

РОЗДІЛ 11. ІМУННА ВІДПОВІДЬ

Імунна відповідь – це реакція імунної системи на потрапляння у внутрішнє середовище організму чужорідного антигену, яка спрямована на його елімінацію. Вона здійснюється клітинами імунної системи (лімфо- та мієлоїдного походження) із залученням інших клітин організму (фібробластів, ендотеліальних клітин, кератино-, тромбо- та еритроцитів тощо), а також розчинних факторів (антитіл, білків гострої фази запалення, комплементу, цитокінів, хемотаксичних факторів тощо), здатних безпосередньо взаємодіяти з антигеном або регулювати функцію інших клітин.

Розрізняють природну та адаптивну ланки імунної відповіді: перша - реакція системи неспецифічного імунітету на потрапляння антигену (*запалення*), яка зумовлена лейкоцитами мієлоїдного ряду і низкою гуморальних факторів (білками гострої фази, комплементом), друга - реакція системи специфічного імунітету, яка зумовлена Т- і В-лімфоцитами та їх розчинними продуктами (антитілами і цитокінами). Кожну ланку імунної відповіді поділяють на *гуморальну* та *клітинну* залежно від типу ефекторних реакцій, спрямованих на елімінацію антигену.

Реакцію запалення без залучення специфічних механізмів можна спостерігати лише у перші години (4–10 год) після первинного потрапляння антигену до організму. Якщо за цей час не відбулося звільнення організму від антигену, то до боротьби з антигеном залучаються клітини специфічного захисту. Розвиток реакції системи специфічного імунітету значно стимулює реакцію системи природного імунітету, оскільки антитіла та Т-лімфоцити здатні підсилювати ефекторні функції лейкоцитів мієлоїдного ряду. У разі залучення специфічних механізмів до елімінації антигену в осередку запалення виникає *імунне запалення*.

Ймовірно, що за певних умов специфічна реакція на антиген може не супроводжуватися вираженим запальним процесом. Це може бути у випадку, коли організм уже зустрічався з цим антигеном і попередньо сформовані клітини пам'яті та антитіла можуть реагувати на наступне потрапляння антигену швидше, ніж розвинеться запальний процес. Специфічна реакція організму на потрапляння в його внутрішнє середовище чужорідних субстанцій здебільшого значно зменшує руйнівний потенціал факторів неспецифічного захисту щодо власних клітин організму. На думку деяких дослідників, специфічна реакція у більшості випадків є набагато безпечнішою для організму, ніж реакція системи природного імунітету, оскільки вона спрямована не лише на звільнення від чужорідних субстанцій, а й на зменшення запальних процесів в осередку проникнення патогену.

Реакцію запалення як прояв природного (неспецифічного) захисту було детально розглянуто в розд. 2, тому в цьому розділі основну увагу зосередимо на розвитку *адаптивної (специфічної) ланки імунної від-*

повіді (далі — просто імунної відповіді) на потрапляння антигену у внутрішнє середовище організму.

Стадії розвитку реакцій імунної системи. Реакцію системи неспецифічного захисту умовно можна поділити на реакцію, яка забезпечуються "локальними силами" природного захисту, що знаходяться у місці проникнення антигену, та реакцію, яка потребує додаткового залучення "допоміжних сил" з кровотоку. В першому випадку реакція включає три етапи: розпізнавання антигену (I етап), взаємодія факторів природного захисту з антигеном (II етап) та елімінація антигену (III етап). У другому випадку неспецифічна реакція складатиметься з таких етапів: розпізнавання антигену (I етап), формування осередку запалення та залучення додаткових лейкоцитів у осередок запалення (II етап), активація лейкоцитів під час взаємодії з антигеном (III етап) та елімінація антигену (IV етап).

Специфічна реакція на антиген складається з більшого ряду послідовних етапів: транспортування антигену в лімфоїдні органи (I етап), розпізнавання антигену лімфоцитами та активація (II етап), проліферація і клональна експансія цих лімфоцитів (III етап), диференціювання активованих антигеном клітин, кількість яких збільшилася внаслідок проліферації (IV етап), утворення ефекторних клітин та розвиток реакцій за їх участю (V етап). Тому умовно імунну відповідь можна поділити на *індуктивну* (I і II етапи), *продуктивну* (III і IV етапи) й *ефекторну* (V етап) фази. Вдалим завершенням специфічної реакції є повна елімінація антигену з організму.

Отже, імунна відповідь є наслідком метаболічних процесів, що відбуваються в лімфоїдній тканині переважно на рівні АПК та лімфоцитів після активації останніх антигеном, і завершується утворенням ефекторних факторів, що характеризуються суворою реактивністю щодо антигену. Процеси, які супроводжують розвиток імунної відповіді, — процесинг і розпізнавання антигену, активація, проліферація, диференціювання лімфоцитів з утворенням ефекторних клітин і молекул, а також індукований унаслідок активації апоптоз — детально описано в розд. 6, 7, 10. В цьому розділі розглянемо умови індукції, закономірності розвитку та регуляції імунної відповіді, механізми реалізації ефекторних функцій клітинами і молекулами, ефекторні реакції імунітету.

I мунна відповідь розвивається за участю лімфоцитів та допоміжних клітин у спеціалізованій лімфоїдній тканині, об'єднаних у єдину лімфоїдну систему. Лімфоїдна система забезпечує концентрування антигену у вторинних лімфоїдних органах і рециркуляцію лімфоцитів між цими органами. Завдяки цьому створюється оптимальна можливість для кожного антигенспецифічного лімфоцита знайти антиген-презентувальну клітину, яка представляє відповідний антиген.

