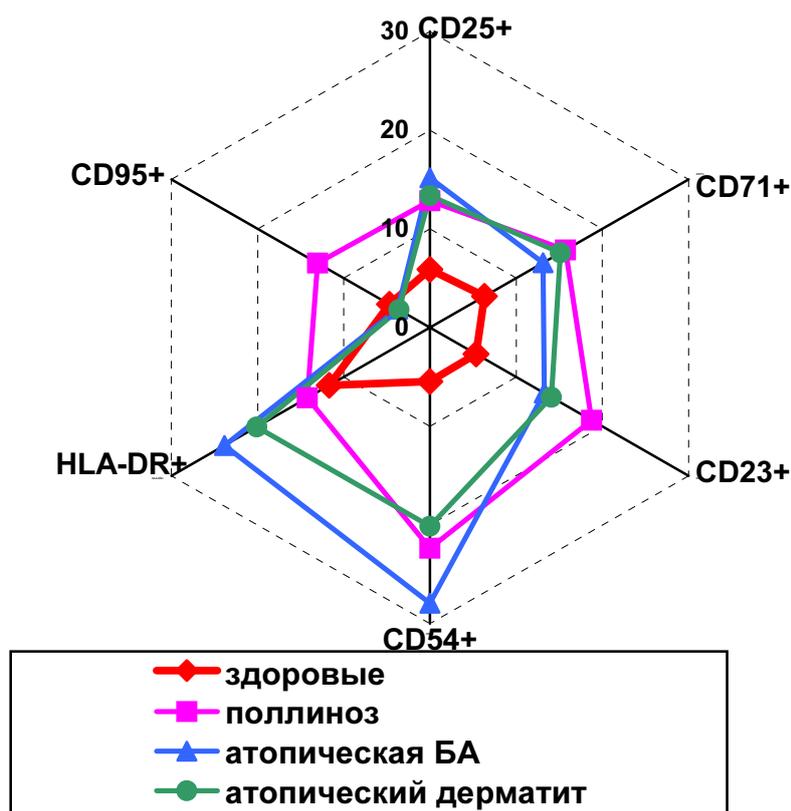


Рис. 5. Экспрессия активационных маркеров лимфоцитами больных атопией.

Анализ активационных процессов в иммунной системе показал, что для всех атопических заболеваний (рис. 5) характерен высокий (в 2-3 раза по сравнению с нормой) уровень прироста в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих маркер ранней активации - CD25-антиген, что обеспечивает бы-

строе размножение и последующую дифференцировку наивных Т-клеток до зрелых форм в разгар воспалительного процесса.

При всех atopических заболеваниях (рис.5) (вдвое по сравнению с нормой) усиливается экспрессия маркера ранней активации рецептора для трансферрина – CD71, что свидетельствует об усилении пролиферативной активности лимфоцитов.

Исследование экспрессии рецепторов адгезии ICAM-1 (CD54) при atopии показало резкое повышение в периферической крови больных содержания CD54⁺-лимфоцитов (в 4-5 раз по сравнению с нормой), что, по-видимому, отражает повышенную готовность лимфоцитов крови к миграции в очаг воспаления, обусловленной необходимостью интенсивного обновления антигенпрезентирующих клеток в связи с усилением антигенной нагрузки на них (рис.5).

Увеличение лимфоцитов, несущих на себе рецепторы адгезии ICAM-1 (CD54), является одним из подтверждений вовлечения иммунной системы больных в ответ острой фазы.

Обращает на себя внимание (рис.5), что среди основных активационных антигенов, при atopии, имело место увеличение количества лимфоцитов, экспрессирующих маркер активации В-лимфоцитов (CD23-антиген).

Увеличение экспрессии HLA-DR-антигена - маркера поздней стадии активации лимфоцитов отмечается лишь при обострении тяжелых atopических заболеваний (рис. 5).

Анализ активационного профиля субпопуляций иммунокомпетентных клеток весьма показателен для оценки остроты и выраженности ответной иммунной реакции на повреждение и на действие патогенного фактора в течение всего периода развития острого воспалительного процесса.

Обострение всех atopических заболеваний (поллиноз, atopическая бронхиальная астма, atopический дерматит) сопряжено с интенсивными активационными процессами в иммунной системе, которые сопровождаются выраженным увеличением экспрессии ранних (CD25, CD71) активационных антигенов.

Экспрессия же поздних (HLA-DR) антигенов напрямую связана с тяжестью заболевания. Если при поллинозе экспрессия антигена HLA-DR практически не отличается от нормы, то при atopической бронхиальной астме и atopическом дерматите - резко возрастает.

Латентная сенсibilизация

Говоря о механизмах atopии, нельзя не вспомнить о такой важной для современной аллергологии проблеме как латентная сенсibilизация.

Проблема латентного периода сенсibilизации при развитии аллергических заболеваний недостаточно изучена и крайне скудно освещена в доступной литературе [Baur X.et all., 1998; Resano A. et all., 1998; Smith T., 2005].

Малочисленность и противоречивость сведений о характере изменения иммунного статуса у больных с латентной сенсibilизацией диктует необходимость проведения подобных исследований с целью углубления наших знаний о патогенезе atopии.

Совместно с сотрудниками НИИ Иммунологии (**Т.В.Латышева**) и НИИ Педиатрии (**И.И. Балаболкин**), исследуя лимфоциты периферической крови взрослых и детей (в возрасте 7-12 лет), сотрудники нашей кафедры (**А.М. Оршанко, З.В. Рябинина**) обнаружили у части обследуемых достоверные различия в составе поверхностных маркеров лимфоцитов, а при постановке кожных проб у них была выявлена значительная чувствительность (от сомнительной до папулы 3 мм) к аллергенам домашней пыли, библиотечной пыли, пера, шерсти собаки, шерсти кошки, плесени.

Клинически сенсibilизация не проявлялась, и первые приступы удушья при контакте с вышеперечисленными аллергенами были отмечены лишь спустя шесть-девять месяцев.

Исследования иммунного статуса у взрослых пациентов зарегистрировали снижение содержания CD3⁺- и NK-лимфоцитов, при неизменном количестве иммунорегуляторных клеток (CD4⁺, CD8⁺) и содержания В-лимфоцитов различных форм дифференцировки. У больных с латентной сенсibilизацией выявлялась тенденция к повышению экспрессии CD38⁺-лимфоцитов – предшественников плазматических клеток.

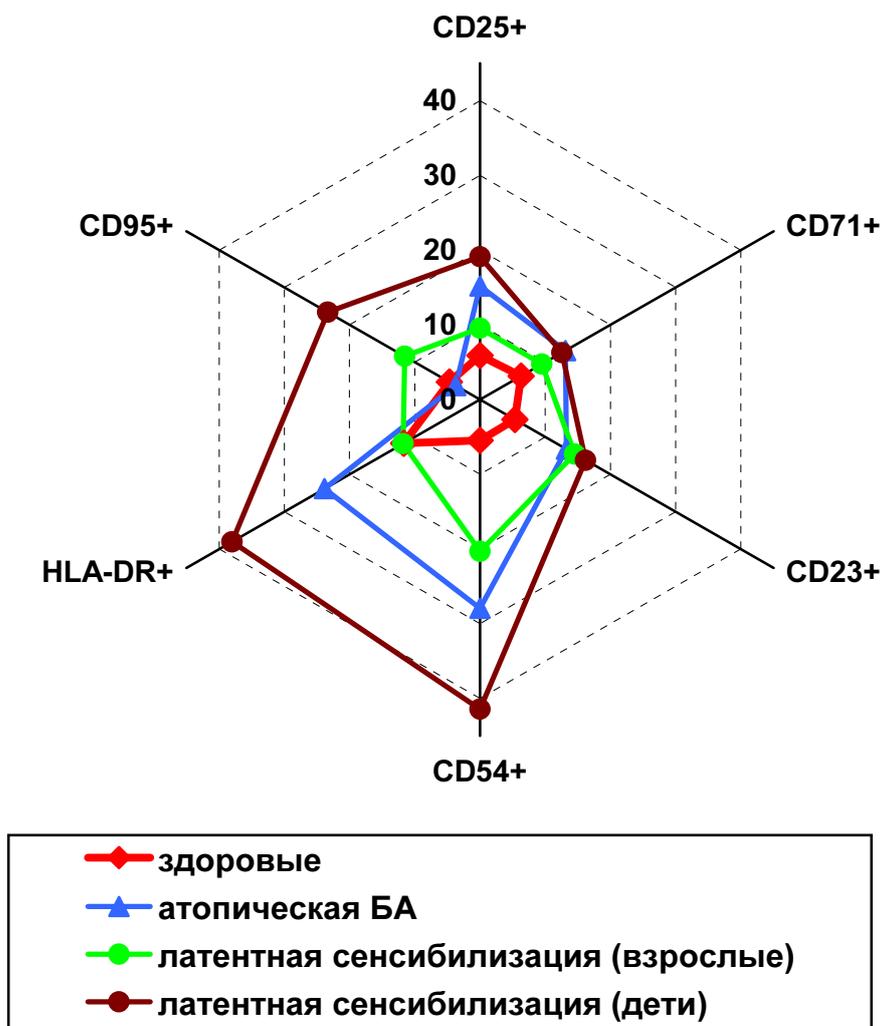


Рис. 6. Экспрессия активационных маркеров лимфоцитами больных с латентной сенсibilизацией

Исследования иммунного статуса у детей из данной группы выявило наличие у них вторичных бипозитивных клеток ($CD3^+4^+8^-$ и $CD3^+4^-8^+$), сумма которых значительно превышала общее количество Т-лимфоцитов, что характерно для нарушения процессов созревания и дифференцировки лимфоцитов или для постоянного контакта с антигеном, увеличение количества активированных натуральных киллеров - один из признаков развития ответа иммунной системы в ответ на антигенную стимуляцию, увеличение количества В-клеток различных стадий дифференцировки (несущих тяжелые цепи IgM и IgG - один из необходимых этапов синтеза высокоспецифичных антител).

Таким образом, для состояния латентной сенсibilизации как у взрослых, так и детей (не смотря на некоторые различия) характерно: увеличение количества активированных натуральных киллеров, низкоафинного рецептора к IgE ($CD23^+$), активация В-клеточного звена (значительное повышение клеток с экспрессией молекулы адгезии ICAM, рецептора к ИЛ-2 ($CD25$), рецептора к трансферрину ($CD71$), увеличение зрелых, способных к синтезу антител клеток (HLA-DR), и несущих маркер активационного апоптоза ($CD95$). Указанные критерии, как показали дальнейшие клинические исследования, могут служить доказательными признаками латентной сенсibilизации при выявлении групп риска по расширению спектра аллергенов, при обнаружении в межприступный период (рис. 6).

5. Дефекты FAS-зависимого апоптоза при атопии.

Понятие "апоптоз" введено в начале 70-х годов [Kerr et al., 1972] для обозначения активной формы гибели клеток, сопровождающейся уменьшением их объема и сморщиванием, а на молекулярном уровне - деградацией ДНК, потерей трансмембранного потенциала митохондрий, уплотнением мембран и рядом других характерных изменений (рис. 7).

Но, лишь в 90-е годы [Green et al., 1992; Russel, 1995; Kroemer, 1995; McConkey et al., 1996; Wong, Choi, 1997; Kornblau, 1998; Kramer, 1999; Ярилин, 1996,1998 и др.] явление апоптоза привлекло всеобщее внимание биологов и медиков, поскольку было, наконец, осмыслено, что это - одна из фундаментальных форм реакции клеток на внешние и внутренние сигналы, подобно пролиферации и дифференцировке, альтернативой которых он является.

