

УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА
Для студентов медицинских институтов

Р.В.Петров

ИММУНОЛОГИЯ

Допущено Главным управлением учебных заведений Министерства здравоохранения СССР в качестве учебника для студентов медицинских институтов



Москва . «Медицина» . 1983

ББК 52.64

ПЗО

УДК 612.017.1(075.8)

ПЕТРОВ Р. В. **Иммунология.** — М.: Медицина, 1983, 368 с., ил.

Автор — акад. АМН СССР, проф., зав. кафедрой иммунологии II МОЛГМИ им. Н. И. Пирогова.

Учебник освещает общую и частную, в том числе клиническую иммунологию. Рассматривается история иммунологии, учение об антигенах, антигелах, гиперчувствительности замедленного и немедленного типов, Т- и В-системы иммунитета, генетика иммунного ответа, иммунологическая толерантность, трансплантационный иммунитет, аутоиммунные болезни и аллергии, иммунология рака и старения, иммунодиагностика и иммунотерапия, теории иммунитета. В учебник включены достижения последних лет — получение и использование гибридом, генетические, клеточные и молекулярные механизмы иммунологического распознавания, теория идиотип-антиидиотипической сети и др.

Учебник обосновывает положение о том, что от успехов иммунологии зависит решение ряда крупнейших народнохозяйственных задач. К ним относятся предупреждение еще не побежденных инфекций, лечение ревматических и других аутоиммунных заболеваний, аллергий и опухолей, снижение акушерской патологии, пересадка органов и др.

Учебник написан в соответствии с программой, утвержденной Министерством здравоохранения СССР, и предназначен для студентов медицинских институтов.

В учебнике 110 рис., 48 табл.

Рецензенты: Новосибирский медицинский институт. Зав. кафедрой патологической физиологии проф. *Г. С. Якобсон*. Зав. кафедрой микробиологии проф. *В. Е. Яворская*. Зав. кафедрой госпитальной терапии проф. *М. И. Лосева*. Ташкентский медицинский институт. Зав. кафедрой микробиологии д. м. н. *Ф. И. Гариб*.

П 410600000—257 12—82
039(01)—83

© Издательство «Медицина», Москва, 1982.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Преподавание иммунологии как самостоятельного курса было начато в нашей стране в 1965 г. на медико-биологическом факультете Новосибирского Государственного университета. Прочитанные в университете лекции были опубликованы¹ и явились основой для создания программы сначала теоретического курса (в 1970 г.), а затем и практикума (начиная с 1971 г.) по иммунологии во II Московском ордена Ленина медицинском институте им. Н. И. Пирогова. Этот курс возник в рамках кафедры экспериментальной и клинической хирургии (заведующий — академик АМН СССР Ю. М. Лопухин) медико-биологического факультета. В 1974 г. была организована первая самостоятельная кафедра иммунологии, возглавляемая Р. В. Петровым. Была разработана и утверждена Министерством здравоохранения СССР программа преподавания иммунологии. В настоящее время преподавание иммунологии расширилось во всех медицинских и биологических вузах. Самостоятельные курсы или кафедры иммунологии организованы в Московском Государственном университете им. М. В. Ломоносова, в Томском медицинском институте, в Ташкентском медицинском институте и др. Возникла необходимость подготовить учебник иммунологии в соответствии с программой преподавания этого предмета.

Возникший интерес к иммунологии и расширение преподавания этой дисциплины наблюдается во всех странах. Это связано с огромными теоретическими успехами данной отрасли знаний, обеспечившими переход иммунологии в фундаментальную научную дисциплину, и ее неоспоримым практическим вкладом. В главе I приведены крупнейшие внедрения иммунологии, измеряемые сотнями миллионов спасенных человеческих жизней.

В постановлении XXVI съезда КПСС об основных направлениях экономического и социального развития СССР на 1981—1985 гг. и на период до 1990 г., определившем важнейшие проблемы, на которых следует сосредоточить усилия, записано: «... познание механизма физиологических, биохимических, генетических и иммунологических процессов жизнедеятельности человека...». От дальнейших успехов имму-

¹ Петров Р. В. Введение в неинфекционную иммунологию.— Новосибирск: Наука, 1968.

нологии зависит решение многих народно-хозяйственных задач. Из них могут быть выделены следующие.

1. Предупреждение еще не побежденных инфекций человека и сельскохозяйственных животных, в том числе гриппа, паразитарных болезней, гонореи, сифилиса, африканской лихорадки свиней и др. (имеется в виду изыскание новых принципов создания вакцин и синтетических вакцинных препаратов).

2. Изыскание путей стимуляции иммунитета против «искусственных» микроорганизмов, сконструированных методами генной инженерии, и против искусственных и природных токсинов и аллергенов. Эта новая задача связана с бурным развитием и высокой перспективностью генной инженерии, а также с резким возрастанием в промышленности и окружающей среде количества новых химических продуктов и аллергенов.

3. Коррекция вторичных иммунодефицитов, обуславливающих острые и хронические инфекционные осложнения в хирургических, акушерских, педиатрических и других клиниках («стафилококковая чума»), а также хронические пневмонии, маститы, гаймориты и др. за счет условно-патогенных микроорганизмов. Изыскание стимуляторов конкретных звеньев иммунной системы или способов их компенсации составляет основу этой задачи.

4. Предупреждение и лечение ревматических и других аутоиммунных заболеваний. Использование иммунодепрессантов уже сейчас дает определенные результаты. Однако современная иммунодепрессивная терапия располагает только средствами тотальной депрессии всех популяций иммунокомпетентных клеток. Открытие функционально альтернативных субпопуляций лимфоцитов, в частности Т-помощников и Т-супрессоров, по-новому освещает пути развития принципов иммунотерапии. Уже начат поиск средств избирательного воздействия на отдельные лимфоидные субпопуляции для избирательного подавления клеток-эффекторов или клеток-помощников и избирательной стимуляции клеток-супрессоров, дефектность которых и приводит к аутоиммунным расстройствам.

5. Иммунопрофилактика, иммунодиагностика и иммунотерапия опухолей и в первую очередь лимфопролиферативных процессов, лимфом и др. Прогресс иммунотерапии опухолей связан также с изысканием средств и способов избирательной иммуносупрессии — иммуностимуляции. Задача в этом случае обратна предыдущей — необходима стимуляция эффекторов и помощников при торможении или блокаде клеток-супрессоров.

6. Предупреждение и лечение аллергий. Одним из перспективных направлений в решении этой задачи является изыска-

ние способов, обеспечивающих переключение синтеза антител IgE на синтез антител IgG.

7. Снижение акушерской иммунопатологии и детской смертности, обусловленной нарушением иммунологических взаимоотношений мать — плод и различными формами врожденной иммунологической недостаточности, включая первичные иммунодефициты. Решение проблемы первичных иммунодефицитов одновременно явится решением проблемы многих форм иммунодефицитов. Несомненно, тот, кто научится лечить первичные иммунодефициты, научится лечить рак.

8. Разработка приемлемых для клиники методов отмены иммунной защиты и создания специфической толерантности с целью успешной трансплантации костного мозга, а также других тканей и органов.

9. Компенсация повреждающих иммунитет внешних воздействий: цитотоксических ядов, ионизирующих излучений, магнитных полей и других видов энергии, а также ряда физических и химических воздействий, связанных с профессиональной вредностью.

10. Разработка новых и совершенствование имеющихся сверхчувствительных и высокоспецифичных иммунологических методов выявления микроколичеств органических веществ, а также наработка широкого спектра диагностических и лечебных препаратов иммунной природы. Эта задача важна для большого ряда медицинских, биологических и химических отраслей; она получила название иммунной биотехнологии.

Все это еще раз свидетельствует о необходимости систематического изучения иммунологии как важного предмета в медицинских и биологических вузах.

В заключение считаю своим приятным долгом подчеркнуть, что со времен великого И. И. Мечникова, создавшего первую теорию иммунитета — фагоцитарную теорию, и обосновавшего наличие у высших организмов специализированной иммунной системы, русские и советские ученые внесли огромный вклад в развитие иммунологии. Среди них Ф. Я. Чистович, Н. Ф. Гамалея, А. А. Богомолец, П. Ф. Здродовский, В. И. Иоффе, Л. А. Зильбер, А. Д. Адо, П. Н. Косяков, А. А. Смородинцев, и др.

Пользуясь случаем, выражаю свою признательность В. М. Манько и С. В. Решетовой за помощь, оказанную при подготовке рукописи к печати. Все пожелания и критические замечания будут приняты нами с благодарностью.

Академик АМН СССР Р. В. ПЕТРОВ

Глава I

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИММУНОЛОГИИ. КРУПНЕЙШИЕ ВНЕДРЕНИЯ. ИСТОРИЯ

Иммунология — наука об иммунитете — изучает генетические, молекулярные и клеточные механизмы реагирования организма на чужеродные субстанции, именуемые антигенами. Это могут быть микроорганизмы, чужеродные в генетическом отношении клетки или ткани, продукты жизнедеятельности чужеродных клеток — белки, полисахариды, нуклеопротеиды и др. Антигенные молекулы могут быть синтезированы искусственно. Кроме того, при нарушении механизмов иммунного реагирования возможны реакции против антигенов собственного тела, т. е. против аутоантигенов. Система органов и клеток, осуществляющая реагирование против чужеродных субстанций, получила название иммунной системы организма. Именно она обеспечивает иммунитет — защиту от бактерий, вирусов, паразитов; элиминацию отмирающих и мутационно изменившихся собственных клеток тела; противораковую защиту. Реакции иммунной системы лежат в основе несовместимости и отторжения пересаживаемых органов и тканей. Ее нарушение приводит к развитию аутоиммунных болезней, аллергий, ряду болезней новорожденных, к возникновению рака, преждевременному старению, повышению чувствительности к микроорганизмам, к развитию хронических, не поддающихся антибиотикотерапии инфекционных процессов.

Иммунология выросла в самостоятельную научную отрасль с самостоятельными институтами, журналами, национальными и международными обществами иммунологов. В Международном союзе иммунологических обществ объединено более 14 000 иммунологов 30 стран.

За короткую (менее 100 лет) историю научной иммунологии с ее теоретическими достижениями связаны крупнейшие прикладные достижения. Приведем пять практических внедрений, наиболее значимых для человечества.

1. Решена проблема вакцинации против оспы, бешенства, сибирской язвы, дифтерии, полиомиелита, коклюша, кори, столбняка, газовой гангрены и др., в том числе особо опасных инфекций. Некоторые из них почти полностью ликвидированы. В 1978 г. Всемирная организация здравоохранения официально объявила о ликвидации оспы благодаря

всеобщему оспопрививанию на земном шаре. Оспопрививание прекращено во многих странах, включая СССР.

2. Решена проблема переливания крови путем определения иммунологических групп крови. При этом открытие системы АВ0 изоантигенов дополнилось открытием антигенов MN, Rh, Pp, Kk и др. Они имеют значение не только при переливании крови, но и в медицинской генетике, акушерстве, судебной медицине и др.

3. Решена проблема резус-гемолитической болезни новорожденных, опасность которой угрожает новорожденным у 15% женщин (таков процент резус-отрицательных лиц среди жителей Европы и СССР). Единственный метод диагностики этой патологии иммунологический. Единственный по настоящему эффективный метод предупреждения гемолитической болезни новорожденных тоже иммунологический. Конфликт развивается при повторной беременности вследствие сенсibilизации плодным резус-антигеном при его массивном попадании в кровь матери во время родов. Профилактика сенсibilизации состоит в том, что в течение первых 2 сут после родов матери вводят 150—200 мкг антирезусного иммуноглобулина. Эффективность метода составляет 93—97%. Гемолитическую болезнь новорожденных называют болезнью, искорененной иммунологией.

4. Открытие иммунологической толерантности и лекарственной иммунодепрессии сделало реальностью пересадку почек и некоторых других органов. В мире пересажено 40 000 почек. В течение 2 лет приживает и функционирует 50% пересаженных почек. В сочетании с точным иммунологическим подбором доноров этот процент достигает 80 и более.

5. Диагностика многих инфекционных и ряда неинфекционных заболеваний (врожденные и приобретенные иммунодефициты, дисгаммаглобулинемии и гаммаглобулинопатии, аллергии, системная красная волчанка, ревматоидный артрит и другие аутоиммунные поражения, резус-несовместимость матери и плода, рак печени, хорионэпителиома, трофобластомы, миеломатозы, тип лейкозов и лимфом, подбор доноров для переливания крови или пересадки органов и др.) стали возможны благодаря разработке иммунологических тестов.

В Уставе Международного союза иммунологических обществ записано: «Иммунология всегда была областью, в которой выдающиеся фундаментальные работы и революционизирующие практические достижения были тесно связаны как во времени, так и в сознании ведущих ученых. Можно безошибочно предсказать, что крупнейшие достижения могут быть вскоре получены в ликвидации аллергических и ревматических болезней и, по-видимому, даже в лечении рака».

Центральная задача иммунитета

Современную иммунологию нередко называют новой не только потому, что у нее появились новые цели, но и потому, что произошло переосмысление предмета в целом. Знания в области иммунологии за последние два десятилетия расширились и переросли рамки старой классической иммунологии, которая была определена ее основоположниками Л. Пастером и И. И. Мечниковым как наука о невосприимчивости организма к инфекционным болезням. Сейчас трактовка иммунитета как части учения об инфекциях не только сужение границ предмета, но и искажение его сущности.

Начало новому осмыслению предмета положил в 1945 г. английский исследователь П. Медавар, в настоящее время лауреат Нобелевской премии. Он доказал, что иммунитет защищает организм не только от микробов, но и от клеток тканей любого другого генетически чужеродного организма. В течение ближайших 15 лет благодаря использованию инбредных (в том числе конгенных) линий мышей стало ясно, что чужеродным для иммунной системы является не только ткань какого-то генетически отдаленного организма, но и орган или клетка организма, генетически весьма близкого. Было доказано, что иммунитет срабатывает на чужие клетки, ткани или органы в том случае, если они отличаются всего по одному гену гистосовместимости, т. е. по минимальному признаку. Это поставило перед исследователями вопрос: для чего нужен такой строгий контроль, который умеет отличить чужеродную клетку по минимальному генетическому признаку — одному гену. Собственно этот вопрос, возникший в науке в середине 60-х годов XX века и наиболее четко сформулированный Ф. Бернетом (1964), явился кульминационным для переосмысления всей иммунологии.

Тело большинства млекопитающих состоит из 10^{12} — 10^{13} генотипически идентичных друг другу клеток. Естественно, что каждая из них подвержена мутационному риску. Частота мутаций в природе такова, что при клеточном делении примерно одна из миллиона клеток мутирует, становится генетически отличной от исходной. Следовательно, в организме человека в каждый данный момент должно быть около 10 млн. изменившихся клеток.

Рассмотрим последствия мутационных изменений отдельных клеток в больших клеточных популяциях, имея в виду общеизвестное положение о том, что подавляющее большинство мутаций рецессивно, а мутантные клетки менее жизнеспособны или дефектны в отношении того или иного синтеза. Если из миллиона свободноживущих одноклеточных организмов мутирует одна клетка, то вся популяция в целом не заметит этого события и не пострадает. Если представить

себе совокупность многоклеточных организмов, каждый из которых состоит из 1000 клеток, то мутационный риск для вида в целом также не страшен. При данной частоте мутаций (10^{-6}) вероятность изменения хотя бы одной клетки в отдельном тысячклеточном организме равна 10^{-3} . Иначе говоря, только один из тысячи организмов будет иметь генетически изменившуюся «порочную» клетку. Даже если ее ненормальная работа приведет к заболеванию или к гибели всего организма, остальные 999 особей данной популяции многоклеточных будут жить нормально. Следовательно, на данном уровне организации многоклеточных существ естественная частота мутирования соматических клеток опасности для вида в целом не представляет. Если же представить себе многоклеточные существа, состоящие из 10 млн. делящихся клеток, то в теле каждого организма должно появиться несколько мутантных клеток. Их неправильная работа или дефектное функционирование возникших из них клонов мутантных клеток могут сделать маложизнеспособной каждую особь всей совокупности многоклеточных данного уровня организации. Фактически многоклеточные существа, состоящие более чем из 10 млн. делящихся клеток, могли возникнуть и эволюционировать при одном обязательном условии — наличии специальной системы распознавания и элиминации соматических мутаций.

После того как было обнаружено, что иммунная система распознает чужеродность при отличии клетки по одному гену, стало возможным предположить, что такую функцию надзора за генетическим постоянством совокупности соматических клеток несет иммунная система. Иммунологический надзор за внутренним постоянством многоклеточных популяций организма — это и есть главная функция иммунитета. Распознавание и уничтожение проникших извне генетических чужеродных клеток, включая микроорганизмы, являются следствием данной основной функции. Коль скоро раковые клетки генетически отличаются от нормальных, одна из важнейших целей иммунологического надзора — элиминация раковых клеток.

Приведенный выше формальный расчет необходимости системы надзора у многоклеточных организмов оставался не более чем любопытной спекуляцией до 60-х — начала 70-х годов. В это время накопились две группы фактов, бесспорно доказавших реальность и жизненную необходимость иммунологического надзора.

Первая группа касается наблюдений за больными, которые в течение длительного времени получали иммунодепрессивную терапию. Большинство из них подвергались хронической — многомесячной или многолетней — иммунодепрессии в связи с трансплантацией почек. К декабрю 1973 г. был

накоплен опыт, основывающийся более чем на 12 000 наблюдений. Оказалось, что у людей, находящихся в состоянии подавленной иммунологической реактивности, резко возрастает количество раковых заболеваний. Частота лимфом увеличивается в 35 раз, а частота ретикулоцелочных сарком — в 350 раз по сравнению с людьми, не подвергавшимися иммунодепрессии.

Вторая группа фактов касается наблюдений за детьми с врожденными дефектами иммунной системы. При таких формах иммунодефицитов, когда полностью или почти полностью выключены клеточные реакции иммунитета (синдром Луи-Бар, Ди Джорджи и др.), частота злокачественных опухолей возрастает более чем в 1000 раз.

Таким образом, теперь стало ясно, что главная задача иммунитета — уничтожение клеток, которые генетически отличаются от собственных, будь то клетка чужая или своего тела, но изменившаяся в генетическом отношении.

Иммунитет — способ защиты организма от живых тел и веществ, несущих на себе признаки генетической чужеродности. В понятие живых тел и веществ, несущих на себе признаки работы чужеродного генома, могут быть включены бактерии, вирусы, простейшие, черви, белки, клетки, ткани, измененные аутоантигены, в том числе и раковые. Приведенная формулировка иммунитета находится в полном соответствии с «аксиомой Бернета», постулирующей, что центральным биологическим механизмом иммунитета служит распознавание «своего» и «чужого».

История идей

Определение современного состояния предмета требует освещения его исторического становления. При этом наибольший интерес представляет не последовательность дат и фактов, а смена идей, принципиальные вехи, которые появлялись иногда как будто из малоприметных вначале открытий и фактов, а затем вырастали в мощные ветви науки, называемой иммунологией (рис. 1).

Развитие иммунологии началось в 1881 г., когда Л. Пастер, работая с возбудителем куриной холеры, заразил кур старой культурой этого возбудителя, и они не погибли. После повторного заражения этих же кур высоковирулентной молодой культурой они остались живы. Это был первый опыт, который вскоре привел к постановке блестящих экспериментов с возбудителями сибирской язвы и бешенства. Л. Пастер сформулировал принцип создания вакцин из микробов с ослабленной вирулентностью, разработал способ предохранения от инфекционных заболеваний, способ создания иммунитета.

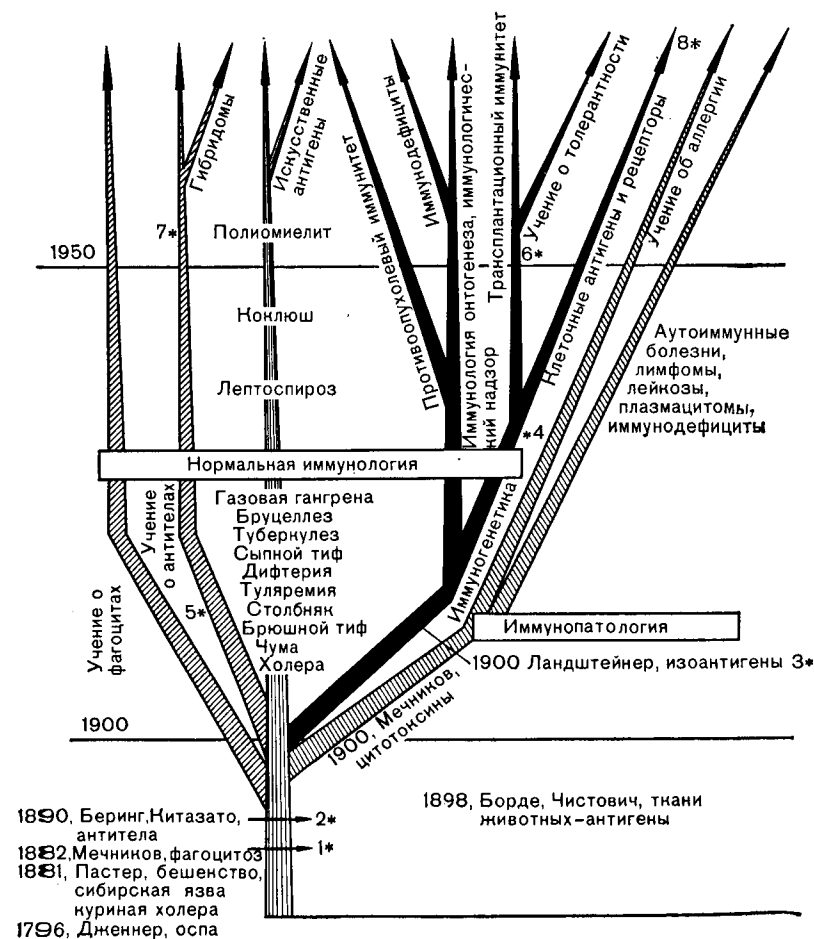


Рис. 1. Схема развития иммунологии.

Звездочками отмечены Нобелевские премии: 1 — за теорию иммунитета (совместно с П. Эрлихом, 1908); 2 — за лечебное применение антитоксических сывороток [Беринг Э., 1902]; 3 — за открытие групп крови и строение антигенов (Ландштейнер К., 1930); 4 — за открытие анафилактики [Рише Ш., 1913]; 5 — за исследования в области иммунологии (комplement) и бактериологии [Борде Ж., 1919]; 6 — за открытие толерантности [Бернет Ф., Медавар П., 1964]; 7 — за расшифровку структуры антител [Эдельман Ж., Портер Р., 1972]; 8 — за открытие структур, кодируемых главным комплексом гистосовместимости [Бенацераф Б., Доссе Ж., Снелл Дж., 1980]; на рисунке указаны даты открытий.

Иногда в качестве «прародителя» иммунологии называют Э. Дженнера, разработавшего в 1796 г. способ предохранения от оспы. Э. Дженнер действительно успешно превратил народное наблюдение в общедоступный метод противооспных прививок. Но ни до, ни после разработки этого метода его смысл не был понят, теория процесса не была осмыслена.

на. Э. Дженнер не сформулировал никаких общих принципов создания иммунитета против любых других инфекций. С оспой научились бороться, но иммунологии не возникло.

Итак, иммунология как наука родилась во времена Л. Пастера. Ее можно изобразить долго продолжающейся линией, включающей нерушимый пастеровский принцип создания ослабленных вакцин для иммунизации. Начиная с 60-х годов XX века к пастеровскому принципу добавился новый — создание искусственных антигенов. При этом была сформулирована задача синтеза таких несущих структур, которые бы обеспечивали не просто повышение иммуногенности антигенных детерминант, но и фенотипическую коррекцию иммунного ответа, т. е. превращение низкореагирующих особей в высокореагирующие (и наоборот). На этой линии мы будем отмечать все новые побежденные инфекции и создание вакцин к ним. Именно на этом исходном стволе иммунологии зародилось несколько принципиальных положений. Мы должны отметить несколько точек и дат, которые будут отправными для развития всех ветвей современной иммунологии. К 1890 г. благодаря работам Э. Беринга и других исследователей стало известно, что в ответ на внедрение микроорганизмов или их токсинов в организм вырабатываются защитные вещества, получившие название антител. Возникла гуморальная теория иммунитета, основоположником которой был П. Эрлих. В те же годы И. И. Мечников обнаружил феномен фагоцитоза и создал клеточную (фагоцитарную) теорию.

В 1899 г. Ф. Я. Чистович установил, что не только микроорганизмы стимулируют выработку антител. Если кроликам ввести эритроциты барана или чужеродную сыворотку, то против них тоже вырабатываются антитела. Этот факт в то время, возможно, не был столь важным. Сейчас же мы знаем, что именно он послужил отправной точкой к изучению тканевых антигенов животных разных видов, т. е. к возникновению неинфекционной иммунологии. Вещества, стимулирующие выработку антител, получили название антигенов. В 1900 г. К. Ландштейнер обнаружил группы крови человека, впоследствии названные группами 0, А, В, АВ. Итак, возникла новая ветвь иммунологии, изучающая иммунологические различия организмов в пределах одного вида, — ученые о тканевых изоантигенах.

После этих исследований стало ясно, что при помощи любых тканей можно выработать антитела, действующие токсически на соответствующие органы. Так, иммунизируя тканью почек, можно получить антитела, которые будут повреждать почки. И. И. Мечников и его последователи расширили изучение цитотоксических сывороток — антипочечных, антимиелоцитарных и др. Оказалось, что цитотоксические

антитела оказывают выраженное действие на ткань не только *in vitro*, но также и *in vivo*. В определенных условиях такие антитела появляются в результате аутоиммунных расстройств, играя определенную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Из этого направления родилась целая область патологии — иммунопатология, изучающая многочисленные заболевания, в генезе которых лежат расстройства иммунологических механизмов. Иммунизация животных тканевыми и сывороточными белками привела к открытию явлений анафилаксии и породила учение об аллергии.

Из открытия К. Ландштейнера возникло изучение изоантигенов тканей. Впоследствии это направление претерпело значительную эволюцию. Сейчас в эритроцитах человека выявлено 14 изоантигенных систем, включающих более 70 различных антигенов. В сыворотке крови человека содержится около 40 антигенов. Описано несколько систем лейкоцитарных изоантигенов, охватывающих более 30 специфичностей (антигены гистосовместимости). Изучение законов наследования антигенов породило новую отрасль — иммуногенетику.

Современная иммуногенетика изучает закономерности наследования антигенной специфичности и роль генетических механизмов в осуществлении иммунных реакций. В настоящее время она приобрела особую актуальность как в теоретическом, так и в сугубо практическом отношении. Это связано с тем, что именно в области иммуногенетики сформировались три важнейшие современные проблемы: генетический контроль иммунного ответа, генетика несовместимости тканей при пересадках и проблема генетического гомеостаза соматических клеток организма. Работы в области изучения генетической системы, кодирующей основные поверхностные антигенные и рецепторные структуры клеток, удостоены в 1980 г. Нобелевской премии (Б. Бенацарраф, Ж. Доссэ, Дж. Снелл).

Изучение структуры и биосинтеза антител привело к вскрытию причин их бесконечного разнообразия и к созданию метода получения гибридных клеток — гибридом, способных к неограниченному синтезу *in vitro* моноклональных антител.

Идея о том, что иммунитет — основная причина несовместимости тканей при трансплантации, возникла не сразу. Лишь в 40-х годах было четко сформулировано, что процесс отторжения чужеродной ткани объясняется иммунологическими механизмами и полностью находится в пределах неинфекционной иммунологии.

Из работ, посвященных трансплантационному иммунитету, выросло принципиально новое направление — учение об иммунологической толерантности. Толерантность открыли в 1953 г. независимо друг от друга П. Медавара с сотр. [Биллингем Р., Брент Л., Медавара П., 1953] и М. Гашек

(1953). Иммунологическая толерантность — это распознавание чужого и специфическая терпимость к нему, тогда как иммунитет — распознавание чужого и нетерпимость к нему.

Еще одно направление возникло при изучении эмбрионального развития и антигенного становления в процессе онтогенеза. Было показано появление на определенных этапах развития стадиоспецифических антигенов и их участие в формообразовательных процессах [Вязов О. Е., 1962]. Новую струю в это направление внес Ф. М. Бернет (1964), определив значение иммунологических механизмов для поддержания целостности организма. На этом направлении возникло чрезвычайно важное для многих разделов медицины учение об иммунодефицитах и зародилось представление о противоопухолевом иммунитете.

Крупнейшее обобщение последнего десятилетия — это выделение в иммунной системе двух независимых, но совместно функционирующих клеточных популяций: тимусзависимой (Т-лимфоциты) и не зависящей в своем развитии от вилочковой железы (В-лимфоциты). Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов и совместная их работа с макрофагами обеспечивают всю гамму иммунологических реакций, развивающихся в ответ на генетически чужеродные субстанции.

Есть основания полагать, что все иммунологические феномены являются следствием основной функции иммунитета — охраны постоянства внутренней среды организма в течение жизни индивидуума от всего генетически чужеродного независимо от экзогенного или эндогенного происхождения. В этом смысле иммунитет можно рассматривать как одну из сторон единого биологического закона охраны индивидуальности. Наследственность охраняет ее в нисходящем ряду поколений, иммунитет — на протяжении индивидуальной жизни организма [Петров Р. В., 1968].

Иммунная система и иммунологическая реактивность

Формулируя определение современной иммунологии, необходимо остановиться на понятии «иммунная система организма». Способность развивать иммунный ответ не есть некое общее свойство всего организма. Иммунологическую функцию выполняет специализированная система клеток тканей и органов. Это такая же самостоятельная система, как например, пищеварительная, сердечно-сосудистая, нервная и др. У нее три особенности: она генерализована по всему телу, ее клетки постоянно рециркулируют по всему телу через кровоток, она обладает уникальной способностью вырабатывать сугубо специфические молекулы антител, различные по своей специфике в отношении каждого антигена.

Центральной фигурой иммунной системы является лимфоцит. Иммунная система — совокупность всех лимфоидных органов и скоплений лимфоидных клеток тела. Лимфоидная система организма представляет собой морфологический синоним иммунной системы. Совокупность лимфоидных органов и тканей человеческого тела [вилочковая железа, селезенка, лимфатические узлы, групповые лимфатические фолликулы (пейеровы бляшки) и другие лимфоидные скопления, лимфоциты костного мозга и периферической крови] составляет единый орган иммунитета. Общая масса этого «диффузного органа» у человека около 1,5—2 кг. Общее число лимфоидных клеток составляет 10^{12} . Эти клетки совместно с макрофагами осуществляют главнейшие типы иммунологического реагирования, включая выработку антител и накопление сенсибилизированных лимфоцитов, распознающих и элиминирующих чужеродные субстанции.

В заключение необходимо кратко остановиться на иммунологической реактивности и неспецифических факторах защиты. Эти два понятия ни в коем случае нельзя путать. Нередко употребляемое сочетание слов «неспецифическая иммунологическая реактивность» абсурдно. Выше указывалось, что функцией иммунной системы является распознавание генетически чужеродных субстанций (антигенов) и специфическое реагирование на них. Основная ее цель — специфическая блокада, нейтрализация, разрушение или элиминация именно тех субстанций, которые стимулировали иммунный ответ. Понятие «иммунный ответ» — наиболее распространенный синоним понятия «иммунологическая реактивность». Оба они предполагают именно специфические реакции на антигены и не требуют добавления этого слова, ибо сами термины «иммунный» или «иммунологический» означают высокоспецифическую способность организма реагировать на чужеродные молекулы. На антиген А вырабатываются антитела анти-А, которые больше ни с каким антигеном не взаимодействуют, на антиген Б — не менее специфические антитела анти-Б. Неспецифического иммунного ответа или неспецифической иммунологической реактивности не существует.

Однако сопротивляемость организма инфекциям, его защита от микроорганизмов зависят не только от способности развивать иммунный ответ, т. е. высокоспециализированную форму реакции. Это зависит также от непроницаемости нормальных кожных и слизистых покровов для большинства микроорганизмов, наличия бактерицидных субстанций в кожных секретах, кислотности содержимого желудка, присутствия в крови и многих жидкостях организма (слюна, слезы и др.) таких ферментных систем, как лизоцим, пропердин и др.; от экскреции некоторых микроорганизмов, в частности

вирусов через почки, количества и активности фагоцитов крови и тканей.

Все эти механизмы относятся к неспецифическим факторам защиты. Они не могут быть названы неспецифической иммунологической реактивностью, так как никакого специального реагирования фактически нет. Кожа и слизистые оболочки непроницаемы независимо от того, попали на них микробы или нет; усиления непроницаемости, т. е. реагирования при попадании микробов, не происходит. Бактерицидность кожных секретов зависит от их кислотности и высвобождения за счет химических превращений перекиси водорода; бактерицидность не усиливается при микробном загрязнении. Кислотность желудочного сока не есть реакция на попадание микробов. Лизоцим вырабатывается организмом также для других целей — для регулирования проницаемости мембран и тканевых барьеров путем воздействия на полисахаридные компоненты за счет расщепления гликозидных и N-ацетилмураминовой связей. Поскольку оболочка некоторых микроорганизмов содержит полисахаридные комплексы, лизоцим разрушает их. Однако это не реакция на микроб, а один из неспециальных факторов защиты. Панцирь черепахи также защищает ее от микробов, но он, как и перечисленные выше факторы защиты, не относится к иммунологической реактивности, даже если добавить слово «неспецифическая».

Несколько особое положение занимают фагоциты и система комплемента. Фагоцитозом со времен И. И. Мечникова называют поглощение инородных частиц, будь то микроорганизм, частицы коллоидного золота или омертвевшие частицы собственного тела. Осуществляют фагоцитирование две популяции клеток — циркулирующие в крови гранулоциты (микрофагоциты) и тканевые макрофаги. Особенность их положения в системе иммунитета состоит в том, что несмотря на неспецифичность самого фагоцитарного акта, фагоциты, главным образом макрофаги, принимают участие в подготовке антигенов и переработке их в иммуногенную форму. Кроме того, они участвуют в кооперации Т- и В-лимфоцитов, необходимой для инициирования иммунного ответа (см. главу VII). Таким образом, фагоциты принимают участие в специфических формах реагирования на чужеродные субстанции. Система комплемента также участвует в специфических реакциях. Один из компонентов комплемента присоединяется к молекулам антител и обеспечивает лизис клеток, содержащих антигены, против которых эти антитела выработаны. Однако выработка комплемента не является реакцией в ответ на введение антигена.

В настоящее время в иммунологии известны шесть форм специфических реакций, из которых и складывается собст-

венно иммунологическая реактивность: 1) выработка антител, 2) гиперчувствительность немедленного типа, 3) гиперчувствительность замедленного типа, 4) иммунологическая память, 5) иммунологическая толерантность, 6) идиотип — антиидиотипическое взаимодействие. Своеобразное место занимают недавно открытые механизмы иммунологического надзора — аллогенная ингибция, инактивация несингенных стволовых клеток и противоопухолевая активность особых клеток — естественных киллеров. Эти феномены относятся к категории первичного распознавания «своего» и «чужого», приводящего к торможению размножения генетически чужеродных клеток. В табл. 1 приведены наиболее изученные неспецифические факторы защиты и специфические формы реагирования. Последние составляют иммунную реактивность.

Т а б л и ц а 1.

Иммунная реактивность и неспецифические факторы защиты

Неспецифические факторы защиты	Иммунная реактивность
Фагоцитоз Ком племента Интерферон и лимфокины Непроницаемость покровов Бактерицидные субстанции тканей Гидролитические ферменты Лизоцим Прогердин	Антитела Гиперчувствительность немедленного типа Гиперчувствительность замедленного типа Иммунологическая память Иммунологическая толерантность Идиотипы — антиидиотипы Фагоцитоз Комплемент

Г л а в а II

А Н Т И Г Е Н Ы

О с н о в н ы е п о н я т и я

Вещества, которые стимулируют ту или иную форму специфического иммунного ответа, называются антигенами. Нередко при определении понятия ограничиваются следующей формулой: «Антигены — это те вещества, которые при введении в организм вызывают в нем образование антител». Такая формулировка не совсем полна, так как под влиянием некоторых антигенных веществ антитела не появляются, но развиваются специфические клеточные реакции гиперчувствительности замедленного типа или иммунологическая толерантность. Следовательно, руководствуясь этой формулировкой, вещества,

стимулирующие клеточные реакции замедленной гиперчувствительности, трансплантационный иммунитет или возникновение толерантности, не должны рассматриваться как антигены. Формулируя понятие антигена, надо говорить не только об антителах, но и о других специфических иммунологических реакциях. Кроме того, формулировка должна отражать биологическую природу веществ, вызывающих эти реакции. По видимому, эти вещества, будучи продуктами биологического синтеза, должны иметь какие-то специфические биологические признаки. Исходя из формулировки иммунитета как способа защиты организма от живых тел и веществ, несущих признаки генетической чужеродности, понятие антигена может быть сформулировано так: антигены — все те вещества, которые несут признаки генетической чужеродности и при введении в организм вызывают развитие специфических иммунологических реакций.

В практической иммунологии и лабораторной работе термин «антиген» употребляют в двояком смысле: во-первых, для обозначения определенного химически очерченного и очищенного от примесей молекулярно-гомогенного вещества (например, кристаллический сывороточный альбумин, яичный альбумин, очищенный микробный токсин и др.); во-вторых, в собирательном смысле, для обозначенных сложных препаратов, целых клеток или тканей, содержащих большое количество отдельных антигенных веществ. Часто говорят: «В качестве антигена были использованы эритроциты барана». При этом, конечно, отдается отчет, что речь идет о сумме антигенных веществ эритроцитов. Их может быть несколько десятков.

Антигенность присуща не только белкам, но и многим сложным полисахаридам, липополисахаридам, полипептидам, а также некоторым искусственным высокополимерным соединениям, т. е. всем веществам, которые могут нести на себе специфический отпечаток чужеродности.

Нет необходимости говорить, что простые элементы — железо, медь, сера и др., не могут быть антигенами. То же относится к простым и сложным неорганическим соединениям — солям, кислотам и др. Хлорид натрия имеет одну и ту же химическую структуру независимо от того, где эта молекула синтезируется. То же относится и к таким органическим молекулам, как глюкоза, другим моно- и дисахарам, аминокислотам. Биосинтез этих молекул независимо от того, в растительной или микробной клетке он осуществляется, заканчивается построением химически однотипных молекул. Специфического отпечатка работы разных геномов на этих молекулах нет. Эта специфичность проявляется на более высоком уровне организации биологических макромолекул. Аминокислоты, соединенные в полипептидную цепь достаточной величины и сложности, приобретают антигенность. Необходимость

подчеркнуть значение молекулярной массы для проявления антигенности очевидна. Имеются вещества, достаточно специфичные, чтобы нести признаки чужеродности, но обладающие малой величиной молекулы. Они вызывают реакции иммунитета в смеси со специальными стимуляторами антителогенеза.

Почему антигенные свойства связаны с величиной молекулярной массы, до сих пор не совсем ясно. Но факт остается фактом: минимальная молекулярная масса, необходимая для проявления антигенности, должна быть не менее десятка тысяч. Например, яичный альбумин — один из низкомолекулярных полноценных антигенов — имеет молекулярную массу 40 000, сывороточный альбумин — 70 000. Протеины с меньшей молекулярной массой могут стимулировать выработку антител при их введении со стимуляторами типа адьюванта Фрейнда. К таким веществам относятся, например, рибонуклеаза (молекулярная масса 14 000), инсулин (молекулярная масса 6000). Наименьшая молекулярная масса веществ, против которых удалось получить антитела без их присоединения к другим более крупным молекулам, составляет примерно 1000 дальтон (вазопрессин, ангиотензин). Полипептиды, размер которых превышает 8 аминокислот, безусловно антигенны.

Существует несколько гипотетических объяснений значения величины молекулярной массы для осуществления ее антигенных функций. Неоднократно высказывались предположения о значении того факта, что более крупные молекулы эффективнее захватываются макрофагами и дольше не выводятся из организма. Последние годы принесли более рациональное объяснение этого явления. Вскоре после открытия двух типов лимфоцитов (Т и В) и необходимости их взаимодействия для инициирования иммунного ответа было показано, что лимфоциты несут на своей поверхности разные рецепторы. Рецепторы В-лимфоцитов имеют сродство к малым структурным специфичностям молекулы антигена, к его антигенным детерминантам (см. ниже); Т-лимфоциты обладают рецепторами к основной несущей части молекулы (шлепперной, по старой терминологии). Для индукции иммунного ответа необходимо стимулирование обоих типов лимфоцитов. Очевидно, что для реализации этих процессов величина молекулы имеет существенное значение.

Прежде чем перейти к рассмотрению тех уровней молекулярной организации, на которых определяется специфичность антигена, остановимся на четырех понятиях, характеризующих вещество как антиген: чужеродность, антигенность, иммуногенность, специфичность.

Чужеродность — неотделимое от антигена понятие. Без чужеродности нет антигена применительно к данному организму. Если взять альбумин кролика, то для этого кролика он не будет антигеном, так как по отношению к данному

организму на этом веществе отсутствует отпечаток генетической чужеродности; для морской свинки он будет антигеном, так как для нее он чужероден.

Антигенность — мера антигенного качества, например большая или меньшая способность вызывать образование антител. Если сравнить два белка — бычьи сывороточные альбумин и гамма-глобулин посредством иммунизации ими кролика, то выявится большая антигенность гамма-глобулина: у кролика вырабатывается большее количество антител, которые будут реагировать с этим антигеном.

Иммуногенность — способность создавать иммунитет. Это понятие относится главным образом к микробным антигенам, обеспечивающим создание иммунитета (невосприимчивости) к инфекциям. Например, возбудитель дизентерии обладает высокой антигенностью, но выраженного иммунитета против дизентерии получить не удастся. Брюшнотифозная вакцина является и высокоантигенным, и высокоиммуногенным препаратом.

Специфичность — те антигенные особенности, благодаря наличию которых антигены отличаются друг от друга. Существуют вещества, имеющие свой специфический облик, но не вызывающие иммунологических реакций (в частности, выработку антител) при введении в организм. Однако с готовыми антителами они взаимодействуют. Такие вещества получили название гаптен. Гаптены имеют признаки чужеродности, но не обладают определенными качествами, необходимыми для проявления полноценных антигенных свойств. Гаптены приобретают свойства полноценных антигенов после соединения с крупномолекулярными веществами — белками, полисахаридами или искусственными высокомолекулярными полиэлектролитами. Неантигенные сами по себе липиды и нуклеиновые кислоты могут выступать в роли гаптен. Соединение гаптена с носителем не обязательно должно быть ковалентным. Комплекс нуклеиновых кислот с белковым носителем является примером соединения за счет электростатических сил.

Антигенная специфичность ДНК — явление, представляющее собой большой теоретический и практический интерес. Первое связано с тем, что ДНК у всех живых существ в структурном отношении весьма однообразна. Второе объясняется неоспоримым фактом наличия антител против ДНК в крови больных некоторыми аутоиммунными заболеваниями, в частности системной красной волчанкой.

Антитела против ДНК не возникают при введении животным ее очищенных препаратов. Однако иммунизация необычной ДНК, например бактериофагом T₄, у которого вместо цитозина ДНК содержит 5-оксицитозин, стимулирует выработку антител. Эти антитела реагируют не с нативной ДНК,

а с однонитчатой (денатурированной). Наиболее эффективный метод получения антител против ДНК (или РНК) состоит в иммунизации животных комплексом нуклеиновых кислот с метилированным сывороточным альбумином. Эти антитела лучше взаимодействуют с однонитчатой ДНК и не обладают видовой специфичностью, соединяясь с препаратами от разных видов животных. Аутоантитела при красной волчанке также активнее взаимодействуют с денатурированной (однонитчатой) ДНК.

Структурные основы антигенной специфичности

Возникает вопрос, на каком уровне молекулярной организации заложены особенности химического строения, определяющие антигенную специфичность, благодаря которой структуры различаются между собой по антигенным свойствам, т. е. какие структурные особенности должна иметь сложная антигенная молекула, чтобы она воспринималась организмом как чужеродная, специфически отличающаяся от аналогичных структур собственного тела? Удобнее всего этот вопрос рассмотреть на примере белковых молекул и их полипептидных цепей.

Сравнение первичной молекулярной структуры хорошо изученных белков показывает, что различия по нескольким аминокислотам в составе полипептидной цепи достаточны, чтобы данные белковые молекулы различались как антигены. Примером могут служить инсулины различных видов животных, химически различающиеся между собой только по 8-му, 9-му или 10-му участку полипептидной цепи (табл. 2). Этого достаточно, чтобы определить антигенные различия данных функционально-идентичных гормонов. Эти различия могут определяться и концевыми аминокислотами первичной полипептидной цепи молекулы белков. Так, фибриногены разных видов животных различаются именно концевыми аминокислотами. Эти примеры подтверждают, что антигенные особенности могут определяться последовательностью и качеством

Таблица 2.

Последовательность аминокислот в полипептидной цепи молекулы (участок 7—11) инсулинов

Вид животного	Аминокислоты				
	7	8	9	10	11
Свинья	Цис	Тре	Сер	Илей	Цис
Бык	»	Ала	»	Вал	»
Овца	»	»	Гли	»	»
Лошадь	»	Тре	»	Илей	»

аминокислот, из которых построена первичная полипептидная цепь молекулы белков. Такое заключение было бы недостаточно убедительно, если бы не работы последних лет, направленные на изучение антигенной специфичности искусственных полипептидов.

Начиная с 1963 г., П. Маурер, Т. Джилл и М. Села провели серию исследований, которые основывались на создании искусственных полипептидов с достаточно большой молекулярной массой, чтобы проявить антигенность, если она есть. Изучение антигенного состава полипептидов с заведомо известным количеством и качеством входящих в них аминокислот позволило вскрыть значение первичной структуры молекулы белков для определения антигенной специфичности. Были проанализированы антигенные свойства различных аминокислотных полимеров: полиаминокислот, составленных из одной аминокислоты (гомополимеры); сополимеров из двух аминокислот в разных сочетаниях, например глутамин-тирозин (90 : 10) или глутамин-аланин (60 : 40) и т. д., сополимеров из трех аминокислот, например глутамин-лизин-аланин в соотношениях 42 : 28 : 30 или 57 : 38 : 5, глутамин — лизин — тирозин (58 : 38 : 4) и т. д.

Исследования показали, что гомополимеры неантигенны. Это понятно, так как полипептидная цепочка, состоящая из одной и той же многократно повторенной аминокислоты, не может иметь элементов чужеродности, никакого специфического «узора» молекулы не создается. Диполипептиды и особенно триполипептиды со случайной последовательностью аминокислот (рандомные сополимеры) антигенны. При этом антигенность разных полипептидов неодинакова. Глутамин — лизин — аланин в соотношениях 42 : 28 : 30 гораздо более антигенен, чем тот же полимер в соотношениях 57 : 38 : 5. По-видимому, при разных соотношениях трех составляющих аминокислот возникает разное число возможных комбинаций последовательностей, определяющих элементы «чужеродности».

Со всеми полученными полимерами были поставлены перекрестные реакции для оценки их антигенной специфичности. Оказалось, что все полимеры имеют как сходство между собой, так и антигенное различие; включение в состав полипептида аминокислот, содержащих ароматические кольца (тирозин, фенилаланин), приводит к появлению новой специфичности.

Антигенная общность различных сополимеров является результатом наличия участков молекул с одинаковой последовательностью аминокислот.

Большой прогресс не только в понимании структурных основ антигенности, но и в раскрытии генетических основ реагирования на антигены принесли эксперименты с разветвленными многоцепочечными сополимерами, состоящими из

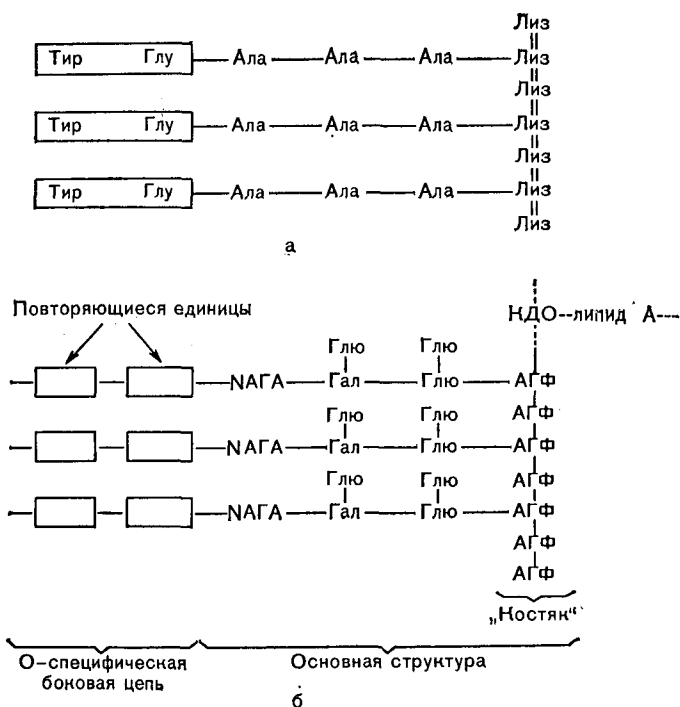


Рис. 2. Строение синтетического антигена (Т, Г)-А-Л (а) и специфической части О-антигена бактерий кишечного-тифозной группы (б).

Лиз — лизин, Ала — аланин, Тир — тирозин, Глу — глутаминовая кислота; КДО — кетодезоксиоктоновая кислота; АГФ — альдогептозофосфат; Глю — глюкоза; Гал — галактоза, N АГА — N-ацетилглюкозамин.

четырёх аминокислот. Такие искусственные антигены были синтезированы в 1965 г. Х. О. Мак-Девитт и М. Села. К полилизиновой цепи были наращены боковые цепочки из полиаланина, к конечной группировке которых присоединяли остатки тирозина и глутаминовой кислоты или гистидина и глутаминовой кислоты (рис. 2). В первом случае антиген имел структуру (Т, Г)-А-Л, во втором — (Г, Г)-А-Л. При использовании фенилаланина вместо тирозина получается третий антиген — (Ф, Г)-А-Л. Несущую (шлепперную) функцию выполняет полилизиновая цепь, антигенные детерминанты формируются из тирозин-глутаминовой кислоты или фенилаланин-глутаминовой кислоты. Именно с помощью этих синтетических антигенов был обнаружен первый ген, контролирующий силу иммунного ответа. Его обозначали Ig-1¹ и картировали у мышей в 9-й группе сцепления в области H-2 локуса.

¹ Ig — Immune response (иммунный ответ).

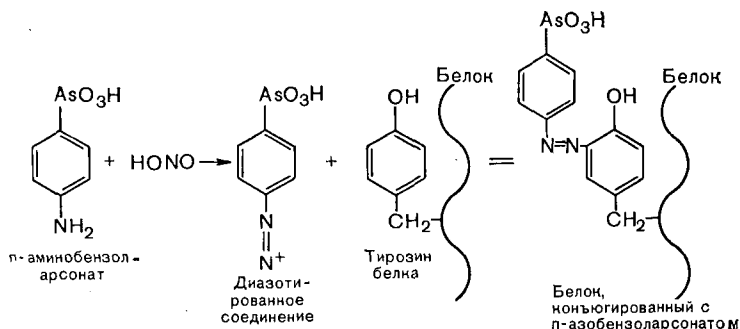


Рис. 3. Конъюгированный антиген белок-п-азобензоларсенат.

Исследования искусственных полипептидов принесли интересные данные о роли оптической изомерии аминокислот в определении антигенности. Сравнение двух полипептидов из левовращающих (L-глутамин₅₈-L-лизин₄₂) и правовращающих (D-глутамин₅₈-D-лизин₅₃) аминокислот показало, что полипептиды из L-аминокислот антигенны, а из правовращающих — неантигенны и не реагируют с антителами, полученными против L-сополимеров. Однако при использовании их в качестве гаптенa антитела против правовращающих изомеров могут быть получены.

Помимо строения полипептидной цепи, специфичность антигенов в меньшей мере определяется некоторыми наиболее активными поверхностными участками молекулы — детерминантными группами. Значение детерминантных групп наиболее четко было продемонстрировано К. Ландштейнером при исследовании различных комплексных антигенов. С помощью диазосвязей автор присоединял к белкам относительно простые химические группировки, например аминифениларсиновые и сульфаниловые кислоты и др. Диазосвязь обеспечивает присоединение гаптена к аминокислоте, имеющей ароматическое кольцо, например к тирозину (рис. 3). В настоящее время для исследовательских работ наиболее часто в качестве гаптена используется динитрофенильная группа. Соединение обычно проходит через ε-аминогруппы лизина (рис. 4).

Антигены, полученные путем присоединения к молекуле белка группы, обеспечивающей новую иммунологическую специфичность, называются конъюгированными антигенами.

При иммунизации животных конъюгированными антигенами, состоящими из одного и того же белка, но содержащими разные введенные химические группировки, получают антитела, специфичные по отношению к этим поверхностным детерминантам. Следовательно, специфичность в данном случае

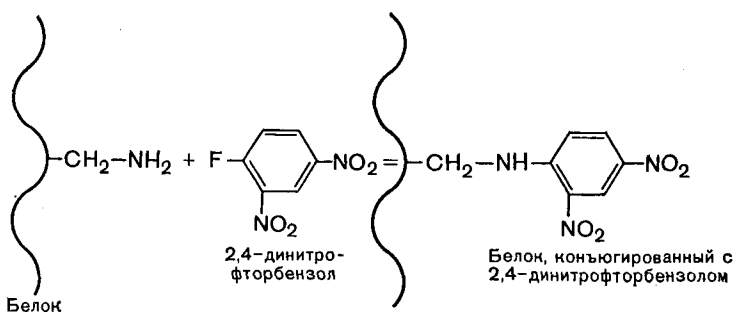


Рис. 4. Конъюгированный антиген белок-динитрофторбензол.

определяется введенной химической группой, получившей название антигенной детерминанты. Оказалось, что специфичность антигенной детерминанты определяется по крайней мере тремя факторами. Во-первых, характером самой химической группировки. Бензольное кольцо с остатком ASO_3H_2 определяет одну специфичность, а с SO_3H — другую. Во-вторых, имеет значение положение данной группировки: орто-, пара- и метааминофениларсиновые кислоты обеспечивают три разные специфичности. Наконец, различие в специфичности двух антигенных детерминант может быть обусловлено стереоизомерией. Лево- и правовращающая стереоизомерия детерминантных групп может обусловить антигенные различия двух исследуемых молекул.

Одна и та же антигенная детерминанта (гаптен) на разных носителях обеспечивает выработку антител одной и той же специфичности. Однако антигенность получаемых комплексов различна при разных молекулах-носителях. Это свидетельствует о существовании в организме по крайней мере двух распознающих клеточных систем — для антигенной детерминанты и для несущей части молекулы.

Итак, иммунологическая специфичность белковых антигенов определяется: а) аминокислотным составом и последовательностью аминокислот в первичной полипептидной цепи; б) концевыми аминокислотами цепи; в) вторичной и, возможно, третичной структурой белковой молекулы; г) поперечно расположенными химическими группами — антигенными детерминантами, которые играют наибольшую роль в определении иммунологической специфичности антигенов.

Совершенно очевидно, что крупные естественные белковые молекулы несут на себе по несколько детерминантных группировок. Посредством определения количества молекул антител, присоединяющихся к одной молекуле антигена, рассчитано число реактивных групп («валентности») различных бел-

Таблица 3.

Рассчитанные величины «валентности» некоторых белков
(по У. Бойд, 1969)

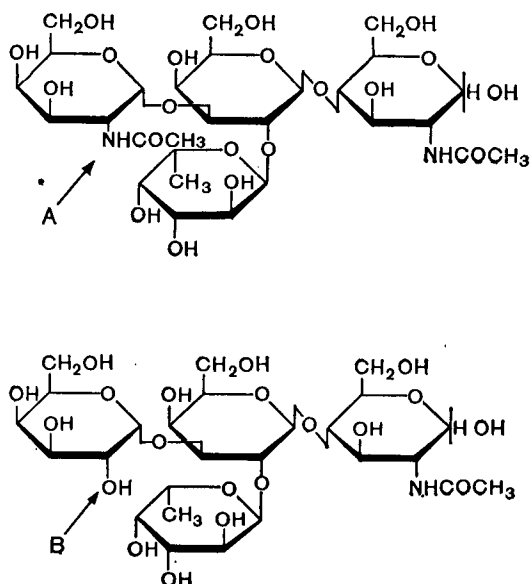
Антиген	Молекулярная масса ($\times 10^3$)	Валентность
Яичный альбумин	43—44	5
Сывороточный альбумин	70	6
Дифтерийный токсин	70	8
Тиреоглобулин	650	40
Гемоцианин	6500	231

ков. Оказалось, что это число увеличивается пропорционально возрастанию молекулярной массы белковых молекул (табл. 3).

Количество детерминантных групп на белковой молекуле имеет существенное значение для реализации ею антигенной функции. Так, для того, чтобы конъюгированный антиген, содержащий арсаниловую кислоту, осаждался антиарсаниловой сывороткой, его молекула должна нести не менее 10—20 молекул арсаниловой кислоты. Различные антигенные детерминанты, расположенные на белковой полисахаридной молекуле, не равнозначны по своему вкладу в стимуляцию иммунного ответа. Наиболее значимые получили название иммунодоминантных групп. При прочих равных условиях иммунодоминантностью обладают те детерминанты, которые характеризуются гидрофильностью и ориентированы в водную среду, окружающую молекулу, а не локализованы внутри молекулы. Типично их расположение на концах аминокислотных или углеводных цепей (см. рис. 2).

Мы не рассматриваем детально структурные основы антигенной специфичности полисахаридов и других органических макромолекул, так как принципиальные закономерности остаются те же. Примером может служить один из наиболее изученных объектов — O-антиген возбудителя дизентерии Флекснера. Его молекула состоит из липидной и полисахаридной частей. Последняя определяет специфичность антигена. Боковые цепи состоят из повторяющихся единиц, каждая из них содержит связанные между собой различные сахара или аминосахара. По этим сахарам различаются O-антигены бактерий всей коли-тифозной группы. При этом повторяющиеся единицы содержат специальный для каждого представителя данной группы бактерий сахар. Эти сахара получили название: тивелоза (у *S. typhi*), паратоза (у *S. paratyphi*), колитоза (у *E. coli*) и т. д.

Рис. 5. Строение детерминантных групп изоантитиенов А и В (Р. Чеппелинги, 1971).



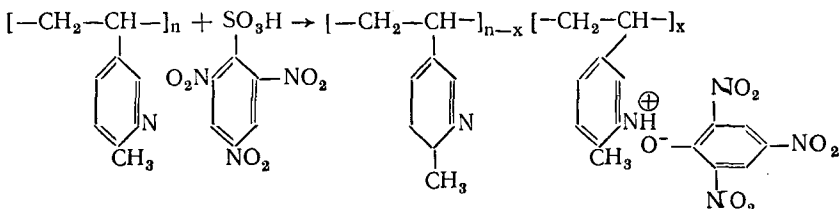
На рис. 2 показано не только строение специфической части О-антигена, но и принципиальное единообразие строения полисахаридных и полипептидных антигенов (сравните рис. 2 и 5). Полисахариды, содержащие различные сахара и аминокислоты, сами по себе без связи с липидом или белком при достаточной величине молекулярной массы могут выступать в роли полноценных антигенов. Они обязательно должны иметь повторяющиеся структурные элементы. Примерами служат антигены групп крови, полисахаридные комплексы из капсул пневмококков. Эти комплексы определяют антигенный тип пневмококков. Антигенными свойствами обладают гликоген и декстран.

Липиды и стероиды неантигенны. Предполагают, что жирные кислоты, составляющие основу липидов, не обладают достаточной жесткостью структуры молекулы, так как содержат длинные цепи парафиновых углеводородов. Значение жесткости структуры показано на примере малоантигенного желатина — белка, не имеющего устойчивой конфигурации из-за большого содержания глицина. Введение в молекулу 2% тирозина или других групп с жесткой структурой превращает желатин в хороший антиген.

В заключение раздела следует кратко остановиться на искусственных антигенах. Выше были описаны природные антигены или их модификации, построенные путем присоединения гаптенных групп к естественным молекулам-носителям, а также синтезированные полипептидные антигены. Нужно от-

метить, что синтезированные полипептиды — гомополимеры или сополимеры аминокислот, могут эффективно выполнять функцию несущей части молекулы при присоединении к ним гаптенной группы. Получается полностью синтезированный в лаборатории антиген из отдельных аминокислот и гаптана. И тем не менее все эти созданные в лабораторных условиях антигены нельзя назвать в полном смысле слова искусственными, так как исследователь имеет дело или с модифицированной природной молекулой, или с молекулой, синтезированной искусственно, но имитирующей природные молекулы — полипептиды или белки.

В последние годы получены в полном смысле слова искусственные антигены. Группа советских иммунологов и химиков (Р. В. Петров, Р. М. Хайтов, В. А. Кабанов, В. П. Евдаков) с сотр. создали антигенную молекулу путем присоединения тринитрофенильной гаптенной группировки к искусственному (неприродному) полиэлектролиту поли-2-метил-5-винилпиридину с молекулярной массой 80 000—100 000. Формула этого антигена следующая:



Оказалось, что присоединение к поливинилпиридиновой несущей молекуле малоантигенных белковых молекул (альбумина, туберкулина) превращает их в высокоантигенные комплексы (см. главу XII).

Типы антигенной специфичности

Видовая специфичность — это специфичность, благодаря которой представители одного вида организмов отличаются от особей другого вида. С помощью антител против сывороточных белков человека (так называемые античеловеческие видоспецифические сыворотки) судебные медики легко различают пятно крови, принадлежащее человеку, от любого пятна крови животных. При этом не следует думать, что в каждом организме содержится некий белок или другое соединение, которое служит видоспецифическим антигеном. По-видимому, многие макромолекулы данного организма несут отпечаток видоспецифичности.

Наличие видовой специфичности белков имеет, несомненно, большой биологический смысл. Полагают, что эволюция постоянно работает в двух направлениях: совершенствование

функциональной полноценности того или иного белка и его индивидуализирование, обеспечивающее отличие от белков всех других видов, в частности паразитирующих организмов (микрорганизмы и др.). При этом видовая специфичность белков сама по себе независимо от функции служит целесообразным защитным фактором, так как защитные реакции иммунитета основаны на антигенном различии белков и связанных с ними веществ разных видов.

Групповая специфичность — это специфичность, которая обуславливает различия среди особей одного вида организмов. Первые внутривидовые антигенные различия описал К. Ландштейнер в 1901 г. в работе, ознаменовавшей открытие групп крови человека — O, A, B и AB.

Антигены, благодаря которым различные особи или группы особей животных одного вида различаются между собой, получили название *изоантигенов*. Для человеческих эритроцитов, кроме *изоантигенов* ABO, известно более 70 других, объединенных в 14 *изоантигенных систем* (см. главу XIII). Наличие *изоантигенов* свидетельствует о *внутривидовой индивидуализации организмов*.

Химическое строение *изоантигенов групп крови системы ABO* весьма детально изучено. Показано, что эти антигены представляют собой *полисахаридные комплексы*. Детерминантная группа антигена A является α -N-ацетил-D-галактозаминил-(1→3)-галактозой, антигена B — α -D-галактозил (1→3)-галактозой (см. рис. 5).

К разряду *изоантигенов* относятся антигены *гистосовместимости* или *трансплантационные антигены*, обуславливающие *внутривидовые различия клеток и тканей*, вследствие чего возникает их *несовместимость при пересадках*.

В последние годы для обозначения *внутривидовых различий белковых молекул* введено понятие *аллотипов*. Существуют, например, различные *аллотипы иммуноглобулинов* (см. главу III).

Типоспецифичность — понятие, аналогичное предыдущему, но имеющее отношение чаще всего к *микробным видам*. Например, *пневмококки* по своим *полисахаридным антигенам* делятся на *типы I, II, III, IV и т. д.* Возбудители *ботулизма (колбасного отравления)* по характеру синтезируемого *токсина* делятся на *типы A, B, C, D и E*.

Гетероспецифичность и *гетероантигены* — общие для представителей разных видов *антигенные комплексы* или чаще общие *антигенные детерминанты* на различающихся по другим признакам *комплексах*. Примером *гетероантигена* является *антиген Форсмана*, присутствующий в *эритроцитах овец, лошадей, собак, кошек, мышей, кур*, но отсутствующий у *человека, обезьян, кроликов, крыс, уток*. Общие *антигены* встречаются у весьма *отдаленных видов*. Описаны

таковые для человека и возбудителя чумы. Антигены, определяющие человеческую группу крови А, обнаружены у вируса гриппа и некоторых других микроорганизмов. За счет гетероантигенов могут возникать перекрестные иммунологические реакции, приводящие к ошибочным диагностическим заключениям. Некоторые антигенные субстанции от двух разных видов обладают большей перекрестной реагируемостью, чем различающиеся субстанции в пределах одного вида. Например, бычий сывороточный альбумин и человеческий сывороточный альбумин при иммунизации кролика обеспечивают выработку большого количества перекрестно реагирующих антител. В тех же условиях сывороточные альбумин и γ -глобулин человека имеет меньшую перекрестную реагируемость. Это значит, что в первом случае на молекулах больше общих антигенных детерминант.

Биологическое значение гетероантигенов дискутируется. Возможны два объяснения их наличия. Во-первых, это может быть следствием случайных повторений типов биосинтеза и конечных продуктов в природе. Такое объяснение вполне правомочно, так как среди огромного числа биологических форм с их специфическими биосинтетическими процессами возможность случайных совпадений по отдельным звеньям не только не исключена, но и обязательно должна быть. Во-вторых, в случаях наличия общих антигенов у млекопитающих и паразитирующих в них микробов они могут быть следствием антигенной мимикрии паразита, облегчающего его инвазию и преодоление иммунитета. Эволюция неизбежно должна вести селекцию таких форм паразитов, которые все более и более уподобляются антигенам хозяина и становятся «невидимыми» для иммунитета.

Функциональная специфичность — антигенная специфичность, связанная с функцией данной органической молекулы. Белки, выполняющие в организме различные функции (например, альбумины и глобулины), иммунологически различаются. Вместе с тем у разных животных белки, выполняющие одну и ту же функцию, весьма сходны в антигенном отношении. Примером могут служить белки хрусталика, альбумины крови, инсулины и др. Это сходство не означает идентичности. Межвидовые различия имеются (см. выше).

Стадиоспецифичность — понятие, возникшее в связи с развитием иммунологии эмбриогенеза [Вязов О. Е., 1962]. Оказалось, что на определенных стадиях эмбрионального развития животных в их тканях обнаруживаются антигены, которых не было раньше и нет в тканях взрослых нормальных особей данного вида. Один из таких антигенов α -фетопротеин относится к так называемым раковоэмбриональным антигенам (см. главу XVIII). Он синтезируется клетками эмбрио-

нальной печени, а также опухолевыми клетками при первичном раке печени.

Гаптеноспецифичность — антигенная специфичность, обусловленная той или иной гаптенной группировкой. Примерами могут служить приводившиеся комплексные антигены К. Ландштейнера.

Новую антигенную специфичность могут приобретать белки, комплексируясь с рядом лекарственных веществ, которые в этих случаях выступают в роли гаптенов. Этим могут объясняться различные лекарственные аллергии, в том числе и аллергические реакции на антибиотики, которые сами по себе неантигенны. Наиболее яркими примерами являются аллергические дерматиты у рабочих, соприкасающихся с производными пикриловой кислоты и некоторыми анилиновыми красителями. Пикриловая группа, проникая сквозь кожу и ассоциируясь с белками, становится антигенной. Сенсибилизация к пенициллину развивается у 1% больных, которым его вводят парентерально. Показано, что с белками ассоциируется не сам пенициллин, а продукты его распада, в частности бензилпенициллиновая кислота. Амидопирин, хинидин, фенолфталеин и некоторые другие лекарственные препараты обладают сродством к белкам форменных элементов крови. Соединяясь с ними, они могут вызвать иммунные поражения с синдромом анемии, лейкопении или пурпуры. Необходимо, однако, подчеркнуть, что для реализации этого процесса требуется определенная предрасположенность индивидуума — врожденная или приобретенная. Предсказать, у кого разовьется лекарственная сенсибилизация, невозможно.

Следует иметь в виду, что конъюгированные антигены могут стимулировать выработку трех типов антител: против гаптенных детерминантных групп, против собственных детерминант белковой молекулы, а также теми химическими модификациям молекулы, которые могут быть вызваны присоединенной гаптенной группировкой или химическими реакциями по ее присоединению.

Патологическая специфичность — понятие, возникшее в связи с поисками антигенов, собственных патологические измененным тканям. Сюда входят «ожоговые», «лучевые», «раковые» и другие антигены, обнаруженные при ожоговой и лучевой болезнях, раке и др.

Глава III

АНТИТЕЛА И АНТИТЕЛОГЕНЕЗ

Антитела — белки, относящиеся к тому или иному классу иммуноглобулинов, синтез которых стимулируется после парентерального поступления антигена; антитела обладают

способностью специфически взаимодействовать с данным антигеном. Благодаря последнему качеству антитела являются одним из основных специфических факторов иммунитета, направленных именно против той чужеродной субстанции, которая была причиной их возникновения. Известны пять классов иммуноглобулинов: IgM, IgG, IgA, IgE и IgD. Суммарное количество иммуноглобулинов в сыворотке крови составляет около 2,5% (сухой остаток), т. е. более $\frac{1}{3}$ всех, белков. Антитела вырабатываются клетками лимфоидных органов, циркулируют в крови и других жидкостях организма. Антитела определенного типа, так называемые секреторные иммуноглобулины класса А, выходят за пределы слизистых оболочек в просвет кишечника, дыхательных путей и др., являясь «первой линией обороны» организма.

Способность реагировать выработкой специфических иммуноглобулинов (антител) присуща не только млекопитающим. У всех обследованных позвоночных обнаружены иммуноглобулины по крайней мере двух классов— IgM и IgG. Круглоротые, хотя и имеют примитивную лимфоидную ткань, антител не вырабатывают. Филогенетически наиболее ранней формой антител являются, по-видимому, иммуноглобулины класса М. Птицы служат отличными продуцентами антител. Однако рептилии реагируют антителообразованием весьма слабо; эта способность несколько усиливается при содержании в условиях повышенных температур (25—28°C). Рыбы, по-видимому, последние в филогенетическом смысле организмы, способные, хотя и очень слабо, синтезировать антитела в ответ на введение антигенов. Филогенетически самой низкой формой рыб, вырабатывающих антитела, считают гитарообразных рыб.

Сыворотка иммунизированного животного, содержащая антитела, получила название иммунной сыворотки, или антисыворотки.

Феномены взаимодействия антиген-антитело

Реакции специфического взаимодействия сывороточных антител с антигенами, против которых они направлены, проявляются в виде нескольких основных феноменов. Эти феномены легко наблюдать в лабораторных условиях.

Феномен агглютинации заключается в том, что бактерии, животные клетки или другие корпускулярные антигенные частицы, находящиеся во взвеси, под влиянием антител склеиваются между собой. Иначе говоря, если к взвеси бактерий в изотоническом растворе хлорида натрия (реакция идет только в присутствии электролитов) добавить сыворотку иммунизированного этими бактериями животного, то микроскопические элементы взвеси склеиваются между собой и

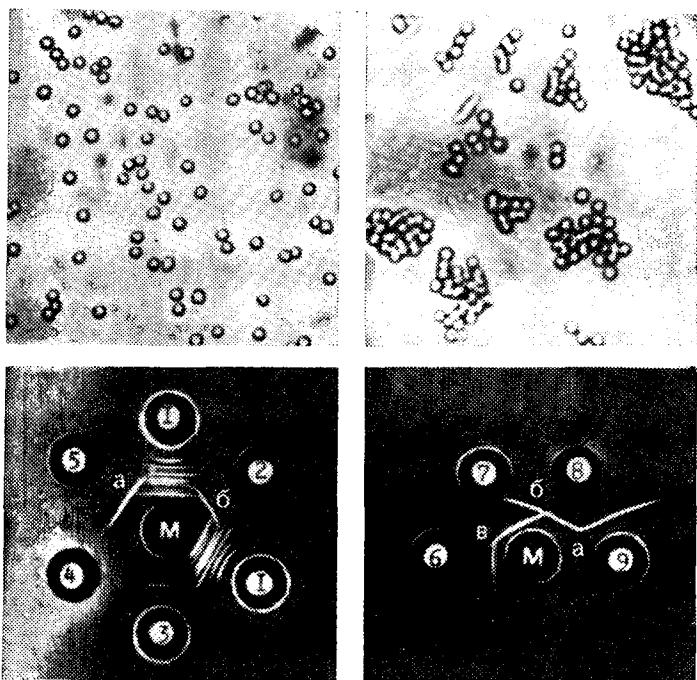


Рис. 6. Реакции агглютинации и преципитации.

Вверху — эритроциты барана до и после добавления антисыворотки, внизу — варианты преципитации в агаре; М — лошадиная антисыворотка против сыворотки человека; 1 — сыворотка человека; 2 — гемопексин; 3 — бычья сыворотка; 4 — мышьяная сыворотка; 5 — β -глобулин; 6 — IgA; 7 — IgG; 8 — альбумин; 9 — кроличья антисыворотка против альбумина человека [Швик и др., 1971]. Слияние полос (а) преципитации означает идентичность антигенов, перекрест (б) — неидентичность, «шпора» (в) — неполная идентичность.

оседают на дне пробирки в виде крупных, различных невооруженным глазом хлопьев или зерен. Аналогичное явление происходит и при использовании, например, эритроцитов барана и сыворотки животных, которым вводили эти эритроциты (рис. 6). Склеивание микробов или эритроцитов друг с другом — проявление реакции прямой агглютинации, прямой потому, что в данном случае антитела действуют непосредственно на корпускулярные антигенные частицы.

В лабораториях весьма часто используют не прямую, а пассивную агглютинацию. Этот вариант реакции применяют при работе с растворимыми антигенами, например с альбуминами, полисахаридными антигенами и др. Для получения феномена агглютинации антиген предварительно присоединяют к корпускулярному носителю — таннированным эритроцитам, частицам латекса, окиси бария и др. Добавление антител к взвеси таких частиц — пассивных носителей антигена,

приводит к их склеиванию. Реакция пассивной агглютинации характеризуется высокой чувствительностью и пригодна для выявления весьма малых количеств антител.

Следует отметить, что в реакциях агглютинации и многих других по выявлению антител (см. далее) количество антител в иммунной сыворотке или в других жидкостях оценивается их титром. Под титром антител понимают то наибольшее разведение сыворотки или иной жидкости, при котором реакция антиген—антитело все еще учитывается. Например, титр антител может быть равен 1:28 или 1:2048. Каждое последующее разведение сыворотки обычно вдвое больше предыдущего (1:2, 1:4, 1:8 и др.).

Феномен преципитации — эффект укрупнения растворимых антигенных субстанций под влиянием антител с возникновением помутнения прозрачных растворов. В этом случае мы сталкиваемся с явлением агрегации растворенных частиц. В зависимости от технических условий постановки и учета данной реакции антиген-антитело они получили разные названия.

Прежде чем говорить о вариантах реакции, следует заметить, что нерастворимый комплекс антиген-антитело выпадает только в определенном диапазоне эквивалентных концентраций реагирующих молекул. В случае большого избытка антител или антигена феномен преципитации не развивается. Это не значит, однако, что взаимодействия реагентов не произошло. Оно произошло, но образовался растворимый комплекс антиген-антитело.

Реакция кольца преципитации ставится таким образом, что в пробирке на столбик иммунной сыворотки, содержащей антитела, наслаиваются различные разведения прозрачного раствора антигена. На границе соприкосновения двух взаимодействующих растворов антигена и антител через несколько минут или часов возникает опалесцирующее кольцо преципитации.

Весьма удобен вариант реакции преципитации в стеклянных капиллярах. Капилляр опускают в сосуд с иммунной сывороткой и заполняют треть пространства внутри капилляра. Затем капилляр переносят в раствор антигена и заполняют еще треть капилляра. После этого капилляр переворачивают несколько раз и оставляют на 18—24 ч. Зерна преципитата собираются столбиком на нижнем мениске капилляра. В последние годы широко используют реакцию преципитации в агаре методом двойной или встречной диффузии. Чашки заливают агаром, в котором делают две или больше лунок. В одну вносят антиген, в другую — иммунную к нему сыворотку. Происходит диффузия реагентов в агар, и на месте встречи антигена и антител в зоне их эквивалентности образуются полосы преципитации (см. рис. 6). Эта реакция носит ана-

литический характер и позволяет определить количество отдельных антигенных субстанций в смеси антигенов, а также установить идентичность сравниваемых антигенов. Существует много модификаций метода.

Широко распространенным вариантом метода является метод радиальной иммунодиффузии. В этом случае антитела добавляют в расплавленный агар. После застывания исследуемый материал помещают в лунки. Если материал содержит искомый антиген, вокруг лунки возникнет кольцо преципитата. Возникает оно на некотором расстоянии от лунки в зоне эквивалентности. Чем больше антигена, тем дальше кольцо. Существует линейная зависимость между квадратом диаметра кольца и концентрацией антигена. Построение калибровочной линии по антигенному стандарту дает возможность количественно весьма точно определять концентрацию антигена. Этим методом пользуются в клиниках для определения концентрации иммуноглобулинов различных классов в крови людей. Проведение предварительного электрофореза в агаре многокомпонентного субстрата, например сыворотки крови или тканевого экстракта, с последующим проявлением компонентов антисывороткой обеспечивает высокие аналитические возможности. Этот вариант, получивший название иммуноэлектрофореза (рис. 7), разработан П. Грабаром (1963).

Иммунофлюоресценция заключается в том, что к молекуле антител присоединяется какой-либо флюоресцирующий краситель, например изотиоцианат натрия. Антигенный материал (бактерии, клетки или их компоненты), присоединившие меченые антитела, становятся видимыми в ультрафиолетовом свете. Метод не количественный, но весьма важный в иммуноморфологии для определения локализации антигенных структур или антител.

Конкуренция с радиоактивным антигеном (радиоиммунологический метод) — один из самых современных методов. Учет реакции антиген — антитело может осуществляться с помощью радиоизотопных методов в случае использования «меченых» антител или антигенов. Измерение радиоактивности преципитата дает возможность оценить количество антител или антигена в исследуемых образцах. Это увеличивает объективность оценки, убыстряет учет и повышает чувствительность реакции. Наиболее чувствительны (определение 1—10 нг вещества) методы конкуренции за антитела немеченого антигена с меченым (radioimmunoassay). Принцип метода заключается в следующем. Используют стандартное количество антисыворотки против исследуемого антигена и стандартное количество этого антигена, меченного радиоактивными ^{125}I , ^{131}I , ^3H или другим изотопом. Соотношение их таково, что 70—80% меченого антигена связываются антителами, образуя радиоактивный преци-

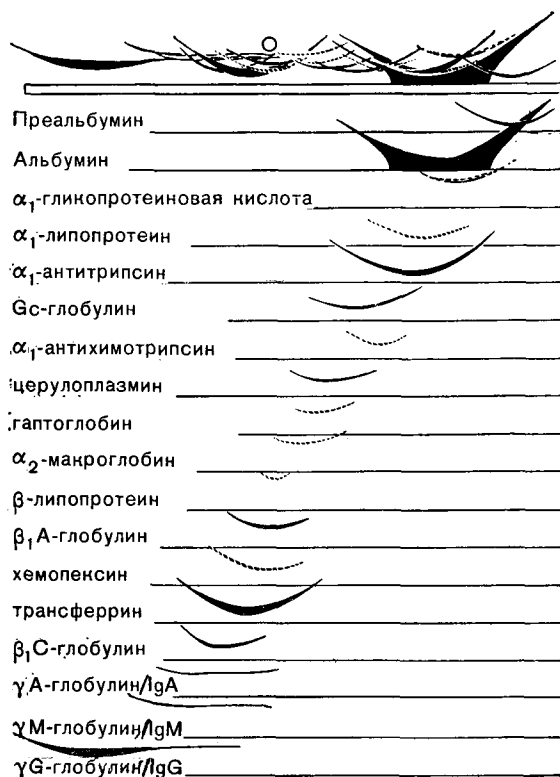


Рис. 7. Иммуноэлектрофоретический анализ сыворотки крови человека [Швик и др., 1971].

питат с величиной радиоактивности N. Если в реагирующую систему внести исследуемый на присутствие данного антигена субстрат, то при наличии антигена он конкурирует с меченым антигеном и радиоактивность преципитата снижается. Чем больше антигена в исследуемом образце, тем меньше радиоактивность преципитата. С помощью этого метода определяют концентрацию в крови, моче и других субстанциях таких веществ, которые из-за ничтожных концентраций не выявляются биохимическими методами (гормоны: инсулин, гормон роста, АКТГ, гонадотропин, дигоксин, соматотропин и др.).

Иммуноферментный метод представляет собой разработку самых последних лет. По чувствительности он не уступает предыдущему, но более прост при наличии коммерческих реагентов. На стенки полистереновых пробирок сорбированы антитела против определенного антигена. В эту пробирку вносят исследуемый субстрат. При наличии данного антигена он соединяется с антителами. Субстрат сливают и в пробирку вносят антитела против этого же антигена. Эти антитела мечены ферментом, чаще всего пероксидазой хрена. Меченые антитела присоединяются к предыдущему комплексу и также остаются на стенках пробирки. Содержимое пробирки заменяют на смесь хромогена (ортофенилен-диамин) с субстратом для данного энзима — H_2O_2 . Если в исследуемой жидкости был искомым антиген, энзим фиксируется на стенках пробирки, разложит H_2O_2 : выделившийся кислород окрасит хромоген в желтый цвет.

Метод Уанье предполагает использование для учета преципитации фотоэлектронфелометра, с помощью которого регистрируется изменение оптической плотности сыворотки после добавления антигена. При разбавлении сыворотки дистиллированной водой оптическая плотность снижается. Если в сыворотке имеются антитела, а в качестве разбавителя используют водный раствор антигена, то кривая изменения оптической плотности будет иная. Вначале происходит снижение оптической плотности, при накоплении достаточного количества антигена снижение прекращается, затем наблюдается повышение оптической плотности смеси антиген — антитело.

Феномен лизиса — способность некоторых антител развораживать клетки, против которых они возникли. Эти антитела гравитентально к бактериям называются бактериолизинами, к эритроцитам — эритролизинами, или гемолизинами. Реакции иммунного лизиса характеризуются тем, что они не происходят при наличии только двух ингредиентов — антигена и антитела. Необходимо присутствие третьего компонента, получившего название компонента. В разных количествах комплемент содержится в сыворотке крови многих животных; особенно много его в сыворотке крови морских свинок. Вначале реакция идет по типу агглютинации, затем к комплексу антиген-антитело присоединяется комплемент и происходит локальное растворение оболочки бактерий, эритроцитов или других клеток.

Феномен цитотоксичности определяется антителами, называемыми цитотоксинами. Их действие заключается в том, что они проявляют токсический эффект, лишая клетки жизнеспособности. Реакцию по выявлению цитотоксинов ставят со взвесью клеток в изотоническом буферном растворе хлорида натрия. К ним добавляют краситель, например, эозин или трипановый синий. Живые клетки не красятся, по-

гибшие клетки быстро воспринимают краску (в течение 30 с). Если к взвеси клеток добавить иммунную сыворотку, содержащую цитотоксины и комплемент, то клетки будут гибнуть и при пробе с красителями окрасятся. Процент гибших клеток свидетельствует о количестве цитотоксинов в сыворотке крови. Реакция требует обязательного присутствия комплемента.

Реакция связывания комплемента (РСК) основана на описанном выше свойстве комплемента присоединяться к комплексу антиген-антитело. Говоря более точно, комплемент фиксируется на специальном участке тяжелой цепи молекулы антитела (см. далее). Однако этот участок становится доступным только после присоединения антитела к антигену. Соединившись с одним комплексом антиген-антитело, комплемент не может перейти на другой комплекс, вводимый в реагирующую систему после взаимодействия первого комплекса и добавленного в известном количестве комплемента. В качестве второго комплекса обычно используют так называемую гемолитическую систему — смесь эритроцитов барана с антителами против них. Если первый комплекс является комплексом антиген — антитело, то свободного комплемента в реагирующей смеси не будет; гемолиза эритроцитов не произойдет. Наоборот, если в исследуемом материале (например, в сыворотке крови) нет антител к использованным антигенам, то комплемент останется свободным и обеспечит гемолиз эритроцитов. РСК применяют при диагностике сифилиса (реакция Вассермана), изучении противотканевых антител и аутоантител; она широко используется при диагностике ряда вирусных инфекций.

Феномен специфической задержки часто используют для сравнения двух изучаемых антигенов. Например, готовят иммунную сыворотку против эритроцитов мыши. Чтобы определить, содержатся ли в ней антитела против эритроцитов родственного вида животных (крысы), сыворотку обрабатывают эритроцитами крысы. Если уровень антител в сыворотке снижается, то имеются родственные антигены, если совсем падает, то антигены идентичны. С помощью этой реакции проанализированы на тождественность или нетождественность многие родственные антигены и гаптены.

Реакция нейтрализации токсинов. Антитоксинами называют антитела против бактериальных и некоторых других (например, змеиный яд) токсинов антигенной природы. Антитоксины, соединяясь с соответствующими токсическими веществами, нейтрализуют их. Степень нейтрализации может быть учтена посредством введения восприимчивому животному смеси токсин-антитоксин. Количество антитоксина в иммунной сыворотке характеризуют тем количеством минимальных смертельных доз токсина, которое может быть

нейтрализовано определенным количеством сыворотки. Реакцией нейтрализации пользуются для определения концентрации токсинов возбудителей дифтерии, столбняка и др. Для этого применяют стандартизированные антитоксические сыворотки.

Феномен опсонизации заключается в том, что антитела усиливают фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов в отношении тех антигенных субстанций или микроорганизмов, против которых они получены. Например, активность фагоцитов в отношении стафилококков значительно усиливается, если обработать лейкоциты или донора лейкоцитов антистафилококковой сывороткой. Такое действие связывали с наличием особых антител опсопинов. Следует, однако, иметь в виду, что специальных антител опсопинов, гемолизинов, бактериолизинов или преципитинов нет. Это лишь проявления основной функции молекул иммуноглобулинов дать специфический комплекс антиген — антитело.

Д. Грей приводит хороший пример единства и многообразия этой функции. Антитела, приготовленные против пневмококкового полисахарида I типа, могут: 1) вызывать агглютинацию пневмококков I типа и набухание их капсулы; 2) вызывать преципитацию растворимого экстракта из пневмококков I типа; 3) присоединять комплемент, т. е. обеспечивать РСК; 4) оказывать опсонизирующее действие на лейкоциты в отношении пневмококков I типа; 5) осуществлять специфическую защиту животных против пневмококковой инфекции. Несмотря на это, в различных конкретных экспериментальных или клинических ситуациях предпочтение отдают конкретным реакциям антиген — антитело. При диагностике брюшного тифа используют реакцию Видаля — агглютинацию бактерий, для анализа антигенных компонентов сложных биологических жидкостей или тканевых экстрактов — реакции преципитации в агаре в виде иммунодиффузии или иммуноэлектрофореза. При работе с токсинами и многими растворимыми антигенами пользуются методами пассивной гемагглютинации. Для определения уровня гормонов в крови наиболее приемлем радиоиммунологический метод и т. д. Различные классы иммуноглобулинов различно проявляют функцию соединения с антигеном (см. ниже).

Специфичность и гетерогенность антител

Специфичность иммунитета в большей мере определяется антителами. Человек, переболевший дифтерией, не заболевает повторно. Если сыворотку такого человека, содержащую антитела против соответствующих возбудителей или токсинов, ввести ребенку, у него возникает состояние специфической невосприимчивости к данным возбудителям и их токси-

нам. Созданная таким образом невосприимчивость получила название пассивного иммунитета вследствие того, что иммунитет переносится в другой организм пассивно, с готовыми антителами. Продолжительность пассивного иммунитета невелика и определяется длительностью циркуляции в крови введенных антител (2—4 нед).

Специфичность антител проявляется и в лабораторных реакциях взаимодействия с антигенами. Сыворотки, полученные от людей, перенесших брюшной тиф, или от животных, иммунизированных брюшнотифозными бактериями, взаимодействуют преимущественно с данным микробом. Сыворотки, приготовленные против крысиных эритроцитов, агглютинируют преимущественно крысиные эритроциты в основном потому, что и те и другие сыворотки обладают определенной (во много раз меньшей) способностью взаимодействовать с родственными видами бактерий и эритроцитов. Например, кроличья антисыворотка против крысиных эритроцитов с титром антител, равным 1:1024, агглютинирует мышинные эритроциты в разведении 1:32 (табл. 4). Чтобы избавиться от неспецифической агглютинации, существует прием, получивший название абсорбции, т. е. истощения антисыворотки. В нашем примере абсорбцию следует произвести мышинными эритроцитами, тогда сыворотка утратит способность взаимодействовать с ними. Она сохранит только способность специфического взаимодействия с теми клетками, которыми иммунизировали кролика.

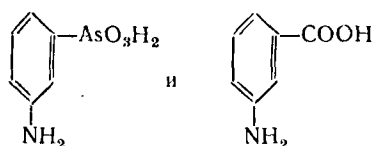
Свидетельствует ли это о том, что иммунизация привела к появлению в организме кролика, помимо специфических антител против введенных антигенов, еще и неких неспецифических? Отнюдь нет. Это говорит только о наличии в эритроцитах крысы и мыши определенных общих антигенов. Антитела, выработавшиеся против них, и обеспечивают слабую агглютинацию родственных по данным антигенам эритроцитов. Абсорбция извлекает из антисыворотки эти антитела, оставляя те, которые направлены против специфических антигенов крысиных клеток.

Таблица 4.

Титры антител кроличьей антисыворотки против крысиных эритроцитов до и после абсорбции мышинными эритроцитами

Антисыворотка	Титр антител против эритроцитов	
	крысы	мыши
Неабсорбированная	1:1024	1:32
Абсорбированная мышинными эритроцитами	1:1024	—

Из приведенного примера ясно, что в исследуемой антисыворотке присутствовало не одно антитело против крысинаго эритроцита в целом, а набор антител против отдельных антигенов, составляющих эритроцит. Каждое антитело строго специфично против своего антигена. Но значит ли это, что все молекулы антител против одного определенного антигена, например против одной химически определенной антигенной детерминанты, абсолютно подобны друг другу? Или «популяция» этих молекул в определенной мере гетерогенна? Этот вопрос наиболее детально исследовали К. Ландштейнер (1945) и У. Бойд (1963). Оказалось, что популяция молекул неоднородна, отдельные ее представители отклоняются от некоей средней как по силе реакции, так и по специфичности. В табл. 5 приведен пример У. Бойда, иллюстрирующий истинную гетерогенность антител. С помощью комплексных антигенов были приготовлены антитела против определенной антигенной детерминанты — метаниловой кислоты. С этими антителами поставлены реакции преципитации, в которых в качестве антигенов использованы комплексы, несущие близкие по химической структуре, но не идентичные детерминантные группы — метааминоарсиновую и метааминобензойную кислоты. Оказалось, что антитела слабо реагируют и с этими детерминантами, и только абсорбция удаляет соответствующие гетерогенные молекулы антител. Структура этих детерминант следующая:



Нет сомнения, что молекулы антител, хотя и характеризуются высокой специфичностью соответствия определенному антигену, не составляют абсолютно однородной популяции.

Таблица 5.

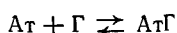
Интенсивность взаимодействия антител против метаниловой кислоты с антигенами, несущими другие детерминанты

Антитела против метаниловой кислоты (М)	Антигены, несущие детерминанты		
	М	А	С
Не абсорбированы	+++	+	+
Абсорбированы метааминоарсиновой кислотой (А)	+++	—	±
Абсорбированы метааминобензойной кислотой (С)	+++	±	—

Они в значительной степени различаются по сродству к данной антигенной детерминанте.

Существует понятие avidности антител, т. е. их способности образовывать прочное соединение с антигеном. Поскольку при соединении антигена с антителом не возникает химических связей (см. далее), прочность этого соединения определяется пространственной точностью (специфичностью) взаимодействующих участков двух молекул — активного центра иммуноглобулина и антигенной детерминанты. Соединение это обратимо, а прочность соединения, называемая аффинитетом, может быть количественно измерена с помощью определения константы ассоциации.

Поскольку реакция между антителом (Ат) и антигенной детерминантой или гаптенем (Г) обратима, она может быть записана как:



где АтГ — комплекс антитело — гаптен. В этом случае константа диссоциации определяется соотношением свободных реагентов и комплекса:

$$K = \frac{\text{АтГ}}{\text{Ат} + \text{Г}}$$

Чем выше эта константа, тем выше аффинитет антител. Исследования средней совокупности антител, вырабатываемых против определенной антигенной детерминанты — динитрофенильной группы, присоединенной к сывороточному глобулину, показали, что при однократной иммунизации малой дозой антигена возникают более аффинные антитела, чем при иммунизации с использованием большой дозы. Наиболее высокоаффинные антитела вырабатываются при многократных иммунизациях с интервалами между ними, достаточными для начала снижения уровня ранее выработанных антител. Антитела представляют собой одну большую семью молекул, члены которой в различной степени отличаются от среднего. Количественно молекулярные варианты этой семьи распределяются в соответствии с гауссовой кривой распределения.

Факт гетерогенности антисывороток и антител важен в двух аспектах: во-первых, в теоретическом и к этому мы еще вернемся при рассмотрении теорий иммунитета; во-вторых, в практическом, когда антисыворотки используются в качестве высокоспецифического реактива для диагностических и научных целей. Так, окончательная идентификация бактерий кишечнотифозной группы возможна только после постановки реакции агглютинации со специфическими сыворотками против возбудителей брюшного тифа, паратифов, дизентерии разных типов и т. д. Но сыворотки эти должны

быть действительно высокоспецифическими (моноспецифическими). Для приготовления такого реактива к возбудителю брюшного тифа взвесью этих микроорганизмов иммунизируют кролика. Полученную иммунную сыворотку абсорбируют представителями всех родственных бактерий кишечнотифозной группы. Такая истощенная сыворотка становится моноспецифичной по отношению к брюшнотифозным бактериям и агглютинирует только их. В настоящее время для получения моноспецифических антител по отношению к отдельным антигенам и отдельным антигенным детерминантам широко используются гибридомы, синтезирующие моноклональные антитела (см. ниже).

Природа антител

При электрофорезе сыворотки млекопитающих обнаруживается, что антитела мигрируют в электрическом поле в составе γ -глобулинов; к классу этих сывороточных белков они и относятся. После иммунизации в сыворотке увеличивается содержание γ -глобулинов. В этой фракции белков содержатся все антитела, секретируемые лимфоидной системой организма и обладающие всеми возможными специфичностями. Число возможных антител неизвестно; считают, что их не менее 10 000. В соответствии с Международной классификацией совокупность сывороточных белков, несущая «антительную» активность и называвшаяся ранее γ -глобулинами, получила название иммуноглобулинов и символ Ig. Исследования иммуноглобулинов показали, что существует пять разновидностей молекул с молекулярной массой от 150 000 до 900 000: IgM, IgG, IgA, IgE и IgD (табл. 6). Помимо физико-химических и функциональных особенностей, эти классы различаются по антигенным свойствам тяжелых полипептидных цепей, входящих в состав молекул и обозначенных соответственно буквами μ , γ , α , ϵ , δ . Антигенные различия тяжелых цепей используют в лабораторной и клинической практике для определения наличия и количества того или иного класса антител в крови или в других исследуемых жидкостях. Антисыворотки, выявляющие иммуноглобулины того или иного класса, доведены до уровня коммерческих препаратов.

Не следует думать, что антитела против того или иного антигена принадлежат к какому-то одному из пяти классов иммуноглобулинов. Наоборот, антитела данной специфичности почти всегда представлены разными классами. При этом наиболее общее правило следующее: первыми после иммунизации появляются антитела класса IgM, затем IgG; иммуноглобулины класса IgA с той же антительной специфичностью возникают, по-видимому, позднее. Механизмы

Основные характеристики иммуноглобулинов человека

Характеристика	Класс				
	IgM	IgG	IgA	IgE	IgD
Старые обозначения	$\gamma M, 19S\gamma$	$\gamma G, 7S\gamma$	$\gamma A, \beta_2A$	γE	γD
Уровень в крови, г/л	0,5—1,8	6—16	1—5	0,00002—0,0002	0,03—0,04
Период полувыведения из крови ($T_{1/2}$), дни	5	21	6	2	3
Молекулярная масса	900 000	150 000	170 000 и 350 000	190 000	180 000
Коэффициент седиментации	19S	7S	7—13S	7,4—11S	7S
Содержание углеводов, %	12	3	7	12	12
Тип тяжелых (H) цепей	μ	γ	α	ϵ	δ
Субклассы	$\mu 1, \mu 2$	$\gamma 1, \gamma 2, \gamma 3, \gamma 4$	$\alpha 1, \alpha 2$	ϵ	—
Тип легких (L) цепей	κ или λ	κ или λ	κ или λ	—	κ или λ
Формула (содержание цепей)	$5H5L$	2H2L	2H2L и 4H4L	κ 2H2L	κ 2H2L
Молекулярная масса:					
H-цепей	70 000	50 000	56 000	70 000	70 000
L-цепей	20 000	20 000	20 000	20 000	20 000
Фиксация комплемента	+++	++	+	—	—
Прохождение плаценты	—	—	+	+	—
Секреция	—	±	+	++	?
Цитофильность	—	—	+	+	—
Термоустойчивость (56°C)	+	+	+	—	—
Нейтрализация токсинов	+	+	+	—	—
Агглютинация	+	+	+	—	—
ВАРИОЛИЗ	+	+	?	—	—
Опсонизация	+	+	+	—	—
Усиление проницаемости сосудов	—	—	+	+	—
Рецепторы на лимфоцитах	+	+	+	+	+

и причины переключения в клетке синтеза иммуноглобулинов одного класса на другой остаются гипотетическими. Очевидно, этот факт является отражением общего закона повторения филогенеза в онтогенезе; эволюционно первыми иммуноглобулинами были IgM.

Основную массу сывороточных иммуноглобулинов (70—80%) составляют IgG; IgA — 10—15%; IgM — 5—10%; иммуноглобулинов классов E и D очень мало — около 0,2%. Становление этих уровней в онтогенезе происходит неравномерно. Поскольку прохождение материнских антител через плаценту свойственно только IgG, у новорожденного ребенка в крови имеется только этот тип иммуноглобулинов.

Собственная продукция начинается после рождения, а указанные концентрации устанавливаются в возрасте 14—16 лет. Это не значит, что клетки лимфоидной системы новорожденного не способны синтезировать иммуноглобулины. Такая способность возникает на 13-й неделе эмбрионального развития, к 20-й неделе у плода могут выявляться малые количества IgM. Однако этот синтез столь неинтенсивен, что практически обнаружить собственные иммуноглобулины плода до рождения не удастся. На рис. 8 показаны возрастные изменения концентрации иммуноглобулинов трех основных классов у человека.

При некоторых патологических расстройствах наблюдаются значительные отклонения уровней иммуноглобулинов в крови. Концентрация IgG возрастает во время инфекционных заболеваний, при некоторых болезнях печени и аутоиммунных расстройствах, например при системной красной волчанке. Уровень этих иммуноглобулинов снижается при гипо- и агаммаглобулинемиях, задержке развития и некоторых опухолях лимфоидной системы. Концентрация IgM повышается при перинатальных инфекциях, инфекционных заболеваниях, поражающих систему крови, при острых гепатитах и первичном биллиарном циррозе, снижается при гипо- и агаммаглобулинемиях, некоторых опухолях лимфоидной системы. Уровень сывороточного IgA возрастает при перинатальных инфекциях,

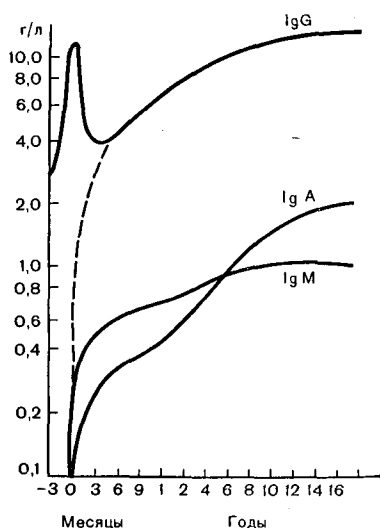


Рис. 8. Возрастные изменения концентрации иммуноглобулинов в крови человека.

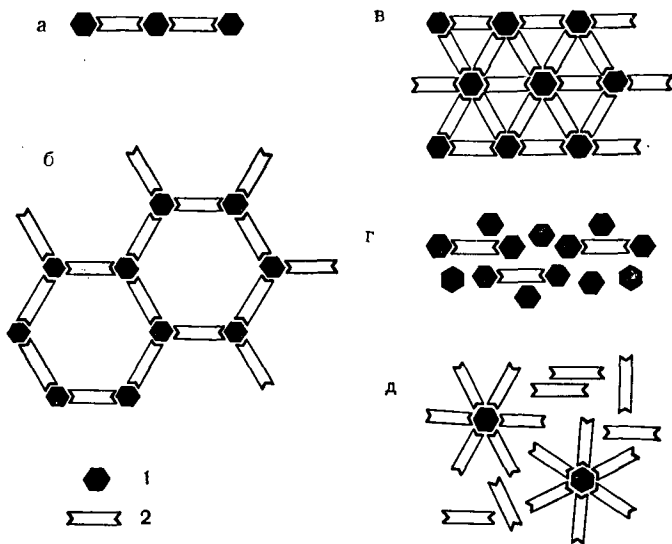


Рис. 9. Взаимодействие антиген-антитело. Форма комплекса в зависимости от условий.

1 — антиген; 2 — антитело; а — антиген имеет две детерминанты; б — антиген имеет три детерминанты; в — антиген имеет шесть детерминант; г — избыток антигена, большой комплекс не возникает; д — избыток антител, большой комплекс не возникает.

заболеваниях дыхательных путей и кишечного тракта, снижается при атаксии — телеангиэктазии, гипо- и агаммаглобулинемиях и некоторых опухолях лимфоидной системы.

Способность антител соединять антигенные частицы в крупные конгломераты (агглютинация бактериальных или других клеток, преципитация растворенных антигенов и др.) обуславливается наличием по крайней мере двух активных групп, активных центров, расположенных на поверхности молекулы, вследствие чего антитела обладают двумя валентностями. Одна специфическая группа соединяется с одной антигенной детерминантой, другая — с аналогичной детерминантой другой антигенной частицы. Двухвалентность антител обеспечивает возможность соединения неограниченного числа антигенных частиц в конгломераты. При различном числе антигенных детерминант на антигенных корпускулах характер структуры конгломератов комплекса антиген-антитело может быть разным (рис. 9). При избытке антигена или антител крупные конгломераты вообще не возникают вследствие заполнения реагирующих участков молекул избыточным количеством второго компонента. Вследствие этого реакции антиген-антитело максимально проявляются только в опреде-

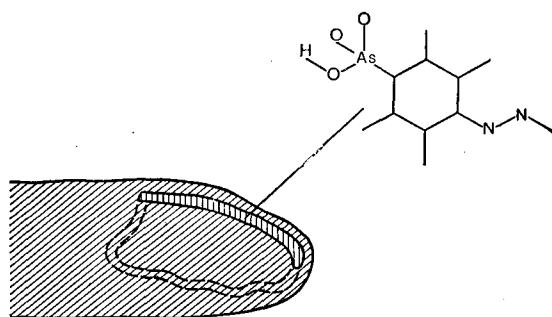


Рис. 10. Строение активного центра антитела по У. Бойду.

ленном диапазоне концентрации обоих реагентов, в так называемой зоне эквивалентности.

Реакция взаимодействия антител с антигеном имеет несколько типичных физико-химических характеристик.

Потребность в электролитах. Взаимодействие антител с антигеном происходит только в среде электролитов. Оптимальная концентрация электролитов соответствует 0,85% раствору хлорида натрия, рН должна быть близкой к нейтральному значению.

Быстрота. Соединение специфических участков антигена и антитела происходит в первые же секунды или минуты реакции — фаза взаимодействия. Визуально наблюдающийся эффект — фаза проявления (агглютинация, преципитация, лизис), может развиваться через несколько часов.

Обратимость. Комплекс антиген — антитело может диссоциировать с выделением (элюцией) антител. Элюцией пользуются для получения высокоспецифических антител против конкретного антигена или антигенной детерминанты. Она происходит при увеличении или при понижении рН среды до 9—10 или 5—3, повышении концентрации хлорида натрия до 15% и температуры до 60°C.