Шляхи проникнення антигенів в організм. Від шляху потрапляння антигену в організм залежить перебіг імунної відповіді та роз-

виток необхідних ефекторних реакцій, спрямованих на елімінацію цього антигену. Теоретично можна розмежувати два основні шляхи появи чужорідного антигену в організмі: "виникнення антигену" у внутрішньому середовищі організму і потрапляння антигену із зовнішнього середовища (*ендо-* та *екзогенне* походження антигену).

Ендогенне походження антигену. Зрозуміло, що антиген або чужорідна щодо певного організму речовина може "несподівано" з'явитися в середовищі організму навіть без пошкодження зовнішніх покривів унаслідок мутацій, індукованих радіаційним опроміненням або хімічними речовинами, або відповідних метаболічних змін у життєдіяльності клітин організму. Часто ефект таких впливів може бути кумулятивним, наприклад, підчас накопичення радіонуклідів або іонів важких металів в організмі. Мутаційні зміни в геномі клітин організму можуть супроводжуватися змінами антигенності власних білків, які кодуються мутантними генами. Наприклад, зміни лише однієї амінокислоти (глутаміну) в структурі білка нейронних кальцієвих каналів P/Q-типу внаслідок мутаційних процесів перетворюють його на генетично чужорідний білок і зумовлюють розвиток специфічної імунної відповіді проти такого зміненого білка, що є причиною аутоімунного захворювання – міастенії Ламберта-Ітона.

Джерелом ендогенних антигенів може бути спонтанна активація латентної вірусної інфекції, зумовленої вірусом, який перебував в організмі у неактивній формі у ядрі або навіть вбудованим у ДНК хазяїна. Прикладом можуть бути вірус герпесу, Епштейн-Барр, а також ряд ретровірусів, які можуть потрапляти в організм дитини внаслідок вертикального перенесення від батьків і тривалий час перебувати в неактивному стані. Вважають, що клітини імунної системи, переважно НК-клітини та ЦТЛ, виконують функцію *імунного нагляду* в організмі, запобігаючи розвитку хвороб, пов'язаних із активацією ендогенних вірусних інфекцій.

Екзогенне походження антигенів. Проникнення антигенів ззовні до внутрішнього середовища макроорганізму може бути двох типів: "примусовим" та фізіологічним.

"Примусове" проникнення антигенів супроводжується порушенням цілісності зовнішніх покривів організму (шкіри і слизових), яке може бути наслідком травм, опіків, порізів тощо, а також парентерального введення вакцинних препаратів або імунізації тварин в експерименті. Іноді деякі комахи також здатні сприяти "примусовому" введенню (внаслідок укусів) антигенів патогенних мікробів в організм хазяїна.

Однак антигени проникають до внутрішнього середовища організму і без руйнування поверхні епітелію. Це фізіологічне проникнення антигенів є найцікавішим і ще недостатньо вивчене.

Джерелом антигенів можуть бути компоненти їжі та представники нормальної мікрофлори. З'ясувалося, що в організмі є "ворота" для постійного проникнення антигену в організм – так звані *M-клітини* -

різновид епітеліальних клітин слизових оболонок (див. розд. 1). У разі небажаного збігу обставин ці самі ворота для антигену можуть стати "воротами інфекції", але в нормі вони виконують дуже важливу функцію – сприяють стимуляції імунної системи.

Найбільше М-клітин у тонкій кишці (в ділянках розміщення пейєрових бляшок), де вони локалізуються між ентероцитами – клітинами, що поглинають розщеплені низькомолекулярні компоненти їжі.

Конститутивною функцією М-клітин є транспортування корпускулярних антигенів (бактерій, вірусів, яєць гельмінтів тощо) з просвіту кишок до внутрішнього середовища організму. Отже, імунна система сама себе постійно імунізує незначними дозами всіх антигенів, які потенційно можуть бути небезпечними для організму. Відбувається "*природна вакцинація*" організму.

Під час імунізації тварин було з'ясовано, що найсильнішу імунну відповідь на антиген можна очікувати після його введення з ад'ювантом під шкіру або в шкіру, імунізація внутрішньом'язова або внутрішньочеревна також достатньо ефективна, а от введення антигену безпосередньо в кров іноді може призводити навіть до специфічної супресії імунної відповіді на цей самий антиген. Крім того, інтраназальне та пероральне введення антигенів, як правило, супроводжується формуванням толерантності, але в деяких випадках може зумовити імунну відповідь (переважно синтез IgA). Основою цих явищ є розпізнавання антигену різними типами АПК і відповідь різних лімфоїдних органів на потрапляння антигену різними шляхами.

Після потрапляння антигену через шкіру, як правило, імунна відповідь розвивається в регіонарних лімфовузлах, куди антиген зі шкіри доставляють КЛ. У разі потрапляння антигену через слизові імунна відповідь може розвиватися безпосередньо в лімфоїдній тканині слизових оболонок або в регіонарних (мезентеріальних) лімфовузлах. Потрапляння антигену в кров під час генералізованої інфекції, бактеріємії або токсинемії супроводжується залученням до імунної відповіді селезінки і за потреби – інших вторинних лімфоїдних органів та утворів.

Персистенція антигенів. За деяких умов антиген може досить довго перебувати у внутрішньому середовищі організму, незважаючи на достатній розвиток імунної відповіді проти нього. Таке перебування антигену в організмі називають *персистенцією антигену*. Вважають, що персистенція антигену має велике значення для підтримання імунної пам'яті на цей антиген та для довготривалого існування специфічних до нього клітин пам'яті. Основним місцем, де антиген може достатньо довго зберігатися в організмі, є лімфоїдні фолікули. В них антиген міститься переважно в адсорбованому стані на поверхні фолікулярних дендритних клітин.

11.1. ІНІЦЮВАННЯ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ

Спосіб і шлях потрапляння антигену в організм визначають подальший розвиток імунних реакцій, спрямованих на його виведення. Важливою умовою для розвитку первинної імунної відповіді на появу антигену, як уже зазначалося, є розвиток місцевої реакції запалення. Саме реакція запалення є пусковим механізмом для розвитку специфічної ланки імунної відповіді. Здебільшого, якщо не завжди, без попереднього розвитку процесу запалення – формування специфічної реакції стає неможливим.