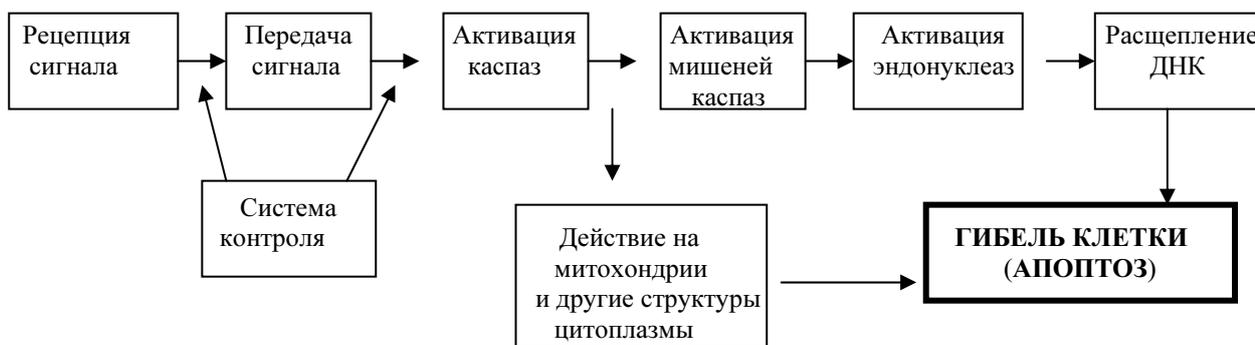


Рис. 7. Схема развития апоптоза (по А.А. Ярилину).

В настоящее время направления регуляции (модуляции) апоптоза иммунокомпетентных клеток рассматривается как возможный терапевтический подход для коррекции ряда заболеваний и, в первую очередь, иммунопатологических (Миннебаев М. М. с соавт., 2002). Однако, работ, посвященных направленной модуляции апоптоза при иммунопатологии невелико [Бойчук С.В. с сотр., 2000, 2001, 2002; Ярилин А.А. с сотр., 2000;].

Величина экспрессии CD95⁺-лимфоцитов отражает готовность лимфоцитов вступить в апоптоз – включить механизм программированной клеточной гибели по Fas-зависимому механизму. Fas–рецептор (CD95) – специализированный «рецептор смерти», имеющий в клетках свой «цитоплазматический домен гибели» - FADD (Fas-associated death domain).

Учитывая вышеизложенное, для решения проблемы патогенеза атопии сотрудниками кафедры (**Ж.М. Салмаси, Л.Ю. Семенова, Н.Е. Журавлева, З.В. Рябинина**) проведены исследования по установлению роли апоптоза иммунокомпетентных клеток. Анализ содержания в периферической крови больных тяжелыми формами атопии в стадии обострения CD95⁺-лимфоцитов (рис.5,6, табл.1) обнаруживает их понижение в периферической крови по сравнению со здоровыми донорами, что, возможно, связано с действием медиаторов острой фазы воспаления, определяющих выраженность и тяжесть атопического заболевания.

Экспрессия ранних активационных антигенов при поллинозе и латентной сенсibilизации сопровождается одновременным усилением индукции рецептора Fas-опосредованного апоптоза – CD95.

Сочетание выраженного увеличения всех активационных маркеров у больных АБА и АД на фоне снижения экспрессии CD95-антигена позволяет предположить нарушение индукции Fas-зависимого апоптоза у больных с тяжелым атопическим заболеванием, что является одним из механизмов развития функционального дисбаланса иммунорегуляции при тяжелом течении атопии.

Таблица 1

Экспрессия CD95-антигена лимфоцитами больных атопией.

Обследованные группы	Экспрессия маркера	Изменение экспрессии маркера
Здоровые доноры	4,68±0,27	
Поллиноз (обострение)	13,03±1,59%	↑
Атопическая БА (обострение)	3,74±0,68%	↓
Атопический дерматит (обострение)	3,60±0,81%	↓
Латентная сенсibilизация взрослые	11,57±1,98%	↑
дети	23,34±4,56%	↑

Известно, что важнейшую роль в индукции апоптоза играют биохимические процессы в клетке. Одновременная активация протеинкиназы С и мобилизации Ca^{2+} в клетке стимулирует пролиферацию клеток и формирование иммунного ответа. Тогда как неадекватное повышение концентрации Ca^{2+} в лимфоците при недостаточной активации протеинкиназы С сопровождается активацией эндонуклеаз и запуском апоптоза [Фонталин Л.Н., 1994; Новиков В.С., 1996].

Наряду с протеинкиназой С, важную роль в индукции апоптоза играет активация протеинкиназы А, напрямую стимулирующей клеточные эндонуклеазы. В свою очередь, активность протеинкиназы А регулируется внутриклеточной концентрацией цАМФ. Моделирующее влияние цАМФ на функциональное состояние клетки-мишени связано, кроме того, с его способностью изменять концентрацию внутриклеточного Ca^{2+} .

Ключевым механизмом, определяющим дальнейшую «положительную» или «отрицательную» активацию лимфоцита [Cheredeev A.N., Kovalchuk L.V., 1997] является изменение соотношения активности протеинкиназы С и цитоплазматической концентрации Ca^{2+} .

В свою очередь изменение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} сопровождается однонаправленным изменением концентрации цГМФ в лимфоците.

Наши исследования (**Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, А.Н. Самсонов, А.И.Макаров**) показали, что у больных атопией наблюдается нарушение соотношения циклических нуклеотидов цАМФ/цГМФ в лимфоцитах, проявляющееся в двукратном снижении концентрации цГМФ на фоне нарастания концентрации цАМФ.

Под влиянием же стимулирующих агентов, таких как ФГА, у здоровых людей наблюдается увеличение концентрации цГМФ, отражающее накопление Ca^{2+} в цитоплазме. Повышение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} при низкой активности протеинкиназы С может приводить к активации эндонуклеаз и развитию апоптоза. У больных же атопией под влиянием ФГА концентрация цГМФ в лимфоцитах не растет, а снижается, что отражает нарушение процесса накопления ионизированного кальция в клетках. На фоне же низкой концентрации Ca^{2+} в цитоплазме даже изменение концентрации протеинкиназы С не может обеспечить индукции апоптоза, и процесс завершается “положительной активацией”, приводящей к гиперпродукции IgE.

Кроме того, изменение баланса циклических нуклеотидов в лимфоцитах больных атопией может способствовать нарушению функционального баланса хелперных клеток 1 и 2 типов с развитием преобладания Th2. Это связано с тем, что повышение внутриклеточного цАМФ сопровождается подавлением продукции ИЛ-2 и γ -интерферона. Кроме того, медиаторы Th1- лимфоцитов способствуют развитию апоптоза, а медиаторы Th2-лимфоцитов ему препятствуют [Новиков В. С., 1996], и преобладание эффектов Th2-клеток способствует подавлению апоптоза при атопии. Общее представление о возможном патогенезе нарушений в иммунной системе при атопии представлено на рис.8.

В основе развития заболевания лежат нарушения баланса протеинкиназы С и протеинкиназы А, связанные с дефектом рецепции и/или передачи сигнала с

рецептора на системы вторичных мессенджеров. Высока вероятность развития биохимического дефекта, связанного с нарушением изоферментного состава протеинкиназ и (или) других важнейших регуляторных ферментов. Для атопии эти дефекты, по-видимому, имеют наследственный характер [Huang et al., 1994; Holgate et al., 1995].

Важнейшим моментом иммунопатогенеза атопии, отраженным на рис.8, является вовлеченность иммунной системы больных в развитие порочных кругов, как локальных, так и охватывающих все стадии развития заболевания. В частности, не последнюю роль в усилении сенсibilизации и расширении ее спектра при постоянном контакте с аллергеном играет прямое выделение медиаторов иммунной системы клетками-мишенями аллергических реакций, например выделение ИЛ-4 тучными клетками и базофилами крови [Schroder et al., 1997].

Как свидетельствуют наши данные, в патогенезе иммунологических нарушений при атопии важную роль играет подавление механизмов регуляции апоптоза. У больных атопическими заболеваниями, вследствие врожденного нарушения процессов рецепции внутриклеточной передачи цитокиновых сигналов, по-видимому, возникает дефект экспрессии CD95, наблюдается преобладание процессов пролиферации над процессами апоптоза, что приводит к формированию специфических Т-хелперных лимфоцитов, соответствующих клонов В-клеток и усиленному синтезу IgE. Дальнейшее поддержание патологического процесса связано с образованием порочного круга. Под влиянием комплекса антиген-антитело на поверхности тучных клеток последние выделяют (синтезируют) как “классические” медиаторы воспаления, такие как гистамин, простагландины, ФАТ и лейкотриены, так и медиаторы иммунной системы, в первую очередь ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5 [Порядин Г.В. и др., 1996; Holgate, 1996; Ochi et al., 1996]. Эти медиаторы, в свою очередь вызывают увеличение локальной экспрессии FcεR2/CD23, синтеза IgE, Т-клеточной пролиферации и привлечение других клеток воспаления. Вследствие ИЛ-4-индуцированной экспрессии FcεR2/CD23 на моноцитах и макрофагах, эти клетки усиленно поглощают и затем презентуют на своей поверхности комплексы «IgE-аллерген», что дополнительно стимулирует аллергенспецифические Т-клетки и усиливает воспалительный процесс при атопии.

6. Роль вегетативной нервной системы в патогенезе атопии

Одним из приоритетных направлений изучения патогенеза атопии является исследование нейро-иммунных взаимодействий [Brazzini B. et al., 2003; Gieler U. et al., 2003; Lotti T., 2003; Иванов О.Л., Львов А.Н., 2004]. Такие взаимодействия осуществляются нейромедиаторами (норадреналин, серотонин), нейропептидами (субстанция Р, вазоактивный интестинальный пептид), гормонами гипоталамо-адренкортикальной системы и цитокинами [Slominski A., Wortsman J., 2000].

Российской медицинской школе принадлежит приоритет в исследовании роли центральной и вегетативной нервной системы в генезе аллергических ре-

акций. Нервная система, как показали работы школы А.Д.Адо, наряду с другими тканями участвует в реакции аллерген-антитело, причем продукты этой реакции являются теми факторами, которые изменяют реактивность нервной системы при аллергии