Экзотермичность. При взаимодействии антител с антигеном выделяется небольшое количество тепла. Каждый из двух активных центров антитела весьма невелик — около 0,7—2 нм³, т. е. занимает не более 2% поверхности молекулы. Пространственная конфигурация атомов активного участка молекулы повторяет конфигурацию детерминантной группы антигена, как зеркальное изображение повторяет оригинал, или, вернее, как перчатка повторяет форму руки. Такое представление сформировалось благодаря исследованию сил, участвующих в реакции соединения антигена с антителом. Оказалось, что это соединение определяется главным образом

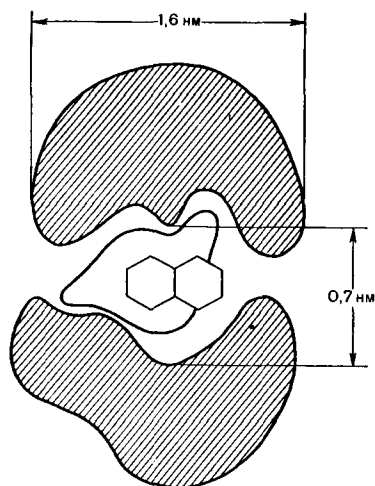


Рис. 11. Строение активного центра антитела с учетом его формирования двумя полипептидными цепями.

вандерваальсовыми силами. Как известно, эти силы действуют на очень небольшом расстоянии. Их величина обратно пропорциональна расстоянию в 7-й степени. Именно поэтому достаточно прочное и специфическое соединение антиген-антитело обусловлено строением активных участков молекулы антитела в виде пространственно высокоспецифических «впадин». На рис. 10 и 11 представлены схемы активных центров антител по У. Бойду и в современном представлении с учетом того, что в формировании центров принимают участие две полипептидные цепи молекулы антитела (см. ниже).

Структура иммуноглобулинов

Систематическое исследование антител стало возможным благодаря наблюдениям, сделанным в 1959 г. Р. Портером (Англия) и Г. Эдельманом (США). Р. Портер обработал антитела папаином. Были получены три фрагмента молекулы: I, II, III. Первые два (с молекулярной массой около 45 000 каждый) оказались идентичными друг другу. Они несли на себе активные центры молекулы и обладали способностью соединяться с антигеном, поэтому в дальнейшем их обозначили Fab_1 и Fab_2 , т. е. фрагменты, связывающие антиген (antigen binding). Третий фрагмент с молекулярной массой около 55 000 специфической активностью антител не обладал. Оказалось, что аминокислотный состав этого фрагмента весьма постоянный; его обозначили как Fc (crystallizable). Каждый Fab-фрагмент несет один активный центр, т. е. является моновалентным, и, связываясь с антигеном, не приводит к образованию конгломератов. При обработке антител пепсином расщепление происходит в другом месте молекулы с образованием соединенных между собой Fab_1 и Fab_2 , т. е. двухвалентных фрагментов, обозначенных $F(ab)_2$. Их молекулярная масса около 100 000.

Г. Эдельман обработал антитела меркаптоэтанолом в концентрированном растворе мочевины. При таком воздействии в белковых молекулах разрываются дисульфидные связи.

Молекула иммуноглобулина распалась на две пары полипептидных цепей. Две тождественные друг другу цепи с молекулярной массой по 50 000 были обозначены как H-цепи (heavy — тяжелый), две другие, также идентичные между собой, были названы L-цепями (light — легкий). Молекулярная масса каждой из них 20 000—25 000. Полноценной активностью антител ни одна из цепей не обладает. Иначе говоря, активный центр формируется двумя цепями — тяжелой (повидимому, в большей мере) и легкой.

На основании полученных данных стало возможным построить первую пространственную модель молекулы антитела (рис. 12). Она оказалась верной. В последующие годы была расшифрована последовательность аминокислот в обеих цепях.

Итак, молекула антитела (иммуноглобулин класса IgG) состоит из двух тяжелых и двух легких полипептидных цепей, соединенных между собой дисульфидными связями. Тяжелые цепи в антигенном отношении делятся на типы μ , γ , α , ϵ и δ , подразделяя иммуноглобулины на пять классов: соответственно IgM, IgG, IgA, IgE и IgD. Легкие цепи в любой из этих молекул могут быть одного из двух субклассов — κ или λ .

Несколько слов необходимо сказать о тех объектах, с помощью которых была выяснена структура молекулы иммуноглобулинов в целом (определение последовательности около 1300 аминокислотных остатков). Напомним, что молекулы антител гетерогенны, причем выделить из сыворотки крови достаточное для анализа количество идентичных (гомогенных) молекул иммуноглобулина практически невозможно. Каким же образом проведены обширные биохимические анализы, для которых требуются весовые количества гомогенного исследуемого вещества в чистом виде? Основными объектами исследования явились миеломные белки. Миелома — род злокачественной опухоли, когда по неизвестным причинам разрастается клон плазматических клеток, синтезирующих строго одинаковые молекулы γ -глобулина. Иначе говоря, все плазматические клетки происходят из единственной клетки — родоначальницы клона, и именно поэтому производят совершенно идентичный моноклональный продукт: он гомогенен по классу или IgM, или IgG, или IgA, легкие цепи у всех молекул одного типа — κ или λ и т. д. Таким образом, весь сывороточный γ -глобулин большого миеломой представлен единственным вариантом иммуноглобулиновых молекул, например IgG с легкими цепями λ — сразу большое количество очищенного самой природой белка. При этом легкие цепи данного типа синтезируются в избытке и выделяются в чистом виде с мочой (так называемые белки Бенс-Джонса). Количество чистых легких цепей также достаточно для биохимических анализов.

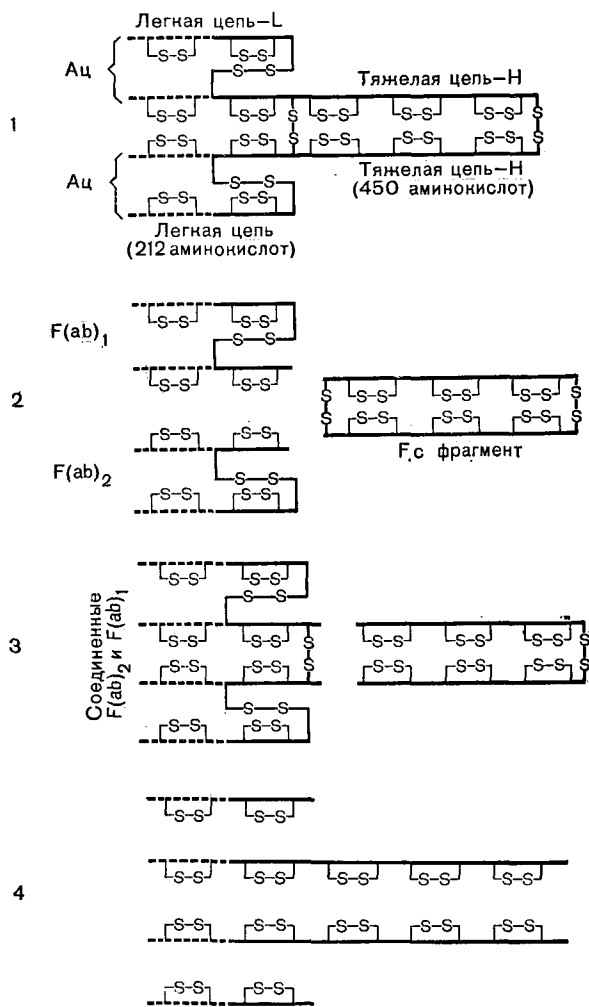


Рис. 12. Строение молекулы антитела (IgG) и ее фрагментов, полученных при воздействии различных веществ.

Варибельные участки цепей обозначены пунктиром, Ац — место соединения с антигеном (активный центр). 1 — целая молекула; 2 — молекула, расщепленная папаином; 3 — молекула, расщепленная пепсином; 4 — молекула, расщепленная меркаптоэтанолом. F(ab)₁, F(ab)₂, F_c и т. д. — фрагменты молекулы, полученные при обработке данным веществом.

Не следует представлять миеломные иммуноглобулины как некие патологические белки. Патология заключается не в аномалии белка, а в том, что плазматические клетки синтезируют один вариант белка вместо условных 10 000, как бывает в норме. При этом у каждого больного свой вариант бел-

ка — один из 10 000 нормальных. Это как бы нормальная для каждого организма множественность вариантов, «розданная» по одному варианту каждому больному миеломой.

Сравнение аминокислотных последовательностей нескольких десятков легких цепей показало, что они содержат 214 аминокислотных остатков. Первые 107 аминокислотных остатков, начиная с N-конца полипептида, составляют переменный участок цепи. Последовательность аминокислот этого участка различна у всех легких цепей. Его обозначают

буквой V. Вторая половина данного полипептида со 108-го до 212-го аминокислотного остатка практически одинакова у всех легких цепей. Это константный участок; обозначают его буквой С. Различия наблюдаются лишь в положениях 175, 178 и 191 цепи молекулы.

Тяжелые цепи также состоят из переменного и константного участков. Переменный участок включает 116 аминокислотных остатков. Константные участки тяжелых цепей в 3 раза длиннее, чем легких, и представляют собой как бы три повторяющихся линейно расположенных полипептидных отрезка по 100—110 аминокислотных остатков. Всего в каждую тяжелую цепь входит около 450 аминокислот.

Как легкие, так и тяжелые цепи не представляют собой прямолинейную нить. Их вторичная структура представлена жесткой упорядоченной α -спиралью, перемежающейся сложными β -структурами — «клубками», возникающими при «сшивании» дисульфидными мостиками аминокислотных остатков внутри каждой цепи. Эти «клубки» названы доменами. Всего в молекуле IgG 12 доменов — по 4 на тяжелых и по 2 на легких цепях. Молекулярная масса каждого домена примерно одинакова — около 12 500. Первые домены (V_H и V_L) составлены из переменных участков легких или тяжелых цепей, остальные — из константных участков легких или тяжелых цепей — C_L , C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} (рис. 13). Активные центры

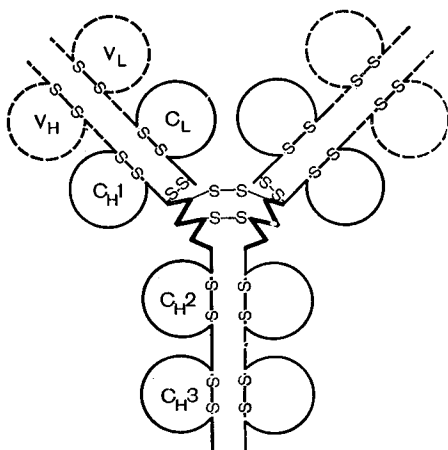


Рис. 13. Вторичная структура IgG.

V_L и V_H -домены, составляющие переменные участки легких и тяжелых цепей; C_L , C_{H1} ; C_{H2} ; C_{H3} — домены, составляющие константные участки легких и тяжелых цепей.

Таблица 7.

Последовательность аминокислотных остатков (АО) N-концевой части V_H цепей миеломных IgG у различных индивидуумов [Худ Л. и др., 1978].

Порядковый номер АО	Имя					Hhvl	40	45											
	5	10	15	20	25				30										
Тай	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	L	V	Q	P	G	K	G	L		
Уоз	—	L	—	—	—	—	S	—	—	—	—	—	D	—	M	—	—		
Джон	D	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	A	W	M	K	
Най	E	—	N	—	V	—	R	—	—	—	—	—	—	—	R	Y	T	I	H

Примечание. Буквы E, V, Q, L и т. д. — общепринятые обозначения аминокислот (E — глутаминовая кислота, V — валин, Q — глутамин, G — глицин, A — аланин и т. д.). Прочерк означает, что у данного индивидуума нет от- личий от первого по имени Тай. Вертикалями выделен первый гипервариабельный регион Hhvl.

антител формируются доменами вариабельных участков. Анализ показывает, что в этом участвует от 4 до 8 аминокислотных остатков, которые относятся к так называемым гипервариабельным областям легких и тяжелых цепей. Таких областей в вариабельных участках тяжелых цепей четыре. Они обозначаются как H_hv 1—4. Понятие гипервариабельности возникло при сравнении последовательности аминокислот в тяжелых или в легких полипептидных цепях, изолированных из иммуноглобулинов различных индивидуумов. Оказалось, что в некоторых регионах вариабельных участков несовпадения аминокислотных остатков особенно часты. В табл. 7 приведена последовательность аминокислот в вариабельных участках тяжелых цепей моноклональных IgG нескольких индивидуумов. На протяжении цепи имеется четыре региона с наиболее часто встречающимися заменами. Это положения 31—35, 49—65, 84—88 и 99—111. В табл. 7 показан регион 31—35. В легких цепях гипервариабельные области захватывают положения 24—34, 50—56, 89—97. То, что активный центр антитела формируется аминокислотными остатками гипервариабельных областей, доказывается несколькими фактами. Главные из них следующие. Антитела одной специфичности имеют идентичный или очень сходный аминокислотный состав гипервариабельных регионов. Использование гаптенон, которые могут ковалентно «сшиваться» со взаимодействующей молекулой, показало, что они присоединяются именно к гипервариабельным участкам тяжелых и легких цепей.

Поскольку активный центр формируется обеими — тяжелой и легкой — цепями молекулы, бесконечное разнообразие специфичностей антител может определяться не только разнообразием вариабельных цепей, но и комбинацией сочетаний различных цепей. Так, если у одного индивидуума генетически закодировано 100 вариантов легких цепей и 100 вариантов тяжелых, то в разных клетках или клонах клеток сборка иммуноглобулиновых молекул может идти путем наработки одного из 10 000 возможных сочетаний (100×100). Такое объяснение многообразия специфичностей антител в настоящее время наиболее распространено.

Константные участки цепей ответственны за другие свойства молекулы иммуноглобулина. В области C_H2 и C_H3-доменов располагаются соответственно участок фиксации комплекта и участок, ответственный за фиксацию антитела к клеткам, например к макрофагам, тучным клеткам или лимфоцитам. C_L и C_H1-домены определяют аллоантигенные различия молекул антител; здесь реализуется контроль генетических систем аллотипов иммуноглобулинов человека Inp₍₁₋₃₎, Gm₍₁₋₂₆₎.

Как указано в табл. 6, некоторые классы иммуноглобулинов имеют субклассы. Субклассы различаются между собой

небольшими особенностями структуры тяжелых цепей и выявляются специфическими антисыворотками.

Характеристика четырех известных субклассов IgG приведена в табл. 8.

Таблица 8.

Характеристика субклассов IgG

Характеристика	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Субкласс Н-цепей	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\gamma 4$
Количество дисульфидных мостов между Н-цепями	2	4	>10	2
Процентное содержание среди IgG сыворотки	65—70	23—28	4—7	3—4
Характер миграции при электрофорезе	Катодная	Анодная	Катодная	Анодная
Фиксация комплемента (C1)	+	+	+	—
Связывание стафилококкового протеина А	+	+	—	+
Присоединение к Fc-рецептору моноцитов	+	—	+	—
Присоединение к Fc-рецептору нейтрофилов	+	+	+	+
Присоединение к Fc-рецептору К-лимфоцитов	+	—	+	—
Пассивный перенос кожной анафилаксии (у морских свинок)	+	—	+	+

Выше были изложены данные, характеризующие строение антител, относящихся к классу IgG. Данный тип строения характерен и для всех остальных классов иммуноглобулинов; различия заключаются лишь в дополнительной организации этой основной единицы (рис. 14).

Имуноглобулины класса IgM представляют собой как бы пентамер молекулы IgG. Пять молекул, аналогичных IgG, соединены между собой полипептидной цепью, обозначаемой буквой J (Joining chain), Н-цепь IgM состоит не из четырех, а из пяти доменов. Сывороточный IgA бывает в трех формах: обычной, димерной и тримерной. Те молекулы IgA, которые выходят из кровяного русла через слизистые оболочки в просвет дыхательных путей, кишечника и т. д., помимо J-цепи, имеют и дополнительную структуру. Эта структура получила название секреторного компонента — SC (Secretory Component); она вырабатывается секреторными эпителиальными клетками серозного типа и присоединяется к молекуле IgA при прохождении через слизистые оболочки. Эта структура

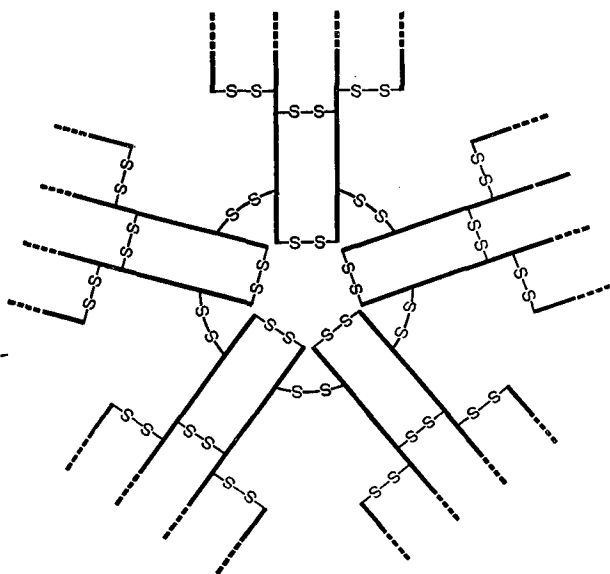


Рис. 14. Структура молекулы IgM.

Пунктиром обозначены переменные участки тяжелых и легких цепей; круг — соединяющая цепь J.

предохраняет молекулу антитела от разрушающего действия многочисленных ферментов, находящихся в секретах слизистых оболочек. Иммуноглобулин А имеет два субкласса — IgA1 и IgA2. Субкласс А2 может нести один из двух генетических маркеров — A2m(1) и A2m(2). Вариант A2m(1) не имеет дисульфидных мостов между легкими и тяжелыми цепями. Именно этот вариант изображен на рис. 15.

Иммуноглобулин Е, помимо тех характеристик, которые изложены в табл. 6, отличается от других высокой цитотропностью, т. е. способностью присоединяться к клеткам, в частности к тучным клеткам и базофилам. Присоединение антигена к IgE, находящемуся на этих клетках, приводит к выделению гистамина и других активных веществ, обеспечивающих развитие реакций гиперчувствительности немедленного типа (см. ниже). IgE и IgD весьма чувствительны к нагреванию и другим денатурирующим воздействиям. Прогривание сыворотки в течение 30 мин при 56°C необратимо денатурирует эти иммуноглобулины, не влияя на другие классы. Иммуноглобулин D склонен к агрегации и чувствителен к протеолитическому ферменту плазмину, играющему важную роль в системе свертывания крови. Особенностью IgD является то, что его легкие цепи (κ или λ) связаны тремя дисульфидными связями, легкие и тяжелые цепи имеют между собой две свя-

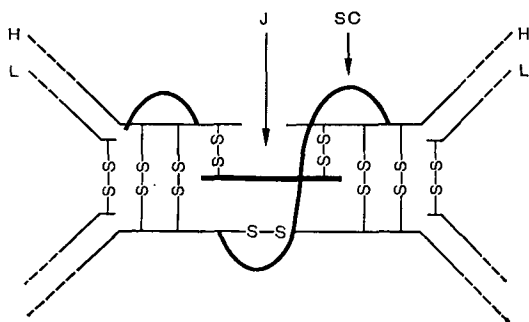


Рис. 15. Строение молекулы IgA.

SC — секреторный компонент; J — соединяющая цепь; H — тяжелые цепи; L — легкие цепи.

зи, а тяжелые одну. Синтез IgD протекает чрезвычайно медленно — в 100 раз медленнее, чем IgG. Медленнее него синтезируется только IgE.

Аллотипы и идиотипы иммуноглобулинов

Тяжелые цепи иммуноглобулинов разделены на пять классов (γ , μ , α , δ , ϵ), а легкие на два типа (κ , λ) в соответствии с определенными антигенными особенностями. Эти антигенные детерминанты получили название изотипических, для каждой цепи они одинаковы у всех представителей данного биологического вида. Существуют, однако, внутривидовые антигенные различия для цепей одного и того же класса или типа. В соответствии с этими особенностями выделены аллотипы того или иного класса или типа цепей. Например, легкие κ -цепи, несущие в 153-й позиции валин, а в 191-й лейцин, относятся к аллотипу In ν (1). Аланин и лейцин в этих позициях определяют аллотип In ν (2). Аланин и валин в этих положениях формируют другую антигенную детерминанту, определяющую эту цепь как аллотип In ν (3). Субклассы γ -цепей характеризуются своими аллотипическими маркерами. Всего у тяжелых γ -цепей описано более 20 аллотипов. Аллотипы генетически детерминированы и наследуются как кодоминантные признаки. Вот почему у гетерозиготных особей половина молекул иммуноглобулина может содержать цепи одного аллотипа, а половина — другого. Именно разные молекулы содержат цепи разных аллотипов, а не одна. Это связано с тем, что при синтезе антител в индивидуальной плазматической клетке существует так называемое аллельное исключение, вследствие которого работает только один аллель, контролирующий продукцию цепи того или иного аллотипа. Иначе говоря отдельная клетка синтезирует антитела, обе тяжелые цепи которых принадлежат одному аллотипу, так же как и обе легкие цепи.

Поскольку у антител, специфичных к различным антигенным детерминантам, конструкция активных центров не оди-

накова за счет наличия разных аминокислот в гипервариабельных областях молекулы, должны существовать антигенные различия между разными антителами даже если они относятся к одному классу, субклассу и аллотипу. Эти различия обнаружены и названы идиотипами. Фактически идиотипы это такие антигенные детерминанты, которые отличают один V-домен от всех других V-доменов. Как и все остальные различия иммуноглобулиновых молекул и их компонентов, идиотипические различия выявляются с помощью специфических антисывороток.

Генетический анализ изотипов, аллотипов и идиотипов дал возможность сделать три важнейших заключения.

1. Полипептиды, составляющие иммуноглобулиновую молекулу, кодируются тремя не сцепленными группами аутосомных генов. Одна группа кодирует тяжелую цепь того или иного класса, другая — легкую цепь κ -типа, третья — легкую цепь λ -типа.

2. Каждая из трех групп генов включает в себя набор генов вариабельной области (V-гены) и гены константной области (C-гены) полипептидных цепей.

3. Набор V-генов тесно сцеплен с C-генами, т. е. располагается не только на одной хромосоме, но и в непосредственной близости. Набор прокартированных генов, контролирующих идиотипы, располагается линейно на расстоянии от 0,4 до 3 сМ от C_H-генов.

Динамика выработки антител

Динамика накопления в крови и исчезновения из нее антител после иммунизации имеют принципиальные характеристики. Особенности этих характеристик зависят от того, первично или вторично контактирует организм с данным антигеном. Соответственно этому различают первичный и вторичный иммунные ответы. Детали этой динамики, конечно, различны у разных видов животных, особей или линий в пределах одного вида и при использовании разных антигенов. Выраженность интенсивности антителогенеза на тот или иной антиген четко детерминирована генетически (см. главу XII).

Впервые антитела обнаруживаются в крови через 3—4 дня после введения антигена. В течение этого времени в организме протекают скрытые процессы восприятия антигенного раздражения и его реализации, завершающиеся поступлением иммунных глобулинов в кровь. Этот период называется латентным. После появления в крови первых определенных количеств антител их содержание в течение нескольких дней резко возрастает. Отрезок кривой, соответствующий этому процессу, носит логарифмический характер: время уд-

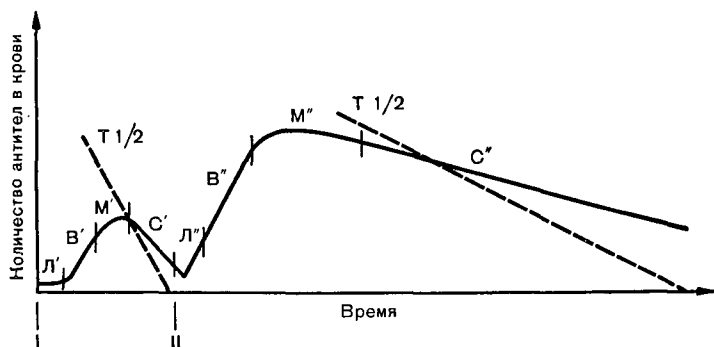


Рис. 16. Динамика накопления антител в крови в течение первичного (I) и вторичного (II) ответа на антиген.

Л', Л'' — латентный период; В', В'' — период логарифмического возрастания антител; М', М'' — период максимума; С', С'' — период снижения; $T_{1/2}$ — темп полувыведения иммуноглобулинов из крови. По осям — относительные величины.

воения титров антител может измеряться несколькими часами. В некоторых случаях этот подъем характеризуется единым для всего периода темпом. Иногда он состоит из нескольких отрезков с разным для каждого темпом удвоения титров. В итоге за несколько дней этого периода интенсивного роста (логарифмический период) титры антител в крови достигают максимума (рис. 16).

В течение определенного времени поддерживается максимальный уровень иммунных глобулинов в крови (период максимума). Затем их концентрация постепенно снижается (период снижения). Основные отличия вторичного ответа от первичного следующие: укороченный латентный период, более быстрый подъем в период интенсивного роста концентрации антител и большие значения максимальных титров.

Вторичный иммунный ответ развивается не только при повторной иммунизации, проводимой через 2—4 нед после первой. Способность к такой усиленной реакции на данный антиген сохраняется в течение многих месяцев и даже лет, служит одним из проявлений иммунологической памяти. Иммунологическая память развивается и при других формах иммунного ответа. Наиболее ярким примером длительности иммунологической памяти служит противокоревой и противосыпный иммунитет. Люди, переболевшие этими инфекциями, приобретают специфический иммунитет на всю жизнь. Это не связано с сохранением высоких титров антител в крови. Хранителями иммунологической памяти являются лимфоидные клетки. Клеточные механизмы памяти будут рассмотрены ниже (см. главу VII).

На рис. 16 нанесены две наклонные линии, характеризующие период полувыведения (или полужизни) γ -глобулинов

из крови. Для каждого вида животных длительность «жизни» введенных или выработанных молекул γ -глобулина — величина постоянная. В результате распада, утилизации и выведения количество поступившего в кровь белка уменьшается вдвое в определенное для данного вида животного время. Для мышей период полужизни ($T_{1/2}$) иммуноглобулина класса IgG составляет 5,6 дня, для кроликов — 6,6 дня, для человека — 21 день. Период полужизни более крупных молекул значительно короче. Например, у человека $T_{1/2}$ для IgM составляет всего 5, а для IgA 6 дней. Понятно, что в нормальных условиях уменьшение концентрации антител в крови в период снижения не может проходить быстрее, чем в темпе, определяемом наклоном кривой, характеризующем $T_{1/2}$. Сопоставление углов наклонов кривых $T_{1/2}$ для иммуноглобулинов в конкретных экспериментальных данных может дать информацию об интенсивности и моменте прекращения синтеза антител. После прекращения выработки новых порций иммунных тел темп их выведения становится равным естественному темпу выведения иммуноглобулинов. Без дополнительных воздействий кривая снижения концентрации антител в крови не может быть круче кривой их естественного выведения.

Выше указывалось, что IgM являются антителами первичного ответа, т. е. этот класс иммуноглобулинов синтезируется первым после антигенной стимуляции. Через несколько дней происходит переключение синтеза IgM на IgG. При вторичном ответе сразу синтезируются антитела класса IgG. В этом случае кривая выработки антител при первичной иммунизации фактически складывается из двух линий: первая — синтез IgM — определяет начало кривой, вторая — другую половину кривой. Доказано, что переключение синтеза IgM на IgG происходит непосредственно в антителосинтезирующих клетках.

Иммуноглобулины класса A начинают вырабатываться еще позже.

В табл. 9 показаны сроки появления и динамика антител, относящихся к трем разным классам иммуноглобулинов.

Синтез антител представляет собой частный случай продукции белковых молекул. Особенность его состоит в том, что легкие цепи синтезируются на одних РНК-матрицах, а тяжелые — на других. Потом происходит сборка всей молекулы. По-видимому, вначале соединяется одна пара из легкой и тяжелой цепей, а затем эти две молекулы собираются в целую. Легкие цепи обнаруживаются в клетках в некотором избытке. Считается, что они содействуют снятию тяжелых цепей с микросом. В случае пентамерных молекул IgM последним этапом сборки является соединение пяти мономерных молекул в единую структуру. Генетические локусы, контролирую-

Таблица 9.

Сроки появления антител разных классов после первичной иммунизации мышей эритроцитами барана

Показатель	Класс		
	IgM	IgG	IgA
Появление антител	3-й день	5-й день	9-й день
Достижение максимального уровня	4-й »	7-й »	15-й »
Существенное снижение уровня	6-й »	После 14 дней	После 21 дня

щие синтез тяжелых и легких цепей, локализованы отдельно, возможно, даже в разных хромосомах. Естественно, что продукция μ , γ , α , ϵ и δ -типов тяжелых цепей контролируется различными генами, так же как κ - и λ -типов легких цепей.

Изучение биосинтеза антител привело к построению совершенно новой для молекулярной биологии концепции [Фуденберг Х., и др., 1975]. В соответствии с этой концепцией синтез каждой полипептидной цепи молекулы иммуноглобулина контролируется двумя структурными генами, а не одним, как синтез других белков. Один ген кодирует варибельную область цепи, другой — константную. Это опровергает существовавшее правило «один ген — одна полипептидная цепь». Предполагается существование достаточно большого числа генов варибельных областей, достаточное для того, чтобы обеспечить все многообразие специфичностей антител.

В заключение следует остановиться на двух понятиях — нормальные (естественные) и неполные антитела. К первым относят антитела, обнаруживаемые в крови животных без предварительного введения антигенов. Таких антител два рода. Первые направлены против определенных изоантигенов. Например, у людей с кровью группы А и содержащей, следовательно, эритроциты группы А, в сыворотке постоянно присутствуют изогемагглюлины β (против изоантигена В); в крови группы В содержатся изогемагглюлины α (против изоантигена А), в крови группы 0 — изогемагглюлины α и β .

Естественные антитела второй категории направлены против антигенов, не относящихся к изоантигенам. Например, в крови большинства животных в невысоких титрах обнаруживаются антитела против бактерий кишечной группы, многих кокков, некоторых чужеродных клеток. Эти антитела, по-видимому, появляются вследствие постоянных незаметных контактов организма в течение его жизни с данными бактериями или субстанциями, имеющими родственные детерминанты с

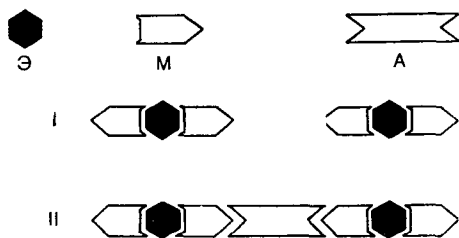


Рис. 17. Антиглобулиновая проба Кумбса для выявления неполных («моновалентных») антител.

I — первый этап: соединение моновалентных антител с эритроцитами; соединение антител с антигеном есть, агглютинации нет; II — второй этап: добавление антиглобулиновой сыворотки приводит к агглютинации эритроцитов, покрытых моновалентными антителами. Э — эритроцит; М — моновалентное (неполное) антитело; А — антитело против моновалентного антитела (антиглобулин).

теми антигенами, против которых они направлены. Эти антитела, несомненно, имеют защитное значение.

Неполные антитела называются еще моновалентными, или блокирующими. Эти иммунные глобулины отличаются от обычных наличием на молекуле одного активного специфического участка. Соединяясь с антигеном, они не могут агрегировать частицы в крупные конгломераты, а лишь блокируют их. Это не значит, что второй активный центр молекулы отсутствует. По неизвестным причинам он очень мало авиден или замаскирован. Для выявления неполных антител существуют специальные реакции — проба Кумбса, блокирующая проба и др.

Проба Кумбса (рис. 17), или антиглобулиновый тест, включает два этапа: а) присоединение антител к антигену, например антител против изоантигена резус к эритроцитам, содержащим резус-фактор. В результате этого соединения агглютинации эритроцитов не происходит; иммунные γ -глобулины лишь «покрывают» поверхность клеток, так как они моновалентны; б) к полученной системе добавляют кроличью иммунную сыворотку против данного γ -глобулина. В этой сыворотке содержатся обычные «полные» антитела, которые вызывают агглютинацию эритроцитов, нагруженных неполными антителами.

Блокирующая проба основана на регистрации блокады антигенных детерминант неполными антителами. Вследствие этой блокады полные антитела не могут взаимодействовать с антигеном. Действительно, моновалентные антитела связывают все антигенные детерминанты, например эритроциты, но не агглютинируют их. Если после добавления избытка неполных антител к взвеси эритроцитов добавить «полные» антиэритроцитарные агглютинины, то агглютинации не произойдет. Неполные антитела осуществили блокаду антигенных детерми-

нант эритроцитов и они стали недостижимы для гемагглютининов. В роли блокирующих факторов могут выступать Fab-фрагменты антител.

Большинство из описанных методов выявления антител полуколичественные. Уровень антител в крови или других жидкостях чаще всего оценивается их титром. Для более точного определения количества иммунных глобулинов в весовых единицах измерения существуют специальные аналитические приемы. Приводим данные о чувствительности методов выявления антител (табл. 10).

Т а б л и ц а 10

Чувствительность методов выявления антител

Реакция	Выявляемое количество антител (миллиграммы азота антител в 1 л)
Кольцепреципитация	3000—5000
Преципитация в гелях	2000—18 000
Агглютинация бактерий брюшного тифа	20
Агглютинация пневмококков	10 000—20 000
Гемагглютинация прямая	100—200
» пассивная	5
Антиглобулиновая проба (резус-антитела)	4,5
Гемолиз (активный)	0,2
Связывание комплемента	100
Нейтрализация дифтерийного токсина на коже кролика	300
Радиоиммунологический метод	0,00001
Иммуоферментативный метод	0,00001

Синтез антител *in vitro* и гибридомы

В течение многих лет делались попытки разработать такие методы культивирования лимфоидных иммунокомпетентных клеток, которые бы позволили инициировать иммунный ответ в виде выработки антител *in vitro*. Впервые это удалось в 1966 г. Р. Мишелю и Р. Даттону для культуры селезеночных клеток. В отличие от ранее существовавших методов, которые позволили получать синтез антител *in vitro* клетками, изъятими из иммунизированного животного, Р. Мишель и Р. Даттон сумели создать такие условия культивирования, в которых весь процесс — от восприятия антигенного стимула до продукции антител, проходил *in vitro*. Этот метод дал возможность вскрыть ряд клеточных закономерностей антигенолиза, обнаружить молекулярные медиаторы межклеточных взаимодействий и т. д. Однако проблему наработки больших количеств антител этот метод не решил. Во-первых,

потому, что лимфоидные клетки не могут длительно культивироваться и после нескольких делений гибнут. Во-вторых, потому, что среди популяции лимфоидных, например селезеночных, клеток содержатся представители самых различных клонов лимфоцитов, предетерминированных к синтезу самых различных по специфичности антител. Вот почему после иммунизации даже моноклеточным антигеном в пуле иммуноглобулинов, синтезируемых совокупностью клеток, помимо искомого антитела, содержатся сотни или тысячи антител иных специфичностей. Для получения антител одной специфичности (моноклональных) необходимо культивировать моноклон, т. е. культуру антителопродуцентов, происходящих из одного лимфоцита. Создание бесконечно живущей культуры моноклона решает одновременно две задачи — получение моноклональных антител и наработку их в неограниченном количестве. Это казалось невозможным, так как только раковые клетки обладают способностью к неограниченному культивированию *in vitro*. Нормальные клетки после серии делений погибают (эффект Хейфлика). Вместе с тем примеры существования моноклональных антител хорошо известны. Выше упоминалось о плазмацитомах — лимфоидных опухолях, при которых в организме разрастается один клон антителопродуцентов и синтезируемые им миеломные иммуноглобулины представляют собой моноклональные антитела против какой-то найденной или не найденной антигенной детерминанты. При этом плазмацитомные клетки обладают способностью бесконечно культивироваться *in vitro*.

В 1975 г. Г. Кёлер и К. Мильштейн разработали методику получения клеточных гибридов — гибридом от слияния нормальных лимфоцитов иммунизированных животных с культивируемыми в питательной среде клетками миеломных штаммов. Были использованы такие штаммы, которые не содержат фермента гипоксантинфосфорибозилтрансферазы, вследствие чего погибают в селективной питательной среде, содержащей гипоксантин, аминоптерин и тимидин (ГАТ). Лимфоциты в этой среде не гибнут. Слияние лимфоцитов с миеломными клетками осуществляется с помощью полиэтиленгликоля. Слившиеся гибридомные клетки получают от лимфоцита способность синтезировать определенное антитело и способность выживать в среде с ГАТ. От миеломного партнера они получают способность бесконечно размножаться *in vitro*. Накопившийся гибридомный клон может быть размножен. Синтезируемые им моноклональные антитела могут быть получены в неограниченном количестве. По всем параметрам антитела, вырабатываемые одним клоном, идентичны — по классу молекулы, по ее типу и по специфичности. Она взаимодействует только с одним антигеном. Таким образом полученный в пробирке, во флаконе или в клеточном реакторе препарат может

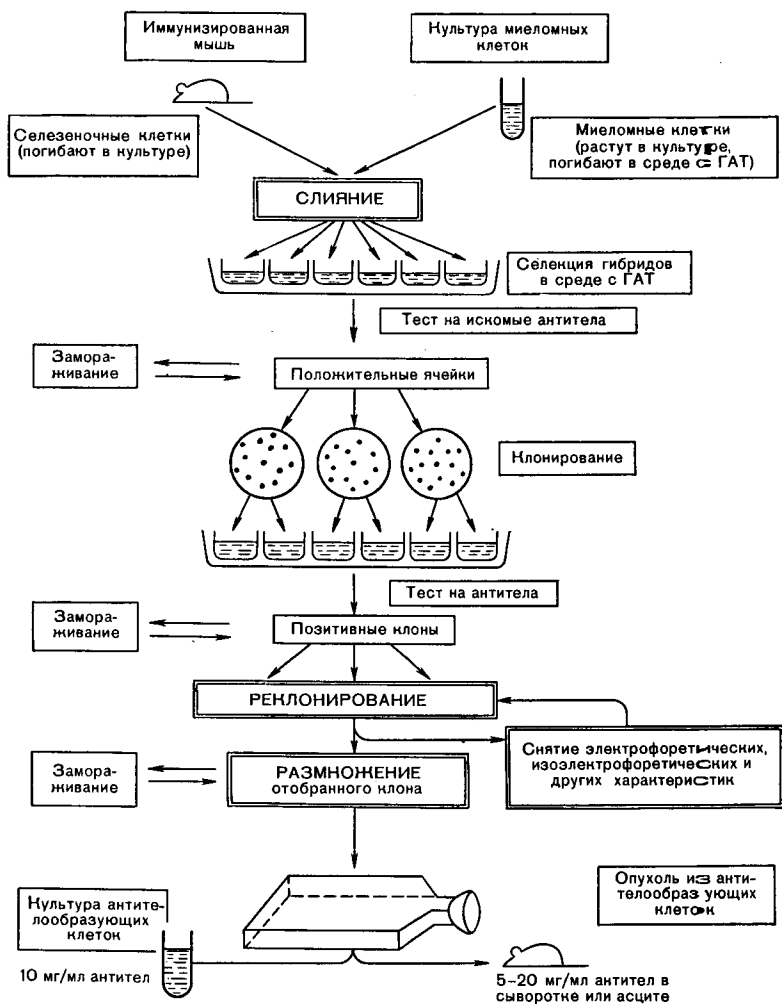


Рис. 18. Этапы метода получения гибридом. Пояснение в тексте.

служить идеальным по специфичности реагентом на ту или иную органическую субстанцию, идеальным диагностическим или лечебным средством. Набор специфических реагентов, который может быть получен, неограничен. Это могут быть антитела против белков крови и тканей, против специфических антигенов органов, раковых и нормальных клеток, против вирусов, бактерий, против ряда химических соединений и др.

За несколько лет проблема изучения и практического использования гибридом претерпела взрывоподобное развитие.

Сотни исследователей в различных странах подключились к ее разработке. Ближайшее будущее обещает создание фирм или фабрик по наработке моноклональных антител в качестве уникальных реагентов, диагностических и лечебных препаратов.

Конечно, получение лимфоцитарных гибридом дело не простое. Оно включает в себя несколько этапов (рис. 18): а) получение миеломной линии; б) получение селезеночных клеток от иммунизированного организма; в) создание в культуре условий для того, чтобы хотя бы некоторые клетки одной и другой популяций могли осуществить слияние; г) выделение слившихся клеток и накопление их клонов; д) отбор интересующего клона, его накопление и использование. Накопление клона осуществляют *in vitro* или путем введения животным. При этом на всех этапах образцы клеток необходимо консервировать в жидком азоте, чтобы в любое время можно было вернуться к любому этапу и сохранить на будущее нужные клоны. В качестве миеломных клеток чаще всего используют мышинные или крысиные клеточные линии.

С помощью моноклональных антител уже внесен огромный вклад в науку. Проанализирована структура и генетика иммуноглобулинов, открыты и исследованы рецепторы лимфоцитов, получены реагенты на субпопуляции лимфоцитов и опухолевых клеток, проведены эксперименты по лечению рака крови, приготовлены моноклональные антитела против ряда микроорганизмов и др.

Гибридомы создаются не только на основе В-лимфоцитов, обеспечивающих возникновение культур, синтезирующих моноклональные антитела, но и на основе Т-лимфоцитов. Уже созданы культуры Т-гибридом, синтезирующие те или иные лимфокины. Например, гибридома 123, вырабатывающая CFU_s-SA — гуморальный фактор, стимулирующий полипотентные кроветворные стволовые клетки к пролиферации (см. главу X и раздел «Взаимодействие лимфоцитов с кроветворными стволовыми клетками» в главе VII).

Глава IV

ГИ ПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕМЕДЛЕННОГО И ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПОВ

Основное действие антител характеризуется двумя особенностями — специфичностью и немедленностью, т. е. быстротой взаимодействия с антигеном не только в пробирке, но и в организме. Если в крови циркулируют антитоксины, то введенный токсин будет немедленно нейтрализован. Наоборот, введение в кровь антител сразу же приводит к созданию у

животного или человека пассивного иммунитета против соответствующих токсинов (например, противодифтерийного, противостолбнячного). Нейтрализация антигенов антителами обеспечивает невосприимчивость организма к ним, т. е. пониженную чувствительность к токсинам, бактериям и др. Однако не всегда антигены стимулируют выработку антител, обуславливающих понижение чувствительности к ним. При определенных условиях вырабатываются антитела, которые, взаимодействуя с антигеном, вызывают обратный эффект — повышение чувствительности организма к повторному введению данного антигена. Изучение реакций повышенной чувствительности (гиперчувствительности) является предметом аллергологии, которая успешно развивается А. Д. Адо и его школой.

Впервые одна из реакций гиперчувствительности была описана в 1902 г. С. Рише и Г. Портье у собак, в 1905 г. — Г. П. Сахаровым и Т. Смитом у морских свинок.

Анафилаксия и аллергия

С. Рише и Г. Портье изучали токсичность экстрактов из морских анемонов. При первичном внутривенном введении собакам экстракты не вызывали каких-либо остро развивающихся токсических симптомов. Вторая инъекция, сделанная через несколько недель, приводила к немедленному развитию таких симптомов, как слабость, затруднение дыхания, рвота; некоторые собаки погибали. Авторы назвали эту реакцию анафилаксией.

Т. Смит экспериментировал с лошадиными антитоксическими сыворотками против токсина возбудителей дифтерии. Индикаторными животными служили морские свинки, введение токсина вызывало их гибель. Смесь токсина с достаточным количеством антитоксической сыворотки была нейтральной. Т. Смит оттитровывал минимальное количество сывороток, способное нейтрализовать определенную летальную дозу дифтерийного токсина. Работа требовала большого количества свинок и Т. Смит решил использовать животных, которым за несколько недель до этого уже вводил лошадиную сыворотку.

Внутривенное введение таким животным нейтральной смеси токсина с лошадиной сывороткой приводило к их гибели в течение 3—5 мин при явлениях, не имеющих ничего общего с картиной гибели от дифтерийного токсина. Сразу же после инъекции свинки проявляли беспокойство, у них появлялись затруднение дыхания, чиханье, кашель, удушье, судороги всего тела, затем наступала смерть. Так впервые был описан анафилактический шок. Оказалось, что его возникновение не имеет никакого отношения к дифтерийному

токсину. Причина в повторном введении лошадиной сыворотки. Исследование этого явления показало, что первичный контакт организмов с такими антигенами, как сывороточные белки другого вида животных, приводит к развитию состояния сенсibilизации.

Сенсibilизированные животные реагируют резко повышенной чувствительностью к данным антигенам. Крайняя степень такой гиперчувствительности в виде анафилактического шока проявляется после внутривенного введения второй дозы антигена. В клинической картине анафилактического шока у морских свинок преобладают явления бронхиального спазма, эмфиземы и отека легких; у собак резко выражены кишечные расстройства, обусловленные спазмом гладкой мускулатуры кишечника; у человека на первое место выступают сердечно-сосудистые расстройства. Температура тела во время шока снижается на 1—5°C.

Особой формой анафилактической реакции у человека является сывороточная болезнь. Она возникает в некоторых случаях после однократного введения достаточно большой дозы чужеродной (например, лошадиной) сыворотки. Развивается болезнь не остро, а в сроки, когда начинается выработка антител против введенного антигенного материала, с остатками которого и реагируют возникшие антитела. Сывороточная болезнь проявляется в виде сердечно-сосудистых расстройств, уртикарных поражений кожи, суставных болей. Типичны повышение температуры тела, увеличение регионарных лимфатических узлов, эозинофилия и снижение уровня комплемента в крови.

Состояние сенсibilизации развивается при введении чрезвычайно малого количества чужеродных антигенов. Так, для сенсibilизации морских свинок достаточно 0,000000001 л сыворотки. Инъекция, создающая состояние гиперчувствительности, называется сенсibilизирующей.

Реакция анафилаксии иммунологически специфична — шок вызывается только тем антигеном, к которому установилась сенсibilизация. Инъекция, сопровождающаяся развитием анафилактического шока, называется разрешающей. Состояние гиперчувствительности развивается через 7—14 дней после первичного введения антигена. Сохраняться это состояние может месяцы и годы.

Для воспроизведения анафилактического шока достаточно ввести в кровь сенсibilизированному чужеродной сывороткой животному 0,00001 мл этой сыворотки. Антиген можно вводить любым парентеральным способом: в кровь, подкожно, внутримышечно или внутрибрюшинно. Реакцией сенсibilизации с последующим воспроизведением анафилаксии пользуются как чувствительным методом определения малых количеств антигена в чистых препаратах и антигенных смесях. Использо-

ние феномена десенсибилизации позволило Л. А. Зильберу (1958) превратить этот метод в аналитический.

Феномен десенсибилизации обнаружил А. М. Безредка в 1907 г. Этот феномен состоит в том, что организм, перенесший анафилактический шок в тяжелой или легкой форме, на несколько дней утрачивает гиперчувствительность к данному антигену и следующее его введение не сопровождается анафилактическим шоком. Десенсибилизирующей инъекцией широко пользуются в клиниках при введении лечебных (противостолбнячных, противогангренозных, противодифтерийных) сывороток. За 1—2 ч до введения основного количества препарата больной получает подкожно (не внутривенно!) 0,0005—0,001 л этой сыворотки. Если ранее ему уже вводили сыворотку данного вида животных, т. е. организм больного десенсибилизирован, эта инъекция обеспечит десенсибилизацию без каких-либо заметных нежелательных последствий.

К основным чертам анафилаксии как состояния гиперчувствительности относятся: специфичность, немедленность (анафилактический шок развивается в течение нескольких минут после введения антигена в кровь) и обусловленность реакции антителами.

Основное доказательство опосредованности реакции антителами сводится к возможности пассивного переноса анафилаксии на другое животное. Так, для десенсибилизации интактной морской свинки достаточно ввести сыворотку от десенсибилизированного животного. Гиперчувствительность такой свинки проявляется в развитии анафилактического шока под влиянием данного антигена. Пассивный перенос осуществляется антителами, находящимися в сыворотке десенсибилизированного животного. Их можно изолировать в виде чистой фракции γ -глобулинов. Именно эта фракция будет пассивно передавать состояние повышенной чувствительности другому животному.

Механизм развития анафилактического шока в общей форме представляется следующим образом. Циркулирующие в крови антитела адсорбируются на клетках тела. Повторное введение антигена приводит к взаимодействию антигена с антителами на поверхности клеток. В результате высвобождается большое количество гистамина и других биологически активных веществ. Картина анафилактического шока складывается из местного и общего действия этих веществ.

Необходимость адсорбции антител на клетках доказывается тем, что при создании пассивной анафилаксии между моментом введения антител и наступлением состояния десенсибилизации должно пройти несколько часов. Роль гистамина подтверждается тем, что инъекция нормальным животным этого вещества приводит к развитию гистаминного шо-

ка, который полностью воспроизводит картину анафилактического шока.

Если сенсибилизированному животному ввести соответствующий антиген не внутривенно, а внутрикожно, разовьется так называемая местная анафилаксия, или феномен Артюса. На месте инъекции через 30—60 мин развиваются отек и резкая гиперемия. В течение последующих нескольких часов отечность нарастает, воспалительный очаг уплотняется, кожа приобретает черно-красную окраску. При гистологическом исследовании обнаруживается острое экссудативно-геморрагическое воспаление. Основной клеточный компонент инфильтрата — полиморфно-ядерные лейкоциты. При малой дозе антигена через несколько часов начинается обратное развитие процесса, при массивной дозе местные явления нарастают. В последнем случае в более поздние сроки (через несколько суток) очаг может подвергнуться некрозу с последующим рубцеванием.

Однако для проявления описываемых феноменов важно не это. Местная анафилаксия, как и общая, обусловлена циркулирующими в крови антителами. Феномен Артюса может быть воспроизведен пассивно переносом сыворотки от сенсибилизированного животного с последующим внутрикожным введением соответствующего антигена. Наконец, развитие феномена характеризуется быстрой реакцией, возникающей немедленно вслед за внутрикожной инъекцией антигена. Гиперемия и отек развиваются уже в течение первых минут. Через час реакция резко выражена. Динамика развития симптомов, внешние проявления и гистологические сдвиги при феномене Артюса типичны для местной реакции гиперчувствительности немедленного типа. При феномене Артюса комплекс антиген — антитело, возникающий в стенках сосудов кожи, вызывает их повреждение, тромбозы, геморрагии, имитируя болезни иммунных комплексов (см. главу XVII).

Для местной анафилаксии, так же как и для анафилактического шока, характерен эффект десенсибилизации. Развитие феномена даже в слабой форме отменяет на несколько дней возможность его воспроизведения.

Выше было указано, что основным в механизме анафилаксии является адсорбция антител на поверхности клеток и последующая реакция антигена с этими антителами, приводящая к высвобождению биологически активных веществ. Для реализации этого процесса необходимы по крайней мере три условия: 1) антитела должны обладать цитотильностью; 2) должны существовать специальные клетки, выбрасывающие такие вещества под влиянием возникающего на их поверхности комплекса антиген — антитело; 3) введенный в кровь антиген должен иметь возможность достичь поверхности этих клеток; иначе говоря, в крови не должно быть тако-

го большого количества антител, которое бы полностью нейтрализовало введенные антигенные молекулы. Эти три условия действительно являются определяющими. Выше было показано, что выраженной цитофильностью обладают иммуноглобулины класса IgE. Следует подчеркнуть, что иммуноглобулины этого класса вырабатываются при участии Т-лимфоцитов-помощников (см. главу V), т. е. только в ответ на так называемые тимус-зависимые антигены. Иначе говоря, гиперчувствительность немедленного типа не может быть вызвана тимуснезависимыми антигенами, так как IgE не вырабатывается, а именно с этими антителами связано развитие анафилаксии и других реакций гиперчувствительности немедленного типа у человека, собак, кроликов, крыс, мышей. Только у морских свинок эти антитела (7Sy 1) являются подобием IgG, а не IgE. Однако основное условие сохраняется — они обладают выраженными цитофильными свойствами. Эти свойства нередко называют гомотитотропностью, т. е. сродством к клеткам собственного вида, или гетероцитотропностью — сродством к клеткам другого вида животных. Гетероцитотропностью обладают только IgG антитела. Вот почему человеческие или кроличьи антитела могут при введении морским свинкам создавать состояние пассивной сенсibilизации. Но это состояние возникает не за счет IgE антител. Так или иначе пассивный перенос реакций гиперчувствительности немедленного типа возможен на животных другого вида. На этом основывается и явление, получившее название обратной анафилаксии. Если морской свинке ввести γ -глобулины другого вида животных (например, кролика), то цитофильные молекулы адсорбируются на соответствующих клетках. Последующее введение антител (через 4—5 ч) против данного антигена вызовет анафилактическую реакцию. Обратная анафилаксия развивается только в тех случаях, когда в качестве антигена используются чужеродные γ -глобулины.

Специальными клетками, выделяющими медиаторы данного типа гиперчувствительности, являются базофилы и тучные клетки, которые рассеяны в соединительной ткани фактически всех органов. Реакция антиген — антитело на их поверхности ведет к разрушению клеток. Выделяются гистамин, гепарин, серотонин, брадикинин и так называемая медленно действующая липопротеидная субстанция (SRS-A). Наиболее ответственными за развитие реакции являются гистамин, SRS-A и брадикинин. Включение тучных клеток в продукцию вазоактивных аминов происходит лишь в том случае, если аллергеном связываются воедино несколько молекул антител, присоединившихся к клетке. Вот почему реакция тучных клеток с выделением гистамина и т. п. может развиваться только под влиянием поливалентных антигенов. Вазоактивные амины

в клетках связаны с белками в виде больших цитоплазматических гранул. Их выделение сопровождается дегрануляцией тучных клеток и базофилов.

Действие гистамина на сосудистые, мышечные и секреторные клетки связано с наличием на их поверхности специальных рецепторов, обозначаемых Г1 и Г2. Первый рецептор представлен на клетках гладкой мускулатуры и кровеносных сосудов; второй — опосредует действие гистамина в отношении желудочной секреции и сердечного ритма. Антигистаминные препараты, применяющиеся в клинике, являются их антагонистами в отношении этих рецепторов. Например, мепирамин блокирует связь гистамина с Г1 рецептором, а буримамид — с Г2.

Выделение гистамина и других вазоактивных аминов тучным и клетками блокируется β -адренергическими агонистами (эпинефрин, изопротеренол) и простагландинами. Это связано с тем, что увеличение циклического АМФ в клетках подавляет выделение гистамина.

У морских свинок главным «шоковым органом» при анафилактики являются легкие (спазм бронхиол), у человека — легкие (бронхиолы), гортань и сосудистая система. Основным и медиаторами служат гистамин и SRS-A. У мышей и крыс «шоковые органы» — кишечник и сосуды; у кроликов — легочные артерии; у собак — печеночные вены. Определяющие медиаторы — гистамин и серотонин.

Наличие цитофильных антител сочетается с невысокими титрами антител, циркулирующих в крови. При повышении уровня последних уменьшается вероятность развития реакций гиперчувствительности немедленного типа — анафилактики или аллергий. Именно поэтому основным методом лечения аллергий в настоящее время является, как это ни парадоксально, иммунизация больного тем антигеном (аллергеном), по отношению к которому у него имеется повышенная чувствительность. Основная задача при этом — добиться появления высокого уровня циркулирующих IgM и IgG антител. Тогда цитофильные IgE-антитела, адсорбированные на клетках, не будут иметь возможности соединиться с антигеном; последний нейтрализуется накопившимися в большом количестве IgM и IgG-антителами крови. Эти циркулирующие иммуноглобулины аллергологи нередко называют блокирующими.

Антитела, обуславливающие развитие аллергий, много лет назад, когда еще не знали о существовании иммуноглобулинов класса IgE, называли реактивами. Для реализации действия IgE антител участия комплемента не требуется.

Под аллергией понимают патологически повышенную и, следовательно, извращенную реакцию организма на определенные субстанции антигенной природы, которые у нор-

мальных индивидуумов не вызывают каких-либо болезненных явлений (например, астма и сенная лихорадка как следствие повышенной чувствительности к пыльце некоторых растений). Патологические расстройства разной степени тяжести — от аллергического насморка и конъюнктивита до приступов удушья (астма) и поражения почек — развиваются вследствие контакта с соответствующим антигеном, который в данном случае получил название аллергена. Кроме сенной лихорадки, известны аллергии к некоторым лекарственным веществам, красителям, шерсти и т.п. Есть люди, которые из-за аллергического поражения слизистых оболочек не могут работать, например, с кроликами; уезжают из Москвы в период цветения тополя, не могут применять стрептоцид (прием этого препарата или даже закапывание в глаз его раствора немедленно приводит к резчайшей крапивнице и сердечно-сосудистым расстройствам). Многие больные не знают, какой аллерген является причиной их страдания. Поиск аллергена — важнейшее мероприятие предупреждения аллергий.

Подобно местной анафилаксии, внутрикожное введение аллергена обуславливает быстро развивающуюся кожную реакцию гиперчувствительности немедленного типа (рис. 19). Введение посторонних аллергенов, как и в норме, не дает выраженной реакции — острой гиперемии, отека и др. Гиперчувствительность к тому или иному аллергену может быть перенесена пассивно с сывороткой от страдающего аллергией. Если сыворотку больного сенной лихорадкой ввести в кожу здорового индивидуума, а затем в это же место ввести соответствующий аллерген, то разовьется типичная местная реакция гиперчувствительности немедленного типа. Эта реакция получила название реакции Прауснитца-Кюстнера.

Перечисленные особенности аллергии помогают вести поиск вызывающих ее аллергенов. Если экстракты пыльцы различных растений или других подозреваемых аллергенов ввести больному внутрикожно в несколько мест, то положительная внутрикожная реакция разовьется только в месте инъекции того вещества, к которому алергизирован индивидуум. Реакция развивается немедленно и достигает максимума через 15—30 мин. По характеру это острое серозное воспаление с отеком в виде гиперемированной припухлости. Явления исчезают бесследно через несколько часов. Если сразу же после развития положительной реакции ввести данный аллерген повторно, феномен местного проявления гиперчувствительности немедленного типа не разовьется, что свидетельствует о возникшем состоянии десенсибилизации.

В клинической практике нередко пользуются классификацией аллергий, в которой синдромы, опосредуемые антителами, группируют в четыре типа [Адо А. Д., 1974]: 1) анафилак-

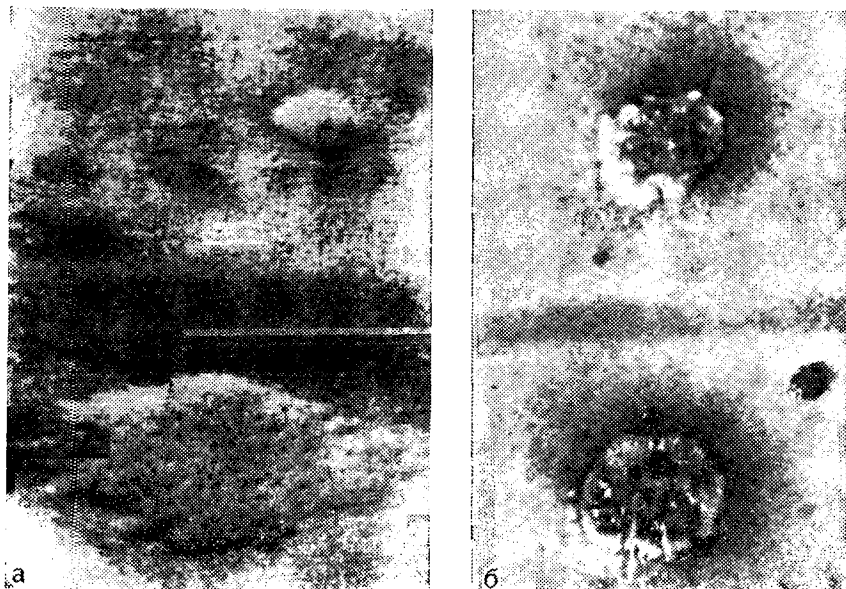


Рис. 19. Кожная реакция гиперчувствительности (по Э. Райка) немедленного типа (а) на трихофитин через 30 мин после внутрикожного введения и замедленного типа (б) на туберкулин через 48 ч после внутрикожного введения.

сия — общие или локальные реакции, развивающиеся вследствие выделения короткоживущих фармакологически активных агентов. Последние выделяются в результате присоединения антигена к фиксированным на клетках антителам; 2) повреждения клеток или тканей, вызванные направленными против них цитотоксическими антителами. Антитела могут быть введены извне или быть аутоантителами; 3) реакция Артюса — резко выраженная воспалительная реакция в ответ на формирование комплекса антиген — антитело в стенке сосудов при местном введении антигена; 4) сывороточная болезнь — синдром, развивающийся после однократного введения большого количества антигенного материала, в результате чего антитела начинают вырабатываться до исчезновения антигена из циркуляции. Возникающий комплекс антиген — антитело обеспечивает как бы генерализованный и не столь остро протекающий феномен Артюса.

Все реакции гиперчувствительности (аллергии), обусловленные антителами, распадаются на два основных типа: реакции анафилаксии, развивающиеся при попадании антигена у всех особей, и реакции атопии, которые проявляются только у некоторых индивидуумов, имеющих соответствующую пред-

расположенность. Среди атопий различают аллергическую астму, аллергические риниты, аллергические уртикарные сыпи и атопические дерматиты (экземы).

Гиперчувствительность замедленного типа

Существует другая форма повышенной чувствительности к антигенным субстанциям — гиперчувствительность замедленного типа. Впервые этот тип реагирования был описан в 1890 г. Р. Кохом у больных туберкулезом при подкожном введении им туберкулина. Туберкулин — антигенный препарат, представляющий собой фильтрат культуры возбудителя туберкулеза. У лиц, не болеющих туберкулезом, наблюдается отрицательная реакция на туберкулин: его введение вызывает легкую скоропроходящую гиперемию. Организм таких больных особенно чувствителен к препарату, что проявляется через 6—12 ч после его введения. Появившаяся краснота увеличивается, возникают припухлость, уплотнение; через 24—48 ч реакция достигает максимума. Следовательно, предварительный контакт организма с возбудителем туберкулеза обеспечивает развитие сенсибилизации, выражающейся в такого типа замедленной реакции на соответствующий антиген. На этом основана диагностическая реакция Пирке.

Несмотря на то, что туберкулиновый тип реагирования на повторный контакт с антигеном описан давно, интерес к реакции гиперчувствительности замедленного типа особенно возрос только после 40—50-х годов XX века. Успехи в изучении несовместимости тканей при пересадках привели к формированию понятия о трансплантационном иммунитете. Оказалось, что основной иммунный механизм отторжения чужеродного трансплантата не гуморальный, а клеточный. При этом реагирование на трансплантат во многом напоминает туберкулиновую реакцию гиперчувствительности замедленного типа. У животных А, сенсибилизированных предварительной трансплантацией тканей (например, кожи) доноров Б, наблюдаются типичные реакции гиперчувствительности замедленного типа на внутрикожное введение антигенных препаратов из тканей Б.

Изучение реакций гиперчувствительности замедленного типа привело к выяснению особенностей и ведущих механизмов их осуществления: во-первых, этот тип повышенной чувствительности не связан с циркулирующими в крови антителами; во-вторых (и это следствие — доказательство первого), гиперчувствительность замедленного типа не может быть перенесена другому животному пассивно, т. е. с помощью введения сыворотки от сенсибилизированного организма; в-третьих, кожные реакции, выявляющие повышенную чувствительность при гиперчувствительности замедленного типа,

не характеризуются немедленностью. Они развиваются в течение многих часов: начало — не ранее 6—8 ч, расцвет — через 24—48 ч (см. рис. 19); в-четвертых, местные проявления при гиперчувствительности замедленного типа и реакциях немедленного типа различаются не только по времени развития реакций, но и по гистологической картине. При гиперчувствительности немедленного типа очаг формируется как острое серозно-экссудативное воспаление; клеточную основу его составляют полиморфноядерные клетки. При гиперчувствительности замедленного типа реакция развивается в виде плотной инфильтрации, имеющей длительное течение; клеточную основу инфильтрата составляют мононуклеары — лимфоциты, моноциты, макрофаги. Мононуклеарная инфильтрация особенно резко выражена вокруг малых кровеносных сосудов. При гиперчувствительности замедленного типа характерны реакции лимфопении; в-пятых, как и другие иммунологические реакции, гиперчувствительность замедленного типа характеризуется специфичностью. Положительные кожные пробы возникают только в ответ на введение тех антигенов, которыми был sensibilized организм. При внутривенном введении причинного антигена развивается системная реакция гиперчувствительности замедленного типа. Для нее типичны лихорадка, моноцитопения и различные кожные сыпи.

Как уже указывалось, гиперчувствительность замедленного типа индуцируется антигенами микобактерий туберкулеза, в частности туберкулином. Аналогичные процессы развиваются и при других инфекциях — туляремии, бруцеллезе, сифилисе, гонорее, коклюше; при вирусных инфекциях, включая корь, оспу, герпес; при грибковых (каандиды, гистоплазма), протозойных (токсоплазма, малярия, лейшмани, трипаносома) инфекциях и гельминтозах. Несомненно, реакции гиперчувствительности замедленного типа являются в этих случаях защитной формой реагирования организма. Они обеспечивают так называемый клеточный антиинфекционный иммунитет в отличие от гуморального, опосредуемого антителами. Это доказывается опытами по созданию устойчивости к заражению соответствующими возбудителями путем переноса лимфоцитов от иммунных животных интактным — адоптивный иммунитет (см. ниже). Однако болезненные проявления клеточной формы реагирования в виде гранулем, клеточных инфильтратов, длительно текущих воспалительных реакций могут обеспечивать своеобразную патологическую симптоматику, что нередко маскирует защитную роль гиперчувствительности замедленного типа. При ряде инфекций (туберкулез, бруцеллез и др.) кожные реакции гиперчувствительности замедленного типа служат специфическими диагностическими пробами.

Гаптены — динитрохлорбензол, производные пикриловой кислоты и другие красители, антисептики, лекарственные пре-

параты, растительные яды, индуцируют развитие гиперчувствительности замедленного типа. В этих случаях болезненная симптоматика является ведущей. Выделяется как особая форма аллергий множество производственных и бытовых дерматитов, колитов и других заболеваний, вызываемых агентами, способными стимулировать гиперчувствительность замедленного типа. Этот тип повышенной чувствительности может быть индуцирован и некоторыми растворимыми белками, в частности сывороточным и яичным альбуминами, некоторыми бактериальными анатоксинами. Наиболее четко гиперчувствительность замедленного типа возникает при введении малого количества этих белков в смеси с соответствующими антителами или с помощью других средств, замедляющих поступление большого количества антигена в кровоток. Самыми типичными и интересными для неинфекционной иммунологии индукторами гиперчувствительности замедленного типа являются трансплантационные антигены, т. е. антигены, ответственные за несовместимость тканей при пересадках. Выше говорилось, что ведущий механизм трансплантационного иммунитета, приводящего к отторжению чужеродных органов, тканей или клеток — это реакции гиперчувствительности замедленного типа, опосредуемые не антителами, а непосредственно лимфоцитами — эффекторами, ранее называвшимися сенсibilизированными лимфоцитами.

Лимфоциты-эффекторы несут на своей поверхности специфические структуры — рецепторы. Они, подобно активным участкам молекул антител, способны комплексарно (специфически) взаимодействовать с сенсibilизирующим антигеном. Их часто называют клеточными антителами. При взаимодействии с антигеном выделяются гуморальные факторы — медиаторы клеточного иммунитета (см. главу X). Одной из основных функций медиаторов является вовлечение макрофагов в процесс разрушения антигена (микробов или чужеродных клеток), против которого сенсibilизированы лимфоциты. Именно поэтому подавляющее большинство клеток инфильтрата при развитии реакций гиперчувствительности замедленного типа относится к мононуклеарам — лимфоцитам и макрофагам. Макрофаги активированы, т. е. отличаются очень большими размерами, содержат повышенное количество лизосом, имеют усиленную фагоцитарную и микробоцидную активность. Повышенная активность этих макрофагов неспецифична, она распространяется не только на агент, вызвавший реакцию, но и на другие агенты микробного или иного происхождения. Таким образом, существует два компонента реакции — специфический (распознавание антигена лимфоцитами) и неспецифический (рекрутирование макрофагов), обеспечивающих элиминацию и разрушение причинного агента. Если в качестве антигенных

субстанций, стимулировавших гиперчувствительность замедленного типа, использовался трансплантат чужеродной ткани, то этот трансплантат разрушается и отторгается.

Опосредуемость реакций гиперчувствительности замедленного типа лимфоидными клетками и их участие в инактивации или разрушении соответствующих антигенов доказываются двумя основными феноменами.

1. Состояние гиперчувствительности замедленного типа может быть перенесено другому организму, но не с помощью сыворотки сенсibilизированного животного, а посредством введения ему лимфоидных клеток от этого животного. В качестве таких клеток можно использовать лимфоциты крови, клетки лимфатических узлов или селезенки. Такой перенос специфического иммунного состояния называют не пассивным, а адоптивным (от *adopt* — воспринимать), т. е. воспринятым. У животного, получившего внутрибрюшинно или внутривенно лимфоидные клетки от сенсibilизированной к туберкулину особи, наблюдаются положительные кожные реакции гиперчувствительности замедленного типа. Если же лимфоидные клетки перенести в брюшную полость реципиента не свободно, а в миллипористой камере, то адоптивного переноса гиперчувствительности замедленного типа не произойдет. Дело в том, что миллипористые камеры готовят из целлюлозных фильтров с малым размером пор (0,1—0,2 мкм). Через эти поры в камеру проникают питательные вещества для клеток, продукты их жизнедеятельности, в том числе антитела, которые выходят из камеры, хотя сами клетки выйти в циркуляцию не могут. Адоптивная гиперчувствительность замедленного типа не развивается — в организме не циркулируют сенсibilизированные к соответствующему антигену клетки.

2. Если от сенсibilизированного животного взять лимфоциты, поместить их в питательный раствор и добавить туда соответствующий антиген, то антиген фиксируется на клетках, сенсibilизированные лимфоциты погибают и лизируются. Цитотоксическое действие антигена на сенсibilизированные лимфоциты *in vitro* отличается специфичностью и типично именно для гиперчувствительности замедленного типа.

В случаях, когда индуктором состояния гиперчувствительности замедленного типа у животного А был аллотрансплантат кожи или другой ткани от животного Б, в крови и лимфоидных тканях животного А накапливаются лимфоциты-эффекторы, способные специфически взаимодействовать с клетками генетической природы Б. Весьма четко этот феномен наблюдается в культуре *in vitro*. Для этого необходимо получить культуру клеток, например фибробластов генетической природы Б. Если к культуре фибробластов Б добавить лимфоциты сенсibilизированного животного А, то лимфоциты

проявят «агрессивность» против клеток Б. К каждому фибробласту присоединится несколько лимфоцитов. Конечный результат — гибель лимфоцитов и разрушение фибробластов. Феномен иммунологически специфичен, т. е. проявляется только в отношении антигенов, а следовательно, и клеток того организма, против которого сенсibilизирован реципиент А.

Основные отличительные особенности реакций гиперчувствительности немедленного и замедленного типов приведены в табл. 11.

Итак, антитела со всеми свойственными им функциями — это материальный субстрат первой формы иммунного, т. е. специфического, реагирования — гуморального иммунного ответа. Гиперчувствительность замедленного типа представляет собой вторую форму специфического реагирования — клеточный иммунный ответ. Материальным субстратом, определяющим эту форму реагирования, являются непосредственно лимфоциты-эффекторы. Первая — гуморальная, форма иммунного ответа в большей мере связана с В-системой иммунитета, вторая — клеточная, с Т-системой.

Значимость гуморальной и клеточной форм реагирования при разных процессах различна. В-система определяет имму-

Т а б л и ц а 11

Особенности реакций гиперчувствительности

Признак	Гиперчувствительность	
	немедленного типа	замедленного типа
Клинические проявления	Анафилаксия, сывороточная болезнь, сенная лихорадка, астма, феномен Артюса	Туберкулез, туляремия, бруцеллез, реакция на некоторые гаптены, трансплантационные реакции
Антиген	Сывороточные и другие растворимые белки, пыльца растений и другие аллергены	Вирусы, некоторые бактерии, трансплантационные антигены, некоторые гаптены
Антитела в крови	Присутствуют	Отсутствуют или не играют роли
Сроки проявления	Несколько минут	Не ранее 6—8 ч
Гистология	Полиморфноядерная инфильтрация, экссудация	Мононуклеарно-клеточная инфильтрация
Пассивный перенос	Возможен	Невозможен
Активный перенос	»	Возможен
Токсичность антигена для сенсibilизированных лимфоцитов	Отсутствует	Резко выражена
Десенсibilизация	Успешна	Невозможна

нитет при большинстве бактериальных инфекций, антитоксический иммунитет, анафилаксию, аллергии немедленного типа, ряд аутоиммунных заболеваний (некоторые анемии, тиреозит Хашимото, красная волчанка и др.). Т-система — иммунитет при большинстве вирусных инфекций, некоторых бактериальных инфекциях (туберкулез, туляремия, лепра, бруцеллез), аллергии замедленного типа, трансплантационный иммунитет, противоопухолевый иммунитет, некоторые виды иммунопатологии и старение.

Глава V

ИММУННАЯ СИСТЕМА. Т- И В-ЛИМФОЦИТЫ

Центральные органы иммунной системы

Иммунный ответ осуществляется лимфоидной системой — органом иммунитета (рис. 20). В лимфоидной системе различают центральные и периферические органы. Выработка антител и накопление сенсибилизированных лимфоцитов происходят в периферических органах, развитие и функционирование которых зависят от центральных. Клетки, осуществляющие иммунные реакции, нередко в обобщенной форме называют иммуноцитами, или иммунокомпетентными клетками.

Символы Т и В¹ введены в иммунологическую литературу И. Ройт в 1969 г.

Тимусзависимая система реализует иммунный ответ клеточного типа с накоплением эффекторных лимфоцитов. Развитие и функционирование бурсазависимой системы зависят от другого центрального органа — сумки Фабрициуса у птиц и неизвестного до сих пор ее аналога у млекопитающих. Эта система ответственна за реализацию гуморального иммунного ответа. Т-система контролирует работу В-системы.

Наиболее ярким доказательством реальности существования двух клеточных систем иммунитета у человека служат врожденные иммунологические дефекты. Эти генетически обусловленные пороки развития называют первичными иммунодефицитами (см. главу XVI). При этом имеются формы, когда полностью отсутствует способность вырабатывать антитела (агаммаглобулинемии) с сохранением нормального ответа по клеточному типу. Наоборот, описаны дефициты Т-системы иммунитета при высокой сохранности

¹ Первые буквы двух определений: «Thymus-dependent system» и «Bur-sa-dependent system» — тимусзависимая и бурсазависимая системы лимфоидных клеток.

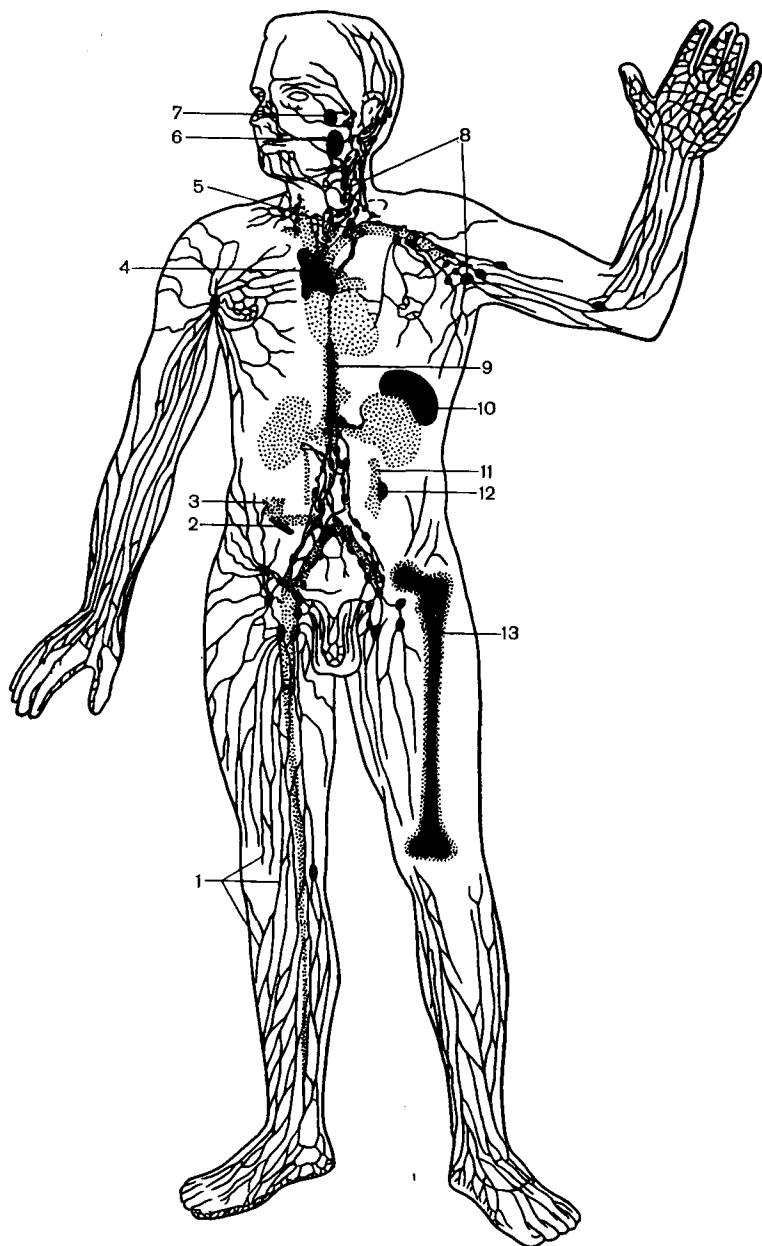
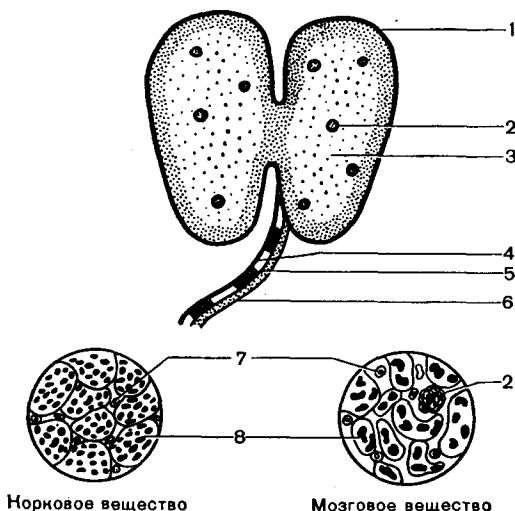


Рис. 20. Лимфондная система человека.

1 — тканевые лимфатические сосуды; 2 — аппендикс; 3 — толстые кишки; 4 — вилочковая железа; 5 — левая подключичная вена; 6 — миндалины; 7 — аденоиды; 8 — лимфатические узлы; 9 — грудной проток; 10 — селезенка; 11 — тонкие кишки; 12 — групповые лимфатические фолликулы (пейеровы бляшки); 13 — костный мозг.

Рис. 21. Строение вилочковой железы.

1 — кора; 2 — тельца вилочковой железы; 3 — мозговое вещество; 4 — лимфатический проток; 5 — вена; 6 — артерия; 7 — эпителиальные ретикулярные клетки; 8 — лимфоциты вилочковой железы.



функциональных способностей В-системы (гипоплазия вилочковой железы).

Вилочковая железа (тимус). Благодаря работам Дж. Миллера (1961), Ф. Бернета (1964) и др. была установлена выдающаяся роль вилочковой железы в иммунитете и формировании лимфоидной системы. Вилочковая железа фактически является первичным (центральным) лимфоидным органом. Она состоит из двух больших долей, которые делятся на более мелкие дольки. Каждая долька состоит из коркового и мозгового слоев. Строма вилочковой железы представлена специфическими эпителиальными клетками отростчатой формы. Корковый слой густо заполнен малыми лимфоцитами (timoцитами), отличающимися высокой митотической активностью. Морфологически от малых лимфоцитов других тканей они не отличаются. Плотность тимоцитов в мозговом слое меньшая. Организованных зародышевых центров в вилочковой железе нет (рис. 21). Эпителиальные клетки мозгового слоя местами образуют компактные островки — тельца вилочковой железы. Аfferентные лимфатические сосуды в органе отсутствуют. В корковом слое происходит активное размножение тимоцитов. Считают, что именно здесь темп митозов самый высокий; клеточный цикл протекает всего 3—6 ч. Кортикальные лимфоциты отличаются незрелостью и прогрессивно дифференцируются в зрелые Т-лимфоциты. При этом они мигрируют в мозговой слой, а оттуда в кровь. Помимо Т-лимфоцитов вилочковая железа выбрасывает в кровь активные гормоноподобные вещества (гуморальные факторы), содействующие созреванию Т-лимфоцитов. Тимоциты располагаются небольшими островками, ограниченными

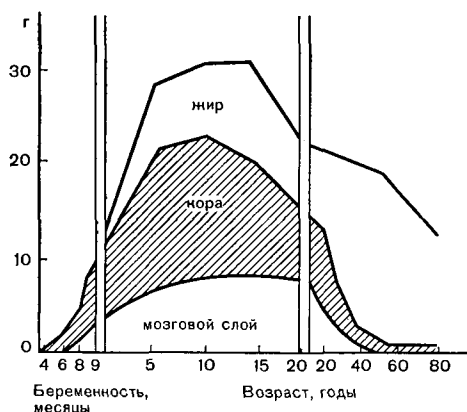


Рис. 22. Изменение массы вилочковой железы в зависимости от возраста плода и человека [И. Хаммер, 1963].

друг от друга эпителиальными клетками. Эти скопления по несколько десятков активно делящихся тимических лимфоцитов получили название пакетов Кларка [Ф. Бернет, 1974]. В каждом пакете обязательно присутствует 1—2 макрофага, нередко с остатками фагоцитированного ядерного материала. Часть возникающих тимических лимфоцитов здесь же и разрушается. Другая часть выходит в циркуляцию. Около 70% всех лимфоцитов мышцы возникает в вилочковой железе.

Вследствие высокой митотической активности клеток этого органа нуклеиновых кислот содержится в нем гораздо больше, чем в других тканях.

Вилочковая железа закладывается в период раннего эмбриогенеза на первом месяце развития человеческого эмбриона из энтодермы третьего и четвертого бронхиальных карманов. Лимфатические узлы формируются только через 3 мес. Формирование синусов и стромы лимфатических узлов заканчивается вскоре после рождения; лимфоидные фолликулы развиваются в течение первого месяца жизни, лимфоидная ткань полностью развивается к 5-летнему возрасту. У других млекопитающих и птиц развитие лимфоидной ткани происходит подобным образом, но в иные, соответствующие их онтогенезу сроки. С возрастом вилочковая железа постепенно равномерно атрофируется. Абсолютная масса этого органа увеличивается до периода половой зрелости, а затем снижается. Относительная масса уменьшается все время, начиная с момента рождения. Полностью орган никогда не исчезает (рис. 22). Лимфоидная паренхима вилочковой железы составляет к 17 годам 50—55% от массы всего органа, а к 60 годам около 10%.

Удаление вилочковой железы у новорожденных животных приводит через 1½—3 мес к тяжелым трофическим (wasting-синдром) и иммунным нарушениям. Wasting-синдром характеризуется истощением, малорослостью, выпадением шерсти, дерматитами, диареей. В селезенке первое время после операции продолжается эмбриональное кроветворение с задержкой образования лимфоидных элементов. В поздние сроки

лимфоидная ткань селезенки атрофируется при активном разрастании ретикулоэндотелиальных элементов. Отмечается деструкция лимфоидных фолликулов и лимфоцитов.

В лимфатических узлах происходит замещение лимфоидных элементов ретикулоэндотелиальными и плазматическими клетками. Узлы атрофируются. В периферической крови отмечаются лимфопения, нейтрофилез. В селезенке и лимфатических узлах атрофии подвергаются так называемые тимус-зависимые зоны (см. ниже).

У животных, которым удалили вилочковую железу, снижены иммунные реакции. Особенно резко угнетаются реакции гиперчувствительности замедленного типа.

Сумка Фабрициуса. Своеобразным коллектором лимфоидной ткани у птиц является сумка Фабрициуса. Этот орган располагается на дорсальной поверхности клоаки, являясь ее дивертикулом. Основным структурным элементом сумки служит лимфоидный узелок с корковой и медуллярной зонами. Корковая зона содержит несколько плотных слоев лимфоцитов. Под ними расположен базальный эпителиальный слой эндодермального происхождения. В центральной части среди ретикулоцитов находятся преимущественно малые лимфоциты. По периферии мозговой зоны расположены менее зрелые базофильные клетки лимфоидного ряда. Сумка Фабрициуса развивается между 12-м и 13-м днем эмбрионального периода (у кур). Инволюция этого органа начинается после 7-й недели жизни цыплят. Удаление сумки Фабрициуса приводит к избирательному выключению синтеза антител. Способность развивать клеточные реакции гиперчувствительности замедленного типа при этом полностью сохраняется. Эти опыты на птицах помогли разделить органы иммунитета на Т- и В-системы.

Групповые лимфатические фолликулы (пейеровы бляшки). У млекопитающих не обнаружен орган, который был бы функциональным аналогом сумки Фабрициуса и являлся центральным органом, определяющим способность к гуморальному иммунному ответу. Предполагают, что эквивалентом бурсы является совокупность лимфатических фолликулов (пейеровых бляшек), располагающихся в стенке тонкого кишечника. Прямое подтверждение этого предположения невозможно, поскольку нельзя хирургически удалить все лимфатические фолликулы. Эти лимфоидные органы располагаются в подслизистом слое и представляют собой совокупность отдельных зародышевых центров, окруженных компактными скоплениями лимфоцитов, подобными корковому слою сумки Фабрициуса (рис. 23). Лимфатические сосуды выходят из ворсин кишечника. Оттекающая лимфа поступает в систему грудного протока. Если не подтвердится предположение о том, что групповые лимфатические фолликулы служат у млекопита-

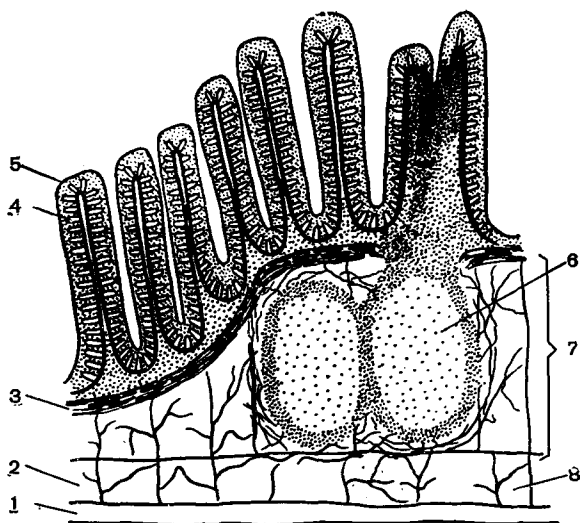


Рис. 23. Строение группового лимфатического фолликула (пейеровой бляшки) и его расположение в кишечной стенке.

1 — продольные мышцы; 2 — циркулярные мышцы; 3 — мышечный слой слизистой оболочки; 4 — кишечная ворсинка; 5 — крипты Люберкюна; 6 — центр размножения; 7 — групповой лимфатический фолликул; 8 — лимфатические сосуды.

ющих аналогом сумки Фабрициуса, то эти лимфоидные скопления придется отнести к периферическим лимфоидным тканям.

Костный мозг. Существует весьма обоснованное мнение, что у млекопитающих вообще отсутствует какой-либо аналог сумки Фабрициуса и В-система лимфоидных клеток возникает из кроветворных стволовых клеток непосредственно в костном мозге. Это подкрепляется тем, что подавляющее большинство костномозговых лимфоцитов относится к В-лимфоцитам (см. далее) и могут выполнять функции предшественников плазматических клеток, т. е. антителопродукторов. Даже если это мнение не подтвердится и будет точно установлен аналог сумки Фабрициуса, в котором формируются В-лимфоциты перед тем, как «заселить» костный мозг, этот орган все равно необходимо рассматривать в качестве центрального органа иммунной системы.

Дело в том, что костный мозг поставляет полипотентные стволовые клетки для всех ростков кроветворения и лимфопоэза. Иначе говоря, в костном мозге находится самоподдерживающаяся популяция стволовых клеток — родоначальниц всех остальных клеток крови. Стволовые клетки выходят из костного мозга в кровоток, циркулируют в организме, поступают в вилочковую железу и другие лимфоидные органы, в кото-

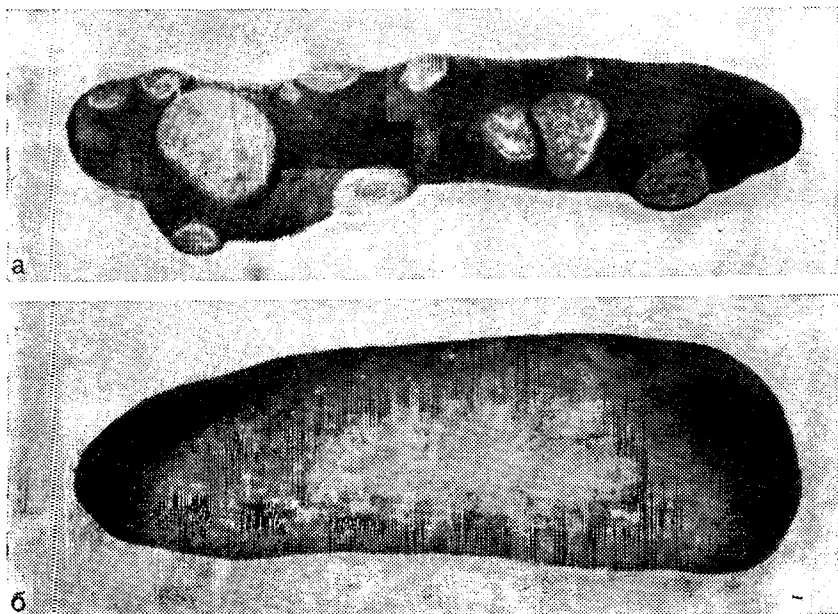


Рис. 24. Селезенка мыши. Колонии кроветворных стволовых клеток (а) у облученных в летальной дозе реципиентов. Селезенка без колоний (б).

рых осуществляется их лимфопоэтическая дифференцировка, сопровождающаяся размножением и накоплением Т- или В-лимфоцитов. Стволовые клетки служат своего рода «семенным материалом» для всех лимфоидных тканей, поэтому костный мозг, несомненно, является одним из центральных органов иммунной системы.

Костный мозг построен из ретикулярной стромы, среди которой располагаются размножающиеся и дифференцирующиеся элементы эритроидного, миелоидного и мегакариоцитарного ростков. В человеческом костном мозге содержится 1,5% ретикулярных клеток, 60—65% миелоидных клеток разной степени зрелости, 6—8% лимфоцитов, 1—3% моноцитов и 0,4% мегакариоцитов, 0,4% плазматических ретикулярных клеток и около 26% эритробластов. Кроветворные стволовые клетки морфологически не идентифицированы.

Тем не менее Дж. Тилл и Е. Мак-Каллоч (1961) разработали прием их количественного учета в костном мозге и других кроветворных органах у мышей. При введении летально облученным реципиентам клеток кроветворной ткани эти авторы обнаружили образование в селезенке реципиентов дискретных колоний на 8—10-й день после введения клеток (рис. 24). В наибольшем количестве эти колониеобразующие

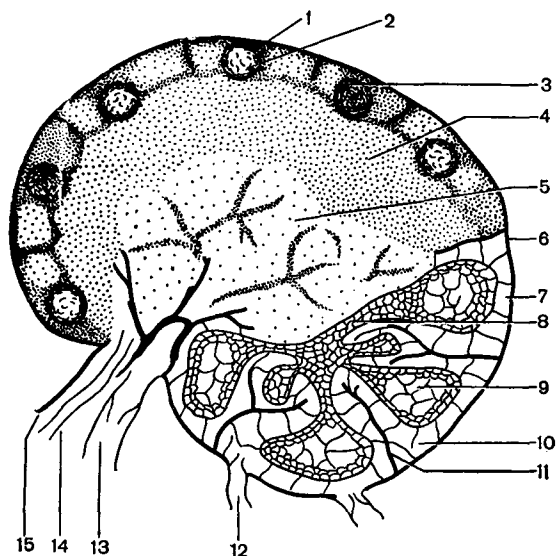


Рис. 25. Строение лимфатического узла.

1 — корковый слой; 2 — центр размножения; 3 — первичный фолликул; 4 — паракортикальный слой; 5 — мозговое вещество; 6 — капсула; 7 — синусоиды; 8 — мякотный шнур; 9 — вторичные узелки; 10 — субкапсулярный синус; 11 — трабекула; лимфатические протоки; 12 — афферентный и 13 — эфферентный; 14 — вена; 15 — артерия.

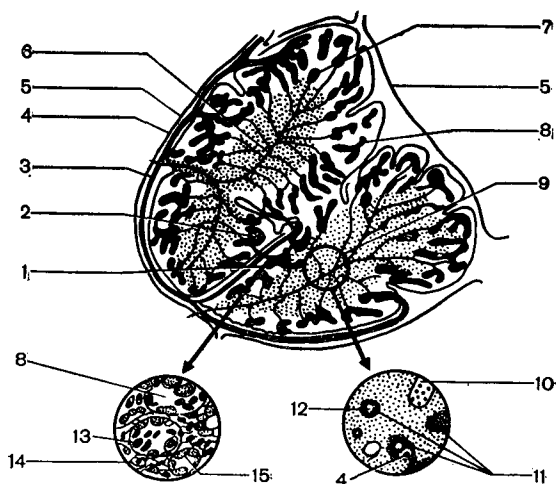
единицы содержатся в костном мозге, в наименьшем — в периферической крови; селезенка по этому признаку занимает промежуточное положение. Установлено, что число образующихся колоний прямо пропорционально числу введенных кроветворных клеток. Дальнейшие исследования показали, что каждая колония состоит из $\sim 10^6$ незрелых клеток эритроидного, миелоидного или мегакариоцитарного роста, которые представляют собой потомство одной клетки. На основании функциональных признаков колониеобразующих единиц и способности к самоподдержанию их считают стволовыми клетками. Таким образом, можно судить о количественном содержании стволовых элементов в исследуемой ткани. Концентрация стволовых клеток в костном мозге равна $\sim 10^{-4}$, в селезенке — 10^{-5} при расчете на все карициты. Темп миграции стволовых клеток из костного мозга в кровотоки у человека неизвестен. У мышей он весьма высок: в течение суток из костного мозга выселяется 2% стволовых клеток (от их общего числа).

Периферические (вторичные) лимфоидные органы

Лимфатические узлы. Основная структура их организации — лимфатический фолликул (рис. 25). Лимфатические фолликулы, или первичные фолликулы, составляющие корковое вещество узлов, содержат в основном лимфоциты разной степени зрелости и ретикулярные клетки. В централь-

Рис. 26. Строение селезенки.

1 — трабекула с веной; 2 — красная пульпа; 3 — вена; 4 — артерия; 5 — капсула; 6 — пульпарная артерия; 7 — артериальные гильзы; 8 — синусоиды; 9 — белая пульпа; 10 — трабекула; 11 — собственно лимфоидная ткань; 12 — центр размножения; 13 — эритроциты; 14 — ретикулярные макрофаги; 15 — синусоидальные макрофаги.



ной части фолликула преобладают ретикулярные клетки и клетки, находящиеся в состоянии митоза (герминативный центр, или центр размножения). Герминативные центры называют еще вторичными фолликулами. Кортиковое вещество в виде шнуров, проходя между трабекулами, проникает внутрь узла (мозговое вещество). Четко выраженных центров размножения в мозговом веществе нет. Область, в которой располагаются фолликулы, называется поверхностным корковым слоем. Область лимфоидной ткани, примыкающая к лимфатическим фолликулам и граничащая с медуллярной областью, называется паракортикальной зоной, или глубокой корой. В последние годы она получила дополнительное название — тимусзависимая зона, в отличие от поверхностного коркового слоя с фолликулами, получившего название тимуснезависимой зоны. Это связано с тем, что после удаления вилочковой железы паракортикальная зона атрофируется. Наоборот, при клеточном типе иммунного ответа паракортикальная зона значительно увеличивается, что свидетельствует об участии именно этой зоны в функционировании Т-системы иммунитета. При развитии иммунного ответа по гуморальному типу, связанному с деятельностью В-системы и выработкой антител, резко возрастает число центров размножения. В медуллярной области накапливаются плазматические клетки.

Лимфа, оттекающая от лимфатических узлов, собирается в крупных лимфатических сосудах и через грудной проток поступает в верхнюю полую вену. Основными, фактически единственными клеточными элементами лимфы являются малые лимфоциты. Ежеминутно в кровяной поток поступает огромное количество лимфоцитов. В течение суток в кровяное русло

выходит такое количество лимфоцитов, которое в несколько раз превышает их содержание в крови. Этот факт имеет принципиальное значение, так как свидетельствует о том, что лимфоциты через системы тканевых капилляров и лимфатических сосудов приходят в лимфатические узлы и снова возвращаются в грудной проток. Происходит постоянная рециркуляция лимфоцитов — главных клеток иммунной системы. Без антигенной стимуляции не менее 95% лимфоцитов лимфатических узлов составляют лимфоциты, которые пришли из циркуляции, а не возникли в зародышевых центрах.

После иммунизации проникающие через афферентные лимфатические сосуды антигены захватываются макрофагами и локализуются в тимусзависимой зоне и в стенках лимфатических синусов. Это один из первых этапов антигенной стимуляции. Фагоцитирование усиливается при наличии антител. Вторая область локализации антигена — лимфоидные фолликулы, в которых антиген захватывается дендритными клетками. Однако эти клетки захватывают антиген при обязательном наличии антител, т. е. они захватывают и длительно удерживают комплекс антиген — антитело. В течение первых суток после антигенной стимуляции значительно снижается выход лимфоцитов из лимфатического узла и нарастает их число в паракортикальной зоне. Увеличивается также количество гранулоцитов. В течение последующих 3—4 дней количество лимфоцитов, покидающих лимфатический узел и выходящих в кровь, возрастает. Клеточность лимфатических узлов нарастает, граница между глубокой и поверхностной корой становится менее выраженной в обеих указанных зонах, появляются первые антителосодержащие клетки. Начиная с 5—6-го дня общее количество эмигрирующих лимфоцитов уменьшается. Однако лимфоциты, стимулированные антигеном, продолжают интенсивно расселяться через кровь в другие лимфоидные ткани. В фолликулах развиваются центры размножения, вокруг которых выявляются плазматические клетки — продуценты антител. Последние в большом количестве накапливаются в медуллярных тяжах.

Селезенка. Основным структурным элементом этого органа является селезеночная долька (рис. 26). Она пронизана так называемыми синусоидами, содержащими красную пульпу, в которой находится большое количество эритроцитов. Собственно лимфоидная ткань представлена белой пульпой, которая располагается в синусоидах тяжами вдоль артериол. Она построена аналогично лимфоидным фолликулам, имеет центры размножения и узкую зону, соответствующую паракортикальной тимусзависимой зоне. В селезенке нет лимфатических сосудов. Клеточный обмен между лимфоидной тканью селезенки и кровью (циркуляция лимфоцитов и стволовых клеток) осуществляется через трабекулы и ретикулярную ткань

синусов. Лимфоидная ткань селезенки участвует преимущественно в иммунных реакциях гуморального типа, обеспечивая накопление больших количеств плазматических клеток, синтезирующих антитела. При внутривенном введении антигена антитела вырабатываются главным образом в селезенке.

Кровь. К периферическим тканям иммунной системы относится и кровь. В ней циркулируют кроветворные стволовые клетки и лимфоциты обоих типов. Моноциты и нейтрофилы осуществляют фагоцитарные функции. Среди лейкоцитов крови человека 30% составляют лимфоциты. Общее число циркулирующих в крови человека лимфоцитов выражается астрономической цифрой — 10^{10} .

Генез и взаимодействие Т- и В-лимфоцитов

В настоящее время показано, что клетки — предшественники иммуноцитов отличаются своеобразным гистогеном. На рис. 27 демонстрируется схема иммунопоза у человека. Выдающуюся роль в ее создании сыграли иммуногенетические работы в клинике: исследования генетических дефектов иммунитета у человека. Это связано с тем, что различные формы генетических блоков, выявляемых у детей, прямо демонстрируют наличие того или иного самостоятельного звена развития или функционирования иммунной системы. Например, наличие врожденной агаммаглобулинемии при полной сохранности клеточных форм реагирования однозначно доказывает независимость гистогенеза Т- и В-клеточных систем.

Существование генетических дефектов, выключающих обе системы, доказывает, что их развитие начинается из общего предшественника. Наличие изолированного дефекта только по продуцентам IgA или только по Т-супрессорам свидетельствует, что на последних этапах дифференцировки эти клетки выходят на независимый от других субпопуляций этап гистогенеза.

Вот такая иммуногенетическая расшифровка позволила группе экспертов ВОЗ в ноябре 1977 г. построить наиболее современную схему гистогенеза клеток иммунной системы человека. Конечно, эксперты пользовались обширными данными экспериментальной иммунологии. Однако основной задачей было построение схемы иммунной системы человека. Она построена с максимально возможной точностью и объективностью. Ни одно звено или клетка, наличие которых не подтверждено иммуногенетическим анализом применительно к человеку, в нее не включены.

Родоначальницей всех клеток иммунной системы является кроветворная стволовая клетка. Эта полипотентная самоподдерживающаяся единица генерирует лимфоидную стволовую клетку (LSC), т. е. общего «прародителя» Т- и В-систем лим-

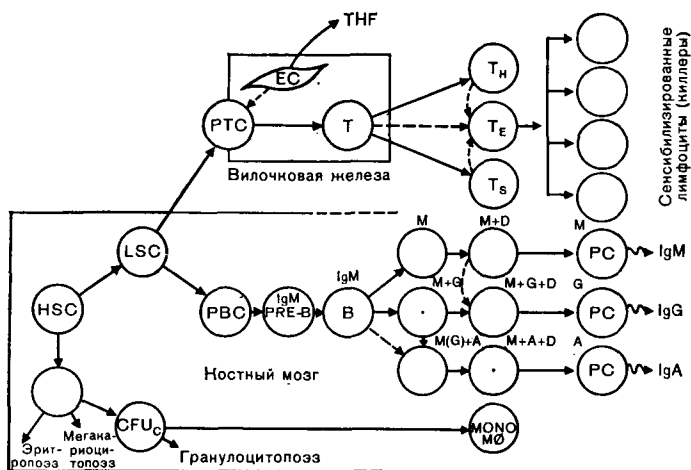


Рис. 27. Схема развития иммуноцитов.

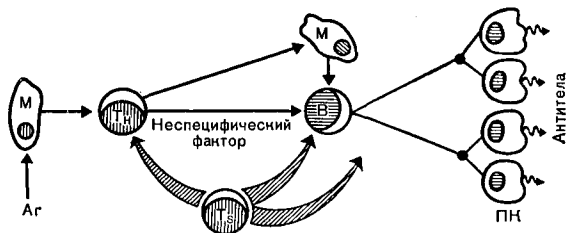
HSC — гемопоэтическая стволовая клетка; CFU_C — колониеобразующие клетки в культуре; LSC — лимфоидная стволовая клетка; PTC — предшественник Т-клеток; EC — эпителиальная клетка вилочковой железы; THF — тимический гуморальный фактор; Т — Т-лимфоцит; Т_H — Т-помощник; Т_E — Т-эффектор; Т_S — Т-супрессор; PBC — предшественник В-клеток; PRE-B — пред-В; В — В-лимфоцит; PC — плазматическая клетка; M, D, G — иммуноглобулиновые рецепторы, относящиеся к разным классам; MONO-MΦ — моноцит-макрофаг.