Місцева запальна реакція у зоні проникнення антигену чи його носіїв – інфекційних агентів — індукується субстанціями мікробних клітин та продуктами їх життєдіяльності мікроорганізмів, а також компонентами пошкоджених тканин. Розвиток реакції супроводжується активацією комплементу та деяких клітин (резидентних макрофагів, мастоцитів, фібробластів, епітеліоцитів тощо), вивільненням великої кількості "крім того вивільнюється велика кількість" біологічно активних речовин з прозапальною і хемотаксичною дією. Ці речовини зумовляють підвищення проникності судин та міграцію з крові в осередок запалення спочатку нейтрофілів (клітин гострого запалення), а потім моноцитів і лімфоцитів (клітин хронічного запалення) (див. розд. 2).

В осередку запалення моноцити, що диференціюються у макрофаги, здійснюють фагоцитоз антигену та апоптичних тілець, що залишилися від загиблих нейтрофілів, і продукують цитокіни, потрібні для подальшого розвитку запалення й індукування специфічних імунних реакцій. В активації специфічної ланки імунної відповіді беруть участь як цитокіни, так процесовані антигени — продукти клітин, що були задіяні в реакції запалення.

Умова розвитку імунної відповіді – проникнення антигену в лімфоїдний орган. Якщо антиген не був повністю елімінований з осередку проникнення в результаті місцевої реакції та розвитку запальних процесів, частина антигенного матеріалу може потрапити до лімфоїдних тканин, де і починається розвиток специфічної реакції. Відомо, що специфічна реакція може індукуватися лише в спеціалізованій лімфоїдній тканині, зокрема у вторинних лімфоїдних органах, де забезпечуються оптимальні умови для розпізнавання антигену специфічними рецепторами Т-лімфоцитів.

Вважають, що серед наївних Т- і В- лімфоцитів лише незначна частина (не більше 0,001%) мають рецептори, специфічні до одного певного антигену. Тому ймовірність "зустрічі" відповідних Т- і В-лімфоцитів, що розпізнали один і той самий антиген, дуже невелика (менша за $1 \cdot 10^{-8}$). Отже, для їх зустрічі необхідні численні контакти між різними лімфоцитами, які стають можливими лише за певних умов у разі підвищення рециркуляції через лімфоїдні органи, в які потрапив антиген.

Шляхи потрапляння антигену у вторинні лімфоїдні органи.

Залежно від типу антигену, його кількості та місця проникнення в організм він потрапляє в лімфоїдні органи різними шляхами. Антиген може потрапляти до вторинних лімфоїдних органів як *пасивним транспортуванням* — з течією крові, лімфи, тканинної рідини, так і *активним* цілеспрямованим транспортуванням за допомогою антиген-презентувальних клітин.

У випадку пасивного транспорту антигени потрапляють у лімфоїдні органи у нативному вигляді, а за активного транспортування - у переробленому вигляді (у формі комплексів з молекулами МНС на поверхні АПК). Нативні антигени часто перебувають не у вільному стані, а у формі імунних комплексів з антитілами та деякими компонентами комплементу. Імунні комплекси адсорбуються на поверхні певних клітин за допомогою FcR (Fc-рецепторів) та CR (рецепторів до комплементу), що може призводити до подальшого їх фагоцитозу та розщеплення на фрагменти, які також знаходитимуться разом з МНС на поверхні фагоцитарних клітин (наприклад, макрофагів крайової зони селезінки). Фолікулярні дендритні клітини (ФДК), які не здатні до фагоцитозу, концентрують антиген на своїй мембрані (на FcR та CR), де він може зберігатися досить тривалий час (навіть кілька років). Отже, у вторинних лімфоїдних органах антиген може бути як у нативному вигляді (імунні комплекси на поверхні ФДК), так і у вигляді пептидних фрагментів у комплексі з молекулами МНС (на поверхні ІДК, макрофагів та В-клітин).

Активно транспортувати антиген до лімфоїдних органів здатні В-клітини та ДК. Причому В-клітини, на відміну від ДК, можуть зв'язувати антиген не лише на периферії, а й у лімфоїдних органах, після чого відбувається процесинг і презентація цього антигену. ДК зв'язують антиген лише на периферії, а в лімфоїдному органі відбувається презентація поглинутого раніше і процесованого антигену.

Резидентні макрофаги лімфоїдних органів, як вважають, поглинають і представляють лише ті антигени, які у вільному стані або у формі імунних комплексів потрапляють до лімфоїдного органа (це стосується насамперед корпускулярних антигенів, що циркулюють у крові). Макрофаги інших тканин не можуть транспортувати антигени з периферії у лімфоїдний орган, тобто не здатні до активного транспортування антигенів.

Розглянемо активне транспортування антигенів у вторинні лімфоїдні органи на прикладі ДК після потраплення антигену через шкіру та роль різних типів АПК в розпізнаванні та презентації антигенів.

Презентація антигену різними типами АПК. Залежно від місця проникнення антигену, лімфоїдного органа, характеру та хімічної структури антигену в його розпізнаванні й презентації беруть участь різні АПК.

Презентація антигену, що проник через шкіру, здійснюється ДК. Попередники ДК - клітини Лангерганса (КЛ) знаходяться в шкірі (див.

розд. 1). Розміщені в шкірі, КЛ постійно поглинають позаклітинну рідину з навколишнього середовища (процес називають *макропіноцитозом*), захоплюють антигени з рідини і презентують після процесингу їхні пептидні фрагменти з молекулами МНС II лімфоцитам. Однак достатня кількість молекул МНС II на поверхні з'являється лише після того, як КЛ буде активована та емігрує зі шкіри у вторинні лімфоїдні органи, де перетворюється на ДК. Лише у такому разі ДК можуть активувати наївні Т-лімфоцити та ініціювати імунну відповідь. Отже, активація КЛ є ключовим моментом, який запускає первинну імунну відповідь після проникнення антигену через шкіру.

