

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ

Д. А. Черношей, Е. Ю. Кирильчик, Т. А. Канашкова

# РАСПОЗНАВАНИЕ В СИСТЕМЕ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

Учебно-методическое пособие



Минск БГМУ 2010

УДК 576.8.097.31 (075.8)  
ББК 28.707.4 я 73  
Ч-49

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве учебно-методического пособия 24.06.2009 г., протокол № 10

Рецензенты: руководитель научной группы «Иммунология» ЦНИЛ Белорусского государственного медицинского университета, канд. биол. наук О. В. Петракова; доц. каф. иммунологии Международного государственного экологического университета им. А. Д. Сахарова, канд. мед. наук Т. Р. Романовская

**Черношей, Д. А.**

Ч-49 Распознавание в системе врожденного иммунитета : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Е. Ю. Кирильчик, Т. А. Канашкова. – Минск : БГМУ, 2010. – 48 с.  
ISBN 978–985–528–128–4.

Отражены вопросы распознавания патогенов основных групп, взаимодействие рецепторов системы врожденного иммунитета с важнейшими микробными структурами: эффекторные механизмы, реагирование, сигнальные процессы.

Предназначено для студентов 2-го курса всех факультетов.

УДК 576.8.097.31 (075.8)  
ББК 28.707.4 я 73

---

Учебное издание

**Черношей Дмитрий Александрович**  
**Кирильчик Елена Юрьевна**  
**Канашкова Татьяна Александровна**

## **РАСПОЗНАВАНИЕ В СИСТЕМЕ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА**

Учебно-методическое пособие

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова  
В авторской редакции  
Компьютерная вёрстка Н. М. Федорцовой  
Корректор Ю. В. Киселёва

Подписано в печать 25.06.09. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».

Печать офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,42. Тираж 150 экз. Заказ 109.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».  
ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.  
ЛП № 02330/0150484 от 25.02.2009.  
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.

ISBN 978–985–528–128–4

© Оформление. Белорусский государственный медицинский университет, 2010

## Список сокращений и терминов

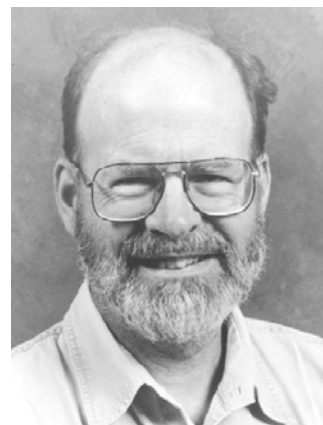
<b>ГМ-КСФ</b>	– гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
<b>КС</b>	– клеточная стенка
<b>МБТ</b>	– микобактерии туберкулеза
<b>ПАМС</b>	– патоген-ассоциированные молекулярные структуры
<b>Паттерн</b>	– узор, структура поверхности или бактериального вещества
<b>РТХЗ</b>	– пентраксин 3
<b>ТДМ</b>	– трегалоза-6-6-димиколат
<b>ЦПМ</b>	– цитоплазматическая мембрана
<b>ВРІ</b>	– белок, повышающий проницаемость мембран
<b>С1q, С3b</b>	– компоненты системы комплемента
<b>CD</b>	– кластер дифференциации
<b>СрG</b>	– метилированные пары цитозин-гуанин в ДНК
<b>CR1, 2, 3</b>	– рецепторы системы комплемента
<b>CRP</b>	– С-реактивный белок (СРБ)
<b>DC-SIGN</b>	– рецептор адгезии дендритных клеток не интегриновой природы
<b>fMLP-пептид</b>	– формил-метионин-лейцин (структура, с которой часто начинаются бактериальные белки)
<b>LBP</b>	– ЛПС-связывающий белок (ЛПССБ)
<b>LPS, ЛПС</b>	– липополисахарид (эндотоксин)
<b>LTA</b>	– липотейхоевая кислота (ЛТА)
<b>MASP 1, 2</b>	– MBL-ассоциированные сериновые протеазы
<b>MBL</b>	– маннозосвязывающий белок
<b>NLR</b>	– NOD-подобные рецепторы
<b>PG</b>	– пептидогликан (ПГ)
<b>PGRP, ПРП</b>	– пептидогликанраспознающий белок
<b>RLR</b>	– RIG-1-подобные рецепторы
<b>SP-A, SP-D</b>	– сурфактантные белки легких
<b>TLR, ТЛР</b>	– Toll-подобный рецептор
<b>Th1, 2, 3</b>	– Т-хелперы 1, 2 и 3-го типов

## Введение

Система врожденного иммунитета представляет собой совокупность молекул, клеток и связанных с ними реакций и феноменов, которые защищают наш организм непосредственно во время повреждающего воздействия и после него. Подавляющее большинство факторов системы врожденного иммунитета наследуются, постоянно присутствуют в тканях организма в необходимом количестве и (или) легко мобилизуются из депо (костный мозг и др.), сразу готовы к действию. Как правило, защитные свойства врожденной системы иммунитета реализуются через острую воспалительную реакцию, которая связана с активацией сосудистого эндотелия и клеток-фагоцитов (преимущественно нейтрофилов) в месте повреждения.

Система врожденного иммунитета является единственной у растений и беспозвоночных животных. У позвоночных системы врожденного и приобретенного иммунитета сосуществуют в тесном взаимодействии, регулируя и усиливая друг друга: в процессе немедленной защиты организма система врожденного иммунитета приводит в действие и управляет развитием приобретенного иммунного ответа. В свою очередь, последний оптимизирует и усиливает/фокусирует реакции системы врожденного ответа.

Идея о существовании распознавания в системе врожденного иммунитета не нова, однако только в конце XX в. благодаря развитию молекулярно-генетического подхода и накоплению новых данных о взаимодействии рецепторов на иммунокомпетентных клетках с их микробными лигандами стала возможной переоценка теории работы врожденного иммунитета и иммунной системы в целом. Значительную роль в развитии современной теории иммунной системы сыграли работы Чарльза Джэнуэя, предложившего концепцию «инфекционного чужого» (1989). В дальнейшем на этой основе были разработаны теории «иммунологической опасности» и «повреждения» Полли Мацингер (1994, 2004).



## Распознавание микробов гуморальными факторами врожденного иммунитета

### ФАКТОРЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ

**Коллектины** — это семейство гликопротеинов, представляющих собой поливалентные полимерные комплексы, обладающие сродством к углеводам микробов. Они распознают широкий спектр инфекционных агентов и функционируют как паттернраспознающие молекулы. К семейству коллектинов относят маннозосвязывающий лектин, C1q-компонент комплемента,  $\alpha$ -2-макроглобулин и сурфактантные протеины легких (SP-A и SP-D).

У представителей данного семейства различают коллагеновую часть и концевой лектиновый домен. С помощью коллагеновой области они связываются с белками крови или рецепторами фагоцитов (сC1qR, кальретикулин), а с помощью лектиновых доменов — с определенными углеводами микробной поверхности, отсутствующими у млекопитающих. Связав микробы, коллектины способствуют их прикреплению и поглощению клетками организма. Для эффективного поглощения апоптических клеток и других частиц необходимо участие молекулы CD91 (LRP1) — белка для липопротеинов низкой плотности, рецептора эндоцитоза и рецептора  $\alpha$ -макроглобулина. Кроме этого, важнейшая функция коллектинов — активация системы комплемента.

**$\alpha$ -2-Макроглобулин (МГ)** синтезируется главным образом в печени и является важнейшим фактором защиты соединительной ткани от деструктивного воздействия эндогенных протеиназ. Способность образовывать комплексы со всеми известными в настоящее время протеиназами позволяет говорить о нем как о «панингибиторе». Элиминируется МГ через существующие на клетках универсальные рецепторы эндоцитоза — LRP-рецепторы. Белок транспортирует биологически активные соединения и регулирует их связывание со специфическими рецепторами клеток, что придает ему свойства универсального иммунорегулятора.

Наиболее изученным протеином этого класса является **маннозосвязывающий лектин (mannose-binding lectin, MBL)** — белок острой фазы, синтезируемый печенью под воздействием цитокинов воспаления (рис. 1). Структурно и функциональ-

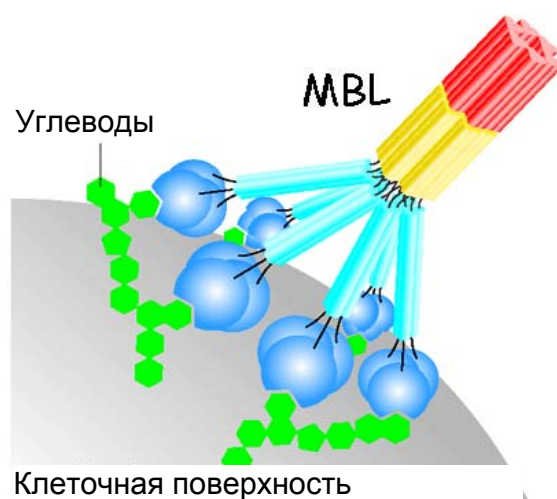


Рис. 1. Маннозосвязывающий лектин (MBL)

но маннозосвязывающий лектин подобен C1q-компоненту комплемента. MBL — олигомер или тример, каждая его субъединица содержит коллагенподобный домен и углеводраспознающий домен С-лектинового типа.

Маннозосвязывающий лектин распознает углеводы (*содержащие остатки маннозы, фруктозы и N-ацетилглюкозаминогликаны*) на поверхности микробов (в том числе грамотрицательных бактерий, микобактерий), грибов, дрожжей, некоторых паразитов и вирусов. С MBL ассоциированы сериновые протеазы (MASP 1 и 2), которые родственны C1r и C1s классического пути активации комплемента. Указанные протеазы расщепляют компонент комплемента C3, что запускает каскад активации комплемента по лектиновому пути. Кроме вышеперечисленного, MBL действует как опсонин, а также распознает собственные поврежденные клетки и участвует в их удалении.

**Сурфактантные протеины** легких А (SP-A) и Д (SP-D) являются олигомерными углеводсвязывающими протеинами, регулирующими опсонизацию, фагоцитоз и агглютинацию микроорганизмов в пределах респираторного тракта (рис. 2). Локализация этих протеинов в респираторном тракте позволяет им действовать как факторам «первой линии защиты» против ингаляционных патогенов. SP-A действует как опсонин, увеличивая эффективность фагоцитоза макрофагами.

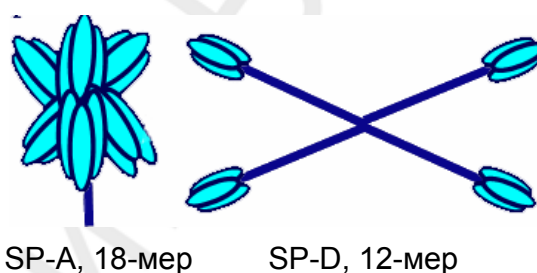


Рис. 2. Сурфактантные протеины легких

Активность SP-D ограничена связыванием патогенов. Сурфактантные белки способны распознавать и связывать терминальные олигосахариды многих микроорганизмов (*M. tuberculosis*).

**Фиколины** — мультивалентные распознающие молекулы микробных и апоптотических поверхностей (через тримерный лиганд-связывающий домен).

**L-фиколин** и **H-фиколин** являются сывороточными протеинами, в то время как **M-фиколин** — секреторный протеин, продуцируемый клетками легких и крови. Строение (молекулярная масса 420 kDa) фиколина имеет полуоткрытый вид по сравнению с компактно сложенной структурой C1q и широко открытой — карбогидратраспознающего домена MBL. N-терминальная коллагеновая область, подобно коллектинам, отвечает за связывание MASP (MBL-associated serine protease).

Фиколины способны активировать комплемент по лектиновому пути, а также действуют как опсонины.

Общие патоген-ассоциированные молекулярные мишени L-фиколина включают липотейхоевые кислоты и пептидогликан. L-фиколин связывает

грамположительные бактерии, такие как *Streptococcus* и *Staphylococcus*, но может также распознавать определенные липополисахариды грамотрицательных бактерий, глюканы грибов, гликопротеины вируса гриппа А, ацетилхолин, эластин и ДНК. Сывороточная концентрация L-фиколина у здоровых взрослых и детей в пределах 1–12 мкг/мл (в среднем 3–6 мкг/мл).

**Пентраксины** являются суперсемейством высоко консервативных в эволюционном плане протеинов, характеризующихся циклической мультимерной, обычно пентамерной, структурой. Это семейство подразделяется на 2 субкласса, в зависимости от длины и структуры молекул. Классические короткие пентраксины, такие как С-реактивный белок (СРБ) и амилоидный белок сыворотки крови, относятся к острофазным протеинам: они продуцируются в печени в ответ на воспалительные сигналы (IL-6) и осуществляют защитные реакции на системном уровне.

С-реактивный белок связывает фосфорилхолин клеточной стенки ряда грамположительных бактерий (например, С-белок пневмококков) и одноклеточных грибов, способствуя их фагоцитозу (т. е. является опсономом); активирует комплемент путем взаимодействия с коллагеноподобной частью C1q комплемента.

Амилоидный белок А распознает и связывает протеин А клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

Первым представителем длинных пентраксинов, идентифицированным на данный момент, является РТХ3. Это 45-kDa-гликозилированный протеин, отличающийся от коротких пентраксинов наличием длинного N-терминального домена (178 аминокислот) с малоизученной функцией. С-терминальный (203-аминокислоты) домен РТХ3 вовлечен в активацию комплемента через взаимодействие с C1q. РТХ3 высвобождается мононуклеарными фагоцитами, дендритными, эндотелиальными и эпителиальными клетками в ответ на первичные воспалительные сигналы (связывание ТПП, TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ ) и обеспечивает локальный защитный эффект.

РТХ3 распознает и связывает конидии *Aspergillus fumigatus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Paracoccidioides brasiliensis*, а также апоптотические клетки.

**ЛПС-связывающий протеин (LBP)** синтезируется гепатоцитами и представляет собой типичный белок острой фазы. Так, если в нормальной сыворотке концентрация LBP составляет только 0,5–10,0 мкг/мл<sup>-1</sup>, то при системном воспалении его концентрация возрастает до 50 мкг/мл<sup>-1</sup>. Основной функцией LBP является регулирование уровня ЛПС в крови и обеспечение сигнального взаимодействия ЛПС со специфическими мембранными рецепторами клеток миелоидного ряда CD 14 и Toll-подобным рецептором 4 (ТПП4) (рис. 3). Это осуществляется следующим образом.

ЛПС связывается с LBP. Образующийся комплекс доставляется к мембранному CD14 (mCD14) и транспортируется к ТПП4. Связывание

ТТР4 приводит к активации сигнальных механизмов и реализации биологической активности ЛПС. ЛПС в крови связывается и транспортируется липопротеинами высокой плотности с последующей нейтрализацией в печени.

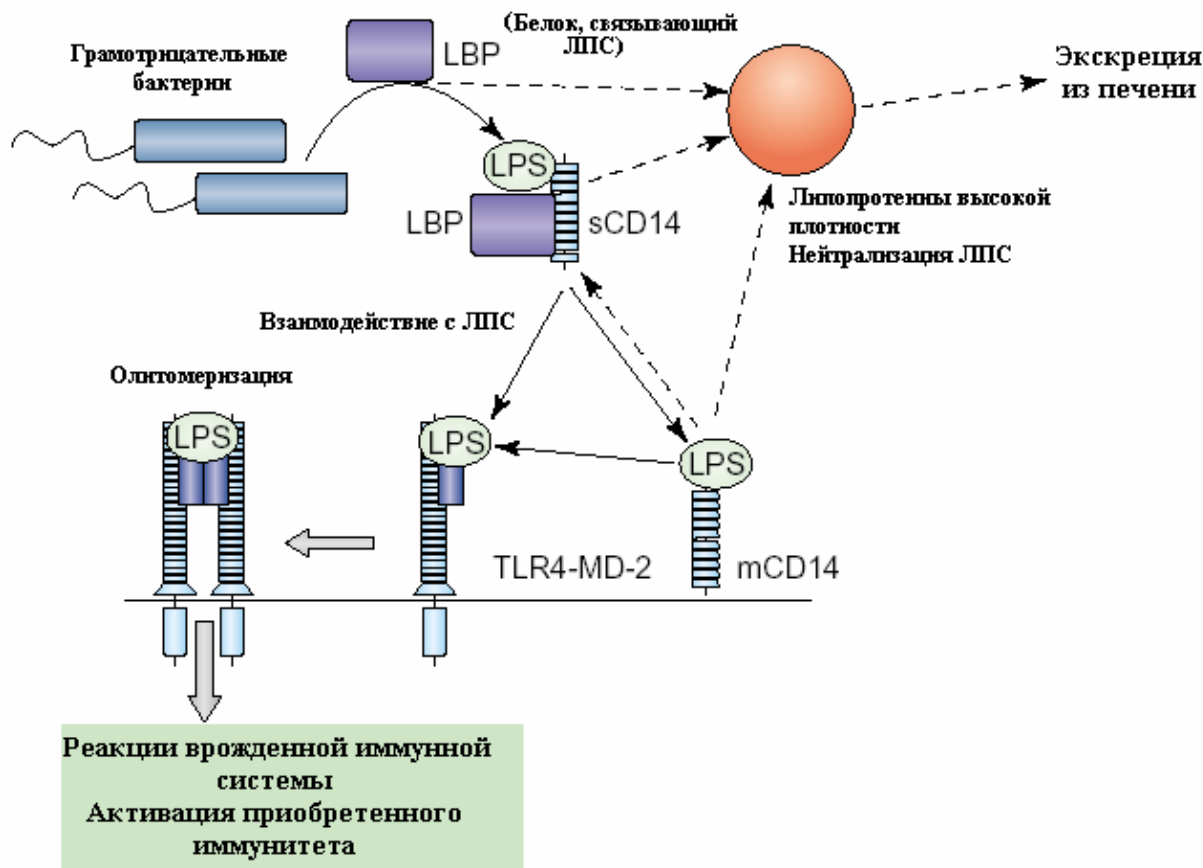


Рис. 3. Схема распознавания и клиренса ЛПС

**Гетерофильные антитела.** Натуральные антитела — факторы врожденного иммунитета, направленные против антигенов тканей различных видов животных, бактерий, грибов и простейших. Антигенная специфичность натуральных антител связана, как правило, с углеводными детерминантами, в норме отсутствующими у людей. Так, специфичность антител Пауля–Буннеля связана с N-ацетилнейраминовой и N-гликолилнейраминовой кислотами, антител Хангануциу–Дейчер — с N-гликолилнейраминовой кислотой, антител к антигену Форсмана — с N-ацетилгалактозамином. Наиболее изученная к настоящему времени популяция естественных антител — анти-Gal — направлена против карбогидратного эпитопа со структурой  $\text{Gal}\alpha\text{-1-3Gal}\beta\text{1-(3)4GlcNAc-R}$  (alpha-Gal эпитоп). Предполагается, что анти-Gal-антитела последовательно продуцируются иммунной системой для контроля интестинальной и легочной бактериальной флоры, которая экспрессирует Gal-эпитоп.