лимфоидных клеток. LSC генерируют два типа клеток — PTC (предшественник Т-клеток) и PBC (предшественник В-клеток), из которых и развиваются Т- и В-популяции лимфоцитов. Развитие Т-лимфоцитов происходит из PTC в центральном органе иммунной системы — в тимусе — под влиянием его эпителиальных клеток и гуморальных медиаторов. Тимический гуморальный фактор (тимозин, тимопоэтин и др.) выбрасывается в кровь; он способен обеспечивать дозревание Т-лимфоцитов вне вилочковой железы. Тимические лимфоциты (тимоциты) генерируют и поставляют в кровообращение и в периферические лимфоидные органы три самостоятельных типа лимфоцитов: Т-помощники, Т-эффекторы и Т-супрессоры. Т-эффекторы под влиянием антигенной стимуляции обеспечивают накопление клона сенсibilизированных лимфоцитов (киллеров), осуществляя иммунные реакции клеточного типа.

Предшественники В-клеток под влиянием еще неизвестных причин через стадию пред-В-клеток, уже синтезирующих IgM, но не имеющих поверхностных иммуноглобулиновых рецепторов, превращаются в костномозговые В-лимфоциты с IgM-рецепторами на своей поверхности. Эти лимфоциты генерируют и поставляют в периферические лимфоидные орга-

Рис. 28. Взаимодействие клеток при включении антителогенеза.

Аг — антиген; М — макрофаг; T_H — Т-помощник; T_S — Т-супрессор; В — В-лимфоцит; ПК — плазматические клетки.



ны В-лимфоциты трех типов, способные соответственно обеспечивать накопление плазматических клеток, продуцирующих антитела IgM, IgG или IgA классов. Зрелые В-лимфоциты несут на своей поверхности соответствующие иммуноглобулиновые рецепторы плюс иммуноглобулины класса D.

Макрофаги имеют особый гистогенез: не от LSC, а от кроветворного предшественника, общего с гранулоцитарным ростком кроветворения.

Три типа зрелых Т-лимфоцитов, три типа зрелых В-лимфоцитов и макрофаги — вот семь основных клеточных партнеров, обеспечивающих всю гамму специфических иммунных реакций. Эти семь клеток и воспринимают антигенное раздражение, они являются антигенреактивными. На рис. 28 приведена схема событий, обеспечивающих включение антителогенеза. Антиген, обработанный макрофагом, распознается Т-лимфоцитом-помощником, Т-помощник посредством двух сигналов включает В-лимфоцит. Первый сигнал — специфический — представляет собой рецептор Т-лимфоцита неизвестной природы в комплексе с антигеном (условно IgT-Ag); он доставляется В-лимфоциту посредством макрофага. Второй сигнал — неспецифический стимулятор неизвестной природы. Иначе говоря, Т-помощники совместно с макрофагами включают В-лимфоциты в антителогенез. Т-супрессоры обладают способностью тормозить это включение, останавливать развитие клона антителопродуцентов, обеспечивают развитие толерантности. Их главная миссия, по-видимому, состоит в том, чтобы блокировать аутоиммунные реакции, блокировать выработку аутоантител. Так или иначе, Т-помощники и Т-супрессоры выполняют функции главных регуляторов иммунной системы.

Недостаточность выработки иммуноглобулинов может быть следствием по крайней мере трех причин: неполноценности соответствующих В-клеток, неполноценности Т-помощников или гиперактивности (или избыточного количества) Т-супрессоров. Продукция аутоантител также может быть следствием нескольких причин: появлением аутоагрессивного клона В-лимфоцитов или дефектностью супрессорных клеток. А это значит, что терапевтические мероприятия при кажущейся одинаковости патологических синдромов должны быть

различными. Аутоиммунные заболевания, расцениваемые до последнего времени как гиперактивность иммунокомпетентных клеток против аутоантигенов, рассматриваются в настоящее время как иммунодефицит по Т-супрессорам. Неполноценность противоопухолевого иммунитета, расцениваемая до последнего времени как дефицит Т-эффекторов, может быть обусловлена активацией Т-супрессоров.

Итак, в реализации иммунного ответа на большинство антигенов участвуют по крайней мере три клеточные системы — макрофаги, Т- и В-лимфоциты.

Открытию взаимодействия клеток при иммунном ответе во многом способствовал метод «культура *in vivo*». Т. Мэйкинодан с сотр. (1962) обосновали и широко использовали культивирование *in vivo* антителообразующих клеток в летально облученном реципиенте (полноценное культивирование этих клеток *in vitro* в то время не удавалось). И хотя давно известно, что антителообразующие клетки продолжают синтезировать иммунные глобулины после трансплантации, именно эти работы позволили разработать точный метод, дающий четко воспроизводимые результаты. Авторы ввели в практику два основных принципа метода «культуры *in vivo*»: использование в качестве доноров и реципиентов сингенных животных и летальное облучение реципиентов. Кроме того, были описаны основные количественные закономерности функционирования антителообразующих клеток в данных условиях.

За 10 лет Т. Мэйкинодан с сотр. провели многочисленные исследования по изучению функционирования иммунокомпетентных клеток. Они установили, что популяция селезеночных клеток наиболее активно продуцирует антитела. На втором месте стоят клеточные взвеси из лимфатических узлов. Совсем слабым продуцентом являются клетки вилочковой железы. Костномозговые клетки практически не вырабатывают антител. Если поместить в культуру *in vivo* 10^7 селезеночных клеток вместе с эритроцитами барана в качестве антигена, накапливается $5-10^8$ клеток, синтезирующих гемолизины. Такое же количество клеток лимфатических узлов обеспечивает накопление около 1000 антителопродуцентов. При использовании клеточных взвесей вилочковой железы и костного мозга обнаруживается не более $10-50$ антителообразующих клеток.

С помощью метода культуры иммунокомпетентных клеток *in vivo* А. Дэвис, Г. Кламан (1967), Дж. Миллер и Г. Митчелл (1968) доказали необходимость взаимодействия Т- и В-лимфоцитов для реализации антителогенеза¹. Так же как

¹ В то время еще не ввели символов Т и В, поэтому речь шла о взаимодействии клеток вилочковой железы с клетками костного мозга.

и Т. Мэйкинодан, они поместили в культуру *in vivo* вместе с эритроцитами барана клетки костного мозга или клетки вилочковой железы и убедились, что существенного накопления антителопродукторов не произошло. При использовании смеси клеток вилочковой железы и костного мозга авторы обнаружили в 10 раз большее количество антителопродукторов, чем ожидалось от простого суммирования потенциалов тимоцитов и миелоцитов (рис. 29). Таким образом, при введении летально облученным реципиентам смеси клеток костного мозга и вилочковой железы (или грудного протока), которые сами по себе практически не вырабатывают антитела, происходит накопление огромного числа антителообразующих клеток в селезенке реципиентов. Следует отметить, что клетки костного мозга и вилочковой железы взаимодействуют при условии сингении клеток. С помощью хромосомного маркера Т6Т6 доказано, что основная масса антителообразующих клеток происходит из костномозговых предшественников. Это исследование до сих пор является наиболее демонстративным доказательством двух основных факторов: необходимости кооперации Т- и В-клеток при реализации иммунного ответа по гуморальному типу; развития антителопродукторов (плазматических клеток) из костномозговых предшественников, т. е. из В-лимфоцитов; Т-лимфоциты оказываются в роли помощников.

Взаимодействие клеток существенно не только при антителогенезе. Оно имеет место и в реакциях клеточного иммунитета, т. е. в реакциях, связанных с накоплением сенсibilизированных Т-лимфоцитов — гиперчувствительность замедленного типа, трансплантационный иммунитет, реакция «трансплантат против хозяина» (см. главу XIV) и др. Обнаружено, что при ответе *in vitro* на чужеродные клетки одни тимоциты не могут дифференцироваться в клетки-эффекторы

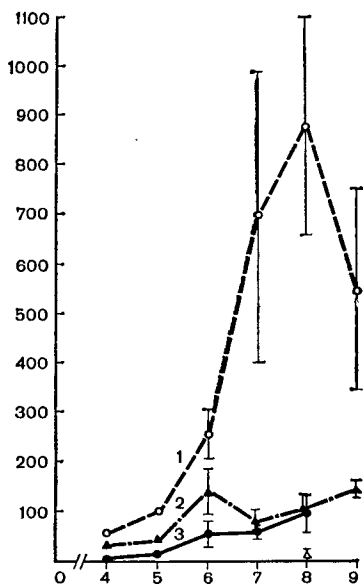


Рис. 29. Накопление антителопродукторов при раздельном и совместном культивировании тимоцитов и клеток костного мозга.

1 — смесь тимоцитов и клеток костного мозга; 2 — тимоциты; 3 — клетки костного мозга; По оси абсцисс — время после облучения, по оси ординат — число антителопродукторов в селезенке.

в противоположность тимоцитам, культивируемым вместе с селезеночными или костномозговыми клетками. При индукции реакции «трансплантат против хозяина» родительскими клетками у новорожденных гибридов (F_1) синергический эффект наблюдается при использовании клеток вилочковой железы и лимфатических узлов. Поскольку в лимфатических узлах содержится мало В-клеток, предполагают, что в реакциях клеточного иммунитета (таких, как «трансплантат против хозяина») взаимодействие происходит не между В- и Т-клетками, а между самими Т-клетками. Т-клетки, оказывающие усиливающий эффект в отношении других Т-клеток, получили название T_A , т. е. амплифайеры-усилители. Выше указывалось, что существует еще третья субпопуляция Т-лимфоцитов — клетки-супрессоры, обеспечивающие блокировку развития клеток-эффекторов как В-, так и Т-ряда.

Общая характеристика Т- и В-лимфоцитов

В табл. 12 дана функциональная характеристика этих клеток.

На мембране В-лимфоцитов, помимо общих антигенов для Т- и В-клеток, есть антигены, отсутствующие на Т-лимфоцитах. Один из них, MBLA, является специфическим для В-клеток. В-лимфоциты мало чувствительны к кортикостероидам и, по-видимому, к антилимфоцитарной сыворотке (АЛС), имеют высокую плотность иммуноглобулиновых детерминант типа Fab, μ и λ -цепей и иммуноглобулинов разных классов. В-клетки являются основным, если не единственным, источником продуцентов гуморальных антител, несут рецепторы к гаптанной части антигенной молекулы.

Т-клетки располагают большим набором поверхностных антигенов, чем В-лимфоциты, хотя иммуноглобулиновые детерминанты у Т-клеток выражены слабо. Главный антиген, свойственный всем Т-клеткам, получил название Θ - (тэта) или Thy-1-антигена. Другим специфическим антигеном Т-лимфоцитов является антиген MTLA. Большинство Т-клеток чувствительны к кортикостероидам и АЛС, содержат узнающие рецепторы к несущей части антигенной молекулы и имеют решающее значение в реакциях гиперчувствительности замедленного типа и трансплантационного иммунитета.

Распределение Θ -положительных клеток (Т-лимфоцитов) среди различных лимфоидных тканей мышей следующее: 100% в вилочковой железе, 80% в грудном протоке, 70% среди клеток лимфатических узлов, 65% в периферической крови, по 35% в селезенке и среди перитонеальных лимфоцитов, 30% в групповых лимфатических фолликулах (пейеровых бляшках); в костном мозге эти клетки отсутствуют.

Т а б л и ц а 12

Характеристика Т- и В-лимфоцитов мыши

Показатель	Т-лимфоциты	В-лимфоциты
Место возникновения	Вилочковая железа (из приходящих кроветворных стволовых клеток)	Сумка Фабрициуса у птиц или ее аналог у млекопитающих (костный мозг, групповые лимфатические фолликулы)
Локализация в лимфатических узлах	Паракортикальная зона, периферия фолликулов	Центры размножения, медуллярные тяжи
Локализация в селезенке	Белая пульпа, окружающая артериолы	Центры размножения, красная пульпа
Функция	Клеточный иммунитет (клетки-киллеры). Клетки-помощники в антителопродукции. Клетки-супрессоры (развитие толерантности, торможение иммунного ответа)	Предшественники антителопродукторов
Формы, накапливающиеся после антигенной стимуляции	Сенсибилизированные, с повышенным аффинитетом к данному антигену, клетки-киллеры	Плазматические клетки и лимфоциты с повышенным аффинитетом к данному антигену
Антигены-маркеры	Специфические антигены Т-клеток: θ или Thy-1, MTLA	Специфический антиген В-клеток MBLA
Плотность иммуноглобулиновых детерминант	Крайне низкая	Высокая
Рецепторы к антигенам	К несущей части молекулы антигена (carrier-specific)	К поверхностным детерминантам (hapten-specific)
Рецепторы к С3-компоненту комплемента и комплексу антиген-антитело	Нет	Есть
Розеткаобразование	Есть	»
Рецепторы к Fc-фрагменту Ig	»	»
Неспецифическая адсорбция на стекле	Низкая для неактивированных клеток	Высокая
Чувствительность к ФГА	Высокая	Нет
Чувствительность к митогену лаконоса PWM	Низкая	Высокая
Чувствительность к кортикостероидам	Высокая	Низкая
Чувствительность к АДС	»	»
Реализация иммунологической памяти	Участвуют	Участвуют

Показатель	Т-лимфоциты	В-лимфоциты
Рециркуляция в организме	Интенсивная и быстрая у большей части клеток	Менее быстрая
Продолжительность жизни	Рециркулирующие — месяцы	Меньшая — недели

В-лимфоциты можно выявить с помощью специфических антисывороток против иммуноглобулинов, поскольку на поверхности В-клеток содержится большое количество иммуноглобулиновых детерминант. Оказалось, что в вилочковой железе всего 0,2% этих клеток, в грудном протоке 15%, в лимфатических узлах 25%, в периферической крови 30%, в селезенке 40%, в костном мозге 40%, в групповых лимфатических фолликулах (пейеровых бляшках) — 55%. Наибольшая концентрация В-лимфоцитов в групповых лимфатических фолликулах свидетельствует о том, что они являются центральным органом В-системы иммунитета у млекопитающих — аналогом сумки Фабрициуса у птиц.

Среди лимфоцитов периферической крови человека 55—60% составляют Т- и 25—30% В-клетки (см. главу XX). Необходимо подчеркнуть, что 10—20% лимфоцитов не обладают признаками Т- или В-лимфоцитов (нулевые клетки). По-видимому, они являются предстадией — клетки еще не завер-

Т а б л и ц а 13

Различие Т- и В-лимфоцитов крови человека по некоторым реакциям

Реакция	Т	В
Бласттрансформация на ФГА	+	—
Бласттрансформация в микст-культуре	+	—
Розеткообразование с эритроцитами барана (спонтанные, или Е-роzetки)	+	—
Бласттрансформация на митоген лаконоса (PWM) и некоторые микробные эндотоксины	±	+
Розеткообразование с эритроцитами, несущими комплекс антиген-антитело-комплемент (комплементарные или ЕАС-роzetки)	—	+
Розеткообразование с эритроцитами, несущими комплекс антиген-антитело (ЕА-роzetки)	—	+
Окраска флуоресцирующими антиглобулиновыми сыворотками	—	+
Лизис анти-В сыворотками	—	+
Лизис анти-Т сыворотками	+	—

шили свое превращение в Т- или В-лимфоциты. При некоторых патологических процессах (например, при красной волчанке) число нулевых клеток возрастает.

В табл. 13 приведены некоторые показатели, по которым различаются Т- и В-лимфоциты, циркулирующие в периферической крови человека. Этими показателями пользуются в клинической практике при обследовании больных.

Получение чистых популяций Т- и В-клеток

Для получения относительно чистых популяций лимфоцитов, обогащенных Т-клетками, используют несколько методов.

Метод *in vivo* — это активация клеток вилочковой железы или тимусзависимых лимфоцитов антигеном, при котором происходит накопление довольно чистой популяции Т-клеток. Клетки вводят летально облученным гибридным реципиентам, в организме которых они получают сильный антигенный стимул. Например, лимфоциты грудного протока мышей линии СВА вводят летально облученным мышам (СВАХ × С 57ВL) F₁, у которых удалена вилочковая железа. В результате антигенного стимула, исходящего из тканей гибридного реципиента, достигается специфическая активизация и пролиферация клеток, заканчивающаяся накоплением потомства Т-клеток, которые можно выделить из селезенки или из лимфы грудного лимфатического протока.

Предложены методы получения Т-клеток *in vitro*. Сыворотка кроликов, иммунизированных против лимфоидных тканей тимэктомированных облученных и защищенных эмбриональной печенью мышей, после тщательной абсорбции клетками вилочковой железы оказывает цитотоксическое действие только на В-клетки. Вот почему инкубация клеток грудного протока, представляющих смесь В- и Т-клеток, с антисывороткой против антигена В вместе с комплементом может обеспечивать высокий выход Т-клеток. Аналогичную чистую популяцию можно получить из клеток грудного протока после инкубирования их с антисывороткой против и-цепей, поскольку анти-и-антитела не влияют на чистые Т-клетки, выделенные с помощью другого метода. Существует еще один способ выделения Т-клеток, основанный на факте нахождения на В-клетках (но не на Т-клетках) рецепторов для комплексов антиген—антитело. Процедура выделения Т-клеток состоит в следующем. Полиметилметакриловые пластиковые бусы нагружают антигенами (например, человеческим γ-глобулином) и затем помещают в стеклянную колонку. Лимфоциты селезенки или грудного протока инкубируют с соответствующими антителами (кроличья антисыворотка против человеческого γ-глобулина). После этого клетки про-

пускают через колонку: В-клетки остаются на сорбенте, а Т-клетки элюируются. Доказательствами присутствия в элюате Т-клеток являются их чувствительность к антисыворотке против Θ -антигена и резистентность к антисыворотке против κ -цепей.

Относительно чистую популяцию В-клеток можно выделить при инкубации клеток селезенки или грудного протока *in vitro* с антисывороткой против Θ -антигена. Этот антиген присутствует на поверхности большинства тимоцитов и обнаруживается на Т-лимфоцитах вне вилочковой железы. Обработка смешанной популяции, содержащей В- и Т-клетки, анти- Θ -сывороткой в присутствии комплемента приводит к селективной элиминации Т-клеток. Необходимо, однако, отметить следующее. Получаемая таким образом чистая суспензия В-клеток все-таки бывает загрязнена тимуспроизводными клетками по двум причинам. Во-первых, содержание Θ -антигена на поверхности клеток, находящихся вне вилочковой железы, не столь велико, как на тимоцитах внутри органа. Во-вторых, часть истинных Т-клеток, несущих малое количество Θ -антигена, не разрушается анти- Θ -сывороткой.

Суспензии, обогащенные В-лимфоцитами, можно получить и в условиях *in vivo*. После инъекции облученным мышам костного мозга Т-клетки появляются в селезенке реципиентов через 2—3 нед. В-клетки возникают у таких же реципиентов намного раньше — на 7—10-й день после введения. Это временное отставание в дифференциации Т-клеток по сравнению с В-клетками лежит в основе первого метода получения чистой суспензии В-клеток *in vivo*. Если облучению предшествует тимэктомия, то последующее введение костного мозга обеспечивает возникновение так называемой В-мыши, которая бесконечно долго может служить источником В-лимфоцитов, поскольку превращения введенных костномозговых клеток в Т-лимфоциты без вилочковой железы не происходит. В-мышь можно создать и без введения костномозговых клеток, облучая животных летальной дозой и экранируя участки костного мозга (например, в бедре и голени). Другие способы получения В-лимфоцитов *in vivo* основаны на искусственно вызываемом дефиците Т-лимфоцитов. К снижению числа Т-клеток приводят неонатальная тимэктомия, постоянное дренирование грудного лимфатического протока и обработка животных АЛС.

Существуют методы физико-химического разделения Т- и В-клеток в смешанных популяциях селезенки, лимфатических узлов, крови и др. Разделение в градиентах плотности альбумина, фиколла и других веществ не дает четких результатов. Применение электрофореза показало, что Т-лимфоциты концентрируются в быстродвижущихся фракциях. Однако В-лимфоциты распределяются более или менее равно-

мерно и в быстро, и в медленно движущихся фракциях. Наиболее перспективно применение колонок, в которых сорбент используют с учетом характеристик Т- и В-лимфоцитов. Так, при пропуске смеси лимфоцитов через колонку со стеклянными гранулами элиминируются В-клетки. Этот процесс более эффективен, если использовать колонку со специфическим иммуносорбентом, несущим антиглобулиновые антитела или комплемент. В первом случае лимфоциты с иммуноглобулиновыми детерминантами захватываются антиглобулиновыми антителами, во втором — они присоединяются к комплексу рецепторами.

Циркуляция стволовых клеток и лимфоцитов в организме

Т-лимфоциты возникают в вилочковой железе из кроветворных стволовых клеток, генерируемых в костном мозге, и заселяют (репопулируют) тимусзависимые зоны лимфатических узлов и селезенки. В-лимфоциты, возникающие в сумке Фабрициуса у птиц или в ее аналоге у млекопитающих (пейеровы бляшки?), репопулируют тимуснезависимые зоны лимфатических узлов и селезенки. Ежедневно из грудного протока в кровь поступает такое количество Т- и В-лимфоцитов, которое в 5—20 раз превышает их общее число в крови. Меченые лимфоциты, введенные в кровь, выделяются из грудного протока, их путь лежит через лимфатические узлы и групповые лимфатические фолликулы [Дж. Гоуэнс, 1971].

Значение рециркуляции в крови клеток-предшественников при антителогенезе демонстрируют простые и наглядные опыты М. Симич и М. Петрович (1968). Выведенную на сосудистой ножке за пределы брюшной стенки селезенку крыс облучали в экспозиционной дозе 2580 мКл/кг (10 000 Р). При такой дозе все клетки, способные к размножению и превращению в антителопродукенты, погибают. После этого подопытных животных тотально облучали, экранируя селезенку. Время между облучением селезенки и тела для разных групп животных было различным — от 0,1 до 12 ч. В течение этого периода необлученная кровь протекала через облученную селезенку, заселяя ее неповрежденными лимфоцитами. Оказалось, что за 6 ч селезенка была заселена таким количеством Т- и В-лимфоцитов, которого было достаточно для возникновения нормального иммунного ответа на эритроциты барана.

Интенсивность клеточной миграции весьма велика. Выше указывалось, что ежедневно в циркуляцию выходит около 2% стволовых клеток костного мозга. Эта цифра увеличивается в десятки раз при инъекции вакцин или других антигенных препаратов. Введение антигенов усиливает рециркуляцию

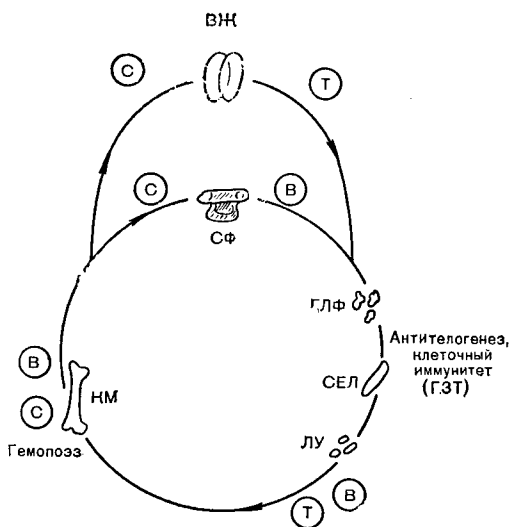


Рис. 30. Циркуляция кроветворных и лимфоидных клеток в организме.

ВЖ — вилочковая железа; СФ — сумка Фабрициуса; КМ — костный мозг; ГЛФ — групповой лимфатический фолликул; СЕЛ — селезенка; ЛУ — лимфатические узлы; С — кроветворные стволовые клетки; В, Т — соответствен-но В- и Т-лимфоциты.

лимфоцитов. При этом из костного мозга и крови в селезенку избирательно выделяются те лимфоциты, которые несут специфические рецепторы по отношению к используемому антигену.

Судя по тому, какое огромное количество лимфоцитов ежедневно проходит через грудной проток, очевидно, что большинство клеток лимфоидной системы постоянно рециркулирует. В течение 24-часового дренажа грудного протока крысы может быть собрано 10^9 лимфоцитов. Эта величина почти равна общему числу лимфоцитов всех лимфатических узлов крысы. Однако даже длительный дренаж не обеспечивает элиминации всех лимфоцитов организма. Это свидетельствует о том, что, помимо существования быстрорециркулирующего мобильного пула лимфоцитов, имеется пул «оседлых», или сессильных, клеток. Поскольку при дренаже грудного протока в первую очередь происходит опустошение тимусзависимых зон лимфоидных органов, считают, что сессильных лимфоцитов больше среди В-клеток. Постоянный обмен клеток между различными лимфоидными органами обеспечивает функционирование иммунной системы как единого целого. Это обуславливает высокие адаптивные возможности иммунитета, генерализацию иммунных реакций и иммунологической памяти с вовлечением в процесс всей системы, в каком бы месте тела ни возникло антигенное раздражение. На рис. 30 приведена схема циркуляции лимфоидных и кроветворных клеток в организме. Оказалось, что процесс миграции кроветворных стволовых клеток из костного мозга и их рециркуляция в организме находятся под контролем гипо-

физ-адреналовой системы. Индукция гипокортицизма посредством адреналэктомии приводит к резкому усилению выброса стволовых клеток в циркуляцию в то время, как состояние гиперкортицизма, достигнутое введением АКТГ или гидрокортизона ацетата, угнетает миграцию стволовых клеток из костного мозга.

В специальных опытах показано, что введение мышам 10—20 мг/кг гидрокортизона ацетата (эта доза не оказывает цитолитического действия) тормозит миграцию Т-клеток из вилочковой железы и В-клеток из костного мозга.

В заключение необходимо суммировать основные функции В- и Т-лимфоцитов. В-лимфоциты ответственны за гуморальные формы иммунного ответа. Они стимулируются антигенными детерминантами большинства антигенов, пролиферируют и дифференцируются в плазматические клетки-продуценты антител того или иного класса. В-лимфоциты обладают также супрессорными свойствами.

Т-лимфоциты имеют несколько функций: 1) они ответственны за развитие клеточных иммунологических реакций в виде гиперчувствительности замедленного типа, включая контактную гиперчувствительность; 2) осуществляют реакции трансплантационного иммунитета, обеспечивающие отторжение пересаженных тканей, реакции трансплантат против хозяина и др. При этом они функционируют как цитотоксические клетки, убивающие чужеродные клеточные элементы; 3) осуществляют противораковую защиту; 4) обеспечивают резистентность против некоторых бактериальных инфекций (туберкулез, лепра, малярия и др., связанные с внутриклеточным паразитированием возбудителя) и противовирусный иммунитет; 5) выполняют главные регуляторные функции; главными регуляторными клетками являются Т-помощники и Т-супрессоры.

Мононуклеарная фагоцитарная система

Выше указывалось, что система макрофагов принимает активное участие в иммунитете и в реализации иммунного ответа. Система включает моноциты крови и тканевые макрофаги. Эти клетки распространены по всему телу — находятся в крови, соединительной ткани, костном мозге, печени, легких, нервной системе, в брюшной, плевральной, суставных полостях и др.

Со времен И. И. Мечникова (1896 г.) известна их выдающаяся роль в поглощении микроорганизмов и других чужеродных частиц. Процесс фагоцитоза складывается из захвата чужеродной частицы с последующей инвагинацией участка мембраны, присоединившей частицу, и ее отшнуровкой в виде пузырька, внутрь цитоплазмы (так называемая

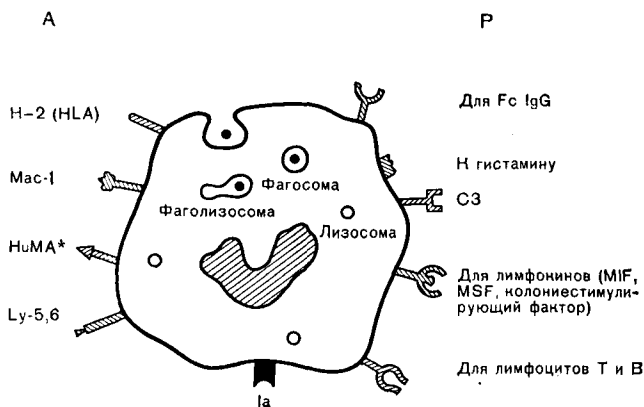


Рис. 31. Рецепторный и фаголизосомный аппарат макрофагов. Описание антигенов (А) и рецепторов (Р) см. в тексте (глава VI).
* У человека.

фагосома). Цитоплазма макрофагов содержит большое количество лизосом, содержащих набор разнообразных гидролитических ферментов в отношении белков, углеводов, липидов и нуклеиновых кислот. Peroксидазы, каталазы и NADH обеспечивают выделение высокобактерицидного аниона O_2^- . Супероксиддисмутаза защищает макрофаг от собственного O_2^- . Слияние фагосомы с лизосомой приводит к образованию фаголизосомы и к перевариванию и разрушению фагоцитированной частицы (рис. 31).

В случае захвата микроорганизма проявляется микробицидное действие. Реакции по выделению микробицидного O_2^- протекают следующим образом:

1. $O_2 + O_2 + NADH \rightarrow 2O_2^- + NAD^+ + H^+$.
2. $O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$.

Фагоцитарная активность повышается в присутствии антител против данного чужеродного агента. Это связано с тем, что на мембране макрофагов имеются Fc-рецепторы, которые специфически связываются с тяжелой цепью IgG. Присоединившиеся к макрофагу молекулы антител содействуют захвату фагоцитируемых частиц. Имеются также рецепторы к C3 компоненту комплемента. Вот почему антигенные частицы, покрытые антителами и комплементом, активно присоединяются к рецепторам макрофагов и фагоцитируются. Кроме рецепторов к Fc-фрагментам, макрофаги несут на своей поверхности трансплантационные антигены, Ia-антиген и другие структуры (см. рис. 31). Ia-антигены представляют собой структуры, имеющие непосредственное отношение к распоз-

наванию своего и чужого. Считается, что Ia-молекулы являются эволюционными предшественниками молекул иммуноглобулинов.

Функции макрофагов не ограничиваются захватом и деградацией чужеродных частиц. На рис. 28 было показано, что макрофаги «подают» обработанный антиген Т-лимфоциту, т. е. принимают участие в самом начальном акте, инициирующем иммунный ответ. На следующем этапе — этапе взаимодействия Т- и В-клеток, макрофаги опосредуют этот процесс, выступая в роли клетки, которая передает от Т-лимфоцита специфический сигнал включения В-лимфоциту. Важной функцией макрофагов является удаление избыточного количества антигенного материала, которое может заблокировать включение Т- и В-лимфоцитов в иммунный ответ (см. главу XI).

Кроме того, макрофаги являются активно секретирующими клетками. Они вырабатывают ряд компонентов системы комплемента (факторы С2, С3, С4 и С5 секретируются макрофагами). Они вырабатывают лизоцим, интерферон, митогенный белок с молекулярной массой 15 000 дальтон, который стимулирует синтез ДНК в лимфоцитах, и цитотоксины, способные при определенных условиях убивать раковые клетки. Кроме того, макрофагами выделяются дифференцировочные факторы. Один из них — колониестимулирующий фактор, необходимым костномозговым кроветворным стволовым клеткам для их дифференцировки в гранулоцитарном направлении. Другой содействует созреванию Т-лимфоцитов. Макрофаги могут обладать супрессирующими свойствами.

Глава VI

СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ: РЕЦЕПТОРЫ, АНТИГЕНЫ, МАРКЕРЫ

В главе V было рассмотрено существование двух основных Т- и В-популяций лимфоцитов и наличие ряда субпопуляций — Т-помощников, Т-супрессоров и др. Приведенные материалы не исчерпывают субпопуляционного деления лимфоцитов, их функциональной, рецепторной и антигенной характеристики, а также тех уникальных структур (маркеров), которые являются определяющими при решении вопроса о принадлежности лимфоцита к той или иной субпопуляции. Термин «клеточные рецепторы» в различных разделах биологии и медицины понимается по-разному. В эндокринологии — это поверхностные макромолекулярные структуры клеток, которые ответственны за рецепцию и проведение внутрь клетки гормонального сигнала; в фармакологии — это структуры, с которыми взаимодействует тот или иной лекарственный агент; в иммуноло-

гии -- это те макромолекулярные структуры клеточной поверхности, с помощью которых иммунокомпетентные клетки распознают антигены и другие иммунологически значимые молекулы, необходимые для реализации иммунного ответа. Синтез и характер рецепторов контролируется геномом клетки. Проблема специфических рецепторов иммунокомпетентных клеток является центральной в иммунологии. Она посвящена изучению механизмов антигенного распознавания, т. е. главной задаче иммунитета — узнаванию генетически чужеродных субстанций, распознаванию «своего» и «чужого».

Идея о том, что клетки, ответственные за иммунные реакции, должны иметь антигенраспознающие структуры, принадлежит П. Эрлиху. Он предполагал существование на клетках рецепторов, с которыми соединяются антигены. Соединение антигена с соответствующим ему рецептором с точки зрения этого автора являлось сигналом для гиперпродукции данного типа рецептора. Выработанные в избыточном количестве рецепторы циркулируют в крови в виде специфических антител. Детали теории в настоящее время выглядят несколько наивно, но в целом она абсолютно справедлива: на иммунокомпетентных клетках действительно предсуществуют специфические рецепторы.

Фактические доказательства и методические подходы к изучению лимфоцитарных рецепторов появились после 1960 г., когда были описаны два явления — цитопатогенное действие лимфоцитов [Говертс А., 1960], иммуноцитоприлипание [Носсэл Г., Макёла О., 1962] и розеткообразование [Заалберг О., 1964]. Первое относится к лимфоцитам иммунизированных чужеродными клетками животных. Это явление заключается в том, что такие сенсibilизированные лимфоциты активно прикрепляются к данным клеткам *in vitro* и разрушают их. К клеткам, несущим другие антигены (к клеткам другого генотипа), они не прикрепляются и не разрушают их. Иначе говоря, на их поверхности имеются рецепторные участки, подобные по своей специфичности антителам.

Имуноцитоприлипание и розеткообразование заключается в том, что нормальные или иммунные лимфоциты способны прикреплять к своей поверхности антигенный материал. Если последний представлен достаточно крупными корпускулами, например, чужеродными эритроцитами, то возникают морфологические картины розеток. Явление это специфичное. Удаление из популяции лимфоцитов тех клеток, которые образовали розетки с одним видом эритроцитов, лишает данную лимфоцитарную популяцию способности образовывать эти розетки. Клетки, образующие розетки с эритроцитами других видов, сохраняются. Присоединение к эритроцитам

различных субстанций позволило обнаружить на лимфоцитах рецепторы к комплексам антиген — антитело, комплементу и различным естественным и синтетическим антигенным детерминантам.

Эти два метода были, конечно, только начальным этапом изучения рецепторов иммунокомпетентных клеток. В дальнейшем стали пользоваться более сложными и совершенными методами с применением иммуофлюоресцентной техники, радиоавтографии, электронной микроскопии и моноклональных антител.

Специфические (узнающие) рецепторы

Одно из первых доказательств иммуноглобулиновой природы лимфоцитарных рецепторов привел в 1969 г. Кумбс, ранее разработавший метод выявления неполных антител с помощью антиглобулиновой сыворотки (проба Кумбса). К эритроцитам были присоединены мышинные γ -глобулины. К смеси таких эритроцитов и мышинных лимфоцитов были добавлены антиглобулиновые антитела. Произошла агглютинация эритроцитов с лимфоцитами. Это значит, что на поверхности лимфоцитов в качестве их нормальной составной части находятся иммуноглобулины.

В дальнейшем иммуноглобулиновая природа рецепторов была полностью доказана. Оказалось, что В-лимфоциты имеют высокую плотность этого типа рецепторов, а Т-лимфоциты — низкую. Рассчитано, что на поверхности одного В-лимфоцита находится 50 000—150 000 иммуноглобулиновых молекул. Т-лимфоциты содержат в 100—1000 раз меньше рецепторов данного типа. Тимоциты, по-видимому, совсем не имеют иммуноглобулиновых структур на своей поверхности. Это дало основание сомневаться в иммуноглобулиновой природе главной массы рецепторов Т-лимфоцитов.

Применение антисывороток против иммуноглобулинов разных классов, а также κ - и λ -вариантов легких цепей показало, что на В-клетках могут быть рецепторы, относящиеся к классам IgM, IgG, IgA, IgE и IgD. Наиболее часто представлены молекулы IgM, но не в пентамерной форме, а в форме ее IgMS-фрагмента, подобного по структуре IgG, но содержащего тяжелые цепи μ . Легкие цепи рецепторных молекул могут быть κ - и λ -типов. Расположение рецепторов не случайно. Сомнительным является наличие клеток, на которых были бы иммуноглобулины сразу всех трех основных классов — IgM, IgG и IgA. Поверхностный IgD является признаком зрелости В-лимфоцита (см. рис. 27). Лимфоцит не является метаболически инертной клеткой в отношении синтеза иммуноглобулиновых рецепторов. В лимфоцитах постоянно вырабатываются иммуноглобулины. При их стимуля-



Рис. 32. Электронно-микроскопическая картина В-лимфоцита с иммуноглобулиновыми рецепторами, мечеными йодом [Носсэл Г., 1972].

ции и трансформации в плазматические клетки э тот синтез становится в тысячи раз интенсивнее.

Связь поверхностных рецепторов В-клеток с синтезом антител иллюстрирует работа Е. Витетты и Дж. Ура (1972). Предполагаются два возможных механизма. Первый — иммуноглобулины, синтезированные в пузырьках пластинчатого комплекса, как свободно «плавают», так и прикреплены к мембране. Затем свободные секретируются наружу, а прикрепленные становятся поверхностными рецепторами клетки. Второй вариант предполагает существование двух типов пузырьков пластинчатого комплекса.

Постоянный синтез рецепторов необходим, поскольку они постоянно отделяются вместе с фрагментами мембраны от клеточной поверхности. Этот процесс протекает весьма быстро. Рассчитано, что 50% рецепторных молекул обновляется в течение 4—6 ч. Снятые с В-клетки рецепторы ресинтезируются.

Изучение топографии рецепторов показало следующее: 1) рецепторы довольно равномерно располагаются на поверхности В-лимфоцита (рис. 32); 2) они подвижны и могут перемещаться по поверхности; 3) присоединение антигена ведет к концентрированию комплексов рецептор-антиген на одном из полюсов клетки с образованием «шапочки» (сар-

formation) и последующим поглощением ее клеткой. Совокупность всех данных, бесспорно, свидетельствует о том, что один В-лимфоцит имеет только один по специфичности тип рецепторов, т. е. может реагировать только с одной антигенной детерминантой. Химическая природа этих рецепторов — иммуноглобулины того или иного класса.

Помимо этих уникальных для каждого лимфоцита и его потомков (т. е. для каждого клона) рецепторов, имеются рецепторы с единой для всех В-лимфоцитов специфичностью. К таковым относятся рецепторы, связывающие Fc-участок иммуноглобулиновых молекул, и рецепторы, связывающие C3-компонент комплемента. Благодаря этому В-лимфоциты обладают способностью присоединять комплексы антиген — антитело или комплексы антиген — антитело — комплемент. На этом основаны методы выявления и подсчета количества В-лимфоцитов. Эритроциты нагружаются комплексом антиген — антитело или антиген — антитело — комплемент. В-лимфоциты образуют с такими эритроцитами розетки, которые называют розетками с фиксированным γ -глобулином (Fc-розетки) или комплементарными розетками (C3-розетки).

Иммуноглобулиновые рецепторы также можно выявить с помощью метода розеткообразования. Для этого готовят смесь исследуемых лимфоцитов с эритроцитами, нагруженными человеческим γ -глобулином. Прибавление к смеси антиглобулиновой сыворотки вызывает соединение эритроцитов с теми лимфоцитами, которые несут на своей поверхности иммуноглобулины. Этим методом выявляется наибольшее количество В-лимфоцитов. По данным лаборатории Кумбса [Хегерт Д. и др., 1974], среди лимфоцитов крови здоровых людей 26% образуют Fc-розетки, 15% — C3-розетки и 34% — антиглобулиновые розетки.

Несколько сложнее обстоит дело с решением проблемы структуры специфических рецепторов Т-лимфоцитов.

В настоящее время существуют две дискутируемые точки зрения на природу рецепторов Т-лимфоцитов. Согласно первой, специфические антигенраспознающие рецепторы, как и в случае В-лимфоцитов, представлены молекулами иммуноглобулинов. Согласно второй, рецепторы являются продуктами генов I-области (см. главу VIII) и представляют собой неизвестный ранее класс молекул, обладающих, подобно антителам, комплементарной специфичностью по отношению к детерминантам несущей части антигена. Одним из таких продуктов является Ia-антиген (см. ниже), распознающая роль которого в настоящее время признана большинством иммунологов. Иммуноглобулиновые молекулы классов IgM, IgA и IgG обнаружены на Т-лимфоцитах. Однако, как указывалось выше, их количество на Т-лимфоцитах в 100—

1000 раз меньше, чем на В-лимфоцитах. Приведены достаточно убедительные аргументы в пользу того, что они синтезируются Т-клетками, однако окончательно этот вопрос не решен.

Поверхностные рецепторы, контролируемые генами I-области, в частности Ig-генами, обнаружены следующим образом [Дэвид К. и др., 1973]. В опыт были взяты две конгенные линии мышей, различающиеся только Ig-генами. Это выражалось в том, что одни животные реагировали на иммунизацию синтетическим (Т, Г)-АЛ-антигеном, а другие — нет. В то же время в организме и тех и других животных содержалось полноценное количество В-клеток, способных взаимодействовать с данным антигеном. Иначе говоря, их реагируемость или нереагируемость определяется антиген-распознающими рецепторами Т-лимфоцитов. Взаимная иммунизация этих конгенных мышей лимфоцитами друг друга привела к появлению антител. Единственным стимулирующим антигеном в данной генетической ситуации является антиген, контролируемый нетождественным Ig-геном. Этот антиген не может быть иммуноглобулином, так как генетические системы, контролирующие синтез иммуноглобулинов, у этих мышей тождественны.

С обнаружением специфических рецепторов неиммуноглобулиновой природы иммунология обогатилась интересным явлением — открытием нового класса сложных молекул, обладающих подобно иммуноглобулинам, специфическими центрами распознавания и связывания чужеродных антигенов.

«Маркеры» лимфоцитов

Помимо распознающих антигены рецепторов, на лимфоцитах открыт большой ряд других рецепторных и антигенных структур, определяющих их функциональные различия и дающих возможность идентифицировать функционально различные субпопуляции как Т-, так и В-клеток.

На рис. 33 и 34 схематически изображены описанные к 1980 г. значимые для иммунологии поверхностные структуры мышиных и человеческих лимфоцитов. Разделение этих структур на «антигены», «маркеры» и «рецепторы» весьма условно. Маркирующей, т. е. типичной, для данного типа клеток структурой могут быть не только особые антигены, но и рецепторы (иммуноглобулины для В-клеток). Структура, описанная как антиген, например Ia-антиген, оказывается, выполняет распознающие, т. е. рецепторные, функции. Размещение на рисунках антигенов слева, а рецепторов справа еще более условно.

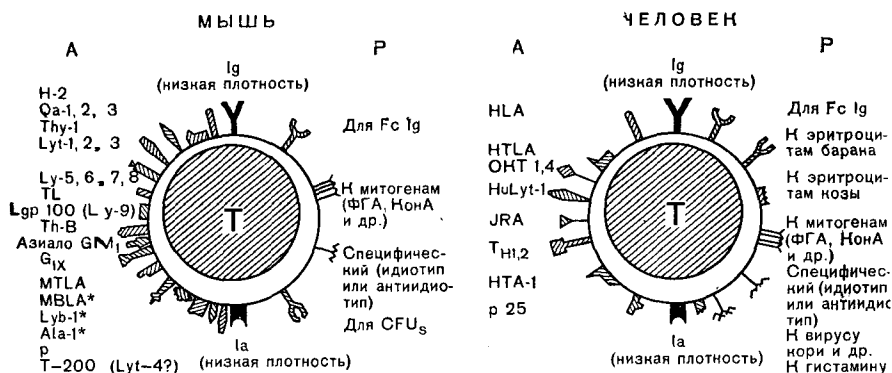


Рис. 33. Антигены (А) и рецепторы (Р) Т-лимфоцитов мыши и человека.

* На активированных. Объяснения в тексте.

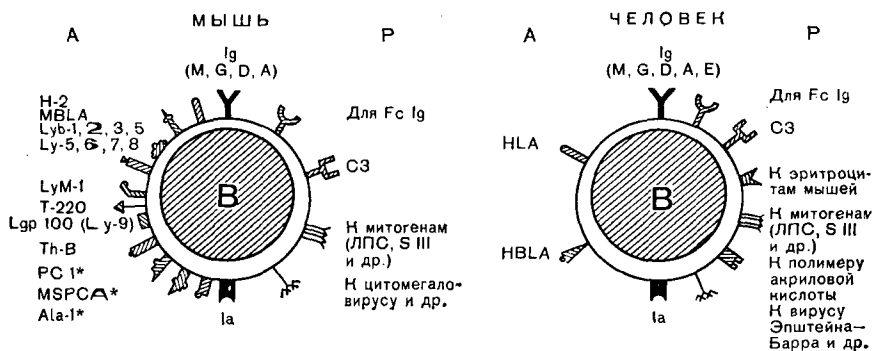


Рис. 34. Антигены (А) и рецепторы (Р) В-лимфоцитов мыши и человека.

* На активированных. Объяснения в тексте.

Антигены и рецепторы Т-лимфоцитов

H-2 (HLA) — антигены гистосовместимости у мышей (H-2) и у человека (HLA). Контролируются главной генетической системой гистосовместимости (см. главу VIII).

Thy-1 или θ (тэта) — основной антигенный маркер Т-лимфоцитов мышей, выявляемый аллоантисывороткой. Аналогом является антиген p 25 у человека, θ -антиген представлен на всех зрелых Т-лимфоцитах; в большей мере он выявляется на незрелых тимоцитах, но отсутствует на костномозговых предшественниках Т-клеток, так называемых протимоцитах.

Qa-1, 2, 3 — антигены, выявляемые на лимфоцитах фенотипа Thy-1. Антигены Qa-1 и Qa-2 экспрессируются на всех Т-лимфоцитах, как периферических, так и тимических. Антиген

Qa-3 обнаружен на периферических Т-лимфоцитах, отсутствует на клетках вилочковой железы.

Lyt-1, 2, 3 — антигены, вначале описывавшиеся как Ly-1, 2, 3. Экспрессируются только на Т-лимфоцитах мышей. Локусы 2, 3 тесно сцеплены. Используются в качестве маркеров субпопуляций. Незрелые тимоциты коркового слоя вилочковой железы несут как Lyt-1, так и Lyt-2, 3 антигены. В периферических лимфоидных органах и в циркуляции таких лимфоцитов 50%; 33% имеют фенотип Lyt-1⁺, 2⁻, 3⁻, 17% Lyt-1⁻, 2⁺, 3⁺. Т-помощники имеют фенотип Lyt-1⁺, 2⁻, 3⁻. Т-супрессоры и цитотоксические Т-клетки имеют фенотип Lyt-1⁻, 2⁺, 3⁺, Т-киллеры в реакциях отторжения аллотрансплантата — Lyt-1⁺, 2⁺, 3⁺. Аналогом этих антигенов у Т-клеток человека является HuLyt-1.

Ly-5, 6, 7, 8 — антигены, выявляемые как на Т-, так и на В-лимфоцитах. Киллеры несут антигены Ly-5 и Ly-6.

TL-1,2,3,4,5 — антигенные маркеры незрелых тимоцитов. Антиген TL-4 экспрессируется только на лейкозных клетках.

MTLA — маркер Т-лимфоцитов мышей, выявляемый гетерологичной антисывороткой. Аналогом этого антигена у Т-лимфоцитов человека является HTLA.

T200 — антиген Т-лимфоцитов, преципитируемый из экстракта тимоцитов антисывороткой к антигену Lyt-4, обнаруживается на тимоцитах мышей, периферических Т-лимфоцитах и Т-клеточных опухолях.

Ганглиозид азиало GM₁ относится к маркерам естественных киллеров, но с низкой плотностью обнаружен и на цитотоксических Т-лимфоцитах.

HTA-1 антиген, выявленный на тимоцитах человека антителами, вырабатываемыми гибридомой. Гибридома получена слиянием спленоцитов мышей BALB/c, иммунизированных тимоцитами человека, с клетками миеломной линии.

T_{H1,2} — антигены Т-лимфоцитов вилочковой железы и периферической крови человека. Антиген T_{H2}, но не T_{H1} обнаружен на Т-супрессорах.

G_{IX} — антиген, идентичный гликопротеиду оболочки вируса Гросса, индуцирующего лейкоз у мышей. Экспрессируется главным образом на тимоцитах. У стареющих мышей выявляется также на Т-лимфоцитах селезенки и лимфатических узлов.

р-антиген ро (греч.), обнаруживающийся на тимоцитах и спленоцитах мышей.

Th-B — антигенный маркер общего для Т- и В-лимфоцитов предшественника. Обнаруживается на незрелых клетках вилочковой железы мышей. По мере созревания Т-лимфоцитов антиген утрачивается.

Lgp100 — антиген общий для Т- и В-лимфоцитов, экспрес-

сируется на лимфоцитах вилочковой железы и периферических Т- и В-лимфоцитах мышей. Отождествлен с антигеном Ly-9.

MBLA, Lyb-1 — антигены В-лимфоцитов, которые обнаруживаются на Т-лимфоцитах, после их стимуляции антигенами или митогенами.

Ala-1 — антиген только активированных Т- и В-лимфоцитов.

Fc — рецепторы для Fc фрагментов иммуноглобулинов. Рецепторы для IgM обнаруживаются на Т-помощниках, а для IgG — на Т-супрессорах человека. Fc-рецепторы выявляются как на Т-, так и на В-лимфоцитах человека и мыши посредством розеткообразования с эритроцитами, нагруженными молекулами иммуноглобулинов соответствующих классов.

Рецептор к гистамину выявляется на супрессирующих Т-лимфоцитах.

Рецепторы, специфичные для антигенных молекул, — распознающие рецепторы, природа которых окончательно не выяснена. Они не являются иммуноглобулинами. Вместе с тем доказано, что рецепторы к аллоантигенам и к ряду растворимых антигенов характеризуются идиотипом, тождественным соответствующим иммуноглобулиновым рецепторам В-лимфоцитов. Это установлено с помощью антиидиотипических антител. Иначе говоря, структуры рецепторов, распознающие одну и ту же антигенную детерминанту на Т- и В-лимфоцитах, тождественны. Это означает, что специфические рецепторы Т-лимфоцитов кодируются по крайней мере двумя генами. Один — тот же, который кодирует вариабельную часть молекулы иммуноглобулина. Другой кодирует остальную, по видимому, константную часть рецепторной молекулы.

Молекулярные структуры Т-лимфоцитов, специфически связывающие антигены, выделены. Их молекулярная масса 40 000 и 50 000 дальтон. Гены, кодирующие эти молекулярные факторы, локализованы в пределах главной системы гистосовместимости. С этими молекулами связаны не только функции узнавания антигенов, но и функции Т-помощников и Т-супрессоров: фактор помощи и супрессорный фактор. Первый содержит I-A, второй I—J детерминанты (см. главу X).

Рецептор для эритроцитов барана — специфический маркер Т-лимфоцитов человека, выявляется с помощью розеткообразования с эритроцитами барана (E-розетки).

Рецептор для эритроцитов козы — аналогичный предыдущему, специфичный для Т-лимфоцитов рецептор.

Рецептор для вируса кори — специфический маркер Т-лимфоцитов человека.

CFU-рецепторы — структуры неизвестной природы, обеспечивающие взаимодействие Т-лимфоцитов с кроветворными стволовыми клетками. Взаимодействие обеспечивает регули-

рующее влияние Т-лимфоцитов на миграцию, пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток.

JRA — обнаруживается на 30% Т-лимфоцитов людей. Это регуляторные Т-лимфоциты, они регулируют секрецию Ig В-клетками. JRA⁻-Т-лимфоциты усиливают Ig-секрецию В-клетками, JRA⁺-Т-лимфоциты обеспечивают иммунорегуляторное влияние на иммуноглобулиновую секрецию по типу обратной связи.

ОКТ1 — антиген Т-лимфоцитов человека, выявляемый гибридомными моноклональными антителами. Присутствует на всех зрелых (периферических) Т-лимфоцитах, отсутствует у 95% тимоцитов.

ОКТ4 — антиген Т-лимфоцитов человека, выявляемый гибридомными моноклональными антителами. Присутствует на тимоцитах, Т-помощниках и Т-лимфоцитах, влияющих на дифференцировку кроветворных стволовых клеток.

Антигены и рецепторы В-лимфоцитов

Поверхностные иммуноглобулины — основные распознающие структуры (см. выше) и антигенные маркеры В-лимфоцитов.

Ia — антигены, как и поверхностные иммуноглобулины, несут функции распознавания. Контролируются генами I-области главной системы гистосовместимости, подобны, если не тождественны, антигенам гистосовместимости группы DR (см. главу VIII). У мышей обнаружено более 30 вариантов Ia-антигенов, у человека (Hla) — более 10. Антигены экспрессируются преимущественно на В-лимфоцитах и макрофагах. Обнаружены в малых количествах на Т-супрессорах и Т-помощниках.

MB1A — (Mouse B Lymphocyte Antigen) маркер В-лимфоцитов мышей, выявляемый гетерологичными антисыворотками. Аналогом у человека является антиген HBLA (Human B Lymphocyte Antigen).

Lyb-1, 2, 3, 5 — антигены группы Ly, экспрессирующиеся только на В-лимфоцитах мышей. Антиген Lyb-3 выявляется преимущественно на зрелых В-лимфоцитах и, по-видимому, служит рецептором для Т-клеточного сигнала при Т-В взаимодействии.

Ly-5, 6, 7, 8, Lgp 100 (Ly-9), Th-B, Fc, Ala-1, — структуры, выявляемые как на В-, так и на Т-лимфоцитах (см. выше).

T220 — антиген В-лимфоцитов мышей, по свойствам подобен антигену T200 (см. Антигены и рецепторы Т-лимфоцитов), но имеет большую молекулярную массу.

LuM-1 — аллоантиген В-лимфоцитов мышей.

PC.1 — (Plasma Cell-1) — антиген, выявляемый только на

плазматических клетках, открывается аллоантисывороткой.

MSPCA — (Mouse Specific Plasma Cell Antigen) — антиген, выявленный только на плазматических клетках, открывается гетерологичными антисыворотками.

C3-рецептор — структура, распознающая активированный C3-компонент комплемента. Служит специфическим маркером В-лимфоцитов в реакции розеткообразования с эритроцитами, и агруженными антителами и комплементом — ЕАС-розетки (см. главу V).

Рецептор для вируса Эпштейна-Барра — обеспечивает формирование розеток с инфицированными данным вирусом клетками.

Рецептор для мышинных эритроцитов — В-лимфоциты (но не Т) человека, формируют розетки с эритроцитами мышей. Этот тест, так же как и ЕАС-роеткообразование, служит для определения числа В-лимфоцитов в крови людей.

Рецептор для полиакриловой кислоты несут В-лимфоциты и макрофаги. Последние фагоцитируют молекулы полимера. Рецептор также может служить маркером В-лимфоцитов.

Для подавляющего большинства известных на сегодня лимфоцитарных антигенов и рецепторов типична такая ситуация: они обнаружены, их существование доказано, однако методов выделения и развернутых данных по их химической природе пока нет. Исключение составляют иммуноглобулиновые рецепторы, поскольку строение этих белков детально изучено. Они интегрированы с клеточной мембраной и не могут быть отделены от мембраны в солевых растворах; даже снятые непонимыми детергентами рецепторы остаются неразрывными при удалении детергента. Механизм их фиксации к мембране не ясен. С одной стороны, С-концы иммуноглобулиновых цепей не содержат гидрофобного аминокислотного участка, с другой — доказано, что эти участки тяжелых цепей поверхностных иммуноглобулинов частично погружены внутрь билипидного слоя мембраны.

Достаточно хорошо изучена химическая природа H-2 и HLA-A антигенов. Это связанные с мембраной сложные молекулы, состоящие из двух цепей — гликопротеидной с молекулярной массой 45 000 дальтон и полипептидной с молекулярной массой 12 000 дальтон (рис. 35). Полипептидная цепь — β_2 -микроглобулин является структурным гомологом С_H домена иммуноглобулинов. На этом основании считают, что гены H-2 и HLA-A имеют единого предшественника с генами иммуноглобулинов.

Ia-структура составлена из двух гликопротеидных цепей (α и β) с молекулярной массой 33 000 и 28 000 дальтон (см. рис. 35).

Ia-структуры достаточно гетерогенны, чтобы осуществлять специфическое распознавание, они кодируются Ig-генами

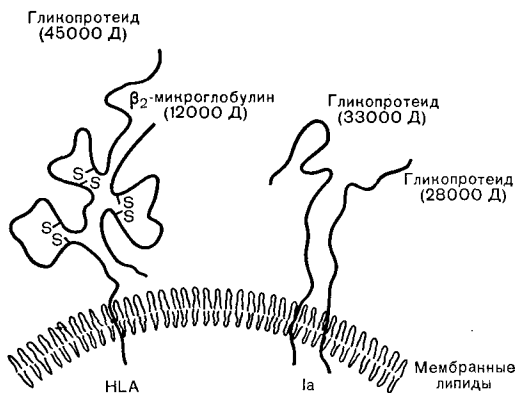


Рис. 35. Структура трансплантационных (HLA) и Ia-антигенов мыши.

* В скобках — молекулярная масса в дальтонах.

(см. ниже). Для некоторых Ia-молекул гены, кодирующие α - и β -цепи, локализуются в I-A субобласти H-2 комплекса; для других α -цепь кодируется в I-E, а β -цепь в I-A субобластях.

Будущее внесет коррективы — будут открыты новые антигенные и рецепторные структуры лимфоцитов, а некоторые, кажущиеся сегодня самостоятельными, могут оказаться едиными.

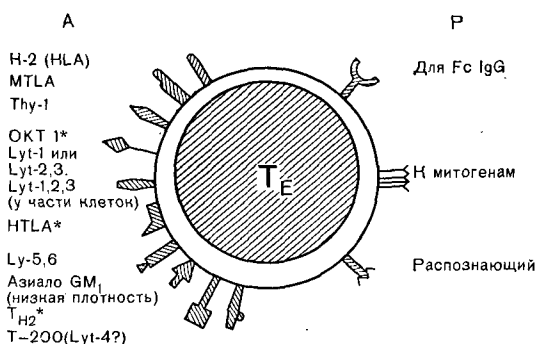
Субпопуляции лимфоцитов

При рассмотрении гистогенеза клеток иммунной системы (см. рис. 27) были описаны основные популяции T- и B-лимфоцитов и их главные функциональные характеристики. В данном разделе после рассмотрения антигенных и рецепторных структур лимфоцитов может быть проведена их большая детализация, тем более что деление на популяции и субпопуляции еще не завершено. В пределах отдельных субпопуляций обнаруживаются новые. Ряд клеток, который не может быть отнесен ни к T-, ни к B-лимфоцитам, получил название нулевых. Среди нуль-лимфоцитов выделены L-, K- и NK-клетки. Весьма часто совокупность всех T-лимфоцитов делят на T₁- и T₂-субпопуляции по их большей или меньшей тропности к селезенке и лимфатическим узлам. Среди B-лимфоцитов, помимо предшественников продуцентов иммуноглобулинов различных классов, описаны лимфоциты, обладающие свойствами супрессоров (B-супрессоры). Ниже дается краткая характеристика известных субпопуляций лимфоцитов.

T-эффекторы (T_E) — это клетки, которые осуществляют клеточные формы иммунного ответа (реакции гиперчувствительности замедленного типа, отторжение трансплантата, специфический лизис клеток-мишеней *in vitro*, реакции трансплантат против хозяина, противоопухолевый, противовирусный иммунитет). Антигенный и рецепторный аппарат T_E

Рис. 36. Антигены (А) и рецепторы (Р) и Т-эффекторов.

* у человека. Объяснения в тексте.



представлен на рис. 36. Для этих лимфоцитов характерен фенотип $Lyt-1-2+3^+$ или $Lyt-1+2+3^+$.

Цитолитические Т-лимфоциты, накапливающиеся при стимуляции Т_E аллогенными клетками и обладающие способностью разрушать клетки-мишени, нередко обозначают Т_C (см. главу IX). Т_C имеют фенотип $Lyt-1-2+3^+$. Лектинзависимую цитотоксическую активность проявляют Т-лимфоциты фенотипа $Lyt-1+2-3^-$. Стимуляция неспецифическими митогенами может усиливать их цитопатогенное действие в отношении клеток-мишеней, несущих антигены, стимуляция которыми обеспечила их накопление в организме.

Т-помощники (Т-хелперы, Т_H) включают В-лимфоциты в пролиферацию и дифференцировку, обеспечивающую накопление соответствующего клона зрелых антителопродуцентов — плазматических клеток, интенсивно синтезирующих антитела проти в иммунизирующего антигена. «Вспомогательный сигнал» индуцируется не гаптенной, а несущей частью молекулы антигена. Вот почему если одна и та же антигенная детерминанта соединена с разными несущими молекулами, то эффект Т_H, а следовательно, и результативность иммунизации могут быть разными. Это связано с тем, что гены иммунного ответа (см. главу VIII) реализуют свое действие через Т-клетки. Отсутствие клона Т_H в отношении определенной антигенной молекулы может определить низкий уровень включения соответствующих В-клеток и низкий уровень антителогенеза. Помещение антигенной детерминанты на другой носитель может превратить низкореагирующую особь в высокореагирующую и наоборот. Для Т_H типичен фенотип $Lyt-1+2-3^-$ и наличие рецепторов к Fc-фрагменту иммуноглобулинов класса М. В связи с этим они получили название Т_H. По этому признаку проводится количественная характеристика Т_H среди лимфоцитов человека (см. главу XX). Другие антигены и рецепторы Т_H показаны на рис. 37. Т-помощники распознают классы, аллотипы и идиотипы поверхности

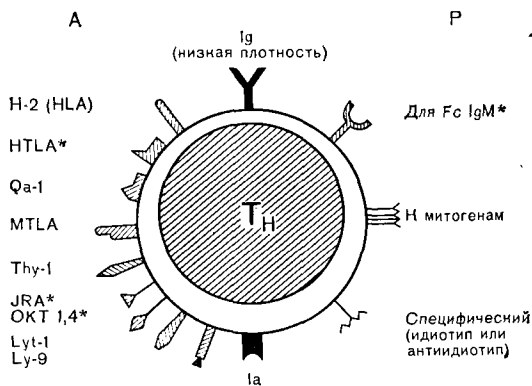


Рис. 37. Антигены (А) и рецепторы (Р) Т-помощников.

* У человека объяснения в тексте.

ных иммуноглобулинов В-лимфоцитов, благодаря чему стимулируют конкретные клоны этих клеток.

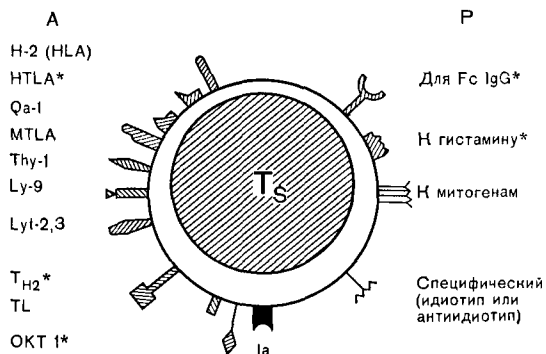
Различают два типа Т-помощников — T_H^+ и T_H^- , или T_{H1} и T_{H2} . Оба несут антигены $Lyt-1+2-3^-$ и специфичны по отношению к определенному антигену. T_{H1} требует для своего включения антигенного взаимодействия («моста») с макрофагом и В-лимфоцитом. T_{H2} включает В-лимфоцит при участии идиотипических и антиидиотипических иммуноглобулинов (см. ниже). Функция первых может быть замещена гуморальным фактором, опосредующим хелперную функцию. T_{H2} осуществляет свое действие только путем прямого контакта с макрофагом и В-лимфоцитом.

Т-усилители (Т-амплифайеры, T_A) — разновидность T_H . Их активность направлена на усиление функции Т-эсфекторов, Т-супрессоров и других клеток.

Т-супрессоры (T_S) тормозят включение В-лимфоцитов в пролиферацию и дифференцировку и, следовательно, тормозят выработку антител различных классов; обеспечивают эффект конкуренции антигенов; тормозят развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа, формирование цитотоксических Т-лимфоцитов; обеспечивают становление и поддержание иммунологической толерантности. Различают специфические и неспецифические T_S . Действие первых специфично для конкретного антигена. Они накапливаются при повторных воздействиях и под влиянием больших доз антигена. T_S , проявляющие неспецифическую супрессию, накапливаются под влиянием повторных воздействий посторонних антигенов или митогенов (ФГА, конканавалин и др.), при развитии реакции трансплантат против хозяина, при опухоли евом росте, при аутоиммунной патологии, старении, паразитарных инфекциях и др. Они тормозят развитие различных иммунных реакций, пролиферацию клеток, накопление эффекторных лимфоцитов. На рис. 38 представлен антигенный и рецепторный

Рис. 38. Антигены (А) и рецепторы (Р) Т-супрессоров.

* У человека. Объяснения в тексте.



аппарат T_s . Типичным является наличие рецептора для Fc-фрагмента иммуноглобулинов, но не M-, а G-класса. Такие клетки называют T_γ . По этому признаку ведется количественный учет T_s среди человеческих лимфоцитов (см. главу XX).

Различают три стадии развития T_s . Первая — собственно супрессоры, а точнее предшественники T_{s1} и T_{s2} , несут антигены $Lyt-1+2,3^+$, характеризуются высокой чувствительностью к циклофосфамиду. Вторая — T_{s1} , несут антигены $Lyt-2, 3^+$ и продуцируют супрессирующий фактор, который контролируется генами I-J. Фактор специфичен к данному антигену — идиотипически специфичен ($I-J^+$, идиотип $^+$). Этот фактор стимулирует развитие резистентных к циклофосфамиду T_{s2} супрессоров, которые являются эффекторными в этом ряду клеток и проявляют или не проявляют специфичность к антигену в зависимости от исследуемой системы. Генетическое ограничение (см. ниже) также проявляется или отсутствует в зависимости от исследуемой системы.

T-дифференцирующие (T_d) лимфоциты, взаимодействующие с кроветворными стволовыми клетками и оказывающие влияние на их миграцию, пролиферацию и дифференцировку. Выявляются в T_1 - и T_2 -субпопуляциях (см. ниже). Рецепторный аппарат мало изучен.

B-супрессоры (B_s) относятся к категории незрелых B-лимфоцитов, по-видимому, пре-B клеток. Они тормозят синтез ДНК и пролиферацию предшественников антителопродуцентов и других клеток, тормозят выработку антител, функции эффекторных T-лимфоцитов, ответ лимфоцитов на митогены. Основное местонахождение — костный мозг. Предполагается, что их главная миссия состоит в обеспечении запрета антителогенеза и других форм иммуногенеза на территории костного мозга. Поверхностные структуры мало изучены (рис. 39). Предполагается существование и B-помощников, усиливающих реакции клеточного типа.

Нулевые клетки — лимфоциты, не несущие отличительных маркеров Т- или В-лимфоцитов или имеющие очень низкую плотность соответствующих структур на своей поверхности (рис. 40). Неясно, являются ли они особой в функциональном отношении популяцией, предшественниками, которым еще предстоит приобрести отличительные признаки Т- или В-клеток, стареющими или аномальными лимфоцитами. Вполне вероятно, что в категорию нулевых клеток попадают различные варианты. Во всяком случае при определении количества Т- и В-лимфоцитов в крови человека методами розеткообразования или с помощью анти-Ig- и анти-Т-сывороток 5—10% клеток попадают в разряд нулевых. Лейкозы нулевого типа имеют худший прогноз, чем Т- или В-типа. Нулевые лимфоциты способны осуществлять антителозависимый не требующий присутствия комплемента лизис клеток-мишеней, т. е. разрушение аутологичных, аллогенных или ксеногенных клеток лимфоцитами в присутствии специфических против данных клеток антител.

L- и К-лимфоциты — разновидности нулевых лимфоцитов (рис. 41, 42), также способны осуществлять антителозависимый не требующий присутствия комплемента лизис клеток-мишеней. Для L-лимфоцитов это показано в отношении аутологичных и аллогенных мононуклеаров периферической крови. Для К-лимфоцитов мишенями могут служить аллогенные и ксеногенные опухолевые клетки различной природы, лимфоциты и лимфобласты, эритроциты, моноциты, фибробласты, трансформированные вирусами культивируемые клетки Т- и В-линий и т. д.

НК-клетки (естественные киллеры) также не имеют выраженных Т- или В-маркеров, хотя, по-видимому, в большей мере относятся к Т-серии клеток (рис. 43). У них не обнаруживаются иммуноглобулиновые рецепторы, но имеются в малом количестве Thy-1-антиген и рецепторы к эритроцитам барана низкой avidности. Вместе с тем они в достаточном количестве содержатся среди лимфоцитов бестимусных (nude) мышей. Естественные киллеры в настоящее время рассматриваются как главные клетки, осуществляющие противоопухолевую защиту. Они осуществляют без предварительной иммунизации независимый от антител и комплемента лизис практически любых опухолевых клеток-мишеней аллогенной, ксеногенной и аутологичной природы. Наиболее четко литическое действие НК-лимфоцитов проявляется при их отношении к клеткам-мишеням, равном 5:1—40:1. В качестве клеток-мишеней могут выступать и неопухолевые клетки. Однако они лизируются менее эффективно. Весьма устойчивы к действию естественных киллеров лимфобластомные клетки. Ксеногенные клетки лизируются менее эффективно, чем аллогенные. Среди аллогенных культивируемых клеток известны наи-

Рис. 39. Антигены (А) и рецепторы (Р) В-супрессоров.

Объяснения в тексте.

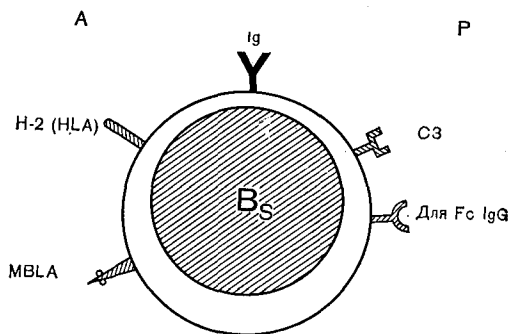
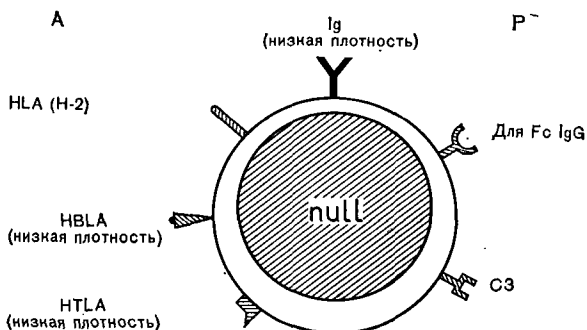


Рис. 40. Антигены (А) и рецепторы (Р) нулевых лимфоцитов.

Объяснение в тексте.



более чувствительные линии (например, линия К 562), которые используются в качестве тестовых мишеней для оценки активности НК-лимфоцитов человека. Обработка киллеров препаратами иммуноглобулинов не снимает их цитотоксичности, что свидетельствует о независимости их активности от наличия рецепторов к Fc-фрагменту иммуноглобулина. Обработка трипсином снижает активность НК-клеток. Последующая инкубация в аутологичной сыворотке не восстанавливает утраченной активности, что указывает на эффекторную роль собственных, а не адсорбированных из сыворотки белковых структур.

Активность НК-клеток может быть усилена инъекциями БЦЖ. Их действие стимулируется интерфероном и другими гуморальными факторами, вырабатываемыми Т-лимфоцитами. Обнаружен специфический НК-1-антиген. Эти клетки несут рецепторы к интерферону, который стимулирует их киллерную активность. Следует иметь в виду, что клетки-мишени, инкубированные с интерфероном, снижают свою чувствительность к НК.

Существенное значение имеет деление Т-лимфоцитов на Т₁- и Т₂-субпопуляции. Это деление возникло при наблюдении

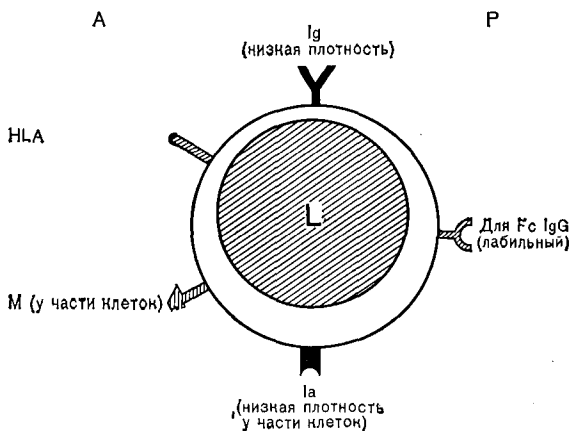


Рис. 41. Антигены (А) и рецепторы (Р) L-клеток.
Объяснения в тексте.

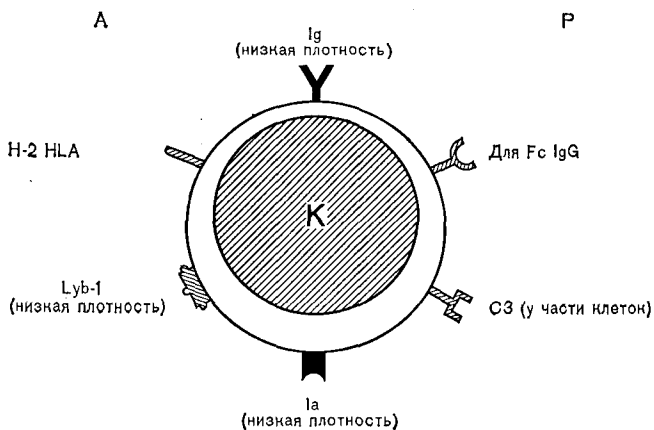


Рис. 42. Антигены (А) и рецепторы (Р) К-клеток.
Объяснения в тексте.

нии за тропностью лимфоцитов, трансплантированных сингенным летально облученным реципиентам. Оказалось, что часть лимфоцитов оседает преимущественно в селезенке (T_1), а другая часть — в лимфатических узлах (T_2). Детальная характеристика этих субпопуляций приведена в табл. 14.

В заключение следует подчеркнуть, что учение о субпопуляциях лимфоцитов — это достижение последнего десятилетия.

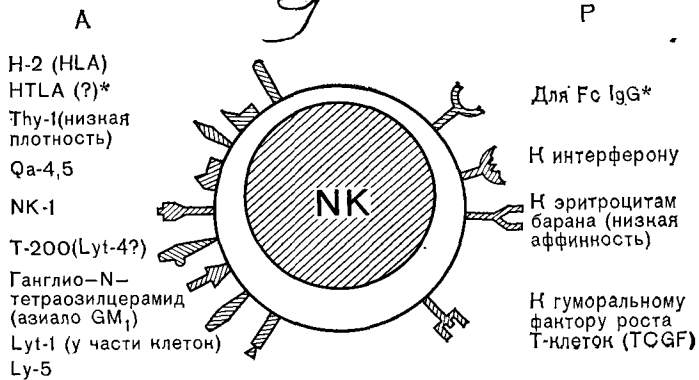


Рис. 43. Антигены (А) и рецепторы (Р) NK-клеток.

* У человека. Объяснения в тексте.

Исследования субпопуляций еще далеки до завершения. Роль и значение отдельных субпопуляций окончательно не вскрыты. Их онтогенетические взаимоотношения во многом не ясны. Дискутируется вопрос о том, что некоторые субпопуляции представляют собой лишь функциональные фазы одной и той же популяции. С одной стороны, есть все основания считать, что главные популяции Т-лимфоцитов — T_H , T_S и T_E , представляют собой независимо развивающиеся клеточные линии. С другой стороны, имеются доказательства изменения поверхности остного фенотипа Т-лимфоцитов, характерного для T_H , на фенотип T_S . Например, T_H , несущие Fc-рецепторы к IgM, способны трансформироваться в клетки, экспрессирующие Fc-рецепторы к IgG, т. е. в клетки, фенотип которых характерен для Т-супрессоров. Выше указывалось, что большую загадку представляют собой нулевые клетки, не несущие основных маркеров Т- или В-лимфоцитов. Не менее загадочны так называемые D-лимфоциты, несущие двойной признак — и Т- и В-лимфоцитов. Они образуют розетки и с эритроцитами барана и с эритроцитами, нагруженными комплексом антитело — комплемент (ЕАС-розетки, типичные для В-лимфоцитов). Количество D-лимфоцитов в норме невелико, около одного.

Однако их возникновение не артефакт, так как описаны D-лимфомы, при которых разрастается именно этот тип лимфоцитов.

В ближайшем будущем учение о субпопуляциях лимфоцитов пополнится многими новыми сведениями.

Т а б л и ц а 14

Характеристика T₁- и T₂-субпопуляций лимфоцитов мышей

Свойства	Субпопуляции	
	T ₁	T ₂
Преимущественная локализация	Селезенка	Лимфатические узлы, грудной лимфатический проток, периферическая кровь
Рециркуляция	Низкая	Высокая
Преимущественная миграция	В селезенку	В лимфатические узлы
Продолжительность жизни	Короткоживущие	Долгоживущие
Чувствительность к АЛС in vivo	+	+++
Чувствительность к облучению	Высокая	Низкая
Элиминация дренированием грудного лимфатического протока	-	+
Элиминация после тимэктомии половозрелых мышей	Через 2—6 нед	Через 30 нед
Спонтанная пролиферация	Высокая	Низкая
Электрофоретическая подвижность	Низкая	Высокая
Экспрессия мембранных антигенов:		
Thy-1	+++	+
TL	-	-
Lyt	Lyt-1 ⁻ 2 ⁻ 3 ⁻ Lyt-1 ⁻ 2 ⁺ 3 ⁺	Lyt-1 ⁻ 2 ⁻ 3 ⁺ Lyt-1 ⁺ 2 ⁻ 3 ⁻ Lyt-1 ⁺ 2 ⁺ 3 ⁺
Реакция на антигены*:		
LD	+++	+
SD	+	+++
M-локуса	+++	+
Инактивация несингенных КОЕ _S	-	+++
Способность влиять на направление дифференцировки КОЕ	+	+
Способность усиливать пролиферацию КОЕ _S	?	+
Усилители Т-хелперов	+	-
Предшественники Т-хелперов	-	+**
Усилители Т-киллеров	+	-
Предшественники Т-киллеров	-	+
Усилители лимфоцитов, индуцирующих РТПХ	+	-

Свойства	Субпопуляции	
	T ₁	T ₂
Лимфоциты, индуцирующие РТПХ	—	+
Супрессорная активность	+	+

* См. главу VIII.

** В определенных условиях опыта хелперной функцией могут обладать T₁-лимфоциты [Д. Лоренц и др., 1978].

Глава VII

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК В ИММУННОМ ОТВЕТЕ

Трехклеточная схема кооперации

Вскоре после установления необходимости взаимодействия T- и B-лимфоцитов для реализации иммунного ответа возникли гипотезы о трехклеточных системах взаимодействия, в которые в качестве обязательного участника был включен макрофаг.

В 1969 г. несколько авторов (Р. В. Петров, И. Ройт, М. Беренбаум) независимо друг от друга предположили, что процесс антигеногенеза инициируется совместной работой трех клеток: макрофага, костномозгового лимфоцита и лимфоцита тимусного происхождения.

Включение макрофага в систему взаимодействующих клеток естественно. Известно, что макрофаги фагоцитируют и перерабатывают антигенный материал, а продуцируют антитела плазматические клетки, происходящие отнюдь не из макрофагов. Следовательно, макрофаг должен участвовать во взаимодействии, чтобы каким-то образом передать информацию об антигене или сам антиген клеткам — предшественникам антителопродуцентов. В опытах *in vitro* было показано, что при смешивании чистых популяций T- и B-клеток иммунный ответ не возникает. Для его реализации требуется третий клеточный компонент — макрофаги. Их стали называть А-клетками за способность активно прикрепляться к стеклу (*adherens*). Каким образом достигается взаимодействие T-, B- и А-клеток, известно не было. Предполагалось, что макрофаг переносит клеткам-продуцентам антител и (или) клеткам-помощникам переработанный антиген в высокоиммуногенной

форме. Однако вопрос о природе включающего сигнала до сих пор остается открытым.

Механизмы кооперации рассматриваются в пяти схематичных вариантах. В первом случае предполагается, что антиген вклинивается между В- и Т-клетками таким образом, что одна часть его детерминант связывается с рецепторами к гаптену, обнаруживаемыми на В-клетках, а другая часть — с рецепторами к носителю на Т-клетках. Синтез антител к гаптену начинается лишь при связывании обеих детерминант. Во втором варианте допускается, что синтез антител возникает при непосредственном контакте В- и Т-клеток, рецепторы которых подходят друг к другу, как ключ к замку. Антиген же лишь служит только для удержания В- и Т-клеток на близком расстоянии. Для этой цели на В- и Т-клетках должны существовать два типа рецепторов: одни — для узнавания друг друга, а другие — для распознавания антигенных молекул. Эта гипотеза получила в настоящее время наибольшее развитие и будет рассмотрена ниже как гипотеза двойного распознавания. В третьем случае включение синтеза антител В-клеткой вызывается концентрированием антигена на ее поверхности, осуществляемого через неизвестный иммуноглобулин IgT, существующий предположительно на Т-клетках. В четвертом варианте допускается, что после сшивания антигеном В- и Т-клетки из Т-клетки выделяется гуморальный фактор, который и индуцирует синтез антител в В-клетке. Пятый случай предусматривает более простой механизм: после связывания антигена рецепторами Т-клеток они выделяют гуморальный фактор, который включает В-клетки в антителопродукцию.

В 1973 и 1974 гг. было доказано, что роль макрофага не ограничивается переработкой корпускулярного антигена с доведением его до активной молекулярной формы. Доказано, что взаимодействие макрофаг — Т-лимфоцит является необходимым этапом для окончательного созревания Т-эффекторов, для приобретения ими способности пролиферировать и накапливаться в большом количестве в виде цитотоксических сенсibilизированных лимфоцитов под влиянием антигенного стимула. Макрофаги являются основными клетками, подающими антиген Т-лимфоцитам. Кроме того, макрофаги имеют специальные рецепторы для удержания Fc-фрагментов тяжелых цепей иммуноглобулинов. По М. Фелдману (1975), молекулы антигена, соединившись своими несущими частями с иммуноглобулиновыми рецепторами Т-лимфоцитов, снимают гипотетический IgT с их поверхности (рис. 44, этапы 1 и 2). Молекулы связанного с антигеном IgT имеют свободные Fc-фрагменты тяжелых цепей. Этими фрагментами они присоединяются к соответствующим рецепторам поверхности макрофагов (рис. 44, этап 3). Возникает концентрированная

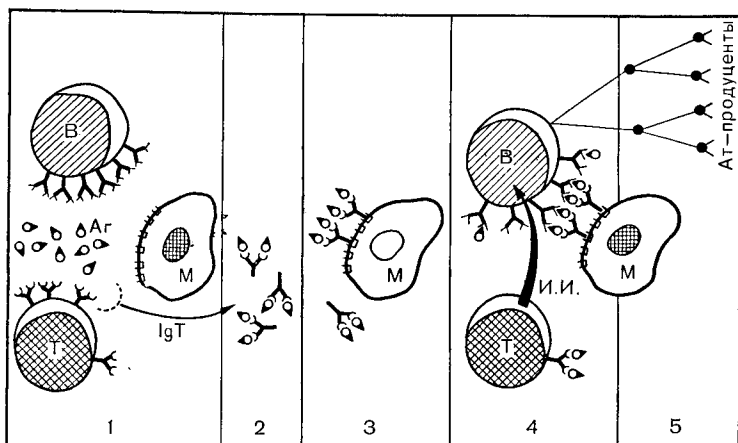


Рис. 44. Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов с помощью макрофага. Т и В — соответственно Т- и В-лимфоциты; М — макрофаг; Аг — антигены; ИИ — индуктор иммунопоза; Ат — антитело; 1—5 — этапы взаимодействия.

«обойма» антигенных молекул, ориентированных своими детерминантными (гаптенными) участками наружу: «обойма» и подается В-лимфоциту (рис. 44, этап 4). Только такой массивный сигнал может включить В-лимфоцит в пролиферацию и дифференцировку.

Присоединения к отдельным рецепторам В-лимфоцита единичных молекул антигена не являются эффективными сигналами. Эффективный сигнал подается макрофагом в виде «обоймы» молекул антигена. Однако это только первый, специфический, сигнал. Чтобы лимфоцит начал размножаться и дифференцироваться в сторону плазматической клетки (рис. 44, этап 5), необходим второй сигнал. Эта вторая команда, исходящая из Т-лимфоцита, неспецифична в отношении конкретного антигена. Он может быть передан Т-лимфоцитом, активированным другим антигенным стимулом. Природа второго сигнала неизвестна. В трехклеточной схеме [Петров Р. В., 1969] он был назван индуктором иммунопоза. В описываемой схеме «молекулярных событий» (рис. 44, этап 4) сохранено это название. Предполагается, что в роли этого неспецифического сигнала выступает один из компонентов комплемента (С3). Выше было указано, что для него имеются рецепторы на всех В-клетках.

Приведенная выше схема рассматривает молекулу антигена как комплекс несущая часть — гаптен. Рецепторы В-клеток специфичны к гаптenu, рецепторы Т-клеток — к несущей части. Вместе с тем известно (см. главу VI «Антигены»), что антитела вырабатываются как к гаптенной части молекулы,

так и к несущей. Это значит, что существуют В-клетки, которые имеют рецепторы к детерминантам несущей части. Но что в таком случае распознается Т-помощником? В последнее время доказано, что Т-лимфоциты способны распознавать те же антигенные детерминанты, что и В-лимфоциты. Скажем, для антигенной молекулы полипептид-гаптен (П-Г) имеются В-лимфоциты, распознающие только Г и только какую-либо полипептидную детерминанту П. Оказалось, что среди Т-лимфоцитов также есть клетки, распознающие Г, и клетки, распознающие П. При этом антигенспецифические рецепторы Т-лимфоцитов по своей узнающей части тождественны иммуноглобулиновым рецепторам В-лимфоцитов; они относятся к одному и тому же идиотипу. А это значит, что понятия об антигенных детерминантах несущей и гаптенной части условны. Однако это не изменяет существа проблемы Т-В кооперации. На рис. 44 представлен простейший вариант антигенной молекулы в виде одной несущей и одной гаптенной детерминанты, скажем П-Г. Схема предполагает включение одного Т-лимфоцита (анти П) и одного В-лимфоцита (анти Г). При этом включается выработка анти-Г-антител. Точно такая схема должна быть изображена и для включения анти-П-антител. Только Т-помощник будет узнавать детерминанту Г антигенной молекулы, а В-лимфоцит будет иметь анти-П-рецепторы. А это значит, что в самом простейшем случае, когда антигенная молекула имеет всего две антигенные детерминанты, кооперативно работают четыре клон-лимфоцитов — два Т и два В (см. последний раздел настоящей главы). В реальной ситуации сеть кооперирующих Т- и В-лимфоцитов более сложна. Но принцип, по-видимому, один: Т-помощник, распознающий одну детерминанту антигенной молекулы, обеспечивает подачу антигенного сигнала В-лимфоциту, распознающему другую детерминанту этой же молекулы.

Некоторая часть антигенов относится к так называемым тимуснезависимым антигенам. Выработка антител против них осуществляется без участия Т-клеток, например у тимэктомированных животных или в культуре чистой популяции В-клеток. К таким антигенам относятся некоторые микробные липополисахариды и полисахариды, например Vi-антиген сальмонелл, пневмококковый полисахарид, липополисахарид из кишечной палочки. Естественно, возникает вопрос, не является ли существование таких антигенов опровержением общего положения о необходимости взаимодействий клеток при индукции антителогенеза. По-видимому, нет. Анализ строения этих антигенов подтверждает изложенную схему событий. Характерной особенностью строения этих антигенов является жесткая полисахаридная цепь с густо посаженными, регулярно чередующимися и тождественными друг другу ан-

тигенными детерминантами. Сама молекула фактически представляет собой мультигаптенную «обойму», которую для других антигенов создают взаимодействующие макрофаги Т-лимфоцит. Второй, неспецифический, сигнал, по-видимому, не нужен для таких мультигаптенных молекул с жесткой линейной структурой.

Значение регуляторной в антигенном отношении полимерности для возникновения Т-независимого свойства антигена демонстрируется также на примере белкового антигена флагеллина. Этот белок с молекулярной массой около 40 000 выделен из жгутиков некоторых видов сальмонелл. Он обладает высокой иммуногенностью и в дозе 10 пг вызывает выраженную антителопродукцию у крыс и мышей. Флагеллин легко полимеризуется в присутствии невысоких концентраций солей или полимеризованной затравки. При этом молекула белка приобретает структуру, которая типична для его естественного состояния внутри микробного жгутика. Эта структура характеризуется наличием 8—10 спиральных субфибрилл, обеспечивающих жесткость молекулы и регулярность ее тождественных участков. В мономерной форме флагеллин является тимусзависимым антигеном, в полимерной — тимусзависимым. Сывороточный альбумин — типичный тимусзависимый антиген, в комплексе с производными поли-4-винилпиридина, которые «упаковывают» молекулы альбумина в регулярные глобулярные структуры (см. главу XII), превращается в сильный тимуснезависимый антиген.

Приведенная выше схема трехклеточной кооперации (см. рис. 44) соответствует одной из многочисленных гипотез, описывающих последовательность событий при взаимодействии клеток и их молекулярный механизм. В последние годы открыты механизмы двойного распознавания и антиидиотипической регуляции (см. ниже), которые не рассматриваются в схеме М. Фелдмана. Более того, существование IgT до сих пор не доказано. Может быть, массивный антигенный сигнал (антигенная «обойма») подается В-лимфоциту не Т-помощником через IgT-макрофаг, а прямо макрофагом посредством комплекса Ia-антиген. Это будет рассмотрено в следующем разделе настоящей главы. Там же будет приведена другая схема трехклеточной кооперации, в которой также не все учтено. Далее будут описаны схемы идиотип-антиидиотипического взаимодействия. Значение этих схем велико, несмотря на то что они не претендуют на исчерпывающую полноту и точность. Они поясняют сложность существа проблемы, динамичность развития клеточной и молекулярной иммунологии в настоящее время и, безусловно, верны в своей главной сути: для реализации иммунного ответа необходимо взаимодействие клонов клеток различных популяций и субпопуляций. Эта проблема в настоящее время является главной теорети-

ческой проблемой иммунологии. Глубокая расшифровка этой проблемы откроет пути направленного воздействия на кооперирующие клетки (макрофаги, Т-помощники, Т-супрессоры, В-лимфоциты и др.), пути фармакологической коррекции иммунных процессов.

Двойное распознавание

Выше указывалось, что противовирусный иммунитет, подобно трансплантационному, осуществляется по клеточному типу, т. е. Т-эффекторами. Накопившиеся в результате иммунизации специфические T_E распознают чужеродную в генетическом отношении или измененную вирусом клетку и уничтожают ее. При этом распознавание генетической чужеродности в случае аллогенного трансплантата идет в первую очередь по антигенам главной системы гистосовместимости, которая у мышей обозначается как H-2 система (см. главу VIII). В случае вирусной инфекции предполагалось, что T_E распознают вирус как чужеродную субстанцию и атакуют пораженную им клетку.

В 1975 г. Р. Цинкернагель, П. Догерти и др. обнаружили следующие имеющие фундаментальное значение факты. Мыши определенного генотипа были иммунизированы определенным вирусом. Накопившиеся эффекторныe лимфоциты, как и следовало ожидать, взаимодействовали в культуре с зараженными данным вирусом клетками сингенных мышей, узнавали их как чужеродных и вызывали цитолиз. Если же в качестве зараженных вирусом клеток-мишеней были использованы не сингенные клетки, то цитопатогенного эффекта не наступало. Иначе говоря, для того чтобы лимфоцит распознал вирусный агент в пораженной клетке, нужен не только тот же вирус, но и генотипически тождественная лимфоциту клетка, которая поражает вирус. Генетический анализ эффекта показал, что лимфоциты-киллеры и зараженные вирусом клетки-мишени должны быть тождественны по антигенам гистосовместимости, кодируемым К и D концами H-2 системы (см. главу VIII). Если эти H-2 антигены не тождественны, лимфоцит не распознает вирус. «Чужой» вирусный антиген распознается рецепторами Т-лимфоцитов только в комплексе со «своей» молекулой H-2 антигена. А это означает, что распознающий рецепторный аппарат Т-лимфоцита утроен в соответствии с одним из трех изображенных на схеме вариантов (рис. 45). Первый вариант предполагает (рис. 45, а), что лимфоцит несет два отдельных, не связанных друг с другом рецептора. Один служит для распознавания «своего», в данном случае тождественного H-2 антигена. Второй рецептор распознает вирус, но взаимодействует с ним только при со-

ответствии первого антигену гистосовместимости. Этот вариант предполагает, что оба рецептора пространственно расположены близко друг к другу. В качестве рецепторов клеточного взаимодействия могут выступать сами молекулы H-2 антигенов. При этом допускается их взаимная комплементарность в случае кодирования одним и тем же аллелем. Если это предположение подтвердится, то антигены главной системы гистосовместимости окажутся структурами, которые обеспечивают не только многообразие внутривидовых антигенных различий, обеспечивающих несовместимость, но и аппаратом узнавания генетически тождественных клеток, аппаратом узнавания «своего», а также аппаратом, с которым взаимодействуют заражающие клетку вирусы. Это последнее ставит вопрос о том, что молекулы трансплантационных антигенов являются рецепторами для вирусов, а возможно, и для других антигенов, т. е. аппаратом первичного распознавания чужеродных субстанций.

Второй вариант рецепторной структуры T-лимфоцита предполагает, что распознавание (рис. 45, б) осуществляется единой рецепторной молекулой, которая имеет комплексный распознающий центр, часть которого комплементарна H-2 антигену, а другая часть — вирусу.

В третьем варианте (рис. 45, в) распознающий центр един; он комплементарен модифицированной вирусом молекуле H-2 антигена.

Наиболее обоснован и правдоподобен первый вариант, который предполагает наличие у T-лимфоцитов структур (рецепторов) для узнавания клеток собственного организма, ибо без таких структур трудно представить направленное взаимодействие с соответствующими клетками. T-лимфоциты взаимодействуют с B-лимфоцитами, макрофагами, другими популяциями T-лимфоцитов, с кроветворными стволовыми клетками (см. ниже). Не исключено, что ответственные за эти взаимодействия субпопуляции лимфоцитов несут структуры, узнающие соответствующие клетки собственного тела. Последнее необходимо подчеркнуть потому, что взаимодействия T-B, T-T, T-макрофаг и T-стволовая клетка между аллогенными партнерами не проходят.

Механизм узнавания «своего» гипотетичен. Возможна взаимная комплементарность однотипичных структур, скажем Ia или H-2K, H-2D антигенов главного комплекса гистосовместимости. Возможна комплементарность по принципу антиген — антитело. Наконец, не исключено, что узнавание осуществляется с помощью молекулы-посредника, которая имеет два распознающих участка, комплементарных к идентичным структурам на генетически тождественных клетках, нечто вроде аутоантитела для осуществления взаимодействия клеток (рис. 46).

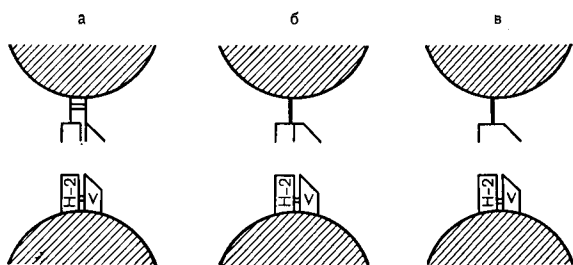


Рис. 45. Возможные варианты рецепторов двойного распознавания.

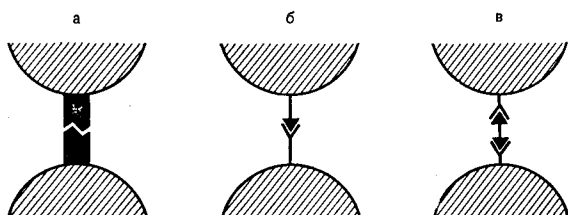


Рис. 46. Гипотетические структуры клеток, обеспечивающие распознавание «своего».

Итак, двойное распознавание в случаях вирусного заражения заключается в том, что Т-лимфоцит распознает вирус только в комплексе со «своей» для лимфоцита молекулой H-2 антигена. Молекула H-2 антигена выступает в роли структуры первичного взаимодействия (первичного распознавания) с вирусом. Кроме того, H-2 антиген выступает в роли структуры, подающей вирус Т-лимфоциту, т. е. в роли структуры, осуществляющей взаимодействие клеток, например макрофага, поглотившего вирус, с Т-лимфоцитом.

Следует напомнить, что для двойного распознавания в описанном варианте необходимо генетическое тождество по К- и D-антигенам H-2 системы, т. е. по SD-антигенам (см. главу VIII). Различие или тождество по Ia-антигенам не существенно для вирусного варианта распознавания. Ia-антигены кодируются I-областью главной системы гистосовместимости, той областью, где локализируются Ig-гены иммунного ответа, которые определяют высоту иммунного реагирования на тот или иной антиген (см. главу VIII). Функция Ia-структур далеко еще не выяснена. Б. Бенацераф (1979) предположил, что Ia-молекулы осуществляют первичное распознавание и взаимодействие с большинством антигенов, т. е. они выполняют миссию, аналогичную описанной выше миссии H-2 антигенов, но только не в адрес вирусов, а в адрес большинства про-

чих антигенов, в частности в адрес растворимых антигенов. Наибольшее количество Ia-структур обнаруживается на макрофагах и В-лимфоцитах. Б. Бенацераф провел с невирусными антигенными субстанциями опыты, подобные описанным выше, и распространил принцип двойного распознавания на все антигены. В роли молекул, обеспечивающих для Т-лимфоцитов двойное распознавание одновременно «своего» и «чужого», выступают для одних антигенов молекулы H-2K и H-2D, а для других Ia-структуры.

Существует гипотеза, согласно которой Т-лимфоциты, созревая в вилочковой железе, теряют аффинитет в отношении антигенов собственного МНС, но приобретают широкий репертуар высокоаффинных распознающих структур в адрес чужеродных (аллогенных) МНС антигенов. Низкоаффинные взаимодействия осуществляют узнавание «своего», а высокоаффинные — реакцию на аллогенные или видоизмененные антигеном МНС-продукты. Реакция на ксеногенные антигены протекает слабее, чем на аллогенные. МНС-продукты, видоизмененные вирусом, воспринимаются как вариант H-2 аллогенной специфичности. Действительно, цитотоксические лимфоциты против сингенных BALB/c клеток (H-2d), покрытых вирусом Сендай, оказывают цитотоксическое действие и на не зараженные вирусом клетки гаплотипов H-2^b, H-2^c, H-2^k, H-2^s и H-2^r (см. главу XIII).

Точно так же у Т-лимфоцитов в вилочковой железе «воспитывается» (накапливается разнообразие) способность узнавать различные аутологичные Ia-специфичности. Именно поэтому у Т-лимфоциты от Ig-низкорреагирующих генотипов, воспитываемые в вилочковой железе высокорреагирующих F₁ гибридов, ведут себя как высокорреагирующие хелперы при условии использования Ia-антигенподающих макрофагов от высокоотвечающих F₁ особей [Цинкернагель Р., 1980]. Последнее продемонстрировано в опытах с трансплантацией клеток низкорреагирующих генотипов облученным F₁ реципиентам, т. е. в опытах с радиационными химерами (см. главу XV).

Эти разработки последних лет имеют большое теоретическое значение. Они демонстрируют несколько принципиальных положений.

1. Специфическое иммунологическое реагирование осуществляется Т-лимфоцитами только совместно с другими клетками. Т-лимфоцит распознает «чужое» только в том случае, если оно комплексировано со «своим». Основной клеткой, подающей антиген лимфоцитам, является макрофаг.

2. В роли структур первичного распознавания чужеродных антигенов выступают продукты генов H-2K, H-2D или Ia.

3. Эти же продукты генов участвуют в процессах кооперации, выступая в роли молекул взаимодействия. Способ уча-

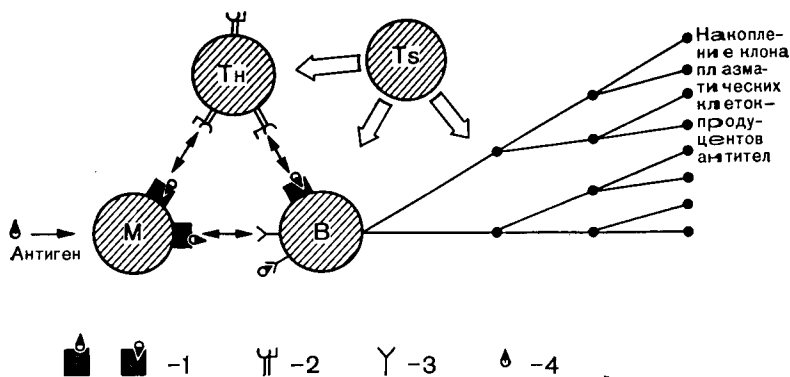


Рис. 47. Взаимодействие клеток при включении антителогенеза с учетом двойного распознавания.

M — макрофаг; T_H — Т-помощник; B — В-лимфоцит; T_S — Т-супрессор. 1 — комплексы антиген-Ia; 2 — рецепторы двойного распознавания; 3 — Ig-рецепторы; 4 — антиген.

ствия гипотетичен. Или они сами, хотя и располагаются на разных клетках одного и того же организма, комплементарны друг другу, или на различных клетках имеются специальные рецепторы для распознавания «своих» Ia и H-2K или H-2D комплексов.

Высказано предположение, что молекулы Ia и H-2K или H-2D антигенов являются эволюционными предшественниками высокоспециализированных структур иммунологического распознавания, включая наиболее специфические — молекулы антител. Эволюционная последовательность такова: прото Ia → Ia, H-2K, H-2D → Ig.

В общей форме схема взаимодействия клеток при стимуляции иммунного ответа приведена на рис. 47. Главной клеткой, подающей антиген лимфоцитам («антигенпредставляющая клетка») является макрофаг. Взаимодействия макрофаг — T_H — B подвержены генетическому ограничению, т. е. реализуются успешно только при условии генетического тождества по антигенам главной системы гистосовместимости (Ia, H-2K, H-2D и, возможно, другим). Узнавание клеток-партнеров взаимодействия происходит при участии иммунизирующего антигена, продуктов генов главного комплекса гистосовместимости (Ia, H-2K, D), узнающих рецепторов и антирецепторов (см. раздел «Антиидиотипические рецепторы и теория антиидиотипической сети»). Взаимодействие T-супрессоров с T-помощниками и B-лимфоцитами, по-видимому, имеет менее выраженное генетическое ограничение. На рис. 47 учтено двойное распознавание по Ia-комплексу. Механизмы включения T-супрессоров не рассматриваются; указаны только места их действия. Главная точка приложения супрессо-

ров — Т-помощник. Однако супрессирующее влияние может быть оказано на В-лимфоцит и на его пролиферирующее потомство. Схема включения вирусом Т-лимфоцитов-эффекторов не приведена, но она аналогична; только с вирусом комплексируется не Ia-структура, а SD-антигены; вместо T_H работает T_A ; вместо В-лимфоцита — T_E . Накапливающимся клоном являются не плазматические клетки, а цитотоксические Т-лимфоциты-киллеры.

Роль взаимодействия клеток при первичном и вторичном иммунном ответе

Большинство тимуснезависимых антигенов даже при повторном введении стимулирует выработку антител, относящихся только к IgM, т. е. антител первичного ответа. Поскольку иммунный ответ на эти антигены не требует участия Т-клеток, возникает два положения. Во-первых, выработка IgG-антител в большей мере зависит от Т-В кооперации. Во-вторых, взаимодействие Т- и В-лимфоцитов является важным этапом не только при иницировании первичного иммунного ответа, но и вторичного, поскольку при вторичной стимуляции подавляющим большинством антигенов вырабатываются главным образом антитела класса IgG. Без участия Т-помощников не осуществляется выработка иммуноглобулинов классов А и Е. Последнее означает, что практически все аллергены, вызывающие гиперчувствительность немедленного типа, относятся к тимуснезависимым антигенам.