Головною умовою активації КЛ є наявність процесу локального запалення, яке може бути спричинене як безпосередньою дією чужоріdnих мікробних субстанцій на рецептори цих клітин, так і дією прозапальних речовин, що виділяються клітинним мікрооточенням. Вважають, що особливо стимулює активацію КЛ контакт із Т-хелперами, навіть з наївними.

Після активації у клітині Лангерганса відбуваються важливі зміни.

1. Поступово припиняється процес поглинання речовин із навколишнього середовища, а всі антигени, які були поглинуті за цей період, накопичуються у процесованому вигляді в МПС-компартменті.

2. Протеасома повністю заміщується імунопротеасомою, внаслідок чого збільшується ефективність презентації вірусних білків.

3. Створюються умови для *перехресної презентації* поглинутих антигенів разом як з МНС II, так і з МНС I, очевидно, завдяки транспортуванню в цитозоль пептидних фрагментів антигенів з ендосомального компартменту.

Після цього КЛ "знімається з місця" і мігрує в найближчий лімфовузол з течією аферентної лімфи, перетворюючись під час міграції в лімфі на вуалеподібну клітину. Напрямок міграції переважно визначає хемокин CCL21 (SLC - від англ. *secondary lymphoid chemokine* - хемокин вторинних лімфоїдних органів). Потрапляючи до лімфовузла, вуалеподібна клітина мігрує в Т-залежну паракортикальну зону, де перетворюється на ІДК. При цьому в ІДК відбуваються важливі метаболічні й морфологічні зміни:

- значно збільшується площа поверхні плазматичної мембрани, як вважають, за рахунок цитоплазматичного ламелярного пулу;

- різко збільшується експресія на поверхні попередньо синтезованих молекул МНС I та МНС II у комплексі з антигенними пептидами переважно екзогенного походження;

- майже повністю втрачається здатність поглинати і представляти інші антигени;

- підвищується здатність утворювати міжклітинні контакти завдяки активації інтегрину LFA-1 та збільшення експресії ICAM-1 та ICAM-2;

- збільшується експресія костимуляторних молекул B7.1 та B7.2

на поверхні, а також секреція прозапальних цитокінів - ІЛ-1, ІЛ-8, ФНП тощо.

У такому стані ІДК стають ідеальними АПК, оскільки забезпечують високу щільність молекул МНС та достатню кількість коstimуляторних молекул на своїй поверхні. Саме ІДК є найважливішими стимуляторами активації Т-клітин, особливо під час первинної імунної відповіді, зокрема на антигени, що проникають через шкіру.

Вважають, що у разі проникнення антигену через слизові оболонки головну роль у його розпізнаванні та презентації, відіграють В-лімфоцити і ДК, які знаходяться в слизових під епітелієм (у власній пластинці). ДК слизових на відміну від КЛ після активації можуть не емігрувати з них, а реалізувати функцію презентації антигену в місцях постійної локалізації, хоча частина ДК і В-лімфоцитів слизових, мабуть, все-таки мігрує в регіонарні лімфовузли, що зумовлює системність імунної відповіді.

У селезінку антиген переважно потрапляє з течією крові, тому основну функцію первинного розпізнавання і захоплення антигену в цьому органі відіграють макрофаги крайової зони, які вловлюють корпускулярні антигени та імунні комплекси й презентують їх пептидні фрагменти на своїй поверхні. В селезінці є також місцеві ДК, які вловлюють антигени менших розмірів із кровотоку і представляють їх. Можливо, функцію презентації антигену в селезінці можуть виконувати також В-лімфоцити, особливо ті, які були попередньо активовані Т-хелперами. Якому типу АПК належить головна роль у стимуляції імунної відповіді в селезінці, остаточно ще не з'ясовано.

Макрофаги тканин і місцеві макрофаги лімфовузлів, як правило, не так активно представляють антиген для стимуляції наївних Т-клітин, оскільки вони виконують у цих органах скоріше функцію "санітарів", звільняючи їх від апоптичних тілець, детриту та іншого "сміття".

Головною функцією різних типів АПК, що презентують антиген у вторинних лімфоїдних органах, є активація Т-лімфоцитів, особливо Т-хелперів, які відіграють основну роль в ініціації та регуляції імунної відповіді. Реалізація цієї функції можлива лише за умови забезпечення контакту Т-хелперів з АПК. Оскільки в популяції лімфоцитів кількість Т-клітин, специфічних до кожного індивідуального антигену, є незначною, можливість здійснення активації досягається уловлюванням клонів антигенспецифічних Т-клітин у місцях локалізації АПК. Цей процес чітко простежується в регіонарних лімфовузлах, де роль АПК виконують ІДК.

Уловлювання клонів Т-клітин у лімфоїдних органах. Після того як "навантажена" антигеном вуалеподібна клітина потрапляє у Т-клітинну зону вторинного лімфоїдного органа, в ньому починається процес, відомий як "уловлювання клонів Т-клітин". Суть цього явища полягає у збільшенні рециркуляції лімфоцитів через лімфоїдний ор-

ган, внаслідок чого підвищується ймовірність специфічного розпізнавання наївними Т-лімфоцитами антигенного пептиду, що знаходиться на ІДК. Відомо, що важливу роль при цьому відіграє синтез ДК прозапальних цитокінів ІЛ-1, ІЛ-8, ФНП та певних хемокінів, після чого змінюється експресія адгезивних молекул на венулах з високим ендотелієм (ВЕВ), що проходять через вторинні лімфоїдні органи, а також підвищення проникності ВЕВ.