**Альтернативный путь активации системы комплемента** является своего рода «скорой помощью», которая включается в работу сразу же



после попадания в организм таких веществ, как бактериальные полисахариды, липополисахариды грамотрицательных бактерий, которые после связывания с С3b при участии пропердина, факторов В и Д, активируют комплемент.

**Бета-лизин** — антибактериальный белок тромбоцитов — связывается с грамположительными бактериями и вызывает их гибель.

#### **ЛОКАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ (ФАКТОРЫ ГРАНУЛ ФАГОЦИТОВ, ВЕЩЕСТВА, СЕКРЕТИРУЕМЫЕ В МЕСТЕ ВОСПАЛЕНИЯ ИЛИ В ОТДЕЛЬНЫХ КОМПАРТМЕНТАХ)**

**Белок, повышающий проницаемость мембран (ВРІ)** — высококаатионный протеин с молекулярной массой около 55 kDa. Он принадлежит к семейству протеинов, способных специфически связывать биологически активные сайты молекулы ЛПС, существенно изменяя его активность. Аминокислотная последовательность ВРІ на 45 % гомологична ЛПС-связывающему протеину. Weiss и коллегами было показано, что ВРІ присутствует в азурофильных гранулах нейтрофилов, позже была описана экспрессия ВРІ на поверхности нейтрофилов, моноцитов, в гранулах эозинофилов и фибробластов.

ВРІ является молекулярным щитом слизистых поверхностей против грамотрицательных бактерий и эндотоксинов. Его антибактериальная эффективность опосредована высокоаффинным связыванием липида А в структуре ЛПС. N-концевая часть молекулы важна для антибактериальной и эндотоксин-нейтрализующей функции, а структуры, необходимые для опсонизации бактерий, локализуются на С-концевой части.

Раннее воздействие ВРІ на клеточную стенку грамотрицательных бактерий (гидрофобное взаимодействие между протеином, ЛПС и фосфолипидами, приводящее к повышению проницаемости клеточной мембраны) увеличивается при участии дефензинов и кателицидинов, а позднее — связано с комплементом и гидролизом бактериальных фосфолипидов, что приводит к гибели бактериальной клетки.

**Пептидогликанраспознающий протеин (ПРП).** ПРП-І $\alpha$  and -І $\beta$  являются секретруемыми протеинами с прямой бактерицидной активностью против патогенных и непатогенных грамположительных бактерий, за исключением бактерий нормальной флоры. С-терминальный пептидогликансвязывающий домен ПРП реагирует и с гликановой, и с пептидной частью пептидогликана и, в определенных случаях, гидролизует его. Растворимый ПРП разрушает клеточную мембрану путем связывания и лизиса пептидных мостиков в пептидогликане.

ПРП селективно экспрессируется в тканях, контактирующих с внешней средой, таких как ротовая полость, кишечный тракт и кожа. Растворимый ПРП, содержащийся в гранулах полиморфноядерных лей-

коцитов, оказывает прямое бактерицидное действие против грамотрицательных и грамположительных бактерий.

**Лизоцим**, важнейший компонент врожденного иммунитета, известный со времен А. Флеминга (1922), синтезируется широким кругом организмов, включая грибы, простейших, растения, позвоночных и непозвоночных млекопитающих и даже бактериофаги. У человека лизоцим содержится в слюне, грудном молоке, респираторных секретах, а также в клетках естественного иммунитета, таких как нейтрофилы, моноциты, макрофаги и эпителиальные клетки.

Его активность связана с расщеплением  $\beta$ -(1,4) гликоцидной связи между *N*-ацетилмурамовой кислотой и *N*-ацетилглюкозамином пептидогликана, что вызывает деградацию пептидогликана и лизис клетки. Большинство грамотрицательных бактерий не чувствительны к лизоциму, поскольку строение их клеточных мембран предохраняет от попадания фермента в пептидогликановый слой. Однако эта преграда может быть преодолена путем продукции сопутствующих антибактериальных протеинов, нарушающих проницаемость клеточной мембраны. Некоторые природные лизоцимы, такие как лизоцим куриного яйца, активны против грамотрицательных бактерий в отсутствие подобных веществ.

**Катионные антимикробные пептиды.** Антимикробные пептиды (АМП) являются важным компонентом врожденного иммунитета с широким спектром противомикробной активности и представляют собой «первую линию защиты» от микроорганизмов.

Производство антимикробных пептидов повышается в результате взаимодействия структур микробов с ТПР, что сопровождается интенсивным образованием провоспалительных цитокинов.

Наиболее изученными на сегодняшний момент являются гистадины, лактоферрицин, дефензины и 18-kDa человеческий катионный антимикробный протеин hCAP18 (кателицидин LL-37).

**Дефензины** — антимикробные пептиды врожденного иммунитета, функционирующие через неспецифическое связывание анионных фосфолипидов в бактериальных мембранах. Альфа- и бета-дефензины содержатся у человека в гранулах нейтрофилов, макрофагов, НК-клеток, интестинальной и эпителиальной ткани, кожи, слизистых (респираторный, урогенитальный тракт), в биологических жидкостях. Экспрессия дефензинов может быть конституциональной (например, hBD-1 во многих тканях) или индуцибельной (например hBD-2, который экспрессируется моноцитами в ответ на ЛПС или бактериальную инвазию). Дефензины находятся в гранулах в форме препептидов, для превращения их в активные пептиды требуется протеолитический процессинг.

Механизм антибактериального действия данных пептидов включает связывание с анионными группами, локализованными снаружи бактери-

альной мембраны, образование агрегатов и формирование пор. Изучение дефензинов не подтвердило наличия специфичности к определенной мембранной мишени, они действуют против бактерий, сложных вирусов, и грибов. Однако дефензины не атакуют собственные клетки, поскольку анионные фосфолипиды представлены только в прокариотических клетках.

**Темпорины, дермасептины, низин** — другие малые катионные пептиды, которые действуют на патогенные бактерии и грибы, вызывают нарушение проницаемости мембраны и потерю внутриклеточного АТФ. Однако эта группа пептидов оказывает более значительное действие на мембрану, которое включает потерю большего числа внутриклеточных молекул в дополнение к АТФ (табл. 1).

Таблица 1

**Сводная таблица гуморальных рецепторов/эффекторных молекул и их лигандов**

<b>Мишень для распознавания</b>	<b>Краткая характеристика, провоспалительная активность</b>	<b>Гуморальный рецептор/эффектор</b>
Липополисахариды (эндотоксины)	Является структурным компонентом внешней мембраны грамотрицательных бактерий. Воспалительная активность обусловлена липидным комплексом (липидом А). Индуцирует выработку ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и TNF- $\alpha$	ЛПС-связывающий протеин (LBP). Бактерицидный/повышающий проницаемость протеин (BPI). Амилоидный белок А. Альтернативный путь активации системы комплемента. АМП (дефензины, кателицидин LL-37 (hCAP18))
Тейхоевые и липотейхоевые кислоты (ТК и ЛТК)	Содержит большинство грамположительных бактерий (до 50 % сухого веса). В индукции воспаления ТК и ЛТК считаются аналогом ЛПС. Выработка TNF- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и других активаторов воспаления. Могут действовать как синергисты или антагонисты ЛПС	Маннозосвязывающий протеин. Фиколины. Бета-лизины. АМП (дефензины).
Пептидогликаны (ПГ)	Содержат грамотрицательные и грамположительные бактерии, но у последних их слой значительно толще (на 50–100 молекул). Индуцирует высвобождение TNF- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-10. Обладает синергизмом действия с ЛТК	Лизоцим. Пептидогликан-распознающий протеин (ПРП)
Манноза	Содержат грамотрицательные и грамположительные бактерии, грибы и др. микробы	Маннозосвязывающий белок. Фиколины. SP-A, SP-D

## Распознавание микроорганизмов клетками системы врожденного иммунитета

### ФУНКЦИИ ФАГОЦИТОВ И РАСПОЗНАВАНИЕ

В ходе выполнения основных функций фагоциты распознают соответствующие объекты и обладают для этого набором необходимых рецепторов (табл. 2).

Таблица 2

#### Основные функции фагоцитов

Функция	Нейтрофилы	Макрофаги
Распознавание, фагоцитоз и утилизация апоптических и некротических клеток и продуктов тканевого распада	–	++++
Распознавание, фагоцитоз и киллинг большого количества разнообразных микроорганизмов	++++	++
Утилизация иммунных комплексов	–	++++
Регулирование приобретенного иммунного ответа	+	+++

Система врожденного иммунитета использует для распознавания объектов неклональные (неуникальные) рецепторы, распознающие структуры (РРС), специфические для микроорганизмов основных классов (РАМПС).

### МИКРООРГАНИЗМЫ КАК ОБЪЕКТ СИСТЕМЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

В ходе эволюции механизмы системы врожденного иммунитета приобрели способность к распознаванию микроорганизмов-возбудителей заболеваний у человека.

Как объекты для распознавания системой врожденного иммунитета используются следующие вещества (структуры), присущие микроорганизмам определенных типов:

1. Пептидогликан, который является основным элементом клеточной стенки бактерий.
2. Полисахариды, содержащие маннаны — поверхностные углеводы бактериальной клеточной стенки.
3. Липополисахариды (ЛПС/Эндотоксин), состоящие из липида А и углеводов, содержат характерные для грамотрицательных бактерий.
4. Специфические структуры на основе тейхоевых и липотейхоевых кислот, характерные для грамположительных бактерий. Тейхоевые кислоты являются полифосфатами с рибитолом или глицерином.
5. N-формил-метионин — структура, с которой начинается большинства бактериальных белков.

6. N-ацил-S-диацилглицерил цистеин — уникальная N-концевая липоаминокислота, характерная для липопротеинов бактерий.

7. CpG-последовательности, включающие неметилированный цитозин, присущий бактериальной ДНК.

8. Двухцепочечная РНК, которая появляется в организме только при вирусных инфекциях.

### ВАЖНЕЙШИЕ РРС, ПРИСУТСТВУЮЩИЕ НА ФАГОЦИТАХ

РРС, присутствующие на фагоцитах, можно условно разделить на несколько групп по функциям (табл. 3):

- сигнальные, активация которых приводит к развитию иммунного воспаления и иммунного ответа;
- для фагоцитоза с активацией и развитием иммунного воспаления (иммунного ответа);
- для фагоцитоза без активации и воспаления.

Таблица 3

#### Основные группы РРС фагоцитов

Функция рецепторов	Рецепторы	Нейтрофилы	Макрофаги
Сигнальные	ТЛР 1-10	+	+
	ФМР	+	+
	Рецептор маннозы (МР)	+	+
	Рецептор бета-глюканов (βР)	+	+
	NOD1, 2	+	+
	Рецептор ФНОα1	–	+
Рецепторы для фагоцитоза	CD14	+	+
	CD36	+	+
	Скавенджер-рецептор А	–	+
	MARCO	–	+
	Рецептор пептидогликана	–	+
Рецепторы для опсоинов	FcR	+	+
	CR3	+	+

### РЕЦЕПТОРЫ С ВЫРАЖЕННОЙ СИГНАЛЬНОЙ ФУНКЦИЕЙ

**ТOLL-подобные рецепторы.** ТЛР появились около 500 миллионов лет назад и участвовали одновременно в процессах эмбриогенеза и активации клеток системы врожденного иммунитета (фагоциты) (табл. 4). Поверхностный рецептор Toll регулирует вентральную поляризацию эмбриона дрозофил и одновременно отвечает за устойчивость мух к инфекционным заболеваниям.

Таблица 4

#### ТЛР млекопитающих и их лиганды

ТЛР	Лиганды
TLR2	Липотейхоевая кислота Пептидогликан Липоарабидоманнан

	Липопептиды микоплазм Клеточная стенка дрожжей (зимозан)
--	---

Окончание табл. 4

ТЛР	Лиганды
TLR3	Двухцепочечная РНК, Поли I:C
TLR4	ЛПС Липотейхоевая кислота Белки теплового шока
TLR5	Флагеллин
TLR6	Полипептиды микоплазм, дрожжей (зимозан)
TLR7	РНК вирусов
TLR8	РНК вирусов
TLR9	Бактериальные CpG олигонуклеотиды

**Структура и функция ТЛР (ТЛР2).** Внутриклеточная часть ТЛР содержит домен TIR, общий с рецептором ИЛ1 (рис. 4). При стимуляции ТЛР изменяет конформацию TIR-домена, что приводит к каскадному фосфорелированию адапторных белков и, далее, IκB — специфического ингибитора транскрипционного фактора NFκB. Фосфорелированный IκB расщепляется, а освобожденный NFκB транспортируется в ядро и активирует транскрипцию ряда генов. В результате работы этих генов иммунная клетка активируется и вырабатывает сигнал «опасности», т. е. обнаружения микроорганизма/повреждения.

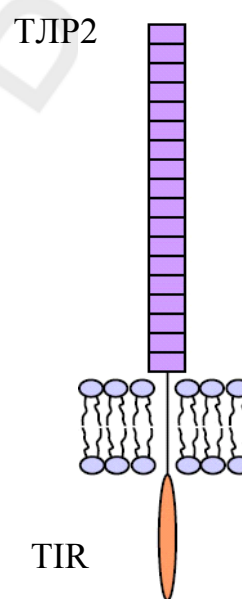


Рис. 4. Структура ТЛР2

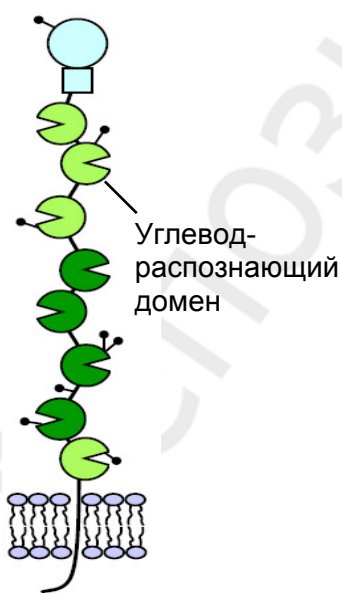


Рис. 5. Строение рецептора маннозы (CD206)

ТЛР при распознавании лиганда активируют клетку (изменяют морфологию, спектр рецепторов и поверхностных структур, индуцируют синтез и секрецию белков и биоактивных молекул, регулируют апоптоз клетки).

Нейтрофилы и макрофаги экспрессируют практически все известные ТЛР (1-10). Исследования с помощью моноклональных антител и количественной РТ-ПЦР выявляют значительную экспрессию ТЛР1, умеренную — 2, 4, 9, 5, 6, 7.

**Рецептор маннозы (CD206)** — мембранный белок I типа, экспрессированный преиму-

ществено на макрофагах и эндотелии оболочек (рис. 5). РМ является:

- полностью рециркулирующим рецептором для эндоцитоза;
- лектином С-типа с 8 CRD, которые распознают терминальные остатки маннозы/фукозы (N-ацетил-глюкозамин);
- лектином, распознающим сульфатированный N-ацетилгалактозамин (как богатый цистеином домен);

Кроме этого, РМ участвует в распознавании многочисленных микроорганизмов (*Candida albicans*, *Pneumocystis carinii*, *Leishmania*, HIV).

#### **Рецептор $\beta$ -глюканов, Dectin-1 ( $\beta$ ГР):**

- специфичен к  $\beta$ -(1,3/1,6)-глюканам, которые весьма характерны для клеточной стенки грибов (рис. 6);

– широко экспрессирован на фагоцитах: моноцитах, Мф, Нф и ДК;

– является мембранным белком II типа с одним лектиновым доменом С-типа;

– обладает собственной уникальной последовательностью ITAM (тирозиновый активационный фрагмент рецепторов иммунных клеток);

– обеспечивает распознавание грибов с их последующим фагоцитозом;

– стимуляция  $\beta$ ГР вызывает продукцию ФНО $\alpha$ .

Таким образом,  $\beta$ ГР является одновременно сигнальным рецептором, формирующим развитие воспалительного ответа, и рецептором фагоцитоза.

**Белки NLR (NOD like proteins).** Принадлежат к семейству белков NOD (nucleotide oligomerization domain), содержащих последовательности для связывания ядерных факторов и повторы, богатые лейцином.

**Структура.** Белки Nod состоят из трех типов доменов: N-концевой домен активации и связывания каспаз (CARD), который отвечает за передачу активационного сигнала о распознавании бактериальных компонентов, центральный домен, содержащий участок связывания ядерных факторов, и С-концевой повтор, богатый лейцином. Центральные и С-концевые домены обеспечивают распознавание элементов пептидогликана.

**Функция:** участвуют в распознавании бактерий-внутриклеточных паразитов и их продуктов и синтезируют цитокины через собственные сигнальные механизмы (не связанные с ТЛР). *Nod1* распознает в основном грамотрицательные бактерии за счет связывания мономера пептидогликана N-ацетилглюкозамин-N-ацетилмурамовая кислота + трипептид с диаминопимелиновой кислотой. *Nod2* способен распознавать пептидогликан из грамположительных (*E. coli* и *Shigella flexneri*) и грамположительных (*B. subtilis*

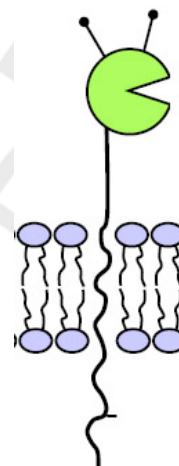


Рис. 6. Строение рецептора  $\beta$ -глюканов ( $\beta$ ГР)

и *S. aureus*) микробов. Этот белок связывает минимальный фрагмент пептидогликана — *N*-ацетилмурамовая кислота-L-аланил-D-изоглутамин.

**Белки RLP (RIG-1 like proteins).** Принадлежат к семейству ретиноид индуцибельных белков. По структуре подобны белкам NOD: содержат два CARD-домена и РНК-хеликазный домен. Распознают двуцепочечную РНК и вызывают секрецию ИФН-бета посредством активации интерферон регуляторного фактора 3 (IRF3).