Результативность Т-В кооперации при первичном и вторичном ответах различна. Определяющим фактором является не только количество взаимодействующих клеток, но и их соотношение. Последнее иллюстрируется опытами по добавлению к одному и тому же числу В-клеток различных количеств Т-лимфоцитов и наоборот. В качестве популяции В-клеток обычно используют взвесь клеток костного мозга, Т-клеток — взвесь клеток вилочковой железы или лимфоциты лимфатических узлов. Смесь клеток вместе с эритроцитами барана помещают в культуру *in vivo* (трансплантируют летально облученному реципиенту). Через 5—6 дней в селезенке реципиента определяют число возникших плазмоцитов, синтезирующих антитела. Чем результативнее кооперация, тем больше возникает антителопродукентов. Оптимальный эффект кооперации наблюдается в тех случаях, когда на одну В-клетку приходится около 100 тимоцитов, или 1,5—2,5 Т-лимфоцита из лимфатических узлов, т. е. периферических, «зрелых» Т-клеток. По-видимому, большинство тимоцитов находится в стадии, когда они еще не приобрели функции клеток-помощников. Конечно, эти цифры весьма условны уже хотя бы потому, что лишь небольшая часть Т- и В-клеток несет рецепторы к дан-

ному антигену. Поскольку среди Т-лимфоцитов не все помощники, целесообразно считать, что для включения иммунопоза по первичному типу необходимо взаимодействие одного Т-лимфоцита с одним В-лимфоцитом.

В иммунологии существует положение о «моногамии» Т-лимфоцитов. Возможна ли повторная кооперация одного Т-лимфоцита со вторым и третьим В-лимфоцитом, неизвестно.

В нормальной популяции селезеночных клеток фактором, лимитирующим максимальный иммунный ответ, являются Т-помощники. Это показано с помощью метода минимальных разведений клеточных суспензий в культуре *in vivo*. Принцип метода — использование столь малого количества клеток, которое обеспечивает реализацию минимального иммунного ответа. Добавление к этому количеству селезеночных клеток В-лимфоцитов не повышает их потенций. Добавление Т-лимфоцитов увеличивает выход антителопродукторов в 5—30 раз.

Для популяции клеток лимфатических узлов лимитирующими элементами являются В-лимфоциты. Добавление костномозговых клеток резко увеличивает продуктивность популяции.

Оптимальное соотношение взаимодействующих Т- и В-элементов при вторичном ответе рассчитать еще труднее, поскольку после первичной антигенной стимуляции происходит размножение лимфоцитов, несущих соответствующие рецепторы. Количество представителей данного клона лимфоцитов значительно возрастает. Длительность персистенции возросшего числа клеток данного клона определяет иммунологическую память индивидуума к данному антигену.

Иммунологическая память

Под иммунологической памятью понимают способность индивидуума реагировать по вторичному типу, т. е. ускоренно и усиленно, при повторном введении того антигена, которым индивидуум был иммунизирован ранее. Иммунологическая память сохраняется в течение многих месяцев, а для некоторых антигенов многие годы.

Как уже показано, реализация В-клетками вторичного ответа без клеток-помощников Т-серии невозможна. Значит ли это, что именно долгоживущие Т-лимфоциты являются хранителями иммунологической памяти? Этот вопрос тем более закономерен, что Т-лимфоциты рециркулирующего пула характеризуются значительно большей продолжительностью жизни, чем В-лимфоциты (см. табл. 12). Кроме того, иммунологическая память свойственна не только гуморальной форме реагирования на антигены. Выработка сенсibilизированных лимфоцитов-эффекторов (гиперчувствительность за медленного типа, трансплантационный иммунитет и др.) «запоминает»

ся» в не меньшей мере. Поскольку эта форма реагирования определяется только Т-системой иммунитета без участия клеток серии В, то Т-лимфоциты, несомненно, имеют отношение к хранению иммунологической памяти.

Удивительная длительность жизни рециркулирующих Т-лимфоцитов, вернее, их сохранение в покоящемся немитотическом состоянии, недавно продемонстрирована совершенно неожиданным образом. Показана способность тимусзависимых лимфоцитов реагировать на ФГА, выражающаяся в том, что помещенные в питательную среду лимфоциты под влиянием ФГА превращаются в бласты и начинают делиться. Остановка деления в метафазе колхицином дает возможность изучать хромосомный набор клеток человека. При исследовании хромосом нормальных людей в определенном количестве клеток (не более 1%) регистрируются некоторые типы хромосомных aberrаций. Однако грубых аномалий, таких, как «кольца» и «мосты», никогда не наблюдается. Такие aberrации имеются только при воздействии на организм ионизирующей радиации. Клетки с подобными хромосомными поломками нежизнеспособны, так как они не могут завершить митоз. Вот почему они довольно быстро элиминируются из организма. Вместе с тем эти хромосомные повреждения проявляются в виде aberrаций только при вступлении клетки в стадию деления. В интерфазе радиационные повреждения сохраняются. Были обследованы люди, перенесшие радиационное воздействие за 10—15 лет до наблюдения по поводу анкилозирующего спондилита. Статистически значимое количество лимфоцитов, вступивших в митоз после стимуляции ФГА, свидетельствовало о типичных радиационно-индуцированных хромосомных aberrациях [Гоуэнс Дж., 1970]. Это значит, что на ФГА реагировали те Т-лимфоциты, которые были в кровообращении до воздействия радиации и сохранялись в течение 15 лет в покоящемся состоянии, «ожидая» адекватного им активирующего стимула.

Наличие у взрослых организмов долгоживущего рециркулирующего пула тимуспроизводных лимфоцитов, которые готовы включиться в иммунный ответ под влиянием соответствующих антигенных стимулов, маскирует значимость вилочковой железы для взрослого организма. Действительно, тимэктомия у новорожденных приводит к быстро развивающимся патологическим явлениям — к болезни истощения, связанной с резким опустошением периферической лимфоидной системы. Тимэктомия у взрослых особей длительно не сказывается на иммунной реактивности и на иммунологической памяти. Однако если взрослых тимэктомированных животных подвергнуть сублетальному облучению, которое разрушает быстропролиферирующие ткани, Т-система иммунитета у таких животных не восстанавливается. Лимфо-

циты Т-серии не могут возникнуть из кроветворных стволовых клеток, за счет которых восстанавливается пораженная радиацией лимфоидная ткань. Их трансформация в Т-лимфоциты невозможна без участия вилочковой железы. В этом случае становится очевидной важная роль этого органа не только в период новорожденности, но и в течение всей жизни.

Наличие иммунологической памяти, обеспечивающей выработку антител по вторичному типу, объясняется и увеличенным содержанием В-лимфоцитов, несущих соответствующие рецепторы. Таким образом, клетками памяти служат оба типа стимулированных данным антигеном лимфоцитов. Большое значение в феномене длительной иммунологической памяти имеют Т-лимфоциты. Клетки памяти представляют собой часть дочерних клеток, переходящих в покоящееся состояние после 2—3 делений стимулированных антигеном Т- и В-лимфоцитов.

Взаимодействие на уровне зрелых антителопродуцентов

Этот тип клеточного взаимодействия был выявлен в экспериментах по изучению антителообразования в смешанных культурах клеток различного гистологического происхождения, полученных от иммунных и интактных доноров [Р. В. Петров, А. А. Михайлова, 1969]. Было показано, что при совместном культивировании клеток лимфатических узлов, находящихся в продуктивном периоде вторичного иммунного ответа, с клетками интактного костного мозга синтез антител в смеси в 2—3 раза превышает выработку этих белков в соответствующих индивидуальных культурах. Впоследствии было продемонстрировано наличие этого явления *in vivo*.

Стимуляция выработки антител обеспечивается не интенсификацией синтеза в каждой клетке, а увеличением числа антителопродуцирующих клеток. Характерной особенностью этого типа кооперации является то, что взаимодействие идет не только между сингенными, но и между аллогенными клетками. По-видимому, после запуска иммунопозитивской дифференцировки при появлении большого количества зрелых вырабатывающих антитела клеток аллогенный барьер не является препятствием для межклеточной кооперации. Эксперименты с разделением клеток иммунных лимфатических узлов и интактного костного мозга миллипоровой мембраной показали, что взаимодействие не требует физического контакта клеток, а опосредуется гуморальными факторами. Новые антителопродуценты появляются только в той камере, где культивировались клетки иммунных лимфатических узлов. Следовательно, в зрелой иммунной популяции могут появляться новые антителообразующие клетки под влиянием гу-

морального фактора, выделяемого клетками интактного костного мозга. Необходимо подчеркнуть, что увеличение количества антителопродуцентов в иммунной популяции не является результатом ускорения клеточной пролиферации, поскольку включение ^3H -тимидина в ДНК в моно- и микст-культурах было одинаковым.

Таким образом, в продуктивный период иммунного ответа при наличии большого количества зрелых антителообразующих клеток имеется, по-видимому, некоторое количество «резервных» клеток, способных к синтезу антител, но не участвующих в их выработке без включения каких-то определенных механизмов. Костный мозг регулирует работу этих клеток, стимулируя их подключение к синтезу антител, что и отражается на силе иммунного ответа. Если при индукции иммуногенеза межклеточная кооперация сопровождается активным размножением клеток, то при взаимодействии клеток на уровне зрелых антителопродуцентов подключение новых клеток к выработке антител происходит без деления.

Очевидно, индукция и последующее развитие иммунной реакции обеспечиваются различными типами межклеточных взаимодействий. Кооперация типа макрофаг — Т-лимфоцит — В-лимфоцит включает иммунопoэтическую дифференцировку клеток-предшественников, вызывает развитие и размножение антителообразующих клеток. На последующих этапах иммуногенеза, когда появилось значительное количество клеток, синтезирующих антитела, развивается второй тип клеточной кооперации. Он отражает взаимодействие на уровне зрелых антителопродуцентов, в результате которого в антителогенез вовлекаются новые, до этого не вырабатывавшие антитела, но готовые к синтезу клетки. Для включения в работу этих «молчащих» клеток необходимо влияние костномозгового гуморального фактора (см. главу X).

Взаимодействие лимфоцитов с кроветворными стволовыми клетками

Взаимодействие лимфоцитов со стволовыми клетками было открыто в 1967 г. (Р. В. Петров, Л. С. Сеславина). Оно выражается в том, что лимфоциты способны оказывать влияние на интенсивность миграции и пролиферации кроветворных стволовых клеток, а также на направление их дифференцировки. Лимфоциты, взаимодействующие с кроветворными стволовыми клетками, обнаруживаются как среди T_1 , так и T_2 -субпопуляций и названы Т-дифференцирующими (T_d). Разработано несколько экспериментальных систем, демонстрирующих эффекты взаимодействия лимфоцитов с кроветворными стволовыми клетками.

Тимэктомия мышей приводит через 2—3 нед к тому, что миграция кроветворных стволовых клеток из костного мозга резко затормаживается. При этом угнетается их дифференцировка в гранулоцитарном направлении. Если в норме 25—30% стволовых клеток дифференцируется в гранулоциты, то после тимэктомии на этот путь становится только 5—6% стволовых элементов; 90—95% их идет по эритроидному пути. Трансплантация тимоцитов или лимфоцитов из лимфатических узлов нормализует миграцию и характер дифференцировки стволовых клеток.

При внутривенном введении клеток костного мозга гибридным реципиентам дифференцировка стволовых клеток в вырастающих селезеночных колониях характеризуется нормальным отношением эритроидных и гранулоидных колоний — 3:1 или 2:1. Добавление сингенных лимфоцитов к трансплантируемому костному мозгу обеспечивает эффект, обратный тимэктомии, — наблюдается преимущественно гранулоидный тип дифференцировки (90—99% гранулоидных колоний).

С помощью гибридом получены моноклональные антитела, выявляющие два антигена на поверхности Т-лимфоцитов человека — ОКТ1 и ОКТ4. Т-лимфоциты, несущие оба антигена, т. е. ОКТ1+, ОКТ4+, и являющиеся помощниками для В-лимфоцитов, ответственны за нормальную дифференцировку кроветворных стволовых клеток [Райнхерц Е., Шлосман С., 1980].

У мышей с макроцитарной анемией имеется генетический дефект, обуславливающий неполноценность кроветворения. Считалось, что генетический дефект реализуется на уровне кроветворной стволовой клетки. Шаркис и соавт. (1978) разработали модель, демонстрирующую нормализацию пролиферации и дифференцировки кроветворных стволовых клеток с нормализацией кроветворения у этих мышей с помощью Т-лимфоцитов нормальных доноров. Они назвали эти лимфоциты TSRC-тэтачувствительными регуляторными клетками.

Взаимодействие лимфоцитов с кроветворными стволовыми клетками имеет существенное значение для развития иммунного ответа. Выше указывалось, что Т-лимфоциты оказывают влияние на миграцию стволовых клеток из костного мозга и интенсифицируют гранулоидный тип их дифференцировки. Оба этих процесса крайне важны для реализации и иммунного ответа. Миграция стволовых клеток необходима для поддержания пула предшественников Т- и В-лимфоцитов. Гранулоидное направление дифференцировки стволовых элементов необходимо для наработки фагоцитирующих клеток крови и тканевых макрофагов (см. рис. 27).

В обширной серии теоретических работ по математическому моделированию иммунного ответа Г. И. Марчук (1980) приходит к выводу о необходимости обратной связи в виде

влияния зрелых Т-лимфоцитов на кроветворные стволовые клетки.

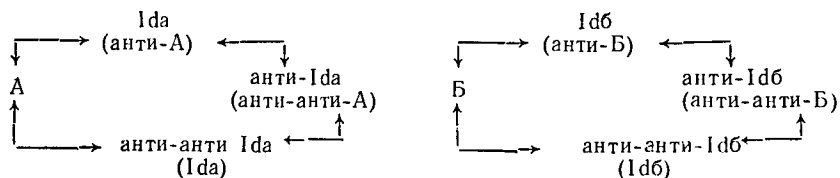
В 1980 г. из популяции селезеночных клеток после митогенной стимуляции выделены Т-лимфоциты, синтезирующие гуморальный фактор, который индуцирует пролиферативную активность кроветворных стволовых клеток. Создана гибридная культура этих Т-клеток, вырабатывающая данный фактор *in vitro*. Он назван фактором CFU_s-SA, т. е. стимулирующим активность кроветворных стволовых клеток.

Антиидиотипические рецепторы и теория антиидиотипической сети

В главе III «Антитела и антителогенез» было введено понятие идиотипа — антигенной специфичности иммуноглобулиновой молекулы, обусловленной специфичностью структуры активного центра антитела. Антиидиотипические антитела узнают иммуноглобулиновую молекулу по ее активному центру. Если в организме вырабатываются антитела против двух антигенов, например А и Б, то антитела анти-А и анти-Б будут принадлежать по крайней мере двум идиотипам — а и б, например *Ida* и *Idб*. Против них могут быть получены антиидиотипические антитела анти-а и анти-б.

Предположим, антиген А схематически выглядит \rightarrow , тогда антитела анти-А или *Ida* схематически будут выглядеть как $>-\langle$, анти-*Ida* будут выглядеть как $\langle-\rangle$, т. е. конформационно воспроизведут антигенную детерминанту; анти-анти-*Ida* будут конформационно подобны *Ida* $>-\langle$. Приведенная схема аналогична для антигена другой специфичности (антигена Б).

Антиидиотипические антитела как бы имитируют антигенную детерминанту, так как специфически соединяются с активным центром антитела против данного антигена. Взаимная комплементарность описываемых компонентов такова:



Изучение идиотипов и антител к ним привело к обнаружению идиотипических рецепторов на В- и Т-лимфоцитах. Среди популяции В-лимфоцитов имеются клетки, несущие иммуноглобулиновые рецепторы со специфичностью анти-А (идиотип *Ida*), и клетки, несущие иммуноглобулиновые рецепторы со специфичностью анти-а, т. е. аутоантиидиотипические (анти-*Ida*). Природа рецепторов на

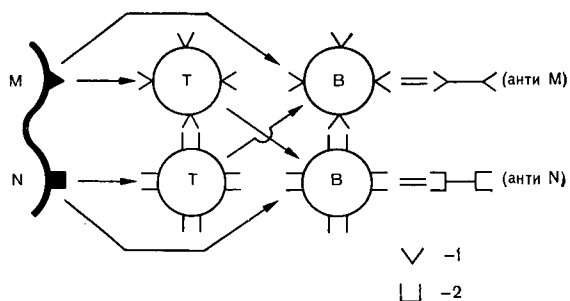


Рис. 48. Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов, распознающих разные детерминанты единой антигенной молекулы.

1 — рецептор, распознающий детерминанту М; 2 — рецептор, распознающий детерминанту N.

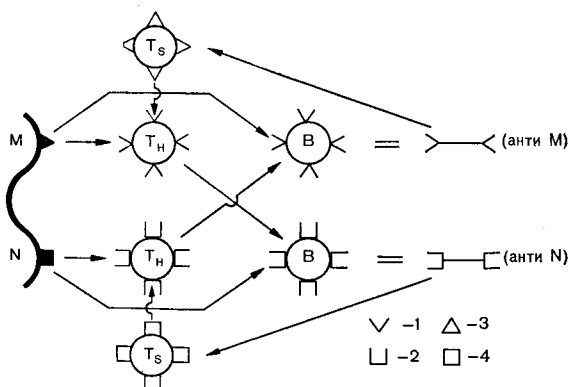


Рис. 49. Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов с учетом рецепторов идиотип-антиидиотип.

1 — рецептор, распознающий детерминанту М; 2 — рецептор, распознающий детерминанту N; 3 — антиидиотип; 4 — антиидиотип.

Т-лимфоцитах еще не ясна. Но коль скоро они тождественны как идиотипы и антиидиотипы, в их структуре должна принимать участие молекула, тождественная переменной цепи иммуноглобулинов.

Теоретически наличие анти-Id рецепторов не вызывает удивления, поскольку идиотип — это вариант антигенной детерминанты. Как и по отношению к любой другой детерминанте среди лимфоцитов должны существовать клетки, несущие соответствующий рецептор. Но в таком случае должны быть клетки с анти-анти-Id рецепторами и т. д. Эта предпосылка дала возможность Н. Эрне сформулировать в 1974 г. теорию сетевой регуляции клеток иммунной системы (см. ниже).

С помощью антиидиотипических антител доказано, что рецепторы на Т-лимфоцитах способны распознавать те же антигенные детерминанты, которые распознаются иммуноглобулиновыми рецепторами В-лимфоцитов. В связи с этим представление о том, что В-лимфоцит узнает узкую (гаптенную) детерминанту антигена, а Т-лимфоцит несущую часть антигенной молекулы, уточнилось представлением о том, что при Т-В кооперации взаимодействуют по меньшей мере четыре лимфоцита. Представим себе простейшую антигенную молекулу, имеющую две детерминанты М и N (рис. 48). Для В-лимфоцитов анти-М в качестве помощников выступают Т-лимфоциты с рецепторами анти-N, и наоборот. Понятие гаптенной и несущей детерминанты уравнивается.

Теория идиотипической сети (*idiotypic network*) рассматривает регуляцию иммунных реакций на уровне взаимодействующих клеток с учетом современных сведений о специфических рецепторах лимфоцитов. Конечно, в общей форме Т-помощники и Т-супрессоры, оказывая разнонаправленное действие, определяют итог иммунного ответа в соответствии с ранее представленной схемой (см. рис. 47). Однако взаимодействия, определяющие запуск иммунного ответа, его стабильность и прекращение наилучшим образом объясняются с учетом взаимодействия идиотип — антиидиотип. Рис. 49 представляет собой схему возможного варианта Т-В взаимодействия. Схема предполагает: а) наличие Т-помощников и Т-супрессоров; б) T_S несут антиидиотипы распознающих рецепторов; в) антигенная молекула имеет две специфические детерминанты — М и N. Детерминанты включают соответствующие им T_H и В. В результате возникают анти-М- и анти-N-антитела. Эти антитела включают T_S , которые несут антиидиотипические рецепторы. Взаимодействие идиотип — антиидиотип между T_S и T_H блокирует активность последних. Изображенные на схеме Т-супрессоры являются Т-помощниками для лимфоцитов, синтезирующих антиидиотипические антитела.

Более усложненный вариант антиидиотипических регуляторных связей учитывает данные по Н-2 ограничению, т. е. данные о необходимости двойного распознавания. Выше указывалось, что Т-лимфоциты включаются антигеном только в том случае, если антиген подается макрофагом в комплексе со «своей» молекулой комплекса главной системы гистосовместимости, с молекулой антигенов Н-2К, Н-2D или Ia. Взаимодействия Т-В и Т-Т характеризуются Н-2 ограничением. Иначе говоря, на Т-помощниках должны быть структуры для узнавания макрофагов и В-клеток; на Т-супрессорах — для узнавания Т-помощников. Таким образом, T_H узнает именно макрофага или В-клетку и оказывает свойственное ему содействующее влияние; T_S узнает Т-помощника и оказывает свой-

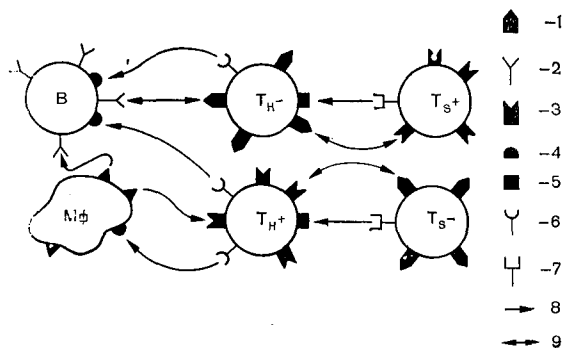


Рис. 50. Взаимодействие клеток в иммунном ответе с учетом рецепторов идиотип—антиидиотип и структур для распознавания В-клеток и Т-помощников.

Объяснения в тексте.

1 — антиидиотип; 2 — рецептор (идиотип); 3 — анти-антиидиотип; 4 — структура В-клетки, которую распознает T_H^- ; 5 — структура T_H^- , которую распознает T_S^+ ; 6 — рецептор, распознающий 4; 7 — рецептор, распознающий 5; 8 — взаимодействие типа рецептор—структура; 9 — взаимодействие идиотип—антиидиотип.

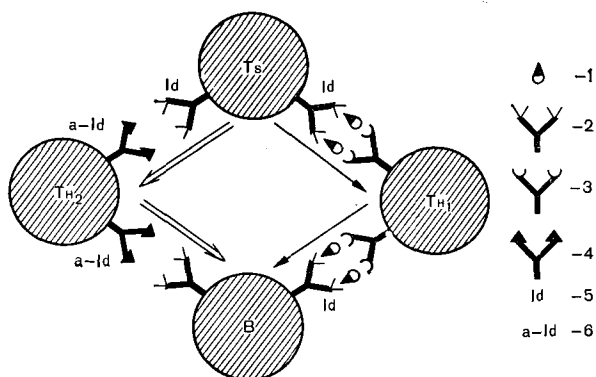


Рис. 51. Взаимодействие клеток с учетом рецепторов идиотип—антиидиотип (двойные стрелки) и антигенных мостов (простые стрелки).

1 — антиген; 2 — рецептор, распознающий антигенную детерминанту; 3 — рецептор, распознающий несущую часть антигена; 4 — рецептор с антиидиотипической специфичностью; Id — идиотип; a-Id — антиидиотип.

ственное ему суппрессирующее влияние. Эти узнающие структуры кодируются генами главной системы гистосовместимости, и поэтому узнавание макрофаг T_H - T_S -В подвержено H-2 ограничению. На рис. 50 приведен вариант схемы сети с учетом данных о структурах узнавания кооперирующих клеток, рецепторов к антигенным детерминантам, взаимодействия идиотип — антиидиотип и наличия двух типов Т-помощ-

ников и двух типов Т-супрессоров. Один тип Т-помощников (T_H) узнает макрофаг, стимулируется антигеном, узнает В-лимфоцит и таким образом передает ему сигнал включения. Второй тип Т-помощника не несет рецепторов к антигену; он имеет антиидиотипические рецепторы и ими включает данный тип В-лимфоцитов. Т-супрессоры узнают Т-помощников с помощью соответствующих поверхностных структур и взаимодействуют на основе идиотип-антиидиотипического распознавания. Сами они могут быть стимулированы либо антигеном (тип T_S^+), либо антителами (тип T_S^-).

На этой схеме не изображены «антигенные мосты», которые, бесспорно, принимают участие в межклеточных взаимодействиях. Выше указывалось, что подавляющее большинство антигенов имеет несколько различающихся между собой детерминант, которые условно могут быть разделены на детерминанты гаптенных групп и детерминанты несущей части молекулы. Клетки, различающиеся тем, что несут рецепторы к разным детерминантам, взаимодействуют посредством «антигенного моста». Этот вариант взаимодействия учитывался (хотя и не изображен) на рис. 48 и 49. Он представлен на следующей схеме (рис. 51), в которой предположено, что В-лимфоцит и T_S имеют рецепторы (идиотипы) к гаптенной детерминанте, T_{H1} — к несущей детерминанте антигена, а T_{H2} имеет антиидиотипические рецепторы. Взаимодействие обеспечивают как антигенные мосты, так и рецепторы идиотип — антиидиотип.

Совершенно очевидно, что при наличии клонов лимфоцитов с рецепторами разной avidности и антигенов с многочисленными антигенными детерминантами работа регуляторной сети гораздо более сложна, чем на представленных схемах. В то же время ее многокомпонентность и обеспеченность обратными связями обуславливает стабильность равновесия, несмотря на меняющиеся реальные условия. Фактически даже в отсутствие антигенных вторжений идиотип-антиидиотипические взаимоотношения должны обеспечивать непрерывающиеся взаимодействия различных лимфоидных клеток — В, T_H и T_S , принадлежащих к единому узнающему определенный антиген клону. Считается, что эти взаимодействия, как активирующего, так и тормозящего влияния, необходимы, они носят физиологический характер, поддерживая систему в определенном равновесном состоянии и готовности к функционированию. Антигенное раздражение, являясь более мощным сигналом, чем сигналы идиотип-антиидиотипического взаимодействия, изменяет это равновесие. Иммуный ответ или установление иммунологической толерантности представляет собой переход системы в новое равновесное состояние.

ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

В предыдущих главах неоднократно упоминалась главная генетическая система гистосовместимости — МНС (Major Histocompatibility Complex) и значение контролируемых ею антигенов (Ia, H-2K, H-2D и др.) для иммунологического распознавания и взаимодействия клеток в иммунном ответе.

Понятие о МНС возникло в 40-е годы после установления генетических законов совместимости тканей и обоснования наличия группы тесно сцепленных генов, различия по которым обуславливают наиболее резкую несовместимость тканей при пересадках и наиболее выраженные реакции отторжения (см. главу XIII). Впоследствии оказалось, что в пределах МНС локализованы не только гены, контролирующие главные трансплантационные антигены, но и гены, определяющие высоту иммунного ответа на тот или иной конкретный антиген, так называемые Iг (Immune response) гены (см. главу XII). Эта же система оказалась ответственной и за синтез поверхностных структур иммуноцитов, обеспечивающих их взаимодействие. Продукты генов Ia, H-2K и H-2D играют критическую роль при первичном контакте клеток с чужеродными антигенами, обеспечивая механизм двойного распознавания (см. главу XII). Наконец, гены МНС контролируют синтез некоторых компонентов комплемента. Иначе говоря, комплекс МНС оказался центральным генетическим аппаратом для функционирования иммунной системы.

Главный комплекс гистосовместимости у мышей локализуется в 17-й хромосоме, он получил название H-2 системы, от слова Histocompatibility. У человека МНС локализован в 6-й хромосоме и обозначается как HLA (Human Leucocyte Antigens), у макаков резусов — RhL-A, у шимпанзе — ChL-A, у кролика — RL-A, у собаки — DL-A, у свиньи — SL-A, у морской свинки — GPL-A, у крысы — AgB(H-1), у курицы — В.

Наиболее детально МНС изучен у мыши и человека.

Комплекс H-2

Представления о строении H-2 комплекса все время эволюционируют. Первыми были обнаружены два сцепленных локуса, H-2K и H-2D, которые кодируют трансплантационные антигены, выявляемые серологически, т. е. с помощью антител, накапливающихся в крови мышей после трансплантации аллогенных тканей — опухоли, кожи и т. д. Антигены, кодируемые локусами H-2K и H-2D, были названы серологически выявляемыми — SD (Serilogically Defined). Между этими локусами были обнаружены гены Ss — Slp, кодирующие син-

тез двух сывороточных белков. Весь комплекс разделился на К-конец и D-конец. Ген Ss стал служить маркером для картирования открываемых внутри комплекса генов. В конце 60-х — начале 70-х годов были открыты антигены, играющие важную роль в несовместимости тканей, но не выявляемые серологически. Они обнаруживались в смешанной культуре лимфоцитов (см. главу IX) и получили название LD (Lymphocyte Defined). Гены — MLC-1 и MLC-2, контролирующие их синтез, были картированы в двух участках К-конца комплекса МНС. В эти же годы открыты и картированы гены иммунного ответа. Область их расположения, вначале названная Iг-областью, впоследствии была переименована в I-область. В D-конце был локализован ген Hh-1, определяющий синтез антигенов, ответственных за аллогенную ингибицию кроветворных клеток. К 1975 г. H-2 комплекс был достаточно хорошо изучен (рис. 52). Локализация отдельных генов, контролирующих высоту иммунного ответа на определенные синтетические антигены (Iг-1, GAT), на IgA и IgG, на яичный альбумин (Ova-1) и т. д., а также генов MLC, Hh-1 и др. обозначена на рис. 52 линиями, ограниченными стрелками. Эта схема не утратила своего значения и в настоящее время. Однако последние 5 лет принесли новые открытия и новые изменения в карту главного комплекса. На рис. 53 приведена современная генетическая карта комплекса генов H-2. Весь комплекс разделен на пять главных областей — К, I, S, G и D. Маркирующими генами каждой области являются гены H-2K, Iг-1, Ss-Slp, H-2G и H-2D. Доказано, что эти гены не разделяются кроссинговером и не изменяются при рекомбинации. Область I разделена на пять субобластей и включает, следовательно, по крайней мере пять отдельных генов. Эти субобласти обозначены I-A, I-B, I-J, I-E, I-C. Поскольку комплекс генов H-2 весьма тесно сцеплен, занимая участок хромосомы длиной всего 0,35 сМ, он обычно наследуется целиком как уникальная для данной особи комбинация генов. Каждая такая комбинация называется гаплотипом и обозначается как гаплотип H-2^a, H-2^b и т. д.

Точное число генов комплекса H-2 еще неизвестно. При допущении, что один ген состоит из 100 пар нуклеотидов, участок хромосомы, занимаемый комплексом, достаточен, чтобы в нем разместилось не менее 500 генов. Другие расчеты приводят к тому, что этого участка достаточно, чтобы кодировать 2000 полипептидов размером в 200 аминокислот каждый.

Пять основных областей делят нередко на три класса. Это дает возможность обобщить функциональную характеристику отдельных генов и выделить гомологичные гены МНС у разных видов. Это важно, поскольку расположение однозначных по функции генов у разных видов неодинаково. Класс I (К- и D-области) включает маркерные локусы H-2K и H-2D. Они

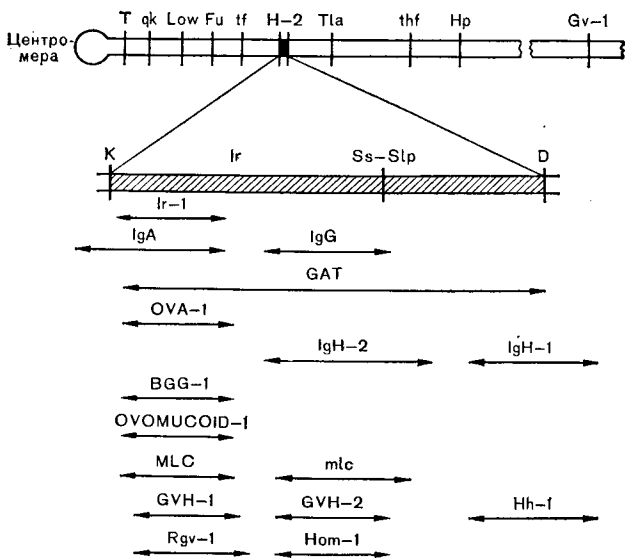


Рис. 52. Комплекс генов системы H-2.

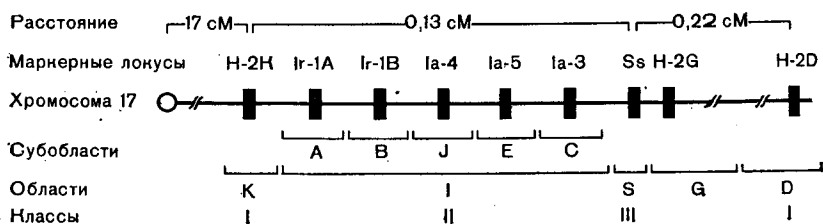


Рис. 53. Генетическая карта комплекса генов H-2.

детерминируют синтез трансплантационных антигенов, представленных на мембранах клеток почти всех тканей. Эти антигены выявляются серологически. Они стимулируют выработку антител и цитолитических Т-эффекторов. Продукты К- и D-генов важны для включения Т-клеточного иммунного ответа против инфицированных вирусом клеток и против раковых клеток, несущих опухолеспецифические трансплантационные антигены (см. главу XVIII).

Антигены, кодируемые генами класса I, характеризуются очень большим полиморфизмом, обеспечивая уникальность набора трансплантационных антигенов у каждой особи. Локусы К и D мышей имеют 11 и 10 аллелей соответственно. Известны более 25 различных гаплотипов инбредных линий мышей (см. главу 13).

Таблица 15

Структуры и функции лимфоцитов, контролируемые теми или иными субобластями комплекса генов H-2

Контролируемые структуры или функции	Субобласти комплекса H-2								
	H-2K	A	B	J	E	C	S	G	H-2D
H-2-антигены	+	-	-	-	-	-	-	?	+
Ig-гены	-	+	+	-	-	+	-	-	-
Ia-антигены Т-лимфоцитов	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Ia-антигены В-лимфоцитов	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Отторжение трансплантата	+	+	-	?	?	+	-	+	+
Смешанная культура лимфоцитов	±	+	-	±	?	+	-	?	±
Реакция трансплантат. против хозяина	+	+	-	±	?	+	-	?	+
Опосредованный клетки лимфолизис	+	+	-	-	?	+	-	?	+
Инактивация CFU	+	←-----→						?	+
Гибридная резистентность	-	-	-	-	-	-	-	-	+
S4 компонент компонента	-	-	-	-	-	-	+	-	-
S3-рецептор	-	?	?	?	?	?	-	-	-
Взаимодействие Т-В	-	+	-	-	-	±	-	-	-
Взаимодействие Т-макрофаг	-	+	-	-	-	±	-	-	-
Взаимодействие Т-Т	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Хелперные факторы	-	+	-	-	?	-	-	-	-
Супрессорные факторы	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Лизис клеток, инфицированных вирусом, и опухолевых клеток	+	-	-	-	-	-	-	-	+

Условные обозначения: + наличие функции; - отсутствие функции; ± обозначает наличие функции при определенных условиях; ? не выяснено.

Класс II генов охватывает I-область H-2 комплекса, ранее именуемую Ig-областью. Гены иммунного ответа (Ig-гены) локализованы в субобластях I-A, I-B и I-C. Кроме того, в этой области расположены гены, кодирующие ранее не известные аллоантигены, обозначенные Ia-антигенами. Антигены Ia, кодируемые субобластями I-A и I-E, экспрессируются на В-лимфоцитах и макрофагах. Антигены IA, кодируемые I-J и I-C субобластями, экспрессируются на Т-субпопуляциях. Выше указывалась роль Ia-антигенов во взаимодействии макрофагов, Т- и В-лимфоцитов при иммунном ответе.

Регион класса II кодирует антигены, ранее названные LD и выявляемые лимфоцитами в микст-культуре. Они стимулируют реакцию бласттрансформации, т. е. активируют Т-лимфоциты, а также обеспечивают развитие реакции трансплантат против хозяина. Ранее эти локусы назывались MLC или GvH (см. рис. 52). Гены MLC-1 локализованы в I-A-субобласти, MLC-2 — в I-C. Кроме того, в субобластях I-A и I-C обнаружены H-гены, контролирурующие соответственно быстрое и хроническое отторжение трансплантатов.

Класс III генов контролирует синтез C4 компонента компонента и, возможно, время экспрессии C3-рецептора на В-лимфоцитах.

Область G содержит локус H-2G, который кодирует некоторые аллоантигены эритроцитов с неизвестной биологической функцией.

Перечисленные выше и некоторые другие функции, контролируемые генами соответствующих областей и субобластей H-2-комплекса, суммированы в табл. 15.

Комплекс HLA

Аналогом генетической системы H-2 у человека является система HLA или комплекс HLA. Такое название дано в связи с тем, что HLA-антигены достаточно полно представлены на лейкоцитах периферической крови и выявляются в клинической и экспериментальной практике именно на этих клетках. Первый лейкоцитарный антиген (Mac) открыл Ж. Доссе в 1958 г. В дальнейшем, когда была проведена международная унификация номенклатуры антигенов и контролирующих их генов, Mac стали обозначать как HLA-A2. В все остальные обнаруженные в течение последних 20 лет антигены гистосовместимости человека также получили буквенно-цифровое обозначение HLA-A1, HLA-B5 и т. д. Вновь открываемые варианты антигенов впредь до проведения их международной унификации обозначают символом W с соответствующей цифрой, например W2, W17. Это обозначение дается на международных рабочих совещаниях (Workshops), где сравниваются специфичности, открываемые разными авторами; в дальнейшем этим антигенам присваивается официальная номенклатура HLA.

На рис. 54 приведена генетическая карта комплекса HLA. Он располагается в пределах 6-й хромосомы. Обозначены классы, области и размеры областей комплекса. Сопоставление областей комплексов H-2 и HLA показывает функциональную гомологию областей HLA-A, HLA-B и HLA-C областям H-2K и H-2D. Эти три региона главного комплекса гистосовместимости человека контролируют синтез трансплантационных антигенов SD. Регион HLA-D гомологичен I-области

мышинного комплекса. Область Bf гомологична S. В пределах региона HLA-B имеются гены Chido, Roger, контролирующие, подобно мышиным генам H-2G, некоторые эритроцитарные аллоантигены.



Рис. 54. Генетическая карта комплекса генов HLA.

В табл. 16 приведены антигенные специфичности, контролируемые HLA комплексом генов в соответствии с международной номенклатурой.

Трансплантационные антигены, контролируемые генами региона HLA-D, относятся к разряду LD-антигенов. Они выявляются в смешанной культуре лимфоцитов. В последние годы с помощью антисывороток на В-лимфоцитах человека выявляют DR-антигены, подобные Ia-антигенам мыши. Прак-

Т а б л и ц а 16

Антигенные специфичности, контролируемые различными регионами системы HLA (ВОЗ, 1980)

HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-D
A1	B5	BW55(W22)	DW1
A2	B7	BW56(W22)	DW2
A3	B8	BW57(17)	DW3
A9	B12	BW58(17)	DW4
A10	B13	BW59	DW5
A11	B14	BW60(40)	DW6
AW19	B15	BW61(40)	DW7
AW23(9)	BW16	BW62(15)	DW8
AW24(9)	B17	BW63(15)	DW9
A25(10)	B18	BW4	DW10
A26(10)	BW21	BW6	DW11
A28	BW22		DW12
A29	B27	HLA-C	
AW30	BW35	CW1	HLA-DR
AW31	B37	CW2	DR1
AW32	BW38(W16)	CW3	DR2
AW33	BW39(W16)	CW4	DR3
AW34	B40	CW5	DR4
AW36	BW41	CW6	DR5
AW43	BW42	CW7	DRW6
	BW44(12)	CW8	DR7
	BW45(12)		DRW8
	BW46		DRW9
	BW47		DRW10
	BW48		
	BW49(W21)		
	BW50(W21)		
	BW51(5)		
	BW52(5)		
	BW53		
	BW54(W22)		

тически во всех случаях данные по выявлению антигенов HLA-D и HLA-DR совпадают. Существует два предположения: совпадающие варианты антигенов HLA-D и HLA-DR контролируются одним и тем же геном или двумя очень тесно сцепленными генами.

Большой теоретический и практический интерес представляют данные о связи некоторых заболеваний с наличием в генотипе того или иного HLA-антигена. Проведенные исследования убеждают нас в несомненности существования таких связей. Они носят характер количественных корреляций и не означают, что человек, несущий специфичность HLA-B27, обречен на анкилозирующий спондилит, а при отсутствии специфичности HLA-A11 неизбежен лейкоз. Однако вероятность того или иного заболевания среди лиц с разными генотипами HLA различна (табл. 17). Относительный риск опре-

Т а б л и ц а 17

Корреляция заболеваний с HLA-генами [по Ж. Доссе, 1980]

Заболевание	HLA	Частота, %		Относительный риск
		боль- ные	конт- роль	
Болезнь Ходжкина	A1	40	32,0	1,4
Идиопатический гемохроматоз	A3 B14	76 16	28,2 3,8	8,2 4,7
Инфекционные артриты	B27	60	10,0	18,0
Врожденная гиперплазия надпочечников	B47	9	0,6	15,4
Анкилозирующий спондилит	B27	90	9,4	87,4
Болезнь Рейтера	B27	79	9,4	37,0
Острый иридоциклит	B27	52	9,4	10,4
Подострый тиреоидит	B35	70	14,6	13,7
Псориаз	CW6	87	33,1	13,3
Герпетиформный дерматит	D/DR3	85	26,3	15,4
Синдром Сика	D/DR3	78	26,3	9,7
Идиопатическая болезнь Аддисона	D/DR3	69	26,3	6,3
Болезнь Грэйвса	D/DR3	57	26,3	3,7
Инсулинзависимый диабет	D/DR3	56	28,2	3,3
	D/DR4	75	32,2	6,4
	D/DR2	10	30,5	0,2
Миастения гравис	D/DR3	50	28,2	2,5
	B8	47	24,6	2,7
Системная красная волчанка	D/DR3	70	28,2	5,8
Идиопатическая мембранная нефропатия	D/DR3	75	20,0	12,0
Рассеянный склероз	D/DR2	59	25,8	4,1
Зрительный неврит	D/DR2	46	25,8	2,4
Синдром Гудпасчера	D/DR2	88	32,0	15,9
Ревматоидный артрит	D/DR4	50	19,4	4,2
Пемфигус	D/DR4	87	32,1	14,4
IgA-нефропатия	D/DR4	49	19,5	4,0
Тиреоидит Хасимото	D/DR5	19	6,9	3,2
Пернициозная анемия	D/DR5	25	5,8	5,4

деленных заболеваний у носителей некоторых генов возрастает в 1,7—90 раз.

Значение обнаружения предрасположенности к определенным заболеваниям у лиц, несущих тот или иной конкретный антиген системы HLA, велико. Во-первых, популяционно-генетические исследования дают сведения об ареалах распространения различных генов HLA в разных странах, среди различных национальностей и в различных географических зонах. Это дает возможность прогнозировать ожидаемые частоты встречаемости тех или иных заболеваний, чувствительность к которым сцеплена с тем или иным геном или гаплотипом HLA. Во-вторых, в некоторых случаях обнаружение определенного антигена HLA имеет диагностическое и персонально прогностическое значение. Например, по данным разных авторов, от 71 до 100% лиц, страдающих анкилозирующим спондилитом, несут антиген HLA-B27 (его частота среди здоровых людей равна всего 3—12%). Следовательно, обнаружение антигена HLA-B27 фактически означает наличие спондилита или вероятность его появления по крайней мере в 9 из 10 случаев. Сходная ситуация имеется при энтеропатии новорожденных. Антиген HLA-B8 выявляется у 84—88% больных детей (21—22% среди здоровых). В настоящее время накапливаются данные о значимости различных антигенов системы HLA во взаимоотношениях мать—плод и в патологии беременности.

Связь наличия того или иного гена системы HLA с повышенной чувствительностью к инфекционным, в частности к вирусным, агентам дала возможность высказать весьма продуктивные гипотезы. Наиболее интересные из них относятся к некоторым болезням с невыясненной этиологией и сложным, неразгаданным патогенезом, включающим подозрение на вирусную этиологию, с несомненной ролью наследственности и наличием аутоиммунного компонента. К таким заболеваниям относят коллагенозы, включая ревматоидный артрит и системную красную волчанку, а в последнее время и рассеянный склероз. На примере этого заболевания может быть высказана обобщенная гипотеза этиологии и патогенеза подобных патологических процессов.

Лица, несущие, например, антиген B7, характеризуются иммунологической дефектностью в отношении того или иного вируса. Это может быть потому, что ген B7 сцеплен с Ig-геном, контролирующим силу иммунного ответа к этому вирусу. В случае заражения таким вирусом он не элиминируется из организма, а обеспечивает возникновение латентной вирусной инфекции с повреждением тканей и появлением аутоантител против «вскрытых» в результате инфекционного процесса аутоантигенов. У разных индивидуумов причинный вирус может быть разным. Подобные гипотезы строятся и в отношении

других заболеваний, характеризующихся явными генетическими и аутоиммунными компонентами.

Предполагается, например, что аутоиммунный компонент может возникать за счет того, что некоторые HLA-антигены могут давать перекрестные реакции с антителами против определенных микроорганизмов. В этих случаях лица, несущие данную HLA-специфичность, развивают аутоиммунные реакции при заражении соответствующим микроорганизмом. Происходит срыв естественной толерантности (см. главу XI).

Кроме того, выше было показано (см. раздел «Двойное распознавание» в главе VII), что антигены главной системы гистосовместимости комплексируются с вирусными антигенами и именно этот комплекс распознается Т-лимфоцитами как чужеродный. Накапливающиеся цитотоксические лимфоциты разрушают пораженные вирусом клетки. Ликвидация вирусной инфекции идет путем иммунологически опосредованной деструкции клеток. А это значит, что восприимчивость к данному вирусу и иммунный ответ на него зависят от сродства антигенов гистосовместимости к инфекционному агенту. Большой гетерогенностью наборов этих антигенов у разных индивидуумов может быть объяснена их разная чувствительность к вирусным агентам.

Будущее может принести методы предвидения чувствительности конкретного лица к конкретному вирусу с принятием решения о необходимости его вакцинирования или об отсутствии такой необходимости.

Связь HLA с частотой тех или иных заболеваний может быть также обусловлена тем, что в ее пределах локализованы гены, контролирующие синтез некоторых компонентов комплемента. Не исключена возможность сцепления HLA-генов с генами, которые кодируют выработку продуктов, не имеющих отношения к иммунной системе, но существенных для реализации тех или иных функций организма, с которыми связан патогенез определенного заболевания.

Глава IX

ОСНОВНЫЕ ФЕНОМЕНЫ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА

Основной феномен гуморальной формы иммунологического реагирования — выработка антител. Клеточные формы иммунного ответа, описанные в общей форме при характеристике Т-системы иммунитета, характеризуются несколькими феноменами, связанными с функционированием Т-лимфоцитов. Конечно, выработка антител — это тоже функция клеток, она опосредована секретлируемыми молекулами иммуноглобули-

нов разных классов, которые и осуществляют нейтрализацию или разрушение стимулировавших их выработку антигенных субстанций. Клеточные формы иммунного реагирования связаны со специфическим иммунным функционированием самих лимфоцитов, их рецепторного аппарата распознавания и соединения с антигенами. Выделяемые ими гуморальные субстанции — медиаторы (см. главу X), оказывают лишь содействующую миссию. Основную работу по уничтожению чужеродных антигенных субстанций осуществляют клетки непосредственно.

Адоптивный иммунитет

Феномен адоптивного иммунитета получили Р. Биллингхем с соавт. (1954). Авторы показали, что иммунологически активная ткань, перенесенная в организм нового хозяина, продолжает функционировать, тогда же был предложен термин «адоптивный, или воспринятый, иммунитет». Техника воспроизведения адоптивного иммунитета для опухолевых трансплантатов была предложена Н. Митчисоном (1955).

Взятые от сенсibilизированных животных лимфатические узлы пересаживали intactным мышам, которым имплантировали соответствующую тест-опухоль. Наблюдалась регрессия опухоли. Восприятие состояния иммунитета, переданного с клетками, развивалось сразу после переноса клеток. Например, при переносе от 5×10^6 до 240×10^6 сенсibilизированных клеток лимфатических узлов толерантным мышам с истинно прижившим гомотрансплантатом кожи кожный лоскут отторгался через 9—21 день. Состояние сенсibilизации у клеток лимфатических узлов сохранялось долго и могло быть перенесено реципиенту даже через год после иммунизации. Схема воспроизведения адоптивного иммунитета к кожному трансплантату приведена на рис. 55.

Выяснено, что лучшими генераторами адоптивного иммунитета являются клетки лимфатических узлов, регионарных к сенсibilизирующему трансплантату, в меньшей степени — клетки нерегионарных лимфатических узлов и селезенки. Адоптивный иммунитет может быть воспроизведен и при трансплантации лимфоцитов, сенсibilизированных *in vitro*.

Механизм адоптивного иммунитета в тех случаях, когда иммунные лимфоидные клетки имеют возможность генерализованно распространяться в организме вторичного хозяина, по-видимому, тот же, что и при обычной трансплантационной реакции — непосредственный контакт с клетками тест-трансплантата. Но, может быть, лимфоидные клетки, ответственные за воспринятый иммунитет, генерируют гуморальные антитела, которые участвуют в деструкции трансплантата? Для ответа на этот вопрос некоторые исследователи попытались

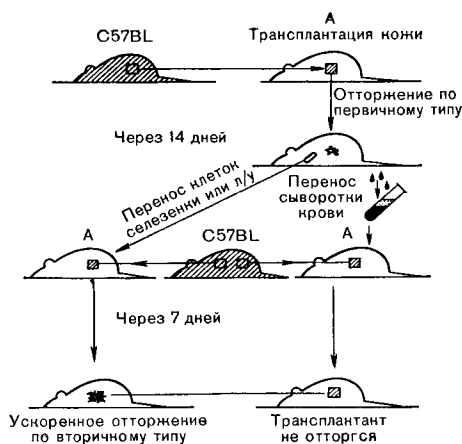


Рис. 55. Воспроизведение адаптивного иммунитета.

что мононуклеары в очаге реакции представлены не только перенесенными клетками. Процент меченых клеток в очаге не превышает 3—4. Инфильтрат состоит из потомков перенесенных клеток. Введенные сенсibilизированные лимфоциты вначале поступают в лимфоидные ткани, там размножаются, а их потомки, уже утратившие метку, проникают в трансплантат. Кроме того, в организме, по-видимому, существуют способы передачи состояния сенсibilизированности от одних — к другим. Известно, что гиперчувствительность замедленного типа может быть передана не только живыми клетками, но и с помощью инъекции животным бесклеточных лейкоцитарных экстрактов от сенсibilизированных доноров. Этот фактор переноса не является антителом, так как состояние переданной сенсibilизированности продолжается несколько месяцев и даже лет (см. главу X).

Трансфер-реакция

Выше указывалось на большое сходство между проявлениями трансплантационного иммунитета и гиперчувствительностью замедленного туберкулинового типа. Наиболее ярко это демонстрируется на примере прямой кожной пробы. Если реципиенту, сенсibilизированному кожным или клеточным трансплантатом аллогенного донора, внутрикожно ввести антигенный материал из тканей донора, то через 24—48 ч разовьется реакция, которая по внешним проявлениям и гистологически подобна туберкулиновой реакции (рис. 56). В качестве антигенного материала можно использовать лимфоци-

воспроизвести адаптивный иммунитет с помощью иммунных лимфатических узлов, заключенных в диффузионную камеру, не проницаемую для клеток. Однако в большинстве случаев не наблюдалось ускорения отторжения кожного трансплантата даже при переносе мыши огромного числа клеток — 200 млн. сенсibilизированных лимфоцитов.

Ряд опытов был проведен с использованием при переносе клеток, меченных ^3H -тимидином, ^{32}P или ^{51}Cr . Оказалось,

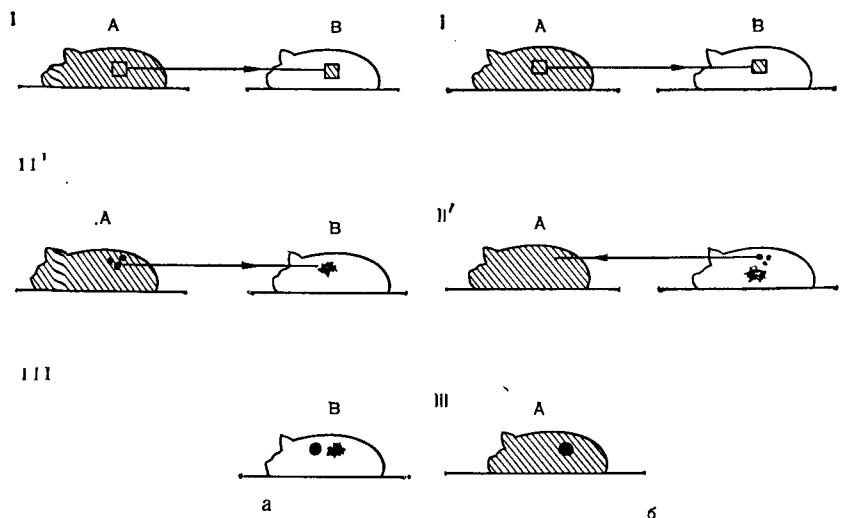


Рис. 56. Воспроизведение реакции гиперчувствительности замедленного типа у сенсibilизированного аллогенным трансплантатом животного (а) и трансфер-реакции (б).

I — трансплантация кожи; через 2 нед введение клеток (II); клеток или экстракта лимфатических узлов (II') внутрикожно; через 24—48 ч (III) туберкулиноподобная кожная реакция.

ты, тимоциты и другие ядродержащие клетки донора или клеточные экстракты. Эта реакция, описанная Л. Brentom и П. Медавара (1967), продемонстрировала значение в трансплантационном иммунитете, как и при гиперчувствительности замедленного типа, реакций, опосредованных сенсibilизированными клетками. В дальнейшем оказалось, что подобную кожную пробу можно воспроизвести и у донора, если ему внутрикожно ввести лимфоциты от сенсibilизированного к его тканям реципиента (рис. 56). Введение живых иммунных лимфоцитов из лимфатических узлов, крови или селезенки (реакция переноса) приводит к развитию процесса, аналогичного описанному. Эта реакция воспроизводится у морских свинок, кроликов, хомяков, человека.

Фактически реакция переноса иммунных лимфоцитов является вариантом адаптивного иммунитета. Только в этом случае клетки сенсibilизированы против антигенов именно того организма, в который их вводят. Они проявляют специфическую иммунную агрессию против антигенов своего нового хозяина, что и выражается в типичной кожной реакции, поскольку лимфоциты введены внутрикожно. Таким образом, по существу реакция представляет собой форму местного проявления реакции «трансплантат против хозяина» (см. главу XIV). Оказалось, что подобная реакция развивается и при внут-

рикожном введении нормальных неиммунных лимфоцитов. Реакция переноса нормальных лимфоцитов, как и предыдущая, основана на высокой автономности лимфоидных клеток в осуществлении своих иммунных функций: перенесенные в другой организм, они ведут себя соответственно собственной генетической информации, реагируя против чужеродных антигенов реципиента. Реакция протекает точно так же, как и описанная выше, но не в такой резко выраженной форме. Эта реакция в свое время, до расшифровки генетических систем гистосовместимости, использовалась для типирования гистосовместимости генетически различных индивидуумов одного вида. Введение живых лимфоцитов нормальной морской свинки внутрикожно аллогенному реципиенту вызывает развитие локальной реакции, напоминающей туберкулиновую. Реакция переноса нормальных лимфоцитов развивается через 24—48 ч, и ее интенсивность коррелирует со степенью иммунологической несовместимости данных индивидуумов. Правомерность этого заключения была подтверждена наблюдениями на людях.

Ответственными за развитие трансфер-реакции являются зрелые Т-лимфоциты эффекторы. Наиболее активными в осуществлении реакции переноса у морских свинок оказались клетки лимфатических узлов; лимфоциты крови в 2—6 раз менее активны, клетки вилочковой железы — в 10—12 раз. Изучение этого явления в соответствующих генетических комбинациях показало, что оно зависит от развития реакции «трансплантат против хозяина».

В опытах на морских свинках, хомяках, обезьянах установлено, что облучение реципиентов угнетает развитие трансфер-реакции. Добавление к инъецируемым клеткам необлученных лимфоцитов генотипа реципиента восстанавливает положительную реакцию у облученных хомяков. У детей с врожденным отсутствием вилочковой железы реакция переноса нормальных лимфоцитов всегда отрицательна, т. е. в развитии кожной реакции активную роль играют клетки реципиента. Взаимодействие аллогенных клеток и приводит к развитию реакции. На этом основании предложено использовать облученных хомяков для оценки степени гистосовместимости человеческих лимфоцитов. Внутрикожное введение смеси несовместимых лимфоцитов от двух индивидуумов облученным хомякам дает положительную трансфер-реакцию. Чем больше степень несовместимости, тем более выражена кожная реакция. По-видимому, эта реакция лишь одна из форм регистрируемого проявления взаимодействия аллогенных клеток (другие формы рассматриваются далее).

Л. Brent и П. Медавар провели серию опытов с переносом аллогенных лимфоцитов морским свинкам, облученным в дозе 600 Р. Реакция начинается через 12—15 ч и достигает пер-

вого максимума через 24 ч. Затем, после уменьшения размеров кожного инфильтрата, начиная с 4-го дня, кожный инфильтрат снова увеличивается и достигает максимума на 5—6-й день. После этого реакция быстро прекращается. Облучение лимфоцитов, а также цитостатики — хлорамбуцил (20 мг/кг), митомицин С (1 мг/мл), метотрексат (5 мг/кг) и циклофосфамид (25 мг/кг), резко подавляют вторую фазу реакции. Следовательно, вторая фаза связана с размножением перенесенных клеток.

Реакция бласттрансформации в микст-культуре лимфоцитов

Эффекты взаимодействия генетически различающихся лимфоцитов развиваются не только в организме, но и вне его при смешивании аллогенных клеток в культуре. Принцип микст-культур для определения трансплантационных взаимодействий лимфоцитов человека предложила Б. Бэйн (1963). Этот метод заключается в совместном культивировании лимфоцитов периферической крови генетически различающихся индивидуумов. За развитие реакции ответственны Т-лимфоциты, которые в течение 24—74 ч трансформируются в бластные формы, способные синтезировать ДНК и делиться. Эту трансформацию и митотическую активность можно наблюдать в микроскопе и учитывать с помощью включения метки в делящийся ядерный материал. Чем интенсивнее бласттрансформация, тем больше несовместимость индивидуумов. При культивировании лейкоцитов идентичных близнецов эта реакция отсутствует.

Реакция бласттрансформации свойственна не только микст-культурам неродственных лимфоцитов. Она представляет следствие более общего явления — трансформации малых лимфоцитов в способные к митозу бластные формы под влиянием митогенного или антигенного стимула (фитогемагглютинин, экстракты из стафилококков и других микробов, лимфоциты генетически отличного индивидуума). Чужеродные сывороточные белки, эритроциты и тромбоциты не вызывают бласттрансформацию интактных лимфоцитов, но стимулируют лимфоциты сенсibilизированных к ним доноров.

Процент бластных форм может достигать 80 и более. К сожалению, точность микроскопического учета количества трансформированных в бластные формы клеток невелика (в процентах); для одной и той же пары индивидуумов результаты различаются более чем на 10. Гораздо более точные данные получают при радиометрическом учете включения меченного ^{14}C - или ^3H -тимидина или уридина. Это объясняется не только большей объективностью учета, но и особенностью бласттрансформации, которая состоит в том, что возника-

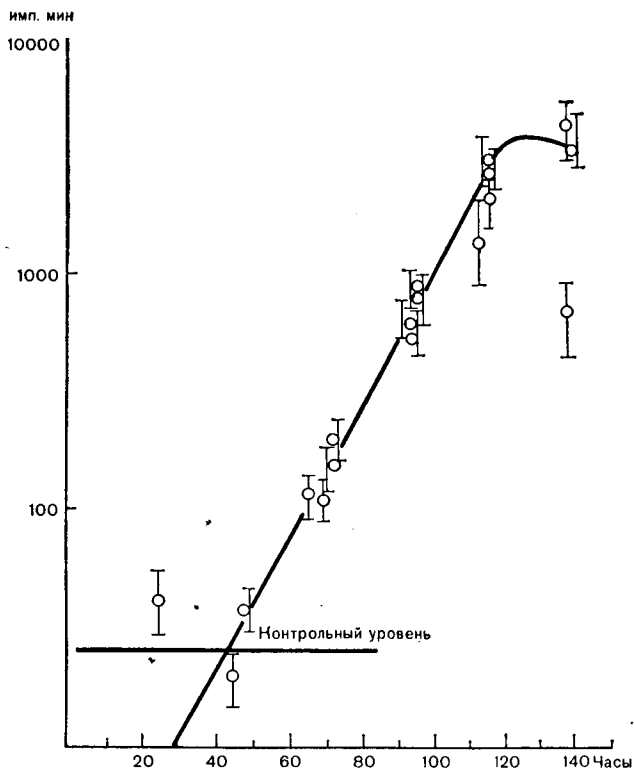


Рис. 57. Зависимость включения ³H-тимидина в микст-культуре лимфоцитов от времени культивирования (Уилсон Д., и др., 1968).

ющие бласты не являются потомками одних первоначально прореагировавших клеток. В реакцию в течение культивирования включаются все новые лимфоциты. Максимум включения тимидина наблюдается на 3—4-й день культивирования (рис. 57).

При изучении генетических основ развития бласттрансформации в смешанных культурах оказалось, что выраженность бласттрансформации в микст-культуре мышиных лимфоцитов обусловлена генами, локализующимися в участке хромосомы от H-2K до Ss-Slp (K-конец). Тождественность или различия по Ss-Slp не влияют на бласттрансформацию. В то же время тождественность взаимодействующих лимфоцитов по генам H-2K при наличии других отличий в системе H-2 не отменяет реакцию. Иначе говоря, главный локус, детерминирующий реакцию бласттрансформации в смешанной культуре, расположен между генами Ss-Slp и H-2K, в районе генов субобласти I-A (см. рис. 53). Этот локус, су-

существование которого впервые доказал Б. Эймос (1971), получил название MLC (Mixed Lymphocyte Culture). Гены MLC контролируют синтез LD-антигенов, которые распознаются Т-лимфоцитами. У человека гены, контролирующие MLC, расположены в регионе HLA-D (см. рис. 54).

Помимо главного локуса MLC-1, доказано существование еще одного локуса — MLC-2, который локализуется в области I-C. Различия по этому гену обеспечивают выраженную бласттрансформацию. Другие гены, по-видимому, совпадают с H-2K и H-2D. Они обуславливают очень слабую реакцию. Контролируемые MLC-1 локусом Ia-антигены играют большую роль в трансплантационном иммунитете. Именно эти антигены включают реакции Т-системы иммунитета, которые, как известно, являются основными при иммунном ответе на трансплантат. Именно поэтому подбор доноров при пересадке органов не должен ограничиваться серологическим типированием HLA-антигенов. Необходима обязательная оценка совместимости по системам MLC (у человека HLA-D и DR).

Для многих исследований часто используют так называемый однонаправленный вариант микст-культуры лимфоцитов. В этом случае одну из смешиваемых клеточных взвесей обрабатывают таким образом, чтобы лимфоциты сохранили метаболическую активность, но лишились возможности синтезировать ДНК, превращаться в бластные формы и проявлять митотическую активность. Тогда весь процесс будет характеризовать активность одной из совместно культивируемых популяций лимфоцитов. Для этих целей применяют митостатические препараты или облучение клеток γ -или рентгеновскими лучами в дозах, блокирующих деление. Наибольшее распространение получил метод обработки клеток митомицином С.

В заключение необходимо отметить, что в процессе бласттрансформации лимфоцитов выделяется ряд активных гуморальных факторов. Часть из них способна вовлекать в бласттрансформацию лимфоциты без их взаимодействия с чужеродными клетками. Эти факторы получили название бластогенов. Другая часть гуморальных субстанций, появляющихся в микст-культуре на высоте реакции бласттрансформации, обладает способностью подавлять реакцию (см. главу X).

Реакция Т- и В-лимфоцитов на митогены

Ряд митогенных субстанций растительной и бактериальной природы вызывают бласттрансформацию лимфоцитов, регистрируемую, подобно бласттрансформации, в микст-культуре. К растительным митогенам относятся фитогемагглютини-

нин (ФГА), конканавалин А (КонА), митоген лаконоса (РWM); к бактериальным — липополисахариды (ЛПС) из грамотрицательных бактерий, стафилококковый α -токсин и некоторые другие. Наиболее часто в экспериментальной и клинической практике используются ФГА, КонА, митоген лаконоса и ЛПС. Это связано с тем, что митогенное действие этих препаратов имеет весьма выраженную специфичность в отношении различных популяций лимфоцитов. Например, ЛПС избирательно стимулирует В-лимфоциты, побуждая их пролиферацию и дифференцировку в плазматические клетки. ЛПС является поликлональным активатором В-клеток вне зависимости от специфичности их Ig-рецепторов в отношении того или иного антигена.

ФГА и КонА в 3—4-дневных культурах лимфоцитов избирательно стимулируют Т-клетки, при более длительном культивировании стимулируется часть В-клеток. На митоген лаконоса реагируют преимущественно В-лимфоциты, однако следует иметь в виду, что часть Т-клеток также включается в бласттрансформацию.

Цитопатогенное действие сенсibilизированных лимфоцитов (цитолитические Т-лимфоциты)

Данный феномен относится к тем проявлениям трансплантационного иммунитета, которые демонстрируют непосредственно участие Т-лимфоцитов в деструкции чужеродных клеточных элементов.

Начиная с 1960 г. появился ряд исследований, в которых показано, что лимфоциты, полученные от животных, иммунизированных чужеродными тканями, оказывают цитотоксическое действие на клетки соответствующего генотипа в культуре *in vitro*. Культивировались различные клетки: фибробласты, клетки сарком и других опухолей почек мышей, крыс и собак, эпителиальные макрофаги и т. д. Во всех случаях лимфоциты специфически иммунизированных животных (сенсibilизированные лимфоциты) оказывались эффективными. Введенные в культуру соответствующих клеток, они в течение нескольких часов прикреплялись к культивируемым клеткам, образуя агрегаты вокруг клеток-мишеней и разрушая их. Агрегация клеток происходит относительно независимо от температуры (одинаково как при температуре 27°C, так и при температуре 37°C), разрушение клеток-мишеней протекает только при температуре 37°C. Гипериммунизация доноров лимфоцитов не усиливает эффекта. Феномен иммунологически специфичен, воспроизводится при использовании лимфоцитов из лимфатических узлов, селезенки или периферической крови; присутствие антител и комплемента не требуется. Гидрокортизон уменьшает активность лимфоцитов.

Аналогичное действие оказывает имуран. Убитые при нагревании (температура 56°C) клетки цитопатогенным свойством не обладают. Гуморальные антитела, добавленные в культуру, блокируют рецепторы клеток-мишеней и отменяют цитопатогенное действие лимфоцитов.

Сенсибилизированные лимфоциты несут на своей поверхности антидетерминанты, специфичные по отношению к SD-специфичностям трансплантационных антигенов. «Клеточные» или «структурные» антитела подобны тем, которые несут лимфоидные клетки при реакциях гиперчувствительности замедленного типа. Своими антидетерминантами, расположенными на поверхности, клетки способны фиксировать соответствующий антиген. Так же, как и в случаях гиперчувствительности замедленного типа, иммунные лимфоциты, разрушая клетки-мишени, завершают свой жизненный цикл. Количественный анализ показал, что выживаемость клеток-мишеней обратно пропорциональна числу сенсибилизированных лимфоцитов. Один иммунологически активный лимфоцит способен, по-видимому, поразить несколько клеток-мишеней. Наиболее чувствительны делящиеся клетки-мишени.

Не менее интересную модель для изучения гомотрансплантационного взаимодействия клеток предложил Дж. Дэвид (1964). Она основана на известном факте токсического действия антигена, вызвавшего состояние гиперчувствительности замедленного типа, на сенсибилизированные к нему клетки. Дэвид с соавт. разработали модель подавления миграционной активности макрофагов. Лимфоидные клетки от мышей линии СВА, сенсибилизированных против антигенов мышей линии А, помещали в капилляры вместе с макрофагами А. Капилляры инкубировали в питательной среде при температуре 37°C. Зона миграции клеток из капилляров резко уменьшалась по сравнению с контролем — отдельно помещенными макрофагами. Подавление миграции макрофагов происходит под влиянием сенсибилизированных лимфоцитов, реагирующих на соответствующий антиген.

Из супернатантов культур сенсибилизированных лимфоцитов с соответствующим антигеном выделен фактор, подавляющий миграционную активность макрофагов (см. главу X).

Сенсибилизация лимфоцитов, необходимая для проявления ими цитопатогенного эффекта, может быть осуществлена не только *in vivo*, но и *in vitro*. Такая сенсибилизация происходит в процессе бласттрансформации при культивировании лимфоцитов в микст-культуре. Фактически сочетание микст-культуры с последующим определением цитопатогенного эффекта стимулированных лимфоцитов на культивируемых фибробластах или других клетках соответствующего генотипа представляет собой внеорганизменную модель основного механизма трансплантационного иммунитета. Если

лимфоциты генотипа АА поместить в микст-культуру с лимфоцитами генотипа АВ, произойдут односторонняя стимуляция и бласттрансформация АА-клеток. При этом в культуре накопятся лимфоциты, сенсibilизированные в отношении антигенов генотипа В. На монослойной культуре фибробластов генотипа АВ или ВВ может быть продемонстрирована их специфическая цитопатогенная активность. В связи с этим бласттрансформацию совершенно справедливо рассматривают как модель афферентного звена клеточного иммунитета — распознавания аллоантигенов Т-лимфоцитами, а их цитопатогенное действие как модель эффекторной фазы реакции на чужеродные клетки.

Вопрос о генетическом контроле цитопатогенного действия лимфоцитов весьма непрост. На схеме генетической системы Н-2 (см. рис. 52) нанесены локусы MLC-1 и MLC-2, детерминирующие LD-антигены, в частности Ia-антигены (I-область). Эти локусы детерминируют и реакцию бласттрансформации в микст-культуре. Там, однако нет локусов, контролирующих цитопатогенное действие. Это не значит, что цитопатогенный эффект зависит только от SD-антигенов Н-2К и Н-2D. Имеются примеры таких генетических сочетаний, при которых клетки отличаются только по I-A локусу — мыши линий С57BL/6 и В6-С (Нг-1). Взаимная сенсibilизация животных приводит к накоплению сенсibilизированных лимфоцитов, дающих *in vitro* цитопатогенный эффект. Следовательно, в этом случае эффект обеспечивают различия только по Ia-антигенам. В других подобных сочетаниях цитопатогенное действие сенсibilизированных лимфоцитов не проявляется. Ia-антигены являются стимулирующими, но реализация цитопатогенного действия при различиях только по Ia проявляется слабо. Не удастся сенсibilизировать лимфоциты клетками, отличающимися только по SD-антигенам Н-2К или Н-2D. Эффективная сенсibilизация развивается при одновременном отличии по антигенам LD и SD, т. е. по Ia, Н-2К и (или) Н-2D. После этого сенсibilизированные лимфоциты способны оказывать цитопатогенное действие в отношении клеток, отличающихся по локусам I-A и Н-2 или только по SD-антигенам.

Таким образом, Т-лимфоциты, как и в смешанной культуре, стимулируются Ia-антигенами В-лимфоцитов и макрофагов. В результате накапливаются цитопатогенные лимфоциты-эффекторы, мишенями для которых служат SD-антигены. Предполагается, что кооперируют два типа Т-лимфоцитов — Т_А (усилители) и Т_С (цитопатогенные эффекторы). Первые распознают Ia-антигены и являются клетками-помощниками для цитопатогенных эффекторов, которые распознают антигены Н-2К и Н-2D. Если это так, то развитие клеточных событий при накоплении цитопатогенных Т-лимфоцитов весьма

напоминает ситуацию включения В-лимфоцитов в антителогенез. Т_H при инициации антителогенеза распознают несущую часть молекулы антигена и включают В-лимфоциты в продукцию антител против гаптенной части антигена. А здесь Т_H распознают Ia-комплекс трансплантационных антигенов и включают Т_C, распознающих К- и D-антигены у мышей. У человека стимулирующими антигенами являются антигены, контролируемые локусом HLA-D, а мишенями служат антигены регионов HLA-A и HLA-B.

Цитопатогенное действие лимфоцитов, выявляемое после их стимуляции в микст-культуре в отношении стимулировавших их лимфоцитов, получило название опосредованного клетками лимфолиза — CML (Cell Mediated Lympholysis). Клетками-мишенями в этом случае служат лимфоциты, а не культивируемые фибробласты или иные перевиваемые культуры клеток. На примере CML четко видны два этапа реакции лимфоцитов на антиген. Первый — распознавание чужеродности и стимулирование, выражающееся в бласттрансформации, второй — накопление в процессе бласттрансформации и размножения цитопатогенных клеток-эффекторов.

Цитопатогенные (или цитолитические) Т-лимфоциты возникают *in vitro* не только против аллогенных лимфоцитов, фибробластов или других культивируемых клеток. Они могут быть генерированы и против сингенных клеток, если они (а) инфицированы вирусами, (б) несут опухолеспецифические трансплантационные антигены или (в) модифицированы химическими агентами, например гаптенами типа тринитрофенила, ковалентно связанного с белками плазматической мембраны. При этом, по-видимому, гаптены модифицируют именно трансплантационные антигены клеток-мишеней.

Существуют попытки создания противоопухолевых вакцин путем гаптенной модификации поверхности опухолевых клеток.

Механизм цитопатогенного действия лимфоцитов складывается из следующих этапов. Первый — специфическая адгезия клеток-киллеров на клетках-мишенях; она происходит в течение первых минут, требует присутствия ионов Mg^{++} , но не Ca^{++} и не протекает при температуре 0°C. Второй этап — повреждение клетки-мишени; требует не менее 10 мин, температуры 37°C и наличия ионов Ca^{++} ; белковый синтез не является необходимым для реализации повреждающего действия. Удаление киллеров с клеток-мишеней после данного контакта, например посредством ЭДТА, не предотвращает цитопатогенного эффекта. Никаких токсических субстанций, выделяемых лимфоцитами, не обнаружено. Скорее всего повреждение связано с возрастанием электролитной проницаемости мембраны клетки-мишени. Третий

этап — лизис клетки-мишени, уже не зависящей от лимфоцита-киллера. Он требует несколько часов времени, зависящего от температуры; при температуре 0°C протекает в 10 раз медленнее, чем при температуре 37°C. Лизис обусловлен осмотическим набуханием вследствие повреждения мембраны. Происходит потеря электролитов. Наиболее эффективным и точным методом оценки лизиса клеток под влиянием лимфоцитов является метод радиометрического учета выхода радиоактивного хрома (^{51}Cr) из меченых клеток-мишеней в надосадочную жидкость.

Антителозависимый клеточный лизис

Цитолитические Т-лимфоциты осуществляют свою функцию с помощью собственного рецепторного аппарата, узнающего SD-антигены главного комплекса гистосовместимости клеток-мишеней. Для этого не требуется наличия антител и комплемента. Имеются субпопуляции лимфоцитов (см. главу VI), относящиеся к разряду нулевых клеток, которые способны осуществлять лизис клеток-мишеней в том случае, если последние покрыты антителами. Они обозначаются как L- или K-клетки. Для обнаружения K-лимфоцитов в качестве мишеней используются покрытые специфическими антителами куриные эритроциты или культивируемые ксеногенные клеточные линии, включая опухолевые. Степень лизиса клеток-мишеней оценивается радиометрически по выходу меченого хрома ^{51}Cr . Предварительная иммунизация не является необходимой и не увеличивает количества K-лимфоцитов. Механизм цитолитического действия изучен мало; не исключено, что он подобен описанному выше для Tc. Основным рецепторным аппаратом узнавания покрытых антителами клеток-мишеней являются рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулиновой молекулы.

Способностью осуществлять антителозависимую, клеточно опосредованную цитотоксичность обладают также клетки моноцитарной линии. Они также обозначаются как K-клетки (от слова Killer). По-видимому, лизис мишеней происходит раньше, чем эти клетки проявят фагоцитарную активность.

Предполагается, что K-клетки играют существенную роль в противоопухолевом иммунитете.

Естественные киллеры (НК-клетки)

Один из недавно открытых феноменов клеточного иммунитета связан с обнаружением особого типа лимфоцитов, названных естественными киллерами (Natural Killers — NK). Они также осуществляют антителонезависимый лизис клеток-мишеней. При этом они объединяют в себе качества K-

и Т_с-клеток. Подобно К-клеткам, для реализации эффекта не требуется предварительной иммунизации доноров. Вместе с тем, подобно цитолитическим Т-лимфоцитам, НК-клетки не требуют присутствия антител против клеток-мишеней. Наличие комплемента не требуется. Учет цитолитического действия проводится также с помощью радиометрического (⁵¹Cr) метода. Свойства НК-клеток были описаны в главе VI. Здесь следует сказать, что наибольшее количество лимфоцитов этого типа содержится в костном мозге и селезенке. Комплекс антиген-антитело не подавляет активность НК, несмотря на то, что эти клетки имеют Fc-рецепторы. Наиболее выраженная активность естественных киллеров проявляется при использовании в качестве мишеней трансформированных клеток вирусно-индуцированного лейкоза. Н. Митчисон, Б. Бенацераф и многие другие известные иммунологи считают, что НК-клетки осуществляют главную миссию в противоопухолевом иммунитете.

Макрофагальная цитотоксичность

В предыдущих главах неоднократно подчеркивалась особая роль макрофагов в осуществлении иммунных функций путем фагоцитирования и участия в кооперативных взаимодействиях Т- и В-лимфоцитов, инициирующих иммунный ответ. Помимо этого, макрофаги обладают цитотоксическими потенциальными. Речь идет не об упоминавшихся выше К-клетках моноцитарной линии. Цитотоксический эффект в отношении опухолевых клеток развивают перитонеальные макрофаги, взятые от мышей, инфицированных такими микроорганизмами, как БЦЖ, листерия, токсоплазма, т. е. микроорганизмами, стимулирующими иммунный ответ Т-клеточного типа. Таким же, активирующим цитотоксическую активность действием, обладает обработка макрофагов *in vitro* лимфокинами, вырабатываемыми сенсibilизированными лимфоцитами под влиянием специфического антигена — MIF, MAF (см. главу X). Активирующим действием обладают некоторые эндотоксины и препараты двунитчатой ДНК. У активированных макрофагов повышается и фагоцитирующая активность.

Феномен инактивации несингенных стволовых клеток

Особая форма проявления Т-клеточной активности обнаружена при изучении взаимодействия лимфоцитов с кроветворными стволовыми клетками. Феномен был обнаружен при совместной трансплантации клеток селезенки или лимфатических узлов от интактных мышей разных генотипов облученным реципиентам. При такой трансплантации происходит

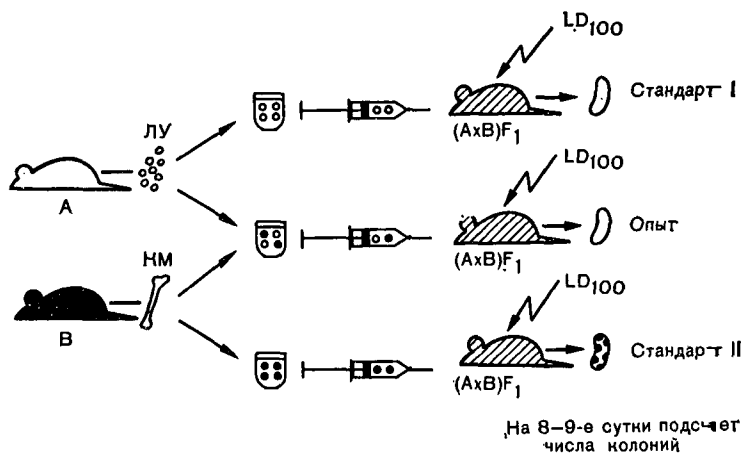


Рис. 58. Воспроизведение и учет феномена инактивации несингенных стволовых клеток.

Могут быть использованы лимфатические узлы (ЛУ), костный мозг (КМ) или селезенки.

блокировка содержащихся в смешанном трансплантате стволовых клеток, лишая или резко затормаживая их способность к пролиферации. Этот эффект зависит от количества присутствующих в клеточной смеси живых лимфоцитов. Способность лимфоцитов оказывать инактивирующее действие на несингенные стволовые клетки выявляется в опыте, принципиальная схема которого изображена на рис. 58.

По данной методике исследовали взаимодействие клеток мышей линий C57BL+C3H, C57BL+A, C57BL+C3H, C57BL+(C3H×C57BL) F₁, C3H+(C3H×C57BL) F₁, C3H+(C3H×C57BL) F₁, A+C3H. Индексы инактивации в разных сочетаниях равнялись 23,2—87,5%. Результаты опытов были положительными во всех случаях взаимодействия несингенных клеток. Исследовали также взаимодействие клеток лимфатических узлов с клетками селезенки или костного мозга. Лимфоциты лимфатических узлов не способны образовывать колонии, т. е. не содержат стволовых клеток. Поскольку они полностью лишают CFU взвеси клеток селезенки или костного мозга, индексы инактивации равняются 94,5—100%. Инактивирующее действие лимфоцитов проявляется не только при соотношении клеток в смеси 1:1, но и при соотношении лимфоцитов и клеток селезенки 1:2 (индекс 84%) и 1:5 (индекс 80%).

Следует подчеркнуть, что при инактивации несингенных стволовых клеток исследователь имеет дело не с опухолевыми или культивируемыми клеточными штаммами, а с нор-

мальными клетками кроветворных тканей. Для учета феномена используют способность кроветворных стволовых клеток образовывать колонии. Не исключено, что инактивирующее или тормозящее действие лимфоцитов распространяется и на другие несингенные активно пролиферирующие клетки (раковые, эпителиальные и др.), являющиеся стволовыми, т. е. способными обеспечивать за счет размножения самоподдерживающуюся популяцию.

Феномен инактивации несингенных стволовых клеток характеризует активное действие живых лимфоцитов на чужеродные размножающиеся клетки. Разрушенные или облученные большой дозой экспозиционного γ -излучения (2580 мКл/кг или 10 000 Р) лимфоциты не инактивируют стволовые клетки (табл. 18). Анализ зависимости доза-эффект свидетельствует о том, что данная функция лимфоцитов не требует для своей реализации клеточного деления.

Время, необходимое лимфоцитам для осуществления инактивации несингенных стволовых клеток, определено с помощью остановки процесса антилимфоцитарной сывороткой. Показано, что главные события, приводящие к инактивации, происходят к течению нескольких часов. В течение 3—4 сут инактивация завершается. Сущность этих процессов пока неизвестна. Предполагается, что инактивация является следствием прямого взаимодействия лимфоцит-стволовая клетка.

Особый интерес представляют данные о локализации генетических структур, детерминирующих эффект инактивации несингенных стволовых клеток. Окончательного картирова-

Т а б л и ц а 18

Наличие или отсутствие инактивации кроветворных стволовых клеток при использовании различных лимфоидных и нелимфоидных тканей

Клетки-киллеры		Клетки-мишени (несингенные)		Инактивация
ткань	генотипы	ткань	генотипы	
Л. У.	СВА, А/Sn А.СА, С57BL AKR, С3Н и др.	К. М.	С57BL, СВА, А/Sn, AKR (С57BL × СВА)F ₁ и др.	+
Л. У.	СВА, С57BL	Сел.	С57BL, СВА (СВА × С57BL)F ₁ и др.	+
Л. У. Облуч.	СВА	Сел.	С57BL	—
Сел.	СВА (СВА × А) F ₁	Сел.	С57BL, (СВА × С57BL)F ₁	+
К. М.	СВА, А	К. М.	С57BL, СВА	±
Эмбр. печ.	СВА	К. М.	С57BL,	±
Почка	СВА, С57BL	Сел.	С57BL, СВА	—

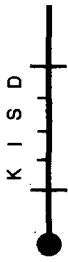
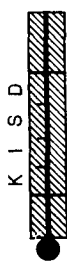
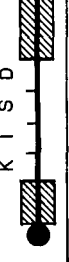

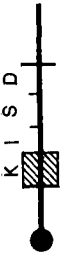
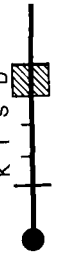
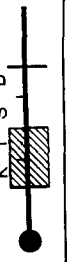

	ЛУ:КМ	И.И. (%)
 <p>CBA + CBA, C57BL + C57BL</p>	1:1 20:1	0 0
 <p>CBA + C57BL, AKR + DBA/2, A/Sn + CBA, DBA/2 + C57BL</p>	1:1	100—23
 <p>AKR + C3H, AKR + CBA, CBA + B10.BR, AKR + B10.BR, C3H + AKR, BALB/c + DBA/2, DBA/2 + BALB/c, CBA + C3H, C3H + CBA, CBA + AKR, B10.BR + CBA, B10.BR + AKR, C3H.NB + B10.CNB</p>	1:1 5:1 20:1	62—22 65—25 50—24
 <p>B10.BR + B10.CNB, B10.CNB + B10.BR, B10.BR + B10, B10 + B10.BR, C3H + C3H.NB, C3H.NB + C3H, C3H + C3H.SW, C3H.SW + C3H, B10 + B10.CNB, B10.CNB + B10, C3H.SW + C3H.NB, C3H.NB + C3H.SW, A/Sn + A.CA, A.CA + A/Sn, B10.A + B10.M, B10.M + B10.A</p>	1:1 5:1 20:1	0 43—24 99—20
 <p>M505 + H (z1), M506 + A.CA, A.CA + M506</p>	20:1	60—27
 <p>R103 + B10.D2, R106 + R107, M504 + B10.D2, 2R + B10.A, R107 + B10</p>	20:1	80—20
 <p>B10.D2 + 5R, 5R + B10.D2, B10.D2 + B10.A, B10.A + B10.D2</p>	20:1	78—39
 <p>5R + R107, R107 + 5R</p>	20:1	21—20

Рис. 59. Проявление эффекта инактивации несингенных стволовых клеток в зависимости от генотипа взаимодействующих клеток костного мозга (КМ) и лимфатических узлов (ЛУ).
 ИИ — индекс инактивации стволовых клеток. Защтрихованные части означают различия между донорами КМ и ЛУ по системе H-2 (области K, I, S, D) или не H-2 системам.

ния генов и их обозначения еще нет. Однако анализ феномена при взаимодействии клеток, тождественных по системе Н-2 и, наоборот, отличающихся только по этой системе, показал принципиальное отличие его от всех описанных выше явлений, включая аллогенное ингибирование кроветворных стволовых клеток и реакцию трансплантат против хозяина. Из данных рис. 59 видно, что лимфоциты, тождественные по системе Н-2 стволовым клеткам, инактивируют их с не меньшей (а в ряде случаев даже с большей) эффективностью, чем лимфоциты конгенных линий. В первом случае клетки различаются не по системам Н-2, во втором — только по Н-2. Это значит, что один из главных (или главные) локусов, определяющих феномен инактивации, локализуется вне системы Н-2. Максимальная инактивация имеется при одновременном различии по Н-2 и не Н-2 системам. Проявление всех других феноменов зависит от генов, локализующихся в пределах системы Н-2.

Итак, феномен инактивации несингенных стволовых клеток эффективен при малых (Н-2 и не Н-2) антигенных различиях и направлен на клетки — родоначальницы клонов других клеток, каковыми являются стволовые клетки и другие клетки-предшественники. Это дает возможность утверждать, что данный феномен является одним из главных механизмов иммунологического надзора и элиминации соматических мутаций, включая возникновение клонов раковых клеток.

Глава X

ГОРМОНЫ И МЕДИАТОРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Иммунная система организма млекопитающих обладает высокой степенью автономности в распознавании и элиминации генетически чужеродных клеток и субстанций. Вместе с тем она находится под сложным влиянием нервных, эндокринных и медиаторных воздействий, что обеспечивает гармоничное функционирование всего организма.

Проблема гормональной регуляции иммунного ответа может быть разделена на два больших раздела. Первый касается значимости и механизмов действия широко известных гормонов эндокринной системы на иммунитет. Они имеют и практическое применение. Известно, например, что нормальная работа инсулярного аппарата чрезвычайно важна для реализации фагоцитарной и антителосинтезирующей функций. При диабете развивается выраженный иммунодефицит. Кортикостероиды широко используются в качестве иммуно-

депрессантов и противовоспалительных средств. В то же время половые гормоны имеют малое, фактически нерегистрируемое значение для функционирования иммунной системы; даже полная кастрация не оказывает на нее существенного влияния.

Второй раздел проблемы гормональной регуляции иммунного ответа отнюдь не традиционный. Он зародился всего 10—15 лет назад и касается роли гормонов и медиаторов, вырабатываемых самой иммунной системой, так сказать «для внутреннего пользования», т. е. для регуляции созревания, взаимодействия и функционирования клеток иммунной системы. Именно этому разделу проблемы посвящена настоящая глава. В ней представлены данные о природе и функциональной активности этих внутрисистемных гормонов и медиаторов иммунитета.

Многие эффекторные и вспомогательные функции клеток иммунной системы осуществляются при участии внутрисистемных гормонов и медиаторов. Описано около 30 растворимых субстанций, выполняющих гормональную или медиаторную роль в развитии иммунных реакций.

Наибольшей известностью пользуется гормон или гормоны, вырабатываемые одним из центральных органов иммунной системы — вилочковой железой. Разные авторы, работающие с препаратами, полученными неодинаковыми методами, используют различные названия: тимозин, тимарин, тимический фактор и др. Не исключено, что имеется группа гормонов вилочковой железы. Главными для функционирования иммунной системы следует считать те, которые обеспечивают созревание Т-лимфоцитов.

Важную роль в реализации реакций клеточного иммунитета играют медиаторы, обеспечивающие локализацию клеток вблизи чужеродной субстанции, факторы, усиливающие или подавляющие функциональную активность клеток. К первой группе относится фактор, угнетающий миграцию макрофагов или лимфоцитов, агглютинирующий макрофаги, хемотаксические факторы. К факторам, усиливающим функциональную активность клеток, можно отнести фактор, активирующий макрофаги или лимфоциты, стимулирующий рост колоний, митогенный фактор, фактор переноса. Последний способен переносить состояние сенсibilизации на интактные лимфоциты. К медиаторам, подавляющим функциональную активность клеток, относятся фактор, подавляющий рост колоний, угнетающий клеточную пролиферацию, лимфотоксины. Лимфотоксины, в частности, участвуют в реализации эффекта Т-клеток-киллеров. Эта группа субстанций объединяется тем, что их выделяют сенсibilизированные лимфоциты под влиянием антигенов, вызвавших сенсibilизацию, или под влиянием неспецифических митогенов — фитогемагглютинаина,

конканавалина и др. Их нередко определяют общим понятием — лимфокины.

Существуют также медиаторы, которые опосредуют кооперацию клеток при индукции гуморального иммунного ответа. Для активации В-лимфоцита под влиянием тимусзависимого антигена необходимы специфические и неспецифические сигналы со стороны Т-клеток.

Особого внимания заслуживают медиаторы, посредством которых осуществляют свое действие антиген-специфические Т-супрессоры и Т-помощники. Первый секретируется антиген-стимулированными Т-супрессорами. Он обладает способностью соединяться с данным антигеном, не является иммуноглобулином и не несет обычных иммуноглобулиновых детерминант. Этот супрессорный фактор несет детерминанты, кодируемые субрегионами I-J и I-C, а иногда и I-A. Узнающий центр его молекулы характеризуется тем же идиотипом, что и Ig у антител данной специфичности; иначе говоря, он подобен идиотипу, кодируемому V-генами (см. гл. III). Молекулярная масса медиатора 70 000 дальтон. Он состоит, по-видимому, из двух цепей: одна кодируется генами I-области, другая генами, кодирующими переменные участки H-цепей Ig. Действует на В-клетки, T_H или индуцирует второй каскад Т-супрессоров. Как и T_S, выделяемый ими фактор имеет генетическое ограничение своего действия — эффективен только в отношении идентичных по H-2 или по идиотипу клеток.

Антиген-специфический медиатор Т-помощников секретируется под влиянием антигена в культуре Т-лимфоцитами от иммунизированных животных. Обладает способностью вступать в связь с данным антигеном. Стимулирует продукцию IgM-антител В-клетками. Не является иммуноглобулином, содержит Ia-антиген, имеет молекулярную массу 60 000 дальтон. Его продукция Т-клетками и восприятие В-клетками находятся под Ig-генным контролем. Подобными же свойствами обладает специфический медиатор Т-усилителей (T_A); он стимулирует антителопродукцию только в присутствии T_H.

В главе VII было описано влияние клеток костного мозга на антителогенез в продуктивную фазу иммунного ответа. Выделен и охарактеризован не известный ранее гуморальный фактор костного мозга, вызывающий трехкратное усиление продукции антител на пике иммунной реакции. Этот медиатор получил название стимулятора антителопродукторов (САПТ). Показано также, что в костном мозге вырабатывается и супрессорный фактор, подавляющий антителогенез при индукции иммунного ответа.

В табл. 19 сгруппированы все основные гормоны и медиаторы в соответствии с их функцией и физико-химической ха-

Краткая характеристика гормонов и медиаторов (гуморальных факторов) иммунной системы

Наименование	Функциональная активность	Условия выработки	Химическая природа и молекулярная масса (дальтоны)
Гуморальные факторы вилочковой железы	Обеспечивают дифференцировку предшественников Т-клеток в зрелые Т-лимфоциты. Влияют на уровень цГМФ и цАМФ	Вырабатываются эпителиальными клетками вилочковой железы, не требуя антигенной стимуляции	Полипептиды от 1000 до 17 000
Факторы, усиливающие функциональную активность клеток			
Фактор переноса Фактор, активирующий макрофаги	Переносит состояние сенсбилизации на интактные лимфоциты Повышает метаболическую активность макрофагов, усиливает фагоцитоз	Вырабатывается сенсбилизированными Т-лимфоцитами под влиянием специфического антигена	Содержит нуклеотиды с пептидной цепью, гипоксантин, фолиевую кислоту 10 000 Белок 50 000—80 000
Фактор, содействующий росту Т-лимфоцитов и НК-клеток Митогенный (бластогенный) фактор	Содействует культивированию Т-лимфоцитов и НК-клеток Повышает пролиферативную активность ЛИМФОЦИТОВ, ВЫЗЫВАЕТ ИХ бласттрансформацию	Вырабатывается сенсбилизированными Т-лимфоцитами под влиянием специфического антигена Вырабатывается селезеночными Т-клетками под влиянием конканавалина А и Т-гибридомой	Белок 40 000
Колоннестимулирующий фактор	Усиливает рост гранулоцитарных колоний	Вырабатывается Т-лимфоцитами под влиянием антигенов, митогенов и в микст-культуре Вырабатывается Т-лимфоцитами под влиянием митогенов и макрофагами	Белок 20 000—30 000 Гликопротеид 30 000

Интерферон	Активирует макрофаги, усиливает развитие и функцию NK- и T-клеток, регулирует силу иммунного ответа	Вырабатывается сенсibilизированными T-лимфоцитами под влиянием антигена в присутствии макрофагов, а также другими клетками под влиянием вирусов, антигенов, нуклеиновых кислот, митогенов и др.	Белок 18 000—100 000
	Факторы, обеспечивающие локализацию клеток		
Фактор, угнетающий миграцию макрофагов и лейкоцитов	Тормозит миграцию макрофагов и полиморфноядерных лейкоцитов	Вырабатывается сенсibilизированными T-лимфоцитами под влиянием специфического антигена	Белок 12 000—80 000
Фактор, агглютинирующий макрофаги	Склеивает макрофаги	Вырабатывается сенсibilизированными T-лимфоцитами под влиянием специфического антигена	Гликопротеид 70 000
Факторы хемотаксиса макрофагов и лейкоцитов	Вызывают хемотаксис	Вырабатываются лимфоцитами под влиянием антигенов или митогенов	Полипептиды и белки 1500—150 000
Фактор кожной реактивности	При внутрикожном введении вызывает воспаление, эритему, моноуклеарную инфильтрацию	Вырабатывается сенсibilизированными T-лимфоцитами под влиянием антигена, а также при митогенной стимуляции	Природа не выяснена
	Факторы, подавляющие функциональную активность клеток		
Лимфотоксин	Опосредуют киллерную активность T-лимфоцитов, вызывают лизис клеток-мишеней	Вырабатываются T-лимфоцитами под влиянием антигена, митогенов и в микст-культуре	Комплексные молекулы, содержащие белок 10 000—150 000
Фактор, угнетающий пролиферацию клеток и рост колоний	Подавляет рост колоний гемопатических и других клеток, угнетает размножение клеток	Вырабатывается лимфоцитами и макрофагами под влиянием антигенов и митогенов	По-видимому, полипептиды, 1000—10 000

Наименование	Функциональная активность	Условия выработки	Химическая природа и молекулярная масса (дальтоны)
Фактор, подавляющий синтез ДНК	Ингибирует синтез ДНК в различных клетках	Вырабатывается лимфоцитами под влиянием антигенов и митогенов	Гликопротеид 80 000
Фактор, активирующий лимфоциты	Повышает пролиферативную активность тимоцитов, содействует созреванию Т-лимфоцитов	Гуморальные факторы макрофагов (моноклины)	Природа не установлена 13 000 — 85 000
Факторы, способствующие иммунному ответу	Заменяют макрофаги при индукции антителогенеза, способствуют появлению Т-помощников		Вырабатывается макрофагами под влиянием митогенов и активированными Т-лимфоцитами
Факторы, подавляющие иммунный ответ	Подавляют гуморальный и клеточный иммунный ответ	Вырабатываются макрофагами под влиянием антигенов	Природа не установлена 1400
Специфический фактор Т-помощников	Факторы Т-клеток, регулирующие антителогенез Участует в выполнении функций Т-помощников при включении иммунного ответа	Вырабатывается под влиянием антигена в присутствии макрофагов, продукт генов субобласти I-A	Белок содержит 1а-детерминанты 60 000

Неспецифический фактор Т-помощников	Участвует в выполнении функции Т-помощников	Вырабатывается под влиянием антигенов, митогенов и в микст-культуре; действует на В-клетку без участия макрофагов	Белок, содержит га-детерминанты 20 000—60 000
Специфический фактор Т-супрессоров	Участвует в выполнении функции Т-супрессоров, подавляет развитие иммунного ответа	Вырабатывается под влиянием антигенов, продукт генов субопластей I-C и I-J	Белок содержит детерминанты H-2 (I-J I-C) комплекса 70 000
Неспецифический фактор Т-супрессоров	Участвует в выполнении функции Т-супрессоров	Вырабатывается под влиянием антигенов и митогенов	Гликопротеид 48 000—67 000

Гуморальные факторы костного мозга

Стимулятор антитело-продукентов (САП)	Усиливает продукцию антител на фоне иммунного ответа	Вырабатывается клетками костного мозга, не требуя антигенной стимуляции	Рибонуклеопротеид 13 000
Фактор, супрессирующий антителогенез	Подавляет индукцию иммунного ответа	Вырабатывается клетками В-серии при контакте с интенсивно пролиферирующими клетками	Природа не установлена 1000—10 000

рактической. Первая графа таблицы представляет классификацию данных гуморальных субстанций. Ниже дается более подробное описание некоторых наиболее значимых медиаторов и гормонов иммунной системы.

Фактор переноса

Фактор переноса (transfer factor) открыл Х. Лоуренс (1948). Было показано, что диализируемая фракция экстракта лимфоцитов от сенсibilизированных к туберкулину доноров при введении туберкулинотрицательному реципиенту превращает его в туберкулинположительного индивидуума. Лимфоциты такого индивидуума подвергаются бласттрансформации под влиянием туберкулина, т. е. ведут себя как сенсibilизированные.

Фактор переноса выделяется *in vitro* из сенсibilизированных лимфоцитов под влиянием специфического антигена. При добавлении его к взвеси нормальных лимфоцитов этот фактор трансформирует их в сенсibilизированные. Специфичность действия антигена на высвобождение фактора переноса была показана в опытах с использованием смеси лимфоцитов, сенсibilизированных к туберкулину и дифтерийному анатоксину (Лоуренс Х., 1971). При добавлении туберкулина высвобождался фактор переноса, передающий состояние сенсibilизированности к туберкулину. Добавление к взвеси лимфоцитов анатоксина приводило к выделению фактора переноса чувствительности к дифтерийному анатоксину (рис. 60). Показано, что состояние сенсibilизированности, переданное организму с этим фактором, продолжается более года. Фактор не связан с трансплантационными антигенами, диализуем, устойчив к лиофилизации и действию панкреатической РНКазы, относится к полипептидам или полинуклеотидам. Имеется обоснованное мнение, что этот фактор представляет собой молекулы двухспиральной РНК, которые, как известно, устойчивы к действию РНКазы. Последнее дает возможность предположить, что он представляет собой информационную молекулу или дерепрессор. Это весьма правдоподобно, поскольку малые количества фактора переноса, введенные в организм, весьма эффективны.

В настоящее время делаются попытки использовать фактор переноса для лечения опухолей и заболеваний, обусловленных врожденной дефектностью функционирования Т-системы иммунитета (например, синдромы Вискотта-Олдрича, ИДС с атаксией — телеангиэктазией, см. главу XVI). Возможно, этот фактор будет использован при лечении некоторых инфекционных заболеваний бактериальной, грибковой и вирусной этиологии, иммунитет против которых определяется

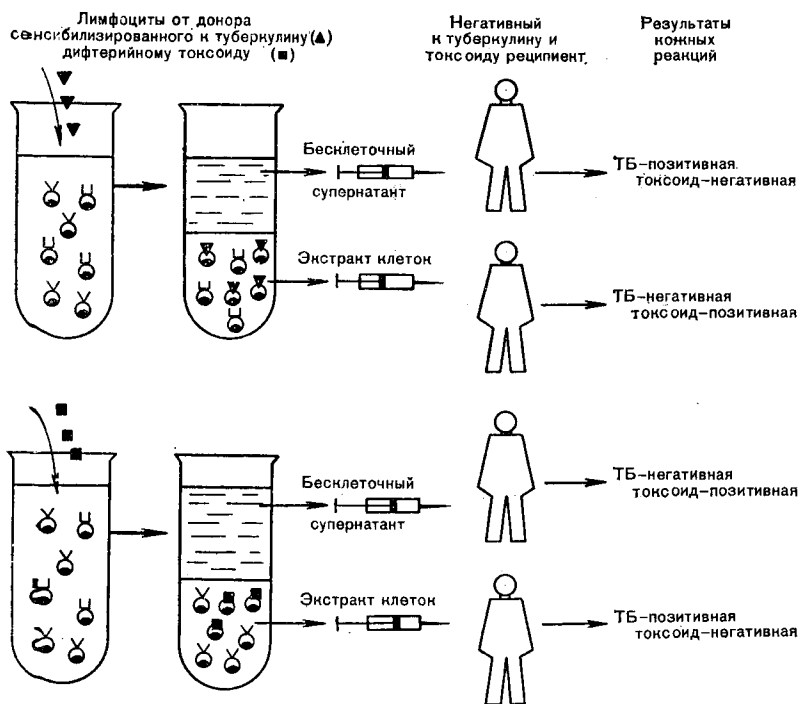


Рис. 60. Выявление фактора переноса и его специфичности.

в основном Т-системой лимфоцитов. Имеются попытки лечения лепры.

Подобрать доноров для получения фактора переноса с условием того, что они специфически иммунны против определенного возбудителя или против данной опухоли, чаще всего невозможно. Вот почему в качестве фактора переноса нередко используют препарат, полученный по соответствующей методике из лейкоцитов здоровых доноров. Предполагается, что среди лейкоцитов есть и такие, которые сенсibilизированы против нужных в данной ситуации антигенов. Такие препараты также называют фактором переноса, хотя это и не совсем правильно. Это скорее совокупность факторов переноса.

Фактор, подавляющий миграцию макрофагов (МИФ)

В 1932 г. А. Рич и М. Люис обратили внимание на то, что миграция клеток из кусочков ткани сенсibilизированных доноров в культуре *in vitro* затрудняется при добавлении в окружающую среду специфического антигена.

Рис. 61. Миграция макрофагов (а) и ее подавление (б).