Після потрапляння активованої АПК у лімфоїдний орган спостерігається "арешт" антигенспецифічних лімфоцитів. Експериментально встановлено, що за дві доби після введення антигену в певний лімфатичний вузол у ньому можуть зосередитися всі антигенспецифічні Т-лімфоцити, які вилучаються з циркуляції. "Арештовані" в лімфовузлах та інших лімфоїдних органах Т-лімфоцити активуються локалізованими в них АПК.

Активація антигенспецифічних лімфоцитів за участю АПК.

Для активації Т-лімфоцитів на поверхні АПК має бути представлена достатня кількість молекул МНС II з відповідним антигенним пептидом, а також костимуляторні молекули (В7.1/7.2 та ін.), тобто АПК має бути повністю активованою. Контакт АПК з Т-клітинами відбувається в Т-зонах вторинних лімфоїдних органів, куди Т-клітини потрапляють унаслідок процесу рециркуляції. Наївні Т-лімфоцити розпізнають активовані АПК і встановлюють контакт з ними за допомогою взаємодії на їхній поверхні з інтегрином LFA-1, лігандом якого є лімфоцитарна молекула ICAM-1. На активованих АПК і Т-клітинах інтегрин LFA-1 експресується у "відкритій" конформації, а на наївних - у "закритій", тоді як його ліганд ICAM-1 наявний в однаковому стані як на наївних, так і на активованих клітинах. Тому контакт між двома неактивованими клітинами є, як правило, слабкішим або зовсім неможливим.

Під час активації наївного Т-хелпера активована АПК надає йому антигенспецифічний сигнал за допомогою молекул МНС II з пептидами, а також костимуляторний сигнал за допомогою молекул В7.1/7.2. Антигенспецифічний сигнал сприймається ТкР Т-хелпера, а костимуляторний - молекулою CD28, що конститутивно наявна на мембрані наївного Т-лімфоцита. Обидва сигнали забезпечують достатній рівень активації Т-хелпера, що супроводжується підвищенням рівня секреції ІЛ-2 та експресії α -субодиниці високоафінного рецептора для цього інтерлейкіну (CD25). Далі аутокринна секреція Т-клітиною ІЛ-2 забезпечує наступний етап активації та проходження клітинного циклу. Активованій Т-лімфоцит набуває ознак, потрібних для виконання його ефекторних функцій:

- здатності продукувати деякі з цитокінів: ІЛ-2, -4, -5, -6, -7, -10, -12, ТФР, ФНП, ІФН тощо, які необхідні для активації інших клітин;
- здатності експресувати костимуляторну молекулу CD40L, що

необхідна для активації наївних АПК через взаємодію з рецептором CD40;

- здатності взаємодіяти з неактивованими АПК завдяки переходу експресованого на його поверхні LFA-1 у "відкриту" конформацію.

Отже, під час взаємодії Т-хелперів з АПК одна клітина може активувати іншу, якщо вона сама активована. *Первинна імунна відповідь, за якої в організмі відсутні активовані АПК та активовані Т-хелпери, запускається за допомогою ДК, що активувалися в зоні локального запалення.*

Активовані на АПК Т-хелпери проліферують (кількість їх збільшується), диференціюються і починають виходити з лімфатичного вузла (лімфоїдного органа) на четверту добу після потрапляння антигену в організм. Залежно від умов активації диференціювання Т-хелперів відбувається на Тх1 або Тх2.

Диференціювання Т-хелперів, умови й особливості. Гуморальний і клітинний типи імунної відповіді взаємопов'язані, проте існують механізми, що зумовлюють їх поляризацію та деяку автономність. Центральна роль в індукції імунної відповіді того чи іншого типу належить різним субпопуляціям Т-хелперів, що беруть участь в імунних реакціях: Тх1 беруть участь в активації реакцій клітинного типу, а Тх2 - гуморального.

Тх1 і Тх2 відрізняються за набором цитокінів, які вони синтезують. Цей процес називають поляризацією Т-хелперів за цитокіновим профілем. Спочатку наївні Т-клітини (пре-Тх), активуючись на АПК, перетворюються на Тх0 і продукують лише ІЛ-2, після кількох поділів — ІЛ-4 та ІФН- γ , а після диференціювання на Тх1 і Тх2 — характерний для них набір цитокінів.

Тх1 продукують ІЛ-2, ІФН- γ і ФНП- α , а Тх2 - ІЛ-4, -5, -6, -10, -13. Слід зазначити, що ІЛ-2, -12 і ІФН- γ важливі для активації попередників ЦТЛ, а ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10 - для активації В-клітин та переключення синтезу ізотипів антитіл.

Тх1 та Тх2 різняться також за спектром чутливості до хемокінів. Тх2 експресують хемокінові рецептори CCR3, CCR4 та CCR8, а Тх1 — експресують переважно CCR5 та CXCR3. Це може пояснювати переважну акумуляцію Тх1 у зоні запалення під час багатьох гострих і хронічних запальних процесів та акумуляцію Тх2 у зоні алергічного запалення дихальних шляхів, шкіри й тканин слизових оболонок.

Напрямок диференціювання Т-хелперів визначають різні фактори: умови локального мікрооточення, особливості АПК, кількість антигену, наявність певних цитокінів тощо. Так, показано, що ІДК, які потрапили в лімфовузол зі шкіри, активують насамперед Тх, а ДК слизових — Тх2. На активованих В-клітинах активуються переважно Тх2, а на макрофагах - Тх1. Висока щільність антигенів на поверхні АПК або висока афінність їхньої взаємодії з ТкР призводить до переважно-

го утворення Тх, а низька щільність і афінність — до утворення Тх2. Локальне продукування цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-5 НКТ-клітинами та мастоцитами в лімфоїдній тканині слизових підсилює продукування Тх2, а синтез ІФН-γ макрофагами або НК-клітинами в лімфовузлах зміщує рівновагу в бік утворення Тх1.