**ФНОР1 (CD120a)** распознает ФНО $\alpha$  и экспрессируется на дыхательном эпителии, макрофагах и гранулоцитах. Стафилококковый белок А непосредственно взаимодействует с ФНОР1 и имитирует его эффекты: активирует иммунные клетки, а также клетки эпителия, что приводит к усилению экспрессии молекул адгезии и секреции ИЛ8. Таким образом создаются условия для мобилизации в очаг воспаления нейтрофильных гранулоцитов и их активации.

**DC-SIGN (CD209) и родственные рецепторы лейкоцитов.** DC-SIGN (ДК-специфический ICAM3 связывающий не-интегрин) и родственные молекулы на фагоцитах являются мембранными белками II типа (рис. 7). Они экспрессированы на ДК, отдельных популяциях фагоцитов и макрофагах печени. DC-SIGN(R) формируют тетрамеры на поверхности клетки и распознают остатки маннозы (за счет лектинового домена С-типа). Несмотря на схожесть структуры, рецептор имеет отличный механизм связывания и иную специфичность, нежели РМ.

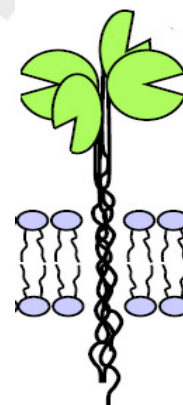


Рис. 7. DC-SIGN (CD209)

Функции DC-SIGN:

1. Рецепторы распознают: вирусы Ebola, Hepatitis C, Cytomegalovirus, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida albicans*, *Schistosoma* egg antigens.

2. DC-SIGN распознает и связывает на поверхности ДК HIV-1 (за счет gp120), создавая возможность для массового инфицирования Т-лимфоцитов в ходе иммунного ответа (в т. ч. на антигены ВИЧ).

**Формил-метиониновый рецептор (fMLPR).** Большинство бактерий синтезируют белки, начиная с *N*-формил метионина. Такие белки и пептиды являются мощным хемотактическим фактором для фагоцитов. Формил-метиониновый рецептор в настоящее время хорошо изучен (рис. 8). Нормальная экспрессия ФМР на нейтрофилах составляет 50 000 ФМР/кл.

ФМР является трансмембранным гликопротеидом. Цитоплазматический хвост обладает способностью связывать G-белки.

Стимуляция ФМР обычно непродолжительна (минуты) за счет быстрого разрушения пептидов металлопротеазами и миелопероксидазой.



Он структурно и функционально схож с рецепторами для хемокинов и факторов комплемента C5a, C3a.

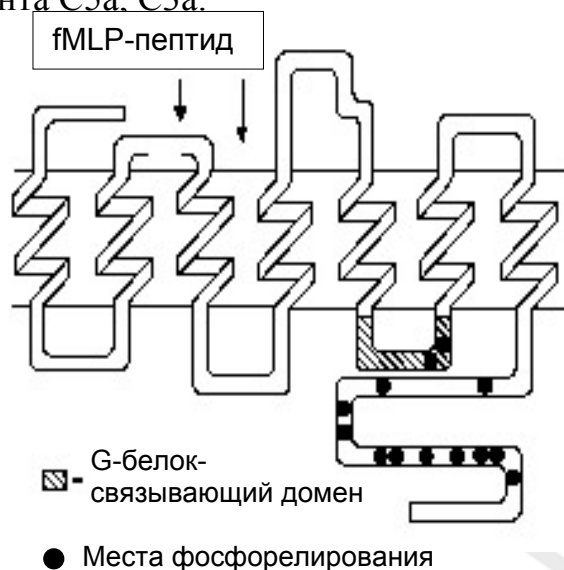


Рис. 8. Строение формил-метионинового рецептора

### ПОСЛЕДСТВИЯ АКТИВАЦИИ СИГНАЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Стимуляция сигнальных рецепторов (например ТЛР) фагоцитов приводит к их активации:

а) к изменению формы клеток. Изначально округлые выпуклые клетки при стимуляции агонистами ТЛР приобретают неправильную вытянутую асимметричную форму;

б) значительному синтезу цитокинов и хемокинов ИЛ8, ИЛ12, ИЛ1, ФНО и др.;

в) расщеплению и потере активности поверхностных селектинов на фагоцитах (угнетению миграции клеток из очага микробного воспаления);

г) усилению фагоцитоза и продукции перекисных радикалов кислорода и галогенов, других факторов внутриклеточной бактерицидности;

д) усилению антигенпрезентации.

**Нейтрофилы.** Стимуляция сигнальных рецепторов активирует экспрессию определенного набора генов нейтрофилов (на примере ТЛР) (табл. 5).

Таблица 5

#### Экспрессия нейтрофилами генов, связанных с иммунными функциями

Индукцибельные	Конститутивные	Отсутствуют
IL-8	IFN-a, -b, -g	IL-4
MIP-1a	TNF	IL-6
MIP-1b	B-defensins-1, -2, -3	IL-10
MIP-3a	A-defensin-1	MIG
GRO-a	MCP-1	IP-10
IL-1	IL-12 p40	I-TAC

		RANTES MIP-3b BCA-1
--	--	---------------------------

В основном, это цитокины воспаления и хемокины, привлекающие в очаг воспаления клетки системы врожденного иммунитета: хемокины для моноцитов/естественных киллеров (MIP-1/CCL3, MIP-1/CCL4), нейтрофилов (IL-8/CXCL8, GRO-/CXCL1) и незрелых дендритных клеток (MIP-3/CCL20). Характерно отсутствие хемокинов для клеток приобретенного иммунитета (Т- и В-лимфоцитов).

Набор активных генов мало зависит от ТЛР, подвергнувшегося стимуляции, что свидетельствует о равной активности нейтрофилов против патогенов основных классов и отсутствии функции регулирования ответа системы приобретенного иммунитета.

**Макрофаги** в нормальных условиях также экспрессируют значительное количество генов, связанных с иммунными функциями: факторы апоптоза, молекулы адгезии, хемотаксины, рецепторы системы комплемента, цитокины (ФНО $\alpha$ /b, ТФР $\beta$ , КСФ) и их рецепторы, поверхностные молекулы и др.

При распознавании микроорганизмов, особенно через сигнальные рецепторы (ТЛР), происходит быстрое изменение функции более 1000 генов. У макрофагов, подобно нейтрофилам, можно выделить блоки генов, координированно активирующихся в ответ на любую инфекцию:

- гены ИЛ1  $\alpha$ /b, ИЛ3, 6, 10, ФНО, лимфотаксин, M-CSF, GM-CSF, ИЛ8, MIP1 $\alpha$ /b, MIP2, MIP3, CD25, CD40, CD40L. Все эти гены активируются через транскрипционный фактор NF $\kappa$ B, поэтому его гены также экспрессируются в данной группе (NF $\kappa$ B1, 2, relB, cRel, I $\kappa$ B);

- гены факторов апоптоза;
- TNF-сопряженные гены;
- киназы и факторы, сопряженные с клеточным ростом и делением, продукцией цитокинов, например Jak1-3, STATs.

Вместе с тем, в отличие от нейтрофилов, макрофаги способны дифференцированно отвечать на распознавание различных классов патогенов (рис. 9). Из диаграммы видно, что при ответе на различные патогены четко просматривается индивидуальная программа активации (как по набору генов, так и по степени и динамике экспрессии).

Необходимо учитывать, что активация отдельных рецепторов распознавания микроорганизмов вносит определенный вклад в формирование программы активации макрофага и его функцию как АПК. Наибольшей активирующей способностью обладают ТЛР.

Таким образом, макрофаги способны различать и дифференцированно отвечать на патогены различных типов, что определяет характер (толе-

рантность/иммунный ответ/аллергия) и тип иммунного ответа (клеточный или гуморальный).

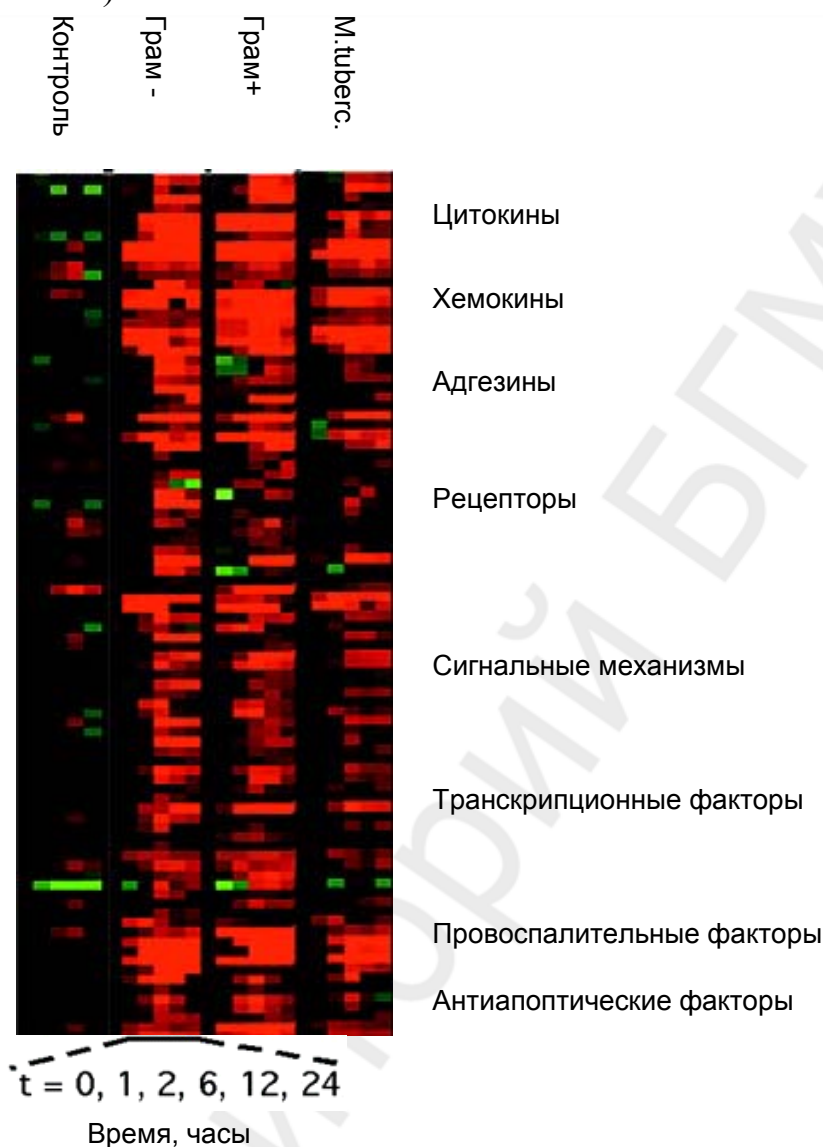


Рис. 9. Активация различных генов макрофагов под воздействием грамположительных (*S. aureus*), грамотрицательных бактерий (*E. coli*) и *M. tuberculosis*

### РЕЦЕПТОРЫ С ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ФАГОЦИТАРНОЙ ФУНКЦИЕЙ

**Скавенджер-рецептор** (и родственные рецепторы) связывает полианионные лиганды, модифицированные ЛПНП и др. (рис. 10).

Распознавание лигандов этими рецепторами обычно завершается фагоцитозом и не приводит к активации макрофага (т. е. не происходит «кислородный взрыв», отсутствует секреция цитокинов) (табл. 6).

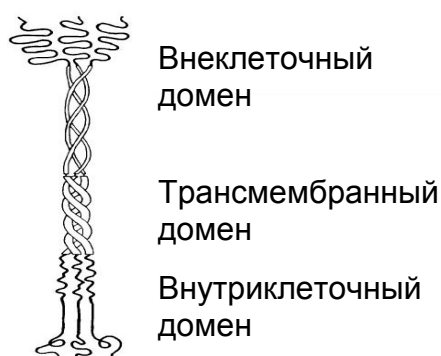


Рис. 10. Скавенджер-рецептор

Таблица 6

**Скавенджер-рецептор и родственные рецепторы**

Рецептор	Лиганды	Функция
CD14	ЛПС, липотейхоевые кислоты, полисахариды клеточной стенки, пептидогликаны, апоптические клетки	Распознавание ЛПС, уничтожение апоптических клеток
CD36	Ох-ЛПНП, тромбоспондин, ПС	Захват и утилизация холестерина, утилизация апоптических клеток
SR-A, CD204	Полианионные лиганды (декстран, Ох-ЛПНП, апоптические клетки)	Захват и утилизация холестерина, утилизация апоптических клеток, захват и уничтожение микроорганизмов
MARCO	Микроорганизмы, Ас-ЛПНП	Распознавание микроорганизмов

**Белки, распознающие пептидогликан (БПГ).** Были впервые обнаружены у дрозофил и являются высококонсервативным фактором системы неспецифического иммунного ответа (выявляются у животных от насекомых до млекопитающих). БПГ распознают пептидогликан в различных компартментах в зависимости от типа и места экспрессии: на мембранах, в составе внутриклеточных везикул, в межклеточном пространстве (в крови). У человека обнаружено 4 типа БПГ, которые:

- способствуют фагоцитозу и внутриклеточному лизису грамположительных бактерий;
- в сочетании с лизоцимом приводят к внеклеточному лизису грамположительных бактерий;
- способствуют уменьшению воспалительного сигнала путем деградации пептидогликана во внеклеточной среде.

**Рецептор комплемента 3 (CR3), CD11bCD18** (рис. 11):

- является гетеродимером CD11b и CD18 ( $\alpha$ M $\beta$ 2integrin) и рецептором фагоцитоза;

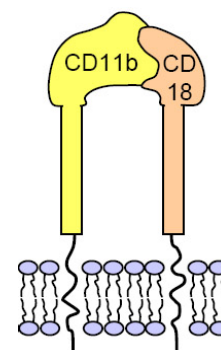


Рис. 11. Строение рецептора комплемента 3

- обладает широкой специфичностью (полисахариды с остатками маннозы и N-ацетил-D-глюкозамины);
- способен непосредственно распознавать такие микроорганизмы как *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa* и др.

### **РЕЦЕПТОРЫ ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ С УЧАСТИЕМ МЕХАНИЗМОВ СИСТЕМЫ ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА**

#### **Fc-рецептор-опосредованный фагоцитоз:**

1. Поверхность микроорганизма (частицы) покрывается специфическими антителами (и комплементом), синтезированными в результате работы системы приобретенного иммунного ответа.
2. Частицы, опсонизированные IgG, фагоцитируются через Fc-рецептор.
3. Связывание IgG через Fc-рецептор запускает механизмы клеточной бактерицидности (в т. ч. «кислородный взрыв»).

**Основные Fc-рецепторы:** FcγRI (CD64) — высокоаффинный, связывает мономерные IgG; FcγRII и III (CD32 и CD16) — низкоаффинные, связывают полимерные IgG;

Отдельные типы клеток организма (альвеолярные макрофаги) несут на поверхности FcαR, который выполняет функции, подобные FcγR на обычных фагоцитах.

**CR3-опосредованный фагоцитоз.** В результате работы системы комплемента (или спонтанно) продукты активации (расщепления) C3 связываются с поверхностью микроорганизма (частицы). C3-опсонизированный объект поглощается через связывание с C3-рецептором. Основным рецептором C3 является CR3 (CD11b/CD18), стимуляция которого не вызывает запуска механизмов клеточной бактерицидности и активации фагоцита (не происходит «кислородный взрыв», отсутствует секреция цитокинов).

#### **Различия между Fc- и CR3-опосредованным фагоцитозом:**

1. Fc-рецептор-опосредованный фагоцитоз включает механизмы клеточной бактерицидности и осуществляется по механизму застевжки-«молнии» (фагоцитоз I типа).
2. CR3-опосредованный фагоцитоз происходит без активации фагоцита (без кислородного взрыва), а объект фагоцитоза погружается внутрь клетки (фагоцитоз II типа).
3. Каждый тип фагоцитоза опосредуется собственными сигнальными путями:
  - FcR (I тип) использует ГТФазу Cdc42 и Rac;
  - CR3 (II тип) использует ГТФазу Rho.

## Распознавание патогенов основных групп

### РАСПОЗНАВАНИЕ СТАФИЛОКОККОВ (ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ МИКРОБОВ)

В настоящее время известно большое количество веществ, ассоциируемых с внутренними и внешними структурами стафилококка, неотъемлемых элементов его физиологических систем и факторов патогенности (рис. 12), однако их взаимодействие с системой врожденного иммунитета остается слабо изученным. Наиболее полно изучено распознавание следующих элементов:

- пептидогликанов;
- тейхоевых кислот;
- липотейхоевых кислот;
- гемолизинов (альфа, бета);
- бактериальной ДНК;
- протеина А;
- фенол-растворимого модулина (альфа, бета, гамма).

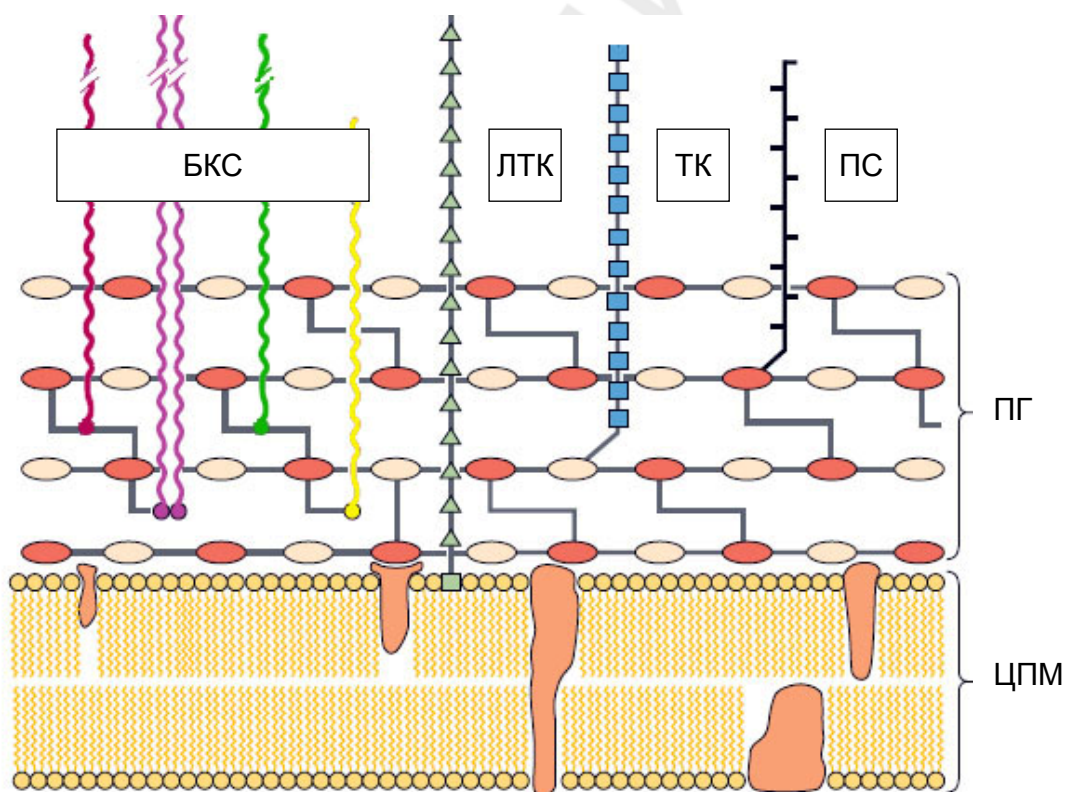


Рис. 12. Клеточная стенка стафилококка: взаимодействие с системой врожденного иммунитета:

ЦПМ — цитоплазматическая мембрана; ПГ — пептидогликан; ПС — полисахарид; ТК — тейхоевая кислота; ЛТК — липотейхоевая кислота; БКС — белки клеточной стенки (белок А, фенол-растворимые белки и др.)