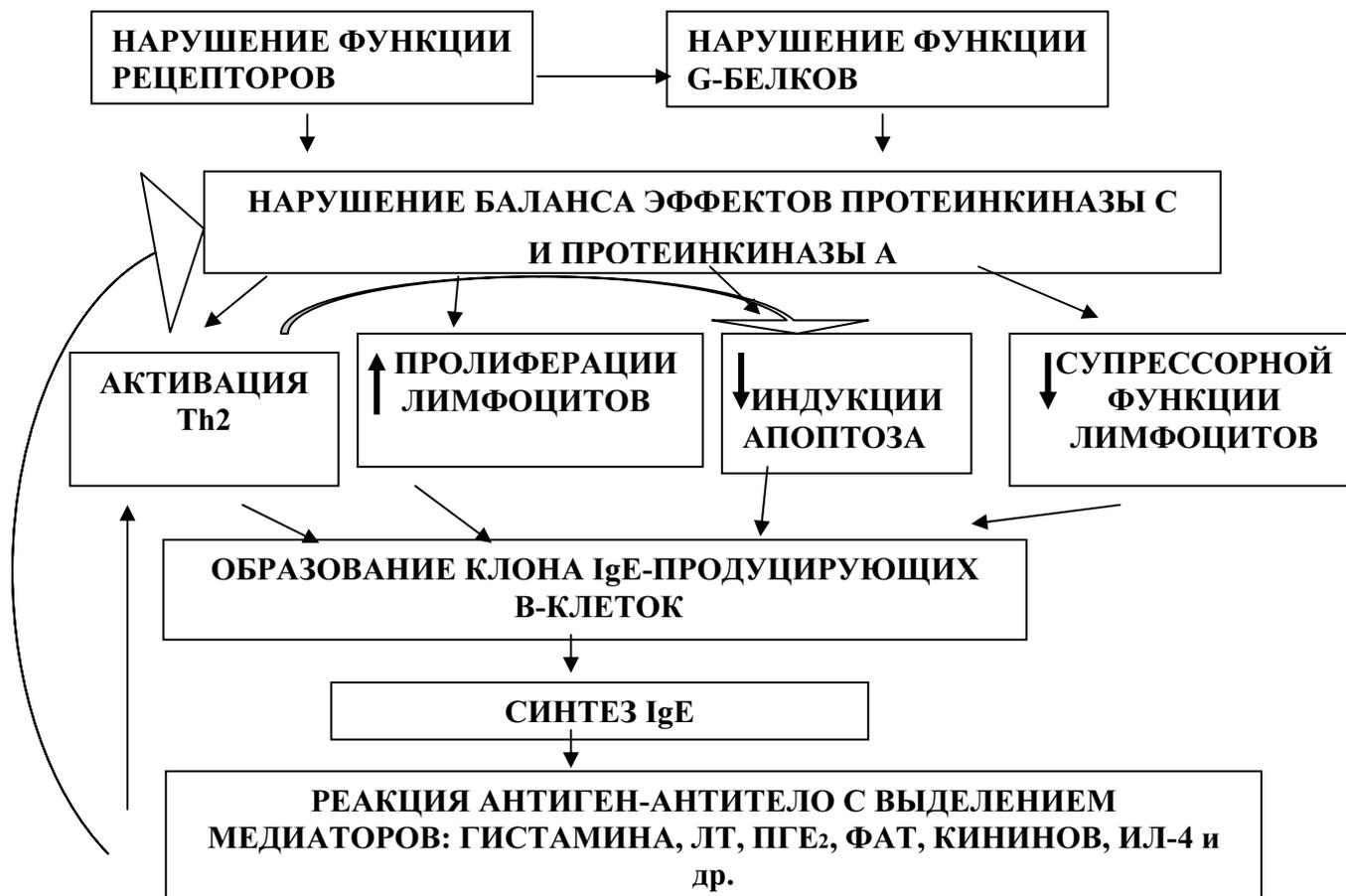


Рис.8. Гипотетическая схема молекулярных механизмов развития иммуно-биохимической перестройки организма при атопии.

По нашим данным (Г.В. Порядин, А.П. Баранов, Е.А. Бусарова, Н.Е. Журавлева, Ж.М. Салмаси, О.В. Сычева, А.Н. Самсонов, А.И. Макарьков) дисбаланс функционального состояния вегетативной нервной системы (синаптической и парасинаптической иннервации) играет большую роль в патогенезе многих аллергических заболеваний и, прежде всего, бронхиальной астмы.

Проведенные на кафедре исследования по влиянию адрено- и холинотропных веществ на экспрессию поверхностных антигенов лимфоцитов показали, что сальбутамол (β_2 -адреномиметик) вызывал достоверное повышение экспрессии CD8 антигена у больных атопической бронхиальной астмой. Экспрессия же CD4, CD5 антигенов и Ig рецепторов на лимфоцитах больных атопической астмой под влиянием сальбутамола практически не изменялась. Избирательное влияние сальбутамола преимущественно на экспрессию CD8 антигена вызывало снижение соотношения $CD4^+/CD8^+$ клеток. Механизм иммунокорректирующей

шего действия β_2 -адреномиметиков реализуется на молекулярном уровне, через активацию аденилатциклазы, и последующее длительное повышение уровня цАМФ в клетке.

Трентол (селективный М-холинолитик) также достоверно повышал экспрессию CD8 антигена у больных атопической бронхиальной астмой. Повидимому столь выраженный иммунокорректирующий эффект трентола связан с тем, что он блокирует не только M_1 и M_3 холинорецепторы, активирующие фосфоинозитидный обмен, но и M_2 и M_4 рецепторы, способные блокировать аденилатциклазу.

Таким образом и трентол и сальбутамол способствуют усилению супрессорной функции иммунорегуляторных лимфоцитов больных атопической бронхиальной астмой, способствуя нормализации их соотношения.

Сальбутамол, и трентол более чем в 1,5 раза снижают спонтанный синтез IgE *in vitro* лимфоцитами больных бронхиальной астмой. Подобное снижение синтеза IgE может быть связано как с подавлением активности Т-хелперов, так и с развитием терминальной дифференцировки В-клеток, запускаемой цАМФ через активацию протеинкиназы А (Фонталин Л.Н., 1994).

Таким образом используемые в практической медицине при лечении бронхиальной астмы β_2 -агонисты и М-холиноантагонисты помимо бронходилатирующего эффекта обладают и иммунокорректирующей активностью. Механизмы этой активности связаны с вмешательством исследуемых соединений в каскадный многокомпонентный процесс активации клеток иммунной системы. Практически одинаковая чувствительность различных популяций лимфоцитов к действию аналогов медиаторов вегетативной нервной системы не позволяет говорить о существенном функциональном "блоке" рецепторов этих соединений на лимфоцитах. Поскольку иммунотропные эффекты адрено- и холинотропных веществ реализуются только в их присутствии, и не сопровождаются стойкой перестройкой обмена веществ в клетке, иммунокорректирующий эффект реализуется только пока препарат находится в организме. С другой стороны, иммунотропные эффекты этих соединений касаются практически всех популяций иммунокомпетентных клеток, имеющих соответствующие рецепторы. Полученные результаты позволяют утверждать, что нарушения функции вегетативной нервной системы, проявляющиеся в нарушении баланса адренергической и холинергической стимуляции тканей, может играть важную роль в формировании аллергии.

7. Роль пуриновых соединений в иммунопатогенезе атопии

После публикации сведений о том, что нарушение обмена пуриновых соединений может приводить к тяжелым поражениям иммунной системы (Vagasra et al., 1992, Stephal et al., 1993, Peeters et al., 1993, Weinberg et al., 1993), пристальное внимание исследователей во всем мире было привлечено к изучению иммунотропных эффектов аденозина и его метаболитов.

Уникальность пуриновых соединений в биологическом смысле связана с тем, что они присутствуют практически во всех видах клеток, в связи с чем,

участвуют в различных биохимических процессах и регуляторных реакциях, оказывая влияние на функциональную активность клеток нервной, эндокринной, сердечно-сосудистой, дыхательной и других систем [Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., 1987; Федоров Н.А. с соавт., 1990; Елисеев В.В., Полтавченко Г.М., 1991].

Все это позволило предположить, что изменения пуринового обмена могут сопровождать перестройку иммунной системы и приводить к тяжелым ее поражениям при иммунопатологии.

Предприняв серию экспериментов, с целью изучения роли пуринов в иммунопатогенезе атопии, мы (Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, Е.В. Гаврилова, А.Н. Самсонов, А.И. Макарьков) обнаружили, что при инкубации лимфоцитов периферической крови больных атопической бронхиальной астмой с аденозином достоверно увеличилось количество клеток, экспрессирующих CD8-антиген, что свидетельствует, вероятно, о способности аденозина увеличить супрессорный потенциал иммунорегуляторных клеток у больных АБА. На характер индуцированного аденозином изменения поверхностного фенотипа лимфоцитов при АБА существенным образом влияет как доза нуклеотида, так и продолжительность заболевания.

Блокатор внеклеточных пуриновых рецепторов теofilлин полностью предотвращал изменение экспрессии CD8-антигенов под действием аденозина. Эти результаты показали, что процесс изменения экспрессии поверхностных антигенов лимфоидных клеток под влиянием пуриновых соединений опосредован их взаимодействием с соответствующими рецепторами.

Анализируя результаты, полученные в экспериментах по изучению влияния аденозина на поверхностный фенотип и на функциональную активность иммунорегуляторных клеток в норме и при атопии, можно прийти к заключению о выраженном иммуностропном эффекте аденозина, причем воздействие это имеет нормализующее влияние на измененную активность лимфоцитов у больных атопической бронхиальной астмой. Следовательно, особенности метаболизма и рецепции пуриновых соединений у больных бронхиальной астмой могут, по-видимому, служить в качестве одного из механизмов адаптации организма больного к жизни в условиях IgE-опосредованных иммунологических реакций.

III. ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА, АКТИВАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ И АПОПТОЗА ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК ПРИ АУТОИММУННОЙ ПАТОЛОГИИ.

В последние годы отмечается неуклонный рост некоронарогенных заболеваний миокарда, в связи с чем, они продолжают оставаться одной из основных проблем в клинике внутренних болезней и сердечно-сосудистой патологии. По распространенности и тяжести заболевания ведущее место среди некоронарогенных заболеваний миокарда занимают миокардиты [Теодори М.И. с соавт., 1979; Палеев Н.Р. с соавт., 1987, 1988].

Значительное внимание в последние десятилетия отечественные и зарубежные исследователи уделяют изучению нарушений иммунной системы у больных ревматоидным артритом [Мазуров В.И., Лиля А.М., 2000; Порядин Г.В. и соавт., 2002; Салмаси Ж.М. и соавт., 2003; Aarvak T. et al., 2000; Take-mura S. et al., 2001; Esch T., Stefano G., 2002; Ishihara K., Hirano T., 2002; Simpson C.R. et al., 2002; Sheikh A. et al., 2003] – заболеванию, имеющему высокую социально-экономическую значимость и являющемуся центральной проблемой современной ревматологии.

Учитывая данные литературы и наши собственные данные, накопленные в последние годы, свидетельствующие о важной роли иммунной системы в развитии любой воспалительной реакции [Йегер Л., 1990; Romagnani S., 2000; Порядин Г.В. с соавт., 2002; Салмаси Ж.М. с соавт., 2003;] и немногочисленные и вместе с тем весьма противоречивые сведения относительно состояния иммунной системы при миокардитах и ревматоидом артрите, сотрудники кафедры (Ж.М. Салмаси, Л.Ю. Семенова, А.Н. Казимирский, М.В. Головизнин) совместно с сотрудниками МОНИКИ им. Владимирского (Ф.Н. Палеев, Н.П. Санина) и кафедры факультетской терапии РГМУ (Н.А. Шостак, В.Т. Тимофеев, Т.К. Логинова) провели исследование активационных процессов и апоптоза в иммунной системе, для более глубокого понимания патогенетических механизмов этих заболеваний и разработки концептуальных подходов к фармакологической коррекции выявленных нарушений.

1. Особенность изменения поверхностных рецепторов циркулирующих лимфоцитов при аутоиммунном процессе

Для получения иммунологической характеристики каждого аутоиммунного процесса мы предприняли попытку сравнить особенность изменения поверхностных рецепторов циркулирующих лимфоцитов.

Аутоиммунные заболевания (ревматоидный артрит, миокардит) характеризуются типичными изменениями клеточного состава лимфоцитов.

Резким снижением общего ($CD3^+$) содержания Т-лимфоцитов (в среднем до 41,5%). Снижение содержания $CD3^+$ -лимфоцитов сопровождается заметным снижением содержания в крови хелперно-индукторной ($CD4^+$) субпопуляций Т-лимфоцитов и одновременным появлением в крови большого количества дважды позитивных лимфоцитов (Т-лимфоцитов с фенотипом $CD3^+4^+8^+$). Появление последних свидетельствует о чрезмерной стимуляции тимуса и нарушении процессов дифференцировки Т-лимфоцитов в нем.

Аутоиммунные заболевания в отличие от аллергических не имеют определенной направленности изменения цитотоксической ($CD8^+$) субпопуляции Т-лимфоцитов. При ревматоидном артрите содержание цитотоксических ($CD8^+$) Т-лимфоцитов не меняется, при миокардите – имеет тенденцию к выраженному снижению.