Дж. Дэвид и соавт. (1964) разработали более точный метод: в культуральную ячейку помещают капилляр, заполненный перитонеальными клетками, мигрирующими из него по стеклу в окружающую питательную среду. По площади, занятой мигрирующими клетками, количественно оценивают степень миграции. Если в капилляре находились макрофаги

туберкулинположительных доноров и в ячейку добавляли туберкулин, то миграция макрофагов резко угнеталась (рис. 61). Удаление примеси лимфоцитов из взвеси макрофагов отменяло угнетение миграции. Очищенная взвесь сенсibilизированных лимфоцитов в присутствии антигена угнетала миграцию нормальных, несенсибилизированных макрофагов. Для угнетения миграции нормальных макрофагов достаточно добавить 1% сенсibilизированных лимфоцитов. Таким образом, лимфоцит специфически взаимодействует с антигеном, а макрофаг служит как бы индикаторной клеткой, выявляющей фактор подавления миграции, который выделяют сенсibilизированные лимфоциты под влиянием антигена. Наличие растворимого фактора было доказано в опытах, в которых миграция нормальных макрофагов угнеталась при добавлении в камеру не лимфоцитов, а надосадочной жидкости от сенсibilизированных лимфоцитов, инкубированных с антигеном. Этот фактор был назван MIF (Migration Inhibitory factor).

Имеются сведения о том, что MIF действует на макрофаги, прикрепляясь к определенным рецепторам, находящимся на поверхности макрофагов. Поскольку повторные отмывания макрофагов, прогревание до 56°C в течение 30 мин и обработка ЭДТА не приводят к элюированию фактора, предполагают, что рецепторы для MIF отличаются от рецепторов для антител.

Эксперименты с использованием ингибиторов синтеза белка и РНК свидетельствуют о том что ингибция белкового синтеза подавляет выработку MIF. Показано, что MIF обнаруживается уже через 6 ч после контакта лимфоцитов с антигеном. Его продукция продолжается в течение 4 дней культивирования лимфоцитов с антигеном.

Попытки подавить миграцию человеческих, мышинных или кроличьих перитонеальных макрофагов фактором, выделенным из лимфоцитов морской свинки, оказались безуспешными. Однако надосадочная жидкость от сенсibilизированных лимфоцитов периферической крови человека, стимулированных антигеном, угнетает миграцию макрофагов морской свинки. Правда, для получения значительного эффекта ее нужно сконцентрировать в несколько раз. Таким образом, видоспецифичность фактора, угнетающего миграцию макрофагов, не абсолютна. На этом основана оценка способности лимфоцитов человека вырабатывать MIF; методика предусматривает использование макрофагов морской свинки. При этом оценивается наличие сенсibilизированных к данному антигену Т-лимфоцитов.

Имеются сообщения о том, что вещество, способное угнетать миграцию макрофагов, выявляется не только при специфической стимуляции сенсibilизированных лимфоцитов, но

и при их неспецифической стимуляции конканавалином А или стафилококковым энтеротоксином. Однако большинство исследователей считает, что выделение фактора, угнетающего миграцию макрофагов, наиболее активно происходит при стимуляции сенсibilизированных лимфоцитов специфическим антигеном. В молекуле MIF содержатся полипептидные цепи с дисульфидными группами, которые определяют конфигурацию молекулы и цитофильную активность. Выявлены два типа молекул, обладающих активностью MIF, в области молекулярной массы 50 000—80 000 и 12 000—25 000. Наиболее активная фракция элюируется в области альбуминов или α -глобулинов. Фактор, угнетающий миграцию макрофагов, является гликопротеидом.

Надосадочная жидкость от сенсibilизированных лимфоцитов, содержащая MIF, активна еще в одном отношении — способна склеивать макрофаги. Фактор, ответственный за этот эффект, описали С. Лолеха и соавт. (1970) и назвали его MAF (Macrophage Aggregation Factor). По своим свойствам эта субстанция во многом напоминает фактор, угнетающий миграцию макрофагов, однако описавшие его авторы предполагают самостоятельное существование агрегирующего фактора.

Продукция MIF и MAF лимфоцитами от сенсibilизированного донора после стимуляции клеток антигеном *in vitro* очень точно коррелирует со степенью сенсibilизированности донора. Вот почему интенсивность продукции MIF лимфоцитами служит ценным показателем наличия и выраженности состояния сенсibilизированности замедленного типа к тому или иному антигену у больных.

Гормоны вилочковой железы

В отличие от прочих гуморальных факторов, выделяемых Т-лимфоцитами под влиянием антигенов или неспецифических митогенов, гуморальные факторы вилочковой железы (и костного мозга) вырабатываются в центральных органах иммунной системы, не требуя антигенной или митогенной стимуляции. Они определяют активность Т- и В-лимфоцитов и перспективны в отношении клинического применения при лечении иммунодефицитных состояний.

Гормоны вилочковой железы привлекали внимание исследователей еще задолго до открытия роли Т- и В-лимфоцитов в иммунных реакциях. Было замечено, что тимусные экстракты обладают разнообразной биологической активностью, в частности обеспечивают устранение некоторых форм иммунодефицитов. После обоснования наличия Т- и В-системы иммунитета было установлено, что тимические гормоны способствуют созреванию Т-лимфоцитов. Выделенные разными ав-

Таблица 20

Тимические гормоны, описанные разными авторами

Название гормона, источник	Химическая природа, молекулярная масса, дальтон	Экспрессия Т-маркеров	Отмена вазингсиндрома	Т-функции у бестимусных мышей	Стимуляция синтеза ДНК	Противоопухольный эффект
Тимозин-фракция 5 (Голдштейн А, 1975)	Полипептиды 1200—14 000	+	+	+	+	+
Тимопозтин (Голдштейн Г., 1974)	Полипептид* 5561	+	?	?	—	+
Тимусный фактор крови (Бах Дж. 1978)	Нанопептид 900	+	?	+	—	+
Тимарин (Морозов Ю. И. 1977)	Полипептиды 2000—3000	?	?	+	?	?
Активный фактор вилочковой железы АФТ-6 (Арион В. Я. 1977)	Полипептиды 1500—6000	+	?	+	+	+

Условные обозначения: + появление признака; (—) — отсутствие влияния; ? не исследовано. * 49 аминокислотных остатков.

торами активные фракции вилочковой железы изучались в различных тест-системах. В табл. 20 приведены некоторые биологические свойства нескольких таких препаратов. Как видно из табл. 20, тимические гормоны повышают экспрессию специфических маркеров на поверхности Т-лимфоцитов, препятствуют развитию вастинг-синдрома, восстанавливают реакции клеточного иммунитета у бестимусных мышей, оказывают противоопухолевое действие. Сейчас не только опре-

Таблица 21

Аналоги тимического фактора крови: локализация биологической активности

Последовательность аминокислот	Биологическая активность
N-конец цепи	
Глу-Ала-Лиз-Сер-Гли-Глу-Глу-Сер-Асп-Гли	+
Ала	+
Лиз	+
Сер	—
C-конец цепи	
Глу-Ала-Лиз-Сер-Гли-Глу-Глу-Сер-Асп-Сер-Асп-Ала-Гли	+
Сер	—
Асп	—
Ала	—
Гли	—

делена молекулярная масса различных тимусных факторов, но и установлена последовательность аминокислот, входящих в состав некоторых из них. Так, при изучении тимусного фактора крови (FTS) Дж. Бах и соавт. (1978) смогли синтезировать отдельные аналоги с измененными N- или C-концами цепи (табл. 21). Изучение биологических свойств этих аналогов показало, что активность FTS локализуется в C-концевой части молекулы.

Стимулятор антителопродукторов (САП)

До последнего времени не было известно гормонов или медиаторов, которые обеспечивали бы нормальное «созревание» В-системы иммунитета. Не известен пока точно и орган, в котором происходит становление В-лимфоцитов у млекопитающих. Предполагается, что таким органом является костный мозг. В связи с этим представляет большой интерес описанный в самые последние годы новый класс медиаторов, вырабатываемых костномозговыми клетками.

Первый медиатор этого типа — САП — обнаружен Р. В. Петровым и А. А. Михайловой (1975). Установлено, что этот гуморальный фактор вырабатывается в костном мозге, активность его направлена на эффекторные клетки В-серии — на продуценты антител. Будучи введенным в продуктивную фазе антителогенеза в культуру антителообразующих клеток или в организм животного, САП трехкратно увеличивает накопление антителопродукторов и антител. Фракция, содержащая САП, выделяется из надосадочной жидкости, полученной от культуры клеток костного мозга. После 22 ч культивирования клетки осаждаются центрифугированием, а надосадочная жидкость концентрируется и наносится на колонку с сефадексом G-50. Активная фракция элюируется в области выхода цитохрома С с молекулярной массой 13 000 дальтон. Выход препарата составляет около 10 мг на 10^9 клеток костного мозга.

В табл. 22 детализированы свойства гуморального фактора костного мозга — САП. Данный фактор вырабатывается *de novo* живыми, активно метаболизирующими клетками костного мозга при отсутствии антигенной или митогенной стимуляции. Он термостабилен, выдерживает нагревание до 80°C в течение 30 мин. Обработка активной фракции проназой или РНКазой отменяет ее стимулирующий эффект. Методом ингибиторного анализа показано, что продукция САП подавляется ингибиторами синтеза белка (например, циклогексимидом) и РНК — актиномицином D, но не подавляется ингибитором синтеза ДНК — митомицином С. Эти данные позволяют сделать вывод о рибонуклеопротеидной природе САП, что подтверждается включением в активную фракцию ами-

Таблица 22

Свойства гуморального фактора костного мозга — САП

Функциональная активность	Усиливает продукцию антител на пике иммунного ответа
Условия выработки	Вырабатывается клетками костного мозга при отсутствии антигенной или митогенной стимуляции
Термостабильность	Устойчив при нагревании до 80°C в течение 30 мин
Чувствительность к ферментам и ингибиторам синтеза белка РНК и ДНК	Разрушается РНКазой и проназой. Продукция подавляется циклогексимидом, актиномицином D, но не митомичином С
Химическая природа и молекулярная масса	Белок с нуклеиновым компонентом, молекулярная масса 1300 дальтон
Изоэлектрическая точка	pH 4,8—7,5
Условия действия	Оказывает стимулирующее действие в культуре <i>in vitro</i> и в системе <i>in vivo</i>
Барьер гистосовместимости	Действует вне зависимости от аллогенного и ксеногенного барьера гистосовместимости

нокислотной и уридиновой радиоактивных меток. При изофокусировании полученный препарат делят на шесть фракций. Его изоэлектрическая точка находится в пределах pH 4,8—7,5.

Важной особенностью медиатора является отсутствие видовой специфичности. Фактор действует при наличии аллогенного или ксеногенного барьера гистосовместимости. Фракции, выделенные из надосадочной жидкости культур клеток костного мозга кур, крыс, телят, поросят или мышей разных линий, обладали одинаковой стимулирующей активностью.

Последние два свойства — действие в системе *in vivo* и отсутствие видовой специфичности, делают данный медиатор перспективным для использования в клинике при необходимости стимуляции В-системы иммунитета. Будучи стимулятором антителопродукции биологического происхождения, данный препарат может оказаться эффективным средством для повышения эффективности вакцинаций, при лечении хронических инфекций, аллергий и в ряде других случаев, требующих стимуляции антителообразования в продуктивной фазе иммунного ответа.

Исследования механизма действия САП показали, что увеличение количества антителопродуцентов происходит за счет включения «молчащей» популяции плазматических клеток.

На основании изложенных данных роль этого медиатора уподобляется роли тимического гормона, только она направ-

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ

Иммунологическая толерантность — специфичная иммунологическая неотвечаемость, представляет собой явление, обратное иммунному ответу, и является основой для понимания того, почему иммунная система в норме не развивает иммунный ответ против антигенов собственного организма. Строго говоря, иммунная система организма находится в состоянии толерантности по отношению к антигенам клеток и тканей данного организма, т. е. к «своему». Вместе с тем очень малые количества антител против многих аутоантигенов обнаруживаются в крови практически всех здоровых индивидуумов. Последнее дает возможность предполагать, что клетки, способные вырабатывать аутоантитела, в организме есть, но их или очень мало, или их активность супрессирована. Эти два предположения отражают две основные группы гипотез, объясняющих сущность иммунологической толерантности. В соответствии с первой, предложенной Ф. Бернетом (1957), иммунологическая толерантность — это отсутствие клона клеток, способных распознавать данный антиген; если подобные клетки возникают, они элиминируются избытком циркулирующего в организме аутоантигена. В соответствии со второй группой гипотез лимфоциты, способные развивать иммунный ответ против субстанций собственного тела, есть так же, как и против любых экзогенных антигенов. Однако они или «ослеплены» (блокированы) избытком аутоантигенов, или их реагирование сдерживается специальными клетками-супрессорами, в частности Т-супрессорами.

«Срыв» толерантности по отношению к тому или иному аутоантигену представляет собой ту или иную форму аутоиммунного заболевания (см. главу XVII).

Открытие толерантности

В 1945 г. Р. Оуэн изучал дизиготных телят-двоен. В отличие от монозиготных близнецов эти организмы генетически отличались друг от друга, в том числе и по группам крови. У части эмбрионов происходило сращение плацент, и они обменивались кровью во время внутриутробного развития. У таких телят после рождения и в течение всей последующей жизни в крови циркулировали эритроциты обоих животных. Иначе говоря, какая-то порция эритроцитов группы крови первого теленка постоянно воспроизводилась и циркулировала в кровяном русле второго теленка. Р. Оуэн назвал это явление эритроцитарной мозаикой. Теперь мы знаем, что он

наблюдал иммунологическую толерантность, но описано это было как частное явление, обозначенное эритроцитарным мозаицизмом. Такие телята не реагируют иммунологически на антигены друг друга, между ними возможны успешные пересадки кожных лоскутов.

Датой открытия принципиально нового для иммунологии явления считается 1953 г. До этого знали, что взрослый организм на внедрение чужеродных антигенов реагирует выработкой активного иммунитета, направленного на отторжение этих антигенов. В 1953 г. стало известно, что эмбрионы на внедрение антигенов реагируют противоположно: развивающийся из них организм теряет после рождения способность отвечать выработкой антител на данные антигены и активно отторгать их. Это открытие, начавшее эру преодоления иммунологической несовместимости тканей при пересадках, связано с именами М. Гашека (1953), П. Медавара и сотр. [Биллингхем Р., Брент Л., Медавар П., 1953].

Основным методическим приемом Гашека был эмбриональный парабиоз развивающихся зародышей птиц, различающихся по изоантигенам. Этот процесс заканчивался вместе с вылуплением цыплят.

Вследствие парабиоза взятые в опыт особи приобретали взаимную толерантность. При последующем внутривенном введении им эритроцитов друг друга не происходило выработки антител и иммунной элиминации клеток. У животных приживали кожные трансплантаты партнера по парабиозу. В то же время эритроциты других доноров нормально стимулировали антителогенез и элиминировались из крови; аллогенные кожные лоскуты от посторонних особей отторгались в течение 10—11 дней.

Р. Биллингхем, Л. Брент, П. Медавар (1953) руководствовались теоретическим предсказанием Ф. Бернета и И. Феннера (1949), в соответствии с которым иммунная система признает «своими» антигены, контактировавшие с ней в период эмбрионального развития. Феномен иммунологической толерантности был воспроизведен на мышах двух линий. Если, например, селезеночные клетки животных линии СВА (локус гистосовместимости Н-2^а) ввести взрослым мышам линии А (локус Н-2^а), то эти клетки не приживут и будут разрушены, а в организме животных линии А впоследствии будет разрушаться любой трансплантат от животных СВА с большей скоростью по типу вторичного иммунологического ответа. Если же эти клетки от мышей СВА ввести эмбрионам А, то они приживут, а родившиеся и выросшие животные линии А не будут обладать способностью отторгать трансплантаты от доноров СВА. Кожные лоскуты, кроветворные ткани и т. д. от мышей линии СВА будут приживать так же, как ауто трансплантаты. Трансплантаты от доноров других

линий (СЗН, С57ВL и т. д.) будут отторгаться как обычно. Таким образом, иммунологическая толерантность представляет собой состояние ареактивности по отношению к субстанциям, которые в обычных условиях вызывают развитие иммунологической реакции. Это состояние характеризуется следующими основными признаками:

— индукция иммунологической толерантности осуществляется под влиянием субстанций антигенной природы;

— толерантность иммунологически специфична, т. е. распространяется только на те антигены, которыми индуцирована. По отношению к прочим антигенам толерантный организм отвечает выработкой антител и другими иммунологическими реакциями;

— иммунологическая толерантность не представляет собой реакцию «все или ничего», возможны различные степени развития феномена. Толерантность считается высоковыраженной, если кожные трансплантаты от соответствующего донора живут более 100 дней, частичной — 60—90 дней и слабовыраженной — менее 60 дней.

Факторы, обуславливающие толерантность

Решающими факторами при создании иммунологической толерантности являются период жизни, во время которого организм подвергается антигенному воздействию, характер используемого антигена, его доза и длительность пребывания антигенного раздражителя в организме.

Адаптивный период. Исследования показали, что у большинства млекопитающих и птиц состояние иммунологической толерантности может быть индуцировано не только в период их эмбрионального развития, но и в течение некоторого времени постнатальной жизни. Период, на протяжении которого наиболее успешно может быть создана толерантность, М. Гашек назвал адаптивным. У некоторых животных, например у овец и кроликов, адаптивный период заканчивается до рождения. Период индуцирования толерантности к гомотрансплантатам у кроликов заканчивается к 22—24-му дню эмбриогенеза. У мышей, крыс, собак, кур, индюшек, уток адаптивный период продолжается в течение нескольких дней после рождения: 1—2 дня у мышей, кур, индюшек, 2—5 дней и более у крыс, собак, уток.

Необходимо подчеркнуть, что понятие адаптивного периода весьма относительно. Далее будет показано, что с увеличением дозы антигена этот период может быть продлен неопределенно. Кроме того, существует ряд специальных приемов создания толерантности во взрослом состоянии.

Степень чужеродности трансплантата. Накоплен большой опыт создания толерантности по отношению к тканям с раз-

ной степенью генетической чужеродности. В общей форме установлено, что чем больше генетических различий между реципиентом и трансплантатом, тем труднее создать толерантность. Введение эмбрионам клеток другого зоологического вида или эмбриональный парабиоз между различными в видовом отношении особями не обеспечивают возникновения толерантности или развивающаяся толерантность характеризуется слабой выраженностью и краткой продолжительностью. Выраженную продолжительную толерантность удается получить в некоторых случаях только между филогенетически родственными видами. Можно, например, вызвать толерантность у индюшки по отношению к коже курицы — партнера по эмбриональному парабиозу. Кожный лоскут оказывается жизнеспособным в течение 3 мес. В большинстве опытов по созданию межвидовой толерантности она проявляется лишь в удлинении на несколько дней продолжительности жизни кожных трансплантатов от доноров клеток.

При создании толерантности по отношению к клеткам и тканям животных того же вида, отличающимся по изоантигенам, основное правило сохраняется: толерантность возникает тем легче, чем больше степень родства между донором и реципиентом. Ведущее значение в этом имеют различия по трансплантационным антигенам. Наиболее эффективное создание толерантности происходит в отношении тканей мышей, отличающихся по слабым локусам гистосовместимости. Принципиально то же правило справедливо при создании толерантности к неразмножающимся (см. ниже) антигенам: чем менее иммуногенен антигенный препарат, тем он более толерогенен. Например, по отношению к бычьему сывороточному альбумину толерантность создать легче, чем по отношению к эритроцитам барана.

Состояние толерантности, создаваемое неонатальными инъекциями растворимых антигенов или не способных к пролиферации клеток, кроме того, что оно в большинстве случаев относится к категории частичной, а не полной толерантности, характеризуется непродолжительностью. Так, у мышей по отношению к различным сывороточным гетероальбуминам толерантность сохраняется до 4—6 нед, к γ -глобулинам — до 8—12 нед. У крыс по отношению к мышинным эритроцитам некоторая степень толерантности сохранялась в течение 16 нед. Состояние толерантности у цыплят леггорнов по отношению к гетерологичным эритроцитам длилось 25—50 дней, по отношению к гомологичным — до 4 мес, а в некоторых случаях — до 7 мес.

Значение дозы и длительности циркуляции антигена. Зависимость возникновения толерантности и степени ее выраженности от количества клеток, введенных новорожденным жи-

вотным, многократно подтверждена. Так, при введении мышатам линии А селезеночных клеток от мышей (СВА×А) F₁ имеет место следующая дозовая зависимость: 1×10^6 клеток на 1 г массы тела обеспечивают толерантность к кожному аллотрансплантату не более чем у 25% мышей, $2,5 \times 10^6$ у 75%, 5×10^6 у 100%. Аналогичная зависимость существует и в отношении растворимых антигенов, а также не способных к пролиферации клеток. Вместе с тем следует иметь в виду существование так называемой низкодозовой толерантности (см. ниже).

Полнота и продолжительность толерантности, возникшей при эмбриональном парабриозе или в результате инъекции кровестворных тканей, связаны с тем, что генетически отличающиеся клетки приживаются, дают клоны, являющиеся постоянным источником антигенного стимулирования.

Необходимость постоянного присутствия антигена для поддержания состояния толерантности четко демонстрируется также опытами с растворимыми антигенами и непродливающимися клетками. Состояние толерантности к чужеродным белкам или эритроцитам продолжается до тех пор, пока в организме реципиента сохраняется данный антиген. Это состояние может быть продлено путем повторных инъекций антигена. После прекращения инъекций толерантность исчезает вместе с исчезновением антигена.

Поливалентная и расщепленная толерантность. Иммунологическая толерантность возникает на все (или большинство) вводимые антигенные комплексы. Это дало возможность подсчитать и экспериментально подтвердить (в опытах на мышцах, крысах, кроликах), что для создания толерантности к тканям большинства особей неинбредной популяции того или иного вида млекопитающих необходимо ввести новорожденным индуцирующие клеточные суспензии в виде смеси от нескольких десятков случайных доноров. Так, при инъекции нелинейным крысятам в возрасте 1 сут смеси селезеночных клеток от 50—60 взрослых нелинейных крыс пересадки через 3 мес дали следующие результаты: у 6 из 10 животных кожные аллотрансплантаты жили более 80 дней, почка прижила в 9 из 30, а надпочечники в 10 из 10 случаев [Колдовски П., 1961]. Этот вид толерантности получил название поливалентной, поскольку он распространяется на большинство антигенов гистосовместимости данного вида животных.

Противоположная ситуация возникает, когда толерантность индуцируется не ко всем клеточным антигенам донорского генотипа. Описана толерантность к эритроцитам донора при отсутствии толерантности в отношении кожных трансплантатов. При такой расщепленной толерантности кожные лоскуты отторгаются. Обратный вариант расщепленной толерантности известен в отношении хлорида пикриновой кислоты.

Это вещество, как известно, стимулирует развитие кожной гиперчувствительности замедленного типа (см. главу IV). В опытах Е. Синадера (1974) получена иммунологическая толерантность к данному гаптену в виде отсутствия клеточной гиперчувствительности, но с сохранением способности синтезировать гуморальные антитела. Эти примеры очень важны, поскольку они впервые в данной главе ставят вопрос о том, что В-система иммунитета (выработка антител) может находиться в состоянии толерантности, а Т-система (отторжение трансплантата) — нет и наоборот.

Адоптивный перенос толерантности. Показано, что перенос клеток от толерантных животных в другой организм не отменяет их толерантного состояния.

К. Мартинец (1961) переносил от толерантных (с прижившей донорской кожей) мышей 5 млн. селезеночных клеток новорожденным сингенным мышам. В 2-месячном возрасте реципиентам пересаживали кожу от мышей, к тканям которых были толерантны доноры селезеночных клеток. В 19 из 28 случаев наблюдался перенос состояния толерантности. В течение многих лет данные К. Мартинца расценивались не более как доказательство того, что толерантная популяция лимфоидных клеток, перенесенная в другой организм, остается толерантной. При этом подразумевалось, что лимфоидная система растущего реципиента также становится толерантной за счет клеточного химеризма инокула. Однако уже тогда возможно было предположение, которого никто не сделал, а именно, что состояние иммунологической неотвечаемости активно «наводится» посредством неких супрессирующих клеток. Лишь в 1973 г. впервые было показано наличие Т-клеток супрессоров, ответственных за развитие толерантности (см. далее).

Индукция толерантности во взрослом состоянии

Иммунологический паралич. Л. Фелтон (1949) описал феномен иммунологической неотвечаемости по отношению к пневмококкам у мышей, которая возникала после инъекции им большого количества пневмококкового полисахарида. Если мышам вводить 0,5 мкг полисахарида, развивается иммунное состояние к последующему заражению микробами, если же вводить 500 мкг, то развития иммунитета не происходит, а возникает полная ареактивность по отношению к пневмококкам и зараженные после этого животные погибают. Этот феномен получил название иммунологического паралича. Он специфичен, зависит от дозы антигена и продолжается до тех пор, пока антиген персистирует в организме. В дальнейшем оказалось, что иммунологический паралич возникает и после введения животным больших доз раствори-

мых белков: у мышей угнетается выработка антител в ответ на последующую иммунизацию сывороточными белками (например, бычьим γ -глобулином после предварительной инъекции его в дозе 150—300 мг). Состояние иммунологического паралича сохраняется в течение 2—3 мес. Его можно продлить повторными инъекциями антигена.

Попытки создания иммунологического паралича к аллотрансплантатам у взрослых организмов при помощи «антигенной перегрузки» в определенных условиях дали положительный результат. Прежде всего было показано, что аллотрансплантация больших лоскутов кожи обеспечивает большую продолжительность их жизни, чем при пересадке малых лоскутов. Е. А. Зотиков (1964) одной группе крыс пересаживал кожный аллотрансплантат размером 2—6 см², другой — лоскуты величиной 30—60 см² от тех же доноров. У животных первой группы отторжение произошло в первые 14 дней, во второй группе 50% лоскутов жили в течение месяца и больше. Важное значение в проявлении эффекта больших лоскутов имеет степень генетического родства донора и реципиента. При малом генетическом родстве этот эффект может не проявиться.

Та или иная выраженность толерантности по отношению к кожным аллотрансплантатам может быть получена предварительным внутривенным или внутрибрюшинным введением реципиента большого количества селезеночных или лимфоидных клеток донорской природы.

Феномен Дрессера и низкодозовая толерантность

В 1962 г. было обнаружено, что сывороточные белки (альбумины или глобулины), освобожденные ультрацентрифугированием от молекулярных агрегатов, оказываются отличными толерогенами [Дрессер Д., 1962]. Раствор сывороточного альбумина, который при инъекции животным другого вида обеспечивал выраженную выработку антител, ультрацентрифугировали при 100 000 г. После такой обработки инъекция белка взрослым животным приводила к развитию иммунологической толерантности. Получаемый при центрифугировании осадок состоял из микроагрегатов альбумина. Его добавление к отцентрифугированному препарату снова превращало его из толерогена в иммуноген.

Эффект Дрессера был подтвержден в опытах с другими растворимыми белковыми антигенами. Им широко пользуются для создания толерантности в экспериментальных целях, в частности для изучения роли Т- и В-систем в развитии и поддержании этого состояния.

Создание толерантности с помощью дезагрегированных препаратов требует все-таки больших доз антигена, хотя они

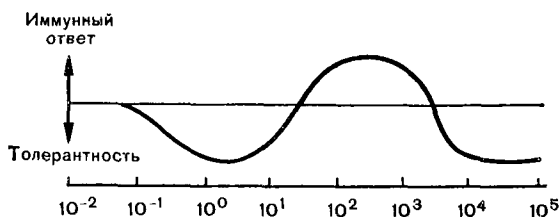


Рис. 63. Влияние на иммунный ответ предварительной обработки мышьяком сывороточным альбумином.

Обработка произведена в течение 4—8 нед (3 раза в неделю) до иммунизации. Дозы альбумина — 10^{-2} — 10^{-5} мг. Толерантность развивается при использовании доз, близких к 10 мг и больше 1000 мг на инъекцию.

в несколько десятков раз ниже, чем те количества, которые используются при индуцировании иммунологического паралича обычными препаратами. Дезагрегированный человеческий γ -глобулин индуцирует толерантность у мышей при однократной внутрибрюшинной инъекции в дозе 2,5—20 мг.

Выше говорилось, что при создании иммунологической толерантности у взрослых животных посредством «антигенной перегрузки» (иммунологический паралич, введение больших доз сывороточных белков или аллогенных клеток) наибольший эффект дает многократное введение больших доз антигенного материала. Эти исследования привели к обнаружению низкодозовой толерантности.

Н. Митчисон (1967), работая с дезагрегированным по методу Дрессера глобулином, установил, что многократное введение очень малых количеств антигена обеспечивает развитие толерантности столь же эффективно, как и введение очень больших доз. На рис. 63 приведена шкала доз антигена, при которых развиваются иммунный ответ, низкодозовая или высокодозовая толерантность.

Лекарственно-индуцированная толерантность

Некоторые препараты, относящиеся к иммунодепрессантам, оказались весьма эффективными средствами, содействующими индукции толерантности во взрослом состоянии.

Наибольшее распространение в опытах создания иммунологической толерантности у взрослых животных получили 6-меркаптопурин, имуран, аметоптерин, а в последние годы — циклофосфамид. Все эти препараты, подобно рентгеновскому облучению, сами по себе не создают толерантности. Под их влиянием лишь угнетается выработка антител или удлиняется период жизни трансплантата. Например, 14-дневная обработка мышьяком 6-меркаптопурином увеличивает продолжительность жизни аллогенных трансплантатов в $1\frac{1}{2}$ —2 раза.

Лекарственно-индуцированная толерантность возникает только в тех случаях, когда действие того или иного угнетающего иммунитет препарата сочетается с одним из описанных выше приемов создания толерантного состояния. Из многочисленных данных литературы можно привести следующие. Введение мышам линии СВА 6-меркаптопурина в течение 14 дней в сочетании с внутривенным введением на 2-й день 100—200 млн. селезеночных клеток от мышей линии СЗН обеспечивает впоследствии неопределенно долгое существование пересаженной кожи донорской природы. Введение амётоптерина мышам линии С57BL в сочетании с клетками селезенки от мышей (С57BL×DBA) F₁ также индуцирует толерантность: пересадка опухолей донорского происхождения заканчивается их приживлением и прогрессирующим ростом. Сочетание действия 6-меркаптопурина с тотальным кровезамещением донорской кровью в опытах на собаках обеспечивает развитие выраженной толерантности по отношению не только к кожному, но и к почечному трансплантату. Кожа от доноров крови живет до 3 мес вместо 10—12 дней, почки — более 2 мес.

Циклофосфамидом наиболее часто пользуются при индукции толерантности по отношению к чужеродным эритроцитам. Циклофосфамид в отличие от многих других иммунодепрессантов эффективен не до инъекции антигена, а после нее. У мышей по отношению к эритроцитам барана толерантность возникает наиболее успешно при введении циклофосфамида через 1—2 сут после эритроцитов. Обработанные мыши практически не реагируют на повторное введение эритроцитов барана при наличии выраженного ответа на эритроциты других видов животных. Эта модель толерантности очень удобна, поскольку с помощью эритроцитов весьма просто определять методом Эрне количество клеток, синтезирующих антитела, и их локализацию. Именно эта модель вместе с феноменом Дрессера послужила основой для расшифровки роли Т- и В-клеток в становлении и поддержании состояния иммунологической толерантности, а также для открытия Т-лимфоцитов-супрессоров.

Значение Т- и В-лимфоцитов в развитии толерантности

Изучение роли Т- и В-лимфоцитов в развитии толерантности началось с 1968 г., т. е. после выделения Т- и В-систем иммунитета. Можно отметить три последовательных этапа в познании их роли.

На первом этапе в основном изучалось наличие или отсутствие толерантности в популяциях Т- или В-лимфоцитов, изъятых от толерантных животных. Толерантность к эритроцитам

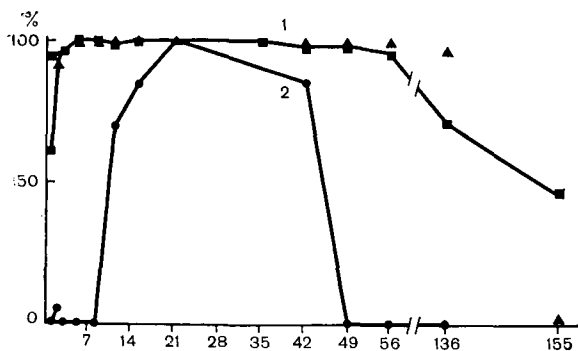


Рис. 64. Динамика развития толерантности в популяциях Т(1) и В(2) лимфоцитов.

По оси абсцисс — время после введения толерогена, по оси ординат — аре активность.

барана создавали с помощью сочетанного введения мышам циклофосамида и эритроцитов. Оказалось, что В-клетки от толерантных животных, смешанные с Т-клетками от нормальных, дают нормальный иммунный ответ в культуре *in vivo*. Фактически были получены данные в пользу того, что состояние иммунологической толерантности определяется Т-лимфоцитами. Однако этот вывод не был сделан, поскольку становление толерантности в популяциях Т- и В-лимфоцитов происходит не одновременно (рис. 64): Т-лимфоциты гораздо раньше оказываются толерантными [Вейгл У. и др., 1971]. Для В-лимфоцитов этот процесс характеризуется большей длительностью. Именно поэтому в определенные интервалы времени В-клетки, выделенные от толерантных животных, ведут себя как интактные, способные давать иммунный ответ. Следует отметить, что Т-клетки не только быстрее развивают толерантность, но и при более низких дозах антигена.

В 1971 г. описанная закономерность была твердо установлена. Считалось, что для становления толерантности необходимо участие обеих систем иммунитета — Т и В. Они совместно участвуют в выработке толерантности. В отношении тимуснезависимых антигенов, таких, как пневмококковый полисахарид, иммунологическая толерантность в течение всего времени целиком зависит от В-клеточной толерантности.

Второй этап изучения данной проблемы связан в основном с серией работ лаборатории Б. Синадера. Толерантность создавали введением мышам дезагрегированного γ -глобулина человека. Было установлено, что периферические (селезеночные) Т-лимфоциты становятся толерантными быстрее, чем тимоциты. Они раньше утрачивают способность выступать в роли клеток-помощников, включающих В-лимфоциты в антителогенез. Далее оказалось, что В-клетки для этого процесса

не требуются: толерантность Т-лимфоцитов возникает даже в организме летально облученных мышей, репопулированных тимоцитами. Стволовые клетки костного мозга толерантных животных нетолерантны и дают в результате размножения начало совокупности нормальных нетолерантных В-лимфоцитов. Этот вывод принципиален, так как объясняет необходимость персистенции антигена для поддержания состояния толерантности. Кроме того, возникает вопрос, не являются ли Т-лимфоциты постоянными «диктующими» клетками? Действительно, коль скоро быстро обновляемый пул В-лимфоцитов каждое мгновение получает из стволовых клеток нетолерантные формы, а становление толерантности требует времени, «кто-то» должен быстро вводить их в состояние неотвечаемости.

Ответ на этот вопрос и ознаменовал третий этап изучения проблемы. Опытами лаборатории Дж. Миллер (1974) доказано наличие при иммунологической толерантности Т-супрессоров. Вместо включения В-клеток в антителогенез Т-супрессоры блокируют этот процесс.

Клетки-супрессоры были обнаружены следующим образом. При помещении в культуру *in vivo* селезеночных клеток от интактных мышей вместе с эритроцитами барана происходит активная выработка антител, поскольку в селезенке имеются оба типа лимфоцитов. Добавление к этой смеси Т-лимфоцитов от интактных животных существенно не влияет на накопление антителопродуцентов. Резко угнетает его добавление Т-клеток от толерантных животных. Явление специфично: доноры Т-клеток должны быть толерантными именно к эритроцитам барана (в данном случае).

Таким образом, определенные формы иммунологической толерантности не есть отсутствие реагирующих на данный антиген клеток. Это активное состояние, обеспечиваемое лимфоцитами-супрессорами.

В настоящее время выделяют Т-клеточную и В-клеточную толерантность. По-видимому, все феномены иммунологической толерантности по отношению к тимусзависимым антигенам, включая низкодозовую толерантность и толерантность под влиянием дезагрегированных сывороточных белков, связаны не с элиминацией клона соответствующих Т-помощников, а с активностью Т-супрессоров. Толерантность В-клеток развивается вследствие их инактивации в результате взаимодействия антигена с иммуноглобулиновыми рецепторами. При этом показано, что В-лимфоциты новорожденных животных весьма быстро инактивируются. После комплексования антигена с их иммуноглобулиновыми рецепторами и формирования «папочки» (см. с. 106), рецепторы не регенерируют. В-лимфоциты взрослых особей восстанавливают свои Ig-рецепторы. Для их инактивации требуются большие дозы анти-

гена. По-видимому, толерантность, индуцируемая у эмбрионов или новорожденных, связана с элиминацией соответствующих клонов В-лимфоцитов, а исчезновение толерантности — с наработкой данных клонов из стволовых клеток.

В-клеточная толерантность относительно легко развивается при использовании тимуснезависимых антигенов или при использовании гаптенов, связанных с неиммуногенным носителем, который не включает Т-клетки-помощники, например с аутологичным иммуноглобулином. По-видимому, прямой контакт антигена с В-клетками при отсутствии Т-помощников усиливает его толерогенность.

Т-супрессоры, ответственные за развитие толерантности, характеризуются фенотипом $Lyt-1-2+3+$ и дифференцируются из предшественников фенотипа $Lyt-1+2+3+$. Они отличаются от цитолитических Т-клеток-киллеров, которые несут такой же фенотип, тем, что на них экспрессируются антигены, кодируемые субобластью I-J (см. главу 8).

Помимо указанных выше форм иммунологической толерантности (низкодозовая и обусловленная дезагрегированными белками), при которых, бесспорно, доказана определяющая роль T_s , клетки-супрессоры ответственны за развитие феномена Шульцбергера—Чейза. Этот феномен состоит в отмене контактной гиперчувствительности к динитрохлорбензолу с помощью внутривенного введения данного гаптена. После такого введения развивается толерантность по отношению к динитрохлорбензолу; контактная гиперчувствительность не возникает; состояние толерантности может быть перенесено интактным мышам Т-лимфоцитами-супрессорами.

Предполагается, что Т-супрессоры особенно эффективно продуцируются в тех случаях, когда антиген минует фазу обработки макрофагами, которые подают его Т-помощникам. Если этого нет, то супрессоры продуцируются как следствие механизма обратной связи после стимуляции Т-помощников. По-видимому, Т-помощники ($Lyt-1+2-3-$) стимулируют прекурсоры ($Lyt-1+2+3+$) к дифференцировке в Т-супрессоры ($Lyt-1-2+3+$). Не исключено, что с помощью данного типа обратной связи выключается иммунный ответ. В главе VII указывалось, что T_s блокируют T_H , пролиферацию В-лимфоцитов и даже секрецию иммуноглобулинов плазматическими клетками. Они могут блокировать и Т-эффекторы.

Роль генотипа в индукции толерантности

По-видимому, впервые роль генотипа при индукции иммунологической толерантности была подмечена в 1967 г. И. Н. Головистиковым. Он создавал толерантность у взрослых крыс породы (неинбредной) Вистар путем многократного введения кроветворных клеток от мышей линии СВА. Внутри-

венные введения делали 2 раза в неделю. Иммуный ответ, а затем толерантность тестировали путем систематического определения у животных титров агглютининов против мышинных лимфоидных клеток. Отмечено наличие двух групп животных: у одной толерантное состояние развивалось относительно легко (через 10—15 нед), у животных другой группы, резистентных, толерантность даже через 30 нед не развивалась.

Систематические исследования роли генотипа в развитии толерантности были начаты в 1973 г. (Дж. Розе, Б. Цинадер) после опубликования работы «Генетический контроль тенденции к перекрестной утрате толерантности». В этой работе был использован тот факт, что при иммунизации толерантных животных антигеном, структурно родственном толерогену, у некоторых животных вырабатываются антитела, взаимодействующие с толерогеном.

У крольчат индуцировали толерантность путем двукратного (через 12 и 48 ч после рождения) внутрибрюшинного введения 20 мг человеческого сывороточного альбумина (ЧСА). В возрасте 1½—2 мес животных иммунизировали дериватом ЧСА, несущим п-азобензолсульфоновую кислоту (ДЧСА). У 42% кроликов была зарегистрирована выработка антител к ДЧСА. У остальных отмены толерантности не произошло. После этого произвели скрещивания внутри обеих групп животных. То же было сделано со вторым поколением кроликов. Селекция привела к тому, что после двух генераций «срыв» толерантности к ДЧСА происходил уже не у 42%, а у 70% животных. Скрещивание толерантоустойчивых особей в трех поколениях давало потомство, у которого толерантность к ЧСА не «срывалась» иммунизацией ДЧСА. Обратные скрещивания показали, что генетический контроль способности к «срыву» толерантности к структурно-родственным антигенам носит доминантный, полигенный аутосомный характер.

Дальнейшие исследования на инбредных мышах выявили межлинейные различия в индуцибельности состояния толерантности. Опыты были проведены с дезагрегированным кроличьим γ -глобулином. Наиболее индуцибельными оказались мыши линии АКР (H-2^k), наиболее резистентными к установлению толерантности — мыши линии BALB/c (H-2^d) и особенно SJL (H-2^s). Мыши линии А (H-2^a), СВА (H-2^k), С57BL (H-2^b), DBA/2 (H-2^d) и некоторые другие занимают в отношении данного антигена промежуточное положение.

Мыши генотипа SJL оказались наиболее резистентными и при индукции толерантности к бычьему сывороточному альбумину и человеческому γ -глобулину. Однако в отношении эритроцитов барана при использовании циклофосфида (см. выше) эти мыши вели себя аналогично мышам линий А и СВА.

Генетический анализ резистентности линии SJL в отношении индукции толерантности к кроличьему γ -глобулину показал, что она носит рецессивный полигенный характер. Следует заметить, что стимуляция Т-супрессоров по отношению к определенным синтетическим антигенам узкой специфичности (GAT и GT) контролируется комплексом H-2 подобно тому, как контролируется высота иммунного ответа Ig-генами (см. главу XII).

Отмена толерантности

Процесс спонтанной утраты толерантности проходит три этапа: 1) удаление внеклеточного антигена; 2) деградация внутриклеточного антигена, возможно, до уровня одной молекулы на клетку; 3) возрастание в результате размножения числа иммунологически компетентных клеток из стволовых клеток-предшественников. В связи с этим темп утраты толерантности зависит от темпа генерации лимфоцитов из стволовых клеток. Этот процесс может быть ускорен, например ионизирующим облучением толерантных животных. Последнее связано с ускоренной гибелью лимфоцитов и заменой их за счет размножения кроветворных стволовых клеток, не несущих состояния толерантности. Процесс отмены иммунологической толерантности может быть замедлен путем тимэктоми. Утрата толерантности происходит при введении некоторых родственных антигенов.

В предыдущем разделе было рассказано о «срыве» толерантности, индуцированной у кроликов человеческим сывороточным альбумином путем введения в качестве иммунизирующего антигена данного белка, модифицированного п-азобензолсульфоновой кислотой. Аналогичное явление описано теми же авторами у мышей при использовании в качестве толерогена кроличьего γ -глобулина, а в качестве иммунизирующего антигена — динитрофенилированного кроличьего γ -глобулина. Толерантность отменяется, и в организме животных начинают синтезироваться антитела не только к химически модифицированному, но и к нативному антигену. При этом существенную роль играют выраженность структурных отличий между нативным и модифицированным антигеном. Например, динитрофенилированный γ -глобулин человека не отменяет толерантность у мышей, обладая, по-видимому, более грубыми структурными особенностями. В то же время толерантность к бычьему сывороточному альбумину отменяется при иммунизации мышей ЧСА.

Явление отмены толерантности родственными (перекрестно реагирующими) антигенами исследовано с учетом необходимости взаимодействия Т- и В-клеток для реализации иммунного ответа. Показано, что срыв толерантности связан с во-

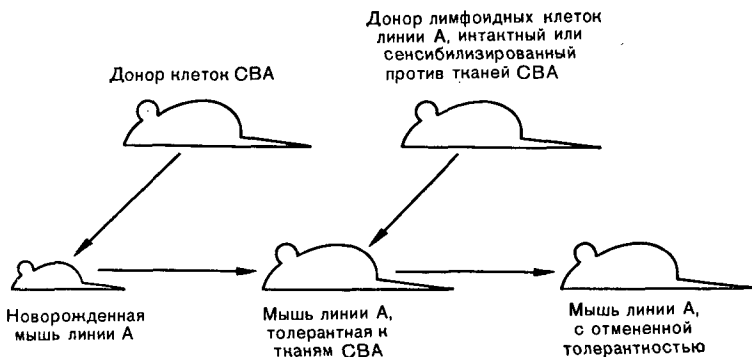


Рис. 65. Эксперимент по отмене толерантности.

влечением в процессы клеточного взаимодействия нетолерантных Т-лимфоцитов, ответственных за реагирование со структурно измененной частью антигенной молекулы. Это явление нередко используют для объяснения причин развития аутоиммунных заболеваний (см. главу XVII). Предполагают, что инфицирование микроорганизмами, имеющими перекрестно реагирующие антигены с тканевыми антигенами человека, может обусловить отмену естественной толерантности иммунной системы к антигенам собственного тела. Введение нормальных компонентов тела, например тиреоглобулина, модифицированного химически, действительно приводит к «срыву» толерантности и появлению аутоантител. То же происходит при введении родственного, но не тождественного антигена, например тиреоглобулина от животного другого вида.

При спонтанной утрате толерантности, обусловленной исчезновением антигена из крови и клеток, организм без дополнительной иммунизации может переходить в состояние специфической сенсibilизации. Наиболее наглядно это продемонстрировано на примере толерантного состояния по отношению к растворимым антигенам. Это явление получило название спонтанной иммунологической реактивации.

Процесс утраты иммунологической толерантности за счет исчезновения антигена также может быть ускорен. Первый способ аналогичен воспроизведению адаптивного иммунитета. Он заключается в переносе толерантным животным иммунологически компетентных клеток от иммунологически зрелых сингенных доноров. Использование клеток от сенсibilизированных доноров усиливает эффект отмены (рис. 65). Аналогично действует иммунная сыворотка против клеточных антигенов или антигенов тех белков, которыми индуцирована толерантность. Суть явления состоит в элиминации антигенов, поддерживающих толерантность.

В заключение следует сказать о понятии генетически обусловленной толерантности. Известно (см. выше), что ткани, пересаженные от донора реципиенту в пределах одной генетически чистой линии животных, приживаются. Приживаются также ткани, пересаженные от особей родительских линий на реципиентов — гибридов первого поколения к антигенам доноров родительских линий, это не приобретенная толерантность, а генетически обусловленная совместимость тканей.

Глава XII

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ИММУННОГО ОТВЕТА

Исторические корни проблемы генетического контроля иммунного ответа уходят в далекое прошлое, к наблюдениям неодинаковой восприимчивости различных индивидуумов к одним и тем же возбудителям инфекционных болезней. Имеется в виду не различная чувствительность разных видов животных к тому или иному микроорганизму, например невозможность заразить животных возбудителем холеры человека или неинфицируемость человека чумой собак. Речь идет о разной чувствительности генетически различающихся особей одного вида по отношению к возбудителю свойственной этому виду инфекции. Известны резистентные и неустойчивые породы крупного рогатого скота, свиней, кур в отношении вирусных инфекций и сальмонеллез. Детально изучены генетически обусловленные различия мышей и некоторых других грызунов в отношении мышинного тифа и других инфекций. «Близнецовый» метод генетического анализа у людей показал, что монозиготные близнецы гораздо чаще страдают одной и той же инфекционной болезнью, чем контрольные дизиготные близнецы. Однако эти наблюдения были далеки от анализа генетического контроля иммунного ответа.

Часть этой проблемы — строение главного комплекса гистосовместимости и контроль реакций клеточного иммунитета, были рассмотрены в главах VII—IX. Ниже рассматривается еще одна часть проблемы — генетический контроль антителигенеза. В ней могут быть выделены два аспекта. Первый посвящен изучению генетического аппарата кодирования синтеза молекул иммуноглобулинов (антител) и выяснению причин их разнообразия. Речь идет о разнообразии классов, аллотипов и главное идиотипов, т. е. разнообразия распознающих — активных центров молекул антител. «Репертуар» распознавания или «словарь специфичностей» антител столь велик, что против бесконечного множества природных и искусственных антигенов организм вырабатывает специфические антитела. Нередко в качестве условного числа возможных антигенных

детерминант принимают 10 000. Это значит, что организм человека или мыши может вырабатывать 10 000 молекул иммуноглобулинов, различающихся по активным центрам, т. е. по переменным участкам полипептидных цепей. При этом антитела одной специфичности могут быть разных аллотипов и классов, а антитела разной специфичности могут принадлежать к одному и тому же аллотипу и классу. Уже только это рассуждение приводит к заключению о том, что каждая из цепей иммуноглобулиновой молекулы кодируется по крайней мере двумя генами, ибо активный центр формируется переменным (V) участком цепи, а большинство маркеров аллотипов и маркеры всех пяти классов иммуноглобулинов формируются константным (C) участком.

Фактически один и тот же C-участок может быть ассоциирован с любым из 10 000 V-участков.

Второй аспект проблемы генетического контроля антителогенеза не связан со структурными генами иммуноглобулинов. Он посвящен изучению генетического контроля силы иммунного ответа, осуществляемого главным образом генами, локализованными в пределах главного комплекса гистосовместимости.

В последние два десятилетия доказано, что способность реагировать (или не реагировать) на какой-либо конкретный антиген, а также высота иммунного ответа генетически закодированы.

Первое доказательство генетической обусловленности высоты иммунного ответа получили А. Ключевски и Л. Ключевска (1939). Используя сыворотку человека как антиген, авторы выделили из популяции беспородных кроликов три группы животных: сильных, средних и слабых продуцентов антител. Проводя гибридологический анализ, исследователи показали, что сильный или слабый ответ зависит от гомозиготности генов для того или иного типа реактивности. Средние значения титров связаны с гетерозиготностью по этим генам.

В последние годы изучение вопросов генетического контроля иммунной реактивности перешло из эксперимента в клинику. Главным объектом исследования служат дети с наследственными иммунодефицитами. Описано несколько форм врожденных дефицитов, которые характеризуются генетически обусловленными дефектами тех или иных звеньев в цепи процессов, обеспечивающих нормальный иммунный ответ. Показано, что различные формы иммунного реагирования контролируются разными генетическими системами и таким образом человек может быть неполноценен по одному критерию, например по синтезу антител к определенному антигену или антител, принадлежащих к иммуноглобулинам класса A, и нормальным формам иммунного реагирования (см. главу XVI).

Структурные гены иммуноглобулинов

Прогресс в изучении структурных генов иммуноглобулинов во многом связан с обнаружением аллотипических меток на Н- и L-цепях иммуноглобулинов. В табл. 23 приведены основные аллотипы Ig человека и кролика.

Таблица 23

Аллотипы тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов человека и кролика

Локализация аллотипов	Аллотипические специфичности (аллели)	
	кролик	человек
Легкая цепь κ	b4, b5, b6, b9	Inν(1), Inν(1,2), Inν(3)
Легкая цепь λ	c7, c21	Не обнаружены
Тяжелые цепи		
V-участок	a1, a2, a3	Не обнаружены
С-участок IgG	d11, d12, e14, e15	Gm1, Gm3, Gm17 и др.
С-участок IgA	f69-73, g74-77	Am(1), Am(-1)
С-участок IgM	n81, n82	Не обнаружены

Анализ наследования аллотипических специфичностей иммуноглобулинов разных классов показал, что они кодируются тремя несцепленными группами генов, расположенными, следовательно, в разных хромосомах. Одна группа сцепленных генов кодирует синтез Н-цепей иммуноглобулинов; другая — синтез L-цепей типа κ ; третья — L-цепей типа λ . Сборка целой иммуноглобулиновой молекулы происходит из двух тяжелых и легких цепей (2H2L κ или 2H2L λ), синтезированных по генетическим матрицам, расположенным в двух разных хромосомах.

Анализ наследования аллотипов у кроликов помог определить количество и характер сцепления генов, кодирующих синтез каждой из цепей (Н и L) иммуноглобулинов. Благодаря наличию a1, a2 и a3 аллотипов варибельного участка Н-цепи удалось показать, что V_H участок цепи, кодируемый одним геном, может быть обнаружен в составе IgM, IgG и IgA, т. е. может быть соединен с константными участками тяжелых цепей разных классов — C μ , C γ и C α .

Из этого следуют два вывода. Во-первых, отдельная полипептидная цепь иммуноглобулиновой молекулы кодируется двумя сцепленными генами. Во-вторых, в одной хромосоме расположены гены, детерминирующие синтез V-участка тяжелой цепи иммуноглобулина, ее С-участка класса G и С-участков классов M и A. В одной цепочке генов находятся гены V, C γ , C μ и C α .

Аналогичные выводы сделаны при изучении мышинных идиотипов, характеризующих V-цепи по специфичности активного центра антител. Показано, что гены, кодирующие идиотипы, расположены в той же хромосоме, что и структурные гены константных участков тяжелых цепей молекул иммуноглобулинов. Изучение наследования 12 идиотипических маркеров показало, что они (V_H гены) располагаются на расстоянии 3—0,4 сантиморган от C_H аллотипических маркеров.

Методом гибридизации молекул нуклеиновых кислот то же установлено для V- и C-участков легких цепей. С. Тонегави и др. (1976) изолировали мРНК κ -цепей иммуноглобулина. Определение комплементарности цельной и фрагментированной РНК по отношению к ДНК фрагментам дало возможность установить следующее: (а) в зрелых плазматических клетках V и C кодирующие регионы располагаются на единых отрезках цепи ДНК (б) эти два региона отделены друг от друга участком более чем в 1000 пар нуклеотидов, которого нет в РНК, т. е. он не транскрибируется; (в) в эмбриональных клетках этот нетранскрибируемый участок во много раз больше, т. е. в процессе созревания плазматической клетки происходит реорганизация данного генетического аппарата.

Если учесть, что вариабельных генов должно быть много, чтобы обеспечить многообразие специфичностей активных центров антител, то цепочка генов представляется в виде $V_1V_2V_3\dots V_nC_\mu C_\gamma C_\alpha$. Возникает вопрос, как клетка для синтеза антитела избирает один из многочисленных V-генов и один из нескольких C-генов и каким образом они ассоциируются, т. е. располагаются рядом для транскрипции мРНК, определяющей синтез единой полипептидной цепи? Прежде чем изложить отвечающие на этот вопрос гипотезы следует остановиться на некоторых принципиальных особенностях функционирования антителопродуцирующей клетки.

Одна клетка — одно антитело

Еще в 1962 г. Г. Носсэл и О. Макела привели доказательства правильности основной идеи Бернета о клонированности популяции лимфоидных клеток, показав, что одна клетка вырабатывает антитела только одной специфичности. Они использовали микроманипуляционную технику, позволившую изолировать одиночные плазматические клетки в отдельных микрокаплях и вводить в микрокапли антигены. В качестве иммунизирующих и тест-антигенов использовали жгутниковые формы сальмонелл. Кроликов иммунизировали одновременно двумя видами этих бактерий. Если изолированная клетка синтезировала антитела, то введенные в микрокаплю сальмонеллы обездвиживались. 99,95% антителопродуцирующих

клеток синтезировали антитела одной специфичности. Авторы сделали вывод, который впоследствии был многократно подтвержден и стал иммунологической догмой: одна клетка вырабатывает антитела одной специфичности. А это означает, что в геноме данной иммунокомпетентной клетки активно функционирует только один V-ген, ответственный за синтез именно того варианта варибельной цепи, который формирует активный центр антитела данной специфичности. Все остальные V-гены выключены или отсутствуют.

Выше указывалось, что каждая клетка несет три группы сцепления структурных генов иммуноглобулинов: V_H - и C_H -гены тяжелых полипептидных цепей, V_λ и C_λ — гены легких цепей типа κ , V_λ и C_λ -гены легких цепей типа λ . Естественно возник вопрос о том, все ли они функционируют при синтезе антитела. Анализ аллотипических фенотипов антителопродуцирующих клеток у кроликов, гетерозиготных по главным генам аллотипов легких и тяжелых цепей, привел к обнаружению аллельного исключения аллотипов. Ниже приведены (Б. Бенасерраф, 1979) фенотипы антителопродуцирующих клеток гибридных кроликов, гетерозиготных по аллотипам тяжелой цепи (a, d) и легкой цепи κ -типа (b). Слежения за вторым типом легких цепей не требовалось, так как молекула антитела всегда имеет легкие цепи только одного из двух типов (см. главу III).

Генотипы родителей: самец	H-цепь	a1/a1, d11/d12
	L-цепь	b4/b4
самка	H-цепь	a2/a2, d12/d12
	L-цепь	b5/b5
Генотип гибридов F_1 :	H-цепь	a1/a2, d11/d12
	L-цепь	b4/b5

Фенотипы антителопродуцирующих клеток по аллотипам иммуноглобулинов: a1, d11, b4 или a1, d11, b5, или a2, d12, b4, или a2, d12, b5.

Это означает, что в клетке активно функционирует только один вариант гена V_H , один вариант гена C_H и по одному соответствующему гену одной из легких цепей. Все остальные структурные гены выключены. Следует заметить, что данный пример аллельного исключения является единственно известным в генетике примером аллельного исключения на уровне аутосомных хромосом.

Итак, в каждой отдельно взятой антителообразующей клетке, действительно, из всего множества структурных генов иммуноглобулинов функционирует их минимальное количество, требующееся для синтеза антитела одной специфичности и несущего цепи одного типа и одного аллотипа. Все остальные гены (варианты V-генов, аллели типов и аллотипов) исключены из функционирования.

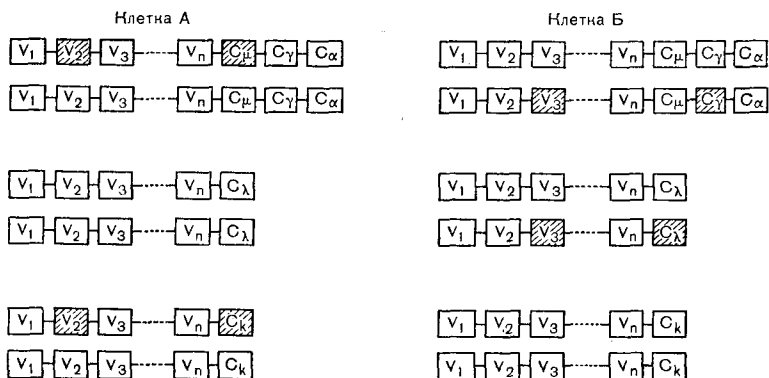


Рис. 66. Группа сцепления структурных генов тяжелых и легких цепей. В одной клетке (А) дерепрессированы гены V_2 , C_μ и C_κ (продукция антител $2H_\mu$, $2L_\kappa$ со специфичностью, детерминированной V_2). В другой клетке (Б) дерепрессированы гены V_3 , C_γ и C_λ (продукция антител $2H_\gamma$, $2L_\lambda$ со специфичностью V_3).

На рис. 66 приведена схема генотипов двух клеток с изображением трех групп сцепления структурных генов иммуноглобулинов. Принято, что имеется n вариантов V -генов. В одной клетке работают варианты V_2 и C_μ для тяжелой цепи и V_2 и C_κ для легкой цепи иммуноглобулина. В другой клетке — V_3 - C_γ и V_3 - C_λ .

Клетки синтезируют два разных антитела, определяемых V_2 - и V_3 -специфичностями. V_n -генов определяют V_n -специфичностей. Приведенные материалы, бесспорно, свидетельствуют о том, что в основе многообразия специфичностей антител лежит то, что в лимфоидной системе функционирует огромное количество клеток и их потомков, т. е. клонов клеток, каждый из которых продуцирует один сорт антител. Фактически, сколько специфичностей антител, столько и клонов клеток-антителопродуцентов, различающихся по функционирующим в них генам. Как возникает многообразие клеток, соответствующее многообразию V -генов и каким образом V -ген данной специфичности ассоциируется для транскрипции информации на мРНК с геном константной части полипептидной цепи — это проблема, которая породила ряд интересных гипотез, причем ассоциация V - C -генов — один из принципиальных пунктов этих гипотез, так как антителопродуцирующие клетки способны переключать синтез иммуноглобулинов IgM на IgG и, по-видимому, на IgA без изменения антительной специфичности, а это значит, что V -ген данной специфичности способен поочередно ассоциироваться с генами, кодирующими C_μ , C_γ и C_α .

Природа разнообразия антител

Каким образом формируется фактически неограниченное количество V-генов, обеспечивающих наличие столь же неограниченного количества клонов клеток, которые продуцируют иммуноглобулины, способные специфически соединяться с неограниченным числом чужеродных антигенных субстанций? Каким образом ассоциируется V-ген той или иной специфичности с C-геном, если между ними располагается большее или меньшее число других V-генов? Как происходит переключение синтеза иммуноглобулинов одного класса на другой? Вот три вопроса, которые породили ряд гипотез, объясняющих природу разнообразия антител.

Гипотеза зародышевой линии (germ line) предполагает, что все множество вариантов V-генов возникло в эволюции вследствие дупликации некоего предкового гена. В итоге все множество V-генов ($V_1 V_2 V_3 \dots V_n$) наследуется и находится в геноме всех лимфоцитов. В процессе онтогенетического развития и дифференцировки лимфоидной системы в разных лимфоцитах оказывается включенным лишь один из n числа V-генов. В итоге в лимфоидной системе к моменту ее созревания возникает n клонов лимфоцитов. Таким образом, еще до антигенной стимуляции в организме предсуществуют клоны клеток, способные синтезировать самые разнообразные антитела против самых разнообразных антигенов. Размещение в геноме и наследование столь большого количества генов не является нереальным, даже если в ДНК человеческой половой клетки будет записана информация, соответствующая 10^6 V-генов. Следует напомнить, что специфичность активного центра антитела формируется переменными участками двух цепей — тяжелой и легкой. С учетом комбинаторики из двух V-генов для достижения величины 10^6 вариантов специфичностей антител достаточно 10^3 V_L-генов и 10^3 V_H-генов. Кодирование такого числа генов займет не более 0,02% генома.

Гипотеза соматических мутаций предполагает, что наследуется от поколения к поколению несколько V-генов, соответствующее числу аллотипов переменных участков H- и L-цепей иммуноглобулинов. Но эти гены являются гипермутабельными. В течение индивидуального развития и дифференцировки лимфоидной системы в различных лимфоцитах происходят случайные мутации. В результате накапливается n клонов лимфоцитов. В итоге, так же как и в предыдущем варианте, в организме еще до антигенного воздействия предсуществуют клоны клеток, способные синтезировать самые разнообразные антитела.

Гипотезы промежуточного типа предполагают существование обоих механизмов: наличие 100—200 наследуемых V-ге-

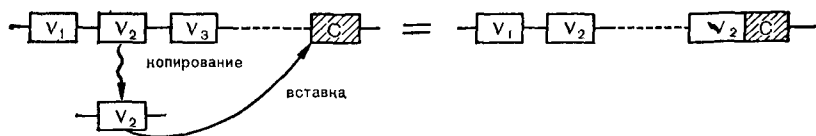
нов и того или иного соматического изменяющего механизма, который увеличивает число наследуемых вариантов. Предполагается, например, интенсивный соматический кроссинговер между сестринскими хромосомами в области V-генов во время развития и дифференцировки лимфоидных клеток.

Так или иначе, к моменту созревания иммунной системы до проникновения экзогенных антигенов в организме имеется огромная совокупность клонов иммунокомпетентных клеток, обеспечивающих продукцию столь большого разнообразия молекул антител. Специфичность активного центра антител зависит только от последовательности аминокислот в варибельной области H- и L-цепей Ig и не требует для своего становления присутствия соответствующего антигена. Это, бесспорно, доказано в последние годы путем искусственного развертывания полипептидных цепей F_{ab}-фрагментов антител с помощью сильно денатурирующих растворителей, разрывающих все дисульфидные связи. Помещение таких разобранных и развернутых молекул антител в условия, обеспечивающие ренатурацию, приводит к восстановлению их антительной специфичности в отсутствие антигена. Специфичность антитела определяется последовательностью аминокислот полипептидных цепей, т. е. кодируется генетически.

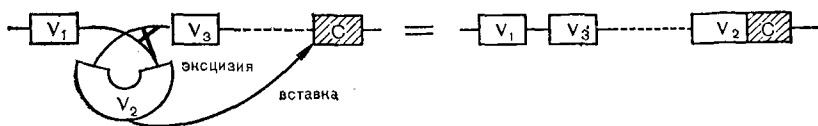
Как бы ни объяснялась загадка многообразия генов, объяснения требует и другая загадка, а именно, каким образом функционирующий V-ген ассоциируется с функционирующим C-геном если между ними располагается цепочка других V- и C-генов? Существует по крайней мере пять объяснений, основанных на допущении процессов транслокации в течение развития и дифференцировки лимфоидных клеток. Предположим, что специфичность антител, синтезируемых данной клеткой, определяется V₂-геном (рис. 67). Допускаются следующие гипотетические модели, обеспечивающие ассоциацию V-гена с C-геном для считывания V₂C информации, необходимой для построения одной из цепей иммуноглобулиновой молекулы: а) копирование V₂-гена и его вставка в участок, прилежащий к C-гену; б) эксцизия V₂-гена и его вставка; в) делеция всей цепочки генов, расположенных между V₂- и C-генами; г) инверсия цепочки генов, приводящая к смежному расположению V₂- и C-генов; д) образование петли со смыканием V₂- и C-генов.

Последняя гипотеза допускает возможность скольжения петли с поочередной ассоциацией V-гена с C_μ-, C_γ и C_α-генами. В результате происходит переключение синтезов антител одной и той же специфичности, но разных классов в реальной последовательности IgM → IgG → IgA.

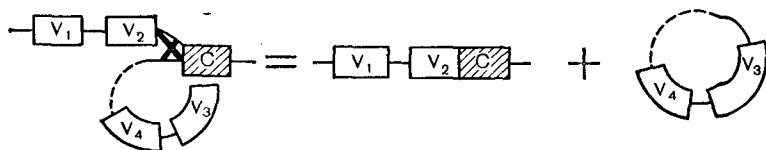
а) копирование—вставка



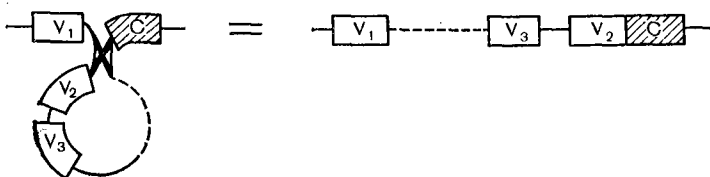
б) энсцизия—вставка



в) делеция



г) инверсия



д) петля

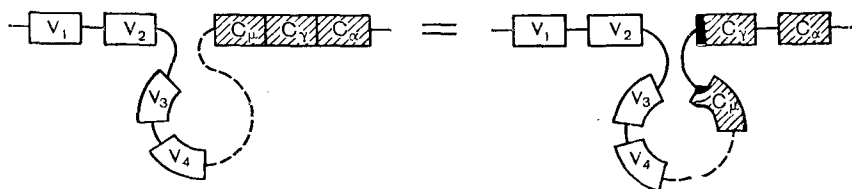


Рис. 67. Гипотетические модели ассоциации V- и C-генов.

Межлинейные различия антителогенеза

При иммунизации 12 генетически различных гомозиготных линий и сублиний мышей лептоспирами была показана различная сила иммунного ответа у разных генотипов (табл. 24). Наибольшие титры антител обнаруживаются у мышей линии C57BL/10ScSn, наименьшие — линии C3H/HeDiSn. Разница между высокореагирующими и низкореагирующими линиями мышей на 14-е сутки после иммунизации 20-кратная.

Таблица 24

Титры агглютининов (\log_2) у мышей разных инбредных линий после иммунизации лептоспирами (*L. Canicola*)

Линия животных	Титры после иммунизации	
	на 7-е сутки	на 14-е сутки
C57BL/6	10,9(9,1÷12,8)	9,6(8,7÷10,4)
C57BL/10-H-2 ^d	9,8(8,44÷11,2)	9,6(8,9÷10,3)
C57BL/He	8,6(7,9÷9,3)	9,4(8,3÷10,5)
C57BL/10ScSn	9,6(8,9÷10,3)	10(8,8÷11,2)
C3H-H-2 ^p	6,4(5,7÷7,1)	4,8(3,8÷5,8)
C3H/He DiSn	6,6(5,2÷8,0)	4,4(3,3÷5,5)
CC57W	8,7(7,9÷9,6)	7,0(4,8÷9,2)
CBA	10,9(10,2÷11,6)	8,2(7,7÷8,8)
BALB/c	7,8(6,8÷8,8)	8,4(6,8÷10,0)
C57L/J	8,0(6,7÷9,3)	8,0(6,7÷9,3)
CC57BR	7,2(6,6÷7,8)	7,8(6,8÷8,8)
A	6,6(4,5÷8,6)	6,4(5,3÷7,5)

С помощью гибридологического анализа, проведенного путем скрещивания оппозитно реагирующих линий мышей, был выявлен доминантный характер наследования высокого типа иммунного ответа (рис. 68). Гибриды реагируют по высокому типу. У гибридов от возвратного анализирующего скрещивания ($F_1 \times C3H$) BC_1 имеет место расщепление по признаку высоты иммунного ответа с наличием особей промежуточного типа реагирования. На основании данных можно сделать вывод, что высота иммунного ответа мышей на лептоспиры детерминирована более чем одной парой генов. Показано, что данный признак не сцеплен с полом и окраской шерсти.

Аналогичные исследования были проведены с использованием в качестве антигена эритроцитов барана. Однократная иммунизация нескольких линий мышей выявила оппозитно реагирующие генотипы. Мыши линии C57BL, высокореагирующей на лептоспиры, оказались самыми низкореагирующими при иммунизации эритроцитами барана. Высокореагирующими оказались мыши линии CBA. Различия в титрах антител 10-кратные.

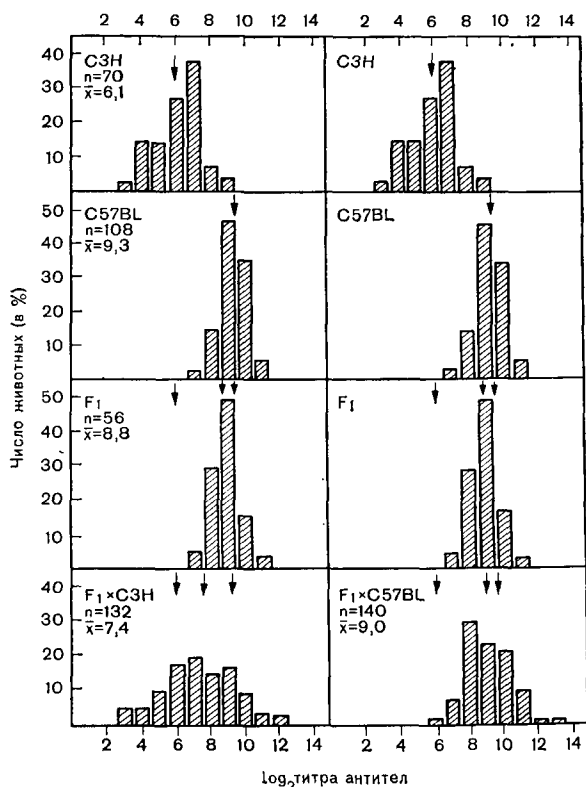


Рис. 68. Гибридологический анализ характера наследования силы иммунного ответа при иммунизации мышей лептоспирами.

Следует подчеркнуть одну из важнейших иммуногенетических закономерностей, сформулированных в настоящее время: представители организмов одного и того же генотипа, или, иначе говоря, один и тот же организм может быть иммунологически высокореагирующим на один антиген и низкореагирующим на другой.

Гибридологический анализ наследования характера ответа на эритроциты барана выявил те же закономерности. Высокий тип реагирования наследуется как доминантный, не сцеплен с полом и окраской шерсти, детерминирован более чем одним геном.

Действие генов, контролирующих высоту иммунного ответа, реализуется на уровне популяции лимфоидных клеток. Клетки селезенки мышей высокореагирующих или низкореагирующих генотипов, помещенные вместе с антигеном в культуру *in vivo*, вырабатывают соответственно большое или малое ко-

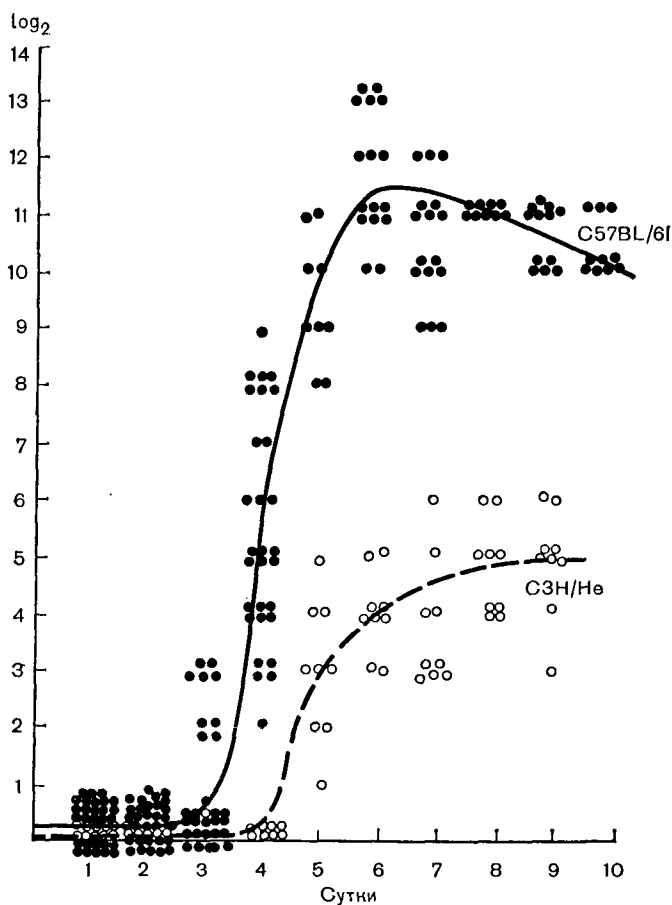


Рис. 69. Выработка антител против лептоспир клетками селезенки (25×10^6) мышей разных линий в культуре *in vivo*. По оси абсцисс — время после трансплантации клеток, по оси ординат — титры антител.

личество антител. На рис. 69 приведены соответствующие данные о выработке антител 25 млн. клеток селезенки от мышей линий С57ВL и С3Н против лептоспир. В высокореагирующей популяции накапливается большое количество клеток — продуцентов антител.

Генетически детерминированные различия в высоте иммунного ответа проявляются в течение всей жизни. На рис. 70 видно, что 6—10-кратные различия в силе иммунного ответа на эритроциты барана у мышей линии СВА и С57ВL устанавливаются в первые 2 нед жизни, т. е. в период созревания иммунологической реактивности, и сохраняются до старости.

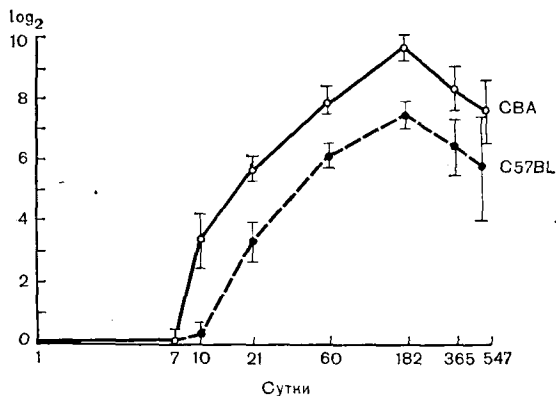


Рис. 70. Межлинейные различия высоты иммунного ответа у мышей против эритроцитов барана в различные возрастные периоды.

Иммунный ответ на синтетические полиаминокислоты

После того, как было показано, что синтетические полипептиды различного состава и сложности обладают иммуногенностью, эти искусственные антигены стали объектом внимания иммуногенетиков. Важная особенность этих соединений связана с ограниченным спектром детерминант, имеющих самостоятельную специфичность.

В настоящее время проведено довольно много работ, в которых в качестве антигена были использованы три вида синтетических аминокислотных полимеров: а) линейные случайно расположенные L-аминокислоты; б) конъюгаты гаптенон с гомополимерами аминокислот, например динитрофенил-поли-L-лизин (ДНФ-ПЛЛ); в) разветвленные, многоцепочечные аминокислотные сополимеры (см. рис. 2).

Раньше было показано, что линейные синтетические полипептиды, состоящие из трех случайно расположенных аминокислот (общая формула: Глу⁵⁶ Лиз³⁸ Тир⁶, где индекс — процент определенной аминокислоты от общей молекулярной массы), являются хорошими иммуногенами для кроликов. Антигены этого типа были использованы при изучении иммунной реактивности восьми линий кроликов различной степени инбридинга и нескольких инбредных линий крыс. Показано, как и при работе с более сложным антигенным материалом (клетки, белки), что способность определенной линии высоко реагировать на один антиген не связана с ее способностью отвечать на другой, структурно отличный антиген.

В одних из первых опытов с ДНФ-ПЛЛ было показано, что организм около 30—40% случайно скрещивающихся морских свинок способен продуцировать специфические преципитины в ответ на введение ДНФ-ПЛЛ. Такой же способностью обладают морские свинки высокоинбредной линии 2, но не линии 13. Животные линии 13 ареактивны. Замена ДНФ на

другие гаптенные группы (ПАБ, ТНФ) не привела к развитию иммунного ответа у ареактивных к ДНФ-ПЛЛ морских свинок. Отвечающие на введение ДНФ-ПЛЛ морские свинки сохранили реактивность к другим конъюгатам гаптен-ПЛЛ, в то время как неответчающие животные остались ареактивными. С помощью метода равновесного диализа было показано, что в организме отвечающих морских свинок образуются антитела, специфические для гаптена. Ген, контролирующий высокую отвечаемость на ком-плексы гаптен-ПЛЛ, назван ПЛЛ-геном.

Результаты этих экспериментов свидетельствуют о том, что ареактивность некоторых морских свинок аутобредной популяции и линии 13 определяется недостаточной иммуногенностью ДНФ-ПЛЛ для неответчающих животных, и демонстрируют важность несущей неспецифической части молекулы антигена.

Известно, что сополимеры двух аминокислот — аланина и лизина, неиммуногенны для мышей. Добавление случайно соединяющихся тирозина и глутаминовой кислоты к полиаланиновым цепям, расположенным на полилизине, делает подобный разветвленный сополимер хорошим иммуногеном для некоторых линий мышей. Условная формула этого сополимера — (Т,Г)-А-Л. При замене тирозина на гистидин или фенилаланин образуются два близкородственных антигена (Гис,Г)-А-Л и (Фен,Г)-А,Л, у которых различные антигенные детерминанты располагаются на одинаковой структурной основе (см. рис. 2).

У мышей линии С57 образуется в 10 раз больше антител к (Т,Г)-А-Л, чем у мышей линии СВА. Замена (Т,Г)-А-Л на (Гис,Г)-А-Л приводит к противоположным результатам: более реактивными оказались мыши линии СВА, менее реактивными — С57. Однозначный ответ этих линий был получен при использовании в качестве антигена (Фен,Г)-А-Л. Поскольку замена всего одной аминокислоты приводит к тому, что высокоответчающие организмы реагируют как низкоответчающие и, наоборот, предполагают, что в данном эксперименте демонстрируется антигенное распознавание на уровне одной детерминанты.

Анализ генетических факторов, участвующих в антителогенезе

При изучении генетической детерминации антителогенеза решались вопросы: о характере наследования признаков, определяющих высоту иммунной реакции; о возможности направленного отбора по тому или иному типу иммунного ответа; о количестве и локализации генов, контролирующих процесс антителообразования; об уровне и механизме действия генов иммунного ответа. Г. Биоцци и соавт. (1973), про-

ведя направленный отбор в популяции неинбредных мышей линии Swiss по способности отвечать на эритроциты барана, получили в 9-й генерации 30-кратные различия в титрах антител между высоко- и низкорреагирующими субпопуляциями. В других экспериментах анализировали способность беспородных кроликов и мышей отвечать на бычий сывороточный альбумин (БСА). В 5-й генерации 90% животных, прошедших селективный отбор, были способны высоко реагировать на БСА. Малое количество требующихся генераций при направленном отборе животных с контрастирующим ответом привело исследователей к предположению о существовании небольшого числа генов, участвующих в контроле иммунного ответа.

К такому же выводу пришли авторы, изучавшие наследование иммунного ответа к разветвленным, многоцепочечным полипептидам. Например, иммунологический анализ F₁-гибридов и гибридов, полученных при возвратном скрещивании, показал, что способность к продукции в той или иной интенсивности анти-(Т,Г)-А-Л наследуется как элементарная генетическая единица. Этот ген обозначен как Ig-1 (иммунный ответ-1). Кроме него, у мышей идентифицированы гены, контролирующие высоту антителообразования в ответ на введение яичного альбумина (OVA-1), овомукоида (Ovomucoid), IgA и

Таблица 25

Список антигенов, по отношению к которым иммунный ответ у мышей контролируется Ig-генами

Искусственные антигены	Естественные субстанции
Поли-L(Тир, Глу)-поли-D, L-Ала-поли-L-Лиз	Яичный альбумин
Поли-L(Гис, Глу)-поли-D, L-Ала-поли-L-Лиз	Овомукоид
Поли-L(Фен, Глу)-поли-D, L-Ала-поли-L-Лиз	Инсулин
L-Глу ⁶⁰ L-Ала ³⁰ L-Тир ¹⁰	Тиреоглобулин
L-Глу ⁵⁸ L-Ала ³⁸ L-Тир ⁴	IgA
Конъюгат бензилпенициллола (6)* с яичным альбумином	IgG _{2a}
Конъюгат бензилпенициллола (25) с бычьим γ-глобулином	IgG _{2b}
Конъюгат бензилпенициллола (4) с овомукоидом	Thy-1
Конъюгат динитрофенила (42) с бычьим γ-глобулином	Трансплантационный sex-антиген (H-Y)
Конъюгат 2,4,6-тринитрофенила с мышинным сывороточным альбумином	Антиген 2, контролируемый H-2 комплексом (H-2.2)
	Эритроцитарный аллоантиген-1 (Ea-1)
	Нуклеаза золотистого стафилококка

* Цифры в скобках — количество гаптенных групп на белковую молекулу.

Таблица 26

Связь высоты иммунного ответа, контролируемого Iг-1-геном, с H-2 гаплотипом

Линия животных	Гаплотип	Ответ на антигены		
		(Т, Г)-А-Л	(Гис, Г)-А-Л	(Ф, Г)-А-Л
C57BL	b	Высокий	Низкий	Высокий
DL	b	»	»	»
C3H-SW	b	»	»	»
CBA	k	Низкий	Высокий	»
C3H	k	»	»	»
B10.CR	k	»	»	»
BAL B/c	d	Средний	Низкий	Низкий
DВА/2	d	»	»	»

IгG бычьего γ -глобулина (BGG-1) и др. Перечисленные гены, подобно Iг-1, сцеплены с системой H-2 гистосовместимости и локализованы в субрегионах I-A, I-B и I-C области I (см. рис. 52, 53). В табл. 25 приведен перечень антигенов, высота иммунного ответа к которым находится под контролем Iг-генов [Худ Л. и др., 1978]. Предполагают существование весьма большого количества генов, каждый из которых определяет высоту ответа на тот или иной конкретный антиген (или на группу антигенов?). Несмотря на то, что число таких генов у каждого вида животных должно быть весьма большим, оно, несомненно, меньше, чем число специфичностей антител. Это доказывается тем, что антитела, вырабатываемые против какого-либо антигена под контролем известного Iг-гена, характеризуются гетерогенностью специфичности и аффинности, могут нести κ или λ легкие цепи и принадлежать к разным классам иммуноглобулинов.

Вопрос о сцеплении генов иммунного ответа с главной системой гистосовместимости наиболее подробно изучен на примере гена Iг-1, контролирующего иммунный ответ мышей на разветвленные синтетические антигены (табл. 26). Линии мышей с гаплотипом H-2^b высокореактивны по отношению к синтетическому антигену с тирозином и низкореактивны к антигену с гистидином. Мыши с гаплотипом H-2^k, наоборот, низкореактивны по отношению к первому антигену и высокореактивны — ко второму.

Итак, один и тот же антиген вызывает иммунный ответ разной высоты — от нуля до очень высокого у организмов разных генотипов и, наоборот, один и тот же организм бывает в различной степени реактивным по отношению к разным антигенам. Iг-гены — это аутомные доминантные гены, определяющие количество синтезируемых антител против тех

или иных конкретных антигенов. Ig-1-ген определяет количество синтезируемых антител против (Т,Г)-А-Л, (Гис,Г)-А-Л и (Ф,Г)-А-Л; его аллели специфичны к (Т,Г), (Гис,Г) и (Ф,Г).

Все антигены, иммунный ответ к которым контролируется Ig-генами, являются тимусзависимыми. Кроме того, замена несущей части молекулы или его конъюгация с другим антигеном может изменить характер ответа на него, т. е. превратить низкорреагирующую особь в высокорреагирующую. Так, например, комплекс динитрофенил-полилизин (ДНФ-ПЛЛ) у морских свинок линии 13 не стимулирует выработки антител к ДНФ. Замена ПЛЛ, а также конъюгирование всего комплекса ДНФ-ПЛЛ с бычьим сывороточным альбумином или яичным альбумином приводит к тому, что животные начинают вырабатывать анти-ДНФ-антитела. Тимусзависимость антигенов, ответ к которым контролируется Ig-генами и возможность отмены неотвечаемости однозначно указывают, что Ig-генный контроль реализуется не через В-, а через Т-систему лимфоцитов. Несцепленность Ig-генов, как и всего комплекса главной системы гистосовместимости, с генами, кодирующими синтез иммуноглобулинов, также свидетельствует о том, что Ig-генный контроль выраженности синтеза антител В-клетками осуществляется посредством контроля выраженности и характера клеточных взаимодействий. А это значит, что продукты Ig-генов должны экспрессироваться на Т- и В-лимфоцитах и макрофагах. Поскольку Ig-гены локализованы в I-области главного комплекса гистосовместимости, предполагается, что продукты, кодируемые I-A, I-B и другими субрегионами этой области, контролируют процессы взаимодействия клеток в иммунном ответе. Доказано, что Ig-генный контроль взаимодействия клеток реализуется на этапах взаимодействия макрофаг — Т-лимфоцит и Т-В. Подача антигена Т-лимфоцитам макрофагами от низкорреагирующих генотипов не обеспечивает включения Т-помощников в работу, т. е. не активирует их. Изучение сочетаний взаимодействующих Т- и В-лимфоцитов в разных комбинациях от высокоотвечающих F₁ и низкоотвечающих родительских генотипов показало, что эффективное включение В-лимфоцитов в антителогенез происходит только в тех случаях, когда Т- и В-клетки относятся к представителям высокоотвечающих особей. Определяющую роль в процессах клеточных взаимодействий и, следовательно, в регуляции высоты иммунного ответа играют, как уже указывалось, Ia-антигены, экспрессируемые в наибольшей степени на макрофагах и В-лимфоцитах. Антисыворотки против Ia-антигенов блокируют антителогенез. В настоящее время доказано, что Ia-антигены гетерогенны, кодируются Ig-генами и обладают способностью взаимодействовать с молекулами тимусзависимых антигенов. Комплексы Ia-антиген на макрофагах и В-лимфоцитах ак-

тивируют только тот клон Т-помощников, который несет рецепторы двойного распознавания (см. главу VII) к комплексу Ia с данным антигеном. Кроме того, предполагается, что именно Ig-гены контролируют выработку Т-лимфоцитами антигенспецифических хелперных и супрессорных субстанций, выделяемых Т-помощниками и Т-супрессорами. Благодаря преобладанию активности одной или другой популяции реализуется или не реализуется ответ на данный тимусзависимый антиген; контролируется и высота ответа. Данное предположение основывается на фактах, доказывающих контроль выработки хелперного фактора генами I-A субрегиона, а супрессорного фактора генами I-J субрегиона (см. табл. 19).

Макрофаги от высокоотвечающих и неотвечающих генотипов одинаково связывают антиген и одинаково эффективно подают его отвечающим генотипам. Иначе говоря, Ig-генный контроль реализуется не на уровне макрофагов.

Поскольку у неотвечающих на некоторые антигены генотипов нет дефицита по специфическим T_H и присутствуют все клетки (B , T_H и T_S), есть основания полагать, что Ig-генный контроль по отношению к данным антигенам реализуется через повышенную активность Т-супрессоров. Преобладающее включение T_H или T_S связано с физико-химическими характеристиками антигена. Существует представление о наличии Is-генов (Immune suppression), альтернативных генам Ig.

Генетический контроль реакций гиперчувствительности замедленного типа

Контроль высоты иммунного ответа со стороны генов иммунного ответа главной системы гистосовместимости распространяется не только на выработку антител. Выраженность реакций гиперчувствительности, опосредуемых лимфоцитами-эффекторами, также находится под контролем генов этой системы. Описанные выше данные по высокой и низкой отвечаемости морских свинок линий 2 и 13 при иммунизации комплексом ДНФ-ПЛЛ в равной мере справедливы в отношении как выработки антител, так и развития кожных реакций гиперчувствительности замедленного типа. Доказано, что оба эти типа иммунного ответа на ДНФ-ПЛЛ — гуморальный и клеточный контролируются одним Ig-геном — ПЛЛ-геном.

Исследования на мышцах и клинические наблюдения при трансплантации кожи и почек показали, что скорость отторжения чужеродного трансплантата зависит не только от различий по трансплантационным антигенам, но и от генетически контролируемой силы реакции. Последняя контролируется генами, аналогичными Ig-генам гуморального иммунного ответа. Это справедливо и для развития реакции трансплан-

тат против хозяина — еще одной формы иммунного ответа клеточного типа (см. главу XIV).

Авторы, обнаружившие двойное распознавание вирусных (см. главу VII) антигенов, привели экспериментальные доказательства о наличии особых генов иммунного ответа — Igst. Эти гены контролируют высоту противовирусного иммунного ответа, выражающегося в накоплении цитотоксических Т-лимфоцитов. Гены локализуются в H-2K и H-2D регионах главного комплекса гистосовместимости. В отличие от обычных Ig-генов доминантными являются аллели, кодирующие низкую реактивность.

Конкретность иммунного ответа и фенотипическая коррекция

Итак, существует закономерность: один и тот же антиген вызывает иммунный ответ разной высоты — от нуля до очень высокого у организмов разных генотипов, и, наоборот, один и тот же организм в разной степени реактивен по отношению к разным антигенам.

Генетически детерминированные различия в «силе» иммунного ответа не исчезают даже под влиянием такого мощного иммунодепрессивного воздействия, каким является ионизирующая радиация. Облучение генетически разнореагирующих животных сублетальными дозами γ -лучей снижает титры антител, но полностью сохраняет межлинейные различия. В случае иммунизации лептоспирами высокореагирующие генотипы вырабатывают в 20 раз больше антител, чем низкореагирующие, сохраняя те же межлинейные различия, что и до облучения.

Следовательно, «общей иммунологической реактивности» не существует, — это понятие должно быть заменено положением о конкретности иммунного ответа. Действительно, иммунологическая реактивность у одного и того же организма всегда конкретна: по отношению к одному антигену одна, к другому — другая, к третьему — третья. Вместе с тем вакцинации проводят всем стереотипно. Нередко это вызывает серьезные осложнения. Иммуногенетика утверждает, что некоторые индивидуумы — высокореагирующие, могут обойтись однократной прививкой при минимальной антигенной дозе. Для других требуются дву- и троекратные прививки. Покажем это на примере экспериментов с упоминавшимися генотипами мышей и антигенами. Мыши линии C57BL высоко реагируют уже на первую вакцинацию лептоспирами, а мыши линии C3H реагируют слабо. Однако после второй (через месяц) иммунизации иммунный ответ животных второй линии «подтягивается».

При введении эритроцитов барана оппозитным мышам линий CBA и C57BL низкореагирующая линия «догоняет» высо-

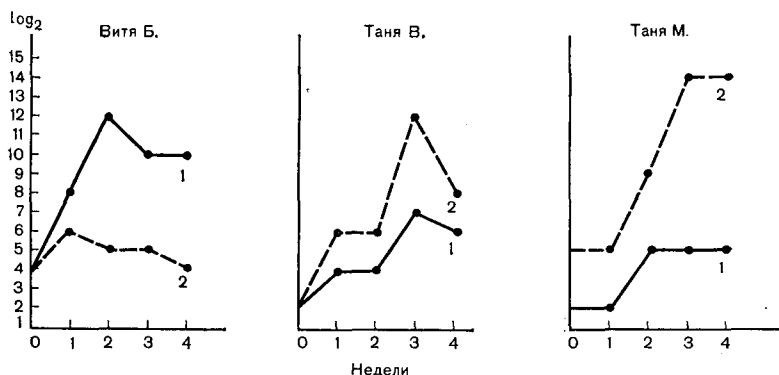


Рис. 71. Оппозитный тип реагирования детей на разные антигены. 1 — на дифтерийный, 2 — на столбнячный. По оси абсцисс — сроки после иммунизации, по оси ординат — титры антител.

корреагирующую только после троекратной ежемесячной иммунизации. Для многих антигенов низкорреагирующие генотипы остаются неотвечающими даже при многократных иммунизациях. Для некоторых генотипов и антигенов повторные иммунизации оказываются вредными — выработка антител прекращается. Таких индивидуумов вообще бессмысленно иммунизировать данной вакциной — нужна другая.

У человека частные гены иммунного ответа еще предстоит открыть, однако конкретность иммунного ответа уже доказана.

При первичной иммунизации детей ассоциированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакциной около 10% пациентов проявили оппозитный тип реагирования (рис. 71). В одних случаях высокий ответ на столбнячный антиген сочетался с низкими титрами антител против дифтерийного токсина, в других — индивидуум высоко реагировал на дифтерийный компонент и низко — на столбнячный. Различия были 50—100-кратными.

Следовательно, определение конкретной (к данному антигену) иммунной реактивности еще до иммунизации — проблема огромной важности. Это совсем новая область исследований, в которой наметились перспективные пути. Прежде всего это сцепленность генов иммунного ответа с главной системой гистосовместимости. Уже было показано, что определение гаплотипа мышей по системе H-2 является одновременно определением их способности сильно или слабо реагировать на определенные антигены.

Сцеплена ли высота иммунного ответа на те или иные антигены с главной системой гистосовместимости у человека? По-видимому, да. Во-первых, такая сцепленность генов Ig

с главной системой гистосовместимости имеется не только у мышей, крыс и морских свинок. Способность организма обезьян (макак резусов) отвечать или не отвечать на синтетический полипептидный антиген (Т,Г)-А-Л контролируется генами, расположенными в пределах системы RhL-A, которая является аналогом человеческой системы HLA. Степень реакции антителообразования у больных на некоторые виды пыльцы, вызывающей сенную аллергию, сцеплена с HLA-генами.

Не исключено, что информативными показателями типа иммунного ответа на тот или иной конкретный антиген окажутся реакции типа бласттрансформации лимфоцитов, определение количества или характера специфических рецепторов на их поверхности и т. д. В ближайшее время, несомненно, будут разработаны методы предварительного (до иммунизации) определения способности индивидуума реагировать на данный антиген.

Установление факта существования индивидуумов с генетически обусловленной низкой реактивностью по отношению к некоторым антигенам выдвигает важнейшую проблему — перевод генетически низкорреагирующих особей в высокорреагирующие. Решение этой проблемы может привести к созданию наиболее эффективных вакцин. Это совершенно новое направление, в котором сделаны только первые шаги, получило название фенотипической коррекции.

Выше указывалось, что перенос антигенной детерминанты на другой белковый носитель в ряде случаев переводит не отвечающую особь в отвечающую. Иммунный ответ низкорреагирующих мышей на один из синтетических антигенов (Т, Г)-Про-Л может быть повышен до уровня высокорреагирующих, сочетанием иммунизации с введением полинуклеотида (поли-А-И). Однако это оказывается неэффективным в отношении антигена (Т, Г)-А-Л.

Эффективным методом фенотипической коррекции оказалась трансплантация мышам низкорреагирующей линии сингенного костного мозга. Аналогичная процедура у высокорреагирующих генотипов иммунный ответ не усиливает.

Меньшее накопление антителообразующих клеток в селезенке при иммунизации эритроцитами барана мышей линии С57ВL по сравнению с мышами линии СВА в значительной степени обусловлено слабовыраженными процессами миграции и кооперации Т- и В-лимфоцитов. Показано, что синтетические полимеры поли-4-винилпиридин и полиакриловая кислота усиливают миграцию и кооперацию Т- и В-клеток при иммунном ответе. Введение этих полимеров мышам разных линий приводит к значительному повышению иммунного ответа у животных низкорреагирующих генотипов. У мышей высокорреагирующих генотипов стимулирующее действие

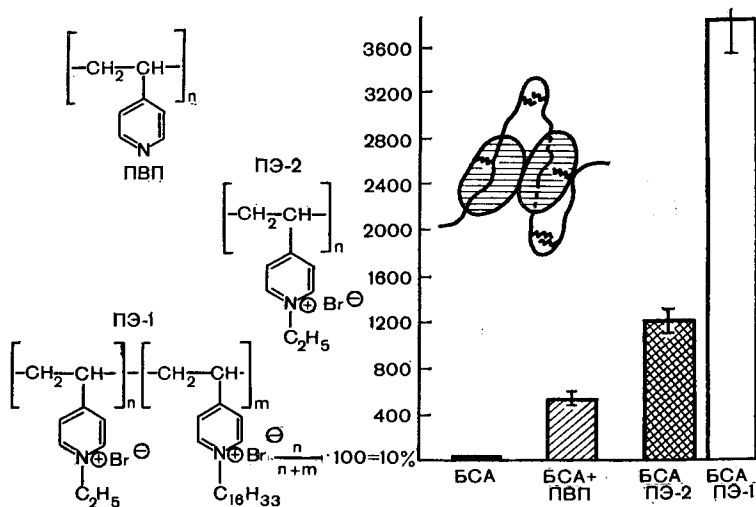


Рис. 72. Структура комплекса бычьего сывороточного альбумина с производными поли-4-винилпиридина и иммунный ответ на эти комплексы. По оси ординат — антителиобразующие клетки.

полимеров проявляется не столь значительно, или вообще не наблюдается. Комплексообразование гаптенной группы, например ДНФ, с неприродными поликатионами, каковыми являются производные поли-4-винилпиридина, обеспечивает получение в полном смысле искусственных антигенных молекул. Эти антигены характеризуются тимуснезависимостью и стимулируют высокий иммунный ответ у представителей различных генотипов. Столь же высокоиммуногенные тимуснезависимые антигены получены путем конъюгирования низкоиммуногенных белков (альбуминов) с производными поли-4-винилпиридина.

На рис. 72 приведена структура комплекса альбумин-полимер и выраженность первичного иммунного ответа, 50-кратно превышающего по уровню антител иммунный ответ на чистый альбумин.

В заключение следует подчеркнуть наиболее важные в научно-практическом отношении нерешенные проблемы: 1) дальнейшая идентификация генов иммунного ответа у различных видов с уточнением механизмов осуществляемого ими контроля; 2) определение генетически обусловленной силы иммунного ответа на тот или иной конкретный антиген до иммунизации; 3) перевод генетически низкореагирующих особей в высокореагирующие и наоборот; 4) принцип индивидуализации вакцин, в соответствии с которым одни особи иммунизируются по одним схемам, другие — по другим.

ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ

Основной феномен и его открытие

Прежде чем описывать закономерности и проявление трансплантационного иммунитета, следует рассмотреть некоторые термины. При пересадках тканей, например кожи, с одного места на другое в пределах одного индивидуума говорят об ауто трансплантате. В случаях, когда донором служит организм другого вида, пересаживаемую ткань называют ксеногенным трансплантатом, или гетеротрансплантатом. Если в качестве донора используется организм того же вида, что и реципиент, возможны два варианта. Первый—типичный, когда донор и реципиент генетически чужеродны друг другу, т. е. отличаются хотя бы по одному гену: пересаживаемая ткань называется аллогенным трансплантатом, или гомотрансплантатом. Второй — редкий, или экспериментальный, когда донор и реципиент генетически тождественны. Такая ситуация бывает в двух случаях: или донор и реципиент — идентичные близнецы, развивающиеся из одной оплодотворенной яйцеклетки, или они принадлежат к одной генетически чистой линии животных. Последнее наблюдается только в экспериментальных условиях при работе с инбредными линиями животных. В обоих случаях пересаживаемая ткань называется сингенным трансплантатом или изотрансплантатом.

При пересадке генетически чужеродной — аллогенной, или ксеногенной, ткани развивается реакция со стороны организма хозяина, направленная на отторжение трансплантата. Особенно демонстративно феномен воспроизводится на каждом трансплантате у млекопитающих.

В течение 1—2 дней в лоскуте аллогенной кожи устанавливается сосудистое кровообращение с подлежащими тканями реципиента, лоскут сливается краями с кожей хозяина. Первые 4—5 дней пересаженная кожа кажется прижившей. К 6—7-му дню аллотрансплантат становится отечным, и с этого момента его внешний вид прогрессивно ухудшается. Появляются признаки прекращения кровотока в сосудах, развивается застой, возникают геморрагии; большое число мононуклеарных клеток (в основном лимфоцитов) выходит из кровеносных сосудов в дерму трансплантата. Геморрагии становятся более распространенными; трансплантат резко отекает, становится твердым, изменяется его цвет; эпидермис и волосные фолликулы подвергаются дегенеративным изменениям с полной деструкцией эпителия на 10—11-й день (рис. 73).

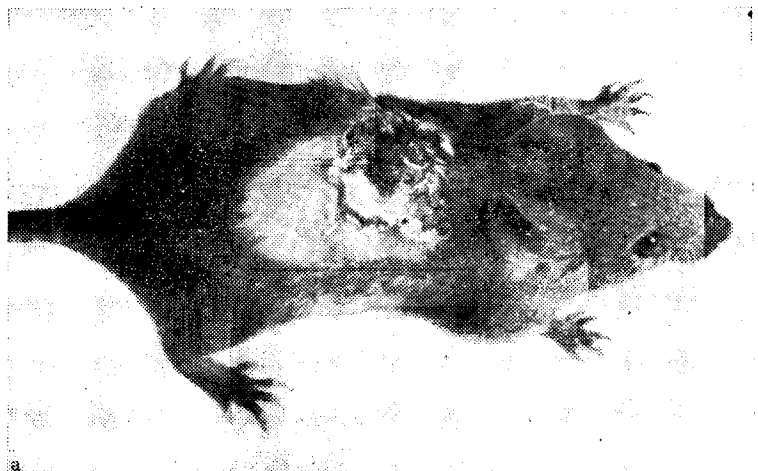


Рис. 73. Внешний вид отторжения аллогенного кожного лоскута (а); сингенный лоскут прижил (б).

Вторичный трансплантат от того же донора отторгается в среднем вдвое быстрее первого (без обычного латентного периода). Эта закономерность подтверждена в экспериментах на животных, находящихся на разных ступенях эволюции, начиная от рыб и холоднокровных и кончая млекопитающими и человеком.

Более быстрое отторжение вторичного трансплантата получило название феномена *second set* (табл. 27). Ускорение отторжения при *second set*-реакции связано с тем, что на-

Объект исследования	Выживание кожного трансплантата, дни	
	первичный	вторичный
Мыши линий:		
C57BL → B10D2	9	6
C57BL → B10LP	25	8
Морские свинки	6—9	4—5
Кролики	7—9	4—6
Тритоны	23	15
Рыбы:		
при температуре воды 10°C	40	20
» » 15°C	25	15
Человек	8—12	4—5

чальная васкуляризация трансплантата быстро сменяется тромбозом сосудов и некрозами. Наиболее выраженной формой second set-реакции является форма отторжения по типу белого трансплантата (white graft). В этом случае трансплантат не васкуляризуется, не гранулирует — остается тонким и «белым». Процессы деструкции развиваются практически сразу после пересадки. Отторжение по типу белого трансплантата наблюдается и в том случае, когда первым трансплантатом служила другая ткань того же донора.

Эти явления свидетельствуют о том, что отторжение второго трансплантата проходит по типу предварительной иммунизации организма реципиента в результате первой трансплантации. Этот иммунитет характеризуется специфичностью и распространяется только на ткани того организма, который был донором первого трансплантата.

Открытие феномена second set — основного феномена трансплантационного иммунитета, связано с именем английского ученого лауреата Нобелевской премии П. Медавара. Именно он «нанес на карту иммунологии» несовместимость ткани при пересадках, доказав ее иммунную природу. Будучи профессором зоологии Лондонского университета, он разрабатывал вместе с хирургами методы трансплантации кожи для лечения ожогов. Исследователи наблюдали, что повторные трансплантаты от того же донора отторгаются ускоренно. Последовала серия экспериментов по проверке гипотезы об иммунной природе отторжения. В 1944 г. П. Медавар опубликовал основополагающую статью «Поведение и судьба кожных трансплантатов у кроликов». В этой работе было доказано, что «механизм, посредством которого элиминируется чужеродная кожа, принадлежит к общей категории активно приобретенных иммунных реакций».