**Пептидогликан** — биогетерополимер, состоящий из длинных цепей гликанов (полимер N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты), расположенных продольно, и поперечных пептидных сшивок. Пептидогликан грамположительных бактерий является важнейшим элементом КС, обеспечивающим ее прочностные, рецепторные, организующие и др. функции, нарушение которых приводит к гибели микробов. Поэтому ПГ является привлекательной мишенью для распознавания грамположительных (и в меньшей степени грамотрицательных) бактерий и их уничтожения. Широко известны защитные ферменты, распознающие и лизирующие ПГ: лизоцим, ПГ-распознающий белок крови (ПГ-амидаза). Специфические ферменты, разрушающие ПГ, представлены на рис. 13. Особенность пептидогликана стафилококков — наличие пентаглициновых мостиков, связывающих между собой отдельные звенья пептидогликана, а также ацетилирование N-ацетилмурамовой кислоты. Такая структура устойчива к действию лизоцима человека и, возможно, этим объясняется постоянное присутствие стафилококка в нормальной микрофлоре человека.

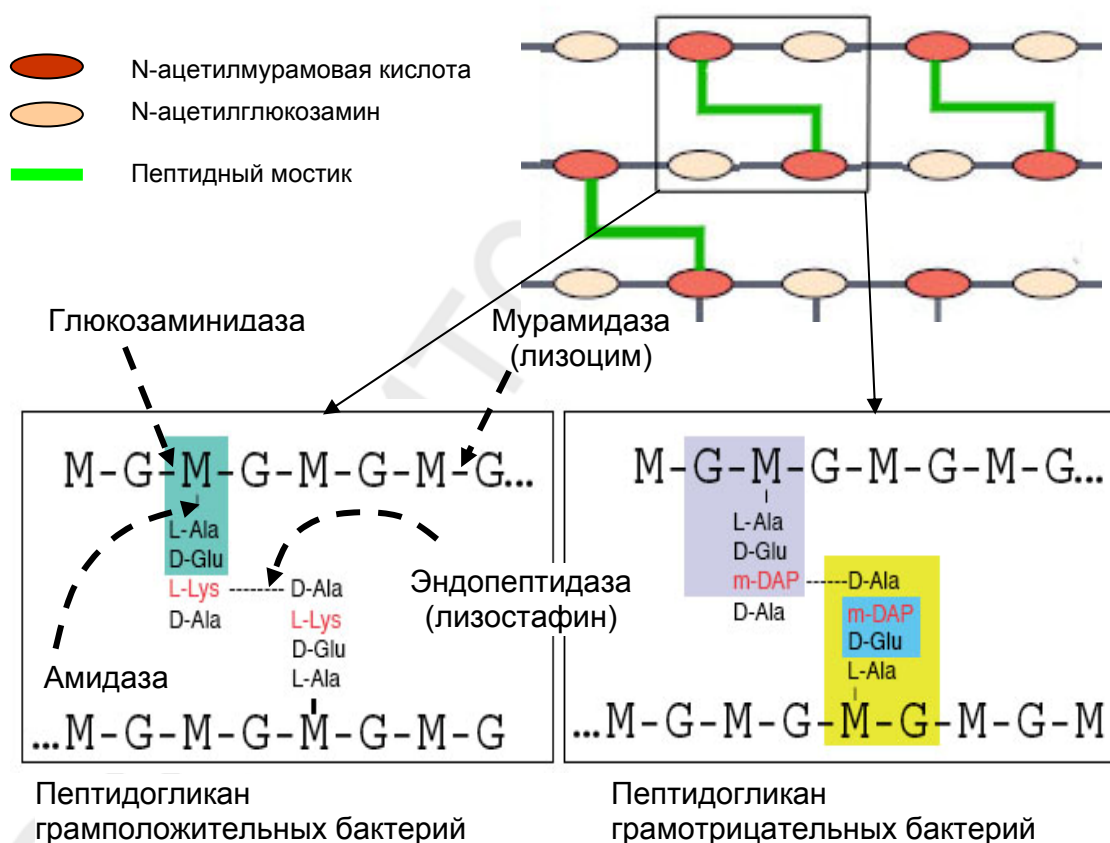


Рис. 13. Сигнальное распознавание пептидогликана

Пептидогликан распознают ТПР 2-го и 4-го типа, однако в последние годы преобладает точка зрения, что последние различают не сам ПГ, а тейхоевые кислоты в его составе.



После взаимодействия с эффекторными гуморальными рецепторами расщепленный ПГ транспортируется внутрь клеток и распознается цитоплазматическими рецепторами (белки Nod1 и 2). К таким же последствиям ведет аутолиз бактерий, а также поглощение и переваривание стафилококка фагоцитами, трансцитоз или внутриклеточное размножение возбудителя.

Структуры, распознаваемые белками Nod1 и Nod2, показаны на рис. 14.

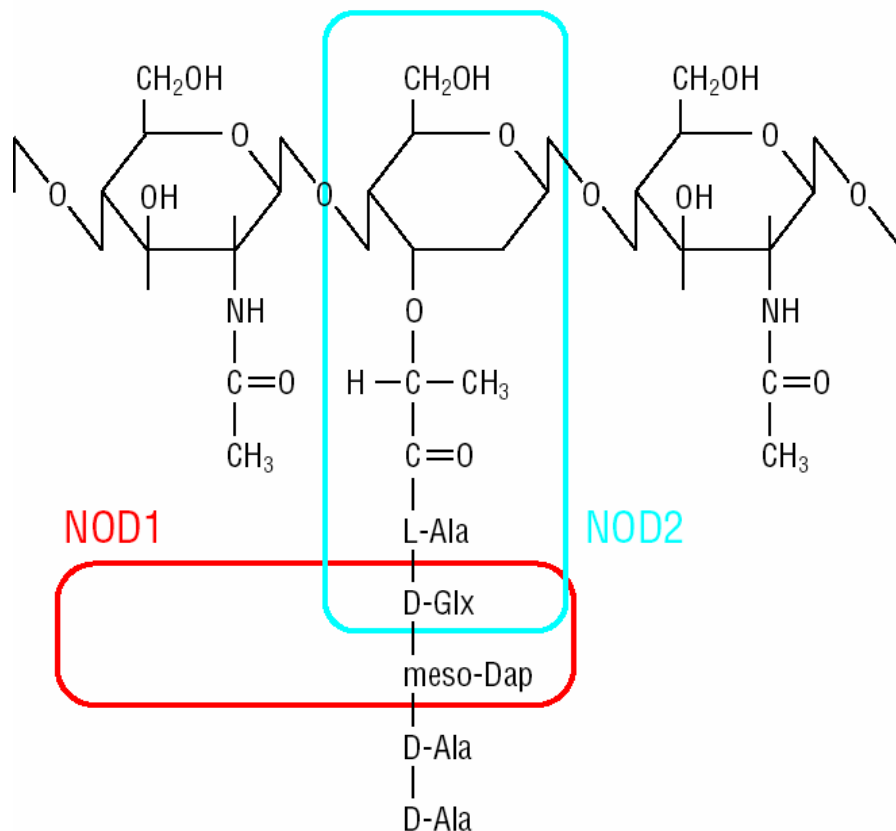


Рис. 14. Структуры, распознаваемые белками Nod1 и Nod2

Nod1, универсально экспрессированный на клетках человека, распознает преимущественно ПГ грамотрицательных бактерий, а Nod2 (экспрессирован на фагоцитах) — как ПГ грамотрицательных (*E. coli*, *Shigella flexneri*), так и грамположительных (*B. subtilis*, *S. aureus*) микроорганизмов.

**Тейхоевые кислоты (ТК)** — это водорастворимый полимер из 40 остатков рибитолфосфата (рис. 15), связанные соединительным фрагментом с ПГ клеточной стенки.

Липотейхоевые кислоты (ЛТК) — главный амбифильный компонент клеточной стенки грамположительных бактерий — состоит у стафилококков из 25 остатков полиглицеролфосфата, пронизывает ПГ и соединяется с ЦПМ. ЛТК по свойствам напоминает ЛПС грамотрицательных бактерий и образует мембраноподобные структуры. ТК и ЛТК часто подвергаются аланированию и другим модификациям.



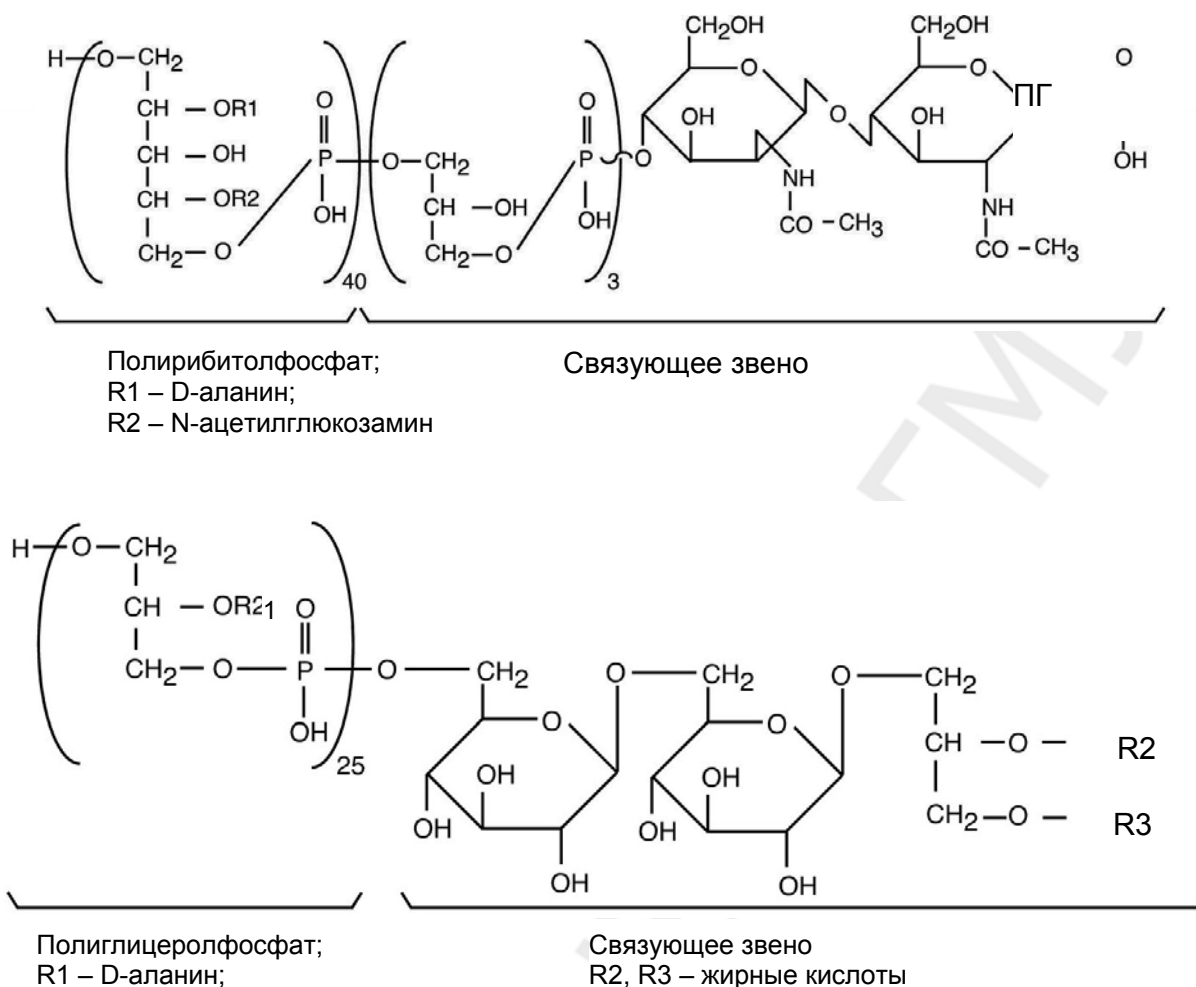


Рис. 15. Тейхоевые кислоты

Тейхоевые кислоты распознаются ТПР 2 и 4. Рецепторы CD14, CD36, асиало-GM1 усиливают сигнальные процессы при стимуляции ТПР.

**Белок А** — основной внешний белок клеточной стенки стафилококка. Он ковалентно связан с пептидогликаном и является важным фактором патогенности. Белок А непосредственно распознается рецептором ФНО-альфа I типа.

**Другие важные молекулы.** Белки — ферменты, токсины и т. д. Могут распознаваться за счет содержания N-формил-метионина.

Бактериальная ДНК содержит большое количество CpG-фрагментов, которые, в отличие от ДНК высших эукариотов, практически не метилированы по цитозину. Такая ДНК распознается ТПР9, который локализуется внутри эндосом клетки.

### РАСПОЗНАВАНИЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Схема клеточной стенки грамотрицательной бактерии и основных структур — мишеней системы врожденного иммунитета — представлена на рис. 16. Многие важные для микробной клетки вещества уже рассмотрены выше (пептидогликан, бактериальная ДНК).

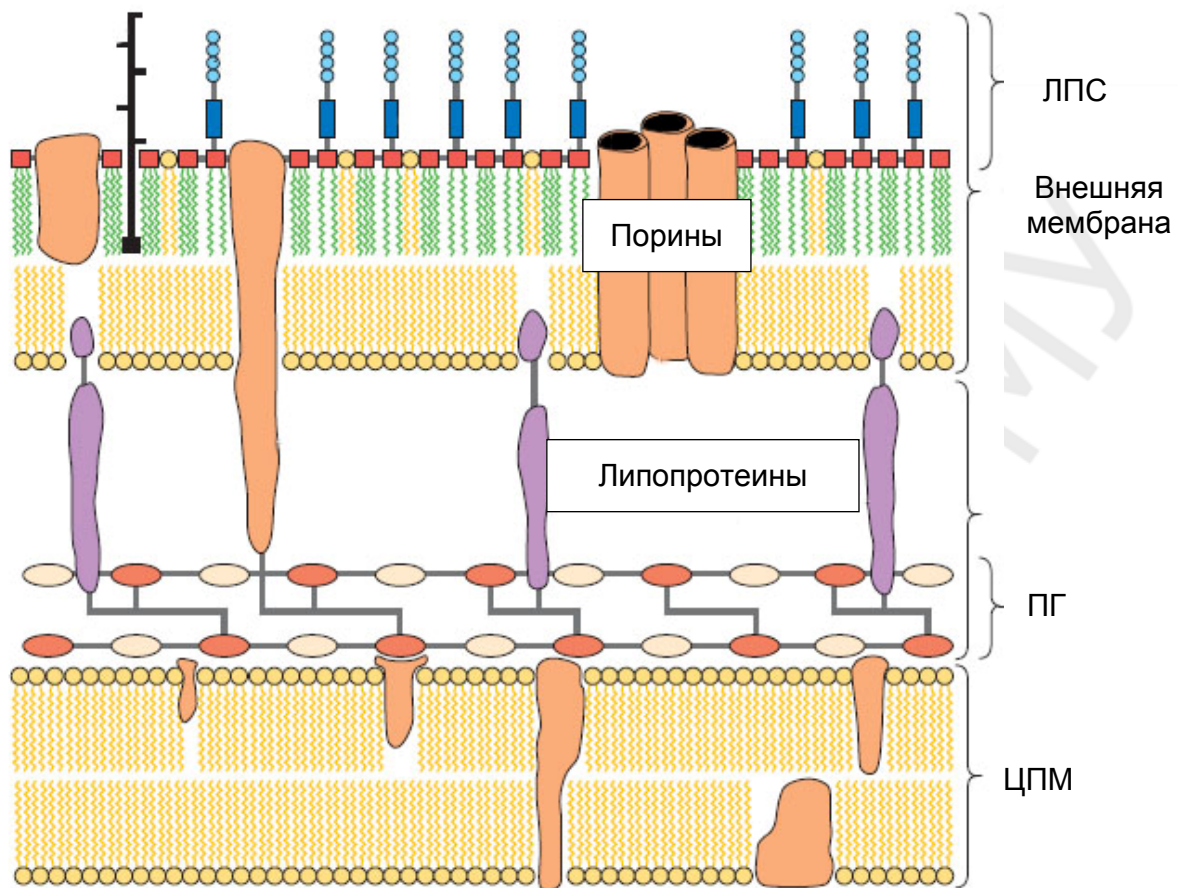


Рис. 16. Схема клеточной стенки грамотрицательной бактерии и ее основных структур — мишеней системы врожденного иммунитета

Важнейший отличительный элемент грамотрицательной бактерии — липополисахарид (ЛПС), представленный на рис. 17.