Аутоиммунный процесс (ревматоидный артрит, миокардит), характеризуется увеличением (в 2 раза) в крови больных популяции естественных килле-

ров, экспрессирующих антиген CD16 с одновременным 3-х кратным усилением в них активационных процессов (экспрессия CD56).

Аутоиммунные заболевания характеризуются увеличением содержания в крови больных популяции В-лимфоцитов (CD20⁺). Увеличение содержания CD20⁺-лимфоцитов связано в первую очередь с ростом в крови дифференцированных форм: В-лимфоцитов, экспрессирующих mIgM и mIgG, а также предшественников плазматических клеток (CD38⁺), завершающих процесс дифференциации В-лимфоцитов.

Поскольку в настоящее время механизм возникновения витилиго является дискуссионным вопросом, сотрудник кафедры **Л.Ю. Семенова** предприняла попытку проанализировать широкий спектр поверхностных рецепторов лимфоцитов периферической крови при этом заболевании и сопоставить их с показателями иммунной системы больных при изученных аутоиммунных заболеваниях.

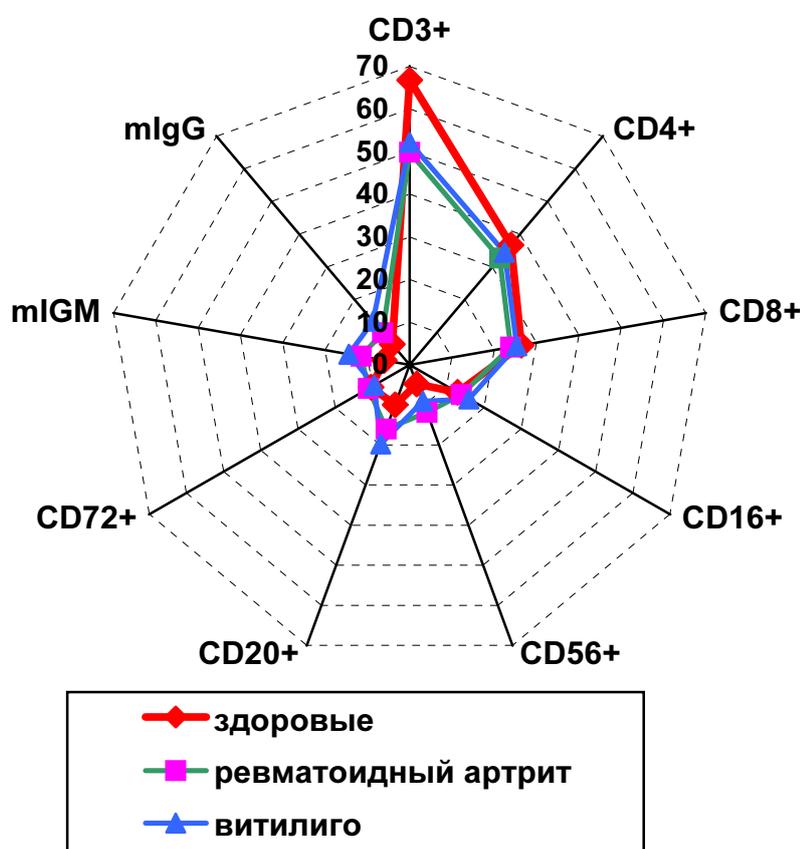


Рис. 9. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов больных ранним ревматоидным артритом и витилиго.

Результаты исследований популяционного и субпопуляционного состава Т-лимфоцитов, различных дифференцированных форм В-лимфоцитов и содержания НК-клеток у больных ранним ревматоидным артритом и витилиго в период обострения заболевания приведены на рис.9.

Сравнительное исследование изменений поверхностных рецепторов лимфоцитов при раннем ревматоидном артрите и витилиго позволило выявить характерные иммунологические особенности для этих заболеваний.

У больных ранним ревматоидным артритом и витилиго, в отличие от атопии, для которой характерно значимое понижение содержания Т-лимфоцитов периферической крови преимущественно за счет клеток

У больных ранним ревматоидным артритом и витилиго, в отличие от атопии, для которой характерно значимое понижение содержания Т-лимфоцитов периферической крови преимущественно за счет клеток

цитотоксической субпопуляции ($CD8^+$ -клетки), регистрируется дефицит Т-клеток периферической крови, преимущественно за счет Т-лимфоцитов хелперной субпопуляции. Дефицит Т-лимфоцитов возможно связан с более высоким уровнем ответа острой фазы, и соответственно более значительным увеличением в крови концентрации ИЛ-1 и ФНО- α . А также, нельзя исключить возможность иммунодепрессивного действия продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

При исследованных заболеваниях обнаружена активация В-клеточного звена иммунной системы. Активационный процесс в период обострения заболеваний направлен на образование новых клеток. Результат активационного процесса в лимфоцитах при этих видах иммунопатологии, прежде всего, состоит в значительном (в среднем в два раза) увеличении количества В-лимфоцитов, способных вести высокоинтенсивный синтез иммуноглобулинов $mIgM^+$, $mIgG^+$ -клеток. В то же время у больных ранним ревматоидным артритом и витилиго не изменена экспрессия маркера CD72.

Повышение количества $CD20^+$ -лимфоцитов свидетельство подготовки к активации В-клеточного звена иммунной системы, поскольку олигомеры CD20 формируют Ca^{2+} -канал в мембране В-лимфоцита [Barclay A.N. et al., 1997; Хаитов Р.М. и соавт., 2000]. При поступлении Ca^{2+} в В-лимфоциты активируется специфическая функция клеток этого вида - антителогенез [Ярилин А.А., 1999].

Содержание естественных киллерных клеток, реализующих свою цитотоксическую функцию (CD56) в исследуемых группах больных в период обострения было значительно повышенным по сравнению с уровнем экспрессии CD56 у здоровых лиц.

2. Активационные процессы в иммунной системе при аутоиммунной патологии.

Анализ активационных процессов в иммунной системе показывает, что для всех острых аутоиммунных процессов, независимо от их характера (рис.10) характерен высокий (в 2-3 раза по сравнению с нормой) уровень прироста в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих маркер ранней активации - CD25-антиген, что обеспечивает быстрое размножение и последующую дифференцировку наивных Т-клеток до зрелых форм в разгар воспалительного процесса.

При всех видах аутоиммунного воспаления (рис.10) (вдвое по сравнению с нормой) усиливается экспрессия маркера ранней активации рецептора для трансферрина – CD71, что свидетельствует об усилении пролиферативной активности лимфоцитов в острую фазу воспаления. При обострении аутоиммунных заболеваний (рис.10) отмечается увеличение экспрессии HLA-DR-антигена - маркера поздней стадии активации лимфоцитов.

У больных с аутоиммунными заболеваниями (миокардит, РА, рассеянный склероз, витилиго) наблюдался прирост в крови содержания лимфоцитов, экспрессирующих рецептор индукции Fas-зависимого апоптоза CD95. Однако его экспрессия существенно отстает от других активационных антигенов, в первую очередь CD71 и HLA-DR.

Исследование экспрессии рецепторов адгезии ICAM-1 (CD54) при аутоиммунной патологии (миокардит, РА, рассеянный склероз, витилиго) показало трех кратное повышение в периферической крови больных содержания CD54⁺-лимфоцитов, что, по-видимому, отражает повышенную готовность лимфоцитов крови к миграции в очаг воспаления и их взаимодействие с антигенпрезентирующими клетками.

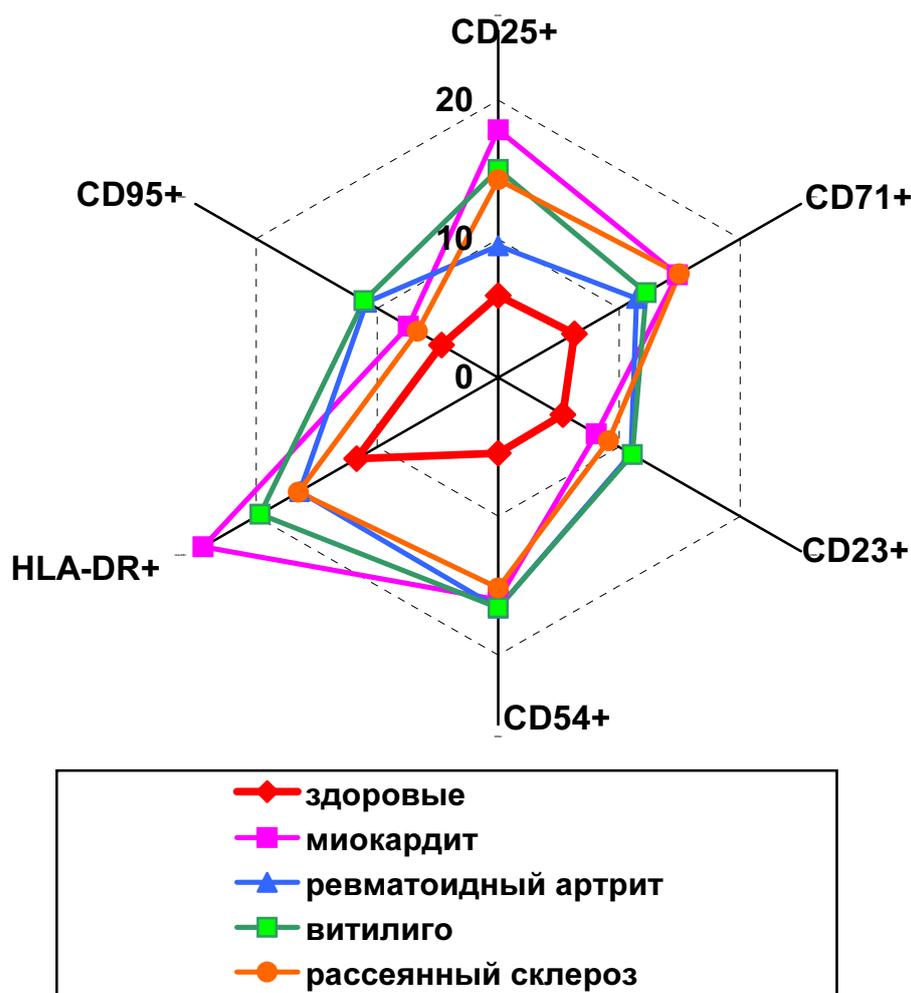


Рис.10. Экспрессия активационных маркеров лимфоцитами больных с аутоиммунными заболеваниями.

Обращает на себя внимание (рис.10), что среди основных активационных антигенов, при аутоиммунных процессах, имело место увеличение количества лимфоцитов, экспрессирующих маркер активации В-лимфоцитов (CD23-антиген), что, вероятно, свидетельствует о вовлечении В-клеточного звена иммунной системы в острофазный ответ, не зависимо от причины его вызвавшей.

Выявленная закономерность подвигает нас по новому посмотреть на активационный антиген-CD23, который по общепринятому на сегодня взгляду рассматривается как низкоаффинный рецептор для IgE и отождествляется исключительно с атопией.

IV. МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ВОСПАЛЕНИИ.

Значительное количество заболеваний сопровождается воспалительными процессами. До сих пор отсутствует полноценное, исчерпывающее определение феномена воспаления. Некоторая часть исследователей относят этот процесс к приспособительным реакциям, имеющим относительную целесообразность, однако большинство специалистов считает этот процесс, локально развивающейся, защитно-приспособительной реакцией организма, направленной на поддержание гомеостаза.

Биологический смысл сопряжения до иммунных стадий воспаления с иммунологически опосредованными реакциями заключается в отграничении собственного структурно измененного антигена или проникшего извне повреждающего патогенного фактора с последующим устранением последствий. Поэтому конечный результат воспаления существенно зависит от иммунного ответа. Воспаление как патологическая реакция не развивается при эффективной ответной реакции иммунной системы. При этом межклеточные взаимодействия лежащие в основе иммунного ответа находятся под генетическим контролем [Петров Р.В. с соавт., 1991].