Популяції Тх1 і Тх2 перебувають в антагоністичних взаємовідносинах, оскільки ІФН-γ (продукт Тх1) може пригнічувати утворення Тх2, а ІЛ-10 (продукт Тх2) – утворення Тх1. Схему розвитку і взаємного впливу субпопуляцій Т-хелперів наведено на рис. 69.

Молекулярні механізми, що зумовляють диференціювання Т-хелперів у тому чи іншому напрямі, було розглянуто у розд. 10.

Слід зазначити, що в "чистому вигляді" поляризацію Т-хелперів на Тх1 і Тх2 можна спостерігати лише у мишей і лише у відповідь на певні антигени. Зазвичай процес активації Т-хелперів супроводжується їх диференціюванням на Т-клітини, які мають "змішаний" фенотип, тобто експресують певні цитокіни як Тх1-, так і Тх2-ряду. Тому у відповідь на потрапляння антигену розвиваються як клітинні, так і гуморальні реакції імунітету (рис. 70). Однак у кожному випадку провідна роль в елімінації антигену належить одній з двох імунних реакцій. Розвиток клітинної чи гуморальної імунної відповіді визначається сукупністю факторів, серед яких головним є сам антиген, його характер та особливості хімічної структури, а також шляхи надходження його в організм. Розглянемо, як відбувається розвиток імунної відповіді при проникненні інфекційних агентів через слизові оболонки та шкіру.

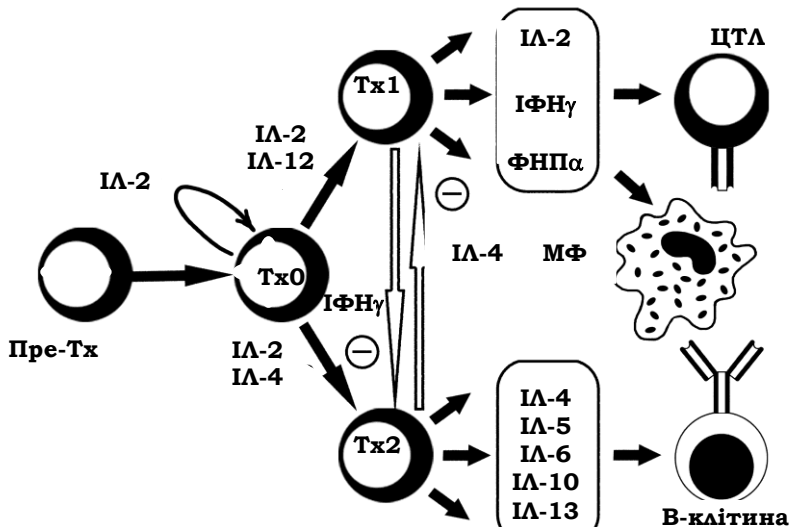


Рис. 69. Схема розвитку і взаємного впливу субпопуляцій Т-хелперів

Імунна відповідь у слизових оболонках та шкірі. Елімінація патогенних мікроорганізмів, що надходять у слизові оболонки, забезпечується переважно розвитком гуморальної імунної відповіді з продукуванням секреторних IgA. У пейєрових бляшках (нижче епітелію купола бляшки) та інших фолікулярних структурах, куди потрапляє антиген з поверхні епітелію, відбувається праймування наївних Т- і В-лімфоцитів, активація, проліферація та детермінація шляхів наступного їх диференціювання. Продуковані клітинами мікрооточення цитокіни спрямовують диференціювання CD4 Т-клітин у Тх2 та Тх3 і переключення синтезу імуноглобулінів В-лімфоцитами з IgM-ізотипу на IgA-ізотип. Переключення ізотипу антитіл, вірогідно, індукуює ТФР- β , що продукується Тх3. Так іноді називають субпопуляцію Т-хелперів, що локалізуються в слизових, продукують крім ТФР- β також ІЛ-4 та ІЛ-10 і є важливими для стимуляції утворення IgA-антитіл В-лімфоцитами слизових. Праймовані Т- і В-лімфоцити виходять з пейєрової бляшки, входять через аферентну лімфоїдну судинну в регіональній мезентеріальний лімфовузол, звідки через грудину протоку потрапляють у кров'яне русло, а з кров'ю - в селезінку, де затримуються на кілька діб (упродовж яких триває їх диференціювання), після чого вони знову повертаються у слизову оболонку (рис. 81).

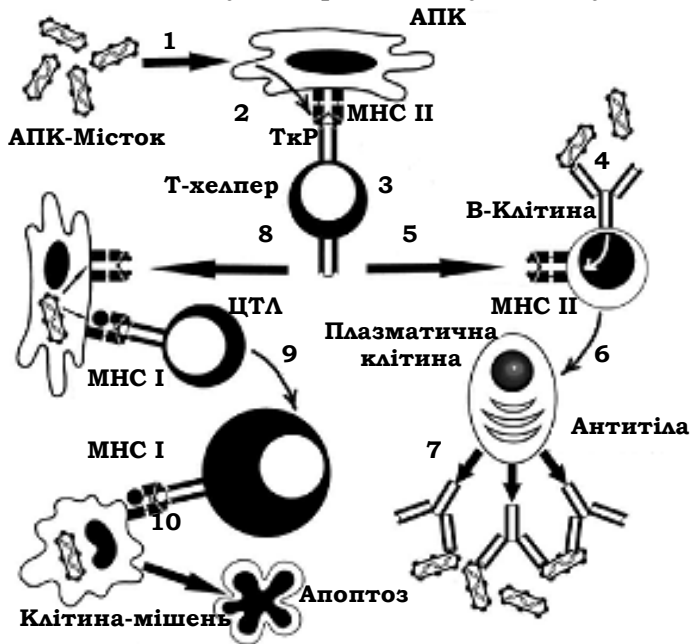


Рис. 70. Загальна схема розвитку клітинної і гуморальної імунної відповіді: 1 - захоплення чужорідного антигену APK; 2 - презентація на APK антигенного пептиду (АгП) у комплексі з МНС II; 3 - розпізнавання Т-хелпером на APK комплексу МНС II + АгП та його активація; 4 - розпізнавання чужорідного антигену імуноглобуліновим рецептором В-клітини і презентація В-клітиною антигенного пептиду в ком-