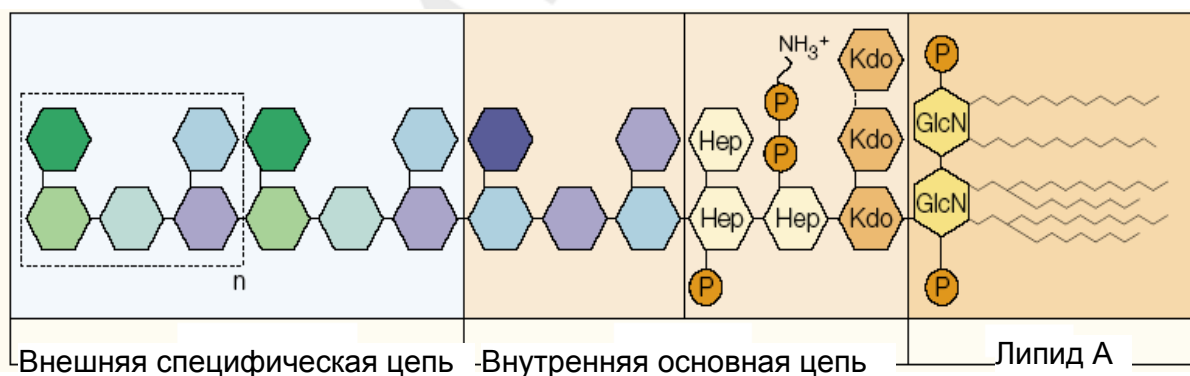


Рис. 17. Липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий

ЛПС состоит из гидрофобной (липид А) и гидрофильной (центральный полисахарид и О-антиген) частей, является основным структурным элементом внешней псевдомембраны грамотрицательных микробов и проявляет выраженную биологическую активность. Иммунная система

распознает ЛПС с помощью множества различных рецепторов: CD14, интегрины (CD11c/CD18, CD11b/CD18), рецепторы комплемента CR3 и CR4, CD55, белки теплового шока hsp70 и hsp90, рецепторы к хемокинам (CXCR4), TREM-1, RP105, фактор активации тромбоцитов ADAM10. К наиболее важным относят рецепторный комплекс ЛПССБ-CD14-ТЛР4 (рис. 18). ЛПССБ (липополисахарид-связывающий белок) является белком острой фазы воспаления, синтезируется гепатоцитами в ответ на ИЛ6 и цитокины воспаления, связывается с ЛПС и выполняет опсонизирующую функцию. ЛПССБ контролирует содержание ЛПС в крови, способствует фагоцитозу бактерий и доставляет ЛПС к сигнальному рецептору ТЛР4. CD14 — это мембранный гликопротеин, экспрессирующийся на моноцитах и макрофагах. CD14 существует и в растворимой форме. рCD14 способен связывать ЛПС и активировать клетки эндотелия/эпителия.

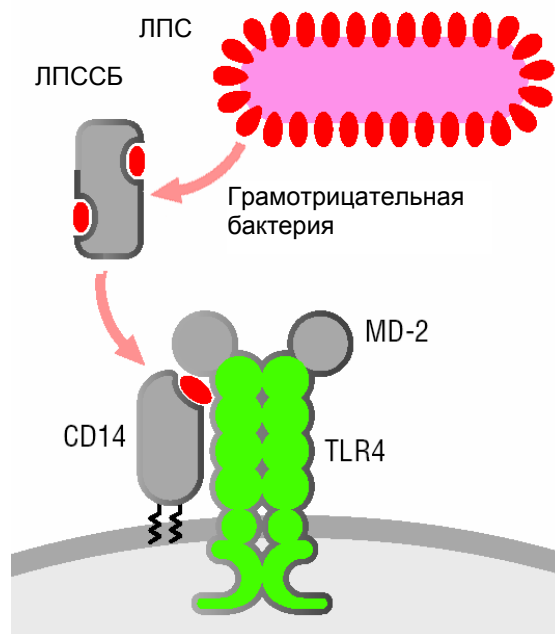


Рис. 18. Распознавание ЛПС грамотрицательных бактерий

В зависимости от структуры (особенно липида А) и распознающих рецепторов, а также концентрации, ЛПС способен индуцировать мощный воспалительный ответ, выделение больших количеств ФНО-альфа, ИЛ1, ИЛ12, ИФН-гамма, что (в условиях эксперимента или при сепсисе) может привести к шоку и полиорганной недостаточности, умеренный воспалительный ответ, или не возбуждает активности иммунной системы. Сильное воспаление приводит к усилению защитных и повреждающих реакций, а также к развитию адаптивного иммунного ответа (подобный эффект часто использовался для приготовления иммуномодуляторов и адьювантов).

**Флагеллин** — основная составляющая бактериальных жгутиков и важный объект воздействия врожденного иммунитета. За распознавание флагеллина отвечает ТЛР5, который экспрессирован на клетках эпителия, моноцитах, незрелых дендритных клетках. При этом ТЛР5 на эпителиоцитах экспрессируется полярно, на базо-латеральной поверхности, что вызывает его активацию только при проникновении бактерий через эпителиальный барьер. Стимуляция ТЛР5 на клетках эпителия приводит к их активации, повышению экспрессии молекул адгезии, секреции хемокинов, специфичных для нейтрофилов и дендритных клеток, продукции антибактериальных веществ и генерации микроокружения, способствующего разви-

тию Th2-клеток. Активация ТПР5 на дендритных клетках приводит к стимуляции гуморального иммунного ответа (в частности, продукции IgA).

**Фимбрии** различных бактерий (*E. coli*, *P. gingivalis*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella flexneri*) играют важную роль в адгезии и колонизации эпителия, а также распознаются рецепторами системы врожденного иммунитета, в частности ТПР2 и 4. Распознавание фимбрий играет важную роль в организации врожденного иммунитета слизистых оболочек.

**Энтеротоксины** возбудителей инфекций ЖКТ (например LT-II *E. coli*) также могут распознаваться через ТПР (ТПР2).

Необходимо учитывать, что в реальной ситуации в клетке генерируется большое количество сигналов о распознавании, к примеру, ЛПС, пептидогликана, ЛТК, флагеллина, бактериальных нуклеиновых кислот и т. д., которые синергично усиливают воспалительную составляющую ответа и обуславливают его индивидуальность.

**Нормальная микрофлора.** Несмотря на наличие доказанных различий в структурных компонентах патогенных и непатогенных бактерий, они высококонсервативны и, как правило, экспрессируются широким кругом микроорганизмов. Таким образом, неизбежно должны существовать механизмы, ограничивающие распознавание/реактивность в ответ на микроорганизмы нормальной микрофлоры: снижение апикальной экспрессии ТПР в обычных условиях; нефункциональность рецепторов; смещение экспрессии ТПР на базальную (латеральную) поверхность, поверхность крипт, внутриклеточные везикулы (пузыри комплекса Гольджи); смещение максимума экспрессии на клетки субэпителиальных тканей; повышение реактивности отдельно взятых рецепторных комплексов (активация в ответ на флагеллин или материал фимбрий). Отдельно необходимо отметить существование негативной регуляции сигнальных рецепторов (ТПР): определенную роль играют растворимые формы ТПР (регулируют активность лигандов и рецепторных комплексов), однако более важны внутриклеточные механизмы (белки TOLLIP, IRAKм, TRIAD3A и др).

## РАСПОЗНАВАНИЕ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА

Микобактерии являются грамположительными микроорганизмами, однако их взаимодействие с иммунной системой имеет ряд существенных отличий. Спектр молекул системы врожденного иммунитета, способных распознавать микобактерии, представлен на рис. 19.

Клеточная стенка микобактерий (см. рис. 22) содержит значительное количество пептидогликана. Важное структурное отличие МБ — кислотостойчивость (содержание в КС большого количества жирных кислот, липидов и восков). Современная модель КС МБ предполагает существование сложноорганизованного слоя миколовых кислот, ковалентно свя-



ТДМ распознается ТПР и другими рецепторами клеток иммунной системы и обладает широким спектром биологической активности (рис. 21).

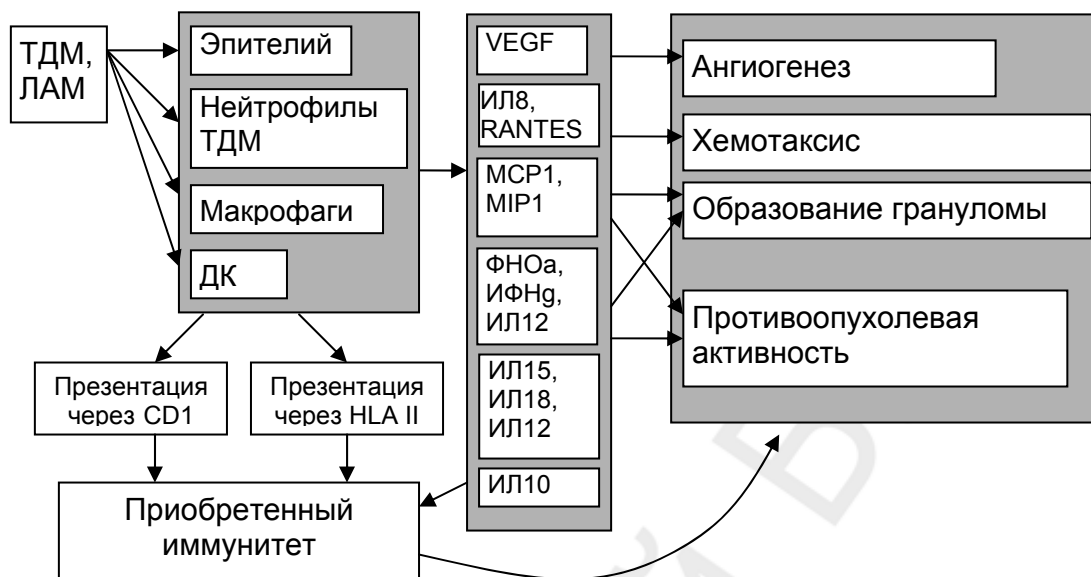


Рис. 21. Спектр биологической активности ТДМ

**Липоарабидоманнан (ЛАМ)** — сложный биогетерополимер, состоящий из маннана (5–6 остатков), соединенного с фосфоинозитолом, и арабинана (5–6 остатков). ЛАМ гетерогенен по составу, длине цепей, разветвленности и т. д. Кроме этого, внешние цепи ЛАМ часто имеют маннозные кэпы. Ориентация ЛАМ в клеточной стенке микобактерий также вариабельна. Липидный компонент ЛАМ может заякориваться в ЦПМ, а сам полимер пронизывает клеточную стенку насквозь. Другая гипотеза отводит ЛАМ структурную роль в поверхностной псевдомембране микобактерий. Биологическая активность ЛАМ разнонаправлена. Он распознается ТПР2 и вызывает выраженный провоспалительный эффект. Точечные мутации в структуре ТПР2 ассоциируются с тяжелыми формами туберкулеза и лепры, обуславливая низкий синтез ИЛ12 (основной индуктор Т-клеточного ответа по 1-му типу) и ФНО-альфа (важнейший провоспалительный цитокин). ЛАМ также распознается маннозным рецептором, CD14 и другими ТПР (4).

**Липопротеины** клеточной стенки микобактерий (рис. 22) являются важными активаторами клеток врожденного иммунитета. Распознаются ТПР2 и 4 и способствуют развитию воспаления и клеточного иммунного ответа.

К молекулам, распознаваемым сигнальными рецепторами системы врожденного иммунитета относят также гликофосфолипиды, белки теплового шока 70 и 65, ДНК микобактерий (ТПР9) и др. молекулы.

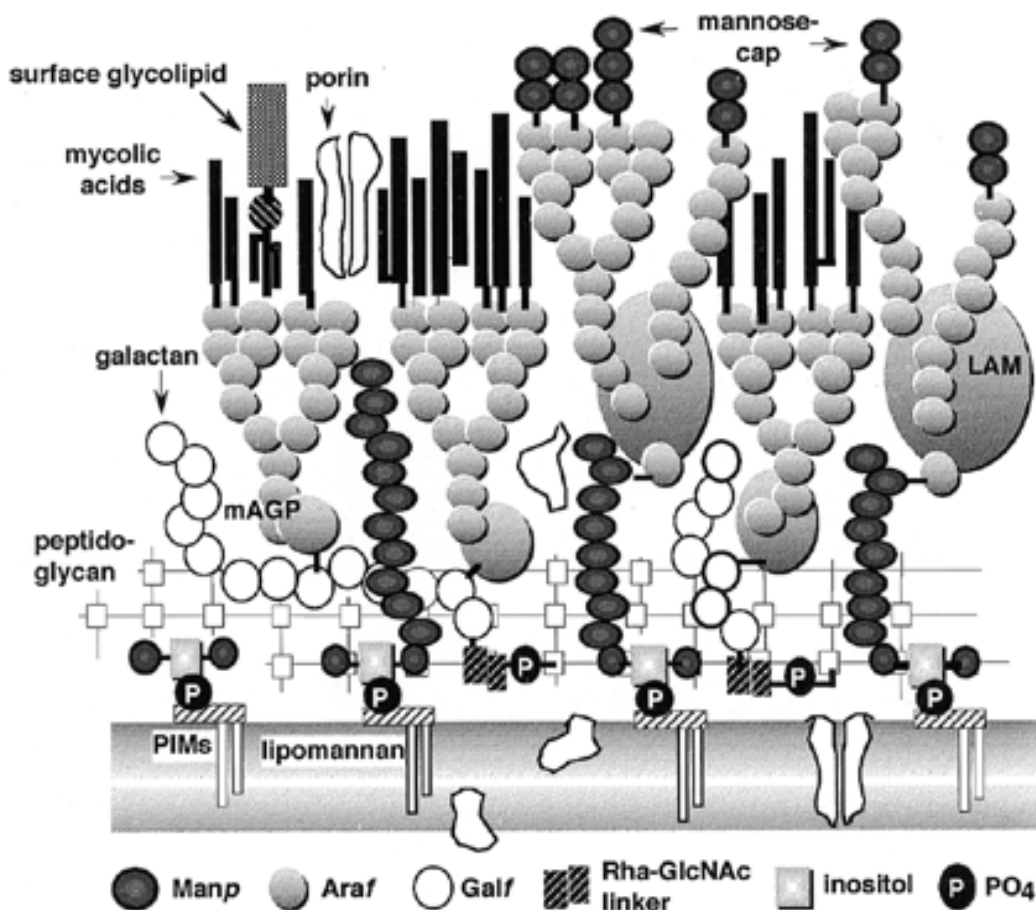


Рис. 22. Клеточная стенка микобактерий туберкулеза

Микобактерии туберкулеза используют механизмы иммунитета для проникновения в клетки-мишени и персистенции. Они способны разрезать C3 до C3в и фиксировать его на поверхности. Опсонизированная подобным образом бактерия эффективно фагоцитируется по неиммунному пути и проникает в клетки ретикуло-эндотелиальной системы без воспаления и иммунного ответа.

Другие важные пути проникновения микобактерий в клетки — это скавенджер-рецепторы, маннозный рецептор, дектин, DC-SIGN (основной рецептор для микобактерий на дендритных клетках). Микобактерии также активно используют гуморальные факторы — лектины, коллектины и др. опсоины, которые усиливают фагоцитоз и облегчают для микобактерий доступ в клетки.

### РАСПОЗНАВАНИЕ ВИРУСОВ

Поверхность вирусов содержит различные гликопротеиды, которые могут распознаваться уже упомянутыми эффекторными и сигнальными рецепторами. Так, например, вирусные гликопротеиды распознаются ТПР2 (герпесвирусы, вирус лимфоцитарного хориоменингита) и ТПР4



(парамиксовирусы, энтеровирусы). Распознавание вирусов усложняется их простотой, использованием механизмов и структур клеток хозяина, высокой избирательностью по отношению к клеткам-мишеням. Тем не менее жизненный цикл всех РНК-овых и некоторых ДНК-овых вирусов включает стадию двуцепочечной РНК, структуры, которая отсутствует в клетках человека и является ценным объектом для детекции присутствия вирусов.

ДНК-овые вирусы можно обнаружить по их ДНК: как и у бактерий, ДНК вирусов содержит неметилованные CpG последовательности (распознаются ТПП9).

#### **Эффекторные рецепторы и системы.**

**PKR** (РНК-зависимая протеинкиназа) содержит два фрагмента для связывания dsRNA и киназный домен. Связывание dsRNA приводит к димеризации PKR и самофосфорелированию, после чего фермент способен фосфорелировать фактор элонгации eIF2-альфа, что приводит к угнетению трансляции; IκB-альфа освобождает транскрипционный фактор NFκB, и тем самым активирует экспрессию провоспалительных цитокинов и иммунный ответ. Активация PKR способна индуцировать апоптоз клетки.

**OAS** и **RNAseL** — комплекс двух ферментов: детектора dsRNA (олигоаденилат синтетаза) и эффектора (RNAseL). Олигоаденилатсинтетаза распознает двуцепочечную РНК, активируется и синтезирует олигоаденилат. Последний активирует зависимую РНКзу, которая димеризуется и разрушает клеточную и вирусную мРНК, что приводит к угнетению репликации и трансляции вирусной РНК.

**АРОВЕС3G** — цитидиндезаминаза — естественный механизм против ретровирусов (неэффективна против ВИЧ вследствие активности белка vif). Встраивается в вирионы при сборке и в ходе обратной транскрипции (при новом цикле инфекции) превращает цитидин в урацил. В результате в геном вируса вносятся множественные мутации и репродукция прекращается.

**DICER** — система, распознающая двуцепочечную РНК и разрезающая ее на мелкие фрагменты. Далее хеликаза комплекса разъединяет их, и мелкие фрагменты эффективно гибридизируются на одноцепочечных вирусных РНК. Далее полимеразы достраивают их до двухцепочечных, после чего цикл повторяется. Реакция нарастает лавинообразно и способна в короткий срок уничтожить всю вирусную РНК.

#### **Сигнальные рецепторы (TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, RIG-I, MDA-5).**

ТПП, способные обнаруживать вирусные НК, можно условно разделить на две группы: внеклеточные (ТПП3) и внутриклеточные (ТПП7, 8, 9). Двуцепочечная РНК вирусов распознается ТПП3, а также недавно открытыми RIG-I и MDA-5, а одноцепочечная — ТПП7 и 8. Сигнальные про-



цессы, развивающиеся в клетке после появления в ней вирусной РНК, приводят к появлению нескольких групп транскрипционных факторов: провоспалительные (NFκB, AP-1) и интерферон-регуляторные (IRF). Все они необходимы для начала синтеза интерферона клеткой. В начале инфекции синтезируется преимущественно ИФН-бета, провоспалительные цитокины, Т-клеточные и моноцитарные хемокины, что связано с наличием в клетке только IRF3 (см. рис. 23). После синтеза ИФН и его рецепции в клетках появляется полный набор IRF (3, 7), что приводит к значительному синтезу ИФН-альфа (активация его различных генов), активации генов противовирусных систем и рецепторов клетки, к которым относятся упомянутые выше PKR, OAS/RNaseL, ADAR (аденозиндезаминаза, вносящая множественные мутации в НК вируса), GTPase Mx и INOS (угнетение ферментов, необходимых для репликации вирусов), повышению экспрессии антигенов гистосовместимости (необходимо для нормальной реализации реакций клеточного иммунитета).