К неспецифическому воспалению могут быть отнесены все процессы асептического и инфекционного происхождения. Их общая основа заключается в последовательной миграции мононуклеарных клеток крови в очаг воспаления и также последовательном прохождении этапов иммунологической ответной реакции. Запуск адаптивного иммунного ответа состоит в локальном восприятии антигена антигенпрезентирующими клетками и его доставке в региональные лимфоидные органы, взаимодействия и активации антигенспецифических клонов рециркулирующих лимфоцитов в регионарном лимфоидном органе, презентация антигенов в антигенпрезентирующей клетке Т-хелперным клеткам и выбору пути дифференцировки CD4⁺-лимфоцитов в направлении Th1 или Th2 ответа [Ярилин А.А. 1999].

Однако недостаточность адаптивного иммунитета вызывает осложнения заболеваний в связи с развитием воспалительного процесса [Хаитов Р.М. с соавт. 2000]. Клинические проявления утяжеления неспецифического воспалительного процесса состоят в образовании абсцессов и флегмон. Неблагоприят-

ное течение неспецифического воспаления проявляется в гнойном характере процесса с преобладанием миграции нейтрофилов в очаг воспаления.

Исследования последнего времени посвящены поискам иммунных нарушений в ходе развития ответной иммунологической реакции развивающейся при неспецифических воспалительных процессах. Наиболее общая причина иммунологической недостаточности состоит в низком уровне активации лимфоцитов при неспецифическом воспалении. [Tzianabos A.O. et al., 2000; Burr J.S. et al., 2001; Gemmell E. et al., 2001; Girndt M. et al., 2001; Kabashima H. et al., 2001; Liu Z. et al., 2001; Van Damme N. et al., 2001].

Роль CD8⁺-лимфоцитов в инфекционных процессах подробно исследована в целом ряде работ последних лет, где установлено, что эта субпопуляция лимфоцитов контролирует устойчивость к вирусным и многим внутриклеточным бактериальным патогенам. [Badovinac V.P. et al., 2000; Harty J.T. et al., 2000; Walker D.H. et al., 2001].

Благодаря исследованиям последнего времени, возникает возможность выделить главные факторы инфекционной резистентности. В их числе CD4⁺-лимфоциты и В-лимфоциты [Roessner K.H. et al., 1998; McKisic M.D., Barthold S.W. 2000; Morrison S.G. et al., 2000; Bisping G. et al., 2001; Skeen M.J. et al. 2001].

Результаты исследований Matsumoto J. et al. [2000], Jendro M.C. et al. [2000] свидетельствуют, что воспалительные инфекционные процессы протекают неблагоприятно в случае изменения содержания популяционного и субпопуляционного состава Т-лимфоцитов, а также недостаточности их функциональной активности. Как функциональная активность лимфоцитов (включая их способность к миграции и контактными взаимодействиями), так и их количественный состав зависят от медиаторов воспаления и цитокинов. Вместе с тем публикуется все больше данных о влиянии патогенных факторов на основные параметры функционирования иммунной системы.

Инкубация изолированных Т-лимфоцитов с хламидиями не вызывает их инфицирования и апоптоза, но при добавлении в среду культивирования макрофагов регистрируется апоптоз лимфоцитов. Апоптоз Т-лимфоцитов вызывает также добавление в культуральную среду инфицированных макрофагов. В некоторых случаях стратегия развития патогенного фактора не вызывает понижения содержания Т-лимфоцитов, но снижает уровень их функциональной активности [Kirman J. et al., 1999; Ryan S. et al., 2000; Mikloska Z. et al., 2001; Weiss D.J. et al., 2001; Wormley F.L. et al., 2001].

В ряде случаев прямое действие инфекционного патогена вызывает апоптоз лимфоцитов [Winkler M.T.C. et al., 1999; Tumpey T.M. et al., 2000]. В инфицированных животных значительно редуцирован уровень синтеза цитокинов IL-1 β и IFN- γ , причем регистрируется апоптоз не только Т-лимфоцитов периферической крови, но и клеток селезенки и легких.

Исследование причин понижения содержания CD4⁺-лимфоцитов при инфицировании *Schistosoma mansoni* показывает высокую склонность этих клеток подвергаться активационному апоптозу [Lundy S.K. et al., 2001]. В этом исследовании установлено, что основной вклад в этот процесс вносят В-лимфоциты,

что доказывают в экспериментах по совместному культивированию активированных Т-лимфоцитов с В-лимфоцитами, а также в опытах по адаптивному переносу В-лимфоцитов.

Торможение функции периферических хелперно-индукторных Т-лимфоцитов представляется важным в отношении ограничения тканевого повреждения [Lenardo, M. F. et al., 1999]. Главный механизм регуляции численности периферических Т-лимфоцитов заключается в их активационно-индуцированной клеточной гибели. Необходимые для этого процесса молекулы FasL экспрессируются совместно с TNF- α и перфорином [Berke, G. 1997; Nagata, S., 1997]. В ряде исследований установлено, что источником FasL необходимого для процесса активационного апоптоза Т-лимфоцитов являются активированные В-лимфоциты [Bussing, A., et al. 1999; Tanner J.E. et al., 1999; Nilsson N., 2000].

На основании этих данных можно обосновано предположить, что состояние интенсивной В-клеточной активации, которая часто регистрируется в ходе развития воспаления, представляет собой не только фактор адаптивного иммунитета но и необходимое условие для торможения иммунологической ответной реакции.

Приведенные результаты в их совокупности показывают, что в случае массивного поступления инфекционных агентов в организм человека или в случае их высокой вирулентности наблюдается нарушение развития нормального иммунного ответа на антигенную стимуляцию.

Анализ данных литературы позволяет выделить несколько ведущих механизмов подавления иммунного ответа при инфекционном процессе:

- 1) Поступление патогенного фактора в организм вызывает апоптотическую элиминацию CD4⁺-лимфоцитов по двум основным механизмам: путем прямой активации апоптоза хелперно-индукторных лимфоцитов и апоптоза опосредованного через их взаимодействие с инфицированными АПС (макрофагами и дендритными клетками).
- 2) В случае отсутствия прямого или опосредованного апоптоза CD4⁺-лимфоцитов под влиянием патогенного фактора можно обнаружить иммунологические нарушения, состоящие в ингибировании экспрессии активационных антигенов либо в дискоординации их экспрессии. Недостаточная или несвоевременная экспрессия активационных антигенов вызывает иммунологическую недостаточность, хронизацию воспаления и в свою очередь ведет к усилению элиминации лимфоцитов [Казимирский с соавт., 2001].

Все указанные механизмы могут приводить к сходным иммунологическим проявлениям, в числе которых: нарастающий дефицит хелперно-индукторных лимфоцитов периферической крови, высокий уровень экспрессии активационных антигенов и преобладание готовности лимфоцитов к Fas-опосредованному апоптозу над их готовностью к вступлению на путь пролиферации и дифференцировки. Эти иммунологические признаки характерны для всех тяжелых воспалительных процессов.

V. МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В РАЗВИТИИ ВОСПАЛЕНИЯ

Изучение характера дефекта клеточного звена иммунной системы при аллергическом и аутоиммунном повреждении и данные литературы привели нас (Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, А.Н. Казимирский) к необходимости понять роль иммунной системы в развитии воспаления – как типового патологического процесса, занимающего важную роль в патологии человека.

Воспаление представляет собой эволюционно сформировавшуюся защитно-приспособительную реакцию, необходимую для поддержания жизни. С помощью воспаления обеспечиваются локализация и элиминация патологического агента.

Воспалительная реакция реализуется путем включения сложной цепи взаимосвязанных процессов, в которых условно могут быть выделены неспецифический и специфический компоненты (рис.11), что, в конечном счете, и определяет как местные проявления воспалительной реакции, так и общие ее проявления (остро-фазный ответ).

И, если активация тканевых тучных клеток или их аналогов в крови – базофильных лейкоцитов определяет остроту воспалительной реакции и ее местные проявления (вазодилатацию, усиление проницаемости сосудов и пр.), то освобождаемые макрофагами и другими клетками медиаторы (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО α), наряду с местными проявлениями, включают острофазный ответ (утомляемость, лихорадка, лейкоцитоз, появление острофазных белков, стимуляция иммунной системы).

Среди острофазных проявлений воспаления все больший интерес представляет участие иммунной системы как важного компонента в регуляции гомеостаза [В.А. Черешнев с соавт., 2002].

Обширный опыт клинической медицины свидетельствует о невозможности назвать патологический процесс или заболевание, при которых не было бы изменений со стороны иммунной системы.

Все сказанное и объясняет незатихающий интерес исследователей к участию иммунной системы в регуляции функций организма в условиях патологии и в частности в условиях развития воспалительного процесса.

Имеющиеся в литературе данные [Ярилин А.А. 1999; Kirman J., et al. 1999; Winkler M.T.C., et al. 1999; Хаитов Р.М. с соавт. 2000; McKisic M.D., Barthold S.W. 2000; Jendro M.C., et al. 2000; Matsumoto J., et al. 2000; Morrison S.G., et al., 2000; Ryan S., et al. 2000; Tumpey T.M., et al. 2000; Tzianabos A.O., et al. 2000; Bisping G., et al., 2001; Burr J.S., et al. 2001; Gemmell E., et al. 2001; Girndt M., et al., 2001; Kabashima H., et al. 2001; Liu Z., et al. 2001; Mikloska Z., et al. 2001; Skeen M.J., et al. 2001; Van Damme N., et al. 2001; Weiss D.J., et al. 2001; Wormley F.L., et al. 2001], к сожалению, носят отрывочный и фрагментарный характер и не дают целостного представления о механизмах включения иммунной системы в воспалительный процесс, насколько они специфичны для того или иного вида воспаления.

С учетом сказанного, на ряду с атопическим и аутоиммунным воспалениями, предметом наших исследований (Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, А.Н. Казимирский) при участии сотрудников МГМСИ (А.И. Воложин) стал анализ особенности функционирования иммунной системы при различных видах острого воспаления: асептическом (реконструктивные операции в челюстно-лицевой области) и инфекционном (травмы челюстно-лицевой области, осложненные присоединившейся инфекцией – флегмоны, остеомиелит).

Острое асептическое повреждение ткани

Анализ поверхностных рецепторов лимфоцитов при остром асептическом воспалительном процессе выявил следующие изменения клеточного состава лимфоцитов, характерные для этого процесса (табл. 2):

1. снижение общего содержания Т-лимфоцитов (CD3⁺-клеток),
2. снижение содержания NK-клеток (CD16),
3. увеличение количества В-лимфоцитов (CD20⁺-клетки).



Рис. 11. Местные и общие проявления острого воспаления.

Снижение количества Т-лимфоцитов при остром асептическом воспалении идет за счет хелперно-индукторных лимфоцитов (CD4) и сохраняется в течение всего острого периода и лишь завершение воспалительного процесса сопровождается нормализацией количественного состава Т-лимфоцитов.

Содержание же естественных киллерных клеток по мере затухания асептического воспаления нормализуется.

Увеличение количества В-лимфоцитов (CD20⁺-клетки) в разгар воспалительного процесса (в 1,5 раза) сопровождается одновременным снижением (вдвое) доли зрелых, примированных антигеном, В-лимфоцитов (CD72⁺-лимфоцитов, способных развивать высокоинтенсивный синтез иммуноглобулинов).

Общее количество В-лимфоцитов (CD20⁺-клетки) по мере разрешения асептического воспалительного процесса возвращается к норме, однако при этом сохраняется снижение количества зрелых В-лимфоцитов (CD72⁺-лимфоцитов).