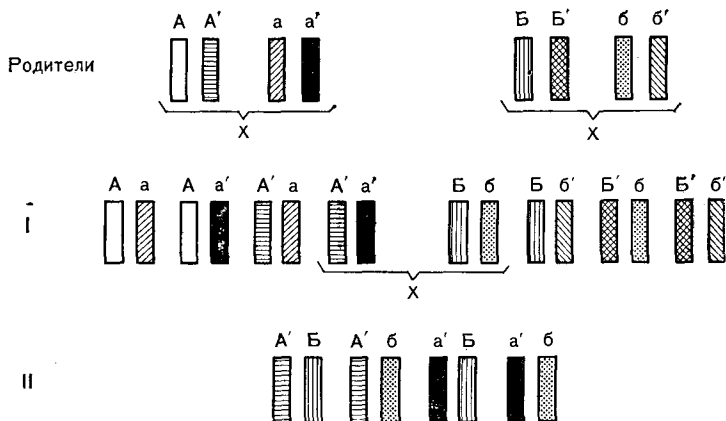


Рис. 74. Перегруппировка гомологичных хромосом в поколениях при случайном скрещивании.
I и II — поколения.

Чистопородные животные

Нетрудно представить, как важны для изучения вопросов, связанных с пересадкой тканей, идентичные в антигенном отношении животные: не только потому, что между ними, как между однойяйцевыми близнецами, успешно проходят пересадки клеток, тканей и целых органов, но и по другим причинам.

В идеальном случае экспериментатор во время каждого опыта должен точно знать, что животные данной группы идентичны между собой, но отличаются по антигенному строению тканей от животных другой группы, которые между собой тоже идентичны. Необходимо знать степень этих отличий и факторы, их определяющие. Этой цели служат животные различных чистых линий (инбредные), т. е. таких пород, все особи которых антигенно тождественны как однойяйцевые братья или сестры-близнецы. Чтобы понять принцип создания чистых линий животных, необходимо в общих чертах коснуться вопросов наследственности.

Каждая хромосома несет большое количество генов, определяющих тот или иной признак, поэтому перегруппировка хромосом в новые наборы обеспечивает у потомков новые комбинации признаков. Вот почему дети одних и тех же родителей отличаются друг от друга — каждый из них имеет особым образом составленный набор хромосом.

На рис. 74 можно проследить переход из поколения в поколение только одной пары хромосом, несущих гены, определяющие какую-то группу признаков, например, интересу-

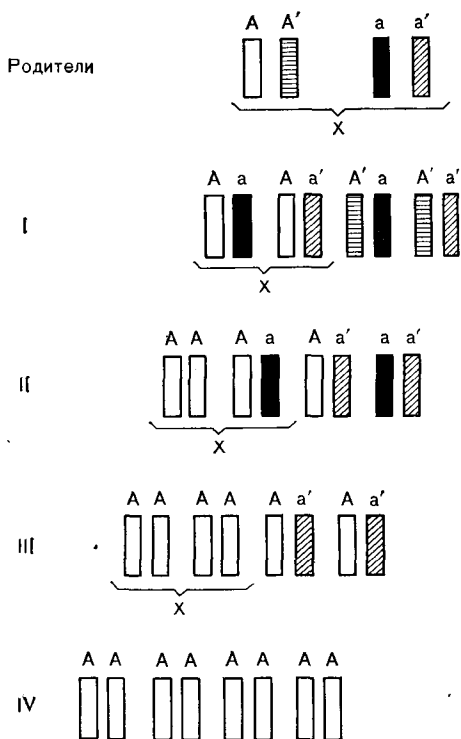


Рис. 75. Перегруппировка гомологичных хромосом при инбридинге. I—IV — поколения.

ющую нас антигенную дифференцировку, являющуюся причиной несовместимости тканей.

Предположим, что у отца пара хромосом A и A', у матери аналогичная пара — a и a'. Половые клетки родителей будут содержать по одной хромосоме из двух: A или A' и a или a'. Дети могут получить следующие пары: Aa, Aa', A'a или A'a'. У других родителей соответствующую пару хромосом обозначим B и B' (отец), b и b' (мать). У их детей могут возникнуть сочетания Bb, Bb', B'b или B'b'. Предположим, что дети A'a' и Bb из этих двух семей стали родителями. Тогда у внуков пара хромосом может сочетаться в одном из следующих вариантов: A'B, A'b, a'B или a'b. Поскольку хромосом много и в каждой из них огромное число вариантов

генов, бесконечно много совершенно своеобразных хромосомных наборов, совершенно своеобразных генотипов, число возможных комбинаций превышает современное население Земли.

Естественно, что практически нет идентичных людей, за исключением однойцевых близнецов. Среди людей существует бесконечное число антигенных индивидуальностей. Вот почему ткани одного человека по антигенному строению отличаются от тканей другого и не приживаются на пересадках.

Генетики нашли способ экспериментально создавать животных с практически идентичными парами хромосомных наборов, по крайней мере идентичными по интересующим нас факторам, определяющим антигенное строение. Каждая пара хромосом состоит из двух тождественных не только по форме и расположению генов, но и по каждому гену — в обеих хромосомах одни и те же аллели генов. Такие животные гомозиготны по всем основным признакам и называются

ся инбредными, или чистолинейными. Одними из первых линий мышей были DBA, выведенная в 1909 г., и BALB/c, выведенная в 1913 г. В последующие годы были созданы десятки линий [Медведев Н. Н., 1964]. Для их создания пользуются длительным внутрисемейным скрещиванием. Самцов и самок одного помета скрещивают между собой. Из полученного помета берут брата и сестру и скрещивают. И так поступают с несколькими поколениями. Появляется все большее число гомозиготных особей. Наконец, все животные становятся чистолинейными (рис. 75). Практически это протекает дольше, так как пары для скрещивания не всегда могут быть подобраны так успешно, да и хромосом в клетках большинства организмов более двух. Вот почему для выведения чистых линий животных проводят гораздо больше братско-сестринских скрещиваний. Например, чистой линией мышей считаются мыши после 20-го поколения внутрисемейных скрещиваний. После 20-го поколения инбридинга дается сообщение в печать о выведении новой чистой линии мышей. Некоторые исследователи считают рубежом 40-е поколение. Десятки линий поддерживаются уже более чем 100 поколениями братско-сестринских скрещиваний. Число поколений инбридинга является важным показателем чистоты линии и носит название «инбредный возраст» линии. В питомниках разных стран поддерживают несколько сотен различных чистых линий разных видов животных.

Генетические законы совместимости тканей

Простейшие опыты по трансплантации кожи или других тканей на чистолинейных животных иллюстрируют основные генетические законы трансплантации. Представим себе инбредные линии А и В. Вследствие гомозиготности генотип первой линии может быть обозначен АА, второй — ВВ. Если скрестить особи АА и ВВ, то получится потомство гибридов первого поколения (F_1), генотип которых будет АВ. Мы уже знаем, что трансплантации тканей между генетически идентичными особями не инициируют реакций трансплантационного иммунитета. Пересадки от АА к АА, от ВВ к ВВ или от АВ к АВ всегда успешны. Рис. 76 иллюстрирует результаты пересадок в случае генетических различий между донором и реципиентом. В качестве обобщения можно привести основные генетические законы трансплантации.

1. Сингенные трансплантаты тканей успешно приживают. Например, кожа от мышей линии СВА приживает на всех особях данной линии того же пола.

2. Аллогенные трансплантаты тканей, взятые от животных одной линии и пересаженные представителям другой линии, отторгаются. Так, кожа от мышей СВА неизбежно отторга-

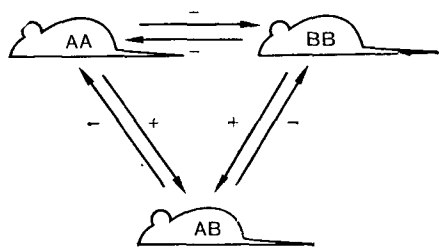


Рис. 76. Исходы трансплантации кожных лоскутов между родительскими линиями (AA и BB) и гибридами первого поколения (AB).

ется при пересадке особям любой группы линий СЗН, С57BL и т. д.

3. В гетерозиготном состоянии все гены, контролирующие синтез антигенов, проявляют свое действие; доминирование отсутствует или выражено лишь частично. Следствием этого закона является то, что в антигенном отношении фенотип организма повторяет его генотип.

4. На гибридах F_1 успешно приживают ткани, пересаженные от любой родительской линии животных, поскольку ткани родительской линии (AA или BB) не содержат ничего генетически дополнительного, чего не было бы в геноме гибрида первого поколения (AB). Пример: получен гибрид первого поколения от скрещивания представителей линий CBA и C57BL. При использовании полученных гибридов (CBA \times C57BL) F_1 в качестве реципиентов у них в 100% случаев приживает кожа мышей CBA или C57BL, но не животных других линий. Понятно, что это правило не распространяется на неинбредные популяции вследствие их гетерозиготности; поэтому у людей для ребенка антигенно чужеродными являются ткани как матери, так и отца.

5. Ткани гибридов первого поколения (AB), будучи пересажены на любую из родительских линий (AA и BB), отторгаются, так как они содержат антигены второй родительской линии — A или B.

6. На гибридах второго поколения, полученных от скрещивания двух конгенных линий мышей, частота приживления трансплантатов от родительских линий (3:1) иллюстрирует закон менделевского расщепления. Примером конгенных линий мышей является группа линий, выведенных Дж. Снеллом на основе C57BL/10 Sn. Эта линия характеризуется гаплотипом H-2^b. Конгенны ей мыши линии B10D2 (H-2^d). Конгенные или коизогенно резистентные линии мышей отличаются друг от друга только по главному комплексу гистосовместимости (см. главу VIII). Животные, идентичные по всему генотипу, но отличающиеся по отдельным генам той или иной области или субобласти главного комплекса гистосовместимости получены путем выявления рекомбинантных или мутантных особей (рекомбинантные и мутантные линии). Благодаря последним в арсенале генетиков и иммунологов имеется огромная коллекция линейных мышей, отли-

чающихся по единственным точно картированным генам главной системы гистосовместимости.

Материальным субстратом несовместимости являются внутривидовые различия тканевых антигенов, т. е. изоантигены и их комбинации.

Закономерности распределения и наследования изоантигенов, иллюстрирующих антигенную индивидуальность организмов, удобно рассмотреть на примере эритроцитарных изоантигенов человека как наиболее изученной системы.

Впервые изоантигены эритроцитов описал К. Ландштейнер в 1901 г. Это наблюдение легло в основу деления людей на четыре группы: 0, А, В и АВ по изоантигенной системе АВ0. К настоящему времени изучено 14 систем, включающих более 70 изоантигенов. На рис. 77 приведены только основные системы и разновидности изоантигенов, даны их обозначения. Распределение этих антигенов среди людей таково, что двух тождественных индивидуумов, кроме идентичных близнецов, нет.

Генетическая детерминированность антигенов характеризуется известной формулой: один ген — один антиген. Различные системы, показанные на рис. 77, включают разное количество аллельных генов. Система Льюис состоит из одной пары (Le^a и Le^b) аллельных генов. Таковы же системы Келл, Даффи. Система АВ0 состоит из одной пары полиаллельных генов; основные аллельные варианты — А, В и 0; кроме того, существуют варианты A_1 , A_2 , A_3 , A_x , B_w и др.

Система резус особенно сложна. Она включает несколько пар полиаллельных генов: одна пара Dd с вариантами D и D^c , вторая — Cc с вариантами C^w , C^x , C^u , третья — Ee с вариантами E, E^w и др. Во всех случаях каждый ген наследуется независимо. Однако вследствие тесного сцепления генов системы резус та или иная комбинация изоантигенов резус (например, CDE или cde) наследуется вместе.

Уже указывалось, что одной из характерных закономерностей наследования изоантигенов является отсутствие доминантности, вследствие чего фенотип полностью повторяет генотип. Иначе говоря, наличие любого гена, контролирующего синтез соответствующего антигена, всегда сопровождается наличием данного антигена в тканях. Это правило дает возможность использовать анализ эритроцитарных антигенов для исключения отцовства. Например, если изоантигеновый состав эритроцитов отца 00, MN, SS, dd, CC, ee, а матери АВ, MM, SS, dd, cc, Ee, то возможные комбинации эритроцитарных антигенов у детей таковы: А0, MM, SS, dd, Cc, Ee или В0, MN, SS, dd, Cc; ee; невозможные комбинации: 00, NN, SS, Dd, CC, EE или АВ, NN, SS, DD, cc, EE.

Эритроцитарные изоантигены полностью не отражают картину антигенной дифференцировки тканей. Кроме того, эти

ABO	MN	Ss	Резус			Нелл-Неллано	Льюис	Даффи	Лютеран	Рr	Нидд	Джей
АВО	M	S	D	C	E	Le ^a	K	Fy ^a	Lu ^a	P	Jk ^a	Tj ^a
АВО	N	s	d	c	e	Le ^b	k	Fy ^b	Lu ^b	p	Jk ^b	Tj ^b

Рис. 77. Основные изоантигены человеческих эритроцитов и их системы.

факторы не в одинаковой мере ответственны за несовместимость тканей при пересадках. Так, несовместимость по системе АВО отчетливо сказывается на продолжительности жизни аллогенных трансплантатов. Несовместимость по системе Даффи или Лютеран не обеспечивает достоверного укорочения жизни гомотрансплантатов. В системе резус наибольший удельный вес в стимулировании реакций трансплантационного иммунитета имеет фактор D, наименьший фактор С, а антиген Е играет еще менее существенную роль.

Приводя эти примеры, необходимо отметить следующее. Во-первых, различна значимость разных изоантигенов в определении трансплантационной несовместимости; во-вторых, помимо эритроцитарных изоантигенов, в тканях имеются другие, в большей мере ответственные за их несовместимость при пересадках. Эти антигены получили название трансплантационных. Их также называют антигенами гистосовместимости.

Локусы гистосовместимости и понятия гаплотип-фенотип

Помимо рассмотренного в главе VIII главного комплекса гистосовместимости, у млекопитающих имеются другие генетические структуры, контролирующие синтез трансплантационных антигенов. Они носят название Н-локусов (или Н-генов) и наиболее полно изучены у мышей. Локусов гистосовместимости у этих животных не менее 14. Подробно обследовано пять из них: Н-1, находящийся в 1-й хромосоме; Н-2, локализующийся в 17-й хромосоме (IX группа сцепления); Н-3 в V группе сцепления; Н-4, локализация которого пока неясна; локус Y-хромосомы. Антигены, контролируемые последним локусом, нередко называют секс-антигенами.

У кроликов обнаружено семь локусов гистосовместимости, у кур — 2—3, у рыб — 3—4.

Особенность этих локусов состоит в том, что гены внутри локуса тесно сцеплены между собой и ведут себя при гибридологическом анализе как элементарная генетическая единица. Вот почему до недавнего времени каждый Н-локус отождествляли с одним геном. С помощью серологического

анализа были выяснены детали строения локусов гистосовместимости. Комбинации генов в локусе называют гаплотипами и обозначают буквами, например H-2^b, H-2^k и т. д. Гаплотип — это гаплоидный тип комбинации, т. е. сочетание генов в одной из двух парных хромосом. Гетерозиготные особи несут два гаплотипа.

Значение различных локусов гистосовместимости иллюстрируется длительностью выживания кожных гомотрансплантатов при подборе соответствующих доноров и реципиентов. В этих случаях используют коизогенные пары мышей с различиями по данным конкретным локусам.

Таблица 28

Длительность жизни трансплантатов в зависимости от различий в локусах или по локусу, сцепленному с Y-хромосомой

Донор	Реципиент	Локус	Средняя продолжительность жизни, дни
B10. D2	C57BL/10	H-2	9
C57BL/10	B10.LP	H-3	25
B10.LP	C57BL/10		31
C57BL/10	B10.129 (M)	H-1	32
B10.129 (5M)	C57BL/10		50
C3H. K	C3H	H-1	36
C3H	C3H.K		91
♂A	♀A	Y	51
♂A	♀A		75
♂BALB/c	♀BALB/c	Y	28
♂CBA	♀CBA		325
♂C3H	♀C3H		40
♂C57BL	♀C57BL		27

Как показано в табл. 28, значение различных локусов гистосовместимости в определении трансплантационного иммунитета неравнозначно. У мышей основную роль в феномене несовместимости играет локус H-2; локусы H-1, H-3, H-4 и др. проявляют себя относительно слабо. В пределах главного комплекса гистосовместимости различные гены встречаются с разной частотой.

В табл. 30 приведена частота встречаемости генов, детерминирующих некоторые HLA-антигены среди жителей разных стран. Поскольку при серологическом типировании доноров и реципиентов чаще всего определяют антигены, кодируемые генами областей HLA-A и HLA-B, то на примере именно этих генов и антигенов целесообразно проиллюстрировать понятие «генотип — гаплотип — фенотип» (рис. 78). Поскольку гены всей системы HLA тесно сцеплены между собой, они, как правило, наследуются как единый гаплотип.

Таблица 29

Наиболее часто и редко встречающиеся гаплотипы HLA

Часто встречающиеся		Редко встречающиеся	
гаплотип	%	гаплотип	%
A1-B8	6,7	A1-B18	0,1
A3-B7	4,0	A3-B13	0,1
A2-B12	3,7	A10-B10	0,1
A2-B5	2,4	A10-B15	0,1
A2-B7	2,2	A11-B13	0,1
A3-B5	2,1	A28-B13	0,1
A2-B15	2,0	A28-B18	0,1

Частота встречаемости тех или иных гаплотипов различна (табл. 29). Наиболее распространены гаплотипы A1-B8, A3-B7, A2-B12.

Таблица 30

Частота встречаемости некоторых генов системы HLA среди жителей разных стран (по Ю. М. Зарецкой, 1974)

Антигены	Частота гена в популяциях					
	французы	русские	норвежцы	американцы	японцы	индусы
HLA-A						
A1	0,12	0,134	0,134	0,125	0,00	0,174
A2	0,32	0,238	0,378	0,265	0,25	0,195
A3	0,17	0,117	0,174	0,145	0,01	0,165
A9	0,10	0,100	0,112	0,105	0,375	0,139
A10	0,06	0,095	0,024	0,055	0,08	0,10
A11	—	0,067	0,054	0,060	0,09	0,119
HLA-B						
B5	0,07	0,163	0,027	0,12	0,11	0,139
B7	0,16	0,139	0,149	0,10	0,03	0,061
B8	0,08	0,073	0,106	0,09	0,00	0,024
B12	0,24	0,128	0,144	—	—	0,073
B13	—	0,073	0,012	—	0,08	0,048

Естественно, что наиболее часто встречающиеся фенотипы представляют собой комбинации наиболее часто встречающихся гаплотипов и наоборот. Расчеты Ж. Доссе (1971) показывают, что при учете 11 аллелей HLA-A и 17 аллелей HLA-B число возможных гаплотипов равно 187, генотипов — 17 578, а фенотипов — 7672. Вот почему возможность нахождения идентичного донора в случаях редких гаплотипов равна 1 : 7000.

Области HLA	Генотип	Гаплотип	Фенотип
HLA-A HLA-B	1,2,5,7	1-5 и 2-7	1,2,5,7
HLA-A HLA-B	1,1,5,7	1-5 и 1-7	1,5,7
HLA-A HLA-B	1,1,5,5	1-5 и 1-5	1,5

Рис. 78. Соотношение понятий генотип—гаплотип—фенотип по А- и В-областям системы HLA (для примера взяты антигены 1,2 А-области и 5,7 В-области).

Локализация трансплантационных антигенов

Итак, у мыши и человека главная система гистосовместимости представлена двумя гаплотипами двух гомологичных хромосом. Каждый гаплотип представляет сочетание генов в той или иной аллельной форме. Каждая аллельная форма гена контролирует синтез одного из аллоантигенов, т. е. варианта одной и той же антигенной молекулы. Продукты аллеломорфов одного и того же гена, естественно, должны иметь общий план строения. Отличия между вариантами могут быть лишь в деталях, поскольку главные различия между молекулами антигенов обусловлены поверхностными антигенными детерминантами. Изолированы и охарактеризованы антигенные молекулы, контролируемые генами областей H-2K и H-2D главной системы гистосовместимости мыши и их гомологи системы HLA человека, антигены, контролируемые областями HLA-A и HLA-B. Это так называемые SD антигены, т. е. антигены, выявляемые серологически. Они являются гликопротеидами, их структура была описана в главе VI (см. рис. 35).

Распределение трансплантационных антигенов в клетках различных тканей человека неодинаково. Больше всего их в клетках лимфоидных тканей — селезенке и лимфатических узлах. На втором месте по концентрации HLA-антигенов стоят ткани печени и легких, затем следуют кишечник, почки, сердечная мышца, желудок, аорта и мозг. В жировой тка-

ни и на эритроцитах антигенов системы HLA не обнаружено. Это единственное исключение из общего правила обязательности наличия трансплантационных антигенов на клетках. Мышечные эритроциты содержат большое количество антигенов H-2K и H-2D.

Из антигенов, контролируемых генами других областей главного комплекса гистосовместимости (в частности I у мышей и D у человека), изолированы и исследованы мышечные Ia-антигены. Это гликопротеиды. Они также имеют единый план строения (см. рис. 35) с наличием большого разнообразия специфичностей.

Внутриклеточная локализация трансплантационных антигенов окончательно не выяснена. Основная их масса локализована на поверхностных клеточных мембранах. Трансплантационные антигены составляют менее 1% веществ мембраны.

Изолированные в чистом виде трансплантационные антигены уже используются для некоторых лабораторных целей и в клинике в качестве четко очерченного материала для выявления аутоантител при некоторых аутоиммунных расстройствах. Перспектива их практического применения велика: блокада сенсибилизированных лимфоцитов и антител, индукция специфической толерантности и другие способы преодоления несовместимости тканей при пересадках.

Значение системы HLA при трансплантации органов.

Практические успехи в области пересадки органов от человека человеку связаны с двумя достижениями иммунологии. Первое — отработка схем медикаментозной иммунодепрессии, позволившей значительно подавлять функционирование иммунной системы реципиента (см. главы XI и XXI). До применения иммунодепрессантов все попытки пересадки органов (в частности, почек) заканчивались их отторжением в пределах 2—6 нед после трансплантации. Исключение составляли только органы или ткани, взятые от идентичных близнецов. Назначение иммунодепрессивных средств отодвинуло сроки отторжения пересаженной чужеродной почки на несколько месяцев, а в определенном проценте случаев на несколько лет. На рис. 79 приведены данные о выживаемости реципиентов почек в условиях интенсивной медикаментозной иммунодепрессии, которая из года в год совершенствовалась.

Второе достижение иммунологии, обеспечившее с толь выраженный успех практической трансплантации, связано с расшифровкой главной генетической системы гистосовместимости у человека, отработкой методов типирования антигенов гистосовместимости и подбора доноров (рис. 80). Так, несовместимость донора почек по 1 антигену системы HLA обеспечивает успех приживания почки в течение года у 85% ре-

ципиентов; несовместимость по 2 антигенам и более — только у 50%.

Выше указывалось, что вероятность нахождения идентичного по всем антигенам HLA индивидуума чрезвычайно мала. Вероятность возрастает в несколько раз в связи с тем, что донором может служить индивидуум, ткани которого не идентичны, но не содержат дополнительных антигенов. Например, совместимым и донорами почки для реципиента HLA 1, 2, 5, 7 являются индивидуумы с фенотипом HLA 1, 5, 7; 1, 2, 5; 2, 5, 7; 1, 2 или 5, 7.

Проблема поиска донора для данного реципиента решается следующим образом. В случае пересадки почки решение основано на принципе подбора реципиента к имеющемуся на данный момент донору. Это возможно благодаря вошедшим в практику высокоэффективным аппаратам «искусственная почка». С помощью этих аппаратов больные, нуждающиеся в пересадке почки, могут ожидать операцию в течение нескольких месяцев,

систематически подключаясь к искусственной почке. Чем больше больных ожидает пересадки, тем больше шансов, что почка любого случайно возникшего донора окажется HLA-совместимой для одного из больных. Чаще всего донорами служат люди, погибшие от случайных травм. Организационная задача состоит в том, чтобы быстро отыскать того больного, которому подойдет данная почка. Для этого созданы международные центры, снабженные электронно-вычислительными машинами, хранящими информацию о

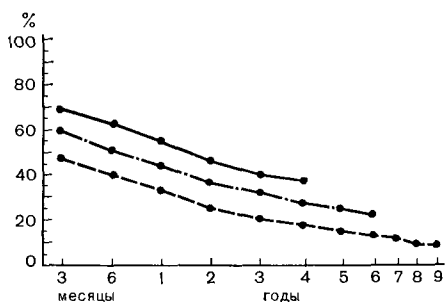


Рис. 79. Выживание почечных трансплантатов при использовании неродственных доноров.

По оси абсцисс — время после пересадки, по оси ординат — количество функционирующих трансплантатов.

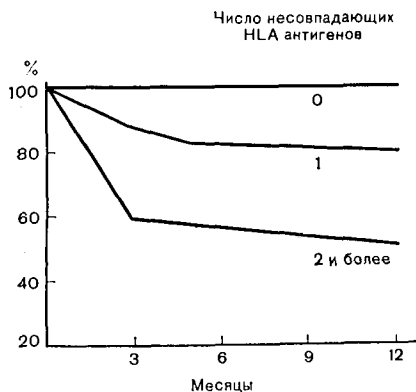


Рис. 80. Выживание почечных трансплантатов при различной несовместимости доноров и реципиентов по системе HLA.

По оси абсцисс — время после пересадки, по оси ординат — количество функционирующих трансплантатов.

всех ожидающих пересадку. В течение нескольких минут могут быть найдены имя подходящего больного, город и клиника, где он находится. Подходящую почку направляют именно туда. В специальных условиях почка может находиться вне организма 2—3 сут. Первый такой центр — «Евратрансплантат» организовал проф. Дж. Ван Руд в Лейдене в 1968 г. Для достаточно эффективного подбора необходимо иметь на учете несколько сотен больных, ожидающих пересадку. Если иметь выбор из 1000 больных, то почти любая почка (90%) будет подходящей для кого-либо из больных, т. е. будет отличаться не более чем по одному антигену HLA. При пересадках без типирования такая степень совместимости будет встречаться не чаще, чем в 5—7 случаях из 100.

Для внедрения в практическую медицину операций пересадки почек созданы благоприятные условия. Трансплантация таких органов, как сердце, печень, легкие, более сложная проблема. Отсутствие соответствующих долгорботающих искусственных органов и невозможность длительного сохранения трансплантатов вне организма делают организационно неприемлемым эффективный подбор донора. Кроме того, данные органы оказались более чувствительными и к реакциям отторжения и к неблагоприятному действию иммунодепрессивных препаратов, поэтому внедрение их пересадки в практику пока ограничено.

Типирование гистосовместимости донора и реципиента.

Лимфоциты несут на своей поверхности антигены гистосовместимости, определяемые серологически (HLA-A, B, C) и реакцией бласттрансформации в смешанных культурах (HLA-D). Как указывалось, первая группа антигенов называется серологически определяемой, вторая — определяемая лимфоцитами. Основным методом в первом случае — цитотоксический тест, во втором — смешанная культура лимфоцитов с однонаправленной реакцией (см. главу IX).

Для определения серологически выявляемых антигенов системы HLA необходим большой выбор специфических анти-HLA сывороток. Это связано не только с тем, что в человеческой популяции имеется несколько десятков изоантигенов данной системы. Большая коллекция сывороток необходима еще и потому, что против каждого антигена нужно иметь несколько антисывороток, постоянно включая их в реакцию типирования. Только в том случае, если несколько сывороток выявляют данный антиген, можно быть уверенным в правильности заключения. Необходимость использования нескольких сывороток против каждого антигена объясняется тремя причинами. Во-первых, никогда нет гарантии, что данная антисыворотка, например против антигена A2, моноспецифична. Она может содержать антитела против неизвестного, еще неоткрытого антигена. Во-вторых, существует еще

нерасшифрованное явление перекрестных реакций между некоторыми антигенами системы HLA, имеющее место при использовании одних сывороток и отсутствующее в реакциях с другими сыворотками. В-третьих, большинство типизирующих сывороток заведомо не моноспецифичны, а содержат антитела сразу к двум антигенам (например, A2 и A9). Это объясняется тем, что главным источником типизирующих сывороток служат роженицы, в крови которых накапливаются антитела против антигенов HLA плода. Обнаружение позитивных сывороток — явление нечастое, а моноспецифических — очень редкое. Вот почему поиск и коллекционирование сывороток ведутся непрерывно большими коллективами иммунологов при обязательном международном сотрудничестве (сравнение специфичностей, единая номенклатура, обмен сыворотками).

Уже было показано значение полной идентичности донора и реципиента по системе HLA при пересадках почек. Здесь следует подчеркнуть одно весьма важное обстоятельство. У того или иного человека может одновременно присутствовать не более 6 и не менее 3 антигенов системы HLA. Если фенотипически обнаруживаются шесть антигенов, это значит, что особь гетерозиготна по A, B и C сублокусам системы. Иначе говоря, фенотипически идентифицируется генотип («полный дом»). При этом исследователь уверен, что у данного индивидуума выявлены все SD-антигены системы HLA.

Если серологически обнаруживается 5, 4 или 3 антигена, то возможны две ситуации: или индивидуум гомозиготен по одному, двум или трем сублокусам, или у него имеются антигены, которые исследователь не может выявить (отсутствие какой-либо антисыворотки или встреча с неизвестным, еще не открытым антигеном). Понятно, что в практике пересадки органов тождественность при ситуации «полный дом» у донора и реципиента дает полную уверенность в HLA-совместимости. При выявлении меньшего числа антигенов всегда остается вероятность неполной совместимости.

Поскольку антигены, контролируемые генами локуса HLA-D не выявляются серологически, но играют важную роль в стимулировании трансплантационного иммунитета, полноценное типирование требует постановки реакции бласттрансформации в смешанной культуре лимфоцитов. Идеальный случай — совместимость по HLA-A, B, C и D антигенам. Это событие весьма редкое, однако его следует искать, особенно при трансплантациях между родственниками.

В главе VIII было рассказано о существовании антигенов DR, которые подобно мышиным Ia-антигенам, локализируются преимущественно на B-лимфоцитах и выявляются анти-DR-сыворотками. Вопрос об их идентичности выявляемым в микст-культуре D-антигенам окончательно не решен. Однако

практически во всех случаях имеет место совпадение результатов (см. табл. 16). Замена реакции бласттрансформации в микст-культуре серологическим тестом существенно упрощает проблему типирования по антигенам HLA-D.

Типирование людей по антигенам HLA с помощью типизирующих сывороток — относительно не сложная процедура, занимающая всего несколько часов. Типирование антигенов, выявляемых лимфоцитами, гораздо более сложная процедура. Она требует наличия свежих лимфоцитов специально подобранных тест-доноров, условий для культивирования смешанных культур лимфоцитов и продолжается несколько дней.

Помимо антигенов системы HLA, которые содержатся на лимфоцитах, гранулоцитах и тромбоцитах, в последние годы интенсивно исследуется новая категория антигенов лейкоцитов, обнаруженных только на гранулоцитах. Эти антигены названы гранулоцитарными и обозначены NA-NB. К настоящему времени достаточно полно изучены три антигена гранулоцитов: NA-1, NA-2, NB-1; частота встречаемости их в популяции составляет соответственно 58, 85 и 96%.

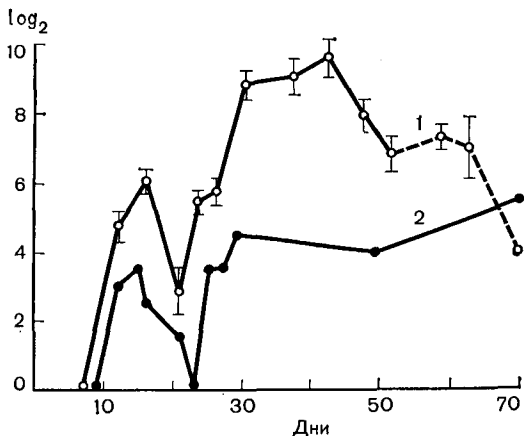
Гранулоцитспецифические антигены имеют большое значение в практике переливания крови: при повторных гемотрансфузиях они часто обуславливают появление против них антител. Это направление в Советском Союзе плодотворно разрабатывается Е. А. Зотиковым и сотр. [Зотиков Е. А. и др., 1975] в Центральном институте гематологии и переливания крови. Ими, в частности, был выявлен один из указанных антигенов гранулоцитов (NA-2).

Выработка антител после трансплантации

В 1937 г. П. Горер в экспериментах, ныне считающихся классическими, установил, что отторжение опухолевого трансплантата сопровождается образованием у реципиента гемагглютининов к эритроцитам донорской линии. С тех пор в многочисленных опытах было показано, что при аллотрансплантациях нормальных и опухолевых тканей у реципиента появляются гуморальные антитела против тканей донора — полные и неполные: гемагглютинины, лейкоагглютинины, цитотоксины. Е. А. Зотиков (1964) детально изучил и описал появление полных и неполных антител у людей, получивших трансплантаты кожи, в том случае, когда донор и реципиент отличались по групповым антигенам крови. Аналогичные данные получены при гомотрансплантации кожи больным сожгами и механическими травмами. Антитела появляются через 3—16 дней, достигая максимального уровня на 6—30-й день после пересадки.

Рис. 81. Титры антител в крови мышей линии СВА после троекратной трансплантации кожных лоскутов от доноров линии А.

Вторая трансплантация произведена через 3 нед после первой, третья — через 6 нед; 1 — изогемагглютинины; 2 — цитотоксины. По оси абсцисс — время после пересадки первого трансплантата; по оси ординат — титры антител.



На рис. 81 показано появление антител в крови мышей линии СВА после первичной, повторной и третьей трансплантаций кожи от доноров линии А (Миклем Х., Лоутит Дж., 1966). Несомненно, появление гуморальных антител при трансплантации обусловлено тканевой несовместимостью. Показано, что появляются антитела IgM и IgG, причем антитела IgG появляются на 2—3 дня позже, чем антитела IgM. Однако роль антител в трансплантационном иммунитете определить непросто. Являются ли они феноменом, сопровождающим отторжение трансплантата, или активно участвуют в трансплантационной реакции?

Впервые возможность «острого отторжения» аллогенных кожных трансплантатов под влиянием инъекции большого количества иониммунных сывороток была доказана в лаборатории М. Гашека в 1962 г. В настоящее время понятие «острое» или «сверхострое» отторжение широко бытует в хирургических клиниках, занимающихся пересадкой почек. Часть таких быстрых — в первые же дни после трансплантации, отторжений, безусловно, связана с наличием в крови предрасполагающих изоантител. Причинами наличия этих антител могут быть ранее производимые гемотрансфузии, беременность или иммунизация микроорганизмами, несущими гетероантигены, тождественные трансплантационным антигенам донора почки. Отрицательное влияние предрасполагающих лимфотоксинов или антител против антигенов системы HLA на отдаленные результаты почечной трансплантации демонстрируют следующие данные. Более чем у 25% больных, в крови которых перед пересадкой почки имелись циркулирующие антитела, трансплантат отторгся в течение первых 6 мес, примерно у 50% — к концу 2-го года. Соответствующие показатели для группы оперированных больных на фоне отсутствия антител

составили всего лишь 15 и 18%. Подобное участие антител в реакциях отторжения трансплантатов — лишь одна сторона действия гуморальных антител. Другая группа фактов, известная ранее первой, свидетельствует о прямо противоположном эффекте.

Эффект усиления

Феномен усиления роста трансплантата (enhancement-эффект) известен с начала XX века. Первоначально он был замечен на опухолевых трансплантатах крысиных сарком и многократно воспроизведен на опухолях различных млекопитающих. Это явление заключается в следующем. Рост опухолевого трансплантата усиливается, если животному-реципиенту ввести экстракт их опухолевых клеток того же штамма или сыворотку животного, предварительно иммунизированного соответствующей опухолью. Была доказана строгая антигенная специфичность феномена: ткань, которая служит для иммунизации и используется для получения иммунной сыворотки, должна иметь одинаковую H-2-специфичность с тест-опухолью. Отсюда логически следовало, что субстанции, ответственные за эффект усиления роста, являются антигенами локуса H-2. Нормальная ткань, имеющая тот же локус H-2, что и тест-опухоль, также способна индуцировать эффект усиления. При этом оказалось возможным получить такой эффект не только на опухолевых, но и на нормальных (например, на кожных) трансплантатах.

Поскольку феномен усиления роста воспроизводится при введении иммунной сыворотки, он обязан своим возникновением гуморальным антителам, образующимся при развитии трансплантационного иммунитета. Предполагают, что антитела, индуцированные трансплантационными антигенами, соединяются с ними на поверхности клеток трансплантата. Такое соединение при отсутствии или нехватке комплемента не повреждает клетку, а, наоборот, экранирует ее от разрушающего действия сенсibilизированных лимфоцитов. Другое объяснение феномена основано на предположении, что антигены трансплантата, связываясь антителами в крови, оказывают меньшее иммунизаторное раздражение, в результате чего развитие клеточных реакций трансплантационного иммунитета замедляется.

Гуморальные антитела представляют, таким образом, сложный комплекс, который может оказывать на трансплантат прямо противоположные влияния. Так, иммунная сыворотка при определенных условиях ускоряет отторжение кожного трансплантата, в других случаях увеличивает продолжительность его жизни. Какие факторы определяют развитие реакции в ту или иную сторону, неясно.

В заключение подчеркнем, что ставить вопрос о том, участвуют ли гуморальные антитела в трансплантационном иммунитете, излишне. Экспериментальная практика ответила на него утвердительно. Можно спорить лишь о степени этого участия, т. е. о том, какой из механизмов является определяющим.

Соотношение клеточной и гуморальной реакций устанавливается, по-видимому, многими факторами, действующими в системе трансплантат-реципиент (интенсивность клеточной пролиферации, природа трансплантата и т. д.). Как правило, при первой трансплантации чужеродной ткани клеточная реакция индуцируется быстрее гуморальной. Можно предполагать, что в этом случае основной участник отторжения — клеточный компонент. При second set феномене гуморальные антитела, уже имеющиеся в организме после первой пересадки трансплантата и интенсивно продуцирующиеся вновь, имеют возможность действовать сразу же. Их роль при вторичной трансплантации возрастает.

Аллогенная ингибция

Термин «аллогенная ингибция» заменил ранее распространенный термин «сингенное предпочтение». Понятие сингенного предпочтения произошло из многочисленных наблюдений того, что клетки или ткани гомозиготных родительских линий, трансплантированные F_1 -гибридам, размножаются медленнее, чем при трансплантации в полностью сингенный организм. Термин «аллогенная ингибция» ввел К. Хеллштрём (1963). Эффект воспроизведен с трансплантированными опухолевыми клетками, клетками-продуцентами антител, стволовыми кроветворными клетками и даже лоскутами кожи.

Аллогенная ингибция четко выявляется при трансплантации костного мозга облученным реципиентам. Наиболее демонстративны данные Дж. Тилл, Е. Мак Каллоч (1961). Трансплантация 10^6 костномозговых клеток мышей линии С57ВL летально облученным сингенным реципиентам приводит к интенсивной пролиферации 167 стволовых клеток. При аналогичной трансплантации гибридным мышам (С57ВL × С3Н) F_1 в селезенке образуется в среднем 4,4 колонии. Аллогенная ингибция имеется в любой различающейся по системе Н-2 комбинации. Трансплантация клеток селезенки от мышей линии СВА сингенным реципиентам приводит к образованию 39 колоний. При трансплантации гибридам (С57ВL × СВА) F_1 выявляется в 2 раза меньше колоний стволовых клеток. Изучение связи эффекта аллогенной ингибции размножения кроветворных стволовых клеток с системой Н-2 гистосовместимости показало, что генетический контроль эффекта связан с D-концом Н-2 комплекса. Гены, контролирующие

аллогенное подавление кроветворных стволовых клеток в гибридном реципиенте, обозначены Hh-1 (histocompatibility hemopoietic — гистосовместимость кроветворных клеток). Локализация генов Hh-1 в системе H-2 показана на рис. 52, 53.

Эти гены в отличие от тех, которые контролируют трансплантационные антигены H-2K и H-2D, проявляют доминирование в гетерозиготном состоянии. Рецессивные аллели проявляются только в гомозиготном состоянии. Вот почему фенотипически кроветворные клетки гомозиготных родительских генотипов оказываются антигенно-чужеродными F₁-гибридным реципиентам и против них развивается иммунный ответ, выражающийся в виде аллогенной ингибиции. Имеет место исключение из 3 и 4 законов гистосовместимости тканей. Не исключено, что в проявлении аллогенной ингибиции принимают участие Ia-антигены. Показано, что Ia-специфичности у F₁-гибридов отличаются от таковых у обеих родительских линий. Это объясняется на основе молекулярного взаимодействия α - и β -цепей молекулы Ia.

Аллогенную ингибицию кроветворных стволовых клеток в гибридном реципиенте нередко называют гибридной резистентностью. Морфологические исследования показали, что этот эффект не связан с изменением направления дифференцировки стволовых клеток по обычному пути — эритроидные, миелоидные и мегакариоцитарные колонии с соотношением эритроидные: миелоидные, как 2 : 1.

Эффект торможения может быть отменен рядом воздействий, например дополнительным облучением реципиентов, предшествующим основному; дополнительным введением циклофосфида и других цитостатиков; предшествующим введением лимфоцитов, сингенных костномозговому трансплантату. Последнее связано, по-видимому, с созданием сингенного микроокружения для трансплантируемых костномозговых стволовых клеток.

Взаимодействие генетически чужеродных клеток есть основа всей проблемы несовместимости тканей при пересадках. Центральной фигурой взаимодействия со стороны реципиента является лимфоцит. Взаимодействие может быть прямым или опосредованным через высвобождение и циркуляцию в крови трансплантационных антигенов, но это не меняет сути. Основная проблема несовместимости тканей, пусковой механизм трансплантационного иммунитета — это взаимодействие генетически различающихся клеток. Все остальные процессы, включая накопление антител, развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа и, наконец, отторжение трансплантата, являются следствием этого первичного события.

Механизмы отторжения трансплантата

Как уже было показано, антигенный стимул, исходящий из трансплантата, инициирует два основных эффекторных механизма. Оба являются следствием системных реакций, развивающихся в лимфоидной ткани, и несмотря на то, что регионарные лимфатические скопления реагируют наиболее интенсивно, в реакцию вовлекается вся лимфоидная система организма. Эти два эффекторных звена представлены циркулирующими в крови антителами против антигенов пересаженной ткани и сенсибилизированными лимфоцитами, осуществляющими клеточную инвазию трансплантата.

Картина морфологических превращений, происходящих вокруг трансплантата или в трансплантационном очаге, хорошо изучена. На раннем этапе вокруг трансплантата и в стенках сосудов скапливается большое число лимфоцитов и лимфоцитоподобных клеток, гистиоцитов, макрофагов и плазматических клеток. Второй этап — инфильтрация трансплантата с последующей деструкцией его клетками инфильтрата, сопровождающаяся закупоркой сосудов трансплантата и гибелью его в результате ишемии. Отмечены случаи гибели органных трансплантатов и без возникновения тромбозов.

Клетки, скапливающиеся вокруг трансплантата, функционально различны. Гистиоциты и макрофаги способны к непосредственной деструкции чужеродных тканей. Показано, что макрофаги поглощают опсонизированные антителами диссоциированные аллогенные клетки. Кроме того, макрофаги, адсорбируя антитела, могут сами приобретать свойства истинно сенсибилизированных клеток. Лимфоциты осуществляют описанные в главе IX феномены клеточного иммунитета, приводящие к деструкции чужеродных клеточных элементов.

Основным морфологическим субстратом клеточного инфильтрата являются лимфоциты и в значительно меньшем количестве пиронинофильные плазматические клетки. Развитие мононуклеарно-клеточной инфильтрации типично при отторжении самых разных аллогенных трансплантатов. Вот почему приводимое описание процесса, характеризующего клеточную инвазию пересаженной почки, можно считать типичным.

Уже через несколько часов обнаруживаются малые лимфоциты, лежащие в зонах капилляров и венул в корковой части почки. Через 2—3 дня вокруг этих сосудов начинают появляться пиронинофильные клетки с развитой цитоплазмой (большие лимфоциты или гистиоциты и плазматические клетки). Число клеток инфильтрата увеличивается не только в результате инвазии новых элементов, но и вследствие их размножения. Исследования, проведенные через 4 дня после трансплантации, показали, что около 4% клеток инфильтрата оказываются мечеными через 30 мин после введения

^3H -тимидина в почечную артерию. Развитие клеточного инфильтрата сопровождается нарушением кровообращения и отеком межклеточной ткани. В терминальных стадиях в клеточном инфильтрате появляются полиморфно-ядерные лейкоциты и макрофаги.

Глава XIV

РЕАКЦИЯ ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА

Основной феномен

В главе XI был описан эксперимент, который привел к открытию иммунологической толерантности. Мышатам линии А были трансплантированы лимфоидные клетки мышей генотипа СВА. Развилась толерантность к тканям СВА. Если придерживаться утилитарной точки зрения и рассуждать с позиций медицины, заинтересованной в преодолении барьера несовместимости тканей при пересадках, то создание иммунологической толерантности представляется решением проблемы. И это было бы действительно так, если бы не одно обстоятельство, о котором в главе XI о толерантности сознательно не упоминалось. При создании истинной толерантности у новорожденных животных большинство из них заболевает и многие погибают в течение 2—4 нед.

Заболевание характеризуется своеобразным синдромом, получившим название синдрома рант, или рантинга (карликовость, низкорослость). Этот термин применяют при воспроизведении феномена у млекопитающих. Аналогичный эффект был получен и в опытах на птицах. Введение лимфоидных клеток взрослых кур генетически отличающимся куриным эмбрионам приводило к тому, что вылупившиеся цыплята медленнее развивались, отставали в росте и погибли. Если лимфоидные клетки помещали на хорионаллантоисную мембрану, то определенное число лимфоцитов становилось центром развития очагов клеточной пролиферации и через несколько дней мембрана превращалась в диск с видимыми на глаз своеобразными воспалительными очагами. Этот вариант агрессии пересаженных клеток против реципиента вошел в литературу под названием феномена Симонсена [Симонсен М., 1957].

Итак, одна и та же манипуляция — введение новорожденным или эмбрионам 10—20 млн. лимфоидных клеток взрослых аллогенных доноров, в одних случаях заканчивается развитием иммунологической толерантности, в других — болезни рант. Понять это явление помогли чистопородные животные.

Но прежде, чем разбирать основные генетические взаимоотношения, следует остановиться на своеобразии кроветворной и лимфоидной тканей как трансплантатов.

В иммунологическом смысле они принципиально отличаются от трансплантатов кожи, почки и других тканей и органов. Органы при пересадке только стимулируют иммунный ответ реципиента, сами же инертны. Кроветворные и лимфоидные ткани содержат иммунологически компетентные клетки, помимо стимуляции иммунного ответа реципиента, сами способны иммунологически реагировать против реципиента.

Основной аналитический эксперимент, объясняющий природу болезни рант как реакции трансплантата против реципиента, проводят с использованием животных двух чистых линий и гибридов между ними. Обозначим одну родительскую линию АА, другую — ВВ, гибридов — АВ. Введение новорожденным мышатам АА и ВВ лимфоидных клеток АВ никогда не приводит к болезни рант. Наоборот, введение клеток АА и ВВ мышатам АВ заканчивается развитием жесточайшего рантинга. Эти результаты закономерны. В первом случае для клеток трансплантата (АВ) в организме реципиента (АА) нет ни одного антигена, который не был бы представлен в его антигенном наборе. Иначе говоря, в данной ситуации трансплантат не имеет основы для развития иммунологической реакции против реципиента. Животные растут нормально, у них устанавливается толерантность по отношению к введенным антигенам. Им можно пересаживать кожу от доноров линии ВВ — она будет приживать. Во втором случае (клетки АА в организме АВ) трансплантат АА дает резкую реакцию против антигенов второй родительской линии (ВВ), оставаясь «невидимым» для иммунной системы реципиента. Толерантность ни к каким тканям не развивается.

В тех случаях, когда новорожденным особям одной линии вводят кроветворные клетки другой линии, судьба животного зависит от многих причин: характера трансплантируемых клеток, их количества, степени генетических различий между донором и реципиентом, определяющей силу реакции трансплантата против хозяина. В общем можно сказать, что чем меньше генетические различия, тем больше возможностей пережить болезнь рант и установить толерантность к донорским тканям. Однако это справедливо только для эмбрионов и новорожденных. У животных, проживших 1—3 дня, развивается собственная иммунологическая реактивность, и они приобретают способность отторгать трансплантаты. Вызывать болезнь рант у этих особей трудно, так как генетически чужеродные лимфоидные клетки разрушаются иммунной системой реципиента т. е. в результате реакции хозяина против трансплантата. Через несколько дней после рождения болезнь рант можно вызвать без каких-либо дополнительных воздействий



Рис. 82. Мышата (А×С57ВL) F₁ в возрасте 13 дней. Вверху — нормальный, внизу — рантирующий.

только у гибридов первого поколения при введении клеток одной из родительских линий, когда реакция хозяина против трансплантата генетически исключена.

Признаки болезни рант

Вполне понятно, что термин, означающий малорослость, или карликовость, не отражает существа процесса. Патологическая картина болезни характеризуется собственно рантингом, наличием клеточного химеризма, спленомегалией и характерными гистологическими проявлениями в некоторых тканях. К признакам рантинга относятся: отставание в массе тела и недоразвитие (рис. 82, 83). Кроме того, при болезни рант возникают поносы, дерматиты, кровоизлияния. Смерть наступает через 12—20 дней.

Синдром рант обязательно предполагает химеризм, т. е. приживание донорских клеток в организме реципиента и активное их функционирование (рис. 84). Соотношение клеток донорской и реципиентской природы зависит от периода болезни и генетических взаимоотношений донора и реципиента.

Спленомегалия — один из характерных признаков болезни рант. Она развивается к 10—12-му дню. Для оценки спленомегалии пользуются показателем СИ — селезеночным индексом. СИ — отношение массы селезенки к массе данного животного (полученное значение умножают на 100, чтобы не получились дробные числа). В норме СИ равен единице ее, а при болезни рант составляет 1,5—2,5.

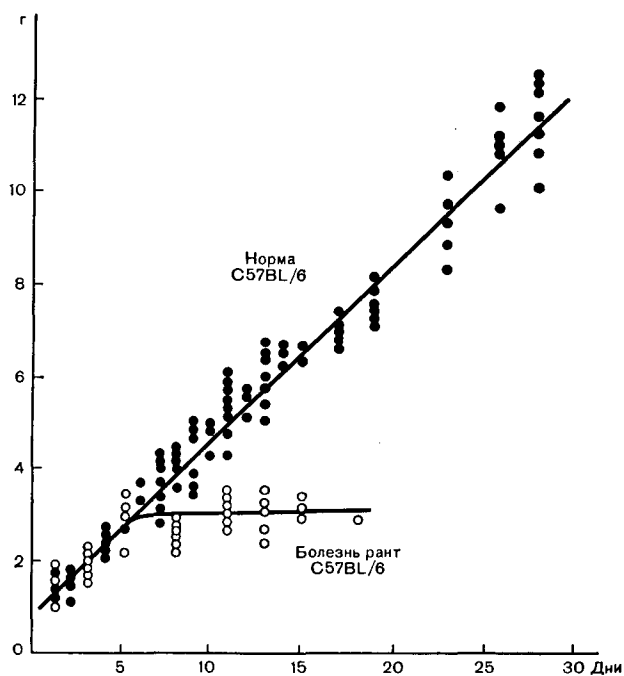


Рис. 83. Динамика массы мышат, нормальных и однократно инъецированных селезеночными клетками ДВА/1 ($0,5 \times 10^6$). Гибель от болезни рант наступила на 2—3-й неделе. По оси абсцисс — возраст реципиента; по оси ординат — масса.

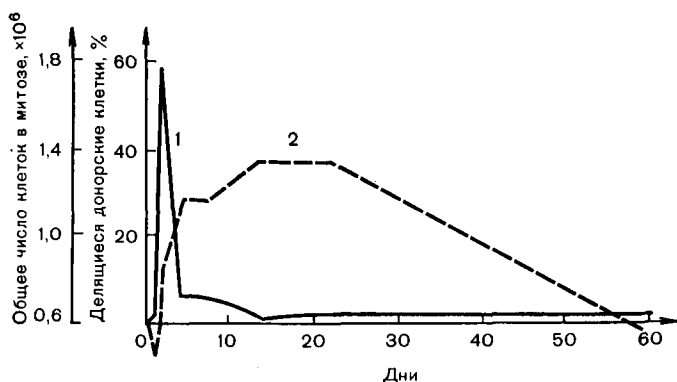


Рис. 84. Пролиферация донорских клеток в селезенке реципиента при реакции трансплантат против хозяина. 1 — делящиеся донорские клетки; 2 — общее число делящихся клеток.

Гистологические изменения в наиболее поражаемых тканях проявляются в следующем. Эпидермис кожи истончается, усиливается кератинизация, эпидермис отделяется от дермы, она инфильтрируется клетками типа лимфоцитов, гистиоцитов, плазматических. Размеры лимфатических узлов увеличены, исчезает лимфоидная структура, лимфоидные фолликулы заполняются ретикулярными и плазматическими клетками, их предшественниками. Аналогичная реакция происходит и в селезенке. Кроме того, в ней могут возникать очаги экстрамедуллярного кроветворения. В печени могут развиваться массивные очаги деструкции паренхимы и амилоидоз. Если животное не погибает в течение 2 нед, гиперплазия лимфатических узлов и селезенки сменяется резко выраженной атрофией лимфоидной ткани.

Весьма существенным синдромом болезни рант и других форм реакции трансплантат против хозяина является иммунодепрессия, выражающаяся в резком угнетении иммунологической реактивности реципиента. При этом в лимфоидной ткани животных накапливается большое количество лимфоцитов, относящихся к классу Т-супрессоров. Этот процесс используют для получения взвеси клеток, обогащенных Т-супрессорами. Гибридным мышам, например (СВА×С57ВL) F₁, вводят взвесь лимфоидных клеток одного из родительских генотипов (СВА). Через 1—2 нед суспензию селезеночных клеток реципиентов можно использовать в качестве клеточной популяции, обогащенной Т-супрессорами. В смеси с сингенными В-клетками они обеспечивают не эффект кооперации с большим выходом антителопродукентов, а супрессорный эффект с блокировкой превращения В-лимфоцитов в клетки, синтезирующие антитела.

Количественная оценка реакции

Описанный выше прием определения СИ служит примером количественной оценки активности трансплантата в индуцировании иммунной реакции против хозяина. К сожалению, точность и разрешающие возможности этого метода невелики. Он является слишком грубым «инструментом» при решении ряда вопросов: влияние тех или иных воздействий, направленных на уменьшение или интенсификацию реакций; роль взаимодействия Т- и В-клеток для реализации активности и т. д. В связи с этим были разработаны более точные количественные методы оценки реакции трансплантата против хозяина.

Один из методов основан на сравнении увеличения массы лимфатических узлов, в которых протекает реакция трансплантат против хозяина с аналогичными им — контралатеральными, узлами, в которых реакции нет. Для этого иссле-

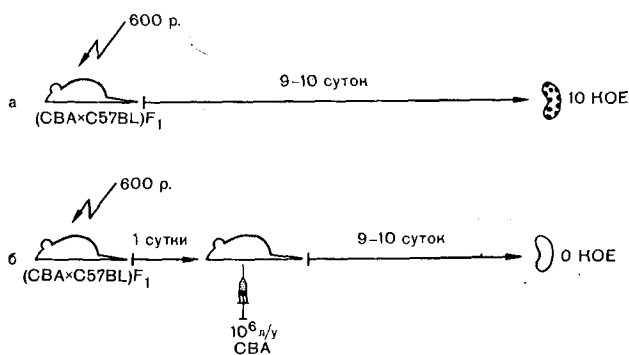


Рис. 85. Постановка опыта для оценки реакции трансплантат против хозяина по инактивации эндогенных колониеобразующих (стволовых) клеток. КОЕ — колониеобразующие клетки, ЛУ — клетки лимфатического узла; 600 Р — доза облучения.

двумя клетками вводят подкожно или внутримышечно в одну из задних конечностей животного, например в правую. Через 2—3 сут резко увеличиваются правые паховые лимфатические узлы; размеры левых остаются нормальными. Отношение массы правых и левых узлов отражает степень реакции. В отличие от СИ, который выражается цифрами 1,5—2,0, этот показатель характеризуется диапазоном 1,5—10,0, давая тем самым более точную количественную оценку реакции.

Второй метод основан на известном факте инактивирующего действия лимфоцитов на аллогенные кроветворные стволовые клетки (см. главу IX). При этом инактивации подвергаются стволовые элементы сублетально облученных реципиентов, которые дают рост так называемых эндогенных селезеночных колоний. Следовательно, при введении определенных количеств тех или иных лимфоидных клеток сублетально облученным гибридным реципиентам (F_1) можно количественно точно оценивать их инактивирующую активность в отношении стволовых клеток (рис. 85). Поскольку при такой генетической комбинации донора и реципиента возможно развитие только реакции трансплантат против хозяина, результаты оценки могут характеризовать выраженность этой реакции. Метод был разработан в экспериментах с использованием мышей инбредных линий СВА, С57BL и гибридов (СВА x С57BL) F_1 в 3—4-месячном возрасте.

На 10-е сутки после облучения в дозе 600 Р у мышей извлекают селезенку и определяют число образовавшихся колоний. Клетки лимфатических узлов трансплантируются внутривенно через сутки после облучения. Сравняется количество эндогенных колоний, образовавшихся у облученных мышей, с числом колоний, возникших при переносе животным

лимфоидных клеток. Уменьшение количества колоний под влиянием трансплантированных лимфоидных клеток выражается в процентах по отношению к числу эндогенных колоний в селезенках контрольных животных.

Существует метод учета реакции трансплантат против хозяина *in vitro*. Кусочки селезенки размером $1 \times 1 \times 1,5$ мм от новорожденных F_1 -гибридов помещают в культуральную среду и добавляют к ним тестируемые лимфоидные клетки одной из родительских линий. Полученные культуры инкубируют при температуре 37°C в атмосфере с содержанием 5% CO_2 . После 4-дневной инкубации в случае наличия реакции трансплантат против хозяина увеличиваются размеры селезеночных фрагментов. Выводят индекс спленоmegалии — отношение площадей тестируемых и контрольных фрагментов. Контролем служат кусочки селезенки таких же размеров от тех же доноров-гибридов, культивируемые с сингенными лимфоидными клетками. Реакцию считают положительной, если индекс спленоmegалии больше или равен 1,2. Этим методом пользуются для оценки активности тимического гормона — тимозина.

Условия и формы проявления реакции трансплантат против хозяина

Болезнь рант и феномен Симонсена не единственные формы проявления реакции трансплантат против хозяина. Ниже будут приведены и другие формы, воспроизводимые у взрослых реципиентов. Однако принципиальные условия, необходимые для развития этой реакции, во всех случаях одинаковы.

1. Трансплантат должен обладать иммунологической активностью. Это понятно, так как без данного условия не может быть иммунной агрессии трансплантата против реципиента. Иначе говоря, пересаживаемая ткань должна содержать иммунокомпетентные, т. е. лимфоидные, клетки. Если расположить кроветворные лимфоидные ткани в порядке уменьшения их способности вызывать реакцию, получится следующий ряд: клетки лимфатических узлов, селезенки, лимфоциты крови, клетки вилочковой железы, костный мозг, эмбриональные кроветворные ткани. Последние способны хотя и в малой степени вызывать реакцию против реципиента.

Количество клеток — индукторов реакции, не должно быть меньше некоторого определенного минимума, например болезнь рант у мышей четко развивается при трансплантации $10-20$ млн. клеток селезенки взрослых доноров.

2. В тканях реципиента должны содержаться антигены, отсутствующие в тканях донора, т. е. реципиент должен быть антигенно чужеродным для иммунологически активного трансплантата. Без этого условия, естественно, трансплантат не

может развить иммунологическую реакцию, которая, как известно, инициируется только веществами, несущими признаки чужеродной генетической информации. Чем больше антигенные различия, тем интенсивнее протекает реакция. Вот почему при различии между донором и реципиентом по главному комплексу гистосовместимости H-2 болезнь рант легко воспроизводится и бывает резко выражена, при различиях же по слабым локусам ее воспроизвести труднее.

3. Обязательным условием развития реакции трансплантат против хозяина должна быть иммунологическая инертность реципиента, т. е. неспособность отторгать трансплантированные клетки «агрессора». В противном случае клетки будут разрушены в процессе иммунной реакции хозяина против трансплантата раньше, чем они успеют совершить агрессию. В зависимости от причин, обуславливающих иммунологическую инертность реципиента, различают несколько моделей и форм реакции трансплантат против хозяина.

а) Реципиент иммунологически инертен вследствие незрелости иммунной системы (как у эмбрионов или новорожденных). В этом случае мы имеем дело с болезнью рант.

б) Реакция трансплантат против хозяина может быть воспроизведена у взрослых организмов в ситуации, когда они генетически не могут реагировать против трансплантата, а он может осуществлять иммунную реакцию. Такая ситуация возникает при введении F₁-гибридам лимфоидных клеток одной из родительских линий. Патологический процесс, аналогичный болезни рант, и протекающий у взрослых реципиентов, называют гомологической, или аллогенной, болезнью, так как она обусловлена гомологическим (аллогенным) трансплантатом. Отставания в росте (но не в массе), конечно, не происходит (реципиент взрослый), остальные же симптомы сходны с рант-синдромом.

в) Иммунологическая инертность реципиента вызвана летальным облучением. Трансплантированная кроветворная ткань приживает, восполняет пораженное ионизирующей радиацией кроветворение, спасает организм от лучевой смерти. Через 2—3 нед развивается реакция трансплантат против хозяина и спасенный организм погибает. Реакцию в данной форме называют вторичной гомологической болезнью.

г) Иммунологическая неответчаемость взрослого реципиента обес печивается путем создания у новорожденного состояния специфической толерантности к тканям будущего донора лимфоидных клеток (рис. 86).

Клетками-эффекторами, ответственными за развитие реакции трансплантат против хозяина, служат Т-лимфоциты, относящиеся к категории цитотоксических Т-лимфоцитов-киллеров. Наибольшее их количество находится в лимфатических узлах и среди лимфоцитов периферической крови. Тимические

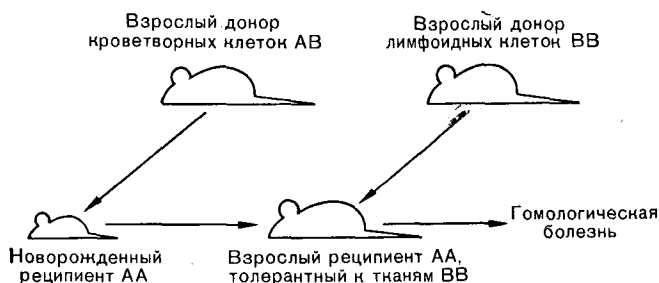


Рис. 86. Воспроизведение реакции «трансплантат против хозяина».

Т-клетки, как было показано выше, менее активны в индукции реакции. Это значит, что возникающие в вилочковой железе Т-лимфоциты должны еще закончить процесс дифференцировки («дозреть») в периферических лимфоидных тканях, чтобы сформировать популяцию Т-киллеров.

Существенно значение клеточного взаимодействия при развитии реакции трансплантат против хозяина. Это взаимодействие происходит не между Т- и В-лимфоцитами, как при индукции антителогенеза. В кооперацию вовлекаются две группы Т-клеток — T_A и T_E (см. главу VI). Эффект состоит в том, что интенсивность реакции трансплантат против хозяина, вызываемой смесью тимоцитов с лимфоцитами лимфатических узлов или периферической крови, превышает ожидаемую интенсивность реакции от простого суммирования реакций, индуцируемых каждым клеточными популяциями. Оказалось, что в вилочковой железе имеется избыток клеток, которые служат предшественниками для эффекторных лимфоцитов. Среди периферических лимфоидных клеток содержится большое количество лимфоцитов-усилителей, которые активируют первый тип клеток.

Выше в общей форме было сказано, что чем больше выражены генетические различия главной системы гистосовместимости (Н-2 у мышей), тем интенсивнее реакция трансплантат против хозяина. Детальный генетический анализ уточнил роль различных генов системы Н-2. Оказалось, что, подобно бласттрансформации лимфоцитов в микст-культуре, реакция трансплантат против хозяина зависит не столько от серологически идентифицируемых антигенов Н-2D и Н-2К, сколько от особых локусов, обозначенных GVH-1* и GVH-2. При тождественности донора и реципиента по генам GVH с различиями по Н-2D или Н-2К реакция индуцируется или развивается чрезвычайно слабо. Различия по генам GVH имеют решающее значение. Локус GVH-1 играет наибольшую роль. Оба эти

* GVH — Graft Versus Host (трансплантат против хозяина).

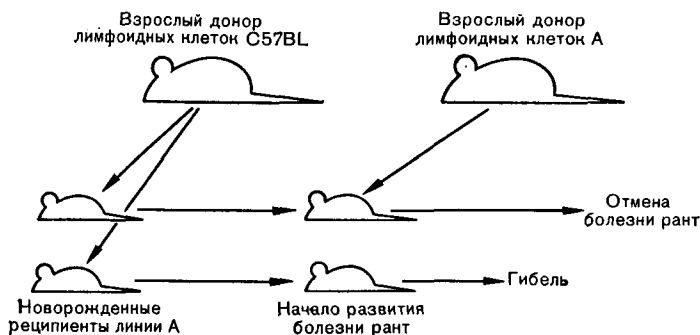


Рис. 87. Отмена болезни рант.

Особенно эффективны для отмены клетки от доноров А, предварительно иммунизированные против тканей первичных доноров С57BL.

гена картируются точно в тех же областях H-2 системы, что и MLC, контролирующие бласттрансформацию лимфоцитов (см. рис. 52). Это, по-видимому, одни и те же гены, локализующиеся в I-области главного комплекса гистосовместимости мышей (D-область у человека).

Интенсификация и отмена реакции трансплантат против хозяина

В любой из перечисленных моделей патологический процесс, обусловленный реакцией трансплантат против хозяина, протекает особенно тяжело и быстро, если донором лимфоидных клеток служит животное, предварительно иммунизированное против тканей реципиента. Для этого донорам вводят клетки лимфоидных тканей или трансплантируют лоскут кожи от особей реципиентской линии. Применение для трансплантации предварительно сенсibilизированных клеток усиливает развиваемую ими реакцию против реципиента.

Для уменьшения тяжести или отмены реакции трансплантат против хозяина пользуются специфическими иммунными сыворотками или изологичными реципиенту лимфоидными клетками. Под их влиянием происходят отторжение трансплантата и отмена его агрессии (рис. 87). Наиболее эффективны для отмены реакции клетки от взрослых животных реципиентского генотипа, сенсibilизированные против клеток, которыми обусловлена реакция. Наиболее эффективными иммунными сыворотками (особенно при обработке клеток перед их трансплантацией) являются антилимфоцитарные. Поскольку эффект определяется Т-лимфоцитами, высокоактивными являются антисыворотки, избирательно повреждающие

Т-клетки — носители антигена. Определенное воздействие оказывают и антиглобулиновые сыворотки, блокируя иммуноглобулиновые рецепторы Т-лимфоцитов.

Толерантность и реакция трансплантат против хозяина

Итак, введение аллогенных лимфоидных клеток им мунологически инертному реципиенту вызывает развитие болезни рант, или гомологической болезни. Аналогичное воздействие обуславливает также индукцию иммунологической толерантности. Например, введение новорожденным мышатам линии А селезеночных клеток от взрослых животных линии СВА приводит и к установлению толерантности, и к возникновению синдрома рант, который может закончиться гибелью животных. По-видимому, оба процесса находятся в определенных взаимоотношениях, из которых главные: зависимость реакции трансплантат против хозяина от толерантности и независимость толерантности от реакции трансплантат против хозяина.

Первая зависимость иллюстрируется прежде всего тем, что после рождения животных чувствительность к развитию болезни рант утрачивается одновременно с утратой способности становиться толерантными. Гомологическую болезнь у взрослых особей можно вызвать только в том случае, когда реципиент толерантен к донорским клеткам. Толерантность может быть генетической, например у гибридов первого поколения к тканям доноров одной из родительских линий. Ее можно создать искусственно.

Дифференцированно эти два явления воспроизводятся при определенных генетических комбинациях донора и реципиента. В случае использования новорожденного реципиента линии А и взрослого донора гибридной природы (А×СВА) F₁ возможно развитие только толерантности по отношению к антигенам СВА, так как для индуцирования реакции трансплантат против хозяина нет антигенной основы. Наоборот, применение в качестве реципиентов (А×СВА) F₁ и доноров А обеспечивает развитие только синдрома рант (рис. 88). При более сложной антигенной ситуации, обуславливающей течение иммунологических реакций в обе стороны, определяющее значение имеет активность иммунологических реакций, ответственных за ту или другую реакцию.

Индукция толерантности у реципиента, по-видимому, не зависит от реакции трансплантат против хозяина. Наиболее убедительно это подтверждают три аргумента. Во-первых, как уже отмечалось, толерантность развивается под влиянием лимфоидных клеток, взятых от гибридов первого поколения. Во-вторых, толерантность индуцируется эмбриональными

клетками, которые обладают малой (или не обладают совсем) иммунологической компетентностью. В-третьих, как уже было показано, индукторами толерантности могут быть антигенные субстанции, не способные к пролиферации, а следовательно, и к реакции против реципиента: эритроциты, растворимые белки и т. д.

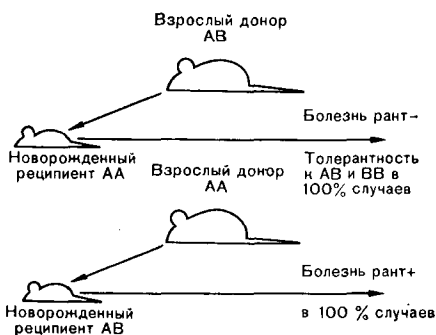


Рис. 88. Воспроизведение чистой толерантности, или чистой болезни рант.

Моделирование направленности иммунологического конфликта

В опытах на животных инбредных линий и их гибридах можно изучать реакции иммунологического конфликта в изолированном виде с моделированием направленности конфликта. Остановимся на пяти основных моделях.

1. Трансплантация кроветворной ткани, когда донор и реципиент принадлежат к одной инбредной линии животных — иммунологического конфликта нет.

2. Донор кроветворной ткани одной линии, реципиент — другой. Конфликт направлен в обе стороны. Развиваются обе реакции: хозяин против трансплантата и трансплантат против хозяина. Исход зависит от количества пересаженных клеток, иммунологической активности и характера антигенных различий реципиента и трансплантата. Такая же ситуация возникает при использовании беспородных донора и реципиента или при трансплантациях костного мозга в клинике от человека человеку.

3. Донором служит гибрид первого поколения от родителей двух генетически чистых линий, реципиентом — одна из родительских линий — развивается изолированная реакция хозяин против трансплантата.

4. Донор — особь одной из двух родительских линий, реципиент — гибрид первого поколения, полученного от их скрещивания; возникает изолированная реакция трансплантат против хозяина.

5. Реципиенту трансплантируется смесь кроветворных тканей от двух (или более) неродственных доноров. Помимо иммунного воздействия трансплантат — реципиент, клетки вступают в конфликт между собой; развивается реакция трансплантат против трансплантата. Для ее получения в изолированном виде можно предложить следующую генетическую

модель: реципиент АА (новорожденный или облученный), доноры АВ и АС, т. е. гибриды первого поколения от родителей линии АА и ВВ или АА и АС. Реакция хозяина против трансплантата не разовьется вследствие иммунологической инертности новорожденного или облученного реципиента. Реакция трансплантат против хозяина не разовьется из-за отсутствия в тканях реципиента антигенов, которых нет у доноров. Возможно развитие только реакции трансплантат против трансплантата.

В заключение необходимо отметить, что реакцию трансплантат против хозяина нередко используют в качестве экспериментальной модели аутоиммунного заболевания. Действительно, ситуации, складывающиеся в организме, в обоих случаях весьма сходны. Главное в этом сходстве — наличие в организме иммунокомпетентных клеток, осуществляющих иммунную агрессию против тех или иных нормальных тканей. Только при реакции трансплантат против хозяина они введены извне, а при аутоиммунных расстройствах такие агрессивные клетки возникают в собственной лимфоидной системе организма (см. главу XVII).

Глава XV

ИММУНОЛОГИЯ КЛЕТОЧНОГО ХИМЕРИЗМА

Радиационные химеры

В случаях истинной толерантности и во всех вариантах гомологической болезни речь идет о приживлении, размножении и существовании в организме одного генотипа кроветворных клеток другого генотипа. Под клеточным, или, как его еще называют, кровяным, химеризмом подразумевают сосуществование в одном организме генетически различных кроветворных клеток, а следовательно, и клеток крови — эритроцитов, лейкоцитов и др. Сосуществующие популяции клеток находятся в сложных, не полностью изученных взаимодействиях. По внешним проявлениям в случае взаимной толерантности сосуществование «мирное», а в случаях гомологической болезни — «немирное».

Наиболее продуктивной моделью этого биологически очень сложного явления служат радиационные химеры — животные, у которых химеризм возникает вследствие трансплантации кроветворных тканей после облучения их рентгеновскими или γ -лучами. Радиационные химеры — это модель не только для выяснения теоретических вопросов иммунологии взаимодействия генетически несовместимых клеток. Создание

кровяного химеризма после облучения — это пути лечения лучевой болезни и изыскания способов лечения лейкозов посредством облучения больного с последующей пересадкой полноценной кроветворной ткани. Поскольку радиационный химеризм сопровождается толерантностью по отношению к донорским тканям, идут поиски создания долгоживущих радиационных химер для пересадки им донорской кожи, почки и др. Кроме того, радиационные химеры широко используются в лабораторной практике для изучения основных вопросов иммунологии на клеточном уровне, ибо эти организмы представляют собой не что иное, как культуру иммунокомпетентных клеток *in vivo* (см. далее).

Воздействие на организм ионизирующей радиации (рентгеновские или γ -лучи, потоки нейтронов, протонов и др.) при определенных дозах приводит к развитию острой лучевой болезни (табл. 31).

Таблица 31

Экспозиционные дозы γ -излучения (в мКл/кг), вызывающие 50% и 100% гибель разных животных и человека

Объект исследования	LD ₅₀	LD ₁₀₀
Линии мышей:		
C57 BL	150,9 (585)*	192,2 (745)
СЗН	161,2 (625)	203,8 (790)
СВА	170,3 (660)	212,8 (825)
Крысы	116,1—154,8 (450—600)	167,7—206,4 (650—800)
Кролики	206,4—258 (800—1000)	283,8—361,2 (1100—1400)
Морские свинки	51,6—77,4 (200—300)	103,2 (400)
Собаки	103,2 (400)	154,8 (600)
Человек	77,4—103,2 (300—400)	154,8—258 (600—1000)

* В скобках даны дозы облучения в рентгенах.

Острая лучевая болезнь характеризуется четырьмя основными синдромами.

1. Поражение гемопоэза. Сначала развивается лимфопения, затем лейкопения и, наконец, панцитопения. При воздействии смертельных доз радиации наблюдается полное опустошение костного мозга и других кроветворных тканей. Смерть в этих случаях называют костномозговой.

2. Поражение кишечника. Нарушается генерирование кишечного эпителия, слизистая оболочка «слушивается», развиваются поносы. При воздействии очень больших доз облучения, как правило, смерть наступает от кишечных расстройств и интоксикации — острая кишечная смерть.

3. Повышение проницаемости биологических барьеров и мембран. Вследствие таких поражений бактерии проникают в кровь из кишечника и других мест их естественного обита-

ния, происходят обширные кровоизлияния в любых тканях. Последнее усугубляется нарушением нормальных процессов свертываемости крови.

4. Угнетение иммунитета. Вследствие этого возникают эндогенные и экзогенные инфекционные осложнения, являющиеся частой причиной смерти.

С позиций описываемых проблем наибольший интерес представляют поражение гемопоэза и угнетение иммунитета. Например, имеется группа мышей, которых облучали в экспозиционной дозе 232,2 мКл/кг (900 Р). Доза абсолютно смертельная, животные обречены и погибают в течение 2 нед от острой лучевой болезни. Однако всех их можно спасти простейшей манипуляцией — им необходимо ввести внутривенно всего по 1 млн. сингенных костномозговых клеток. Отметим, что 1 млн — весьма малое количество (по числу клеток эта величина эквивалентна 2×10^{-7} л крови). Говорить серьезно о каком-либо гуморальном лечебном факторе, спасающем облученный организм от гибели, не приходится. Речь идет о приживлении костномозговых клеток, их репопуляции и замещении пораженной кроветворной системы реципиента. Для спасения летально облученного животного достаточно только восстановить кроветворную систему.

Угнетение иммунитета представляет большой интерес потому, что у таких животных приживает не только сингенный, но и генетически чужеродный костный мозг. Их можно спасти от лучевой смерти путем трансплантации аллогенной и даже ксеногенной кроветворной ткани. Летально облученная мышь, например, может быть защищена крысиным костным мозгом (ксеногенная химера).

Действие радиации на иммунитет складывается из поражения неспецифических факторов защиты организма и специфических иммунных механизмов. Неспецифическая защита от микроорганизмов ослабевает вследствие повышения проницаемости слизистых оболочек и кожи, снижения бактерицидности жидкостей и тканей организма, угнетения фагоцитоза и уменьшения числа фагоцитов в результате развития лейкопении и гибели большого числа клеток ретикулоэндотелиальной системы. Специфические реакции в виде выработки антител и развития клеточной гиперчувствительности резко нарушаются после лучевого воздействия. Наиболее демонстративно влияние радиации на специфические иммунные реакции можно показать на примере продукции антител.

Характеризуя действие ионизирующей радиации на антигеногенез, прежде всего необходимо остановиться на двух наиболее общих эффектах — на дозе и времени иммунизации по отношению к моменту облучения.

При введении облученным животным разнообразных антигенов степень угнетения выработки антител прямо пропорцио-

наль на дозе радиации. Кривая доза — эффект имеет S-образную форму, типичную для соответствующих кривых гибели клеток под влиянием разных доз радиации. Это совпадение оказалось не случайным. В последние годы были получены веские доказательства в пользу клеточных основ поражающего действия радиации на антителогенез.

Время иммунизации по отношению к моменту облучения оказывает существенное влияние на степени подавления антителогенеза. Облучение животных летальными или сублетальными дозами перед иммунизацией угнетает выработку антител; облучение, проведенное после иммунизации, или не влияет на продукцию антител, или несколько замедляет ее, но не препятствует накоплению высоких титров антител в крови. Максимальное угнетение наблюдается при иммунизации через 1—2 сут после облучения. Полное восстановление функции наступает не ранее чем через 1—2 мес.

Таким образом, угнетающее действие ионизирующей радиации на антителогенез характеризуется следующими закономерностями:

- угнетение антителогенеза наиболее резко выражено при введении антигена в течение первой недели после облучения, особенно в 1—2-е сутки. Восстановление функции в случаях выживания животных происходит через 1—2 мес и позже;

- эффект облучения прямо пропорционален дозе радиации;

- наряду со снижением уровня антител в крови облученных животных наблюдается характерное удлинение латентной фазы антителогенеза;

- если латентная фаза (чрезвычайно радиочувствительная) проходит до воздействия ионизирующей радиации, то облучение или не влияет на продукцию антител, или лишь несколько замедляет ее, но не препятствует накоплению высоких титров антител в крови.

При малых дозах радиации — 25,8 мКл/кг (100 Р) — нередко регистрируется стимуляция выработки антител. Это связано с тем, что Т-супрессоры более радиочувствительны, чем другие субпопуляции лимфоцитов. В связи с этим возможно временное снятие их нормального влияния. Явлением повышенной радиочувствительности Т-супрессоров пользуются в экспериментах, требующих снижения их числа или активности.

Клеточные реакции замедленного типа, играющие существенную роль в отторжении чужеродных трансплантатов, в отличие от выработки антител несколько более радиорезистентны. Исследования развития замедленной гиперчувствительности к дифтерийному анатоксину, туберкулину и яичному альбумину доказывают это. Например, облучение морских свинок в экспозиционной дозе 51,6 — 103,2 мКл/кг (200—400 Р) существенно не влияет на развитие феномена гипер-

чувствительности по отношению к дифтерийному анатоксину и туберкулину. Угнетение развития реакции замедленного типа к анатоксину и яичному альбумину у кроликов наблюдается при облучении их в экспозиционной дозе 206,4 мКл/кг (800 Р), но не 103,2 мКл/кг (400 Р).

Поскольку отторжение пересаженных тканей и органов представляет собой функцию иммунологической системы организма, воздействие ионизирующими излучениями должно быть мощным фактором подавления трансплантационного иммунитета. Есть все основания ожидать возможность приживления трансплантатов у облученных иммунологически инертных реципиентов. Далее будет показано, что это действительно возможно. Однако механизмы этого явления более сложны, чем простое лучевое подавление иммунитета.

Основной феномен действия радиации на трансплантационный иммунитет наиболее наглядно можно показать на примере пересадок облученным животным чужеродной кожи и опухолевых тканей. Он заключается в удлинении сроков отторжения как аллогенных, так и ксеногенных трансплантатов, пересаженных облученным животным (по сравнению с необлученными), но не может обеспечить истинного приживления. Объясняется это по крайней мере двумя особенностями действия радиации на иммунитет. Во-первых, дозовой зависимостью, в соответствии с которой подавление иммунитета тем сильнее, чем больше доза облучения; столь высокая степень подавления иммунитета, которая необходима для приживления чужеродной ткани, достигается только при использовании смертельных и сверхсмертельных доз радиации. Во-вторых, подавление иммунитета при лучевом поражении носит неспецифический характер. Вместе с увеличивающейся возможностью приживления трансплантата в еще большей мере возрастает возможность возникновения инфекционного осложнения. Таким образом, прежде чем достигается эффект истинного приживления чужеродной ткани, животное погибает от лучевой панцитопении или присоединившейся инфекции.

Трансплантация кроветворных тканей — единственное исключение из этого правила. Применение абсолютно смертельных доз облучения дает трансплантату возможность прижиться, а срок его приживления спасает реципиента от лучевой смерти, так как восстанавливает пораженный гемопоэз. К сожалению, лечебный эффект трансплантаций эллогенного костного мозга временный, радиационные химеры в большинстве случаев нежизнеспособны.

Большинство радиационных химер, получивших генетически чужеродные клетки, погибают вследствие иммунологических коллизий, развившихся между прижившим иммунокомпетентным трансплантатом и организмом реципиента.

Методы идентификации клеточного химеризма

Для идентификации химеризма предложено несколько способов, которые позволяют установить его наличие и проследить судьбу трансплантированных клеток, их приживление, накопление, исчезновение.

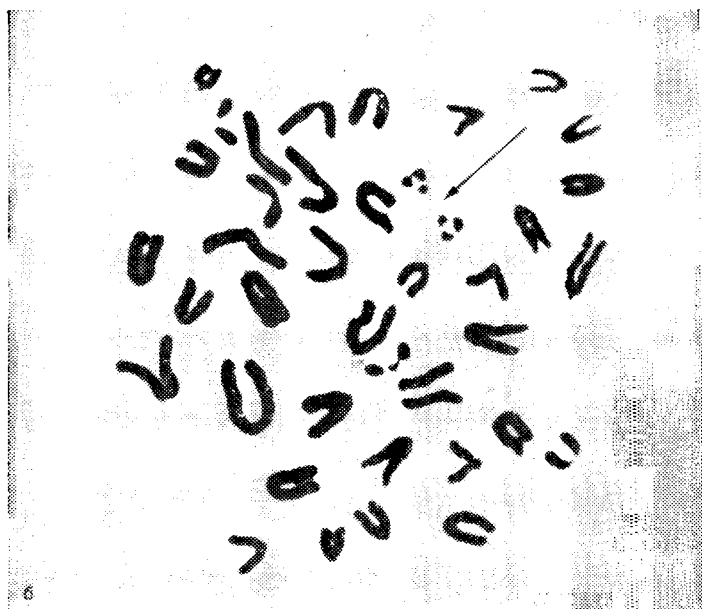
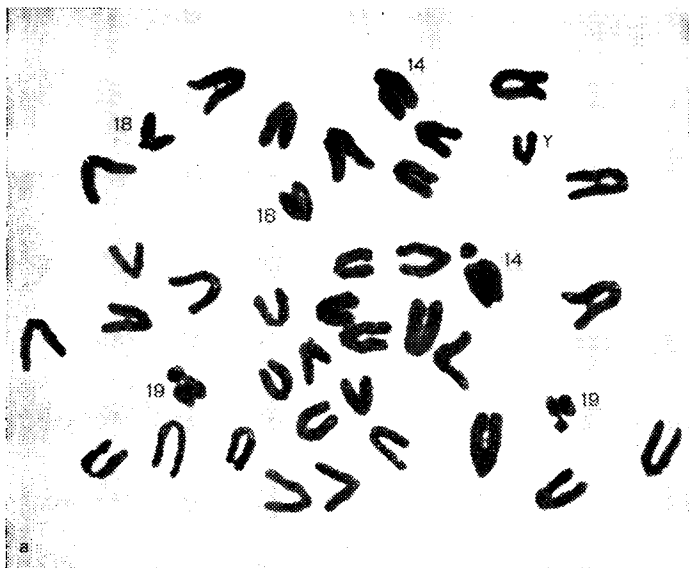
Метод кожного лоскута. Выше указывалось, что иммунологическая толерантность носит системный характер. Вот почему толерантность к кроветворным тканям распространяется и на другие ткани данного донорского типа. В связи с этим при наличии клеточного химеризма у животных-химер кожный лоскут донора кроветворных клеток не отторгается. Приживление такого лоскута служит доказательством химеризма.

Иммунологические методы. Антигенную метку используют в основном для идентификации химеризма по эритроцитам, лимфоцитам или тромбоцитам. Метод основан на реакции дифференциальной агглютинации или цитотоксичности с соответствующей антисывороткой. Антисыворотку получают путем иммунизации животных линий реципиента или животных других видов тканью донорской линии. В последнем случае для достижения моноспецифичности необходима тщательная адсорбция сывороток. Полученная антисыворотка обладает способностью избирательно агглютинировать или проявлять цитотоксичность в отношении соответствующих клеток донора в смеси клеток химеры.

Гистохимические и физико-химические методы. Поскольку в клетках разных животных содержатся неодинаковые ферменты или разные концентрации одних и тех же ферментов, с помощью гистохимических методов можно выявить химеризм. К таким методам относится окраска на щелочную фосфатазу. В гранулоцитах мыши нет этого фермента, а в гранулоцитах крысы, кролика, морской свинки и других животных он присутствует, поэтому указанный метод успешно применяется для изучения химеризма в системе мышь — крыса.

Известно, что электрофореграммы гемоглобина инбредных линий мышей различаются. Это может служить индикатором для донорского типа эритропоэза в аллогенной химере. Для этих же целей используют различия в растворимости и кристаллизации гемоглобинов некоторых инбредных линий мышей. Применяют метод идентификации химеризма, основанный на иммуноэлектрофорезе сывороточных γ -глобулинов. С помощью этого метода доказано, что в гетерологичной химере мышь — крыса продуцируются крысиные γ -, α_2 -, β_1 -, β_2 -глобулины.

Аналогичный прием используют и для типирования генетической принадлежности γ -глобулинов донору или реципи-



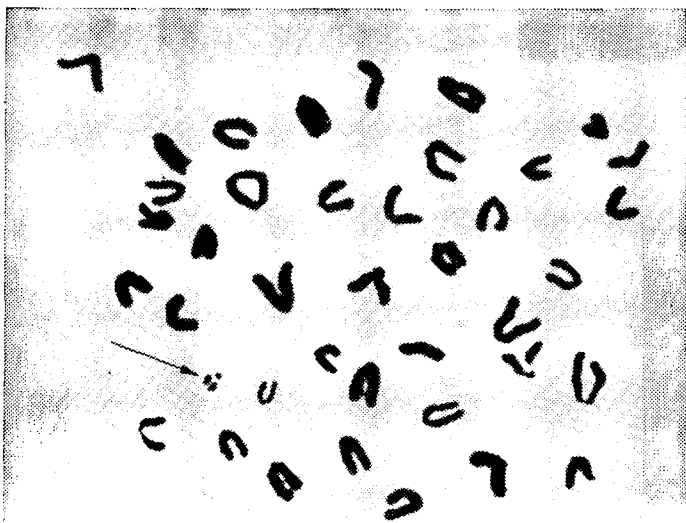


Рис. 89. Метафазные пластинки клеток мышей линии СВА (а), СВАТ6Т6 (б) и (СВА Т6Т6×С57ВL) F₁ (в). Стрелками обозначены хромосомы Т6, цифрами и символом У — некоторые другие, от которых следует дифференцировать Т6.

енту в случаях аллогенных химер. Для этого необходимо готовить иммунные сыворотки против аллотипов γ -глобулинов.

Метод хромосомного маркера. Хромосомные маркеры клеток различных видов животных различаются по морфологии хромосом и числу хромосомных пар. Мышиные клетки содержат 20 пар, крысиные — 21 пару. Клетки человека характеризуются набором, состоящим из 23 пар хромосом. Это позволяет с абсолютной достоверностью различать клетки методом метафазных пластинок.

Для изучения химеризма у аллогенных или сингенных химер *мышь — мышь* необходима специальная линия животных — СВА/Т6Т6. В хромосомном наборе клеток этих мышей имеется пара хромосом — маркеров Т6Т6, возникшая вследствие транслокации (рис. 89). Впервые эта метка для исследования радиационного химеризма была использована в лаборатории [Миклем Х., Лоутит Дж., 1966]. Облученным в экспозиционной дозе 245,1 мКл/кг (950 Р) мышам линии СВА вводили внутривенно клеточную суспензию, приготовленную из селезенки неполовозрелых мышат линии Т6. Меченые клетки затем определялись в кроветворных органах химеры. Метод хромосомной метки необычайно точный. Эта метка служит незаменимым тестом для изучения химеризма

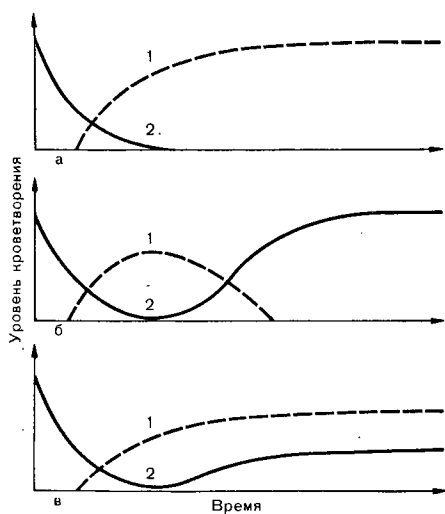


Рис. 90. Судьба клеточного химеризма и виды радиационных химер.

1 — донорский кроветворный росток; 2 — реципиентский кроветворный росток; а — полное вытеснение кроветворения хозяина и замещение его донорским типом; б — восстановление кроветворения хозяина с полным вытеснением донорского ростка; в — смешанное кроветворение донора и реципиента. По осям — относительные величины.

цитологических сдвигов, типичных для облученного организма, возможны артефактные «барабанные палочки».

Иммунологический статус радиационных химер

Четыре иммунологических процесса могут развиваться в организме аллогенных или ксеногенных радиационных химер: реакция «хозяин против трансплантата»; установление толерантности реципиента к трансплантату; реакция «трансплантат против хозяина» и установление толерантности трансплантата к антигенам реципиента. Соотношение этих реакций и степень их выраженности определяют иммунологический статус химер.

На рис. 91 показана динамика гибели мышей — радиационных химер, начиная с момента их летального облучения и трансплантации аллогенного костного мозга. При характеристике иммунологического статуса целесообразно выделить три основных периода: 1) иммунологическую инертность летально облученного реципиента, приживление чужеродных клеток и развитие реакции «трансплантат против хозяина». Большинство химер погибает от вторичной гомологи-

размножающихся клеток, ее можно уловить во всех способных к делению клетках (рис. 90).

Вариантом хромосомного маркера является метка по половому хроматину, который представляет собой хроматиды (половой хроматин). Половой хроматин в виде «барабанных палочек» присутствует в клетках самок и отсутствует у особей мужского пола многих животных и человека. Половой хроматин легко обнаружить в ядерном аппарате нейтрофилов, где он имеет вид хроматидового узелка диаметром несколько микрометров, соединенного хроматидовой ножкой с одной из долей ядра. К сожалению, в

ческой болезни; 2) толерантность реципиента, уменьшение выраженности реакции «трансплантат против хозяина» в связи с началом развития толерантности трансплантата. Без развития этого процесса дальнейшая жизнь химеры невозможна; 3) установление взаимной толерантности. Однако «выход» таких химер колеблется (5—10%) в зависимости от генетической близости донора и реципиента. При совместимости по системе H-2 этот показатель выше, при несовместимости — ниже. Однако абсолютной взаимной толерантности никогда не происходит — остаточная сенсibilизированность сосуществующих клеток сохраняется, радиационная химера в иммунологическом смысле всегда конфликтный организм. Кроме того, иммунологический статус химер практически неуправляем (вернее, пока неизвестны способы управления им). Получая радиационную химеру, экспериментатор не может предсказать ее судьбу. Большинство химер погибает от вторичной болезни. У какого числа или у каких химер и почему установится взаимная толерантность, неизвестно. Поиски этих способов — это поиски преодоления барьера несовместимости тканей, ибо бесконфликтный химеризм — решение проблемы. У химер не только функционируют пересаженные кроветворные клетки, им можно трансплантировать любые ткани и органы доноров кроветворных тканей.

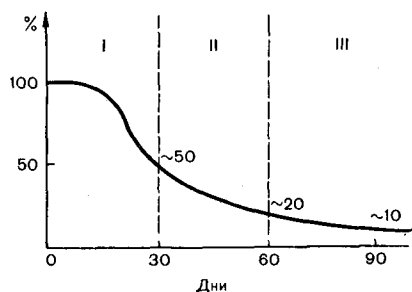


Рис. 91. Динамика отмирания радиационных химер по периодам (I—III). По оси абсцисс — длительность жизни химер, по оси ординат — количество выживших химер.

В понятие иммунологического статуса радиационных химер входит не только взаимоотношение сосуществующих лимфоидных ростков, но и способность химер развивать иммунный ответ на экзогенные антигены. Иммунологическая реактивность в динамике детально исследована у сингенных (без иммунного конфликта) химер. Показано, что у химер, созданных после летального облучения мышей и трансплантации костного мозга, нормальная реактивность долго не восстанавливается. Иммунизация эритроцитами барана на 10-е сутки после облучения и трансплантации не приводит к появлению антител в крови. Иммунизация на 20-е сутки или 30-е сутки обеспечивает появление в 40—20 раз меньших количеств антител, чем в норме. Даже у 100-дневных химер иммунный ответ составляет не более 25% от нормального.

В понятие иммунологического статуса радиационных химер входит не только взаимоотношение сосуществующих лимфоидных ростков, но и способность химер развивать иммунный ответ на экзогенные антигены. Иммунологическая реактивность в динамике детально исследована у сингенных (без иммунного конфликта) химер. Показано, что у химер, созданных после летального облучения мышей и трансплантации костного мозга, нормальная реактивность долго не восстанавливается. Иммунизация эритроцитами барана на 10-е сутки после облучения и трансплантации не приводит к появлению антител в крови. Иммунизация на 20-е сутки или 30-е сутки обеспечивает появление в 40—20 раз меньших количеств антител, чем в норме. Даже у 100-дневных химер иммунный ответ составляет не более 25% от нормального.

Это связано с тем, что радиационные химеры, полученные с помощью трансплантации костного мозга, в течение длительного времени остаются Т-дефицитными, поскольку популяция Т-лимфоцитов восстанавливается значительно медленнее, чем популяция В-лимфоцитов. Для быстрого восстановления способности к антителогенезу химерам необходимо дополнительно к костному мозгу трансплантировать клетки вилочковой железы или лимфатических узлов.

Трансплантационный иммунитет у сингенных радиационных химер также подавлен. Чужеродные кожные лоскуты, трансплантированные одновременно с созданием химеризма, персистируют в несколько раз дольше, чем у нормальных реципиентов. У 30-дневных химер при пересадке наблюдается лишь незначительное удлинение жизни кожного трансплантата.

Аллофенные химеры

Особый вид клеточного химеризма экспериментально создан и описан А. Тарковски (1969). Воспользовавшись методикой культивирования оплодотворенных яйцеклеток мышей *in vitro*, автор добился слияния яйцеклеток от животных двух разных генотипов. Наиболее успешно это происходит после трех первых дроблений, когда зигота состоит из восьми клеток. Слившихся зародышей имплантируют в матку самки, где они претерпевают дальнейшее развитие. Ткани родившихся мышей — аллофенных химер, состоят из клеток двух разных генотипов (это доказано с помощью метода хромосомных маркеров). Поскольку каждая зигота возникает из материнской и отцовской половых клеток, эти мыши имеют четырех родителей, поэтому их нередко называют тетрапарентальными животными. Термин «аллофенные» отражает фенотипическую аллогению тканей. Развитие различных участков даже одной и той же ткани из исходных клеток, принадлежащих разным генотипам, нагляднее всего демонстрируется на примере окраски шерсти. Если аллофенные мыши созданы на основе двух генотипов, отличающихся окраской шерсти, например А (белые) и С57ВL (черные), то они имеют «тигровую» окраску с чередованием черных и белых зон.

Иммунологический конфликт между двумя клеточными популяциями отсутствует. Данный тип химеризма представляет интерес не только в иммунологическом аспекте. Он служит моделью для изучения ряда вопросов биологии и аномалий развития. Например, интересные данные получены на химерах, возникших после слияния зигот с генотипом самца (XY) и самки (XX). Несмотря на наличие в организме смеси клеток мужского и женского генотипов, гермафро-

дитизм развивается чрезвычайно редко. По-видимому, закладка половой системы происходит из весьма ограниченного числа первичных клеток, и большинство аллофенных мышей развиваются в нормальных самок и самцов.

Глава XVI

ВРОЖДЕННЫЕ (ПЕРВИЧНЫЕ) ИММУНОДЕФИЦИТЫ

В главе XII были описаны закономерности генетического контроля иммунитета, обусловленного наличием генов иммунного ответа (Ig и им подобные), и сформулирован принцип конкретности иммунного ответа. Этот тип генетического контроля характеризуется специфичностью. Один и тот же индивидуум может быть высокореагирующим на один антиген и низкореагирующим при иммунизации другим антигеном.

Совершенно очевидно, что любая сложная система, функционирующая на основе взаимосвязанной работы нескольких органов, имеет по крайней мере еще один тип генетического контроля, реализуемого через анатомическое и функциональное развитие того или иного органа. Действительно, врожденное недоразвитие вилочковой железы не может не сказаться на функционировании иммунной системы. Несмотря на неспецифичность (по отношению к конкретным антигенам) такого генетического дефекта, принцип конкретности иммунного ответа не отменяется. Это обусловлено двумя моментами. Во-первых, генотипические различия индивидуумов по генам Ig не отменяются. Во-вторых, врожденные дефекты иммунной системы затрагивают ее отдельные звенья, оставляя другие функционирующими. Вследствие этого иммунодефицитные состояния — не равномерное снижение функциональной активности всех форм иммунного реагирования, а спектр конкретных врожденных дефектов, реализуемых через T- или B-систему клеток.

Классификация иммунодефицитов

Первую форму врожденного иммунодефицита обнаружил в 1952 г. О. Брутон у 8-летнего мальчика. Эта форма, вошедшая в литературу под названием агаммаглобулинемии брутоновского типа, характеризуется неспособностью вырабатывать иммуноглобулины, вследствие чего дети хронически страдают различными формами бактериальных инфекций. Отметим, что те или иные формы инфекционных осложнений типичны для иммунодефицитов. Инфекции — одна из основ-

ных причин ранней смертности этих больных. Вот почему открытие и изучение иммунодефицитов начались только в 50-е годы; применение антибиотиков обеспечило жизнеспособность новорожденных, имеющих тот или иной врожденный дефект иммунной системы.

В соответствии с номенклатурой ВОЗ под иммунологической недостаточностью первичного происхождения принято понимать генетически обусловленную неспособность организма реализовать то или иное звено иммунного ответа. Первичные иммунодефицитные состояния (ИДС) называют также врожденными, поскольку они проявляются вскоре после рождения, имеют четко выраженный наследственный характер и наследуются, как правило, по рецессивному типу.

В тех случаях, когда дефекты затрагивают специфические факторы иммунитета — антителообразование и клеточные формы иммунного ответа, они называются первичными специфическими иммунодефицитами в отличие от наследственно обусловленных дефектов неспецифических факторов защиты — фагоцитоза, системы комплемента и др.

Наследственно обусловленная неспособность организма развивать ту или иную форму иммунологического реагирования свидетельствует, что каждая форма реагирования имеет самостоятельный генетический контроль или зависит от самостоятельного этапа в цепи последовательных генетически контролируемых событий, обеспечивающих иммунопоэз. Именно поэтому классификация ИДС совершенствовалась вместе с накоплением знаний о генетических, биохимических и клеточных основах иммунного ответа.

Обнаруженные в 50-е — 60-е годы дефекты иммунной системы характеризовались в общей форме как синдромы гипогаммаглобулинемии, агаммаглобулинемии, гипоплазии вилочковой железы, иммунологической недостаточности с наличием карликовости и др. В дальнейшем, когда было выяснено, что специфический иммунный ответ включает два независимых друг от друга эффекторных механизма, возникла первая классификация иммунодефицитов.

В классификации 1968 г. определено положение того или иного синдрома по отношению к двум формам иммунного ответа: дефекты с поражением Т-системы, дефекты с поражением В-системы или сочетанные дефекты. В классификации ВОЗ 1972 г. были уточнены дефекты, типичные для того или иного синдрома, расширен перечень иммунодефицитов и введен еще один уровень дефекта — кроветворная стволовая клетка, из которой возникают как Т-, так и В-лимфоциты (табл. 32).

Однако дефекты В-системы клеток в разных случаях неоднозначны. Неодинаковы и поражения Т-системы клеток. Сочетания некоторых иммунологических дефектов носят слу-

Таблица 32

Классификация первичных иммунодефицитных состояний
(ВОЗ, 1972)

Тип иммунологической недостаточности	Предполагаемый дефект клеточной системы		
	В-клетки	Т-клетки	Стволовые клетки
Инфантильная сцепленная с X-хромосомой агаммаглобулинемия	+	—	—
Избирательная недостаточность иммуноглобулинов (IgA)	+	—	—
Сцепленная с X-хромосомой иммунологическая недостаточность с гипер-IgM	+	?	—
Гипоплазия вилочковой железы (синдром Ди-Джорджи)	—	+	—
Эпизодическая лимфопения с наличием лимфоцитотоксинов	—	+	—
Иммунологическая недостаточность с гипериммуноглобулинемией или без нее:		(иногда)	
с атаксией-телеангиэктазией (синдром Луи-Бар)	+	+	—
с тромбоцитопенией и экземой (синдром Вискотта-Олдрича)	+	+	—
с тимомой	+	+	—
с наличием карликовости	+	+	—
с генерализованной гипоплазией системы кровообращения	+	+	+
Тяжелая комбинированная иммунологическая недостаточность:			
ауто сомная рецессивная	+	+	+
сцепленная с X-хромосомой	+	+	+
спорадическая	+	+	+
Вариабельные формы иммунологической недостаточности (обычные, в основном неклассифицированные)	+	+	—
		(иногда)	

чайный характер, свидетельствуя об их независимом наследовании. Но есть и такие дефекты, которые практически всегда влекут за собой определенную недостаточность. Так, отсутствие способности синтезировать IgA может быть как самостоятельным дефектом, так и сочетанным с любым другим. В отличие от этого дефект по системе синтеза IgM почти никогда не бывает изолированным, а сочетается с дефектом синтеза IgG и IgA.