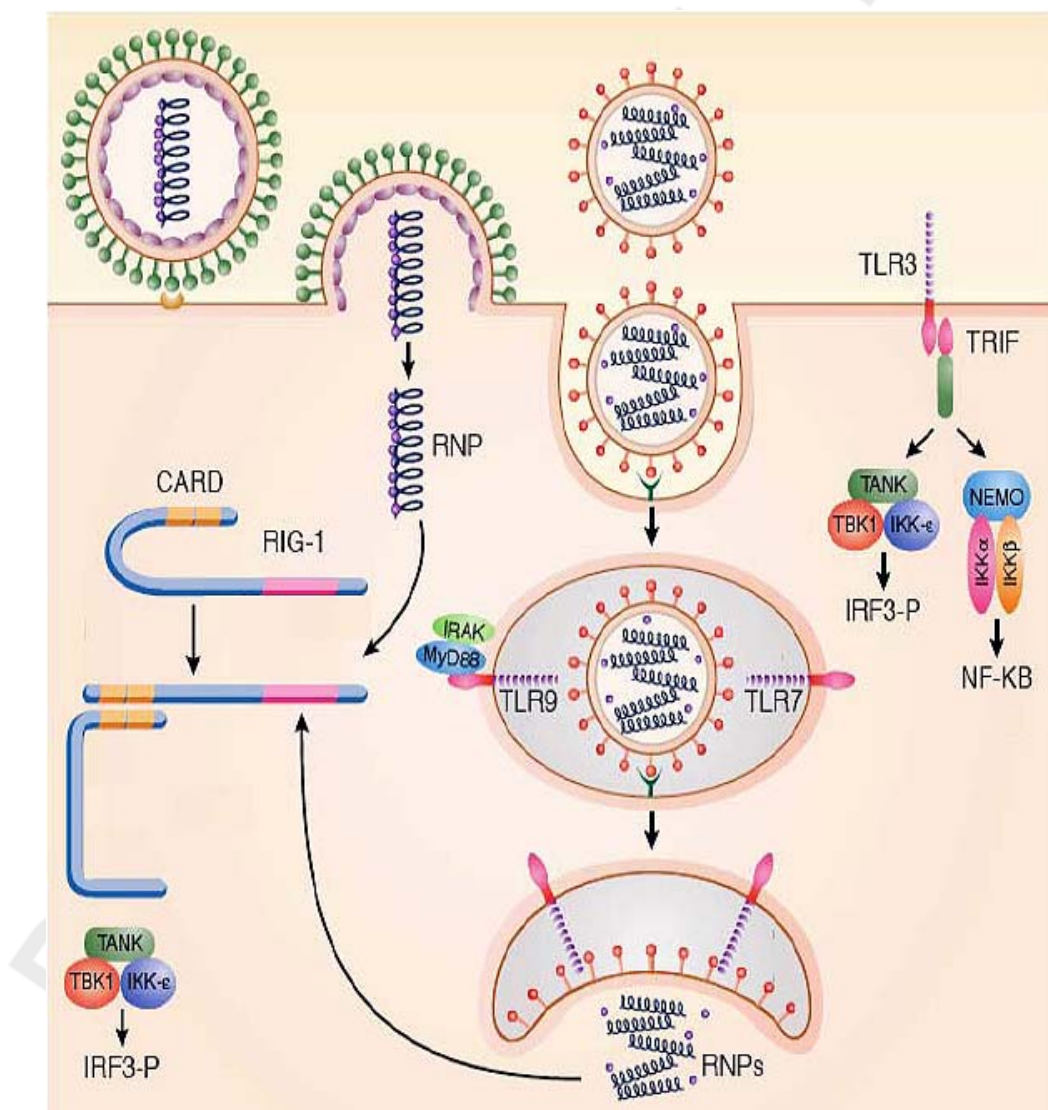


Рис. 23. Сигнальное распознавание вирусных нуклеиновых кислот ТПР

## РАСПОЗНАВАНИЕ ГРИБОВ

К сожалению, в настоящее время грибы остаются недостаточно исследованной группой патогенов в плане распознавания их элементов системой врожденного иммунитета. Однако основные соединения — мишени в структуре клетки грибов приведены на рис. 24 и табл. 7.

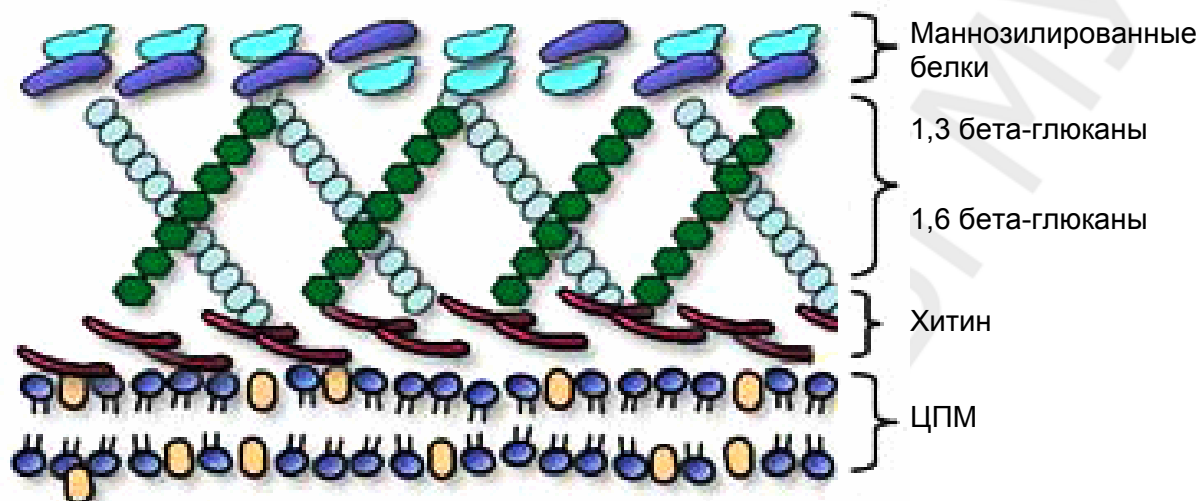


Рис. 24. Структура клеточной стенки грибов

Таблица 7

### Распознавание грибов рецепторами системы врожденного иммунитета

Рецептор/эффекторная молекула	Лиганд
Хитиназа	Хитин
Хитотриозидаза	Хитин
CD14	Глюкуроноксиманнан
C3	Поверхность клетки
C3R	Манноза, бета-глюкан, N-ацетилглюкозамин, метилманнозид, опсонизированные комплементом грибы
DC-SIGN	Манноза
Дектин-1	Бета-глюканы
Лактозилцерамид	Бета-глюканы
Маннозный рецептор	Терминальная манноза
Манноза-связывающий лектин	Моносахариды (манноза, фукоза, глюкоза)
Пентраксин 3	Галактоманнан, зимозан
SP-A	Моносахариды (манноза, фукоза, глюкоза)
SP-D	Моносахариды (манноза, фукоза, бета-глюкан)
ТПР2	Фосфолипоманнан, зимозан, липопротеины, гликолипиды
ТПР4	Маннан, глюкуроноксиманнан
ТПР9	ДНК

Рецепторы системы врожденного иммунитета, распознающие грибы, включают эффекторные гуморальные факторы: ферменты (хитиназа), опсоины (С3, пентраксины), клеточные рецепторы для фагоцитоза (MP, SP-A, SP-D), сигнальные клеточные рецепторы (ТТР4,2,9, MP).

Подобно другим патогенам, клетки грибов распознаются различными рецепторными молекулами (рис. 25), что ведет к повышению вероятности распознавания (например, криптококки экранируют бета-глюканы массивной капсулой из глюкуроноксиманнана).

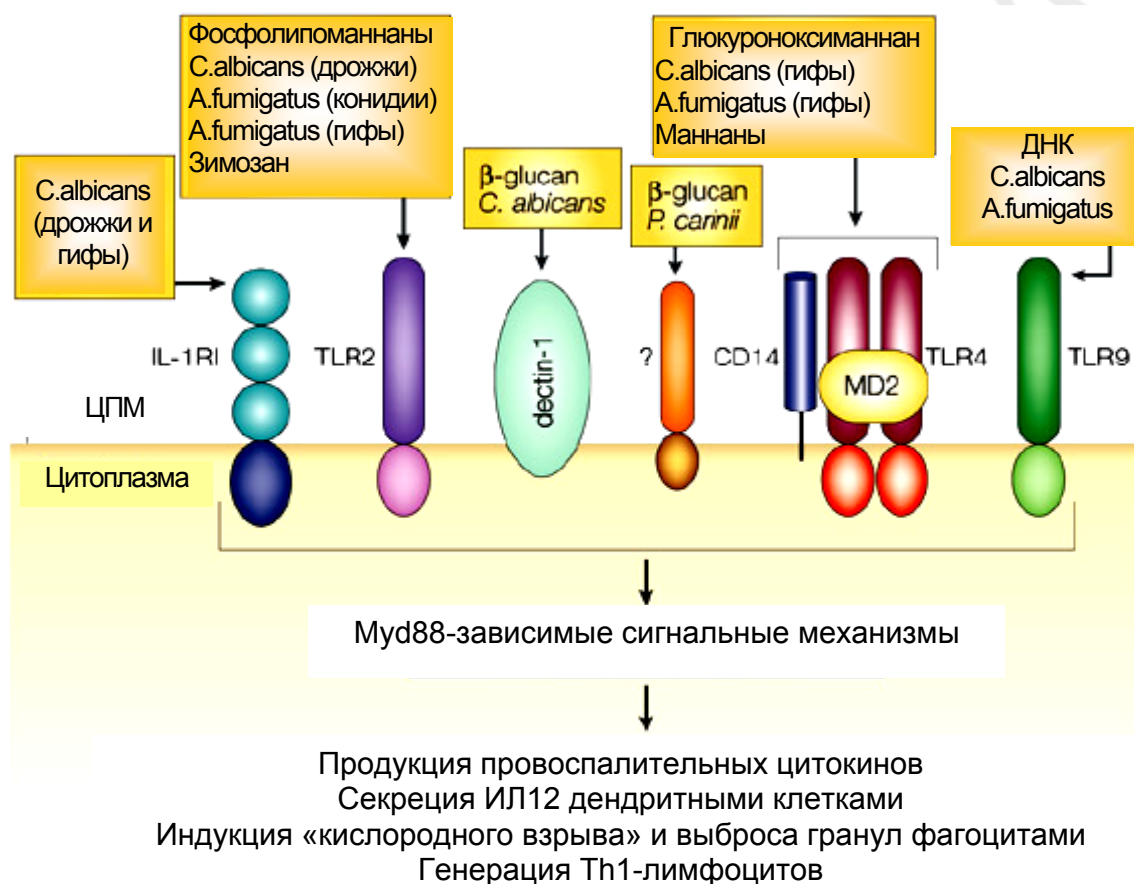


Рис. 25. Структуры грибов и рецепторы для их распознавания

Таким образом они защищаются от распознавания через дектин-1 и многих естественных опсоинов, однако материал капсулы распознается ТТР4 и вызывает сильный воспалительный ответ). Общий вектор активности иммунной системы в ответ на грибковую инфекцию — развитие иммунного воспаления (Th1-зависимого) с мобилизацией ресурсов системы врожденного иммунитета (фагоциты и цитотоксические клетки). Тем не менее современные исследования подтверждают важную роль антител в патогенезе микозов. Основные позитивные функции антител сводятся к опсонизации, активации комплемента, «фокусировании» механизмов естественного иммунитета. К сожалению, грибы зачастую устойчивы

к фагоцитозу и действию комплемента, а некоторые (*H. capsulatum*) используют указанные механизмы защиты для проникновения в чувствительные клетки.

Сложность структуры патогена и множественность распознавания создают возможность для регулирования и «индивидуализации» реагирования со стороны иммунной системы. Так, *S. albicans* преимущественно распознается тремя рецепторами: ТПР4 связывает О-маннаны, МР — N-маннаны, дектин-1 — бета-глюканы. При этом ТПР4 возбуждает секрецию хемокинов, мобилизацию нейтрофилов и организацию иммунного воспаления (Th1), что связывают с развитием иммунитета, уничтожением возбудителя и выздоровлением; ТПР2 вызывает «иммунологическое отклонение» — смещение равновесия Th1/Th2 в сторону Th2 (стимуляция гуморальных реакций/аллергии ГНТ). Такое развитие инфекционного процесса грозит формированием перmissive фенотипа и хронизацией заболевания (рис. 26).

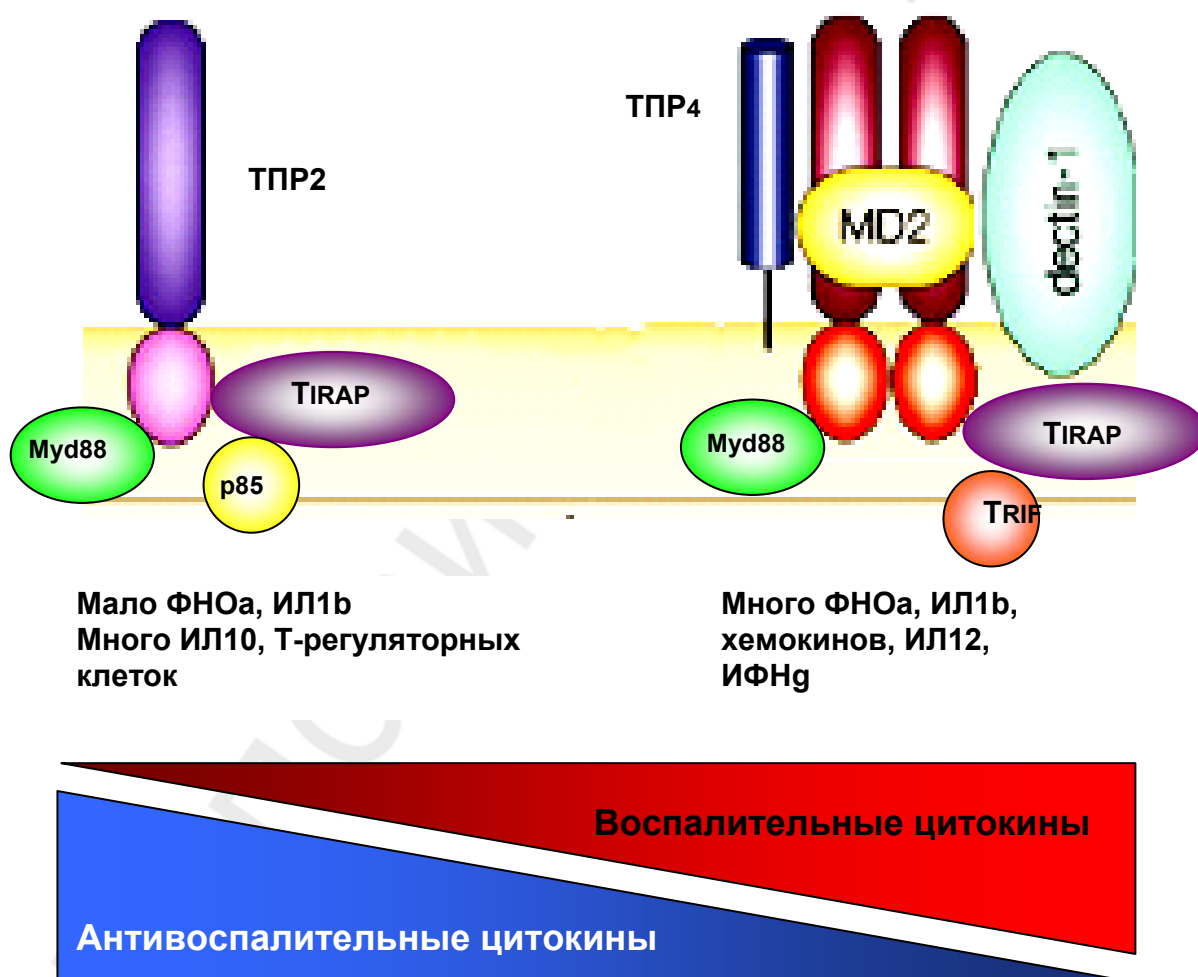


Рис. 26. Регулирование ответа на *S. albicans* посредством экспрессии/распознавания рецепторами врожденного иммунитета

В то же время распознавание через лектиновые рецепторы и рецепторы комплемента играет важную роль в фагоцитозе возбудителя и регуляции воспаления.

Патогенные грибы, со своей стороны, используют регуляторные механизмы иммунной системы для уклонения от иммунного ответа: например, *Aspergillus fumigatus* в мицелиальной форме не распознается ТПР4, в то время как механизм иммунного отклонения, опосредуемый ИЛ10, продолжает работать и способствует формированию благоприятных условий для развития микоза. Схожий механизм использует *S. albicans*, для которого переход в мицелиальную форму четко ассоциируется с патогенностью. Кроме уклонения от распознавания ТПР4, гифы кандид не связывают дектин-1 (бета-глюканы на гифах экранированы слоем маннанов).

Другие грибы, напротив, патогенны в дрожжеподобном состоянии: *S. neoformans* экранирует свои структуры крупной капсулой, а *H. capsulatum* при переходе в гифальную форму перестраивает бета-глюканы в альфа-глюканы.

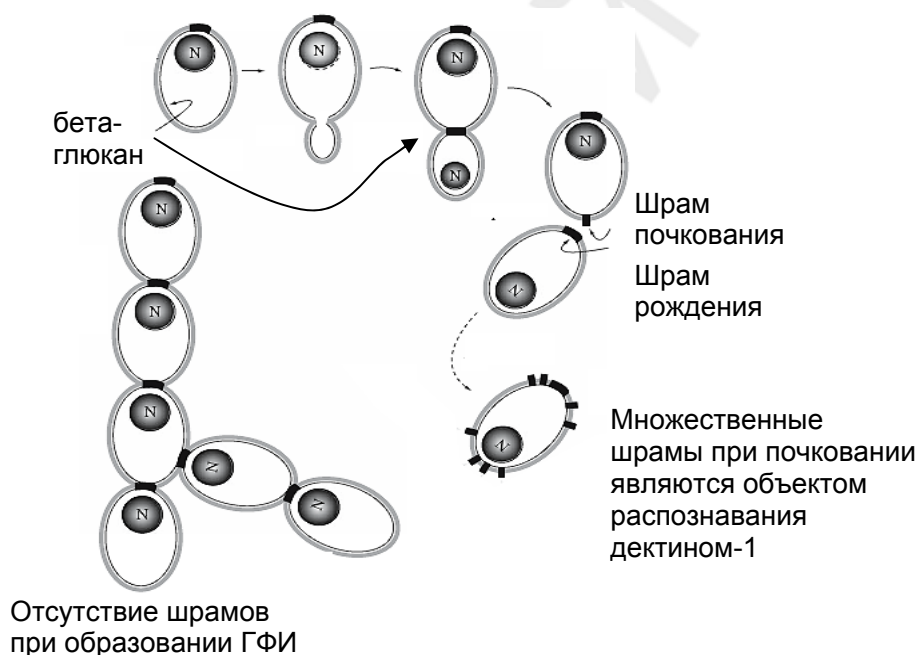


Рис. 27. Механизм уклонения патогенных грибов от иммунного ответа

### РАСПОЗНАВАНИЕ ПРОСТЕЙШИХ

К сожалению, на настоящий момент сравнительно мало известно о молекулярных основах взаимодействия факторов естественного иммунитета со структурами патогенных простейших. Охарактеризованные вещества, удовлетворяющие определению структуры распознавания, приведены в табл. 8.