Асептический воспалительный процесс сопровождается повышением ранних активационных маркеров (CD25⁺-клеток и CD71⁺-клеток), отражающих начало активационных процессов, и поздних активационных маркеров (HLA-DR, CD95) в лимфоцитах.

Вместе с тем асептический воспалительный процесс по мере своего развития сопровождается уменьшением количества клеток, экспрессирующих Fas-антиген, вплоть до их нормализации к моменту завершения воспаления.

Характер активационных процессов в лимфоцитах указывает на то, что острое асептическое воспаление характеризуется готовностью лимфоцитов к Fas-опосредованному апоптозу, что препятствует их вступлению на путь пролиферации и дифференцировки.

Подтверждением сказанному являются предложенные сотрудниками нашей кафедры **Ж.М. Салмаси** коэффициенты, отражающие соотношение пролиферативных и элиминационных процессов: CD25⁺/CD95⁺ (образование/элиминация) и HLA-DR⁺/CD95⁺ (созревание/элиминация).

При равенстве этих коэффициентов в норме 1,4 и 2,7, соответственно, величина их вдвое падает по сравнению с нормой при остром асептическом воспалении. Выраженная готовность лимфоцитов к Fas-опосредованному апоптозу, по-видимому, частично способствует элиминации потенциально аутореактивных клеток, образующихся в ходе острого повреждения тканей.

Острое инфекционное (бактериальное) воспаление

Анализ поверхностных рецепторов лимфоцитов при остром инфекционном воспалительном процессе выявил изменения клеточного состава лимфоцитов, аналогичные таковым при асептическом воспалении:

1. снижение общего содержания Т-лимфоцитов (CD3⁺-клеток),
2. снижение содержания НК-клеток (CD16),
3. увеличение (в 1,5 раза) количества В-лимфоцитов (CD20⁺-клетки).

Снижение количества Т-лимфоцитов при остром инфекционном воспалении также идет за счет хелперно-индукторных лимфоцитов (CD4) и, как при

асептическом воспалении, сохраняется в течение всего острого воспаления и лишь купирование воспалительного процесса сопровождается тенденцией к нормализации количественного состава Т-лимфоцитов.

Содержание же естественных киллерных клеток при инфекционном воспалении не только снижено (как и при асептическом воспалении), но это снижение продолжается по мере затихания инфекционного процесса, тогда как к концу асептического воспаления количество клеток, несущих CD16-антиген нормализуется.

Увеличение количества В-лимфоцитов (CD20⁺-клетки) в разгар инфекционного процесса, как и при асептическом воспалении, сопровождается одновременным снижением доли зрелых, примированных антигеном, В-лимфоцитов (CD72⁺-лимфоцитов) и, по мере разрешения инфекционного воспалительного процесса возвращается к норме, однако, как и в случае асептического воспаления, при этом сохраняется снижение количества зрелых В-лимфоцитов (CD72⁺-лимфоцитов).

Следовательно, анализ поверхностных рецепторов лимфоцитов при острым асептическом и инфекционном воспалительных процессах выявил изменения клеточного состава лимфоцитов характерные для этих видов воспаления.

Как и при асептическом воспалении, активационные процессы в лимфоцитах при инфекционном воспалении сопровождаются повышением ранних активационных маркеров (CD25⁺-клеток и CD71⁺-клеток) и поздних активационных маркеров (HLA-DR, CD95).

Вместе с тем если асептический воспалительный процесс по мере своего развития сопровождается уменьшением количества клеток, экспрессирующих Fas-антиген, вплоть до их нормализации к моменту завершения воспаления, то инфекционный процесс, по мере своего развития сопровождается дополнительным приростом количества лимфоцитов, экспрессирующих этот антиген. Особенно это проявляется по мере утяжеления воспалительного процесса.

Характер активационных процессов в лимфоцитах указывает на то, что оба вида воспаления характеризуются готовностью лимфоцитов к Fas-опосредованному апоптозу, что препятствует их вступлению на путь пролиферации и дифференцировки, способствуя одновременно элиминации потенциально аутореактивных клеток.

Однако развивающийся одновременно дефицит естественных киллеров (CD16⁺-клеток) и зрелых В-лимфоцитов (CD72⁺-лимфоцитов), способных развивать синтез иммуноглобулинов, способствует, в конечном счете, формированию в ходе тяжелого воспалительного процесса вторичного иммунодефицитного состояния, выраженность которого особенно проявляется при остром инфекционном воспалении.

Справедливость сказанного подтверждается и динамическими различиями между асептическим и инфекционным воспалением, которые затрагивают функциональный активационный антиген CD54 (ICAM1⁺).

При асептическом воспалении, по сравнению с инфекционным воспалением, определяются более высокие количества лимфоцитов, несущих рецептор ICAM1⁺ (CD54), что отражает возможное повышение их миграционной актив-

ности в очаг воспаления и их способность к взаимодействию с антиген-презентирующими клетками.

Анализ поверхностных рецепторов лимфоцитов при асептическом и инфекционном воспалении позволил выявить изменения клеточного состава лимфоцитов как характерные для этих видов воспаления, так и ряд особенностей характерных как для асептического, так и для инфекционного воспаления (табл. 2).

Иммунологические различия между асептическим и инфекционным воспалением не носят принципиального характера, а определяются, главным образом, различной способностью лимфоцитов к миграции в очаг воспаления и участия в процессах взаимодействия с антигенпрезентирующими клетками.

Согласованный характер изменений в экспрессии активационных дифференцировочных антигенов лимфоцитов (CD25 и CD71) и экспрессии маркера активированных В-лимфоцитов CD23 при асептическом воспалении, по видимому, объясняют повышение количества mIgM⁺-клеток и mIgG⁺-клеток в те же сроки, в которые регистрируется наиболее высокий уровень экспрессии активационных антигенов. Высокие темпы активационного процесса в лимфоцитах, очевидно, определяются и зависят от экспрессии ICAM-1 (CD54). Иммунные проявления асептического воспаления к 4 неделе наблюдения практически полностью завершаются, о чем свидетельствует торможение активационного процесса в лимфоцитах и нормализация содержания mIgM⁺- и mIgG⁺-клеток.

При инфекционном воспалении обнаруживается более низкий уровень прироста экспрессии ICAM-1 (CD54). Если в первые 2 дня развития воспаления экспрессия его увеличена в 2,5 раза, то в последствии она снижается, превышая уровень здоровых доноров на 30-40%.

Очевидно, с незначительным уровнем миграции и антигенной презентации связано и пониженное (по сравнению асептическим воспалением) количество активированных В-лимфоцитов (CD23⁺-клетки) в интервале наблюдения (1-4 недели). В этот же период нормализуются, первоначально повышенные (через 2 дня после операции), показатели содержания mIgM⁺- и mIgG⁺-клеток, а также регистрируется дефицит хелперно-индукторных клеток периферической крови.

Возникновение относительного дефицита хелперно-индукторных лимфоцитов при инфекционном воспалении можно связать с несколькими факторами:

1. низкий уровень прироста экспрессии ICAM-1(CD54) сопровождается нарушением процесса презентации антигена;
2. для инфекционного воспаления характерен более высокий уровень ответа острой фазы, и соответственно более значительное увеличение в крови концентрации ИЛ-1 и ФНО- α ;
3. усиление индукции апоптоза лимфоцитов, коррилирующее с тяжестью инфекционного процесса;
4. иммунодепрессивное действие продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Что, в конечном счете, сопровождается существенными и продолжительными изменениями в содержании иммунокомпетентных клеток: Т-клеток, НК-

клеток и В-лимфоцитов, может приводить к формированию вторичного иммунодефицитного состояния.

Таблица 2.

Изменение иммунных показателей при остром неспецифическом воспалении.

<i>общие изменения</i>	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Снижение количества Т-лимфоцитов за счет хелперно-индукторных лимфоцитов (CD4). 2. Увеличение количества В-лимфоцитов при одновременном снижении количества примированных В-лимфоцитов (CD72⁺). 3. Снижение содержания NK-клеток (CD16). 4. Повышение содержания лимфоцитов, несущих поверхностный иммуноглобулин М. 5. Высокий уровень экспрессии рецептора активационного апоптоза CD95. 6. Снижение коэффициентов: образование/элиминация (CD25⁺/CD95⁺) и созревание/элиминация (HLA-DR⁺/CD95⁺) лимфоцитов. 7. Повышенная экспрессия рецептора межклеточной адгезии ICAM-1. 	
<i>отличительные черты</i>	
Асептическое воспаление	Инфекционное воспаление
<ol style="list-style-type: none"> 1. Незначительное снижение содержания Т-хелперов на протяжении всего воспаления. 2. Повышение экспрессии mIgM и тенденция к повышению экспрессии mIgG. 3. Высокий уровень прироста экспрессии ICAM-1 (CD54). 4. Нормализация апоптоза лимфоцитов по мере завершения процесса 	<ol style="list-style-type: none"> 1) Прогрессирующее снижение содержания Т-хелперов по мере утяжеления воспалительного процесса. 2) Значительное повышение экспрессии mIgM и экспрессии mIgG в начале воспаления. 3) Низкий уровень прироста экспрессии ICAM-1 (CD54). 4) Прогрессирующий рост апоптоза лимфоцитов по мере утяжеления воспалительного процесса.

Иммунная система и воспаление.

Проведенный нами (Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, А.Н. Казимирский) анализ различных видов воспаления позволил выявить характерные изменения со стороны иммунной системы (табл. 3):

1. Снижение общего содержания в крови Т-лимфоцитов (CD3⁺-клетки);
2. Повышение общего содержания в крови В-лимфоцитов всех стадий дифференцировки с высоким уровнем активации;
3. Повышение содержания в крови В-лимфоцитов, экспрессирующих mIgM и mIgG;
4. Повышение содержания в крови лимфоцитов, экспрессирующих активационные маркеры (CD25, CD71, HLA-DR), свидетельствующие о характере

пролиферативного и дифференцировочного процесса в иммунокомпетентных клетках;

5. Повышение экспрессии рецептора межклеточной адгезии ICAM-1 (CD54) лимфоцитами;
6. Повышение содержания CD23⁺-лимфоцитов.

Таблица 3

Поверхностные рецепторы лимфоцитов в зависимости от характера воспалительного процесса

Лимфоциты, несущие антигенные маркеры	Типовые изменения при воспалении	Острое асептическое воспаление	Острое инфекционное воспаление	Воспаление при атопии	Воспаление при аутоиммунном процессе		
					Миокардит	РА (кровь)	РА син.жид кость
CD3 ⁺ лимф.	↓	↓	↓	↓	↓↓	↓	↓↓
CD4 ⁺ лимф.		↓	↓	N	↓	↓	↓
CD8 ⁺ лимф.		N	N	↓	↓	N	N
CD16 ⁺ лимф.		↓	↓	N	↑↑	↑	↑↑
CD56 ⁺ лимф.					↑↑	↑	↑↑↑
CD3 ⁺ 4 ⁺ 8 ⁺ лимф		-	-	↑	↑↑	↑↑	↑↑
CD20 ⁺ лимф.	↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑	↑↑	↑
CD72 ⁺ лимф.		↓	↓	↑↑	N	N	N
CD25 ⁺ лимф.	↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑	N	↑↑↑
CD71 ⁺ лимф.	↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑	↑	↑↑↑
HLA-DR ⁺ лимф.	↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑	N	↑↑
CD95 ⁺ лимф.	↑	↑↑	↑↑	↑	↑↑	↑↑	↑↑
CD54 ⁺ лимф.	↑	↑↑	↑	↑	↑↑	↑↑↑	↑↑↑
CD30 ⁺ лимф.		-	-	↑↑	-	-	-
CD38 ⁺ лимф.		-	-	↑	↑↑	↑	↑↑
mIgM ⁺ лимф.	↑	↑	↑	↑	↑↑	↑	↑
mIgG ⁺ лимф.	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
CD23 ⁺ лимф.	↑	↑	↑	↑	↑↑	↑↑	↑↑↑
CD25/CD95		↓↓	↓↓	↑↑	↑	N	↑
HLA-DR /CD95		↓↓	↓↓	↑↑	↑	N	↑

Вместе с тем формирование иммунного ответа обнаруживает ту или иную специфику в зависимости от характера воспалительного процесса.