В 1974 г. была предложена принципиально новая классификация первичных ИДС, в основу которой были положены не нозологические формы, как это было в классификации ВОЗ, а уровень генетических блоков различных этапов развития Т- и В-систем иммунитета [Ю. М. Лопухин, Р. В. Петров, 1974]. На рис. 92 приведена схема этапов становления Т (верхний ряд) и В (нижний ряд) систем иммунитета, со-

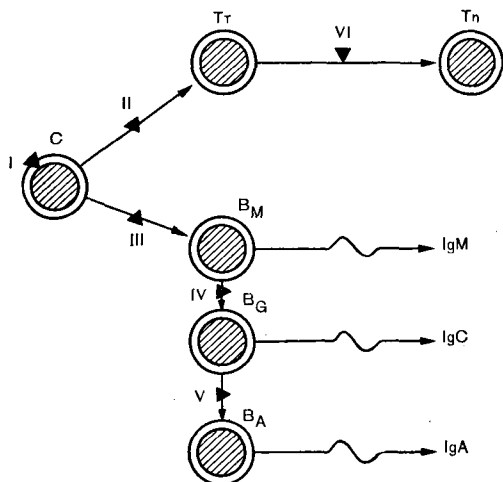


Рис. 92. Этапы развития (I—IV) Т- и В-систем иммунитета с уровнями реализации возможных генетических дефектов. С — стволовая клетка; Т — Т-клетки (т — тимическая, п — периферическая); В_М, В_Г и В_А — В-клетки.

ответствующая уровню наших знаний к 1974 г. На схеме обозначены места шести возможных генетических блоков, выключающих ту или иную часть системы иммунного ответа. Помимо одиночных генетических блоков, парализующих полностью или частично Т- и В-систему иммунитета, сделано реальное предположение о возможности комбинации одновременно двух разных дефектов. Общее число всех вероятных сочетаний составило 12. Созданная на этой основе классификация первичных иммунодефицитных состояний переносит центр внимания на уровень генетического дефекта, которому соответствуют известные формы ИДС, и предполагается вероятность существования невыявленных или еще не описанных новых клинических вариантов. В конце 1977 г. группой ведущих иммунологов — экспертов ВОЗ создана третья классификация первичных ИДС, в основу которой положен тот же принцип, который был предложен в 1974 г., с учетом новых данных о клеточных основах иммунного ответа, полученных клиницистами и экспериментаторами в последние годы [см. главу V; см. рис. 27].

Одной из примечательных черт новой классификации является то, что при ряде ИДС определен патогенетический механизм на молекулярном уровне с указанием конкретного дефицитного фермента: аденозиндеаминазы (АДА) при одной из комбинированных форм ИДС, пуриноклеозидфосфориллазы (ПНФ) или транскобаламина II при ИДС, сопровождающихся мегалобластной или гипопластической анемией.

Все многообразие форм специфических иммунодефицитов разделено на три большие группы.

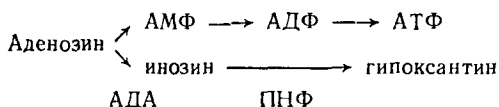
1. Комбинированные с поражением клеточного (Т) и гуморального (В) звеньев иммунитета.

2. ИДС с преимущественным дефектом клеточного (Т) иммунитета.

3. ИДС с нарушением функции продукции антител, т. е. с дефектом В-системы иммунитета.

В табл. 33 в верхних строках демонстрируется первая группа тяжелых комбинированных ИДС. Наиболее известным комбинированным ИДС является «швейцарский тип» с поражением Т- и В-систем иммунитета с высоким уровнем клеточного дефекта — кроветворная или лимфоидная стволовые клетки.

Дефекты на уровне ферментов АДА и ПНФ нарушают метаболизм аденозина:



Дефекты этих ферментов блокируют выработку гипоксантина, происходит избыточное накопление АТФ в тканях, что блокирует по неизвестным причинам созревание Т-клеток. Разделы 2—4 демонстрируют ИДС, связанные с преимущественным дефектом Т-системы. Характерным является синдром Ди-Джорджи, сопровождающийся параличом клеточного иммунного ответа. Из третьей группы ИДС с нарушением антителообразования наиболее типичным является агаммаглобулинемия брутоновского типа с генетическим блоком на уровне пред-В клеток. Особого внимания заслуживают селективные дефициты иммуноглобулинов, варианты которых демонстрируются разделами 8—9. Эти дефициты хорошо изучены и встречаются довольно часто: в 0,03—0,2% случаев всей популяции.

Диагноз первичных ИДС ставится на основе того, что у ребенка рано наблюдаются часто повторяющиеся или непроходящие пневмонии, отиты или другие инфекции, задержка в развитии, диареи, экземы и др. Оценка иммунной системы (см. главу XX), анализ содержания ряда ферментов и другой симптоматики, изложенной в табл. 33, уточняет диагноз. Характер наследования и учет сцепленных с полом форм ИДС позволяют проводить эффективное медико-генетическое консультирование. Большую ценность представляет пренатальное определение пола плода.

Необходимо отметить, что при первичных ИДС в 100—200 раз чаще, чем в соответствующих возрастных группах здоровых детей, наблюдаются различные опухолевые заболевания. Это особенно четко проявляется при тяжелых комбинированных формах, таких, как ИДС с атаксией-телеангиэк-

Классификация первичных специфических иммунодефицитов (ИД)

Формы иммунодефицита (определение)	Фенотипические проявления		Предполагаемый уровень основного клеточного дефекта	Известный или предполагаемый патогенетический механизм	Наследование	Главные сопутствующие синдромы
	функциональные дефекты	клеточные аномалии				
Тяжелые комбинированные иммунодефициты (ТКИД) а) Ретикулярный дистенез	Клеточный иммунитет (КИ), гуморальный (Аг), фагоцитарная активность КИ и Ат	↓ Т и В и фагоциты	Гемопозитивная клеточная клетка	Неизвестен	Аутосомно-рецессивное (АР)	Нарушение кроветворения
б) «Швейцарский тип»	КИ и Ат	↓ Т и В	Лимфоидная стволовая клетка (ЛСК)	Неизвестен	АР	—
в) Дефицит аденозиндезаминазы (АДА)	КИ и Ат	↓ Т±В	ЛСК или ранние Т	Метаболический эффект дефицита АДА	АР	Аномалии хондроцитов (±)
г) ТКИД с В-лимфоцитами	КИ и Ат	↓ Т±(В-лимфоциты без или с нормальной изотипной диверсификацией) ↓ Т	Ранние Т± ранние В	Неизвестен	Сцеплено с Х-хромосомой, или АР	—
Гипоплазия тимуса (синдром Ди-Джоржи)	КИ и Ат	↓ Т	Вилочковая железа	Эмбриопатия 3 и 4 фарингеальных карманов	Обычно не проследивается	Гипопаратиреоидизм, аномалии лица, сердечно-сосудистые аномалии
Дефицит пуриновой нуклеозидфосфолазы (ПНФ)	КИ±Ат	↓ Т	Т	Метаболический эффект дефицита ПНФ	АР	Гипопластическая анемия

ИД с атаксией-телеангиэктазией	КИ и Ат (частично)	↓ Т, плазматические клетки (в основном IgA, IgE±IgG)	Ранние Т и деффектная ко-нечная дифференциация В-лимфоцитов	(?) Ошибка ра-боты эпителия тимуса, (?) на-рушение репа-рации ДНК	АР	Церебральная ана-таксия, телеанги-эктазия, дистенез-яичников; хромо-сомные аномалии, низкий уровень α-фетопротеинов в крови
ИД с тимомой	Ат и КИ (пере-менно)	↓ пре-В и В± ↓ Т	Гемопозитес-кая стволовая клетка	Неизвестен	Нет	Тямома, зоино-ления, эритро-бластопения, апластическая анемия
Агаммаглобулине-мия, сцепления с Х-хромосомой	Ат	↓ В	Пре-В	Неизвестен	Сцеплено с Х-хромосомой	—
Дефицит транско-баламина II	Ат и фагоцитоз	↓ плазматичес-кие клетки	Нарушение ко-нечной диф-ференцировки В-лимфоцитов	Метаболические эффекты дефи-цита витамина В ₁₂	АР	Панцитопения с мегалобластичес-кой анемией, агро-фия ворсинок ки-шечника
Селективный дефи-цит IgA	Ат класса IgA	↓ IgA-плазма-тические клетки ± ↑ В _α -лимфо-циты ± ↓ Т	Конечная диф-ференциация В _α -лимфоци-тов	(?) ↑ Ts (?) ↓ Th (?) внутрикле-точные дефекты В-клеток	Неизвестно > АР > АД; часто встречается в семьях пациен-тов с различ-ными ИД	Иногда делеция 18 хромосомы, анги-IgA анти-тела
Селективный дефи-цит того или иного класса (подклас-са) Ig	Ат	↓ плазматичес-кие клетки ± ↓ Т	Неизвестен	Неизвестен, (?) ↑ Ts	Неизвестно	—

Формы иммунодефицита (определение)	Фенотипические проявления		Предполагаемый уровень основного клеточного дефекта	Известный или предполагаемый патогенетический механизм	Наследование	Главные сопутствующие синдромы
	функциональные дефекты	клеточные аномалии				
Дефицит секреторного участка молекулы IgA Ig-дефициты с повышенным IgM	Секторные антитела IgA Ат	↓ плазматические IgA клетки кишечника ↓ IgG- и IgA-плазматические клетки ↑ IgM-плазматические клетки ± ↑ В-лимфоциты	Клетки слизистой эпителия Нарушение коленной дифференциации В _γ и В _α -лимфоцитов	Неизвестен Неизвестен	Неизвестно Сцеплено с X-хромосомой, АР или неизвестно	— —
Ig-дефициты с продукцией IgM, но без γ- и α-В-клеток	АТ	Отсутствие В _γ - и В _α -лимфоцитов	Пре- В или В	Нарушение изотипической диверсификации	АР или неизвестно	—
Транзиторная гипогаммаглобулинемия у детей	АТ	↑ плазматические клетки	Нарушение коленной дифференциации В-лимфоцитов	(?) ↓ Тн	Часто у гетерозиготных индивидуумов в семьях с различными ТКИД	—
Дефицит антител с нормальным или сниженным уровнем Ig в крови	Выработка Ат на некоторые антителы (в основном первичный ответ)	↓ В	Пре- В или ранние В (?)	(?) Редукция числа клонов или их разнообразия	В некоторых случаях АР	—

10* Дефицит по х-цепям	Ат	↓V	Пре-В	Неизвестен	Неизвестно или семейное	—
Синдром Вискотта-Олдрича	Ат к определенным антигенам (в основном к полисахаридам) и нарастающий дефицит КИ	↓Нарастающие Т и В	Неизвестен	Неизвестен	Х-сцепление	Тромбоцитопения, экзема
Варибельные иммунодефициты (общие и по большей части неклассифицированные)						
а) Преобладание Ig-дефицита	Ат±КИ	±↓В	Пре-В или В в некоторых случаях	Внутриклеточные дефекты В; снижение продукции В; (?) ↓T _s ↓T _H , ауто-Ат к В-клеткам	Неизвестно или семейное	—
б) Преобладание Т-клеточного дефицита	Ат±КИ	↓Т	Ранние Т или Т _H	Неизвестен, аутоантитела к Т-клеткам	Неизвестно или семейное	—

тазией (у 8—10% детей имеются опухоли), синдроме Вискотта-Олдрича (8—16%). При сцепленной с полом агаммаглобулинемии у 6—9% детей имеются те или иные опухоли.

Повышенная частота аутоиммунных расстройств типа системной красной волчанки, ревматоидного артрита, гемолитической аутоиммунной анемии и др. регистрируется при ИДС с селективным дефицитом IgA, а также при синдроме Вискотта — Олдрича.

Врожденные дефекты фагоцитарной системы

Ярким примером врожденного дефекта фагоцитарной системы является хронический гранулематоз детей. Б. Грэй и Р. Гуд (1972) называют эту болезнь синдромом парадоксов. Парадоксы заключаются в том, что дети, страдающие данным заболеванием, проявляют высокую степень устойчивости к вирулентным стрептококкам, менингококкам, пневмококкам, но оказываются весьма подверженными инфицированию маловирулентными стафилококками, кишечными палочками, грибами и другими сапрофитами. Эти микроорганизмы захватываются макрофагами и лейкоцитами, однако фагоцитоз оказывается незавершенным. Микробы не перевариваются и фагоциты выполняют функцию «капсул», защищающих их от специфических факторов иммунного ответа, в частности от антител. Организм не очищается от микробов, несмотря на гипергаммаглобулинемию. В лимфатических узлах, печени и легких формируются гранулы, отличительным признаком которых служат гистиоциты, содержащие липохромные включения. Наиболее частой причиной смерти является прогрессирующий деструктивный процесс в легких за счет пролиферации и распада гранулем, заканчивающийся сепсисом.

Первичная причина нарушения фагоцитарного процесса заключается в метаболическом дефекте — неспособности клеток продуцировать H_2O_2 , что необходимо для нормального процесса обработки бактерий внутри фагоцита. Низкий уровень H_2O_2 является следствием недостаточности НАДФ-оксидазы в фагоцитах больных. Именно этот фермент обеспечивает перенос электронов на кислород с последующим образованием H_2O_2 . Дефект легко диагностируется путем постановки теста восстановления нитросинего тетразолия. Лейкоциты больного не способны превращать данный краситель в восстановленную форму пурпурного цвета.

Разработка методов лечения хронического гранулематоза у детей идет двумя путями. Первый предполагает заместительную ферментную терапию, второй — нахождение способов трансплантационного замещения дефектной фагоцитар-

ной системы посредством введения популяции стволовых клеток, способных продуцировать нормальные лейкоциты.

Хроническая гранулематозная болезнь относится к группе таких дефектов фагоцитарной системы, которые характеризуются нарушением бактерицидного эффекта фагоцитов. К ним же относятся дефекты миелопероксидазной, пируваткиназной и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной активности. Вторую группу ИДС этого рода составляют дефициты подвижности фагоцитирующих клеток (табл. 34).

Практически во всех случаях развивается повышенная чувствительность к бактериальным инфекциям. Лечение симптоматическое, хирургическое с применением соответствующих антибиотиков. Делаются попытки трансплантации фагоцитов.

Врожденные дефекты системы комплемента

Комплемент — ферментная система, необходимая для осуществления лизиса клеток (гемолиз, бактериолиз и др.) после присоединения к ним специфических антител.

Эта система имеется в кровяной сыворотке всех млекопитающих. Особенно активна система комплемента у морской свинки. В классической иммунологической литературе сыворотка морской свинки чаще всего использовалась в качестве комплемента при постановке реакций гемолиза или бактериолиза. Сыворотка, прогретая в течение 30 мин при температуре 56°C, лишается комплементарной активности. Открытие комплемента было связано с этим свойством. Были использованы следующие реагенты: эритроциты барана (ЭБ), нормальная сыворотка крови (НС), иммунная сыворотка против эритроцитов барана (ИС) и прогретая ИС (ПИС). Получены следующие результаты: ИС+ЭБ=лизис ЭБ; НС+ЭБ=отсутствие лизиса; ПИС+ЭБ=отсутствие лизиса; ПИС+ЭБ+НС=лизис. Следовательно, в нормальной кровяной сыворотке содержится термолабильная система, обеспечивающая лизис клеток под влиянием специфических антител.

Система комплемента включает девять различных протеинов (факторов); некоторые из них состоят из комплекса протеиновых субъединиц.

Девять основных протеинов обозначают символами C1, C2 и т. д., а полипептидные субъединицы C1—C1q, C1r, C1s. Вся система представляет собой последовательную цепь ферментов, активация которой инициируется комплексом антиген—антитело. В активации участвуют ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} . Конечный продукт C9 осуществляет лизис клеток. Активированные формы компонентов комплемента обозначают как $\bar{C1}$, $\bar{C2}$ и т. д. Возникающие в результате активации

Первичные фагоцитарные дефекты

Название	Функциональный дефицит	Дефектные клетки *	Дефектный механизм	Наследование	Сопутствующие синдромы
Хроническая гранулематозная болезнь	Бактерицидное действие	Н, М	Внутриклеточная продукция H_2O_2	Сцеплено с X-хромосомой	У матерей обычно эритематозная волчанка
То же	То же	»	То же	Аутосомно-рецессивное (АР)	
Дефицит миелопероксидазы	»	Н	»	АР	
Дефицит Г-6-ФД ** в лейкоцитах	»	Н	»	?	
Дефицит пируваткиназы в лейкоцитах	»	Н	?	?	
Болезнь Чедиака — Хигаси	Подвижность и бактерицидность	Н, М	?	?	Изменение пигментации волос, гранулы в фагоцитах
Болезнь Швахмана	Подвижность	Н	Дефицит активирующего протеина	АР	Нарушение функции поджелудочной железы, аномалии скелета

* Н — нейтрофилы; М — макрофаги, моноциты.

** Г-6-ФД — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа.

продукты, способные осуществлять те или иные побочные функции, обозначают символами C2a, C3b и т. д.

Последовательность включения отдельных компонентов комплемента такова: C1→C4; C2→C3; C5→C6→C7; C8→C9; C9→лизис. Основным звеном является компонент C3. Он может активироваться и под влиянием C3-проактиватора (C3PA). Последний образуется в реакции, катализируемой специальным ферментом — C3-проактиватор-конвертазой (C3РАза), «срабатывающим» под влиянием активированного пропердина (P), который активируется при взаимодействии микробных полисахаридов с сывороткой крови. Этот способ активации C3 таков: P→C3РАза→C3РА→C3. В дальнейшем C3 активирует последующие этапы системы.

Первый путь активации называется классическим, второй (через пропердин и C3) — альтернативным.

Т а б л и ц а 35

Последовательность активации компонентов комплемента под влиянием комплекса клеточный антиген — антитело (КА)

Активирующий фактор	Активированный комплекс	Биологическая активность генерируемых компонентов
КА C1qrs	КА	
Ca ²⁺	КАC1a	
C4	КАC1a, 4	C4 играет важную роль в иммуноприлипани, усиливает фагоцитоз
C2	КАC1a, 4, C2, + C2b	C2b является кинином
Mg ²⁺ C3	КАC1a, 4, 2, C3b + C3a	C3a (анафилатоксин I) играет важную роль в иммуноприлипани и эритрофагоцитозе, является фактором хемотаксиса и фактором высвобождающим гистамин; усиливает проницаемость сосудов, уменьшает мышечные сокращения
C5, 6, 7	КАC1a, 4, 2, 3b, 5b, 6, 7 + C5a	C5a (анафилатоксин II) высвобождает гистамин, повышает проницаемость, является фактором хемотаксиса
C8, 9	КАC1a, 4, 2, 3b, 5b, 6, 7, 8, 9	C9 необходим для лизиса мембран, вызывает лизис и гибель клеток

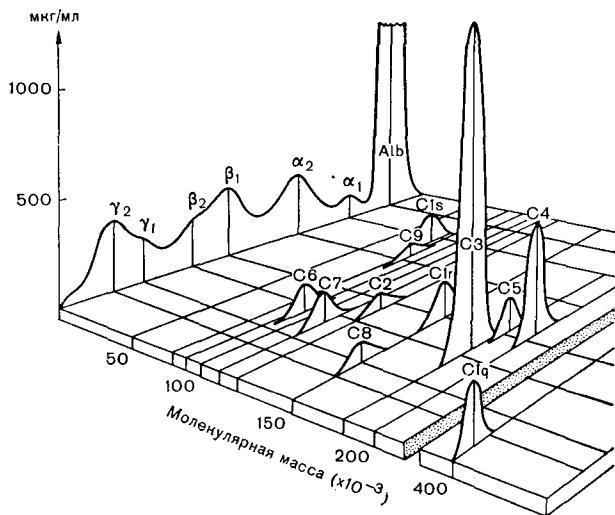


Рис. 93. Характеристика компонентов системы комплемента человека. По оси ординат — количество белка. Объяснения в тексте.

На рис. 93 приведена характеристика электрофоретической подвижности, молекулярной массы и содержания в сыворотке крови человека компонентов комплемента [Мюллер-Эберхард Х., 1971]. Компонент С3 относится к β_2 -глобулинам, его молекулярная масса около 180 000, концентрация в сыворотке крови 1500 мкг/мл. В табл. 35 приведены механизмы последовательного включения компонентов комплемента по классическому пути и возникающие биологически активные продукты, играющие важную роль в реализации воспалительных реакций. Иницирующим фактором является комплекс антиген — антитело, поскольку при его образовании молекулы IgM или IgG меняют свою конформацию так, что на Fc-фрагменте обнажается участок, взаимодействующий с компонентом С1 комплемента. В присутствии ионов Ca^{2+} С1 активируется и включает весь каскад. Альтернативный путь может быть включен бактериальными полисахаридами без антител или при участии IgA или IgE, т. е. молекул, не имеющих на Fc-фрагменте участка, связывающего С1.

Активационный каскад в системе комплемента от КАС1а до КАС1а, 4, 2, 3b, 5b, 6, 7, 8, 9 контролируется несколькими регуляторами.

1. Ингибитор С1 эстеразы подавляет С1а и приостанавливает активацию С2 и С4; уровень в крови 180 мг/л.

2. Инактиватор С3b расщепляет этот фактор на неактивные фрагменты, что, по-видимому, необходимо для нормальной работы альтернативного пути включения системы комплемента.

3. Инактиватор анафилотоксина. Этот фактор разрушает биологическую активность С3а и С5а.

Генетические дефекты могут затрагивать любой из компонентов системы комплемента. Очевидно, что дефицит того или иного фактора отменяет следующую за ним цепь событий. Доказанные генетические дефекты суммированы в табл. 36. Частные нарушения легко определить, сопоставив уровень поражения с данными табл. 35. Иначе говоря, ряд иммунологических реакций, анафилаксия, воспаление и др. протекают у таких индивидуумов с отклонениями от нормы.

Число описанных случаев первичных иммунодефицитов, за исключением дефицита по С1, измеряется единицами. В большинстве случаев эти дефекты остаются, по-видимому, не диагностированными.

Т а б л и ц а 36

Дефициты системы комплемента

Объект	Фактор дефицита	Наследование*	Сцепление с главным комплексом гистосовместимости	Клинические проявления
Человек	C1g	АР	—	Синдром, подобный системной красной волчанке (СКВ)
	C4	АР	+	То же
	C2	АР	+	» »
	C3	АР	—	Возвратные пиогенные инфекции
	C5	АР	—	СКВ
	C6	АР	?	Инфекции, вызываемые Neisseria
	C7 C8 Ингибитор C1a Инактиватор C3b	АР АР АД АР	— — — —	То же » » Наследственный ангионевротический отек Возвратные пиогенные инфекции
Морская свинка	C4	Одна линия		Здоровы
	C3-C9	То же		Вымирающие
Мышь	C5	Линии		Здоровы
Кролик	C6			»

* АР — аутосомно-рецессивное; АД — аутосомно-доминантное.

Лечение Т- и В- иммунодефицитов

Уже упоминалось, что врожденные дефекты стали известны и изучены благодаря антибиотикам, которые спасали детей от ранней гибели вследствие инфекционных осложнений. До эры антибиотиков таких детей просто не могли наблюдать: они умирали в самом раннем возрасте. Следовательно, антибиотикотерапия и другие методы лечения инфекций есть способ лечения подобных больных. Профилактика инфекционных осложнений путем содержания детей в стерильных боксах, а еще лучше — в абсолютно безмикробных условиях, с применением систем, обеспечивающих ламинарные воздушные потоки, конечно, еще эффективнее. Но практически это труднодостижимо. Как минимум дети с первичными ИДС должны содержаться в изолированных боксах.

Профилактика инфекционных осложнений возможна и путем активной иммунизации больных против наиболее частых инфекций, но только убитыми вакцинами. Она не столь действительна, как иммунизация здоровых организмов, но все-таки создает в ряде случаев некоторую степень невосприимчивости, повышает уровень Ig. Указанные профилактика и терапия не являются истинно лечебными мероприятиями, потому что не излечивают основной дефект, не устраняют, например, поражений В- или Т- системы иммунитета.

При тяжелых ИДС, вызванных недостатком адеинозиндезаминазы или пуриннуклеозидфосфорилазы, отличные результаты получены при введении замороженных и облученных эритроцитов, содержащих в большом количестве недостающие ферменты. Примером возможности успешного излечения ИДС является восстановление гемопоэтической и иммунологической функций у больных с недостатком транскобаламина II при назначении обычных доз витамина В₁₂.

Введение фактора переноса приводит в половине случаев к улучшению состояния больных синдромом Вискотта — Олдрича.

При дефекте В-системы клеток, выражающемся в снижении или отсутствии способности организма синтезировать иммуноглобулин, истинно лечебные мероприятия складываются из замещения недостающих иммуноглобулинов или замещения нехватки В-клеток. Первый путь связан с постоянным введением больным выделенных из крови здоровых людей иммуноглобулинов (γ -глобулинов). Эффективная доза 25—50 мг/кг чистых иммуноглобулинов в неделю. Такая терапия весьма эффективна. Она обеспечивает работоспособность больным, которые благодаря лечению доживают до зрелого возраста. Иммуноглобулины вводят внутримышечно. Лишь некоторые препараты пригодны для внутривенных инъекций. Нередко вместо иммуноглобулинов вводят плазму, полученную от нес-

кольных доноров с помощью плазмафереза. При инфекционных осложнениях ценными являются гипериммунные сыворотки против стафилококка, кишечной палочки и др.

Необходимо подчеркнуть, что введение γ -глобулина больным с полным отсутствием какого-либо класса иммуноглобулинов (например, IgA) абсолютно противопоказано в связи с развитием в таких случаях антител против отсутствовавшего ранее класса иммуноглобулинов.

Восстановление недостающих в организме В-клеток возможно только путем их трансплантации от совместимых в тканевом отношении доноров. Поскольку основным источником и местом В-клеток в организме — костный мозг, пересадка В-клеток означает фактически пересадку костного мозга.

Трансплантация иммунокомпетентных клеток — иммунная инженерия, в настоящее время является единственным способом истинного устранения причины иммунодефицитов. Ее роль — замена дефектной части иммунной системы нормальной.

В мире имеется уже 35 детей, родившихся с тяжелыми комбинированными иммунодефицитами, которым удалось полностью восстановить иммунную и гемопоэтическую функции с помощью пересадки костного мозга. Успех этой технически несложной операции определяется точностью подбора донора, который должен быть идентичен по полу, по системам гистосовместимости. Подбор неродственных доноров для больных с тяжелыми ИДС производится с помощью национальных регистров и по расчетам; один подходящий донор может быть выбран из 20 000 людей, протестированных по HLA-системе. К сожалению, все попытки преодолеть барьер гистосовместимости при пересадке аллогенного костного мозга самыми разнообразными путями: инъекцией блокирующих антител, гнотобиологическим содержанием больных, дробным введением малых доз костного мозга, применением антилимфоцитарного глобулина, разрушением *in vitro* донорских клеток ^3H -тимидином или бромдезоксиуридином, к успеху пока не привели.

Компенсация дефектной Т-системы иммунитета возможна только путем пересадки Т-лимфоцитов или вилочковой железы. Гуморальные факторы, обеспечивающие трансформацию кроветворных стволовых клеток в Т-клетки, еще не выделены. Вот почему компенсировать дефектную Т-систему еще сложнее, чем работу В-клеток. При Т-дефектах годится только трансплантация. Этот путь наиболее перспективен тем более, что с его помощью можно восстановить также и В-систему.

Все же применяют восемь типов пересадок, различных при разных дефектах иммунитета:

— пересадка клеток костного мозга, селезенки, лимфати-

ческих узлов или лимфоцитов крови от иммунологически зрелых доноров;

— пересадка вилочковой железы от несовместимого плода или взрослого донора;

— комбинированная пересадка печени, которая является поставщиком кроветворных стволов клеток, и вилочковой железы от одного и того же несовместимого донора-плода;

— пересадка цельного костного мозга от донора, совместимого с реципиентом по антигенам гистосовместимости;

— пересадка фракции стволовых клеток, выделенных из костного мозга иммунологически зрелого совместимого донора (может сочетаться с трансплантацией вилочковой железы);

— пересадка фракции стволовых клеток или цельного костного мозга от родителей с предварительным введением антител против антигенов гистосовместимости большого (для того, чтобы вызвать блокаду этих антигенов и уменьшить явления несовместимости);

— пересадка фракции стволовых клеток, выделенных из костного мозга родителей, в сочетании с иммунодепрессивной терапией;

— пересадка одновременно двух органов — вилочковой железы и грудины, взятых от мертворожденного ребенка; этот способ разработан в II Московском медицинском институте (Ю. И. Морозов, Ю. М. Лопухин). Смысл применения такого трансплантата заключен не только в «анатомическом удобстве» операции. Действительно, вилочковая железа расположена непосредственно за грудиной, которая является одним из главных вместилищ костного мозга. Их кровоснабжение тесно связано. Поэтому при соединении артериального и венозного русла такого единого блока с какими-либо сосудами реципиента устанавливается хорошее кровоснабжение обоих органов. Главное преимущество пересадки единого блока состоит в том, что пересаживаются целиком все компоненты Т-системы иммунитета. Здоровый костный мозг — поставщик здоровых стволовых клеток, которые через кровоток вернутся в свою собственную полноценную (донорскую) вилочковую железу и превратятся в Т-лимфоциты. Кроме того, костный мозг у человека является резервуаром В-клеток, и поэтому пересадка нормализует Т- и В-системы иммунитета. Вот почему трансплантация блока вилочковая железа — грудина является одним из перспективных способов лечения тех форм ИДС, когда дефектны Т- и В-системы клеток.

В заключение подчеркнем, что изучение врожденных иммунодефицитов и изыскание способов их лечения представляют для иммунологов двойную задачу — спасение больных детей и проблему более глубокого познания механизма работы иммунной системы человеческого организма.

АУТОИММУННЫЕ РАССТРОЙСТВА И БОЛЕЗНИ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ

Аутоиммунные реакции и заболевания

Аутоиммунными реакциями, или аутоиммунитетом, называют такие состояния, при которых в организме появляются антитела или сенсibilизированные лимфоциты против нормальных антигенов собственного тела. Антигены, против которых развивается аутоиммунный ответ, называют аутоантигенами.

В понятие аутоантигенов раньше включали антигенные субстанции тела, модифицированные физическими, химическими или микробными агентами. К категории аутоантител соответственно относили антитела против денатурированных антигенов. В настоящее время такая интерпретация аутоиммунных реакций оставлена по двум главным причинам. Во-первых, модифицированный тем или иным воздействием антиген является новым, чуждым для данного организма веществом. Его нельзя считать собственным антигеном. Это экзогенный антиген, возникший на основе собственного белка, полисахарида и т. п. Например, если к молекуле сывороточного альбумина кролика присоединить динитрофенильную группировку, он станет антигеном для данного кролика; антитела вырабатываются к возникшей новой детерминанте.

Во-вторых, антитела такого типа не являются аутоантителами. Они возникают в ответ на иммунизацию кролика комплексом любого белка, несущего новую, в нашем примере динитрофенильную детерминанту. Взаимодействовать они будут также с любым белком, несущим данную химическую группировку. С нормальными антигенами тела эти антитела соединяться не будут. Вот почему антитела или клеточные формы иммунного реагирования организма, развивающегося под влиянием физико-химически модифицированных субстанций собственного тела, представляют собой проявления нормального иммунного ответа, а не аутоиммунных реакций. Однако модифицированные антигены могут обеспечивать сры в естественной толерантности (см. главу XI) по отношению к немодифицированному аутоантигену с развитием аутоиммунной реакции.

Истинные аутоантитела реагируют с тем или иным нативным тканевым антигеном. При переносе в другой организм они взаимодействуют с этим же антигеном, обеспечивая перенос специфического патологического эффекта. Например, аутоантитела при тиреодите Хасимото направлены против тиреоглобулина: они взаимодействуют с этим веществом и в другом организме. Антиэритроцитарные аутоантитела при

аутоиммунной гемолитической анемии взаимодействуют, вызывая лизис, с нормальными эритроцитами любого человека, имеющего данный нормальный эритроцитарный антиген.

Не всегда легко провести грань между аутоиммунными реакциями и аутоиммунными заболеваниями. Существует представление, что аутоиммунные реакции в виде выработки небольших количеств аутоантител против самых разнообразных антигенных компонентов тела являются нормальным процессом, необходимым для транспорта этих компонентов в организме [Грабар П., 1975]. При этом наибольшая роль нормальным аутоантителам отводится в качестве транспортеров уже «отживших» макромолекул, вышедших из естественно разрушающихся клеточных и субклеточных структур. Главным аргументом в пользу этого представления служит то, что у большинства здоровых индивидуумов в крови обнаруживаются малые концентрации антител против различных нормальных антигенных субстанций тех или иных тканей.

Аутоиммунными заболеваниями следует считать те патологические процессы, при которых доказано, что аутоиммунные реакции играют главную или существенную патогенетическую роль. На практике к аутоиммунным относят гораздо больше патологических расстройств, чем то количество форм, для которых патогенетическая роль аутоантител или аутосенсибилизированных лимфоцитов точно доказана. Это в определенной мере оправдано, так как детальное изучение аутоиммунных заболеваний началось не более 10—20 лет назад. Вместе с тем следует иметь в виду, что для окончательного суждения об аутоиммунной природе той или иной нозологической формы заболевания необходимо, чтобы было удовлетворено несколько требований [Витебски Л., 1961]. Эти требования подобны постулатам, сформулированным Кохом в отношении инфекционных заболеваний. Для аутоиммунных болезней эти постулаты следующие.

— аутоантитела или аутосенсибилизированные лимфоциты должны обнаруживаться во всех случаях данного заболевания, хотя бы в некоторых его стадиях. Наличие аутоантител должно быть точно доказано путем подтверждения специфичности в разных реакциях, демонстрацией их иммуноглобулиновой природы и т. д. Соответствующие доказательства должны быть получены и при обнаружении аутосенсибилизированных лимфоцитов;

— должен быть обнаружен и охарактеризован аутоантиген(ы), вызывающий развитие аутоиммунных реакций;

— болезнь должна быть смоделирована экспериментально с помощью аутоиммунизации животных причинным аутоантигеном или путем подбора таких линий экспериментальных животных, у которых данный тип заболевания развивается спонтанно;

— должна быть показана возможность переноса болезни или ведущего патологического синдрома в другой организм посредством переноса сывороточных антител или лимфоидных клеток, взятых от больной особи. В экспериментальных условиях это легко достижимо при использовании сингенных доноров и реципиентов.

В зависимости от локализации патологического процесса при аутоиммунных заболеваниях их подразделяют на органоспецифические и неорганоспецифические. Существуют патологические расстройства, обладающие признаками обоих указанных типов. Все заболевания составляют такой ряд, в котором органная специфичность патологического процесса уменьшается по мере возрастания признаков системных неорганоспецифических поражений. В центре ряда располагаются заболевания с локализацией процесса в том или ином органе и с наличием неорганоспецифических аутоантител (табл. 37). Дж. Хэмфри и Р. Уайт (1972) следующим образом характеризуют основные признаки двух крайних типов аутоиммунных болезней.

При органоспецифических расстройствах аутоантитела специфичны к одному компоненту (или группе) одного органа. Чаще всего причинные антигены в течение жизни индивидуума находятся вне контакта с лимфоидными клетками («забарьерные» антигены), в связи с чем естественная толерантность к данным антигенам отсутствует. Патологический процесс воспроизводят в эксперименте с помощью инъекции животным соответствующего антигена в полном адьюванте Фрейнда.

При неорганоспецифических расстройствах аутоантитела реагируют с различными тканями данного или даже другого вида животных (например, антинуклеарные антитела). Аутоантигены в этих случаях относятся к тем, которые не изолированы от контакта с лимфоидными клетками. Иначе говоря, аутоиммунизация развивается на фоне ранее существовавшей толерантности. Экспериментальное воспроизведение аутоиммунного расстройства данного типа затруднительно, однако у животных некоторых генотипов в определенном возрасте оно развивается спонтанно. Примером служат мыши линии NZB (см. далее).

В тех случаях, когда точно доказана патогенетическая роль аутоантител как причины тканевых поражений, продемонстрированы два пути реализации их действия: прямое цитотоксическое влияние антител на клетки соответствующих органов; опосредованное действие антител через комплекс антиген — антитело. Последний откладывается в функционально значимых участках пораженного органа, вызывая его патологические расстройства.

Комплексы антиген — антитело могут вызывать патологиче-

Т а б л и ц а 37
Спектр аутоиммунных болезней

Органоспецифические	←————→			Неорганоспецифические
Тиреоидит Хасимото	Синдром Гудпасчера	Миастения гравис	Первичный билиарный цирроз	Системная красная волчанка
Первичная микседема		Аутоиммунная гемолитическая анемия		
Тиреотоксикоз	Пемфигус	Синдром Сьёгрена	Активный хронический гепатит (некоторые случаи)	Дискоидная эритематозная волчанка
Пернициозная анемия	Симпатическая офтальмия	Идиопатическая тромбоническая пурпура	Криптогенный цирроз (некоторые случаи)	Дерматомиозит Склеродерма
Аутоиммунный атрофический гастрит	Факогенный увеит	Идиопатическая лейкопения		
Болезнь Аддисона			Язвенный колит	Ревматоидный артрит
Ранняя менопауза (некоторые случаи)				
Мужское бесплодие (некоторые случаи)	Рассеянный склероз (?)			

ские расстройства не только в тех случаях, когда это аутоантитела-аутоантигены. Тканевые повреждения, развивающиеся вследствие отложения комплексов антиген — антитело получили название болезней иммунных комплексов. Среди них есть аутоиммунные и неаутоиммунные формы (см. ниже). Ряд иммунологических расстройств имеет смешанный механизм поражения тканей. Для многих аутоиммунных расстройств причинная роль антител окончательно не доказана. Они могут быть следствием патологического процесса или сопутствующим феноменом (антитела-«свидетели»). В части случаев патогенетическая роль аутоантител доказана бесспорно. Среди них аутоиммунная гемолитическая анемия, идиопатическая тромбопеническая пурпура, синдром Гудпасчера, волчаночный нефрит, тиреоидит Хасимото, пернициозная анемия, ревматоидный артрит, синдром Сьегрена и др.

Аутоантитела против эритроцитов или тромбоцитов вызывают прямое разрушение соответствующих клеток. Это их действие может быть перенесено в другой организм. Они также проникают через плаценту и могут вызывать разрушение соответствующих клеток плода.

При синдроме Гудпасчера аутоантитела направлены к базальной мембране почек и легких. Они обуславливают возникновение легочной и почечной патологии вследствие поражения этой мембраны. Патологический процесс можно воспроизвести у обезьян инъекций крови от больного человека.

Волчаночный нефрит развивается вследствие отложения на базальной мембране почечных клубочков комплекса ДНК — анти-ДНК. Причиной возникновения комплекса являются циркулирующие в крови больных аутоантитела против ДНК. Комплекс антиген — антитело присоединяет к себе компонент и обеспечивает развитие местной воспалительной реакции, приводящей к повреждению основной мембраны. Введение животным комплекса ДНК-анти-ДНК вызывает развитие клинических и патологоанатомических признаков поражения почек, типичных для эритематозной волчанки.

При тиреоидите Хасимото доказана патогенная роль аутоантител против тиреоглобулина и микросом ацинарных клеток щитовидной железы. При пернициозной анемии бесспорна патогенная роль аутоантител против внутреннего фактора, необходимого для утилизации витамина В₁₂. При ревматоидном артрите накапливаются антитела против иммуноглобулинов класса G (ревматоидный фактор).

У больных с ювенильным ревматоидным артритом обнаружены антитела против Т-лимфоцитов, несущих антиген JRA (Juv enile Rheumatoid Artheritis): JRA+ Т-лимфоциты составляют 30% всех Т-лимфоцитов и являются регуляторными для В-клеток, JRA-лимфоциты усиливают секрецию Ig В-клетками.

Синдром Сьегрена представляет собой аутоиммунное поражение слюнных и слезных желез. При тиреоидите Хасимото или первичной микседеме, а также при пернициозной анемии аутоантитела оказывают прямое повреждающее действие. При ревматоидном артрите, как и при волчаночном нефрите, они обеспечивают накопление патогенного комплекса антиген — антитело.

Механизмы аутоиммунизации (гипотезы)

Уже указывалось, что одна из первых гипотез аутоиммунизации была основана на том, что нормальная иммунная система организма реагирует на измененные по тем или иным причинам антигены собственного тела. Причиной изменения тканевых антигенов могут быть химические, в том числе лекарственные, воздействия, влияние физических (например, радиационных или термических) факторов и микробные или вирусные агенты. Предполагали, что цепь событий следующая: возникновение измененного тканевого антигена → реакция иммунной системы на этот аутоантиген → выработка антител или сенсibilизированных лимфоцитов → их деструктивное влияние на те или иные ткани. При этом оставались необъясненными два пункта. Во-первых, каким образом антитела против модифицированного антигена могут повреждать нормальные ткани? Так как антитела строго специфичны, следует ожидать, что они должны взаимодействовать только с модифицированным антигеном, вступать в связь с ним и играть не деструктивную, а защитную роль. Во-вторых, выполнив защитную роль и обеспечив таким образом элиминацию из организма модифицированного антигена, иммунный ответ должен обеспечить быстрое самоизлечение организма от аутоиммунного заболевания. В действительности эти заболевания обладают длительным самоподдерживающимся характером.

На смену этому представлению пришла гипотеза, основанная на идее Ф. Бернета о запрещенных клонах лимфоидных клеток. Принципиальное отличие этой и всех последующих гипотез от предыдущей состоит в том, что аутоиммунные расстройства представляют собой патологию иммунной системы. Изменения, приводящие к расстройству, затрагивают не тканевые антигены, а иммунную систему, в результате чего она реагирует против нормальных тканевых антигенов, т. е. против истинных аутоантигенов.

В соответствии с гипотезой запрещенных клонов предполагается следующая цепь событий: возникновение генетически измененных лимфоидных клеток, способных реагировать против нормальных антигенов тела → накопление запрещенного клона клеток → иммунная реакция запрещенного клона против тех или иных тканевых антигенов с появлением аутоанти-

тел или сенсibilизированных лимфоцитов—→их деструктивное влияние на те или иные ткани.

Концепция запрещенных клонов объяснила, почему аутоантитела направлены против нормальных антигенов и почему аутоиммунные заболевания обладают длительным самоподдерживающимся характером. Она произвела аутоиммунные расстройства в ранг болезней иммунной системы организма и впервые поставила вопрос о том, что для эффективной борьбы с ними необходимо искать способы лечения не пораженных аутоантителами тканей, а иммунной системы. В последние годы идея о запрещенных клонах обогатилась фактами, установившими возможность поликлональной активации В-клеточной дифференцировки. Действительно, ряд митогенов (митоген лаконоса, бактериальные полисахариды, синтетические полианионы и др.) вызывает пролиферацию и дифференцировку всех В-клонов данной клеточной популяции. Предполагается, что такого типа процесс может привести к активации аутоагрессивных клонов. Эта гипотеза хорошо объясняет провоцирующую роль инфекционных и других экзогенных воздействий при наследственной предрасположенности к аутоиммунным расстройствам. Поликлональная активация В-клеток может быть следствием нарушения регулирующей роли Т-лимфоцитов (см. ниже).

Весьма распространено представление о механизме аутоиммунизации как о процессе, обусловленном отсутствием или утратой иммунологической толерантности к определенным компонентам тела. Таковыми могут быть антигены «забарьерных тканей», которые в норме не поступают в кровоток, а лимфоциты не могут проникнуть в эти ткани через гистогематические барьеры. К таким барьерам относятся хрусталик и некоторые другие субстанции глаза, половые железы, ткани мозга и др. Действительно, тяжелая травма одного глаза нередко ведет к аутоиммунному поражению второго (симпатическая офтальмия). Инъекция животным тестикулярной или мозговой ткани вместе со стимулятором Фрейнда часто способствует появлению аутоантител и развитию поражений соответствующих органов.

Большой интерес представляет гипотеза определяющей роли перекрестно реагирующих антигенов. Перекрестно реагирующими антигенами называют общие антигенные детерминанты тканей животных и микроорганизмов. Речь идет фактически о гетероантигенах (см. главу II). Однако в этом случае постулируется не полная тождественность антигенов, а идентичность только отдельных детерминант, с которыми способны взаимодействовать В-лимфоциты. Несущие части антигенных молекул у перекрестно реагирующих антигенов различны. Гипотеза исходит из двух достаточно убедительно подтвержденных фактов. Во-первых, в организме существуют

В-лимфоциты, способные реагировать на аутоантигены. Реакция эта не завершается синтезом аутоантител потому, что соответствующие клоны Т-клеток в нормальных условиях толеранты к аутоантигенам. Взаимодействие В-лимфоцитов с толерантными Т-лимфоцитами невозможно, иммунопоэз не включается. Во-вторых, гипотеза опирается на известные данные о «срыве» толерантности в тех случаях, когда толерантному животному вводят данную гаптенную детерминанту на другом белковом носителе (см. главу XI). Предполагают, что перекрестно реагирующие антигены микроорганизмов включают в иммунопоэз аутоагрессивные В-клетки, обеспечивая их взаимодействие с теми Т-лимфоцитами, которые специфичны к несущей части микробного антигена. Происходит «срыв» естественной толерантности к собственным антигенам, начинается выработка аутоантител. Как и предыдущие гипотезы, эта концепция предполагает аутоагрессию, т. е. запрещенную в норме гиперреактивность иммунной системы организма в адрес компонентов собственного тела.

Совершенно новое объяснение предложил Х. Фьюденберг (1971). Новизна его состоит в том, что аутоиммунные болезни рассматривают с противоположной точки зрения — не как повышенную активность иммунной системы, а как иммунодефициты. Гипотеза Х. Фьюденберга основана на достижениях в области изучения генетического контроля иммунного ответа. Использовано главное положение этой области иммуногенетики — наличие генов высокого и низкого иммунного ответа на те или иные конкретные антигены. Если организм гомозиготен по генам, определяющим низкую иммунологическую реактивность по отношению к антигенам некоего микроорганизма, то он не может осуществлять полноценную иммунную защиту от этого микроорганизма. В отношении других антигенов организм способен развивать нормальный иммунный ответ. Иммунодефицит такого типа обеспечивает достаточно безнаказанное длительное паразитирование данного микроба или вируса в тканях организма. Вызванная ими деструкция тканей приводит к высвобождению «скрытых» в обычных условиях тканевых антигенов, которые в норме никогда в кровоток не поступают. Поскольку генетический дефект иммунной системы обуславливает ее неполноценность только в отношении указанных микробных антигенов, она полноценно реагирует на высвобожденные вследствие инфекционной деструкции тканевые аутоантигены. Вырабатываются аутоантитела — организм пытается защищаться если не от самого инфекционного агента, то хотя бы от продуктов тканевой деструкции.

Приведенная гипотеза затрагивает проблемы первостепенной важности. Во-первых, она связывает патогенез аутоиммунных болезней с инфекциями. Известно, что ревматоидный

артрит, некоторые аутоиммунные поражения почек и другие заболевания многие исследователи ставят в зависимость от стрептококковой или другой хронической инфекции. Во-вторых, гипотеза ставит под сомнение целесообразность иммунодепрессивной терапии, широко применяемой при лечении ряда аутоиммунных болезней. В-третьих, она вновь подчеркивает важность проблемы поиска способов превращения генетически низкореагирующих на данный антиген особей в высокореагирующих (см. главу XII). Иначе говоря, ставится вопрос о том, что для лечения (по крайней мере некоторых) аутоиммунных расстройств необходимо целенаправленно стимулировать иммунную систему, а не подавлять ее иммунодепрессивными средствами.

Одна из наиболее продуктивных гипотез, объясняющих механизмы аутоиммунизации, сформулирована в 1974 г. Она возникла после открытия Т-супрессоров. Речь снова идет об иммунодефиците, но о дефиците по Т-супрессорам, которые «диктуют» В-лимфоцитам развитие толерантности. В-лимфоциты после контакта с антигеном под влиянием клеток — Т-супрессоров не трансформируются в плазматические клетки — продуценты антител, а впадают в состояние толерантности. Гипотеза предполагает, что именно таким образом поддерживается толерантность В-системы иммунитета по отношению к аутоантигенам. При дефиците по Т-супрессорам В-клетки начинают реагировать на тканевые антигены, вырабатывают аутоантитела, которые и обеспечивают развитие аутоиммунного заболевания. Дефицит по тимуспроизводной популяции клеток-супрессоров может быть врожденным пороком вилочковой железы или может возникнуть по неизвестным причинам (в том числе под воздействием токсических, вирусных или других факторов).

Активность клеток-супрессоров действительно снижена при системной красной волчанке, ревматоидном артрите, рассеянном склерозе и других аутоиммунных заболеваниях, а также у мышей с аутоиммунной патологией (см. ниже). Весьма важны данные последних лет о снижении активности супрессорных клеток при некоторых аутоиммунных заболеваниях.

Самая последняя гипотеза предполагает нарушение нормального процесса самораспознавания. В главе VII были изложены материалы о том, что реакция лимфоцитов на чужеродные антигены осуществляется на основе узнавания взаимодействующих клеток (двойное распознавание, идиотипическая сеть). Доказано существование структур и рецепторов, обеспечивающих распознавание «своего». Эти структуры контролируются главным комплексом гистосовместимости или относятся к идиотипам и антиидиотипам иммуноглобулинов. Нарушение механизмов самораспознавания, конечно же, может привести к иммунологическому реагированию против соб-

ственных клеток и тканей. Существование антиидиотипических антител доказано. В последние годы продемонстрировано наличие антирецепторных антител, например против клеточных рецепторов для ацетилхолина, инсулина и других гормонов. Некоторые формы сахарного диабета, резистентные к инсулинотерапии, объясняются аутоиммунитетом с накоплением аутоантител против клеточных рецепторов, нормально воспринимающих гормональный (инсулиновый) сигнал.

Каков бы ни был механизм развития аутоиммунных реакций, суть этого явления в обобщенной форме заключается в том, что происходит отмена толерантности к собственным компонентам тела и появление активно функционирующего аутоагрессивного клона иммунокомпетентных клеток.

Диагностика и лечение аутоиммунных заболеваний

В табл. 38, 39, 40 приведены определяющие клинические и иммунологические критерии шести наиболее изученных и распространенных заболеваний.

При болезни Аддисона антигеном служат компоненты цитоплазмы адреналовых клеток коры надпочечников. Аутоантигенами при мужской стерильности и в случаях преждевременной менопаузы являются соответственно сперматозоиды и цитоплазма стероидпродуцирующих клеток яичников. При рассеянном склерозе в качестве аутоантигена предполагаются антигенные субстанции головного мозга, факогенном увеите — антигены хрусталика, симпатической офтальмии — сосудистая оболочка глаза, тромбоцитопенической пурпуре — тромбоциты, первичном желчном циррозе — митохондрии клеток ряда тканей, активном хроническом гепатите — гладкая мускулатура, ядра клеток, язвенном колите — липополисахариды толстого кишечника, синдроме Сьегрена — клетки эпителия слюнных желез и протоков, нуклеопротеиды и IgG.

Лечение аутоиммунных заболеваний весьма несовершенно. Чаще всего успех терапии временный. Длительное поддержание состояния ремиссии — наиболее типичный результат лечения. Именно поэтому интенсивно продолжаются поиски эффективной терапии.

Можно выделить шесть принципов и направлений, по которым идет разработка методов терапии и которыми в большей или меньшей степени пользуются в клинике.

Принцип деклонизации предполагает радикальное решение проблемы. Все приведенные гипотезы аутоиммунизации тождественны в одном — в организме функционирует клон лимфоидных клеток, который вырабатывает антитела или sensibilizированные лимфоциты против нормальных антигенов тела. Селективная элиминация его остановит патологический процесс. Реализация принципа связана с теми же трудностями

Примеры аутоиммунных заболеваний органоспецифического типа

Заболевание	Клинический и патологический синдромы	Аутоантиген	Метод выявления аутоантител
Тиреоидит Хасимото и первичная микседема	Увеличение щитовидной железы. Почти полное замещение нормальной ткани инфильтратом, состоящим из лимфоцитов и плазматических клеток. Ацинарные полости, содержащие тиреоглобулиновый коллоид, окружены деструктивно измененными эпителиальными клетками, основная мембрана дезорганизована. Характерен синдром недостаточности щитовидной железы с развитием микседемы. При первичной микседеме щитовидная железа атрофирована	Тиреоглобулин, второй коллоидный антиген (СА ₂), микросомы ацинарных клеток	Преципитация, пассивная гем-агглютинация, иммунофлюоресцентный тест на фиксированных препаратах щитовидной железы
Пернициозная анемия	Нарушение кроветворения из-за недостаточности витамина В ₁₂ . Недостаточность развивается вследствие наличия аутоантител против внутреннего фактора, вырабатываемого париетальными клетками слизистой оболочки желудка для транспортировки витамина В ₁₂ . Обнаружены два механизма действия аутоантител. «Блокирующие» антитела блокируют тот участок внутреннего фактора, который предназначен для соединения с витамином В ₁₂ . «Связывающие» антитела соединяются с комплексом внутренний фактор — В ₁₂ и подавляют его активность	Внутренний фактор, микросомы париетальных клеток	Реакция нейтрализации, блокирующая проба с препаратом В ₁₂ , связывание с комплексом внутренний фактор — В ₁₂ , иммунофлюоресцентный тест на фиксированных препаратах слизистой оболочки желудка

Примеры аутоиммунных заболеваний неорганоспецифического типа

Заболевание	Клинический и патологический синдромы	Аутоантиген	Метод выявления аутоантител
Системная красная волчанка	<p>При тяжелых формах: высокая температура периодами, кожные сыпи, развитие гломерулонефрита, полиартрита и полисерозитов, кардита и васкулитов. Типичны развитие фиброза, утолщение и некроз стенок артериол во многих органах, атрофия эпидермиса и коллагеновая дегенерация дермы. Наиболее патогенную роль играют, по-видимому, аутоантитела против ДНК и нуклеопротеидов. Они действуют на многие клетки. Ядра лимфоцитов под влиянием этих антител разбухают и подвергаются фагоцитированию нейтрофилами (феномен LE)</p>	<p>ДНК, нуклеопротеид, цитоплазматические антигены ряда клеток, эритроциты, факторы свертывающей системы крови, денатурированный IgG, антиген Вассермана (липопротеид)</p>	<p>Преципитация и пассивная агглютинация ДНК, ДНП, реакция связывания комплемента с ДНК, ДНП; иммунофлюоресцентный тест (свечение ядер клеток на срезах и в мочном слое клеточных культур); феномен LE; реакция связывания комплемента с экстрактами разных тканей; реакция Вассермана</p>
Ревматоидный артрит	<p>Наиболее типичны симметричные артриты мелких суставов кистей рук или коленных суставов. В основе артритов лежит хронический синовит с воспалительной инфильтрацией, приводящей к деструктивному гранулематозу суставных поверхностей. Нередки васкулиты, серозиты, миокардиты, развитие подкожных фибриноидных узлов. Аутоиммунным компонентом процесса является ревматоидный фактор (антитела против IgG). Он относится к иммуноглобулинам типа M и обеспечивает возникновение в организме растворимого комплекса антиген-антитело</p>	<p>IgG</p>	<p>Пассивная агглютинация эритроцитов или латекса, нагруженных IgG.</p>

Примеры аутоиммунных заболеваний промежуточного типа

Заболевание	Клинический и патологический синдромы	Аутоантигены	Метод выявления аутоантител
Миастения гравис	Ожирение таких групп мышц, как мышцы глаза, гортани, конечностей и др. Типична мышечная слабость. Чаще болеют женщины. У новорожденных от больных женщин за счет трансплацентарного перехода материнского IgG синдром возникает и продолжается 1½—2 мес. В вилочковой железе постоянно регистрируются зародышевые лимфоидные центры с появлением плазматических клеток и истончением коркового слоя	Скелетные и сердечные мышцы, миоидные клетки вилочковой железы	Иммунофлюоресцентный тест на фиксированных препаратах скелетных мышц
Аутоиммунная гемолитическая анемия	Эритропения развивается вследствие ненормально быстрого разрушения поступающих в кровь эритроцитов. Причиной, вызывающей их разрушение, являются аутоантитела, проявляющие свою активность в широком диапазоне температур: от 0 до 37°C (тепловые антитела), или при пониженных температурах: от 0 до -20°C (холодовые антитела). Тепловые относятся к IgG, холодные к IgM. Эритроциты больных в большинстве случаев покрыты аутоантителами и поэтому агглютинируют под влиянием антиглобулиновой сыворотки в реакции Кумбса	Эритроциты	Антиглобулиновая проба Кумбса

ми, которые стоят перед онкологией (элиминация раковых клеток без повреждения нормальных) или перед трансплантационной иммунологией (создание специфической толерантности по отношению к антигенам трансплантата). Удаление вилочковой железы при миастении гравис является попыткой осуществить деклонизацию, поскольку есть основания считать, что при этом заболевании именно в данном органе возникают аутоагрессивные клоны лимфоидных клеток. Существуют доказательства того, что при миастении гравис эпителиальные клетки вилочковой железы вырабатывают избыточное количество тимина — гормона, ингибирующего передачу нервно-мышечного импульса. Эта гиперфункция может быть следствием аутоиммунной реакции против данных клеток. Конечно, эта деклонизация далеко не селективная. Кроме того, операция осложняется развитием через несколько лет Т-иммунодефицита.

Удаление иммуногена или адьюванта не всегда реально, поскольку аутоантигеном чаще всего служит жизненно важная «неубираемая» из организма субстанция. Удаление предполагаемых адьювантов возможно. Адьювантное действие оказывают многие микробы и различные воспалительные очаги. Санация организма больного — целесообразный элемент лечения.

Иммунодепрессивная терапия. Применение иммунодепрессантов или лучевой ингибиции лимфоидных тканей явилось логическим следствием признания аутоиммунной природы рассматриваемых заболеваний. Наиболее часто используют такие вещества, как имуран, 6-меркаптопурин, циклофосфамид, кортикостероиды. На рис. 94 показан конкретный случай применения иммунодепрессантов для лечения системной красной волчанки [Насонова В. А., 1974].

Блокада медиаторов иммунологических реакций. Терапевтическое действие оказывают антигистаминные препараты. В некоторых случаях получают лечебный эффект от применения веществ, инактивирующих комплемент. К таким соединениям относится змеиный яд.

Противовоспалительные средства. Ацетилсалициловая кислота и подобные ей препараты оказываются эффективными при ряде аутоиммунных заболеваний. Кортикостероиды также являются активными противовоспалительными средствами, поэтому их назначают практически при всех аутоиммунных расстройствах не только в целях иммунодепрессии. Перспективно применение простагландинов, в частности простагландина E₁ (ПГЕ). Этот препарат значительно продлевает жизнь аутоиммунных мышей, уменьшает поражения почек, снижает протеинурию, особенно при длительном применении, начиная с молодого возраста. Любопытно, что ПГЕ не снижает уровень циркулирующих в крови антинуклеарных антител

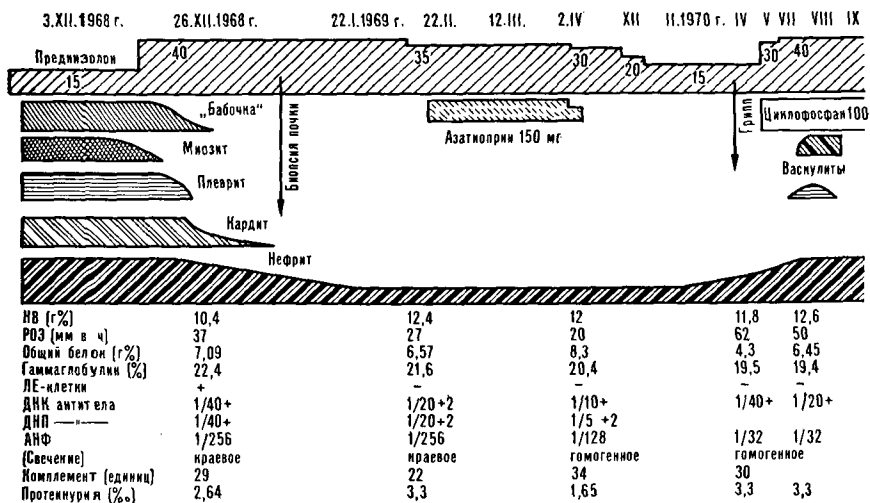


Рис. 94. Некоторые клинические показатели течения системной красной волчанки при лечении преднизолоном, азатиоприном и циклофосфаном.

и не меняет их изотипию или avidность. Механизм его действия связан со снижением уровня циркулирующего комплекса антиген — антитело и воспалительных изменений в тканях.

Заместительная терапия. Имеется в виду назначение тех метаболитов, дефицит которых определяет патологический синдром. Например, при пернициозной анемии необходимо вводить витамин B_{12} , при первичной микседеме — тироксин и т. д.

Моделирование аутоиммунных расстройств в эксперименте

Наиболее часто для изучения вопросов патогенеза, диагностики и лечения аутоиммунных расстройств используют три экспериментальные модели. Первая основана на том, что при многократном введении животным ряда тканевых антигенов с адьювантом развивается симптомокомплекс, подобный аутоиммунному расстройству с поражением соответствующих органов. Эта модель особенно успешно воспроизводится при использовании антигенов «забарьерных» тканей (см. выше). Приведем несколько наиболее характерных примеров.

Инъекция кроликам кроличьего тиреоглобулина вызывает появление антител и поражение щитовидной железы, подобное тиреоидиту Хасимото. Введение тестикулярной ткани обуславливает аллергический орхит.

Так называемый аллергический энцефаломиелит развивается у морских свинок, мышей и обезьян при введении антиген-

ных препаратов из тканей головного мозга. Эта экспериментальная патология моделирует поствакцинальный энцефалит, развивающийся в некоторых случаях у людей после вакцинации антирабической вакциной. Эту вакцину готовят путем размножения вируса в кроличьем спинном мозге, она содержит примесь антигенов мозга. Развитие аллергического энцефалита зависит от наличия Ig-гена, контролирующего силу иммунного ответа на основной белок миелина. Эти данные свидетельствуют о роли генотипа в развитии аутоиммунных расстройств.

Введение тканевых почечных препаратов, обогащенных гломерулярной тканью, приводит к развитию гломерулонефрита и других поражений, типичных для синдрома.

Развитие перечисленных экспериментальных синдромов действительно опосредуется через реакции иммунной системы против тканевых антигенов. Это доказано с помощью переноса воспроизведенного синдрома другим животным. Оказывается, что лимфоидные клетки, взятые от особей с экспериментальным аутоиммунным тиреоидитом, энцефаломиелитом, орхитом или гломерулонефритом и перенесенные нормальным сингенным реципиентам, обеспечивают возникновение у них соответствующего синдрома.

Моделирование неорганоспецифических аутоиммунных расстройств удается путем воспроизведения реакции «трансплантат против хозяина» (см. главу XIV). При этом полностью имитируется сущность явления — в организме живут и функционируют лимфоидные клетки, реагирующие на нормальные тканевые антигены тела. Возникают антитела против форменных элементов крови, антигенов кожи и др. Развиваются анемии, дерматиты, поражения почек, кишечника и другие расстройства, сходные с таковыми при различных аутоиммунных заболеваниях.

Наилучшими моделями, конечно, являются генетические со спонтанным возникновением аутоиммунных заболеваний вследствие наследственных особенностей животных некоторых линий. Для этого чаще всего используют мышей линии NZB и гибридных мышей (NZB×NZW) F_1 . У первых в 6—9-месячном возрасте постоянно развивается аутоиммунная гемолитическая анемия, появляются аутоантитела против эритроцитов, проба Кумбса положительная, срок жизни эритроцитов укорочен. Молодые животные здоровы. Однако если клетки лимфатических узлов или селезенки, взятых от старых (имеющих аутоиммунную анемию) мышей, перенести молодым реципиентам, у них развивается данный патологический синдром.

У мышей (NZB×NZB) F_1 аутоиммунное заболевание имитирует системную красную волчанку человека. В крови циркулируют аутоантитела против ДНК и нуклеопротеидов, регистрируется феномен LE и возникает комплекс антиген —

антитело, приводящий к развитию типичного волчаночного гломерулонефрита. Патологический процесс также может быть перенесен лимфоцитами в другой организм. Мыши линий MRL/1 и BXSB также спонтанно заболевают аутоиммунным заболеванием, подобным системной красной волчанке.

Помимо мышей, существуют другие виды животных с врожденными аутоиммунными расстройствами. Известна линия кур Obese (тучные), для которой характерно развитие аутоиммунного тиреоидита, аналогичного болезни Хасимото человека. Описана аутоиммунная болезнь у алеутских норок и синдромы, подобные синдромам системной красной волчанки у собак.

Болезни иммунных комплексов и их моделирование

Типичными примерами болезней иммунных комплексов, не связанных с аутоиммунизацией, служат сывороточная болезнь и феномен Артюса (см. главу IV). Сывороточная болезнь — пример системного поражения, вызываемого комплексом антиген — антитело, феномен Артюса — местное иммунокомплексное поражение.

На рис. 95 представлена динамика основных компонентов, приводящих к развитию сывороточной болезни при введении кролику большой дозы бычьего сывороточного альбумина (БСА). Выработка антител начинается после 7-го дня, приводит к быстрому исчезновению свободного БСА из циркуляции, появлению иммунных комплексов. Свободноциркулирующие антитела при сывороточной болезни появляются тогда, когда проходит основная симптоматика (лихорадка, спленомегалия, суставные боли, кожные высыпания, протеинурия).

Антитела классов IgG и IgM, образуя комплексы с антигеном, присоединяют и комплемент. В определенных условиях этот комплекс антиген — антитело — комплемент (ААК), откладываясь в тканях, обеспечивает развитие выраженного воспаления с нейтрофильной инфильтрацией, с нарушением нормальной структуры тканей, проницаемости мембран, с развитием некротических процессов. Антитела класса IgG играют большую роль вследствие того, что IgM-антител в количественном отношении значительно меньше. Для того чтобы индуцировать иммунокомплексную патологию, необходимо использовать довольно большие дозы растворимого долгоциркулирующего антигена. Если антиген поступает постоянно и длительно даже в небольших дозах, возникает хроническая иммунокомплексная болезнь. Ситуация в какой-то мере имитирует развитие комплексов при аутоиммунных расстройствах. Комплемент в ААК не играет существенной роли в локализации комплекса, но участвует в развитии тка-

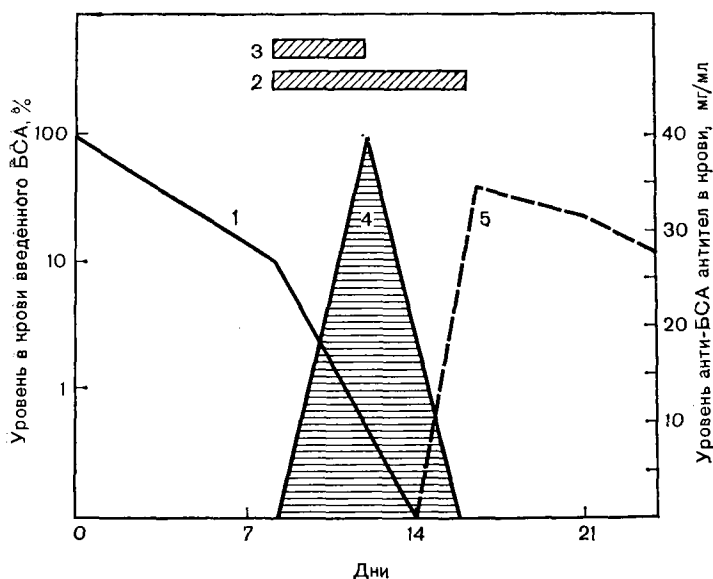


Рис. 95. Динамика концентрации антигена, антител, комплекса антиген—антитело в крови и тканевых повреждений при моделировании сывороточной болезни.

1 — антиген; 2 — отложения комплекса антиген—антитело в тканях; 3 — циркулирующие комплексы антиген—антитело; 4 — тканевые повреждения; 5 — антитела.

невых поражений. Уменьшение концентрации компонента в крови служит существенным диагностическим показателем. Последовательность событий при отложении комплекса антиген — антитело в стенке сосудов такова: комплекс фиксирует компонент, формируются хемотаксические факторы (С3а, С5а), нейтрофилы присоединяются к ААК, поскольку имеют рецепторы к С3, и фагоцитируют комплекс. Выделяются ферменты и другие химические субстанции, поражающие сосудистую стенку: катепсины D и E, эластаза, коллагеназа, серия пептидных медиаторов, активирующих выброс гистамина тучными клетками, влияющих на гладкую мускулатуру сосудов, и т. д.

Иммунокомплексная патология развивается не только при сывороточной болезни или аутоиммунных расстройствах, но и при ряде инфекций (постстрептококковый гломерулонефрит, лепра, лимфоцитарный хориоменингит и др.), при паразитарных инвазиях и др. (см. табл. 41).

Лечение болезней, связанных с иммунными комплексами, включает следующие пути.

1. Удаление антигена: антиинфекционная или антипаразитарная терапия.

Болезни с наличием иммунных комплексов
(по Е. Найдигеру и др., 1980)

1. **Идиопатические воспалительные заболевания:** системная красная волчанка, ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилит, эссенциальная криоглобулинемия, склеродермия.
 2. **Инфекционные болезни:** а) бактериальные-стрептококковые, стафилококковые, подострый эндокардит, пневмококковые, микоплазмы, лепра; б) вирусные — гепатит В, острый и хронический гепатит, лихорадка Денге, инфекционный мононуклеоз, цитомегаловирусная болезнь новорожденных; в) паразитарные — малярия, трипаносомоз, токсоплазмоз, лейшманиоз, шистосомоз.
 3. **Почечные болезни:** острый гломерулонефрит, IgA-нефропатия, почечный трансплантат.
 4. **Гематологические и неопластические болезни:** острый лимфобластический и миелобластический лейкоз; хронический лимфоцитарный лейкоз, болезнь Ходжкина, солидные опухоли: легкие, грудь, толстая кишка, меланнома, тяжелая гемофилия, иммунная гемолитическая анемия.
 5. **Кожные болезни:** герпетиформный дерматит, пемфигус и пемфигоид.
 6. **Болезни желудочно-кишечного тракта:** болезнь Крона, язвенный колит, хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз.
 7. **Неврологические болезни:** подострый склерозный панэнцефалит, амиотрофический боковой склероз.
 8. **Болезни эндокринной системы:** тиреонидит (Хасимото), ювенильный диабет.
 9. **Ятрогенные болезни:** острая сывороточная болезнь, D-пенициллиновая нефропатия, лекарственная тромбоцитопения.
-

2. **Удаление антител:** иммуносупрессия, специфическая гемосорбция, цитоферез крови.
3. **Удаление иммунных комплексов:** обменные переливания плазмы, гемосорбция комплексов.

Г л а в а XVIII

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУНИТЕТ

Главная задача иммунной системы — контроль за генетически постоянством внутренней среды организма (иммунологический надзор). Любые генетически, а следовательно, антигенно чужеродные клетки, попадающие в организм или возникающие в нем вследствие мутаций и других процессов, изменяющих геном, стимулируют иммунный ответ, направленный на элиминацию этих клеток. Приведем основные аргументы в пользу участия иммунной системы в противораковой защите организма:

-- повышенная частота возникновения злокачественных опухолей у животных и людей, подвергающихся иммунодепрессивной терапии. У больных, длительно получающих иммунодепрессанты в связи с пересадкой почки, частота возникновения различных опухолей увеличивается в 30—50 раз;

— повышенная более чем в 100 раз частота возникновения опухолей у детей с первичными иммунодефицитами, затрагивающими Т-систему иммунитета (синдром Ди-Джорджи, атаксия-телеангиэктазия и др.);

— повышенная частота возникновения опухолей у тимэктомированных животных, особенно при инъекции им опухолеродных вирусов или опухолевых клеток;

— многие формы рака сопровождаются снижением показателей функциональной активности Т-системы иммунитета. При более высоких показателях выраженности клеточного иммунитета у больных наблюдается более благоприятное течение опухолевого процесса. Выраженная инфильтрация опухолевой ткани лимфоцитами является хорошим прогностическим признаком;

— экспериментально доказана возможность создания противоопухолевой резистентности путем активной или пассивной иммунизации; для опухоленосителей характерны положительные кожные пробы немедленного или замедленного типа с экстрактами из их опухоли;

— в онтогенезе иммунный ответ развивается неполноценно в период новорожденности и в старости; именно эти периоды характеризуются наибольшей частотой злокачественных новообразований;

— доказано наличие в организме опухоленосителей противоопухолевых антител и лимфоцитов-киллеров, специфически sensibilizированных против клеток данной опухоли.

Опухолевые антигены

Поскольку иммунные процессы инициируются чужеродными антигенами, иммунный ответ на опухолевые клетки возможен только в том случае, если они содержат антигены, отсутствующие в нормальных клетках данного индивидуума. Существование опухолевых антигенов в настоящее время окончательно доказано. Однако в 1949 г., когда Л. А. Зильбер впервые продемонстрировал антигенные отличия раковых клеток от нормальных, его сообщение было встречено весьма скептически. Скептицизм не исчез даже после 1957 г., когда Т. Прен и Дж. Мэйн показали, что иммунитет, созданный после иммунизации мышей убитой химически индуцированной опухолью, взятой от сингенных доноров, распространяется только на опухолевые клетки; кожный лоскут от тех же доноров приживается. Иначе говоря, опухоль содержит свои собственные только ей антигены.

Г. И. Абелев (1974) выделяет четыре главные группы опухолевых антигенов.

Антигены вирусных опухолей. Синтез этих антигенов детерминирован вирусным геномом. Наличие их доказано для

ДНК-овых (аденовирусы, вирусы полиомы, SV40, вирус папилломы Шоупа и др.) и РНК-овых (вирус опухоли молочных желез мышей, вирусы лейкоза, Гросса, Раушера, саркома Рауса и др.) вирусов. Вирусы первой группы индуцируют ядерные и мембранные антигены, не являющиеся компонентами вирусных частиц; они принадлежат клетке. Мембранные антигены относятся к сильным протективным антигенам. С их помощью удается эффективно иммунизировать животных против данного типа опухоли. Например, животное, иммунизированное вирусом полиомы или клетками вызванной им опухоли, резистентно к введению любого типа опухолевых клеток, индуцированных вирусом полиомы.

Онкорнавирусы и вирусы типа герпеса, помимо мембранных клеточных антигенов, обеспечивают наличие в опухолевой клетке антигенов самих вирусных частиц.

Основная особенность антигенов, индуцированных опухолеродными вирусами, состоит в том, что они идентичны для любых опухолей, вызванных данным или родственным вирусом. Именно поэтому иммунопрофилактика и иммунотерапия вирусных опухолей имеют больше всего шансов на успех.

Антигены «канцерогенных» опухолей. Антигены опухолей, индуцированных канцерогенами, строго индивидуальны. Они различны у разных индивидуумов и в разных опухолях одного и того же индивидуума, даже если для индукции опухолей использовался один и тот же канцероген. Это правило справедливо как для химических (метилхолантрен, дибензантрацен, бензпирен и др.), так и для физических (целлофановые пленки, ультрафиолетовая радиация, стронций-90 и др.) канцерогенных воздействий. Роль и значение этих антигенов изучаются. Иммуитет, созданный путем введения убитых (например, облученных) клеток опухоли, обеспечивает резистентность животного только к данной опухоли, т. е. той конкретной опухоли, которую брали для иммунизации от того же конкретного донора. Не исключено, что подобные антигены возникают и при некоторых вирусных опухолях.

Изоантигены трансплантационного типа. Ряд опухолей, индуцируемых онкорнавирусами (лейкозы, рак молочных желез мышей и др.), содержит антигены трансплантационного типа, именуемые ТСТА-опухолеспецифические трансплантационные антигены. Именно ТСТА различны во всех индивидуальных опухолях, индуцированных химическими канцерогенами, а тождественны в разных опухолях, вызванных одним и тем же вирусом. Предполагается, что это связано с высокой мутабельностью генетической системы, контролирующей антигены гисто-совместимости. Однако в норме мутировавшие клетки элиминируются. При неэффективности иммунологического надзора, что типично для ракового процесса, накапливаются

клетки, синтезирующие не свойственные данному организму изоантигены.

Эмбриональные антигены. Известно, что в процессе канцерогенеза клетки многих тканей подвергаются своеобразной дедифференцировке, приобретая эмбриональный тип строения. При гепатомах, тератомах, саркомах, карциномах и ряде индуцированных вирусами и канцерогенами опухолей обнаружены эмбриональные антигены, специфичные для эмбриональных стадий развития данного организма. Они способны иммунизировать организм против опухоли. Поскольку такие антигены исчезают до или сразу после рождения и в норме никогда не появляются, толерантность к ним отсутствует. Поэтому, появляясь в опухолевых клетках, они могут индуцировать иммунный ответ против опухоли. Наиболее изученными антигенами этого типа являются α_1 -фетопротейн при первичной карциноме печени и раковоэмбриональный антиген (РЭА) при аденокарциноме кишечника, желудка и пищевода или поджелудочной железы. При злокачественных опухолях у детей с нейробластомой, лимфосаркомой, ретикулоскелеточной саркомой или с опухолями мозга обнаруживается α_2 -фетопротейн, при раке желудка — фетальный сульфогликопротеин. Эти антигены локализируются в клеточных мембранах и циркулируют в крови опухоленосителей. Обнаружение α -фетопротейна и РЭА в крови служит диагностическим тестом для опухоли данного типа.

Кроме перечисленных групп опухолевых антигенов, выделяют еще одну — **гетероорганические антигены**. Эти антигены нельзя отнести к чужеродным для данного организма, так как, помимо опухоли, они присутствуют в каких-либо других нормальных тканях. Например, гепатома содержит органоспецифический почечный антиген, аденокарцинома почки — антигены, типичные для печени и легких.

Наконец, в опухолях находится большинство антигенов, типичных для тканей данного гистологического типа: видоспецифические, органоспецифические, изоантигены, гетероантигены, т. е. общие с антигенами других видов живых существ (в том числе форсмановский антиген).

В заключение необходимо подчеркнуть, что, помимо опухолевых антигенов, для многих форм злокачественных опухолей характерно некоторое антигенное упрощение. Например, при раке толстого кишечника может происходить утрата гликозаминогликановых антигенов, типичных для секретирующих клеток. При карциноме щитовидной железы утрачивается типичный для данного органа «микросомальный» антиген, обнаруживаемый с помощью иммунофлюоресцентного метода в микросомах и не являющийся тиреоглобулином. Антигенное упрощение отражает, по-видимому, утрату определенных функций раковыми клетками.

Формы иммунного ответа организма на опухоль

Доказано наличие обеих форм иммунного ответа на опухоль: гуморального с появлением антител и клеточного с накоплением Т-лимфоцитов-киллеров, сенсibilизированных против опухолевых клеток. Подобно трансплантационному иммунитету, роль антител в противоопухолевой защите «двулика». В одних экспериментах выявляется их защитное действие, в других — противоопухолевые антитела содействуют прогрессивному росту опухоли. Эффект усиления (enhancement-феномен) обнаружен именно в опытах с опухолями. Роль клеточного иммунного ответа одна — разрушение опухолевых клеток. Рис. 96 иллюстрирует эффективность противоопухолевой иммунизации мышей, которая выражается в том, что животные переносят 1000-кратные заражающие дозы опухолевых клеток [Бенацераф Б., 1979].

Иммунизацию животных против той или иной опухоли производят, применяя несколько способов. Во-первых, делают прививку или индуцируют опухоль канцерогеном с последующим хирургическим удалением опухолевого узла или пораженного органа до начала метастазирования. С помощью этого метода было показано развитие иммунного ответа против аутохтонных (собственных) опухолей. Во-вторых, проводят иммунизацию убитыми клетками опухоли: в качестве инактивирующего воздействия нередко применяют облучение клеток γ - или рентгеновскими лучами. В-третьих, для иммунизации, особенно вирусиндуцированными опухолями, используют экстракты или фильтраты опухолевых тканей. Следует подчеркнуть, что эксперименты требуют использования чистолинейных сингенных животных. При работе с беспородными животными или использовании в качестве доноров и реципиентов животных разных генотипов противоопухолевый иммунный ответ не может быть учтен. Реципиенты развивают иммунный ответ против изоантигенов и в первую очередь против нормальных трансплантационных антигенов главной системы гистосовместимости, по которым отличаются доноры и реципиенты. Вот почему при ранних исследованиях противоопухолевого иммунитета были получены крайне противоречивые результаты. Только введение в экспериментальную онкологию инбредных животных поставило проблему иммунологии рака на твердую научную основу.

Как указывалось выше, содержащая противоопухолевые антитела сыворотка иммунизированных животных или животных-опухоленосителей при переносе в другой организм может давать двоякий эффект. В некоторых случаях пассивная иммунизация проходит успешно; животному, получившему сыворотку, не удастся привить соответствующую опухоль или для этого требуется введение значительно больших, чем обыч-

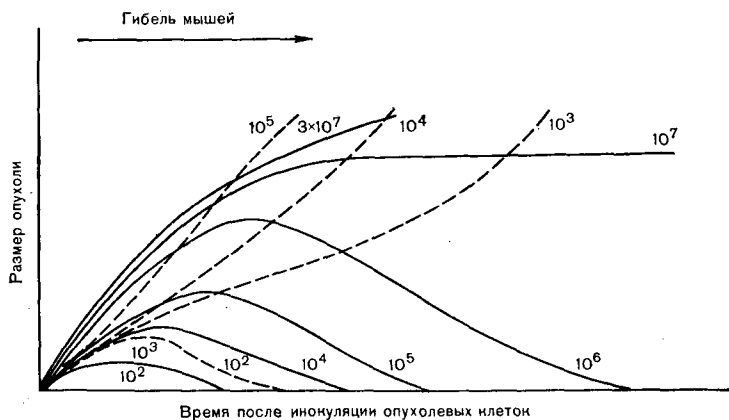


Рис. 96. Выживаемость интактных и иммунизированных мышей после заражения опухолевыми клетками от сингенных доноров в разных дозах. — иммунизированные; --- интактные.

но, количество клеток перевивной опухоли. В других случаях опухоль усиливает свой рост.

В отличие от этого перенос лимфоидных клеток от иммунизированного животного интактному, т. е. воспроизведение адаптивного иммунитета (см. главу IX), не приводит к развитию эффекта усиления, а заканчивается развитием противоопухолевой резистентности у животного, получившего иммунные лимфоциты. Опыты также требуют сингении доноров и реципиентов лимфоцитов.

Существенный вклад в изучение противоопухолевого иммунитета был внесен благодаря разработке метода ингибции колоний опухолевых клеток *in vitro* [Хеллштрём К. Хеллштрём И., 1971]. Этот метод представляет собой вариант ранее описанного принципа выявления цитопатогенного действия сенсibilизированных лимфоцитов (см. главу IX). Эффект ингибции колоний строго специфичен. Например, лимфоциты, взятые от мыши с индуцированной метилхолантреном саркомой, подавляют рост колоний только этой (аутохтонной) опухоли, эксплантированной *in vitro* от опухоленосителя.

Исследования указанных авторов были продолжены с тем, чтобы выявить различия в противоопухолевом действии лимфоцитов в разные периоды роста опухоли. Оказалось, что эффективность лимфоцитов примерно одинакова вне зависимости от того, удалена саркома или она продолжает расти и убивает животное. Получив такие результаты, К. Хеллштрём и И. Хеллштрём провели серию опытов с папилломой Шоупа у кроликов. Особенность этой опухоли состоит в том,

что у большинства животных она персистирует в карциному и убивает опухоленосителя. У части животных опухоль спонтанно регрессирует и исчезает. Кроликов первой группы авторы назвали персисторами, второй — регрессорами. Оказалось, что лимфоциты животных обеих групп в равной мере активны против опухолевых клеток и специфически подавляют колониеобразование. Однако если в тест-систему добавить сыворотку крови персисторов, то подавляющая активность иммунных лимфоцитов блокируется. Сыворотка крови регрессоров или нормальных кроликов не отменяет противоопухолевого действия лимфоцитов. Эта блокада специфична. Сыворотки крови животных с другими опухолями не влияют на лимфоциты, иммунные против этой сыворотки, и наоборот.

Была доказана иммуноглобулиновая природа блокирующего фактора. С учетом специфичности его действия была сформулирована концепция блокирующих антител. Согласно этой концепции, гуморальная и клеточная формы иммунного ответа на опухоль находятся в своеобразных антагонистических взаимоотношениях. Иммунные лимфоциты распознают антигенные детерминанты опухолевых клеток и уничтожают их. Гуморальные антитела, соединяясь с этими же детерминантами, не способны оказать вредное влияние на опухолевые клетки, но экранируют их от цитопатогенного действия иммунных лимфоцитов. Судьба опухоли и опухоленосителя зависит от соотношения гуморальный/клеточный иммунитет. Эта концепция, опирающаяся на известный эффект усиления, приобрела большую популярность. В 1974 г. Р. Горзински и соавт. показали, что содержащиеся в сыворотке крови блокирующие факторы представляют собой опухолевые антигены, циркулирующие в крови в комплексе с антителами. При этом механизм блокирующего действия заключается не только в том, что антитела закрывают антигенные детерминанты опухолевых клеток, делая их недоступными для лимфоцитов; циркулирующие в крови опухолевые антигены блокируют рецепторы иммунных лимфоцитов. Лимфоциты с заблокированными рецепторами не могут оказать цитопатогенного влияния на опухолевые клетки. Рис. 97 иллюстрирует описанные выше факторы противоопухолевого иммунного ответа.

Огромную роль в противоопухолевой защите организма играют НК-лимфоциты — естественные киллеры, а также лимфоциты, обеспечивающие антителозависимый опосредованный клетками лизис-нулевые, К- и L-клетки (см. главу VI). Их значение особенно велико при врожденных или приобретенных Т-дефицитах.

Е. В. Грунтенко (1975) обосновал двоякую роль вилочковой железы в опухолевом росте: она является центральным органом иммунологического надзора, обеспечивающим элиминацию раковых клеток, за исключением неоплазм, индуцируе-

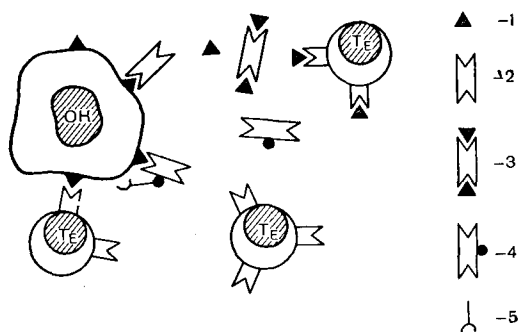


Рис. 97. Основные гуморальные и клеточные факторы противоопухолевого иммунитета.

1 — опухолевый антиген; 2 — усиливающее антитело; 3 — комплекс опухолевый антиген—антитело (блокирующий фактор); 4 — молекула антитела, способная связывать комплемент; 5 — комплемент. ОК — опухолевая клетка; T_E — Т-лимфоцит-эффектор.

мых вертикально передающимися онкогенными вирусами, — в этих случаях зарегистрирована тимусзависимость опухолей. При удалении вилочковой железы эти опухоли возникают реже и развиваются медленнее.

Причины неэффективности иммунного ответа

Наличие и рост опухоли, т. е. совокупности клеток, отличающихся в антигенном отношении от организма-носителя, представляют собой иммунологическую загадку. Главный вопрос состоит в том, что антигенно чужеродная ткань не отторгается. Ситуация прямо противоположна той, которая имеет место при трансплантации аллогенных тканей или органов.

Задача трансплантационной иммунологии — измерить или подавить систему иммунологического надзора. Необходимо добиться ситуации, подобной существующей в организме опухоленосителя, когда антигенно чужеродная ткань не отторгается вследствие неполноценности иммунологического надзора. Задача онкологической иммунологии — восстановить или усилить систему иммунологического надзора. Вполне возможно, что обе эти задачи едины в своей основе и будут решены одновременно.

В общей форме иммунологический надзор постоянно в течение всей жизни индивидуума избавляет его от изменяющихся потенциально опасных в раковом отношении клеток. Рак представляет собой ситуацию, когда родоначальные опухолевые клетки избегают или обходят механизмы иммунной защиты.

Каковы же причины неполноценности иммунного ответа в случаях возникновения и развития опухоли? В предыдущем разделе фактически изложены все возможные причины. Первая — усиливающее рост опухоли действие циркулирующих в крови противоопухолевых антител по типу эффекта усиления. Вторая — блокада специфических «противоопухолевых рецепторов» на поверхности иммунных лимфоцитов циркулирую-

щими в крови опухолевыми антигенами и блокирующим фактором. Кроме того, заслуживают внимания еще четыре предположения.

Роль иммунологической толерантности. Для ряда вирусных опухолей, в частности для опухолей, индуцированных онкорнавирусами, предполагается, что вирусные частицы постоянно присутствуют в геноме клеток в неполной форме, подобно латентным фагам. У животных «высокоракowych» линий легко происходит его превращение в активно репродуцирующуюся полную форму, обеспечивающую развитие опухоли. Поскольку неполная форма вируса содержится в геноме всех клеток организма, она находится и в половых клетках. Это обеспечивает вертикальную передачу вируса от родителей детям через половые клетки. Следовательно, вирусные частицы присутствуют в организме с самых первых этапов его эмбрионального развития, обеспечивая становление иммунологической толерантности. У таких организмов любой провоцирующий агент, способствующий превращению неполного вируса в полный, приведет к развитию опухоли. Иммунный ответ в этом случае несостоятелен вследствие выраженной иммунологической толерантности.

Это предположение подтверждается экспериментами, демонстрирующими, что вирусные опухоли наиболее успешно развиваются, если инфицирование животных производится *in utero* или вскоре после рождения. Инокуляция ряда вирусов взрослым животным или не приводит к развитию опухолей, или возникающие опухоли носят незлокачественный характер и регрессируют при наличии положительных показателей иммунного ответа. Это справедливо для папилломы Шоупа у кроликов, вируса Yaba у обезьян [Хемфри Дж., Уайт Р., 1973].

Иммуносупрессивное влияние опухоли. Предполагают, что раковые клетки выделяют неидентифицированные иммуносупрессивные субстанции.

В табл. 42 приведены результаты изучения конкретных звеньев иммунопоzza у мышей-опухоленосителей [Петров Р. В., Хаитов Р. М., 1979]. Видно угнетение миграции и взаимодействия Т- и В-лимфоцитов, снижение числа В-предшественников, Т-помощников при повышении активности Т- и В-супрессоров. Однако вопрос о том, что первично, пока остается открытым.

Дисбаланс между скоростью развития иммунного ответа и ростом опухоли, иммунная селекция. В соответствии с этой гипотезой рост опухоли постоянно опережает интенсивность развития популяции реагирующих на нее иммунокомпетентных клеток. При этом иммунный ответ элиминирует те клетки, которые несут наибольшую концентрацию или наиболее сильные опухолевые антигены. Раковые клетки со слабовыра-

Таблица 42

Экспериментальный анализ отдельных этапов иммунопоэза при опухолевом росте

Критерий	Результат
Число кроветворных стволовых клеток в костном мозге	Снижается
Миграция стволовых клеток из костного мозга	Усиливается
Число кроветворных стволовых клеток в селезенке	Повышается
Число предшественников В-клеток	Снижается
Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов	Угнетается
Миграция В-клеток из костного мозга	“
Миграция Т-клеток из вилочковой железы	“
Активность Т-помощников	Снижается
Активность цитотоксических Т-эффекторов	“
Активность Т-супрессоров	Повышается
Активность В-супрессоров	“
Способность Т-лимфоцитов оказывать влияние на дифференцировку кроветворных стволовых клеток	Снижается
Способность лимфоцитов отменять аллогенную ингибицию стволовых клеток	“

женными или неэкспрессируемыми антигенами селекционируются, иммунный ответ на них развивается медленно или не развивается совсем.

Генетически детерминированная неотвечаемость на конкретные опухолевые антигены. Уже было показано (см. главу XII), что иммунологическая реактивность организма всегда конкретна. Неспособность реагировать на данный антиген, развитие ответа по высокореагирующему или низкорреагирующему типу контролируются генетической системой Iг. Предполагается, что организм резистентен ко всем возможным возникающим в нем антигенно измененным клеткам, в том числе и раковым, до тех пор, пока не появятся аномальные клетки, несущие антиген, по отношению к которому данный индивидуум является низкоотвечающим или неотвечающим. Возможно, включение данным антигеном клеток-супрессоров опережает включение клеток-помощников (см. главу «Иммунологическая толерантность»). Это предположение хорошо согласуется со многими фактами: наличием генетической предрасположенности к определенным опухолям, существованием «высокоракowych» и «низкоракowych» линий животных, индивидуальным характером антигенов у всех опухолей, индуцированных у разных индивидуумов при использовании одного и того же химического канцерогена.

Гипотеза активации Т-супрессоров имеет экспериментальные подтверждения и перспективна для проблемы иммунотерапии опухолей путем селективной элиминации супрессоров специфическими антисыворотками или иными воздействиями.

Иммунодиагностика и иммунотерапия опухолей

Иммунодиагностика рака основывается на индикации в крови раковых антигенов, обнаружении противоопухолевых антител и выявлении сенсibilизированных к опухолевым антигенам лимфоцитов.

На первом пути достигнуты существенные успехи при диагностике тех форм опухолей, при которых идентифицированы конкретные эмбриональные антигены. Обнаружение α_1 -фетопротеина у взрослого человека является диагностическим признаком наличия у него первичной гепатомы или тестикулярной тератобластомы. Обнаружение РЭА свидетельствует о наличии у больного аденокарциномы кишечника, желудка или пищевода. У некоторых больных выявляются антитела против этого антигена. Следует, однако, иметь в виду, что обнаружение циркулирующих в крови тех или иных противоопухолевых антител относится к наименее достоверным иммунодиагностическим критериям. Это связано с наличием в крови людей широкого спектра нормальных антител против ряда микробных и тканевых антигенов, которые могут обеспечивать появление ложноположительных реакций.

Перспективно выявление сенсibilизированных лимфоцитов. Методику ингибиции роста колоний опухолевых клеток лимфоцитами опухоленосителя применяют при диагностике нейробластомы у детей. Лимфоциты больных с нейробластомой ингибируют рост колоний опухолевых клеток данного типа, эксплантированных от другого индивидуума. Эти же лимфоциты неактивны в отношении роста колоний клеток саркомы или других опухолей.

В самое последнее время получены гибридомы (см. главу III), продуцирующие моноклональные антитела против конкретных опухолевых антигенов. Начато их использование для диагностики опухолей. Это направление иммунодиагностики наиболее перспективно.

Огромное значение иммунодиагностика приобрела в связи с классификацией и прогностикой лейкозов и лимфом. В соответствии с преимущественной пролиферацией Т-, В- или нулевых лимфоцитов лимфомы и лейкозы подразделяются на Т-, В- и «нуль»-формы со своими особенностями течения и с разным прогнозом (табл. 43).

Поиск методов иммунотерапии опухолей идет в следующих направлениях.

Активная иммунизация. Основанием для этого служит тот факт, что в опухоли содержатся специфические антигены, которые можно изолировать. Организм способен распознавать и иммунологически реагировать на них при какой-то форме эффективной иммунизации; возникший иммунный ответ должен быть эффективен, особенно если основная масса опухоли

Лимфомы и хронический лимфолейкоз у взрослых
(Из доклада экспертов ВОЗ 1976 г. «Иммунологическая диагностика лейкозов»)

Морфология	Тип	Относительная частота	Другие характеристики	Прогноз
Хронический лимфоцитарный лейкоз и диффузные лимфоцитарные лимфомы «дифференцированного» типа	В «Нуль» Т	Наиболее часто Редко Нередко	Массивная спленомегалия, поражение кожи, азурофильные гранулы, кислая фосфатаза	
Фолликулярные (нодулярные) лимфоцитарные лимфомы	В «Нуль»	Наиболее часто Исключительно редко		Лучше, чем диффузная лимфома
Диффузная лимфома «плохо дифференцированного» или «лимфобластного» типа	В Т	Часто Нередко	Больше Ig на поверхности, чем при «дифференцированном» типе. Чаще в пожилом возрасте Чаще у подростков и юншей, медиастинальное расположение, большое число клеток в крови	Наилучший среди диффузных Мало данных
Гистиоцитарная, «крупноклеточная» лимфома	«Нуль» В Т «Нуль»	Часто Менее часто Часто	Чаще в пожилом возрасте	Плохой Хуже, чем фолликулярная или диффузная плохо дифференцированная
Лимфома типа Беркитта Синдром Цезари и грибовидный микоз	В Т «Нуль»	Наиболее часто Редко		

удалена хирургически, с помощью радиотерапии и т. п. Большое число попыток применения аутогенных опухолевых вакцин с использованием живых, убитых, химически модифицированных клеток или их различных фракций пока не дали удовлетворительно воспроизводимых результатов. Это направление может оказаться весьма эффективным, если удастся изолировать вирусы, индуцирующие опухоли у человека или найти методы конъюгирования опухолевых антигенов с такой несущей молекулой, которая бы обеспечивала эффективную стимуляцию иммунного ответа (см. раздел «Конкретность иммунного ответа и фенотипическая коррекция», с. 218).

Пассивная, или адоптивная, иммунизация. Предполагается введение больному донорских сывороток или лимфоцитов, специфически реагирующих против опухолевых клеток, но не повреждающих нормальные. В экспериментах на чистопородных животных этот метод легко воспроизводим. В клинической практике решение проблемы затруднено антигенной гетерогенностью и индивидуальностью каждого человека. Вот почему найти донора, от которого можно было бы получить антисыворотку и тем более лимфоциты, неактивные против нормальных антигенов опухоленосителя, практически невозможно.

Неспецифическая стимуляция. Поскольку клеточные формы иммунного реагирования при многих формах опухолей угнетены, есть основания надеяться, что неспецифическая стимуляция Т-лимфоцитов или фагоцитарной системы организма повысит его противоопухолевую резистентность. С этой целью используют многократные введения вакцины БЦЖ, оказывающей адьювантное действие на иммунную систему, или вакцины, приготовленной из *Coginebacterium Parvum*. Делаются попытки с помощью современной сепараторной техники выделения всех или почти всех циркулирующих в крови лимфоцитов стимулировать их ФГА с последующим возвращением в кровотоки больного. Разрабатываются также приемы специфической стимуляции лимфоцитов различными антигенными фракциями опухоли. Начаты попытки использования тимозина и фактора переноса (см. главу X) для лечения опухолей.

С помощью введения БЦЖ в кожу, пораженную меланомой, достигнуты определенные успехи и в ряде случаев получена регрессия опухоли. Следует, однако, иметь в виду, что применение живых вакцин в больших дозах чревато развитием осложнений типа БЦЖ-итов. Возможны также аллергические реакции. Кроме того, различные стимуляторы Т-лимфоцитов могут оказывать стимулирующий эффект по отношению к Т-супрессорам. Таким действием обладают, в частности, ФГА и конканавалин А. Хирургическое вмешательство необходимо и с иммунологической точки зрения — им-

мунным силам легче справиться с малым «опухолевым грузом».

Простейшее химическое соединение, которое выделено из микобактерий туберкулеза и которое замещает их Т-стимулирующую активность, — это мурамил-дипептид. Это вещество стимулирует антителогенез и фагоцитарную активность, повышает резистентность животных к заражению возбудителями различных инфекций, обладает антипаразитарным и противоопухолевым действием.

В заключение следует отметить, что имеется серия иллюстраций иммунологической стимуляции опухолевого роста [Прен Т., Мэйн Дж., 1980]. Это связывается с блокирующими факторами крови, стимуляцией Т-супрессоров или с существованием опухолей, возможно индуцированных вирусами, размножение которых зависит от наличия и функциональной активности той или иной популяции лимфоцитов. Эти данные не опровергают положений об определяющем значении иммунной системы в противоопухолевой защите; наоборот, они лишней раз демонстрируют ее модулирующее влияние на опухолевый рост.

Глава XIX

ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ СТАРЕНИИ

Старение и кроветворные стволовые клетки

Конкретное выделение двух различных форм иммунологического реагирования (Т- и В-систем) и их общего предшественника — кроветворной стволовой клетки, позволило дифференцированно подойти к рассмотрению отдельных звеньев иммунопоза при старении. Первым звеном, безусловно, является содержание стволовых клеток в кроветворных и лимфоидных тканях.

На рис. 98 приведены результаты исследований динамики стволовых клеток в селезенке мышей линий СВА и С57ВL различного возраста [Козлов В. А., 1970]. Начиная с 10-суточного возраста в селезенке мышей линии СВА и с 21-суточного мышей линии С57ВL постепенно снижается уровень колониеобразующих клеток (КОЕ). Содержание стволовых клеток в костном мозге мышей разных линий в процессе старения также падает. Уменьшение пула стволовых клеток в лимфоидных и кроветворных тканях при старении описано и у других животных.

Выше указывалось, что Т- и В-лимфоциты возникают из кроветворных стволовых элементов костного мозга после их миграции в центральные лимфоидные органы. Уже только это

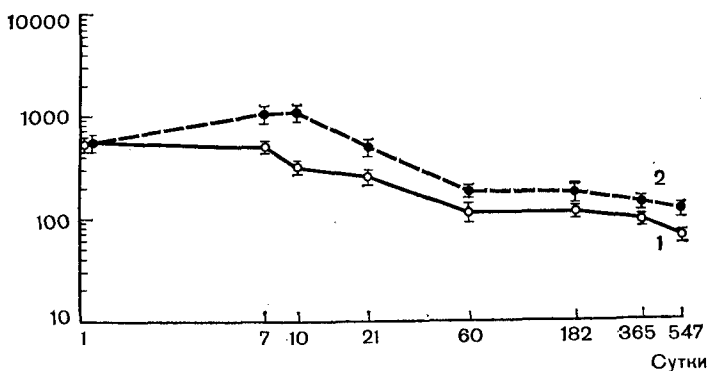


Рис. 98. Зависимость количества стволовых кроветворных клеток в селезенке мышей линий СВА (1) и С57ВL (2) от возраста.

По оси абсцисс — возраст, по оси ординат — КОЕ на 10^7 клеток селезенки.

делает миграцию стволовых клеток в организме важным этапом иммуногенеза.

Количественное изучение миграции стволовых клеток из костного мозга в циркуляцию у молодых (3—4-месячных), начинающих стареть (12—14-месячных) и старых (24—48-месячных) мышей линий СВА и С57ВL показало, что как у молодых, так и у начинающих стареть мышей из костного мозга в кровотоке мигрирует практически одинаковое количество стволовых клеток. Однако у старых животных из костного мозга их мигрирует в 3—4 раза меньше.

В-система (гуморальный иммунитет)

Известно, что выраженность анафилактических реакций у старых морских свинок, кроликов, крыс и других животных значительно снижена. Титры сывороточных естественных антител, реагирующих с антигенами групп крови А и В и с эритроцитами барана или кролика, достигают максимального уровня у людей в возрасте 10 лет, затем снижаются по мере старения, а у лиц в возрасте от 65 до 76 лет составляют 20—30% от максимальной величины. У людей старше 50 лет значительно снижена способность к выработке гуморальных антител при иммунизации многими вакцинами.

В опытах на мышах многие исследователи установили, что снижение иммунного ответа при старении — результат уменьшения количества накапливающихся антителопродукторов, но не снижения синтеза антител отдельными плазматическими клетками. С помощью метода культуры клеток *in vivo* на мышах было установлено, что максимальная продукция антител наблюдается при адоптивном переносе клеток селезенки

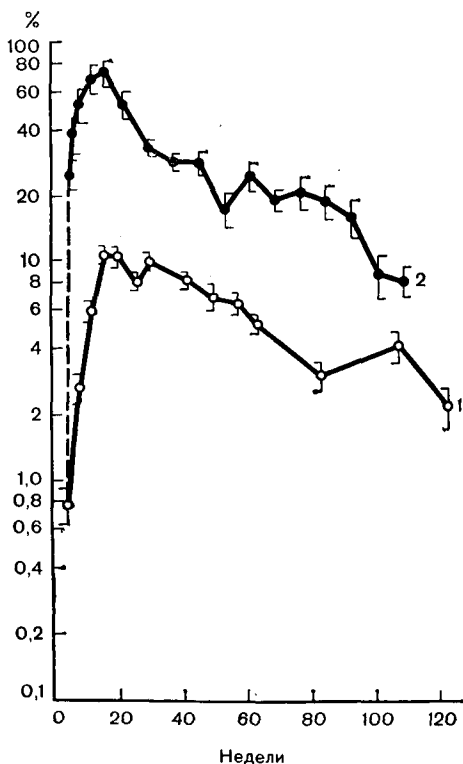


Рис. 99. Изменение антителообразующего потенциала клеток селезенки мышей с возрастом.

1 — первичный ответ; 2 — вторичный ответ. По оси абсцисс — возраст, по оси ординат — относительный потенциал антителообразования.