плексі з МНС II; 5 - розпізнавання активованим Т-хелпером на В-клітині АгП в комплексі з МНС II; 6 - активація В-клітини і диференціювання її в плазматичну клітину; 7 - синтез плазматичною клітиною специфічних антитіл; 8 - розпізнавання активованим Т-хелпером на АПК-містку АгП в комплексі з МНС II, активація цієї АПК та розпізнавання ЦТА на АПК-містку АгП в комплексі з МНС I; 9 - активація ЦТА; 10 - знищення активованим ЦТА клітини-мішені

У власній пластинці IgA⁺В-клітини отримують додаткові стимули, що активують термінальну стадію диференціювання їх на IgA-плазматичні клітини і підсилюють синтез IgA. Основними факторами, що стимулюють диференціювання IgA⁺В-клітин на плазмоцити, є ІЛ-4, ІЛ-5 та ІЛ-6, джерелом яких є Тх2 (останні переважають серед домінуючих у власній пластинці CD4Т-клітин). ІЛ-4 і ІЛ-5 можуть секретуватися також Тх3 та мастоцитами. Найпотужнішим індуктором синтезу IgA, як вважають, є ІЛ-6, який діє синергічно з ІЛ-5. Встановлено, що тільки IgA⁺ В-клітини (всі без винятку) кишок людини експресують високий рівень рецепторів для ІЛ-6. Внесок цього цитокіну в антитілогенез у слизових оболонках може бути досить істотним, якщо брати до уваги, що продуцентами його, крім Тх2, є різні типи клітин (моноцити, макрофаги, фібробласти, ендотеліоцити), а одним з найсильніших індукторів його синтезу є бактеріальний ліпополісахарид (ЛПС), постійним джерелом якого є мікрофлора слизових оболонок. Встановлено, що після внутрішньовенного введення ЛПС уже через 2 год рівень ІЛ-6 у сироватці крові підвищується на три порядки (у 1000 разів).

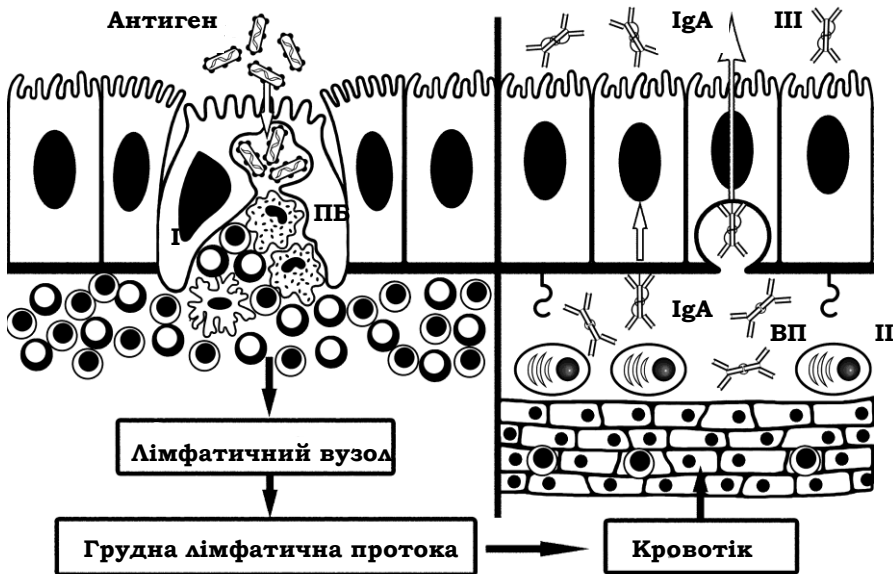


Рис. 71. Розвиток імунної відповіді в слизових оболонках: ПБ -

пейєрова бляшка; ВП - власна пластинка слизової оболонки; I - індуктивна, II - продуктивна, III - ефекторна фази імунної відповіді

Локалізовані у *Lamina propria* плазматичні клітини синтезують IgA у димерній формі у вигляді двох молекул, що з'єднані між собою J-ланцюгом. Цей димер зв'язується на базолатеральній поверхні епітеліальної клітини синтезованим нею полі-Ig-рецептором (pIgR). Утворений комплекс - димерний IgA - pIgR потрапляє внаслідок ендоцитозу в епітеліальну клітину, упаковується в цитоплазматичну везикулу (залишаючись зв'язаним з її мембраною за допомогою pIgR) і переноситься в ній через клітину до її апікальної поверхні. Тут транспортні везикули зливаються з плазматичною мембраною епітеліальної клітини, а pIgR розщеплюється за допомогою спеціального ферменту на дві частини: одна з них залишається зв'язаною з мембраною, а інша - з Fc-фрагментом IgA та функціонує як секреторний компонент. Останній запобігає розщепленню sIgA протеолітичними ферментами.

Проникнення і персистенція в шкірі певних патогенів (зокрема, внутрішньоклітинних паразитів) переважно індукує клітинні імунні реакції - реакцію ГСТ та реакцію цитотоксичних Т-лімфоцитів, які зумовляють елімінацію або ізоляцію збудника (рис. 72).