В отличие от острого асептического, инфекционного и аутоиммунного воспаления, снижение количества Т-лимфоцитов при аллергическом воспалении идет преимущественно за счет цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8⁺-клетки), а не за счет хелперно-индукторных лимфоцитов (CD4).

Аллергическое и аутоиммунное воспаление сопровождается появлением в периферической крови больных «нетипичные» для периферической крови по-

пуляции лимфоцитов - дважды позитивные (незрелые) клетки (Т-лимфоциты с фенотипом $CD3^+4^+8^+$).

Повышение в крови общего содержания В-лимфоцитов при аллергическом и аутоиммунном воспалении сопровождается увеличением количества В-лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CD72, и предшественников плазматических клеток ($CD38^+$ маркер).

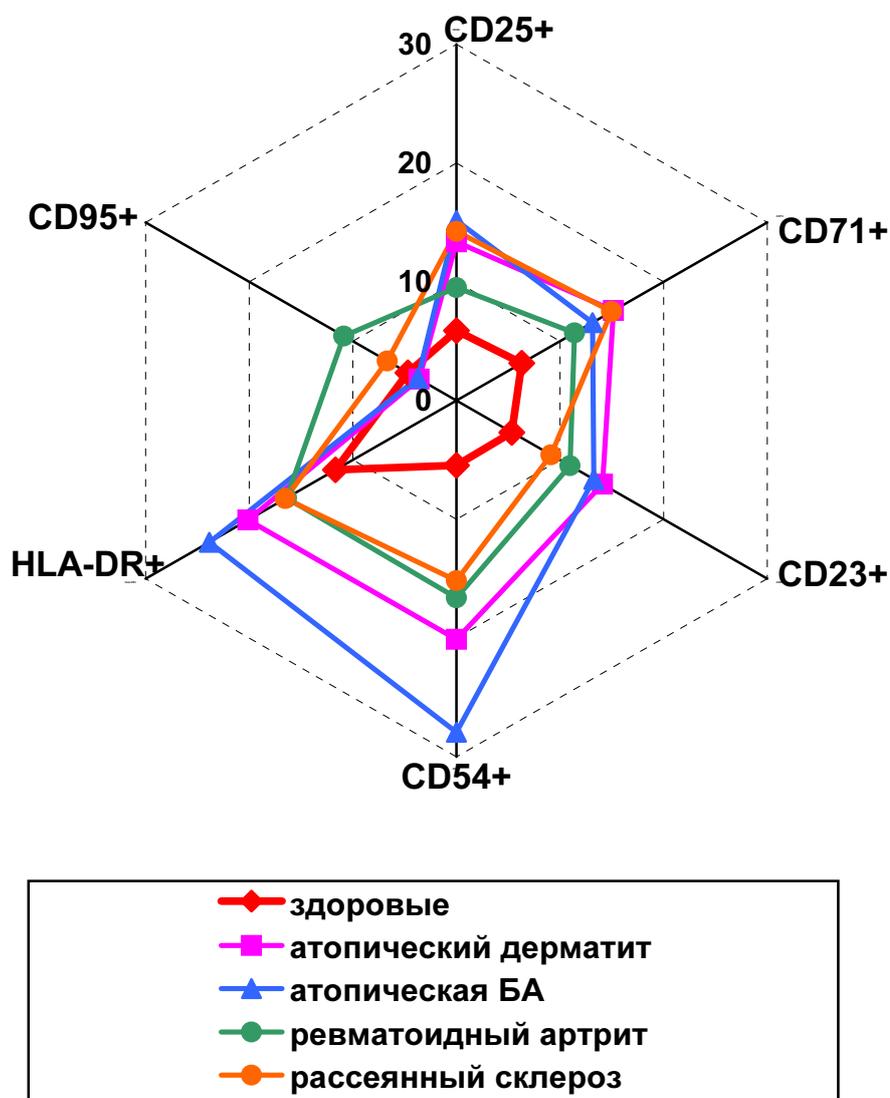


Рис. 12. Экспрессия активационных маркеров лимфоцитами больных атопией и аутоиммунными заболеваниями.

Аутоиммунный воспалительный процесс (как и острый асептический и инфекционный) характеризуется высоким уровнем экспрессии рецептора активационного апоптоза CD95, тогда как атопическое воспаление проявляется нарушением индукции активационного апоптоза и преобладанием готовности лимфоцитов к процессам пролиферации и дифференцировки над их потенциальной способностью быть элиминированными (рис.12).

Повышение содержания $CD23^+$ -лимфоцитов при всех видах воспаления свидетельствует о вовлечении В-клеточного звена иммунной системы в остро-

фазный ответ, не зависимо от причины его вызвавшей. Выявленная закономерность подвигает нас по новому посмотреть на активационный антиген-CD23, который, по общепринятому на сегодня взгляду, рассматривается как низкоаффинный рецептор для IgE и отождествляется исключительно с атопией.

Сохранность механизмов активационного апоптоза и выраженная готовность лимфоцитов к Fas-опосредованному апоптозу при остром асептическом (инфекционном) воспалении способствуют элиминации потенциально аутореактивных клеток. Однако, развивающийся дефицит естественных киллеров (CD16⁺-клеток) и зрелых В-лимфоцитов (CD72⁺-лимфоцитов) при тяжелых воспалительных процессах с тенденцией к генерализации создает предпосылки для формирования в ходе воспалительного процесса вторичного иммунодефицитного состояния.

Снижение индукции активационного апоптоза сопровождающее аллергический процесс блокирует выключение иммунного ответа после прекращения контакта с антигеном. Понижение содержания цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺-клеток) снижает синтез INF γ , тем самым, переключая (поддерживая) дифференцировку Th0-клеток в направлении Th2-типа. Усиление синтеза медиаторов Th2-типа (ИЛ-4) ведет с одной стороны к еще большему уменьшению цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺-клеток), а с другой стороны - параллельное увеличение количества зрелых, примированных В-лимфоцитов способствует гиперпродукции IgE даже в отсутствие контакта с аллергеном. В результате, при атопических заболеваниях поддерживается длительное время гиперпродукция IgE.

При аутоиммунном воспалении механизмы Fas-зависимого апоптоза нарушены, что приводит к нарушению элиминации аутореактивных клонов клеток. Нарушение Fas-зависимого апоптоза сопровождается резким повышением количества активированных лимфоцитов непосредственно в очаге аутоиммунного поражения. Имеет место снижение функциональной активности Т-лимфоцитов и их субпопуляций в связи с появлением в крови большого количества «нетипичных» для периферической крови популяций лимфоцитов - дважды позитивных (незрелых) клеток (Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺4⁺8⁺). Характерно длительное (на протяжении всего воспалительного процесса) повышение количества В-лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены, выявляющееся преимущественно в местах повреждения, несмотря на высокий уровень экспрессии CD95. Важной особенностью иммунологических проявлений при аутоиммунных воспалительных процессах, отличающей этот вид воспаления от других, - изменение активности иммунной системы более всего выявляется в местах наибольшего поражения аутоиммунным процессом.

В заключение следует подчеркнуть, что знание особенностей проявления иммунологической реактивности при различных видах воспаления, своевременная оценка степени участия и вклада иммунной системы в развитие воспалительного процесса различного генеза, несомненно, поможет оценить значение иммунной системы в механизмах развития любого воспалительного процесса, ее состояние на любом этапе развития воспаления, решить вопрос о специфичности изменений иммунологических параметров при разных формах

воспалительных реакций, дать иммунологические критерии, позволяющие прогнозировать развитие воспалительного процесса, осуществлять дифференцированный подход к лечению различных воспалительных заболеваний.

VI. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИЗЫСКАНИЯ СРЕДСТВ И МЕТОДОВ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИКИ ИММУНОПАТОЛОГИИ.

Исследования сотрудников кафедры, совместно с клиницистами, позволившие установить молекулярные и клеточные механизмы иммунопатологических заболеваний, явились экспериментальными предпосылками разработки подходов к иммунологическим критериям диагностики и обоснования использования эффективных немедикаментозных и фармакологических средств для лечения наиболее тяжелых иммунопатологических состояний: аллергия, атопический дерматит, некоронарогенные заболевания миокарда, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, травматические поражения челюстно-лицевой области и ряд других.

Условно можно выделить, как минимум три патогенетически обоснованных направления поиска и разработки медикаментозных и немедикаментозных средств:

1. Устранение дисбаланса иммунорегуляторной активности лимфоцитов,
2. Нормализация активационных процессов в иммунной системе,
3. Нормализация механизмов активационного апоптоза лимфоцитов.

Механизмы специфической иммунотерапии IgE-опосредованных аллергических реакций

Для практической аллергологии большую проблему (не смотря на широкое распространение) представляет специфическое подавление иммунного ответа (антиген-специфическая иммунотерапия - АСИТ, впервые примененная Нуном и Фриманом; 1911) - основной принцип лечения аллергических заболеваний неинфекционной природы.

Исследования последних лет, успехи в области клеточной иммунологии, убедительно свидетельствуют, что терапевтический эффект АСИТ у больных атопическими заболеваниями в значительной мере обусловлен изменениями именно в иммунной системе. Однако по-прежнему остается вопрос. На какие же звенья иммунной системы воздействует специфическая иммунотерапия?

Благодаря углубленному мониторингу широкого круга иммунных параметров, проведенному сотрудниками кафедры (**Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, Ву Минь Тхук, Е.А.Бусарова, Н.Е. Журавлева, З.В. Рябинина**) при активном участии аллергологов НИИ иммунологии (**С.А. Польшер, Т.А. Червинская**), нам удалось показать, что стойкий терапевтический эффект антигенспецифической иммунотерапии обусловлен сдвигами в клеточном и гуморальном иммунитете больных аллергией, приводящими к формированию иммунологической толерантности в связи с:

- формированием клональной анергии (толерогенное действие возрастающих количеств иммуноглобулина G);
- активацией выработки антиидиотипических антител;
- усилением как спонтанной, так и митоген-индуцированной пролиферативной активности лимфоцитов;
- усилением направленной индукции апоптоза;
- индукцией либо активацией цитотоксической функции иммунорегуляторных лимфоцитов, что сопровождается достоверным повышением субпопуляции CD8⁺ лимфоцитов;
- усилением связывания молекул IgE на поверхности лимфоцитов.

Однако изменения эти проходят в динамике: на первом этапе АСИТ (сразу по окончании курса лечения) синтез IgE-антител возрастает, что вероятно связано со стимуляцией вторичного IgE-ответа на вводимый антиген. Через 9 месяцев после проведенной иммунотерапии у больных практически полностью восстанавливается супрессорная активность лимфоцитов, продукция IgE существенно не отличается от здоровых лиц.

Экспериментальное обоснование использования лекарственных композиций тибетской медицины для коррекции аллергических и аутоиммунных заболеваний.

Несмотря на широкий спектр имеющихся в настоящее время иммуномодулирующих средств, активно ведется поиск новых иммунорегуляторов как синтетического, так и природного происхождения.

Среди важнейших иммуномодуляторов, оказывающих регуляторное действие на иммунную систему, встречаются как биологические вещества, так и химические соединения естественного или искусственного происхождения [Ковальчук Л.В. и соавт., 2000; Хайтов Р.М., 2000].

Накоплен опыт применения иммунокорректоров в лечении аллергических и аутоиммунных заболеваний, однако, ряд имеющихся в арсенале практической медицины иммуномодуляторов обладает побочными действиями на организм.