выработке составляет не более 5% от максимального уровня. Возрастное изменение вторичного антителообразующего потенциала определяли с помощью исходной иммунизации 4-недельных мышей эритроцитами барана, затем подсчитывали антителообразующие клетки в селезенке реципиентов в системе адоптивного переноса. Как видно на рис. 99, максимальный потенциал у животных в 16-недельном возрасте; он начинает снижаться через 20 нед с такой же скоростью, как и при первичном ответе. Вместе с тем вторичный ответ был в 10 раз выше, чем первичный, на протяжении всей жизни мышей.

от 8-месячных доноров. С увеличением возраста по мере старения организма способность определенного количества (8×10^6) клеток селезенки к синтезу антител снижается и у 29-месячных мышей составляет 10% от уровня 8-месячных животных.

Для более полной характеристики антителообразующей активности клеток селезенки проведена ее оценка с учетом общего числа клеток по комплексным показателям: первичный антителообразующий потенциал, характеризующий первичный ответ, и вторичный антителообразующий потенциал, характеризующий вторичный ответ [Олбрайт Дж., Мэйкинодан Т., 1966]. На рис. 99 показана динамика обоих показателей у мышей. Максимальная продукция антител наблюдается у 16-недельных мышей, при достижении возраста 120 нед способность к

Т-система (клеточный иммунитет)

Исследования реакций гиперчувствительности замедленного типа у пожилых людей свидетельствуют о сниженной реактивности на антигены, с которыми эти лица уже контактировали в молодости. Установлено снижение иммунологической реактивности замедленного типа на туберкулин, трихофитин, динитрохлорбензол и др. У лиц старше 70 лет значительно снижена способность лимфоцитов трансформироваться в бластные формы под влиянием ФГА.

Экспериментальные исследования подтверждают клинические наблюдения. Кожные реакции на гиперчувствительность замедленного типа у старых животных менее интенсивны; время выживания аллогенных кожных трансплантатов, частота успешного приживления ксеногенных опухолей и индуцированных метилхолантреном сарком с возрастом увеличиваются.

Для изучения аллотрансплантационной активности лимфоцитов стареющих животных был использован феномен инактивации несингенных стволовых клеток (см. главу IX).

Мышам-гибридам первого поколения (СВА×57С57ВL) F_1 через сутки после облучения в экспозиционной дозе 219,3 мКл/кг (850 Р) трансплантировали костномозговые клеточные элементы генотипа С57ВL или (СВА×С57ВL) F_1 и через 9—10 дней в селезенках реципиентов определяли число колоний кроветворных клеток. Добавление к трансплантируемым клеткам костного мозга лимфоцитов СВА приводило к отмене колониеобразования; в селезенках реципиентов колонии не выявлялись.

В. М. Манько и Л. С. Сеславина (1972) сравнивали инактивирующую активность лимфоцитов старых (1 год и больше) мышей в отношении чужеродных стволовых клеток молодых животных. Практически полная инактивация лимфоцитами СВА стволовых клеток генотипа С57ВL регистрировалась при соотношениях лимфоциты: стволовые клетки, равных 10:1 и 5:1. Если соотношение уменьшали до 2:1 лимфоциты старых животных инактивировали только 32,8% стволовых элементов молодых мышей (СВА×С57ВL) F_1 . Использование лимфоцитов молодых животных в этом соотношении обеспечивает индекс инактивации, равный 89,5%.

Исследование активности лимфоцитов молодых мышей в отношении стволовых клеток старых животных дало следующие результаты. При соотношении лимфоциты: костномозговые клетки, равном 10:1, отмечалась практически полная инактивация. Снижение дозы лимфоцитов в 20 раз (соотношение клеток 1:2) уменьшало инактивацию стволовых клеток старых животных лимфоцитами молодых мышей приблизительно в 2 раза по сравнению с инактивацией стволовых

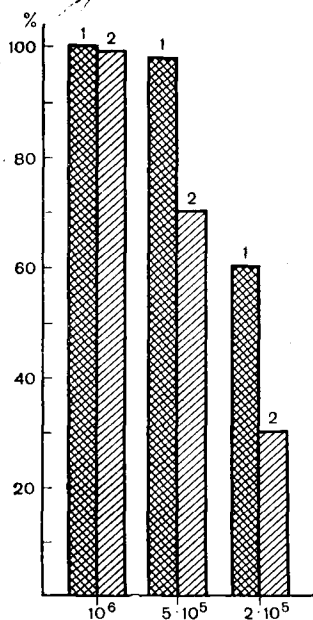


Рис. 100. Инактивация эндогенных стволовых клеток 3—4-месячных мышей (CBA x C57BL) F_1 лимфоцитами молодых (1) и старых (2) мышей линии CBA.

По оси абсцисс — число лимфоцитов CBA, по оси ординат — индекс инактивации.

клеток молодых животных лимфоцитами мышей этого же возраста. Индексы инактивации были равны соответственно 26,2 и 57,4%. Пониженная способность стволовых клеток старых мышей инактивироваться под влиянием аллогенных лимфоцитов отмечалась и при других генетических сочетаниях.

Очевидно, пониженную способность лимфоцитов старых мышей инактивировать чужеродные стволовые клетки можно объяснить изменением клеточного состава лимфоидных органов при старении, а именно уменьшением содержания Т-лимфоцитов, пониженной способностью лимфоцитов продуцировать гуморальные медиаторы или подвергаться антигенной стимуляции. Правомочно также предположить, что в течение индивидуальной жизни происходит селекция стволовых элементов, направленная на повышение устойчивости клеток, утративших сингению, к факторам, обеспечивающим генетический гомеостаз.

Угнетение функциональной активности Т-системы иммунитета при старении показано также с помощью реакции «трансплантат против хозяина».

В главе XIV был описан точный количественный метод оценки способности лимфоидных клеток вызывать реакцию «трансплантат против хозяина». Метод основан на подавлении лимфоцитами родительского генотипа эндогенных кроветворных колоний сублетально облученных гибридных реципиентов. Степень угнетения эндогенного колониеобразования служит количественно точным показателем реакции.

При использовании данной модели было установлено, что при небольших дозах трансплантированных лимфоцитов генотипа CBA реципиентам (CBA x C57BL) F_1 лимфоидные элементы старых животных оказывают меньше по сравнению с лимфоцитами молодых животных ингибирующее действие (рис. 100). Увеличение дозы лимфоцитов до 1×10^6 клеток приводит к нивелировке выявленных различий и сопровождается практически полной ингибацией эндогенных стволовых клеток лимфоцитами как молодых, так и старых мышей.

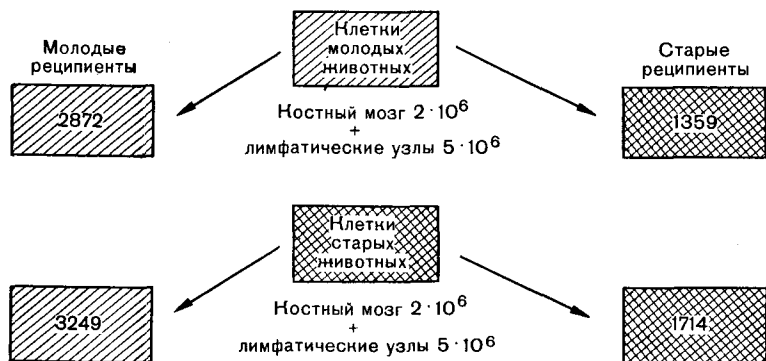


Рис. 101. Накопление антителообразующих клеток в селезенках сингенных реципиентов через 8 дней после переноса клеточных смесей. Цифрами указано число антителообразующих клеток.

Количественное уменьшение циркулирующих в крови человека Т-лимфоцитов будет проиллюстрировано в главе «Клиническая иммунология».

Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов

Т. Мэйкинодан и соавт. (1972) на основании многочисленных исследований пришли к заключению, что снижение иммунологической реактивности в старости может быть результатом воздействия и «внутриклеточных», и «внеклеточных» (внутриорганизменная среда обитания клеток) факторов. К «внеклеточным» относятся гуморальные факторы роста и дифференцировки, выживание Т- и В-клеток, структура стромы и клеточное наполнение лимфоидных органов, которые могут препятствовать взаимодействию Т- и В-лимфоцитов. Так, у старых (30—35-месячных) мышей взаимодействие Т-помощников и В-лимфоцитов происходит хуже, чем у молодых животных. Однако если смешать старые и молодые В- или Т-клетки, эффективность взаимодействия восстанавливается. У старых животных способность Т- и В-клеток к пролиферации значительно снижена.

На рис. 101 приведены результаты исследования взаимодействия Т- и В-лимфоцитов, взятых от молодых (3—4-месячных) и стареющих (16—17-месячных) мышей, в организме молодых или стареющих реципиентов. Для этого летально облученным молодым или старым реципиентам (СВАХ × С57ВL) F_1 трансплантировалась смесь сингенных клеток костного мозга и лимфатических узлов молодых и старых доноров вместе с эритроцитами барана. На 8-й день после трансплантации в селезенке реципиентов определяли число

антителообразующих клеток по методу Эрне. Как видно на рис. 101, результативность кооперативных процессов между клетками стареющих организмов существенно не нарушается. В селезенке молодых реципиентов накапливается больше антителообразующих клеток, чем в селезенке старых реципиентов; старый организм как среда для взаимодействующих клеток недостаточно полноценен. При этом активность клеток-супрессоров как Т-, так и В-ряда у старых животных снижается, что обуславливает большую вероятность развития аутоиммунных процессов.

Макрофагальная система

Т. Мэйкинодан и соавт. (1971) исследовали поглотительную и переваривающую способность перитонеальных макрофагов 12- и 165-недельных мышей. Оказалось, что фагоцитирование опсонизированных эритроцитов барана макрофагами старых животных происходит активнее, чем макрофагами молодых мышей. Переваривающая способность макрофагов старых особей также не снижена, а общее количество макрофагов даже выше, чем у молодых мышей. В то же время очищение крови от чужеродных субстанций и микроорганизмов у старых животных замедлено. Допускают, что несоответствие между низким индексом клиренса крови и нормальным или повышенным фагоцитарным индексом у старых животных зависит не от числа или функциональных свойств макрофагов, а от пониженной способности синтезировать опсонические факторы. Действительно, фагоцитоз перитонеальными макрофагами чужеродных клеток значительно усиливался, если клетки-мишени опсонизировали сывороткой крови от 12-недельных, но не от 78-недельных мышей.

Эти же авторы показали, что макрофаги старых и молодых животных с одинаковым успехом иницируют первичный и вторичный иммунный ответ на эритроциты барана при их переносе сингенным реципиентам или в культуру клеток. Иначе говоря, способность макрофагов кооперировать с другими типами клеток, по-видимому, не изменяется с возрастом.

Аутоиммунные процессы

Предполагают, что в возникновении аутоиммунных процессов при старении важную роль играют мутации соматических клеток. Р. Уэлфорд (1971) рассматривает старение как процесс накопления мутантных форм соматических клеток с развитием хронического аутоиммунного конфликта. При этом иммунокомпетентные клетки могут сами мутировать и становиться агрессивными против нормальных клеток организма. В этой связи допускается, что иммунная система играет

значительную роль не только в сохранении, но и в сокращении жизни. Аутоиммунные реакции могут быть причиной развития кумбс-положительной гемолитической анемии, образования циркулирующих аутоантител против ДНК и ДНП, поражения почек, сердца и сосудов.

В опытах на мышах линии NZB, у которых в возрасте 9—12 мес неизбежно развивается аутоиммунизация, было показано, что выраженность аутоиммунных процессов при старении животных находится в обратной зависимости от способности к нормальному иммунному реагированию. Так, в селезенке неаутоиммунных кумбс-отрицательных молодых мышей линии NZB накапливается большое количество антителообразующих клеток после иммунизации эритроцитами барана. Максимум накопления приходился на 4—5-е сутки. У старых мышей линии NZB, у которых возникла аутоиммунная анемия, образовывалось в 10 раз меньше антителопродукторов с максимальным уровнем на 7-е сутки. Было обнаружено уменьшение количества Т-лимфоцитов с увеличением возраста в вилочковой железе, лимфатических узлах, селезенке и грудном протоке и некоторое повышение содержания В-лимфоцитов в костном мозге, лимфатических узлах и селезенке мышей этой линии. Предполагают, что развитие аутоиммунных процессов, у мышей линии NZB связано с дефицитом Т-лимфоцитов. Значительное снижение пролиферативной способности Т-лимфоцитов у стареющих (24-месячных) мышей, генетически склонных к аутоиммунным поражениям [NZB и (NZB×NZW) F_1], наблюдается в культурах лимфоцитов, стимулированных ФГА, или в смешанных культурах аллогенных Т-лимфоцитов от животных этих линий.

Таким образом, к главным причинам снижения иммунологической реактивности в старости относятся количественный дефицит клеток-предшественников (стволовых, Т- и В-лимфоцитов), уменьшение интенсивности миграции стволовых элементов и кооперации Т- и В-лимфоцитов. При этом развивается дефицит не только Т-эффекторов и Т-помощников, но и клеток-супрессоров как Т-, так и В-ряда.

Глава XX

КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

Задачи клинической иммунологии

Функционирование иммунной системы, как и любой другой, может нарушиться. В обобщенном виде нарушения можно разделить на три типа:

— дефектность того или иного звена иммунной системы (врожденные и приобретенные иммунодефициты);

— аутоагрессия против нормальных компонентов тела (аутоиммунные заболевания) и избыточное накопление комплексов антиген-антитело (болезни иммунных комплексов);

— дисфункции, при которых в том или ином звене иммунной системы развиваются признаки гипертрофии в ущерб функционированию других звеньев (гипергаммаглобулинемии, болезни тяжелых цепей и др.); крайняя степень выраженности гаммапатий с продукцией больших количеств моноклональных иммуноглобулинов того или иного класса представляет собой злокачественное новообразование — миелому.

Совершенно очевидно, что для оценки функциональной полноценности иммунной системы и диагностики патологических нарушений ее работы необходимы специальные клинические и лабораторные методы. Их разработка и внедрение в клиническую практику на основе достижений фундаментальной иммунологии являются одной из основных задач клинической иммунологии. Поскольку нарушения функций иммунной системы влекут за собой опасность возникновения широкого круга заболеваний (инфекционные процессы, аутоиммунные расстройства, опухоли, аллергии и др.), важность клинической иммунологии очевидна. Если к этому добавить такие актуальные задачи клинической иммунологии, как типирование и подбор доноров при пересадке органов, проведение иммунодепрессивной терапии при трансплантации и лечении аутоиммунных заболеваний, предупреждение гемолитической болезни новорожденных при резус-несовместимости матери и плода, разработка методов диагностики и иммунотерапии рака, то становится бесспорной необходимостью клинической иммунологии.

«Клиническая иммунология приобретает статус самостоятельной научной дисциплины, охватывающей как болезни, характеризующиеся нарушением функции лимфоидных тканей, так и те, при которых важную роль играют иммунные реакции. Это произошло в результате огромных успехов, достигнутых иммунологами за два последних десятилетия. Благодаря их исследованиям стали понятными функция вилочковой железы, природа межклеточного взаимодействия в процессе иммунного ответа, механизм образования антител, а также биологические функции и аномалии различных иммуноглобулинов.

Многие теоретические и методологические успехи, достигнутые в области иммунологии, особенно за последнее десятилетие, получили непосредственное практическое применение в диагностике и лечении. В прошлом клиницисты часто обращались за консультациями к иммунологам, однако полный объем потенциальных возможностей клинической иммунологии тогда еще не был ясен.

Основные области клинического применения теоретической иммунологии включают болезни иммунологической недостаточности, лимфопролиферативные заболевания, инфекционные болезни, аутоиммунные расстройства, аллергию, гематологические болезни, пересадку органов и рак» (Доклад научной группы ВОЗ, 1973, № 496).

Подчеркивая важность клинической иммунологии, ВОЗ рекомендует создание отделений клинической иммунологии в научно-исследовательских институтах. По мнению экспертов ВОЗ, в структуре таких учреждений должны быть предусмотрены три подразделения. Первое — теоретическое; его основная задача — развитие фундаментальной иммунологии человека. Второе — прикладное; его основная задача — приложение достижений теоретической иммунологии для клинической практики. Третье — иммунологическое обслуживание больных с непосредственным ведением больных и участием в их лечении.

Клиническая иммунология развивается, все шире внедряясь в медицинскую практику, приобретая все большее значение в клиниках самого различного профиля в качестве необходимого подразделения при диагностике и терапии. В табл. 44 дана сводка болезней или операций, при которых иммунологические тесты имеют решающее диагностическое значение. Эта сводка далеко не полна, поскольку каждый год появляются новые методы. Вспомогательная роль имму-

Таблица 44

Примеры заболеваний, при которых иммунологические тесты имеют решающее диагностическое значение

Заболевание	Иммунологический тест
Первичные иммунодефициты Дисгаммаглобулинемии Болезни цепей Семейный ангионевротический отек Хронический гранулематоз у детей Системная красная волчанка	Т-, В-лимфоциты, IgM, IgG, IgA IgM, IgG, IgA μ-, γ-, α-, κ-цепи C ₃ -компонент комплемента Фагоцитарная активность Антитела к ДНК, Т-, В-, μ-лимфоциты
Ревматоидный артрит Аутоиммунный тиреонит Другие аутоиммунные заболевания Переливание крови Подбор доноров при пересадках Резус-несовместимость матери и плода Первичный рак печени, хорионэпителиома, трофобластомы	Антитела к IgG Антитела к тиреоглобулину Другие антитела и комплексы ABO, Rh-антиген HLA-антигены Rh-антиген α-фетопротейн
Лейкозы и лимфомы Т, В или 0 Миеломатозы Вторичные иммунодефициты	Т-, В-, 0-лимфоциты IgM, IgG, IgA Т-, В-лимфоциты, IgM, IgG, IgA

нологического обследования более широкая, сюда включают кожные, эндокринологические, неврологические и даже психические заболевания.

В предыдущих главах, посвященных гиперчувствительности, трансплантационному иммунитету, первичным (врожденным) иммунодефицитам, аутоиммунным расстройствам, иммунологии опухолей, были рассмотрены клинические вопросы иммунодиагностики и иммунотерапии. В данной главе внимание сконцентрировано на проблемах оценки Т- и В-систем иммунитета и гаммапатиях.

Оценка иммунологической реактивности человека в настоящее время предполагает дифференцированную характеристику функциональной активности Т- и В-систем иммунитета. Для этого разработан и внедрен в клиническую практику ряд тестов. Прежде чем их перечислить, необходимо отметить несколько общих положений.

Во-первых, необходимыми и обязательными во всех случаях являются сведения об относительном и абсолютном количестве циркулирующих в крови лимфоцитов. Поскольку лимфоцит — центральная фигура иммунной системы, количественная оценка лимфоцитов крови — это интегральный показатель функционирования системы. Во-вторых, при проведении проб, связанных с введением антигенов больному, необходимо быть уверенным, что это не приведет к нежелательной его сенсibilизации. В-третьих, при иммунизации нельзя пользоваться живыми вакцинами, поскольку при тяжелых иммунодефицитах инфекционное осложнение может быть вызвано даже аттенуированными штаммами микроорганизмов.

Оценка В-системы иммунитета (гуморальный иммунитет)

Для оценки В-системы иммунитета применяют несколько методов.

Определение В-лимфоцитов в крови. Используют три свойства лимфоцитов этого типа. Наличие рецепторов к комплексу дает возможность подсчитать так называемые комплементарные розетки (рис. 102), т. е. лимфоциты, образующие розетки с эритроцитами, несущими на своей поверхности комплекс антитело-комплемент (ЕАС-розеткообразование). К розеткообразованию способны не только лимфоциты, но и гранулоциты. И. Вонг, А. Уилсон в 1975 г. описали технику постановки ЕА- и ЕАС-розеткообразования нейтрофилами, что доказало наличие у этих клеток Fc-рецепторов. В 1976 г. И. В. Петрова и соавт. описали способность нейтрофилов к спонтанному розеткообразованию с эритроцитами барана и было показано, что эта субпопуляция нейтрофилов резко возрастает при иммунодепрессивной терапии. По аналогии с лимфоцитами нейтрофилы делят на спонтанные розеткообразу-

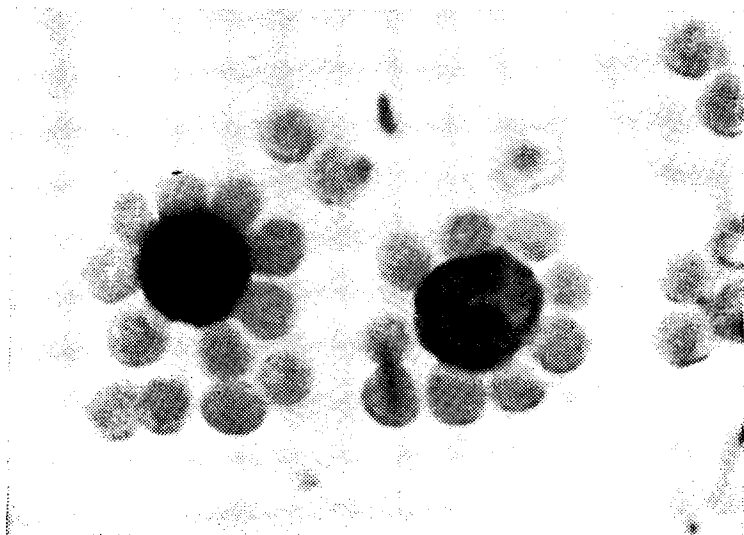


Рис. 102. Розеткообразующие клетки (препарат И. В. Петровой) — лимфоцит (слева) и нейтрофил.

ющие клетки (N_s -РОК), комплементарные розеткообразующие клетки (N_c -РОК) и нулевые. У здоровых людей спонтанных розеткообразующих нейтрофилов имеется от 25 до 35%, а комплементарных — от 14 до 20%.

Наличие у В-лимфоцитов рецепторов к Fc-фрагменту иммуноглобулинов приводит к тому, что они адсорбируют на себе агрегированный γ -глобулин. Выявить В-лимфоциты можно с помощью флюороресцентного или радиографического метода, используя меченые агрегаты γ -глобулинов. Человеческие В-лимфоциты образуют розетки с мышиными эритроцитами (E^m -роzetкообразование). Наконец, с помощью иммуофлюоресцентного метода Кунса, применяя антиглобулиновые сыворотки, можно обнаружить и подсчитать все лимфоциты, несущие иммуноглобулиновые детерминанты, т. е. В-лимфоциты. При этом можно провести дифференцированный подсчет клеток, несущий IgM-, IgG или IgA-детерминанты. Так же необходимо определять не только процент В-клеток, но и их абсолютное количество в 1 мкл крови. Возрастная динамика В-лимфоцитов в крови здоровых лиц приведена на рис. 103.

Определение в крови уровня иммуноглобулинов. Проводят определение суммарной концентрации иммуноглобулинов и количество иммуноглобулинов разных классов. Первое осуществляется методом высаливания сульфатом цинка с последующей турбидиметрической оценкой, электрофорезом или

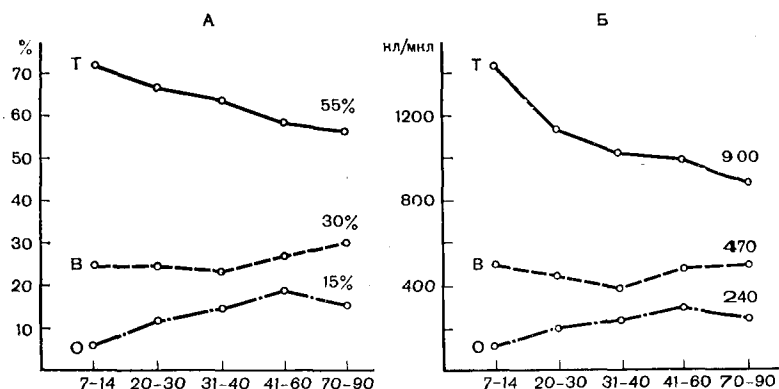


Рис. 103. Количество Т-, В- и О-лимфоцитов в крови людей в различные возрастные периоды — процент (А) и абсолютное число (Б). По осям абсцисс — возраст доноров.

иммуноэлектрофорезом. Нормальный уровень суммарных иммуноглобулинов у человека составляет от 10 до 20 г/л.

Определение количества IgM, IgG и IgA чаще всего осуществляется методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Их возрастная динамика была приведена на рис. 8. IgE определяется радиоиммунологическим методом (см. главу III). Верхняя граница нормы составляет 0,0005 г/л.

Определение наличия и уровня изогемагглютининов α и β в сыворотке крови, а также естественных (нормальных) антител к широко распространенным бактериям и вирусам. В качестве антигенов можно использовать кишечную палочку, стафилококковые токсины, вирус герпеса и др. Следует иметь в виду, что α - и β -изогемагглютинины относятся к IgM.

Стимуляция биосинтеза иммуноглобулинов В-лимфоцитами *in vitro*. Оценка функциональной активности В-лимфоцитов из крови человека возможна благодаря тому, что некоторые митогены, например митоген лаконоса (PWM), обладают способностью вызывать поликлональную стимуляцию В-лимфоцитов. «Валовую» продукцию В-клеток, синтезирующих иммуноглобулины, определяют в культуральной жидкости радиоиммунологическим методом через 7—12 дней культивирования лимфоцитов с митогеном.

Исследование антителогенеза (первичного и вторичного ответа) после активной иммунизации несколькими убитыми вакцинами. Применяют коклюшную и убитую полиомиелитную вакцины, дифтерийный и столбнячный анатоксины, полисахаридные антигены, выделенные из пневмококков, менингококков и бактерий кишечной группы. Необходимость использования нескольких антигенов связана с генетически детер-

минированной конкретностью иммунного ответа (см. главу XII). Получение низкого иммунного ответа на какой-то один антиген может оказаться результатом того, что данный индивидуум относится к низкоотвечающему на данный антиген генотипу. Реакция на другие антигены может быть нормальной. Вот почему диагноз функциональной неполноценности В-системы можно поставить только при угнетении иммунного ответа на несколько разных антигенов.

Исследование катаболизма иммуноглобулинов в организме. В кровь вводят меченый препарат человеческого иммуноглобулина. Клиренс метки из крови и ее накопление в моче и испражнениях дают возможность определить период полужизни иммуноглобулина. В норме период полужизни IgG равен 24 дням. При экссудативной энтеропатии, нефрозах и некоторых других заболеваниях возникает состояние гиперкатаболизма иммуноглобулинов. Для установления факта избирательного их гиперкатаболизма параллельно определяют период полужизни меченого альбумина.

Биопсия лимфатических узлов, костного мозга, участков слизистой оболочки кишечника. Эту процедуру проводят с целью гистологического обнаружения плазматических клеток, наличия и структуры лимфоидных фолликулов.

Кожные реакции, выявляющие гиперчувствительность немедленного типа. К таким пробам относится ШИК-реакция. У людей, иммунизированных против дифтерии, в организме которых содержатся антитела против дифтерийного токсина, внутрикожная инъекция этого токсина не приводит к развитию типичной эритемы. Кожные пробы для выявления аллергии к подозреваемым аллергенам были описаны в главе IV.

Оценка Т-системы иммунитета (клеточный иммунитет)

Для оценки Т-системы иммунитета пользуются следующими методами.

С помощью метода «спонтанных» розеток (розеткообразование с эритроцитами барана) определяют количество Т-лимфоцитов в крови (см. рис. 102). Обязательным является расчет абсолютного количества розеткообразующих лимфоцитов в 1 мкл крови. Вычисление только их процента среди всех лимфоцитов может привести к ошибке. Например, в норме среди лимфоцитов крови содержится 60% Т-клеток, а при В-лейкозах Т-лимфоцитов в крови может быть около 1%, но это не значит, что имеется 60-кратное угнетение Т-системы иммунитета. Если общее количество лимфоцитов у данного больного в 60 раз больше, чем у здорового человека, то абсолютное число Т-лимфоцитов в его крови нормально. Возрастная норма Т-лимфоцитов крови приведена на рис. 103.

Реакция бласттрансформации лимфоцитов *in vitro* под влиянием ФГА или в микст-культуре (см. главу IX). Эту и предыдущую пробу необходимо проводить параллельно, поскольку при некоторых иммунодефицитах угнетение реакции бласттрансформации свидетельствует не о снижении уровня Т-лимфоцитов в крови, а об угнетении их функциональной активности. Например, при иммунодефиците с атаксией — телеангиэктазией регистрируется почти полное угнетение бласт-трансформации при нормальном количестве Т-розеток среди лимфоцитов. До разработки метода «спонтанных» розеток угнетение бласттрансформации расценивали как показатель снижения количества Т-лимфоцитов в крови.

Определение динамики бласттрансформации. Эту реакцию необходимо учитывать не в один какой-либо срок культивирования лимфоцитов, а в динамике с использованием разных доз митогена. Кривые зависимости время — эффект и доза — эффект лучше всего отражают данный вид функциональной активности лимфоцитов. Наиболее объективный учет бласттрансформации во всех случаях требует применения радиоизотопной методики с определением включения меченых нуклеотидов в клетки.

Оценка продукции лимфоцитами периферической крови гуморальных медиаторов клеточного иммунитета (см. главу X). Наиболее распространен тест подавления миграции макрофагов фактором, угнетающим их миграцию (MIF), выделяемым сенсибилизированными лимфоцитами под влиянием соответствующего антигена. С помощью этого метода *in vitro* можно установить сенсибилизацию организма к тому или иному антигену.

Постановка кожных реакций гиперчувствительности замедленного типа на широко распространенные антигены (туберкулин, трихофитин и др.). Конечно, негативные реакции не могут служить доказательством неполноценности Т-системы иммунитета, так как организм может быть не сенсибилизирован к используемым препаратам.

Контактная аллергия к динитрохлорбензолу (ДНХБ). Этот гаптен при кожной аппликации вызывает развитие реакции гиперчувствительности замедленного типа. Повторное нанесение препарата дает типичную кожную реакцию. Поскольку вероятность контакта индивидуума с данным редким химическим соединением ничтожна, проба с ДНХБ служит весьма распространенным методом оценки способности организма развивать гиперчувствительность замедленного типа, т. е. функциональной активности Т-системы иммунитета.

Отторжение аллогенного кожного лоскута. Эта реакция также относится к гиперчувствительности замедленного типа и осуществляется в основном Т-лимфоцитами. Однако трансплантация чужеродной ткани приводит к сенсибилизирован-

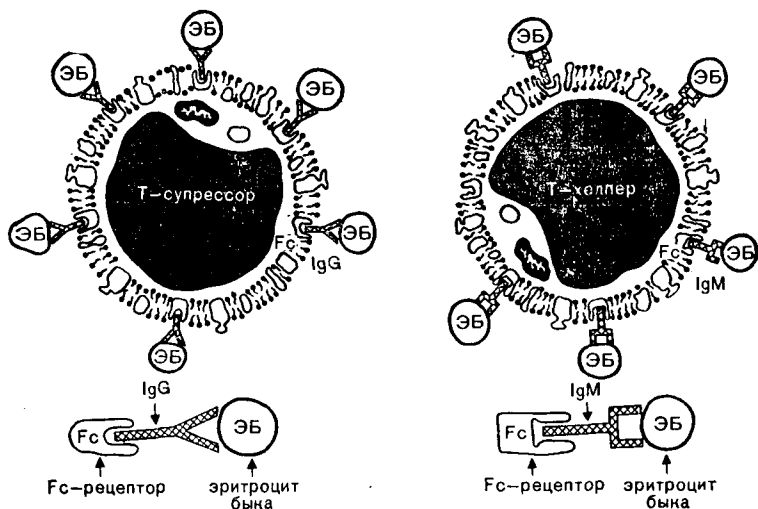


Рис. 104. Fc-рецепторы у T-супрессоров и T-помощников.
ЭБ — эритроциты быка.

ности организма по отношению к трансплантационным антигенам, что может оказаться нежелательным при последующем лечении больного такими методами, как пересадка костного мозга, вилочковой железы и др.

Биопсия лимфатических узлов и гистологическая оценка тимусзависимых областей и вилочковой железы. Эти тесты ставятся в сложных для диагностики случаях при подозрениях на комбинированные иммунодефициты и злокачественные новообразования.

Оценка субпопуляций лимфоцитов (T_s , T_H , K, NK)

Количественная оценка T_T - и T_H -лимфоцитов. Выше указывалось, что T-супрессоры характеризуются наличием рецепторов к Fc-фрагментам IgG, а T-помощники — к IgM (рис. 104).

Клетки с Fc-рецепторами для IgM или IgG подсчитывают среди T-клеток путем постановки реакции розеткообразования с эритроцитами быка, нагруженными специфическими антителами соответственно класса IgM или IgG. Специфические антитела обычно получают после иммунизации кроликов эритроцитами быка. После первичной иммунизации образуются антитела класса IgM, а после вторичной иммунизации антитела принадлежат преимущественно к классу IgG. Однако для более точного анализа этих субпопуляций лимфоцитов рекомендуется выделение из иммунной сыворотки антител классов IgG и IgM.

Следует иметь в виду, что при определенных патологиях среди T_p -лимфоцитов возможно появление T_γ . Это ставит вопрос о том, что Т-супрессоры могут развиваться из Т-помощников.

Функциональная оценка Т-помощников. В настоящее время в клинике возможна оценка только неспецифических T_s . Для этой цели используют систему, в которой ведется учет биосинтеза иммуноглобулинов В-лимфоцитами, стимулированными поликлональным В-клеточным активатором — митогеном лаконоса. Стимуляция синтеза иммуноглобулинов происходит лишь при взаимодействии эффекторных В-клеток с хелперными Т-клетками.

Выделенную фракцию В-лимфоцитов культивируют *in vitro* с добавлением образца клеток, у которых хотят определить хелперную активность. Оценка хелперного эффекта ведется по величине прироста синтеза иммуноглобулинов по отношению к культурам, в которые лимфоциты с предполагаемой хелперной активностью не добавляли. Следует отметить, что при обследовании больных, у которых в крови имеется высокое содержание активированных клеток-супрессоров, на основании низких цифр синтеза иммуноглобулинов можно сделать ложный вывод о снижении хелперной активности. Вот почему для исключения такой возможности исследуемые на хелперную активность образцы клеток перед добавлением к В-лимфоцитам подвергают рентгеновскому облучению в экспозиционной дозе 258—516 мКл/кг (1000—2000 Р), поскольку эта процедура полностью инактивирует супрессорную активность Т-клеток без значительного снижения функции Т-клеток-хелперов.

Функциональная оценка усиленной супрессорной активности Т-клеток. Т-лимфоциты от больного с указанным подозреваемым дефектом культивируют совместно с В-лимфоцитами здорового донора при стимуляции их митогеном лаконоса. Вывод о повышении супрессорной активности Т-клеток у больного делают на основании величины синтеза иммуноглобулинов при совместном культивировании, которую соотносят с величиной синтеза иммуноглобулинов в одиночных культурах.

Необходимо обратить внимание, что супрессорной активностью обладают нормальные Т-лимфоциты. Заключение об истинной усиленной супрессорной активности можно делать лишь в том случае, когда выявляют 80—100% супрессию синтеза иммуноглобулинов при совместном культивировании клеток больного с каждыми индивидуальными тест-клетками здоровых доноров. Существенным в данном случае является то, что отношение концентраций Т- и В-клеток не должно быть слишком большим (предпочтительнее 1:1, но не более 4:1).

Функциональная оценка сниженной супрессорной активности Т-клеток. Предшественники клеток-супрессоров в нормальной популяции клеток периферической крови могут быть активированы при культивировании их *in vitro* с фитогемагглютинином (ФГА) или конканавалином А (КонА). Активность их проверяют, добавляя в культуру нормальных лимфоцитов, стимулированных ФГА. Если супрессоры имеются, то будут угнетать бластогенную реакцию. При их отсутствии (например, при аутоиммунных заболеваниях или при некоторых иммунодефицитах) такого угнетения не отмечается.

Цитотоксическая активность К- и НК-клеток. Клетками-мишенями в тесте цитотоксичности, опосредованной антителами, обычно служат эритроциты каких-либо животных, которые сенсибилизируют специфическими против них антителами. После сенсибилизации антителами клетки-мишени метят по ^{51}Cr . Клетки-мишени инкубируют с лимфоцитами. Лимфоциты, лизируя эритроциты, приводят к освобождению в среду радиоактивного хрома. Величина цитотоксичности К-лимфоцитов тем больше, чем больше изотопа освобождается в среду.

Клетками-мишенями для НК-лимфоцитов чаще всего служит меченная ^{51}Cr , культивируемая клеточная линия Chang. Исследуемые на содержание НК-лимфоциты вносятся в культуру из расчета 50—100 лимфоцитов на одну клетку-мишень; добавления антител не требуется.

Эта же клеточная линия используется и для оценки К-лимфоцитов, но в присутствии антител против нее.

В табл. 45 и 46 даны некоторые примеры заболеваний с характерными сдвигами основных популяций лимфоцитов и основных классов иммуноглобулинов.

При некоторых заболеваниях ценными являются показатели, характеризующие Т-, В-, и 0-лимфоциты, макрофаги и основные классы иммуноглобулинов в спинномозговой жидкости, в секрете бронхиального дерева, в плевральном или перитонеальном экссудате.

Помимо количественной и функциональной активности Т- и В-систем иммунитета, в клинической практике необходимы сведения о других факторах, участвующих в иммунных реакциях. К ним относится оценка фагоцитарной системы. Ее обычно проводят путем определения количества способных фагоцитировать лейкоцитов крови (фагоцитарное число) и их поглотительной активности (фагоцитарный индекс). В ряде случаев необходима оценка микробоцидной способности фагоцитов (см. главу XVI). При некоторых аутоиммунных расстройствах и болезнях иммунных комплексов, когда комплексы антиген — антитело увлекают за собой комплемент, ценным показателем наличия таких комплексов служит не только их определение, но и снижение уровня комплемента в крови

Таблица 45

Уровень Т-, В-, О-лимфоцитов при некоторых заболеваниях

Заболевание	Лимфоциты		
	Т	В	О
Иммунодефицит с АТ	↓	—	↑
Агаммаглобулинемия	—	↓↓	↑
Синдром Ди-Джоржи	↓↓	—	—
Ревматизм (III стадия)	↓	—	↑
Ревматоидный артрит	↓	—	↑
Системная красная волчанка	↓	↓	↑↑
Рассеянный склероз	↓	↑	—
Бронхиальная астма	↓	—	↑
Контактный дерматит	↓	↑	—
Туберкулез легких	↓	↑	—
Туберкулезный менингит	↓	↑	—
Вирусный гепатит	↓↓	—	↑
Коклюш	↑	↑↑	↓
Грибовидный микоз	↑	—	—
Нефропатия беременных	↓↓	—	↑
Лимфомы и лейкозы: В	↓↓	↑↑	—
Т	↑↑	↓↓	—
О	↓↓	↓↓	↑↑
Лимфогранулематоз	↓↓	↓	—
Опухоли (разные)	↓	—	↑
Ожоги, перитонит	↓	—	↑

Условные обозначения: — — нет изменений;

↓ ↓ ↓ — разные степени угнетения;

↑ ↑ ↑ — разные степени стимуляции.

Таблица 46

Уровень IgM, IgG, IgA при разных заболеваниях

Заболевание	Иммуноглобулины классов		
	M	G	A
Острый инфекционный гепатит	↑↑	↑	—
Хронический гепатит	—	↑	—
Механическая желтуха	—	—	↑↑
Цирроз постинфекционный	↑	↑↑	—
Алкогольный цирроз	↑↑	↑	↑
Ревматоидный артрит	↑	—	—
Системная красная волчанка	—	↑↑	—
Инфаркт миокарда	↑↑	↑↑	—
Гломерулонефрит	—	—	↑↑
Нефроз, энтеропатии с потерей белка	↓	↓↓	↓
Гипоплазия костного мозга, миеосклероз, метастазы, опухоли лимфоидной системы	↓↓	↓↓	↓↓
Миеломы	↑↑	↑↑	↑↑
Синдром Луи-Бар	—	—	↓↓
Гипогаммаглобулинемия с IgM	—	↓	↓
Агаммаглобулинемия	0	0	0

Условные обозначения: — — нет изменений;

↓ ↓ ↓ — разные степени снижения;

↑ ↑ ↑ — разные степени повышения;

0 — показатель отсутствует.

матоидный артрит и системная красная волчанка, и при контроле за эффективностью обменных переливаний плазмы и для прогноза течения таких опухолевых процессов, как острый лейкоз.

6. Определение аутоантител путем непрямой иммунофлюоресценции абсолютно необходимо как тест на наличие антиядерных антител при диагностике системной красной волчанки. Обнаружение антиядерных антител полезно для диагностики так называемых смешанных болезней соединительной ткани, хронического активного гепатита и прогрессивного системного склероза.

Тест на тиреоидные аутоантитела необходим для диагностики хронического тиреоидита и микседемы взрослых. Определение других аутоантител методом непрямой иммунофлюоресценции полезно в конкретных нечастных случаях.

7. Определение количества В- и Т-клеток абсолютно необходимо для диагностики и слежения за течением первичных иммунодефицитов и полезно при диагностике вторичных иммунодефицитов, а также для классификации лимфопролиферативных заболеваний. При этом желательно использовать одновременно несколько реагентов, например моноспецифические антииммуноглобулиновые антитела и моноклональные антитела против лимфоидных популяций. Изучение субпопуляций Т- и В-лимфоцитов полезно у отдельных пациентов.

8. Оценка ответа лимфоцитов на митогены как показатель клеточно-опосредованного иммунитета не может быть рекомендована как каждодневный (рутинный) метод. Его следует использовать только выборочно. Показатель единичного измерения, даже если он далеко выходит за пределы нормы, имеет очень малую клиническую ценность и не обязательно свидетельствует о нарушении клеточно-опосредованного иммунитета. Оценка этой формы иммунитета абсолютно необходима в случаях предполагаемого или доказанного первичного иммунодефицита. Оценка клеточного иммунитета полезна для исследования вторичных иммунодефицитов, включая те, которые связаны с хроническими инфекциями, и для контроля за применением иммуностимулирующей терапии.

Гаммапатии

К гаммапатиям относят большую группу патологических состояний, характеризующихся гипергаммаглобулинемией. При многих хронических инфекционных и паразитарных заболеваниях, болезнях печени, некоторых аутоиммунных расстройствах возрастает уровень γ -глобулинов в крови. Увеличивается концентрация сывороточных иммуноглобулинов обычно одновременно всех классов. В некоторых случаях один из классов иммуноглобулинов временно преобладает над другими. При ревматоидном артрите в большей мере,

чем другие, возрастает фракция IgM (ревматоидный фактор), при остром гепатите — IgG. Являются ли эти формы, так называемые поликлональные гипергаммаглобулинемии, следствием патологии иммунной системы или отражают ее нормальную реакцию на хронический антигенный стимул, ответить трудно. Однако их обнаружение имеет существенное значение для дифференциальной диагностики.

Моноклональные гаммапатии характеризуются увеличением в крови концентрации иммуноглобулина какого-либо одного класса, отдельных тяжелых или легких цепей одного из классов иммуноглобулинов. Моноклональные легкие κ - или λ -цепи, циркулирующие в крови и выделяемые с мочой вследствие их небольшой молекулярной массы, называют белком Бенс-Джонса. В крови они обычно обнаруживаются в виде димеров с молекулярной массой 42 000. При моноклональных гипергаммаглобулинемиях иммуноглобулины других классов в крови отсутствуют или их концентрация снижена. Этот тип гаммапатии является истинной патологией В-системы иммунитета, относящейся к классу злокачественных новообразований. Моноклональный компонент (М-компонент, или М-протеин) той или иной формы представляет собой высокоомогенный белок, синтезируемый одним разросшимся клоном лимфоидных клеток. Плазмноклеточные миеломы — наиболее типичная форма, сопровождающаяся синтезом моноклонального иммуноглобулина.

Чаще всего встречаются множественные миеломы, при которых много участков костного мозга характеризуется плазмноклеточным перерождением. Солитарные формы с поражением какого-либо одного участка костномозговой ткани регистрируются крайне редко. Степень гомогенности (моноклональности) М-компонента такова, что в некоторых случаях показано наличие активного центра антитела одной специфичности для всех молекул иммуноглобулинов данного больного. Иначе говоря, все молекулы иммуноглобулинов являются совокупностью молекул одного и того же антитела. Этот факт служит одним из серьезных аргументов в пользу положения клонально-селекционной теории Ф. Бернета, согласно которой одна клетка вырабатывает только одно антитело. Накопление клона этих клеток ведет к возникновению иммунного ответа. Патологическое разрастание одного клона приводит к развитию одной из форм моноклональных иммунопатий.

К. Маттиоли и Т. Томаси (1973) приводят следующий список моноклональных гаммапатий (см. с. 340).

В 50% случаев М-компоненты злокачественных моноклональных гаммапатий относятся к IgG. Затем следуют IgA (22%), IgM (12%), белок Бенс-Джонса (12%), IgD (1%). Все остальные случаи, включая фрагменты IgE, миелому

Молекулярная структура М-компонентов	Клиническая форма
А. Синтез полных молекул IgG (сбалансированный синтез IgA тяжелых и легких цепей) IgD IgE IgM	Миелома « « «
Б. Синтез полных молекул + избыток легких цепей	Макроглобулинемия Миелома или макроглобулинемия (Вальденстрема) с наличием белка Бенс-Джонса
В. Синтез неполных молекул Свободные L-цепи (болезнь легких цепей) Тетрамерные L-цепи Свободные полуцепи L Свободные γ-цепи (болезнь γ-цепей) Свободные α-цепи (болезнь α-цепей)	Миелома « « Злокачественная лимфома Злокачественная абдоминальная лимфома
Свободные μ-цепи (болезнь μ-цепей) 7SIgM F(ab) ₂ -подобные фрагменты γ-цепи, нековалентно связанные с L-цепями (4H2L) Половинки IgG(1H1L) 5, 4S IgG (молекулярная масса 125 000)	Хронический лимфолейкоз Злокачественная лимфома « « Миелома Плазмоцитомы Склеродерма

болезни тяжелых цепей и комбинированные гаммапатии, составляют вместе не более 4%.

Помимо ряда своеобразных клинических проявлений моноклональной гаммапатии (миеломы, плазмоцитомы, лимфомы), имеется совокупность симптомов, обусловленных наличием М-компонента. Некоторые М-протеины образуют гель или преципитируют при температуре ниже 37°C, т. е. обладают свойствами криоглобулинов. Криопреципитация встречается у больных с IgG М-компонентом в крови. Макроглобулины повышают вязкость сыворотки крови, приводя к нарушениям кровообращения мелких сосудов и повреждению их стенок. Они нередко проявляют свойства холодовых агглютининов, вызывая агглютинацию эритроцитов при низких температурах (например, при 4°C). При 37°C макроглобулины могут элюироваться с эритроцитов. Гипергаммаглобулинемия, вызванная наличием большинства из описанных М-компонентов, нередко обуславливает повышенную кровоточивость за счет взаимодействия избытка глобулинов с факторами свертывающей системы крови или за счет подавления агрегации тромбоцитов. В 10% случаев моноклональные гаммапатии (особенно миеломы) сопровождаются амилоидозом. Нередки протеинурии, анемии, азотемии, гиперкальциемии и патологические переломы костей (при миеломах). В большинстве случаев развивается повышенная чувствительность к инфек-

циям вследствие неполноценности В-системы иммунитета (снижение способности вырабатывать антитела).

Лечение миелом включает поддерживающую терапию и борьбу с инфекционными осложнениями, гиперкальциемией, повышенной вязкостью крови, почечной недостаточностью, анемией, а также противоопухолевую терапию. Последняя предполагает применение цитостатиков, из которых наиболее эффективными оказались алкилирующие агенты — циклофосфамид, мелфалан и хлорамбуцил. Первые два препарата чаще используют при лечении плазмноклеточных миелом, хлорамбуцил — при макроглобулинемиях.

Глава XXI

ИММУНОТЕРАПИЯ И ИММУНОКОРРЕКЦИЯ

Первым в истории иммунологии примером иммунотерапии явилось использование антитоксических противодифтерийных сывороток для лечения дифтерии. Впоследствии введение готовых антител (пассивный иммунитет) стали применять для лечения столбняка, ботулизма и др. Нашли применение в практике медицины антистафилококковые, антигриппозные и другие сыворотки или выделенные из них иммуноглобулины, т. е. концентрат антител. Делаются попытки иммунотерапии опухолей с помощью введения противоопухолевых антител. Это направление в настоящее время приобрело большую перспективу в связи с разработкой технологии культивирования гибридом, синтезирующих моноклональные антитела заданной специфичности (см. главу III).

Другим примером иммунотерапии является многократная десенсибилизирующая иммунизация больных аллергией тем аллергеном, который является причиной болезни. Смысл иммунотерапии этого рода — индуцировать выработку IgG антител той же специфичности, что и обуславливающих аллергию антител класса IgE (см. главу IV).

К разряду иммунотерапевтических воздействий относятся операции по удалению иммунных комплексов путем гемосорбции или плазмафереза при аутоиммунных и иммунокомплексных заболеваниях (см. главу XVII), отмена реакции «трансплантат против хозяина» (см. главу XIV) путем переноса сингенных лимфоидных клеток (адоптивный иммунитет) и т. п. Во всех случаях речь идет об использовании иммунологических препаратов или явлений с лечебной целью, а не о лечении патологически измененной иммунной системы, — не об исправлении ее дефектного функционирования. Последнее получило название иммунокоррекции. Конечно, разграничение двух понятий — иммунотерапии и иммунокоррекции,

условно, однако оно существенно. Подчеркивается основная цель иммунокоррекции — активное вмешательство в работу иммунной системы, изыскание путей ее стимуляции и депрессии, причем не только в целом, но ее отдельных клеточных популяций — Т-помощников, Т-супрессоров, НК-клеток и др.; включение или блокада клонов конкретной специфичности. Иммунокоррекция — это первый этап истинной иммунофармакологии с созданием лекарств и способов лечения патологий иммунной системы.

Иммуносупрессивная терапия и вторичные иммунодефициты

Иммуносупрессивная терапия вошла в клиническую практику в начале 60-х годов в связи с необходимостью подавления реакций отторжения тканей при пересадках почек. Вскоре после успешного применения иммунодепрессантов иммуносупрессивные средства стали использовать для лечения некоторых аутоиммунных заболеваний. Этот вид терапии наиболее эффективен при системной красной волчанке, аутоиммунной гемолитической анемии, активном хроническом гепатите и аллергическом кожном васкулите; менее эффективно иммуносупрессивная терапия при ревматоидном артрите; сомнительные результаты получены при использовании этих средств в случаях идиопатической тромбопенической пурпуры и рассеянного склероза. Наиболее успешно иммуносупрессия применяется в трансплантационной хирургии. До начала использования тех или иных средств подавления иммунитета (примерно до конца 50-х годов) все попытки трансплантации почек в клинике заканчивались отторжением пересаженного органа в течение нескольких недель. В 1960—1962 гг. появились первые сообщения о применении 6-меркаптопурина и кортизона. Продолжительность функционирования пересаженных почек возросла в некоторых случаях (не более 20%) до 6—9 мес.

Создание ряда новых химических препаратов, совершенствование их индивидуального и сочетанного применения значительно увеличили количество долгоживущих почечных трансплантатов. По данным Международного почечного центра за 1965 г., процент функционирующих больше года почечных трансплантатов от неродственных доноров возрос до 30. По данным за 1969 г., полученным при анализе 2331 случая пересадок, этот показатель увеличился до 42%, а в 1974 г. до 60—75% в зависимости от степени совместимости донора по системе HLA.

Наиболее эффективными иммунодепрессивными агентами являются препараты четырех классов: стероиды (кортизон, кортикостерон и др.), антимаболиты пуринового, пиримидинового и белкового синтеза (имуран, 6-тиогуанин, 5-фто-

рурацил, метотрексат и др.), алкилирующие агенты (производные иприта, циклофосфамид, милеран, мелфалан и др.), антибиотики типа актиномицинов С и D, пурамицина, хлорамфеникола и др. Менее активны ингибиторы клеточного дыхания (йодацетат, цианид и др.).

Специального внимания заслуживает иммунодепрессивное действие антилимфоцитарных сывороток (АЛС). Несмотря на то что изучение биологического действия АЛС было начато в 30-х годах А. Богомольцем, исследование этого препарата в плане применения его для подавления трансплантационного иммунитета началось только с 1960 г. Большой интерес к АЛС обусловлен тем фактом, что данный иммунодепрессант подавляет реакции гиперчувствительности замедленного типа и трансплантационный иммунитет в относительно большей степени, чем антимикробный иммунитет. Новые принципы иммунодепрессии, как и иммуностимуляции, заключаются в поисках путей воздействия на кооперативные процессы, включая процессы клеточной миграции. Экспериментальные исследования показали, что антикооперативный эффект дают циклофосфамид, гепарин, кортикостероиды. Последние резко тормозят миграцию стволовых клеток из костного мозга.

Следует иметь в виду, что единых схем иммуносупрессивной терапии не существует. Они различны не только для разных нозологических форм (трансплантация почки, костного мозга, лечение системной красной волчанки или аутоиммунной гемолитической анемии), иммуносупрессивная терапия индивидуальна для каждого больного. Назначение препаратов и их дозировка корректируются в зависимости от состояния больного и показателей иммунологической реактивности его организма.

Некоторые общие ориентирующие положения могут быть выдвинуты на основе того, что иммунный ответ всегда связан с накоплением иммунокомпетентного клона клеток. Исходя из этого, иммунодепрессанты, блокирующие размножение клеток (имуран, 6-меркаптопурин), следует назначать вместе с антигенной стимуляцией или перед ней. В этом случае антиген стимулирует размножение соответствующего клона, а цитостатик выбивает его вследствие своего митостатического действия.

Иммунодепрессанты, блокирующие синтез белков (актиномицины, хлорамфеникол), следует назначать позже для угнетения выработки антител или лимфоцитарных рецепторов уже размножившимся клоном клеток.

Эти положения можно распространить не только на случаи иммуносупрессии при трансплантации, но и на терапию аутоиммунных заболеваний. Начало рецидива следует считать активацией аутоагрессивного клона лимфоидных клеток.



Рис. 106. Сроки применения различных иммунодепрессантов при обострении аутоиммунных процессов. Объяснение в тексте.

Если изобразить периоды отягощения и ремиссии аутоиммунных заболеваний в виде схематической волны (рис. 106), препараты первого типа следует назначить при самых первых признаках-предвестниках ухудшения и в течение развития патологического синдрома, прекращая применение препарата на пике рецидива. После этого при первых признаках ремиссии следует назначать вещества второго типа, которые блокируют белковый синтез, но не размножение клеток, иначе эти препараты будут «выбивать» другие, не аутоагрессивные клоны, которые в данный момент стимулированы иными антигенами.

Вещества, нарушающие кооперативные межклеточные процессы, можно назначать всегда, поскольку показано, что взаимодействие клеток при иммунном ответе необходимо как на самых первых этапах иммуногенеза, так и на последующих, в период продуктивной фазы антителогенеза. Вот почему такие препараты, как ацетилсалициловая кислота, гепарин, кортикостероиды, действуют или могут действовать при самых различных аутоиммунных процессах.

Следует иметь в виду, что соединения, блокирующие клеточные митозы, опасно назначать во время ремиссии аутоиммунного процесса, так как в это время аутоагрессивные клоны иммунокомпетентных клеток находятся в покое, они не стимулированы к развитию пролиферативных процессов. Наоборот, различные нормальные иммунокомпетентные клоны, как всегда, находятся в состоянии стимуляции от обычных антигенов, постоянно попадающих в организм извне. Вот почему в данной конкретной ситуации преимущественно «выбиваться» будут именно они, а не аномальные — покоящиеся в это время клоны.

Иммунодепрессивные воздействия, используемые в настоящее время, оставляют организм фактически безоружным перед инфекционными осложнениями. Угнетается также функция иммунологического надзора за генетическим постоянством соматических клеток. Вот почему синдром, типичный для выраженных иммунодепрессивных состояний, характеризуется тремя основными критериями: длительным приживлением чужеродных трансплантатов, повышенной чувствительностью к инфекциям и увеличением частоты возникновения различных опухолей. Показателями этих состояний являются лимфопения, снижение бласттрансформации лимфоцитов крови под влиянием ФГА или в микст-культуре и концентрации сывороточных иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA), угнетение развития кожных проб на гиперчувствительность замедленного типа с туберкулином, динитрохлорбензолом, трихофитином и др. Большой опыт трансплантации почек показал, что длительная иммунодепрессия сопровождается ослаблением не только противомикробной защиты организма, но и резким повышением вероятности возникновения различных опухолей. По данным Международного почечного центра, к 1 ноября 1974 г. произведено 19250 трансплантаций почек. Во всех случаях проводилась длительная иммунодепрессия с помощью химических препаратов, АЛС, дренажа грудного протока и др. Частота возникновения ретикулококлеточных сарком у этих больных более чем в 300 раз превышает показатель у лиц, не получавших иммунодепрессивной терапии. Вероятность появления лимфосарком возрастает в 35 раз. Наиболее частыми инфекционными осложнениями являются пневмонии и другие заболевания дыхательной системы.

Иммунодепрессивные состояния, развивающиеся после различных воздействий, характеризуются особенностями, которые определяются влиянием того или иного воздействия: на иммунную систему и на функционирование ее отдельных звеньев.

Важным способом в проблеме иммунодепрессивных состояний является выведение организма из состояния иммунной депрессии. Назначение антибиотиков широкого спектра действия, введение препаратов γ -глобулина и содержание больного в безмикробных условиях являются обязательными. Совершенно очевидно, что эти мероприятия сами по себе не восстанавливают иммунологическую реактивность его организма.

Отмена иммунодепрессивных воздействий нередко является достаточной для восстановления реактивности. Это относится к таким иммунодепрессантам, как кортикостероиды и АЛС. Однако тяжелые отравления цитостатиками (аналоги оснований нуклеиновых кислот, алкилирующие соединения) и тотальные радиационные поражения приводят к столь вы-

раженным «опустошениям» кроветворной и лимфоидной систем, что спонтанного восстановления иммунной реактивности не происходит. В этих случаях для вывода организма из иммунодепрессивного состояния требуется замещение разрушенных В- и Т-систем иммунитета путем трансплантации костного мозга или костного мозга совместно с клетками вилочковой железы. Трансплантации клеточных взвесей, содержащих лимфоидные элементы, требуют особой тщательности при подборе донора, так как совместимость в этих случаях должна быть двусторонней (иначе может развиться реакция «трансплантат против хозяина»). Наиболее надежными показателями выведения организма из иммунодефицитного состояния являются увеличение числа лимфоцитов, повышение показателей бласттрансформации лимфоцитов крови и нарастание уровня сывороточных иммуноглобулинов.

Дефицит иммунной системы, возникший под влиянием иммунодепрессантов, служит ярким примером так называемых вторичных иммунодефицитов.

Все патологические процессы, сопровождающиеся лимфопенией и гипогаммаглобулинемией, приводят к развитию вторичных иммунодефицитов разной степени выраженности. Среди них:

— патологические процессы, сопровождающиеся потерей белка: заболевания почек (нефротический синдром), кожи (ожоги) и некоторые экссудативные энтеропатии;

— миотоническая дистрофия, приводящая к гипогаммаглобулинемии;

— некоторые лечебные воздействия: рентгеновское облучение, кортикостероидная терапия, назначение цитостатиков, антилимфоцитарной сыворотки, тимэктомия, дренаж грудного протока и др.;

— опухоли лимфоретикулярной природы: ретикулосаркома, лимфогранулематоз, лимфосаркома, гигантская фолликулярная лимфома, тимома, болезнь Ходжкина, лимфома Беркитта, хронический лимфолейкоз, миелома, макроглобулинемия;

— многие вирусные (корь, грипп), бактериальные (лепра, холера), грибковые (кандидамикозы), протозойные (малярия, трипаносомоз, лейшманиоз) инфекции и гельминтозы; любая тяжелая инфекция;

— тяжелые хирургические травмы и послеоперационные осложнения.

При хроническом лимфолейкозе, миеломе, макроглобулинемии и заболеваниях, сопровождающихся потерей белка, преимущественно страдает В-система иммунитета; при лимфогранулематозе, болезни Ходжкина, лепре, вирусных инфекциях — Т-система. Старость представляет собой выраженный Т-иммунодефицит (см. рис. 103).

Иммуностимуляция и принципы иммунокоррекции

Изложенные выше результаты иммунодепрессивной терапии и иммуностимуляции (см. главы XVI—XVIII и XX) при трансплантации органов, аутоиммунных болезнях и опухолях получены на основе принципов, предусматривающих тотальную депрессию или тотальную стимуляцию. Открытие функционально альтернативных субпопуляций лимфоцитов, в частности Т-помощников и Т-супрессоров, по-новому осветило пути развития принципов коррекции.

Действительно, если, как указывалось ранее, при аутоиммунных заболеваниях выработка аутоантител обусловлена дефектностью Т-супрессоров, а это, по-видимому, так, то, помимо подавления антителопродуцентов, необходима стимуляция Т-супрессоров. Их подавление цитостатиками опасно. При иммунотерапии опухолей картина обратная — для злокачественных новообразований типична активация супрессоров, с которой может быть связана неэффективность противоопухолевой иммунной защиты. Тотальная стимуляция всей Т-системы может активировать и Т-супрессоры, усугубляя неэффективность противоопухолевого иммунитета. Стимулирующая иммунотерапия опухолей действительно в ряде случаев дает отягощение процесса.

В настоящее время начат поиск средств и способов избирательного воздействия на отдельные субпопуляции клеек иммунной системы. Это направление является одной из наиболее важных и перспективных задач экспериментальной и клинической иммунологии. Такие данные накапливаются. И хотя это еще только начало, однако именно этот путь составят в ближайшем время основное направление иммунокоррекции. В табл. 47 суммированы данные по экспериментальному изучению «иммунологических точек действия» некоторых средств. Наиболее заманчивая цель подобных поисков — изыскание средств направленного воздействия на главные регуляторные клетки, на Т-помощники и Т-супрессоры с нахождением путей их избирательной активации или подавления. Тогда клиническая медицина получит принципиально новый инструмент лечения в виде целенаправленной регуляции иммунных процессов, ибо эти два типа клеток определяют активность развития всех вариантов иммунного ответа.

Гидрокортизон, например, угнетая активность всех типов лимфоцитов, наиболее сильно действует на Т-эффекторы. Облучение раньше других «выбивает» Т-супрессоры. Циклофосфамид наиболее токсичен для В-лимфоцитов. Левамизол, к которому в последние годы проявлен большой интерес, с определенной долей избирательности стимулирует Т-супрессоры. В этом смысле его применение весьма перспективно

Таблица 47

Влияние некоторых препаратов и воздействий на стволовые клетки T_H -, T_S -, T_E - и В-лимфоциты

Препараты или воздействия	Миграция CFU	Лимфоциты			
		T_H	T_S	T_E	В
Гидрокортизон	⇓	↓	↓	⇓	↓
Облучение	↑	↓	⇓	↓	↓
Циклофосфамид	—	↓		↓	⇓
Дийодбензотэф	↓	—	↓	↓	↓
6-Меркаптопурин	—	↓		↓	⇓
Делагил	—	↑		—	
Анальгин	—	—		—	—
Салицилат натрия	↓	—		↓	—
ФГА	↑	↑	↑	↓	—
Левамизол	—	—	↑	↑	
Тимозин	↑	↑		↑	
Анти- IgM		↓	—	—	⇓
Анти- IgG		—	↓	—	⇓
Полиакриловая кислота	↑	↑		↑	↑
Поли-4-винилпиридин	↑	↑		↑	↑
Сополимер ПАК-ПВП	—	↓			—

Условные обозначения: — — нет изменений;

⇓⇓⇓ — разные степени угнетения;

↑↑↑ — разные степени стимуляции.

при аутоиммунных заболеваниях, коль скоро аутоиммунная агрессия связана со снижением функции T -супрессоров. ФГА, на который возлагались надежды как на стимулятор T -системы иммунитета с целью иммунотерапии опухолей, действительно стимулирует T -клетки, но сильнее всего стимулирует T -супрессоры, т. е. тормозит и без того заторможенный при опухолевом росте иммунный ответ.

Нет сомнения, что в ближайшие годы иммунология осуществит расшифровку точных мест и характера дефектов иммунной системы при различных нозологических формах. Вместо интегральных и достаточно расплывчатых сегодняшних характеристик, таких, как «иммунопатология», «аутоиммуноагрессия», «сниженная иммунореактивность», будут очерчены точные заболевания — болезни иммунной системы. А вместо малоизученных по механизмам действия средств тотальной иммунной стимуляции или тотальной иммунодепрессии будут созданы целенаправленные средства — лекарства для лечения расстройств и заболеваний иммунной системы, для иммунокоррекции.

В последние годы появляется все больше препаратов иммунорегуляторного действия, среди них — описанный в главе XVIII мурамил-дипептид, диуцефон, инозиплекс, изопринозин, гормоны и медиаторы иммунной системы — препараты из вилочковой железы, фактор переноса, САП (см. главу X), и др. Все эти и будущие препараты такого типа, нацеленные на активацию или супрессию конкретных звеньев иммунной системы, не имеют одного важнейшего качества. Они лишены иммунологической специфичности, т. е. не могут включить или заблокировать определенный клон, преддетерминированный к определенному антигену, вырабатывающему антитела или клеточные рецепторы узкой (детерминантной) специфичности. Иначе говоря, проблема иммунокоррекции сделала первый шаг — изыскание средств управления клеточными популяциями иммунной системы. Предстоит сделать следующий шаг — управление специфическими клонами, нужными в каждой конкретной ситуации. Перспективны в этом смысле два пути. О первом было рассказано в разделе фенотипическая коррекция (глава XII). Он предполагает использование нужного антигена в сочетании с такой несущей молекулой, которая бы обеспечила обход генетически обусловленной невозможности нормального реагирования на данный антиген. Второй путь — использование антиидиотипических антител (см. главу VII). Каждый иммуноглобулиновый или иной рецептор, распознающий конкретный антиген, характеризуется определенным идиотипом. Показано, что антиидиотипические антитела способны стимулировать или блокировать клон иммунокомпетентных клеток, несущих данный идиотип, т. е. способных реагировать на соответствующий конкретный антиген. Миеломная мышьяная линия клеток МОРС-460 синтезирует анти-ТНФ антитела. Идиотип этих антител обозначен как идиотип 460 (Id 460). Против них приготовлены анти-Id 460 антитела. Среди лимфоцитов мыши обнаружены В-клетки с идиотипом Id 460, вырабатывающие анти-ТНФ антитела. Обнаружены специфические Т-супрессоры, которые оказались содержащими

рецепторы, тождественные анти-Id 460. Антитела против них, т. е. анти (анти-Id 460), элиминировали Т-супрессоры. Не все вообще Т-супрессоры, а специфичные для данной антигенной детерминанты — тринитрофенила [Бона К., Пол У., 1980].

Разработка способов иммунокоррекции посредством этих двух приемов или других методов, которые обеспечивают направленное вмешательство на уровне специализированных клонов Т- и В-лимфоцитов, — это иммунокоррекция будущего.

Глава XXII

ТЕОРИИ ИММУНИТЕТА

Количественная характеристика популяции антителообразующих клеток

До 1955 г. фактически не существовало методик для выявления отдельных антителопродуцирующих клеток, позволяющих идентифицировать их морфологически и оценить количественные закономерности их появления и накопления. Последнее оказалось чрезвычайно существенным для понимания механизмов антителогенеза, опровержения одних и построения других теорий иммунитета. Основные закономерности динамики антителообразующих клеток при иммунном ответе наиболее целесообразно изложить с связи с теми методами, которые обеспечили возможность их изучения.

Метод А. Кунса (1955), основанный на использовании меченных флюоресцеином антигенов и антител (рис. 107, 108), позволил сделать два принципиальных вывода: 1) не все клетки лимфатических узлов или селезенки вырабатывают антитела. Клеток-продуцентов немного, даже в период максимальной продукции антител количество антителосинтезирующих клеток колеблется в пределах 0,1% от всей лимфоидной популяции. Продуцентами являются зрелые плазматические клетки и более молодые клетки типа плазмо- и лимфобластов. Лишь часть из перечисленных типов клеток вырабатывают антитела против введенного антигена; 2) хотя с помощью метода Кунса можно дать лишь относительную количественную оценку лимфоидной популяции, было выяснено, что число клеток-продуцентов возрастает в течение нескольких дней после иммунизации, достигая пика перед пиком антител в крови.

Метод Носсэла [Носсэл Г., Макёла О., 1962] основан на использовании микроманипуляционной техники, позволяющей изолировать в микрокаплях отдельные клетки и определить, продуцируют ли они антитела. Этапы проведения опыта сле-

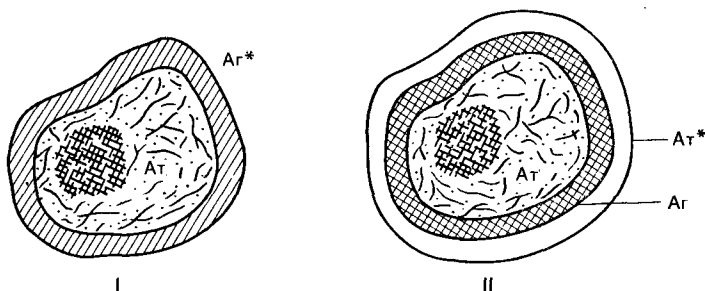


Рис. 107. Варианты (I, II) методики Кунса для выявления антителообразующих клеток.

Аг — антиген; Ат — антитело против данного антигена; Аг* — антиген, конъюгированный с флюоресцентом; Ат* — антитело против данного Аг, конъюгированное с флюоресцентом.

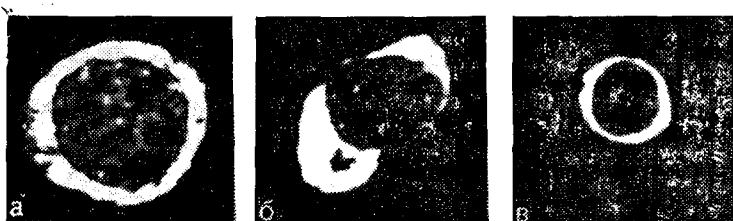


Рис. 108. Антителообразующие клетки, выявленные с помощью метода Кунса (препарат К. А. Лебедева).

а — бластная клетка; б — юная плазматическая клетка; в — лимфоцит.

дующие: животных иммунизируют жгутиковыми формами сальмонелл, в разные сроки после этого извлекают лимфатические узлы или селезенку и получают взвеси клеток; готовят микрокапли с изолированными клетками; в эти капли микроманипулятором вводят бактерии, которыми иммунизировали животных. Реакцию учитывают после инкубации в термостате. В случае, если клетка вырабатывает антитела против введенных бактерий, они теряют способность двигаться и склеиваются или присоединяются к клетке — происходит иммуноприлипание. При иммунизации животного двумя видами сальмонелл можно определить, против какого вида микробов синтезируются антитела данной клеткой и возможен ли синтез одновременно двух антител.

Этот метод, успешно примененный Г. Носсэл в начале 60-х годов, позволил подтвердить основные количественные закономерности, установленные с помощью метода Кунса, и сделать новые принципиальные заключения: 1) не все клетки лимфоидной ткани вырабатывают антитела; продуцентов з...

Окончательно и бесповоротно доказано, что лимфоидная система клонирована. Каждый клон вырабатывает антитела против одного антигена. Антитела против одного и того же антигена, выработанные разными клонами, различны. Показано, что один Т-помощник включает в дифференцировку один В-предшественник (моноклония Т-клеток). Доказано, что такой митоген, как митоген лаконоса, стимулирует В-лимфоциты только при наличии антигенного стимула и Т-помощников. Другой митоген — бактериальный липополисахарид — является истинным поликлональным стимулятором и не требует для реализации своей активности антигенов или Т-клеток.

Теории иммунитета

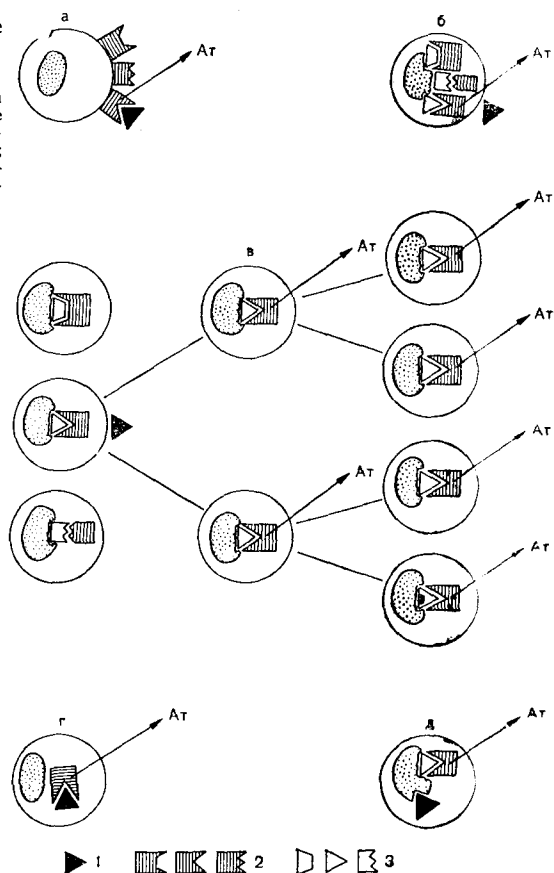
Теория боковых цепей, созданная П. Эрлихом в 1898 г., сейчас имеет главным образом историческое значение, так как в ней автор фактически выразил идею селекционирующей роли антигена. Клетка не создает новых специфических структур под влиянием антигена. Эти структуры предсуществуют в клетке. Образование антител было представлено в виде продукции чего-то, что присуще клетке по ее природе и было присуще до контакта с антигеном. Конечно, выражение этой идеи в настоящее время выглядит весьма наивно. Но само допущение предсуществования специфических структур — антител — оказалось очень продуктивным. П. Эрлих предполагал, что на поверхностях клеток имеются разнообразные химические группировки — рецепторы. Антиген вследствие химического сродства соединяется с теми или иными рецепторами и блокирует их функции, важные для жизнеобеспечения клеток. В ответ на это клетки вырабатывают большое количество рецепторов, избыток которых отрывается и циркулирует в крови в виде специфических антител.

На рис. 109 схематически изображены три типа рецепторов, один из которых родствен антигену. Нет необходимости перечислять все возражения, которые возникают при знакомстве с теорией боковых цепей в настоящее время. Известно, что антитела всегда являются γ -глобулинами, физико-химически однородными, несмотря на разную специфичность. Вырабатываются они только в лимфоидной ткани, и для их синтеза необходимы размножение и дифференцировка клеток в клетки-продуценты.

Мысль о возможности предсуществования в клетках специфических структур (антител) к антигенам, с которыми организм никогда не сталкивался, и даже к тем, которые получены синтетически, долгое время казалась невероятной. Да и сам процесс антителогенеза как будто бы опровергает такую возможность. Животному вводят вещество с антигенной детерминантой X и получают анти-X-антитела; вводят веще-

Рис. 109. Схематическое изображение основных теорий иммунитета.

1 — антиген; 2 — антитела (Ат); 3 — гипотетические матрицы; теории: а — Эрлиха; б — Эрне; в — Бернета; г — Ландштейнера—Гауровица—Полинга; д — Бернета—Феннера.



ство с детерминантой Y и получают анти-Y-антитела. Антиген как бы «инструктирует» клетку. В опытах К. Ландштейнера (1945) введение в белковую молекулу новых химических группировок приводило к тому, что иммунизированное животное вырабатывало новые антитела против данной детерминанты (см. главу II). В 1937 г. К. Ландштейнер высказал предположение, согласно которому антиген активно участвует в формировании специфичности продуцируемых клеткой γ -глобулинов. Впоследствии эту идею развили Л. Полинг (1940) и Ф. Гауровиц (1953). В результате теория была окончательно сформулирована и получила название теории прямой матрицы. В настоящее время она считается классической инструктивной теорией.

Согласно этой теории, предполагают, что антиген проникает в клетку и служит там своеобразной матрицей. На поверхности этой матрицы, как на штампе, молекулы γ -глобу-

линов приобретают пространственную конфигурацию. Клетки синтезируют некие неспецифические молекулы данных белков. Полипептидная структура молекул всех антител, а также неспецифических (нормальных) глобулинов идентична, если она продуцируется одним и тем же организмом. Различия между антителами и нормальными γ -глобулинами появляются лишь в последней стадии скручивания пептидной цепи молекулы под влиянием антигена. Антиген сообщает молекуле специфическую комплементарную конфигурацию, и молекула антитела уходит из клетки в кровоток. Высвободившийся антиген участвует в формировании следующей молекулы антитела.

Основные возражения против этой теории касаются нескольких моментов. Во-первых, точными биохимическими исследованиями доказано отсутствие каких бы то ни было полипептидных предшественников антител. Иммунные глобулины строятся заново из аминокислот независимо от неспецифических глобулинов. Во-вторых, одна клетка способна вырабатывать только одно антитело. Согласно же теории прямой матрицы, клетка должна вырабатывать столько разновидностей антител, сколько антигенных «штампов» в нее проникает. В-третьих, большая масса клеток — продуцентов γ -глобулинов после проникновения антигена должна одновременно начать строить антитела. В действительности в этот процесс включается очень малая часть лимфоидной популяции и увеличение числа продуцентов происходит постепенно в результате размножения изначально небольшого числа клеток-предшественников. Кроме того, теория прямой матрицы не объясняет ряда иммунологических феноменов (табл. 48). В частности, неясно, почему собственные белки не являются антигенами и не приводят к возникновению антител. Не объясняется также, каким образом быстрообновляющаяся популяция лимфоидных клеток сохраняет иммунологическую память. Известно, что после иммунизации, а тем более после перенесения некоторых инфекций способность организма усиленно реагировать на данный антиген по вторичному типу сохраняется месяцы и годы, а иногда в течение всей жизни. В такой длительный период клеточный состав лимфоидной ткани многократно обновляется в результате постоянного отмирания и размножения клеток. Следовательно, клетки должны обладать способностью передавать иммунологическую память из поколения в поколение, а это возможно только в случае генетической закодированности процесса. Очевидно, антиген влияет на геном клетки таким образом, что там возникает наследуемая структура, ответственная за синтез антител.

Стремление преодолеть эти возражения привело в 1949 г. к созданию (Ф. Бернет и Ф. Феннер) теории непрямого матрицы. Необходимо было объяснить неантигенность аутокка-

Таблица 48

Объяснение различными теориями иммунитета основных иммунологических феноменов

Теория и автор	Феномен								Соответствие генетическому постулату ДНК — РНК — белок
	распознавание «своего» и «чужого»	выработка антител	наличие латентного периода	чувствительность латентного периода	наличие сенсбилизированных клеток	различия интенсивности первичного и вторичного ответов	иммунологическая память	иммунологическая толерантность	
Селективные: боковых цепей (П. Эрлих, 1898)	—	+	—	—	+	—	—	—	+
естественного отбора (Н. Эрне, 1955)	—	+	+	—	+	—	+	—	+
селекция клонов (Ф. Бернет, 1957)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Инструктивные: прямой матрицы (Ф. Гауровиц, Л. Поллинг, К. Ландштейнер, 1937—1940)	—	+	—	—	—	—	—	—	—
непрямой матрицы (Ф. Бернет, Ф. Феннер, 1949)	±	+	+	+	—	+	+	+	—

Условные обозначения: + объясняется достаточно хорошо; — не объясняется или объясняется неудовлетворительно.

ней. Это привело к предположению, что все вещества организма, могущие быть антигенами, несут особую молекулярную группировку, свойственную данному организму. По этой «метке» лимфоидные клетки отличают «свое» от «чужого». Поэтому теорию непрямой матрицы называют еще теорией аутоматки. Механизм распознавания «своего» и «чужого» формируется в эмбриональном периоде.

Основной постулат теории предполагает направленное вмешательство антигенов в специальную матричную РНК и геном клетки и воссоздание генетической матрицы (генотип), контролирующей синтез γ -глобулина, специфичного по отношению к данному антигену (рис. 109).

В соответствии с современными знаниями о механизмах реализации генетической информации и генетического конт-

роля биосинтеза подобные допущения представляются невероятными. Иначе говоря, обе инструктивные теории противостоят генетической формуле, характеризующей нормальный поток информации: ДНК — РНК — белок. Аутоматка ни разу не была доказана. Теория также не согласуется с фактом одна клетка — одно антитело и динамикой накопления антителопродуцирующих клеток.

Потребовалось создание новых теорий иммунитета, учитывающих данные современной биологии и иммунологии.

В 1955 г. Н. Эрне возродил принцип П. Эрлиха о существовании в клетках способности синтезировать специфические структуры — антитела до контакта с антигеном. Была создана теория естественного отбора.

Поскольку инструктивная роль маловероятна, Н. Эрне предположил, что каждая клетка — продуцент γ -глобулинов спонтанно вырабатывает большой набор молекул, характеризующихся разными специфичностями. В этом наборе всегда есть молекула, комплементарная по своей специфичности тому антигену, который в данный момент попадает в организм. Потенциальные антитела всегда имеются в небольшом количестве. Действительно, для многих антигенов в крови животных и человека обнаруживается небольшое количество так называемых нормальных антител. Антиген не обеспечивает никакого нового синтеза и не изменяет существующие. В крови или клетке он встречается с соответствующим ему естественным антителом и соединяется с ним. Возникший комплекс служит сигналом для производства большого количества данных γ -глобулинов. Антиген выступает в роли не инструктора, а селектора.

Теория Эрне (см. табл. 48) многого не объясняет: иммунологической толерантности, распознавания «своего». Она имеет серьезные возражения: одна клетка вырабатывает только один тип антител, увеличение количества клеток-продуцентов происходит постепенно, а не одновременно и т. д. Но теория Эрне избежала основного противоречия инструктивных теорий, поскольку не предполагает направленного вмешательства антигена в генетически контролируемый процесс белкового синтеза.

Возрождение идеи П. Эрлиха в современной интерпретации послужило стимулом для разработки селективной концепции. Вскоре после публикации теорий Эрне принцип селекционирующего эффекта антигена был перенесен с уровня отбора молекул естественных антител на уровень отбора преадаптированных клеток обширной клеточной популяции лимфоидной ткани. В дальнейшем Ф. Бернет (1964) детально разработал клонально-селекционную теорию иммунитета, которая наиболее полно объясняет все основные феномены иммунитета и имеет наименьшее количество возражений. Тео-

рия селекции клонов исходит из четырех основных предположений.

1. Обширность популяции лимфоидных клеток в организме. По подсчетам Ф. Бернета в теле человека содержится в каждый данный момент 10^{12} лимфоидных клеток. Родоначальником всех клеточных форм является ретикулярная клетка. Большинство клеток в лимфоидной ткани представляет собой переходные формы между ретикулярными клетками и их производными. Эти формы объединяются общим термином — «бласты».

2. Гетерогенность популяции лимфоидных клеток. Она объясняется мутационным процессом, идущим в соматических клетках, составляющих данную популяцию. Поскольку лимфоидная ткань характеризуется постоянно происходящим делением клеток, вся популяция состоит из большого числа клеточных клонов. Гетерогенность и клонированность распространяются и на клетки, способные продуцировать γ -глобулины. При этом каждый клон содержит клетки — продуценты одного из возможных вариантов γ -глобулина. Специфичность γ -глобулина как антитела предопределена генотипом данного клона. В результате мутационного процесса в столь большой популяции накапливаются многочисленные варианты специфичностей, так что они заведомо перекрывают все возможные варианты антигенных детерминант. Ф. Бернет условно считает, что число возможных антигенов измеряется цифрой 10 000. Тогда следует допустить, что в лимфоидной популяции должно быть по крайней мере 10 000 клонов с преадаптированной способностью вырабатывать соответствующий тому или иному антигену глобулин — антитело.

Клон — популяция организмов, происходящая от одного предшественника путем размножения, исключающего обмен генетическим материалом. Для растений такой формой является вегетативное размножение черенками, отводками и др., для клеток — деление без предварительной конъюгации. Все особи внутри одного клона генетически идентичны. Если у какой-либо особи происходит мутационное изменение генома, то она и все ее потомки представляют собой вновь возникший клон (рис. 110).

Автор теории допускает, что данная гетерогенность и клонированность популяции могут объясняться не только мутационным процессом, но и закодированностью в геноме половых клеток, из которых развивается организм. Большинству иммунологов, как писал в 1962 г. Ф. Бернет, кажется малооправданной гипотеза, согласно которой в эмбриональном периоде без всякого контакта с чужеродными антигенными детерминантами возникает 10^4 или более специализированных структур, «предназначенных» к взаимодействию с этими антигенами. Это возражение скорее интуитивно, чем логично.

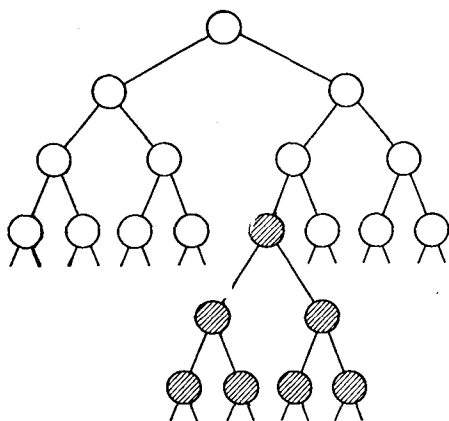


Рис. 110. Клон как совокупность потомков одной клетки или одного организма. Любая мутация или другое наследуемое изменение приводит к появлению нового клона.

В конце концов мы же знаем, что в процессе эмбрионального развития в структурах и функциях тела реализуется гигантский поток информации, измеряемый несколькими миллионами битов. Есть ли основания сомневаться в том, что в генетическом аппарате оплодотворенного яйца может быть заложено еще каких-нибудь 10 000 единиц информации. Автор указывает на два основных источника возникновения этих структур: либо они заложены в наследственном аппарате вместе с

указанием, когда эти структуры должны развиваться (в этом случае их функционирование является следствием нормальной дифференцировки), либо все 10 000 структур являются следствием соматических мутаций генов, контролирующих синтез γ -глобулинов. Не исключается возможность того, что эти участки генетического аппарата особенно склонны к мутациям.

3. Малое количество антигена стимулирует клетки преадаптированного клона к размножению и дифференцировке в сторону клеток — продуцентов антител. Данный клон активно пролиферирует, в течение нескольких дней накапливается большое число продуцентов антител и антитела появляются в крови. Клон количественно возрос, поэтому вторичный антигенный стимул способствует более быстрому и выраженному накоплению клеток и антител. Такие клетки, которые способны реагировать на поступление антигена, называются иммунокомпетентными. В зависимости от характера антигена и условий внутренней среды организма стимулированный клон может дифференцироваться в сторону накопления или плазмочитов, или большого числа лимфоцитов, сенсibilизированных по отношению к данному антигену и способных с ним взаимодействовать своими поверхностными специфическими структурами. Этим лимфоциты определяют иммунологические реакции гиперчувствительности замедленного типа.

4. Большой избыток антигена убивает преадаптированные иммунокомпетентные клетки, элиминирует соответствующий клон. Эта предпосылка является основной для объяснения иммунологической толерантности и распознавания «своего»,

В процессе эмбрионального развития, когда появляется большое количество вариантов иммунокомпетентных клеток — родоначальниц будущих клонов, возникают и клетки, способные реагировать против собственных антигенов данного организма. Однако, контактируя с избытком антигенов собственного тела, они погибают. Накопления таких клонов не происходит. В итоге развивавшаяся лимфоидная система не содержит клеточных клонов, способных реагировать против антигенов собственного тела. Все другие антигены, контакта с которыми не было в период становления лимфоидной системы, для нее чужеродны, в ней содержатся соответствующие клоны иммунокомпетентных клеток. Когда чужеродные антигены вводят эмбриону или новорожденному, они обеспечивают элиминацию соответствующих им клонов, устанавливая специфическую иммунологическую толерантность организма к данным антигенам.

В табл. 48 перечислены восемь основных феноменов, объяснение которых требуется от любой иммунологической теории. Наиболее полно объясняет их теория селекции клонов:

— распознавание «своего», т. е. нереагируемость против собственных антигенов тела, есть следствие элиминации в эмбриональном периоде развития способных к такой реакции клонов;

— распознавание «своего», т. е. нереагируемость против собственных антигенов тела, есть следствие элиминации в эмбриональном периоде развития способных к такой реакции клонов;

— выработка антител происходит вследствие стимуляции преадаптированных клонов; стимулирующее влияние антигена выражается в размножении клеток-предшественников с трансформацией их в клетки — продуценты антител;

— наличие латентного периода неизбежно, так как накопление клеток данного клона и их дифференцировка требуют времени для осуществления размножения нескольких генераций клеток;

— чувствительность латентного периода к действию ионизирующих излучений, химических ингибиторов и других факторов понятна, поскольку фазы подготовки к митотическому делению и сам митоз — это наиболее чувствительные периоды жизни клетки;

— наличие сенсibilизированных клеток в реакциях гиперчувствительности замедленного типа — это размножение, накопление преадаптированных лимфоцитов, несущих на своей поверхности специфические антидетерминанты;

— различия в интенсивности первичного и вторичного ответов понятны, так как после первичной антигенной стимуляции происходит накопление представителей соответствующего клона. Вторичный стимул действует на лимфоидную попу-

ляцию, в которой содержится больше соответствующих иммунокомпетентных клеток. Иммунологический ответ развивается быстрее и в более выраженной форме;

— иммунологическая память связана с тем, что иммунокомпетентность клеток закодирована в наследственном аппарате и передается из поколения в поколение дочерним клеткам. Хранителями иммунологической памяти являются, по видимому, лимфоциты, способные к митозам и превращениям в другие клетки;

— иммунологическая толерантность возникает так же, как возникает в эмбриогенезе нереагирование на свои антигены.

Конечно, теория Бернета имеет свои слабые стороны. Однако главная предпосылка — клонированность лимфоидных клеток, полностью подтвердилась. Она затрагивает как В-лимфоциты, так и основные популяции Т-клеток — помощников и супрессоров. Предсуществование клонов с необычайно большим многообразием специфичностей, так называемый «репертуар» иммунной системы или «словарь» распознавания необычайно большого количества антигена, объяснен реальным наличием многообразия V-генов, контролирующих переменные участки тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов. Гипотезы, объясняющие возникновение и механизмы взаимодействия V- и С-генов, были рассмотрены в главе XII. Здесь следует еще раз подчеркнуть, что специфические рецепторы неиммуноглобулиновой природы, с помощью которых осуществляется распознавание антигенов Т-лимфоцитами, характеризуются идиотипами, тождественными идиотипам иммуноглобулиновых рецепторов соответствующих клонов В-лимфоцитов. По-видимому, V-гены, функционирующие в Т-лимфоцитах, взаимодействуют с генами, кодирующими синтез неиммуноглобулиновых рецепторов. Скорее всего это гены главного комплекса гистосовместимости, ибо распознавание антигенов Т-лимфоцитами связано с молекулами Ia и H-2K, H-2D (см. главу XII).

Объяснение иммунологической толерантности, данное при формулировании клонально-селекционной теории, трансформировалось. При большинстве форм толерантности исчезновения соответствующего клона не происходит. Состояние специфической неотвечаемости не пассивно. Оно связано с активацией соответствующих клонов Т-супрессоров. Фактически, с осмысливания существования регуляторных Т-клеток — помощников и супрессоров, началось осмысливание современного этапа дальнейшего развития теорий иммунитета. Возникла идея определяющего значения взаимодействия различных популяций и субпопуляций лимфоидных клеток в реализации иммунного ответа, его высоты и характера, стимуляции или торможения. Возникла идея сетевой регуляции совокупности популяций и клонов, которые постоянно находятся в

определенном равновесном состоянии. Антигенный сигнал выводит систему из данного равновесного состояния и переводит в другое. В зависимости от особенностей антигена, генетических факторов, иных эндогенных и экзогенных воздействий реализуется тот или иной тип иммунного ответа, развивается толерантность или возникает вариант патологического реагирования.

Кульминационным пунктом развития сетевой теории явилось формулирование в 1974 г. Н. Эрне теории идиотип-антиидиотипической регуляции (см. главу VII). Ее дальнейшая разработка является современным этапом развития теорий иммунитета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Адо А. Д. Общая аллергология.— М.: Медицина, 1978, 463 с.
- Беклемышев Н. Д., Суходоева Г. С. Аллергия к микробам в клинике и эксперименте.— М.: Медицина, 1979.—260 с.
- Вершигора А. Е. Основы иммунологии.— Киев: Высшая школа, 1980.
- Врожденные иммунодефицитные состояния у детей/Под ред. Ю. М. Лопухина, Р. В. Петрова.— М., 1975, т. XXXIV, вып. 9. Серия «Хирургия», с. 270.
- Говалло В. И. Трансплантация тканей в клинике.— М.: Медицина, 1979.—281 с.
- Зильбер А. А. Основы иммунологии.— М.: Медгиз, 1958.— 587 с.
- Зотиков Е. А. Антигенные системы человека и гомеостаз.— М.: Медицина, 1982.
- Итоги науки и техники. Иммунология, т. 7. Регулярные клетки иммунной системы/Под ред. Р. В. Петрова.— М.: ВИНТИ, 1978.— 248 с.
- Итоги науки и техники. Иммунология, т. 8. Патология иммунной системы/Под ред. Р. В. Петрова.— М.: ВИНТИ, 1979.—233 с.
- Косяков П. Н. Изоантигены и изоантитела человека в норме и патологии.— М.: Медицина, 1974, 360 с.
- Марчук Г. И. Математические модели в иммунологии.— М.: Наука, 1980.— 264 с.
- Медуницын Н. В., Литвинов В. И., Мороз А. М. Медиаторы клеточного иммунитета и межклеточного взаимодействия.— М.: Медицина, 1980.
- Петров Р. В. Иммунология и иммуногенетика.— М.: Медицина, 1976.—326 с.
- Петров Р. В., Хаитов Р. М., Манько В. М., Михайлова А. А. Контроль и регуляция иммунного ответа.— Л.: Медицина, 1981.—311 с.
- Покровский В. И., Авербах М. М., Литвинов В. И., Рубцов И. В. Приобретенный иммунитет и инфекционный процесс.— М.: Медицина, 1979, с. 280.
- Семенов Б. Ф., Каулен Д. Р., Баландин И. Г. Клеточные и молекулярные основы противовирусного иммунитета.— М.: Медицина, 1981.
- Стефани Д. В., Вельтищев Ю. Е. Клиническая иммунология детского возраста.— Л.: Медицина, 1977.—276 с.
- Фонталин Л. Н., Певницкий Л. А. Иммунологическая толерантность.— М.: Медицина, 1978.—311 с.
- Фукс Б. Б., Константинова И. В. Цитохимия иммуногенеза в обычных и экстраемальных условиях.— М.: Медицина, 1973.— 271 с.
- Чертков И. Л., Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворения.— М.: Медицина, 1977.
- Шевелев А. С. Противоречия иммунологии.— М.: Медицина, 1979.
- Benacerraf B., Unanue T. Textbook of Immunology, Baltimore: Williams and Wilkins, 1979, p. 298.*
- (Burnet F.) Бернет Ф. Клеточная иммунология/Пер. с англ.— М.: Мир, 1971.—537 с.*
- Fudenberg H., Stites D., Caldwell J., Wells J. Basic and Clinical Immunology.— Los Altos, LMP, 1980.—782 p.*

- Gray D.* Immunology.—London: Edward Arnold, 1970, 213 p.
- Hood L., Weissman I. L., Wood W. B.* Immunology. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc.—467 p.
- Humphrey J. H., White R. J.* Immunology for Students of Medicine. Oxford London Edinburgh Melbourne: Blackwell Scientific Publications, 1970.—722 p.
- Hyde R., Patnode R.* Immunology. Reston, Virginia: Reston Publishing Company, Inc. 1978.—274 p.
- Immunodeficiency.* Report of a WHO Scientific Group. World Health Organization.—Jeneva, 1978.—80 p.
- Sell S.* Immunology, immunopathology and immunity. New York, Hagerstown, Maryland, 1972.—260 p.
- (*Snell G., Dausset J., Nathenson S.*) *Снелл Дж., Доссе Ж., Натенсон С.* Совместимость тканей/Пер. с англ.—М.: Мир, 1979, 490 с.
- Turk J. L.* Immunology in Clinical medicine. London' William Heinemann Medical Books Limited. 1978.—259 p.
- (*Tympner K. D., Neuhans F.*) *Тимпнер К. Д., Нойхаус Ф.* Иммунологическая недостаточность у детей.—М.: Медицина, 1979, с. 207.

О Г Л А В Л Е Н И Е

Предисловие	3
Глава I. Определение иммунологии. Крупнейшие внедрения, история	6
Центральная задача иммунитета	8
История идей	10
Иммунная система и иммунологическая реактивность	14
Глава II. Антигены	17
Основные понятия	17
Структурные основы антигенной специфичности	21
Типы антигенной специфичности	28
Глава III. Антитела и антигеногенез	31
Феномены взаимодействия антиген-антитело	32
Специфичность и гетерогенность антител	39
Природа антител	43
Структура иммуноглобулинов	48
Аллотипы и идиотипы иммуноглобулинов	56
Динамика выработки антител	57
Синтез антител <i>in vitro</i> и гибридомы	62
Глава IV. Гиперчувствительность немедленного и замедленного типов	65
Анафилаксия и аллергия	66
Гиперчувствительность замедленного типа	74
Глава V. Иммунная система. Т- и В-лимфоциты	79
Центральные органы иммунной системы	79
Периферические (вторичные) лимфоидные органы	86
Генез и взаимодействие Т- и В-лимфоцитов	89
Общая характеристика Т- и В-лимфоцитов	94
Получение чистых популяций Т- и В-клеток	97
Циркуляция стволовых клеток и лимфоцитов в организме	99
Мононуклеарная фагоцититарная система	101
Глава VI. Субпопуляция лимфоцитов; рецепторы, антигены, маркеры	103
Специфические (узнающие) рецепторы	105
«Маркеры» лимфоцитов	108
Антигены и рецепторы Т-лимфоцитов	109
Антигены и рецепторы В-лимфоцитов	112
Субпопуляции лимфоцитов	114
Глава VII. Взаимодействие клеток в иммунном ответе	123
Трехклеточная схема кооперации	123
Двойное распознавание	128
Роль взаимодействия клеток при первичном и вторичном иммунном ответе	133
Иммунологическая память	133
Взаимодействие на уровне зрелых антителопродукторов	136
Взаимодействие лимфоцитов с кровяными стволовыми клетками	137
Антиидиотипические рецепторы и теория антиидиотипической сети	139
Глава VIII. Главный комплекс гистосовместимости	144
Комплекс H-2	144
Комплекс HLA	148
Глава IX. Основные феномены клеточного иммунитета	152
Адоптивный иммунитет	153
Трансфер-реакция	154

Реакция бласттрансформации в микст-культуре лимфоцитов . . .	157
Реакция Т- и В-лимфоцитов на митогены . . .	159
Цитопатогенное действие сенсibilизированных лимфоцитов (цитолитические Т-лимфоциты) . . .	160
Антителозависимый клеточный лизис . . .	164
Естественные киллеры (НК-клетки) . . .	164
Макрофагальная цитотоксичность . . .	165
Феномен инактивации несингенных стволовых клеток . . .	165
Глава X. Гормоны и медиаторы иммунной системы . . .	169
Фактор переноса . . .	176
Фактор, подавляющий миграцию макрофагов (МИФ) . . .	177
Гормоны вилочковой железы . . .	180
Стимулятор антителопродукторов (САП) . . .	182
Схема действия гормонов и медиаторов иммунной системы . . .	184
Глава XI. Иммунологическая толерантность . . .	185
Открытие толерантности . . .	185
Факторы, обуславливающие толерантность . . .	187
Индукция толерантности во взрослом состоянии . . .	190
Феномен Дрессера и низкодозовая толерантность . . .	191
Лекарственно-индуцированная толерантность . . .	192
Значение Т- и В-лимфоцитов в развитии толерантности . . .	193
Роль генотипа в индукции толерантности . . .	196
Отмена толерантности . . .	198
Глава XII. Генетический контроль иммунного ответа . . .	200
Структурные гены иммуноглобулинов . . .	202
Одна клетка — одно антитело . . .	203
Природа разнообразия антител . . .	206
Межлинейные различия антителогенеза . . .	209
Иммунный ответ на синтетические полиаминокислоты . . .	212
Анализ генетических факторов, участвующих в антителогенезе . . .	213
Генетический контроль реакций гиперчувствительности замедленного типа . . .	217
Конкретность иммунного ответа и фенотипическая коррекция . . .	218
Глава XIII. Трансплантационный иммунитет . . .	222
Основной феномен и его открытие . . .	222
Чистопородные животные . . .	225
Генетические законы совместимости тканей . . .	227
Локусы гистосовместимости и понятия гаплотип—фенотип . . .	230
Локализация трансплантационных антигенов . . .	233
Значение системы HLA при трансплантации органов . . .	234
Типирование гистосовместимости донора и реципиента . . .	236
Выработка антител после трансплантации . . .	238
Эффект усиления . . .	240
Аллогенная ингибция . . .	241
Механизмы отторжения трансплантата . . .	243
Глава XIV. Реакция трансплантат против хозяина . . .	244
Основной феномен . . .	244
Признаки болезни рант . . .	246
Количественная оценка реакции . . .	248
Условия и формы проявления реакции трансплантат против хозяина . . .	250
Интенсификация и отмена реакции трансплантат против хозяина . . .	253
Толерантность и реакция трансплантат против хозяина . . .	254
Моделирование направленности иммунологического конфликта . . .	255
Глава XV. Иммунология клеточного химеризма . . .	256
Радиационные химеры . . .	256
Методы идентификации клеточного химеризма . . .	261

Иммунологический статус радиационных химер	264
Аллофенные химеры	266
Глава XVI. Врожденные (первичные) иммунодефициты	267
Классификация иммунодефицитов	267
Врожденные дефекты фагоцитарной системы	276
Врожденные дефекты системы комплемента	278
Лечение Т- и В-иммунодефицитов	282
Глава XVII. Аутоиммунные расстройства и болезни иммунных комплексов	285
Аутоиммунные реакции и заболевания	285
Механизмы аутоиммунизации (гипотезы)	290
Диагностика и лечение аутоиммунных заболеваний	294
Моделирование аутоиммунных расстройств в эксперименте	299
Болезни иммунных комплексов и их моделирование	301
Глава XVIII. Противоопухолевый иммунитет	303
Опухолевые антигены	304
Формы иммунного ответа организма на опухоль	307
Причины неэффективности иммунного ответа	310
Иммунодиагностика и иммунотерапия опухолей	313
Глава XIX. Иммунный ответ при старении	316
Старение и кроветворные стволовые клетки	316
В-система (гуморальный иммунитет)	317
Т-система (клеточный иммунитет)	319
Взаимодействие Т- и В-лимфоцитов	321
Макрофагальная система	322
Аутоиммунные процессы	322
Глава XX. Клиническая иммунология	323
Задачи клинической иммунологии	323
Оценка В-системы иммунитета (гуморальный иммунитет)	326
Оценка Т-системы иммунитета (клеточный иммунитет)	329
Оценка субпопуляций лимфоцитов (Ts, Th, K, NK)	331
Гаммалатии	338
Глава XXI. Иммунотерапия и иммунокоррекция	341
Иммуносупрессивная терапия и вторичные иммунодефициты	342
Иммуностимуляция и принципы иммунокоррекции	347
Глава XXII. Теории иммунитета	350
Количественная характеристика популяции антителообразующих клеток	350
Теории иммунитета	354
Список литературы	364

Рэм Викторovich Петров

И М М У Н О Л О Г И Я

Зав. редакцией *С. Д. Крылов*. Редактор *В. М. Манько*. Редактор издательства *Е. И. Васютина*. Художественный редактор *Н. А. Гурова*. Технический редактор *З. А. Савельева*. Корректор *Т. Ф. Пащикова*.

ИБ № 3050

Сдано в набор 29.12.81. Подписано к печати 10.06.82. Т-02174. Формат бумаги 60×90¹/₁₆. Бумага книжно-журнальная. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 23,0. 23,0 усл. кр.-отт. Уч.-изд. л. 23,43. Тираж 100 000 экз. (2-й завод 50 001—100 000 экз.). Заказ 856. Цена 1 р.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина», Москва, Петровск-Риговский пер., 6/8.

Ярославский полиграфкомбинат Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 150014, Ярославль, ул. Свободы, 97.