## Патоген-ассоциированные молекулярные структуры простейших

ПАМС	Вид	Стадия	Структура	ТПР
Гликозил-инозитол-фосфат (ГИФ)	<i>L. major</i>	Промастиготы	Липополиглюкан	ТПР2
	<i>T. cruzi</i>	Трипомастиготы	ГИФ + алкилацил-глицерин	ТПР2
		Эпимастиготы	ГИФ + церамид	ТПР4
	<i>P. falciparum</i>	Мерозоит	ГИФЛ, ГИФ + белок	ТПР2 ТПР4
	<i>T. gondii</i>	Тахизоиты	ГИФЛ, ГИФ	ТПР2 ТПР4
	<i>P. falciparum</i> , <i>T. gondii</i>	–	ГИФ	CD1d, Va14/Vb8ТКР
Геномная ДНК	<i>T. cruzi</i>	Все стадии	СрG-мотивы	ТПР9
Гемозоин	<i>P. falciparum</i>	Мерозоиты	Бета-гематин	ТПР9
Профилин	<i>T. gondii</i>	Тахизоиты	Профилин	ТПР11
PfEMP1	<i>P. falciparum</i>	Мерозоиты	Поверхностный белок эритроцитов (синтезируется <i>P. falciparum</i> )	CD36, ICAM, VCAM, CD31, тромбоспондин, E-селектин и т. д.
Фосфатидилсерин	<i>L. major</i> , <i>P. falciparum</i>	–	Маркер апоптоза	CD36, скавенджер-рецепторы
Изопентинил пирофосфат	<i>P. falciparum</i>	Мерозоиты	–	g/dТКР
Сахариды клеточной поверхности	–	–	–	MP

**Гликозил-фосфатидил-инозитол (ГФИ).** В отличие от патогенных грибов и бактерий, значимые для медицины простейшие не имеют выраженной клеточной стенки (особенно внешних, по отношению к ЦПМ, структур). Роль КС у них играет пелликула — структура, расположенная непосредственно под ЦПМ, имеющая различное строение у отдельных групп простейших: от однослойных псевдомембранных структур (*Euglena*) до многослойных мембранных и везикулярных слоев, сложно ассоциированных с цитоскелетом (*Balantidium*). Таким образом, первой структурой, которая контактирует с внешней средой у патогенных простейших является ЦПМ. Уже ранние исследования взаимодействия простейших с иммунной системой показали способность мембранной фракции стимулировать клетки лимфоидной и миелоидной природы. Позже эта активность была ассоциирована с гликозил-фосфатидил-инозитолом (ГФИ). ГФИ является молекулой, закрепляющей белки в мембране эукариотических клеток (в т. ч. у человека), и интенсивно экспрессирована на



ЦПМ (до  $10^7$ /кл.). ГФИ состоит из сахаридной цепи и липидного компонента (глицериновые эфиры жирных кислот или церамид) (рис. 28).

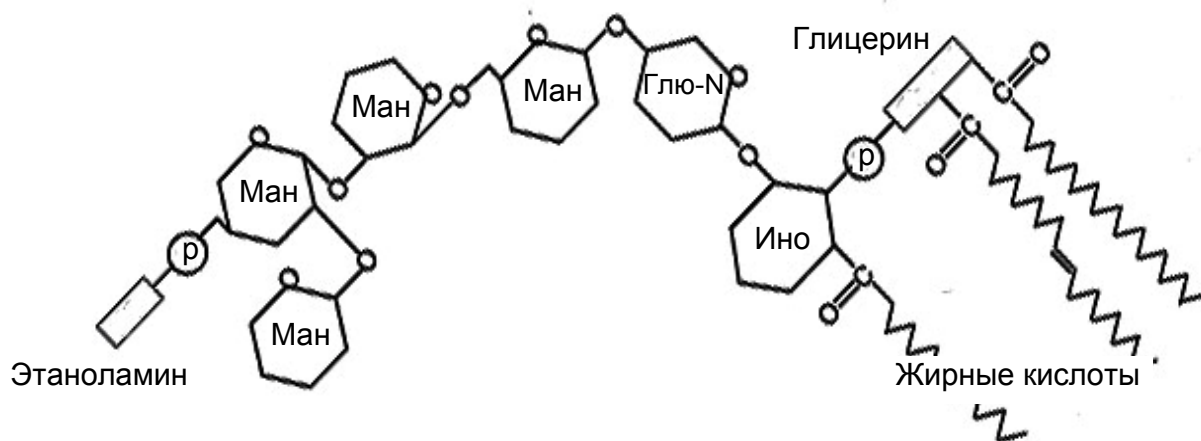


Рис. 28. Гликозил-фосфатидил-инозитол (ГФИ)

Видоспецифичность ГФИ обеспечивается количеством остатков маннозы, боковыми радикалами, липидной составляющей (ненасыщенные и насыщенные жирные кислоты).

Для примера (рис. 29) приведем схему строения внешней оболочки *T. cruzi* (трипомастиготы). Поверхность клетки покрыта муцинами, закрепленными в мембране посредством ГФИ; кроме того присутствует большое количество ГФИЛ, липидный компонент которого распознается ТПР2 или ТПР4 в комплексе с CD14. Аналогично, сами якорные ГФИ или их соединения с белками и, особенно, с липидами, распознаются как маркер присутствия других патогенных простейших основных групп.

Помимо сигнальных рецепторов, ГФИ также распознаются некоторыми эффекторными рецепторами:

- фосфатазами и липазами клеточной поверхности — расщепляют ГИФ на компоненты, лишённые сигнальной активности, что весьма важно для регулирования активации иммунной системы и ассоциированной токсичности, например, при малярии;

- лектиновыми рецепторами с опсонизирующими, фагоцитарными и лизирующими функциями;

- CD1d, Va14/Vb8ТКР — ГФИ-специфичные рецепторы на ЕКТ-клетках, которые играют важную роль в быстрой организации «правильного» микроокружения путем секреции цитокинов Th1-спектра (в данном случае).

**Геномная ДНК простейших**, содержащая неметилированные CpG-мотивы, распознается ТПР9 внутриклеточно (в эндосомах). Следует учитывать, что ДНК некоторых простейших, например возбудителя малярии, характеризуется низким содержанием CpG и не активирует клетки иммунной системы.

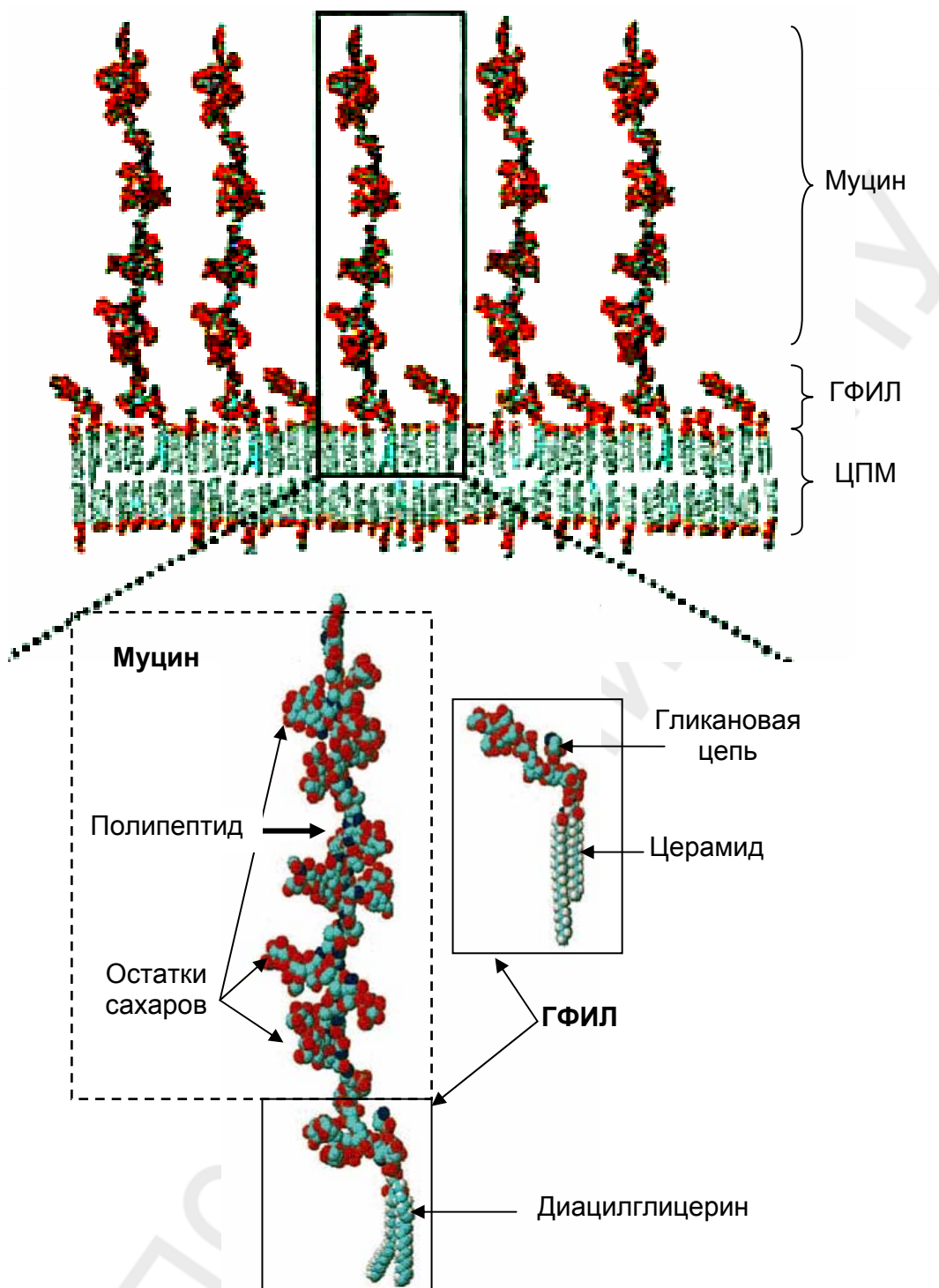


Рис. 29. Схема строения внешней оболочки *T. cruzi* (трипомастиготы)

**Гемозоин** — продукт ферментации гемоглобина возбудителем малярии (стадия трофозойта), который накапливается внутри эритроцита в виде кристаллов коричневого цвета (рис. 30). При фагоцитозе зараженных или разрушенных эритроцитов он попадает в эндосомы, где распознается ТПР9.



**Профилин** — актинсвязывающий белок эукариот, регулирующий полимеризацию актина, присутствует у всех представителей Aricomplexa и распознается TPR11 (у человека не функционирует).

**PfEMP1** — название вариантного поверхностного белка эритроцитов, продуцируемого возбудителями малярии, который позволяет инфицированным эритроцитам задерживаться на эндотелии сосудов и избегать разрушения в селезенке. PfEMP распознается CD36, CD31, ICAM, VCAM, E-селектином, тромбоспондином, гиалуроновой кислотой, хондроитинсульфатом А и др. молекулами. Эти рецепторные взаимодействия важны для фагоцитоза и инициации иммунного ответа.

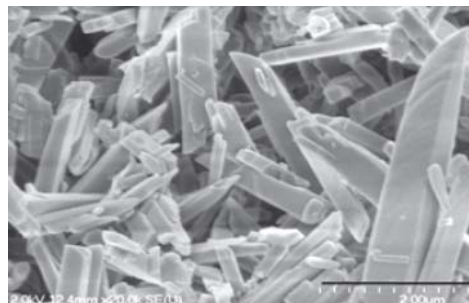


Рис. 30. Электронная фотография гемозина

**Фосфосерин** — распознается скавенджер-рецепторами (CD36) для утилизации апоптических клеток. Используется паразитами для проникновения в клетки ретикуло-эндотелиальной системы путем «невоспалительного» фагоцитоза (т. е. без индукции приобретенного иммунного ответа).

**Пирофосфаты клеточной поверхности** — распознаются рецепторами гамма-дельта Т-клеток (особенно актуально для слизистых оболочек).

**Неустановленные сахара клеточной поверхности (манноза)** — распознаются маннозным рецептором (MR), факторами системы комплемента, рецепторами ЕК, скавенджер-рецепторами и др.

Распознавание соответствующих лигандов сигнальными рецепторами приводит к активации дендритных клеток и макрофагов, синтезу цитокинов и развитию адаптивного иммунного ответа (рис. 31). Необходимо отметить, что ограничение инвазии ассоциируется с ответом по Th1-типу, т. е. с развитием сильного иммунного воспаления, образованием цитотоксических Т-лимфоцитов, цитотоксических антител и эффекторов ГЗТ. Вместе с этим активация макрофагов ведет к резкому повышению цитотоксического потенциала и генерации противомикробных веществ, способствующих немедленному уничтожению паразитов.

Следует отметить, что наряду с развитием иммунного ответа Th1-типа, происходят синтез и секреция противовоспалительных цитокинов (ИЛ10, ТФР-бета), активация и пролиферация Т-регуляторных клеток, которые ограничивают интенсивность иммунного воспаления и играют важную роль в организации персистенции и установлении равновесия между иммунным ответом и инвазией паразита. Сохранение возбудителя в организме объясняется высокой степенью адаптации, устойчивостью его к основным эффекторным механизмам системы естественного имму-

нитета (комплемент, фагоцитоз, антитела), манипулированием адаптивным иммунным ответом (иммунологическое отклонение, иммуносупрессия). Тем не менее иммунная система способна ограничить степень инвазии, на что указывает значительно более тяжелые формы заболеваний у животных, нокаутированных по *Mu88*, а также у людей с иммунодефицитным состоянием (дефекты экспрессии МР, синтез NO, цитокинов: ИЛ12, ФНОα).

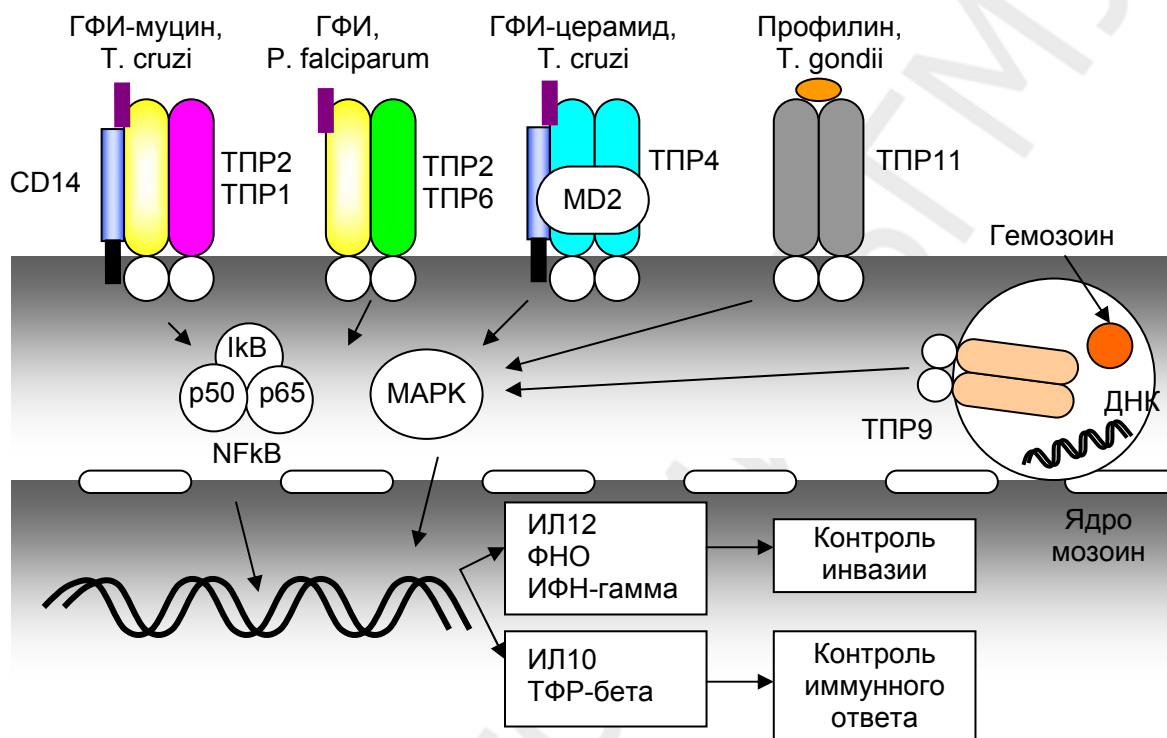


Рис. 31. Схема иммунного ответа при распознавании лигандов простейших сигнальными рецепторами

В заключение следует указать некоторые примеры практического применения знаний о закономерностях распознавания простейших иммунной системой:

1. Приготовление вакцин с молекулами ПАМС простейших (возбудителей малярии, трипаносомозов, лейшманиоза, токсоплазмоза): моно-фосфорил-липид А или CpG ДНК или флагеллин + антигены простейших.
2. Терапия кризов при малярии, болезни Чагаса: антитела к ГИФ, блокирующие антитела к ТПР2, 4.

### РАСПОЗНАВАНИЕ ГЕЛЬМИНТОВ

В составе гельминтов можно выделить несколько классов веществ (рис. 32), обладающих свойствами патоген-ассоциированных молекулярных структур.

**Хитин** является одним из наиболее распространенных естественных полимеров на Земле: он обнаружен у грибов, простейших, гельминтов,

насекомых и др. У гельминтов, например, хитин выполняет структурную функцию (форма, оболочка яиц и др.), что делает его весьма привлекательным объектом для распознавания иммунной системой (рис. 33).