В связи с этим, представляется весьма актуальным поиск иммунорегулирующих средств, не вызывающих побочных, нежелательных эффектов и обладающих выраженным регулирующим действием.

В течение последних лет возрос интерес к изучению иммуномодулирующего действия некоторых растительных лекарственных препаратов, которые применяются в традиционной медицине различных стран мира [Бу Минь Тхук, 1995; Zhao W. et al., 2001; Chen G. et al., 2002; Kim E.H. et al., 2002; Na H.J. et al., 2002; Nakada T. et al., 2002; Nemmani K.V. et al., 2002; Verotta L. et al., 2002].

Перспективным источником для получения иммунокорректирующих фитопрепаратов могут служить многокомпонентные лекарственные композиции, приготовленные по рецептурам тибетской медицины, содержащие широкую гамму биологически активных веществ.

Исследованиями, проведенными на кафедре (Бу Минь Тхук, Л.Ю. Семёнова), по клеточному культивированию показана возможность использования

растительных экстрактов тибетской медицины, содержащих в своем составе флавоноидные гликозиды, для коррекции измененных показателей иммунной системы у больных с атопией (атопическая бронхиальная астма) и аутоиммунной патологией (ранний ревматоидный артрит.)

Так, изученный нами растительный экстракт «Табан-Аршан», не влияя на популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов здоровых доноров, угнетает синтез и секрецию медиаторов анафилаксии, восстанавливает количество Т-лимфоцитов, естественных киллеров, а также субпопуляций В-клеток, управляет индукцией активационного апоптоза при атопической бронхиальной астме; нормализует экспрессию основных активационных антигенов (CD23, CD25, CD71, HLA-DR), тормозит выраженную активацию В-клеточного звена иммунной системы и восстанавливает индукцию Fas-опосредованного апоптоза лимфоцитов при раннем ревматоидном артрите.

Таким образом, внедрение в клиническую практику многокомпонентных лекарственных композиций тибетской медицины в качестве регуляторов иммунной системы является весьма перспективным направлением в комплексной терапии иммунопатологических состояний.

Экспериментальное обоснование использования новых лекарственных средств

История использования адреномиметиков в лечении аллергических заболеваний насчитывает, по меньшей мере, пять тысячелетий. «Ма Хуан», «желтая река», «мормонский чай» - это лишь часть названий составов, содержащих не прямой неселективный адреномиметик – эфедрин [<http://www.botgard.ucla.edu>].

Современная история клинического применения адреномиметиков берет свое начало с 1900г, когда из ткани надпочечников была выделена субстанция, получившая название «адреналин». Однако, лишь открытие R. Alquist в 1948г α - и β -адренорецепторов подстегнуло синтез селективных адреномиметиков, во многом лишенных спектра нежелательных эффектов адреналина.

Совместные исследования кафедры (Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, Е.А.Бусарова, О.В.Сычева, Н.Е.Журавлева, И.Р.Юлдашев) с кафедрой госпитальной терапии педиатрического факультета (А.Г. Чучалин) способствовали разработке пяти отечественных лекарственных форм, которые, после проведения доклинических испытаний, были рекомендованы Фармкомитетом для лечения аллергических больных (милдронат, отечественный сальбутамол, тровентол, биастен, будесонид) и вошли сегодня в «Реестр лекарственных средств России».

Милдронат

Милдронат – биологически и фармакологически активное химическое вещество общей формулы ($\text{CH}_3/\text{N}_3^+ \text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) или дигидрат 3-/2,2,2-триметилгидразиний/пропионат, полученный в Латвийском институте органического синтеза. Впервые это соединение было применено в качестве кормовой добавки для стимуляции роста животных и растений (1978г). Начиная с 1980 года, исследования милдроната начались на кафедре патофизиоло-

гии, госпитальной терапии №1 лечебного факультета, пропедевтики внутренних болезней и госпитальной терапии педиатрического факультета, отделе физиологии МЛК РГМУ (ЗМОЛГМИ).

Учитывая химическую идентичность милдроната природным биологически активным веществам карнитинового ряда, главное внимание в его изучении впервые было обращено на два весьма актуальных для практического здравоохранения направления: антиаллергическое действие и кардиотропный эффект. Результатом исследований кафедры явилась серия приоритетных патентов и заявок: №3354597/13 от 18.09.81 «Лекарственный препарат»; №3743044/13 от 17.05.84 «Лекарственный препарат для лечения и профилактики аллергической бронхиальной астмы». Материалы исследований нашли свое отражение в ряде докторских и кандидатских диссертаций (**Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, Н.Е. Журавлева, Н.П. Санина, И.Р. Юлдашев, Е.А. Бусарова** и др.).

Планомерные и углубленные исследования препарата легли в основу доклинического изучения милдроната, результаты которого позволили Фармкомитету Минздрава СССР разрешить клинические испытания, а в дальнейшем (1986-1989гг) рекомендовать препарат для клинического применения в качестве средства для профилактики и лечения бронхиальной астмы.

Сальбутамол, тровентол

В настоящее время важнейшим компонентом лечения обострений бронхиальной астмы является применение бронхорасширяющих фармакологических препаратов, в первую очередь селективных β_2 -адреномиметиков, и в меньшей степени селективных М-холиноблокаторов.

Важность изучения препаратов этих групп обусловлена еще и тем, что реализация их эффекта связана с их влиянием на обмен циклических нуклеотидов.

Проведенные сотрудниками кафедры (**Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси, А.П. Баранов, Е.А. Бусарова, Н.Е. Журавлева, О.В. Сычева**) исследования показали, что β_2 -адреномиметик – сальбутамол повышает супрессорную функцию регуляторных Т-лимфоцитов больных как атопической, так и инфекционной бронхиальной астмой. Механизм иммунокорректирующего действия β_2 -адреномиметиков реализуется через активацию аденилатциклазы и последующее длительное повышение уровня цАМФ в клетке. Вызванная накоплением цАМФ блокада протеинкиназы С препятствует активации лимфоцитов.

Тровентол, аналогично сальбутамолу, способствует усилению супрессорной функции регуляторных лимфоцитов у больных обеими формами бронхиальной астмы, блокируя М-холинорецепторы и препятствуя, тем самым, активации клетки через фосфоинозитольный путь.

Сальбутамол, и тровентол практически не влияют на синтез IgA, IgM и IgG, но более чем в 1,5 раза снижают спонтанный синтез IgE *in vitro* лимфоцитами больных бронхиальной астмой. Подобное снижение синтеза IgE по-видимому является следствием нормализации иммунорегуляторной функции лимфоцитов. Помимо этого, активация протеинкиназы А под влиянием сальбутамола приводит к повышению концентрации цАМФ в клетке, а цАМФ, в

свою очередь, повышает активность γ -ИНФ, который является функциональным антагонистом Th2-лимфоцитов и таким образом способствует торможению синтеза IgE [Новикова В.М., 1995].

Иммунотропный эффект этих препаратов реализуется через вмешательство в систему «вторичных мессенджеров».

Альфа-фетопропротеин человека и экспрессия рецептора активационного апоптоза при иммунопатологии.

Исследования, проведенные на кафедре (Ж.М. Салмаси, А.Н. Казимирский, Н.Е. Журавлева, Л.Ю. Семенова), показали, что подавляющее большинство иммунопатологических заболеваний сопровождается недостаточностью экспрессии рецептора активационного апоптоза.

Вместе с тем, в настоящее время не существует способов повлиять на экспрессию этого рецептора для нормализации нарушенных процессов активационного апоптоза при воспалении.

В литературе можно встретить гипотезу о роли белков фетально-плацентарного комплекса, и, в частности, роли альфа-фетопропротеина как возможного индуктора толерантности.

Цикл последовательных исследований сотрудников кафедры (Ж.М. Салмаси, Т.В. Тимофеев, О.В. Сычева, З.В. Рябинина) совместно с кафедрой биохимии РГМУ (А.А. Терентьев, А.Н. Казимирский) явился убедительным подтверждением этой гипотезы.

Получение в высокоочищенной форме альфа-фетопропротеина человека и исследование его биологических эффектов позволило выделить поверхностный пептид, ответственный за экспрессию рецептора активационного апоптоза лимфоцитами, находящимися в состоянии активации, но дефектными по экспрессии этого антигена. Исследование иммуномодулирующей активности альфа-фетопропротеина человека показывает устранение дополнительной активации лимфоцитов под влиянием этого белка и увеличение экспрессии Fas-антигена. Под влиянием АФП наблюдается достоверное снижение маркеров активации В-лимфоцитов (CD23), а также маркеров ранней и поздней активации лимфоцитов CD25, CD71 и HLA-DR.

Таким образом, альфа-фетопропротеин подавляет чрезмерную активацию лимфоцитов, нормализуя экспрессию основных активационных антигенов (CD23, CD25, CD71, HLA-DR) и увеличивает количество CD95⁺-лимфоцитов, обуславливая индукцию иммунологической толерантности.

Завершая свое выступление, хочу еще раз подчеркнуть, что многие интересные факты, полученные коллективом кафедры, стали возможны лишь благодаря тому, что наш Российский Государственный Медицинский Университет является идеальным объединением науки и практики, коллективы кафедр которого определяют развитие здравоохранения в нашей стране и достойно представляют его в международном сообществе. Именно это обстоятельство послужило залогом успеха поставленных задач и основой полученных научных результатов.

Хочу поблагодарить за успешное, многолетнее сотрудничество научные коллективы как в Университете, так и за его пределами, с которыми кафедра активно развивает *научные связи*.

Кафедра внутренних болезней пед.ф-та (академик РАМН А.Г. Чучалин); кафедра пропедевтики внутренних болезней пед.ф-та (профессор А.С. Мелентьев); кафедра неврологии и нейрохирургии леч.ф-та (академик РАМН Е.И. Гусев); кафедра факультетской терапии леч.ф-та (профессор Н.А. Шостак); кафедра офтальмологии пед.ф-та (чл-корр.РАМН Е.И. Сидоренко); кафедра поликлинической терапии (профессор Б.Я. Барт); кафедра дерматовенерологии леч. ф-та (академик РАМН Ю.К. Скрипкин); кафедра факультетской хирургии леч.ф-та (академик В.С. Савельев); кафедра общей и биоорганической химии (профессор Ю.И. Бауков); кафедра биохимии (чл-корр. РАМН А.А. Терентьев); кафедра нормальной физиологии (профессор В.М. Смирнов; отдел физиологии ЦНИЛ (профессор В.И. Савчук).

Институт иммунологии МЗ РФ, НИИ Пульмонологии МЗ РФ, Институт педиатрии РАМН, МОНИКИ им. Владимирского, ВНИЦ БАН (Купавна), ИОС (Иркутск), Кафедра патофизиологии МГМСУ, Стоматологические клиники МГМСУ.

Кафедра патофизиологии Чувашского Госуниверситета (Л.Н. Иванов); кафедра физиологии Рязанского института физкультуры (И.А. Сычев); кафедра госпитальной хирургии Саранского гос.мед.университета (А.П. Власов); кафедра аллергологии Ханойского медицинского института (Нгуен Нанг Ан); Латвийский институт органического синтеза (академик Латвийской АН И.Я. Калвиньш, А.С. Бирман).

Считаю своим долгом выразить глубокую благодарность членам Ученого Совета и ректору Российского государственного медицинского университета академику РАМН, профессору Николаю Николаевичу Володину, доверившим мне почетное право выступить с актовой речью, обобщающей результаты многолетних исследований коллектива кафедры патофизиологии РГМУ, а также ближайших сподвижников, учеников без которых не могли быть получены результаты, позволившие во многом по-новому взглянуть на суть проблем, стоящих перед научным медицинским сообществом.

Благодарю за внимание!