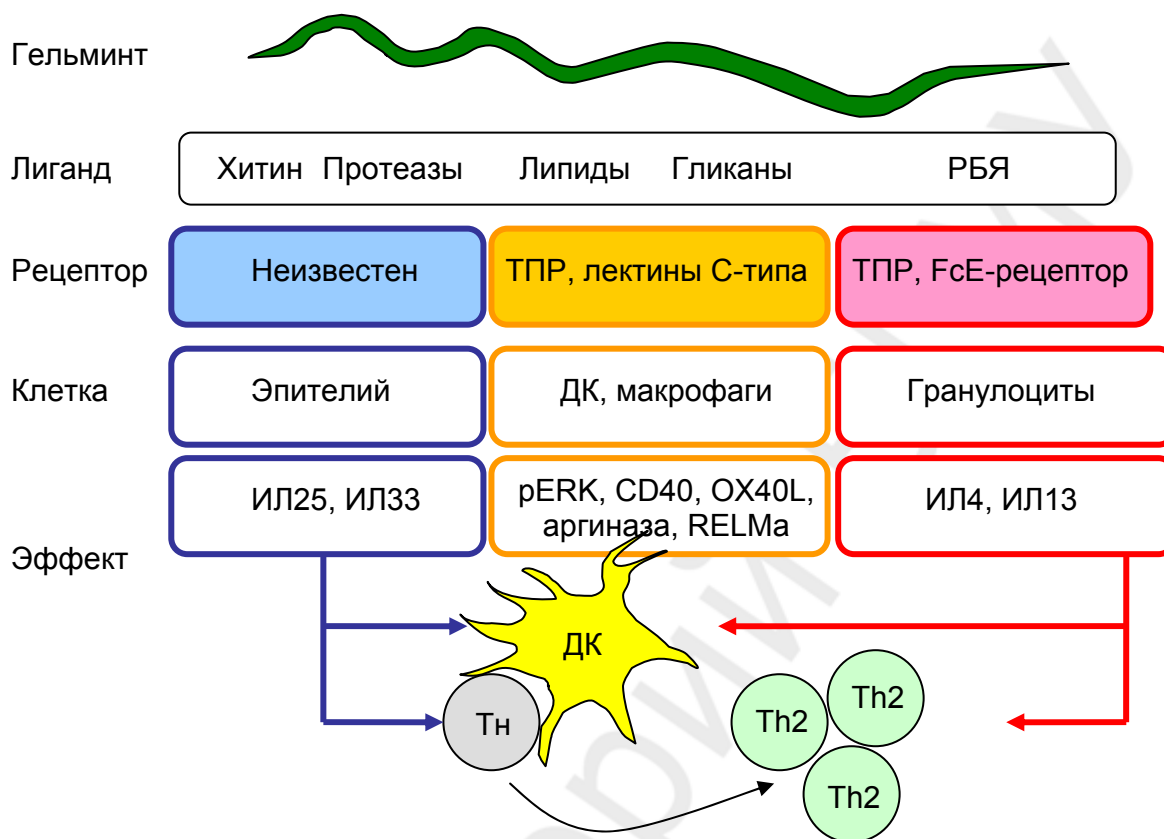


Рис. 32. Классы веществ, обладающих свойствами ПАМС, в составе гельминтов

Хитинраспознающие системы хорошо известны у растений, однако только недавно соответствующие аналоги были обнаружены у животных и человека. Хитиназы и FIZZ-белки (found in inflammatory zone) образуют семейство ChaFFs, включающее недавно открытые белки, активно продуцируемые в процессе Th2-иммунного воспаления, участвующие в патогенезе аллергических заболеваний и в иммунном ответе против гельминтов. Функционально эти молекулы принадлежат к ферментам (собственно, хитиназы), резистин-подобным молекулам (RELMs), лектинам.

AMCase (acidic mammalian chitinase) — полноценная хитиназа, которая экспрессируется в ответ на выделение ИЛ13. Продуцируется альтернативно активированными макрофагами. Ассоциирована с выделением хемокинов для эозинофилов и мононуклеаров.

Ym1 — лектин, специфически связывающийся с хитином. Его количество очень сильно возрастает при глистных инвазиях, продукция зависит от ИЛ4. Не обладает хитиназной активностью. Является аттрактантом для эозинофилов.

RELMa секретируется макрофагами в составе различных тканей (легкие, кишечник, жировая ткань) в ответ на глистные инвазии. Обладает широким спектром активности, включая иммунорегуляцию и ремоделирование тканей (индукция синтеза коллагена).

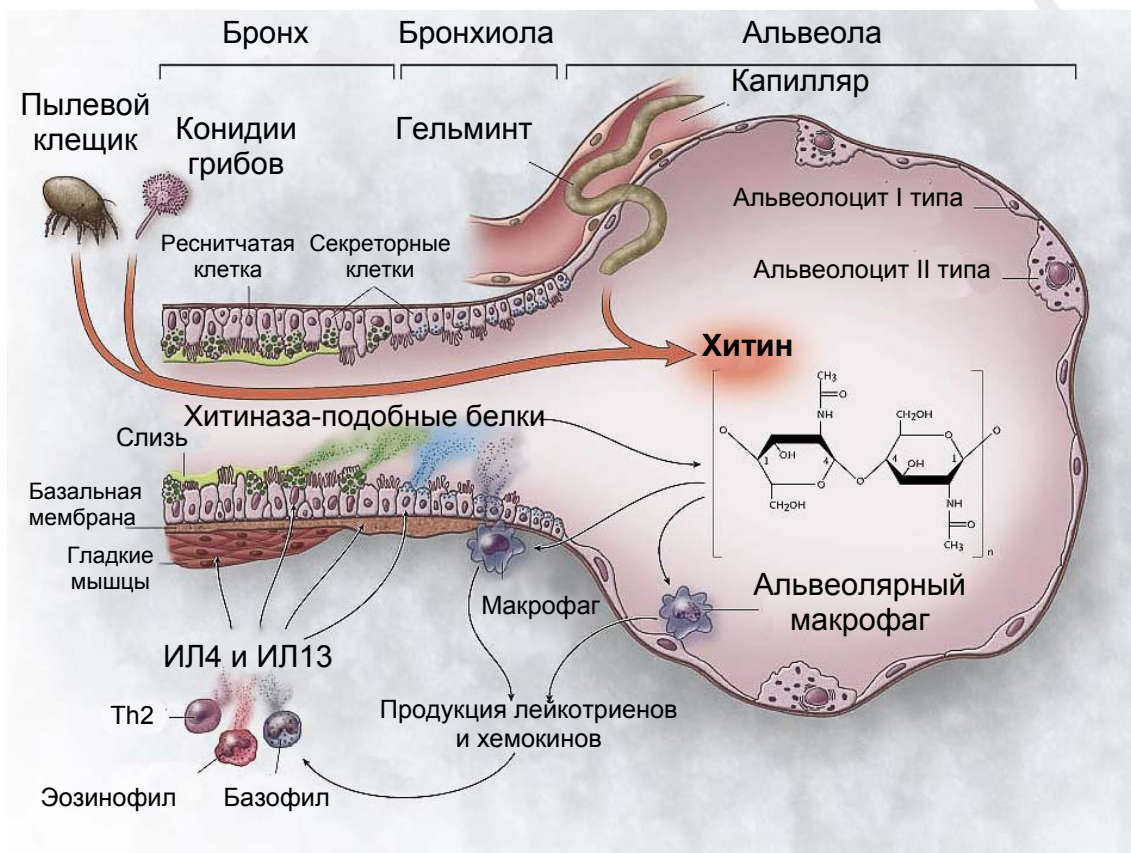


Рис. 33. Хитин как объект для распознавания иммунной системой (В. F. Dickey, 2007)

RELMb секретируется клетками ЖКТ в ответ на глистные инвазии (в ответ на выделение ИЛ13). Непосредственно связывается с хитином или другими структурами на поверхности гельминтов, нарушая их таксис (проникновение в ткани).

RELMg — специфичный к хитину лектин, с неизвестными функциями.

Помимо растворимых молекул, хитин-распознающие домены обнаружены и на клеточных трансмембранных молекулах. Однако, несмотря на неоспоримые свидетельства активации хитином и хитино-подобными веществами макрофагов и клеток АПК, хитин-специфичные сигнальные и эффекторные рецепторы клеток иммунной системы пока не изучены.

**Липиды и гликаны.** Поверхность гельминтов, а также растворимые продукты их личиночных стадий (яиц) богаты гликолипидными и гликопротеиновыми конъюгатами. Подобные вещества обычно распознаются ТПР на клетках-АПК с генерацией иммунного ответа соответствующего типа для адекватной реакции на инвазию. Так, молекулы шистосом, со-

державшие лакто-N-фукопентаозу III (LNFPIII), распознаются ТПП2, а продукт нематод ES-62 (фосфорил-холин богатый гликопротеид) взаимодействует с ТПП4. В целом, ПАМС гельминтов, взаимодействующие с ТПП охарактеризованы слабо.

Распознавание углеводных доменов молекул поверхности паразитов осуществляется семейством рецепторов лектиновой природы, которые широко экспрессированы на макрофагах, ДК и эпителиальных клетках, а также существуют в растворимых формах (коллектины, МР, DC-SIGN). Эти молекулы выполняют сигнальную и эффекторную функцию. Например, ДК через DC-SIGN распознают гликаны шистосом и токсокар и стимулируют развитие ответа Th2-типа. Некоторые молекулы гельминтов (IPSE/a-1 — растворимый гликопротеин шистосом) способны связываться с IgE (независимо от их специфичности) и стимулировать выделение цитокинов Th2-профиля из базофилов и тучных клеток.

Примером эффекторной активности лектинов могут служить кальций-зависимый галактозасвязывающий белок (интеллектин), который продуцируется клетками кишечного эпителия в ответ на глистные инвазии и блокирует прикрепление глистов к ткани хозяина или лектиновый путь активации системы комплемента: в настоящее время доказана способность лектинового пути распознавать и атаковать *S. Mansoni*, *T. Spiralis* и др. паразитов.

**Протеазы.** Жизненный цикл многих гельминтов предполагает интенсивную миграцию через ткани хозяина (кожа, легкие, кишечник). Это возможно только при выделении гельминтом высокоактивных протеаз, позволяющих разрушать компоненты соединительной ткани (фибронектин, коллаген, ламинин и др.). В организме присутствуют специфические рецепторы, способные обнаруживать протеолитическую активность, — это протеазаактивируемые рецепторы (PAR). PAR широко экспрессированы на эпителии кишечника, а также клетках ретикуло-эндотелиальной ткани, базофилах и тучных клетках и вовлечены в регулирование воспаления, барьерной функции эпителия и рециркуляции клеток. При глистных инвазиях кишечника, в частности, эпителиальные клетки секретируют тимический стромальный лимфопоэтин (TSLP), который способствует формированию Th2-лимфоцитов и иммунного ответа соответствующего типа. Стимуляция PAR в условиях эксперимента способствовала повышенному образованию ИЛ4 и ИЛ13 в тканях кишечника и развитию иммунного ответа Th2-типа.

Распознавание ПАМС гельминтов клеточными и гуморальными элементами системы естественного иммунитета (рис. 34) приводит к **альтернативной** активации макрофагов (характеризуется экспрессией аргиназы-I, рецептора маннозы (CD206 и ИЛ4Ра) и клеток АПК, выработкой цитокинов Th2-профиля (ИЛ4,13, 25, 33 и др.) и формированием иммун-



ного ответа 2-го типа). Именно такой тип иммунного ответа связан с образованием иммунитета к гельминтам в большинстве случаев (не во всех).

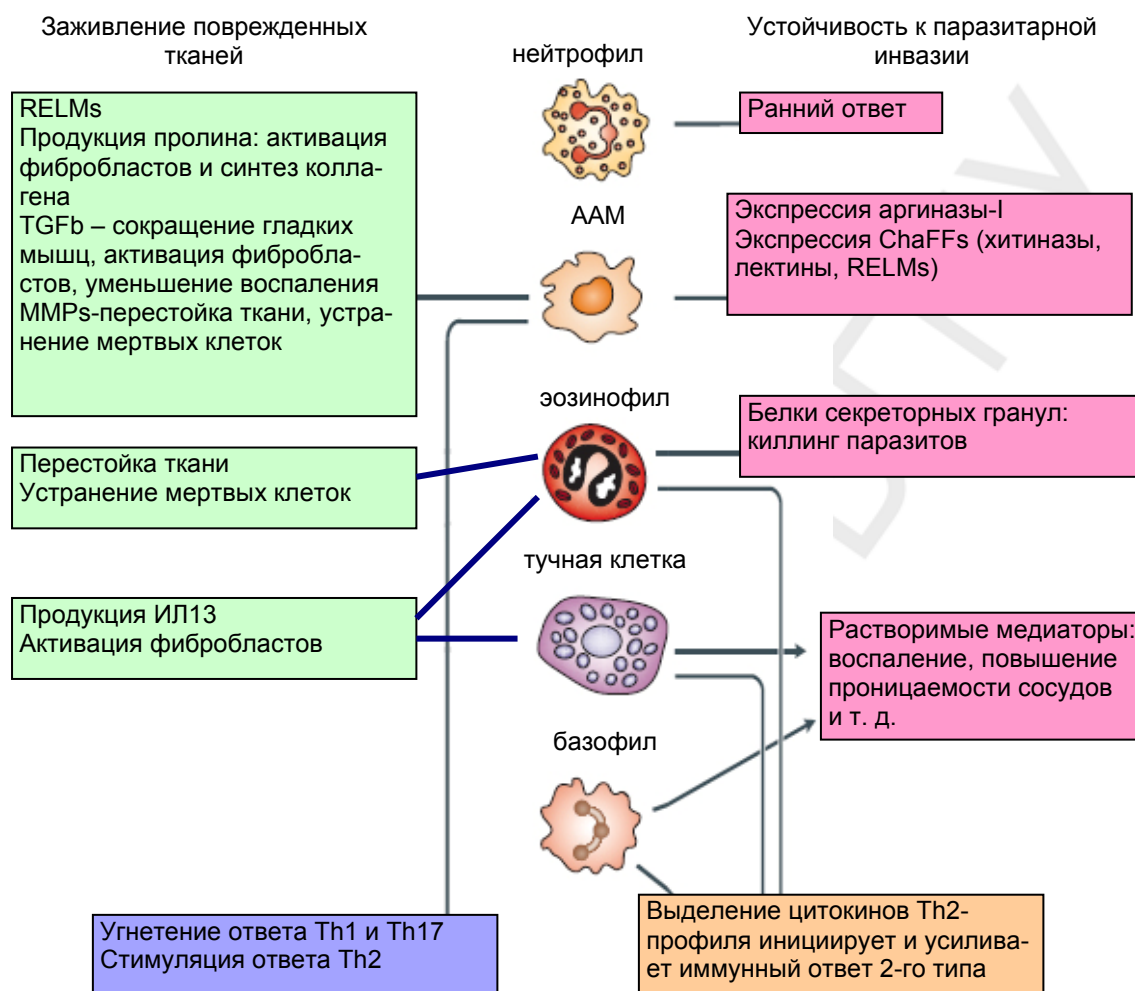


Рис. 34. Схема иммунного ответа при распознавании ПАМС гельминтов

Реакции, развивающиеся в ходе иммунного ответа на паразитарную инвазию, можно условно разделить на собственно иммунные (формирование иммунитета), репаративные (восстановление тканей после повреждения паразитами и иммунной системой) и повреждающие. К последним необходимо отнести и последствия развития иммунного ответа 2-го типа — выработку значительных количеств IgE (в т. ч. на антигены, не имеющие отношения к паразитам), которые, помимо противопаразитарной активности, играют важную роль в патогенезе аллергических заболеваний.

## Литература

1. *Almeida, I. C.* Proinflammatory activity of glycosylphosphatidylinositol anchors derived from *Trypanosoma cruzi* : structural and functional analyses / I. C. Almeida, R. T. Gazzinelli // *Journal of Leukocyte Biology*. 2001. Vol. 70. P. 467–477.
2. *Brown, G. D.* Immunology of fungal infections / G. D. Brown, M. G. Nete. Tokio, Berlin, Heidelberg, New-York : Springer. 2007. P. 492.
3. *Dickey, B. F.* Exoskeletons and Exhalation / B. F. Dickey // *The New England Journal of Medicine*. 2007. Vol. 20(15). № 357. P. 2082–2084.
4. *Ernst, J. D.* Macrophage Receptors for *Mycobacterium tuberculosis* / J. D. Ernst // *Infect. Immun.* 1998. Vol. 66. № 4. P. 1277–1281.
5. *Fournier, B.* Recognition of *Staphylococcus aureus* by the Innate Immune System / B. Fournier, D. J. Philpott // *Clinical Microbiology Reviews*. 2005. Vol. 18. № 3. P. 521–540.
6. *How the Immune System Recognizes Self and Nonself. Immunoreceptors and Their Signaling* / G. Harris [et al.]. Dordresht, the Netherlands : Springer. 2008. P. 251.
7. *Perrigoue, J. G.* On the hunt for helminths: Innate immune cells in the recognition and response to helminth parasites / J. G. Perrigoue, F. Marshall, D. Artis // *Cell Microbiol.* 2008. Vol. 9. № 10(9). P. 1757–1764.
8. *Pichlmair, A.* Innate recognition of viruses / A. Pichlmair, C. Reise Sousa // *Immunity*. 2007. P. 370–83.
9. *Protective immune mechanisms in helminth infection* / R. M. Anthony [et al.] // *Nature reviews. Immunology*. 2007. Vol. 7. № 12. P. 975–87.
10. *Role of Toll-like receptors in health and diseases of gastrointestinal tract* // *World J. Gastroenterol.* 2006. Vol. 12(14). P. 2149–2160.



## Оглавление

Список сокращений и терминов .....	3
Введение .....	4
Распознавание микробов гуморальными факторами врожденного иммунитета .....	5
Факторы плазмы крови .....	5
Локальные факторы (факторы гранул фагоцитов, вещества, секретлируемые в месте воспаления, или в отдельных компартментах) .....	9
Распознавание микроорганизмов клетками системы врожденного иммунитета .....	12
Функции фагоцитов и распознавание .....	12
Микроорганизмы как объект системы врожденного иммунитета .....	12
Важнейшие РРС, присутствующие на фагоцитах .....	13
Рецепторы с выраженной сигнальной функцией .....	13
Последствия активации сигнальных рецепторов .....	17
Рецепторы с преимущественно фагоцитарной функцией .....	19
Рецепторы для распознавания микроорганизмов с участием механизмов системы приобретенного иммунитета .....	21
Распознавание патогенов основных групп .....	22
Распознавание стафилококков (грамположительных микробов) .....	22
Распознавание грамотрицательных бактерий .....	25
Распознавание микобактерий туберкулеза .....	28
Распознавание вирусов .....	31
Распознавание грибов .....	34
Распознавание простейших .....	37
Распознавание гельминтов .....	42
Литература .....	47