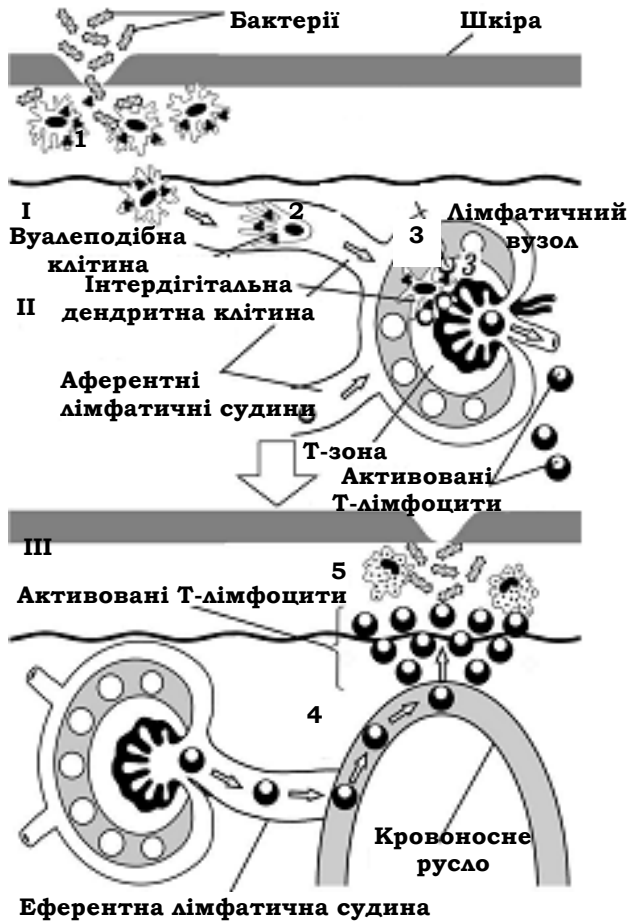


Рис. 72. Розвиток імунної відповіді в шкірі: 1 - зустріч у шкірі клітин Лангерганса з чужорідним антигеном, його захоплення і експонування на своїй поверхні в комплексі з МНС; 2 - міграція у лімфатичний вузол КЛ, що транспортують чужорідний антиген і мають форму вуалеподібних клітин; 3 - індукування КЛ (інтердигітальними дендритними клітинами) у лімфовузі активзації, проліферації та диференціювання наївних Т-лімфоцитів; 4 - міграція активованих Т-клітин з кров'ю до шкіри; 5 - вихід ефektorних Т-клітин з кров'яного русла в осередок западення та активация ними макрофагів, що нейтралізують чужорідний агент; I, II, III - фази імунної відповіді (див. рис. 81)

Важливу роль у розвитку захисних реакцій у шкірі відіграють активовані кератиноцити, які продукують різні цитокіни, що запускають процеси активзації та міграції у клітинах імунної системи. Завдяки індукованій міграції клітин основні компоненти асоційованої зі шкірою лімфоїдної тканини формують функціональний комплекс, що забезпечує умови для розвитку імунної відповіді. При різні фази імунної відповіді здійснюються цьому в певних місцях. В епідермісі відбувається сприйняття антигенного сигналу клітинами Лангерганса, які, активуючись цитокінами, продукованими кератиноцитами, міг-

рують у лімфовузлах, де, перетворившись на ІДК, реалізують антиген-презентувальну функцію та запускають індуктивні імунні механізми і утворення ефекторних клітин Тх1 і (або) ЦТЛ. Ефекторна фаза імунної відповіді розвивається в шкірі (у дермі, менше в епідермісі), куди мігрують Тх1 і ЦТЛ крізь високий ендотелій в осередку запалення. Тут Тх1 виконують ефекторні функції в реакції ГСТ, а ЦТЛ - у цитотоксичній реакції.

Розглянемо закономірності й механізми розвитку клітинної та гуморальної імунної відповіді.

11.2. РЕАКЦІЇ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ

Клітинний імунітет здійснюється сенсibiliзованими (імунними) Т-лімфоцитами проти клітин, які містять на своїй поверхні вірусні або мікробні антигени, алоантигени, специфічні пухлинні антигени. Це імунітет, що здійснюється клітинами проти клітин, тобто реакції клітин імунної системи проти клітин мікробів, трансплантатів, пухлин. Унаслідок клітинних реакцій відбувається елімінація патогенних мікробів, що проникли в організм, деструкція пухлинної тканини, відторгнення трансплантата.

Вперше прояви антигенспецифічної клітинної реактивності (у вигляді індукованих туберкульозом місцевих шкірних реакцій у хворих на туберкульоз) спостерігав і описав Р. Кох у 1890 р. Однак лише через півстоліття було доведено, що цей вид реактивності має імунну природу та клітинну основу, і, отже, було обґрунтовано існування специфічного імунітету клітинного типу, а механізми клітинного імунітету та форми його прояву з'ясовані лише у другій половині ХХ ст.

Існує два типи специфічних імунних клітинних реакцій: *цитотоксична реакція Т-лімфоцитів* та реакція гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ). Ці реакції різняться за ефекторними механізмами, що спрямовані на елімінацію клітин, на поверхні яких експресуються чужорідні антигени. Основою механізмів цитотоксичної реакції є індукування та реалізація цитотоксичної функції Т-кілерів, що знищують інфіковані чи злоякісно трансформовані клітини. У механізмах реакції ГСТ основна роль належить активації продуктами Т-хелперів інфікованих макрофагів, які знищують локалізовані у них патогени.

Залучення макрофагів чи Т-кілерів для знищення того чи іншого внутрішньоклітинного патогену визначається його біологічними властивостями, особливостями паразитизму, локалізацією в клітині та певною мірою типом інфікованої клітини, тобто механізмом процесингу його антигенів. Часто за патологічних станів імунна відповідь супроводжується активацією і макрофагів, і Т-кілерів та паралельним розвитком реакції ГСТ і цитотоксичної реакції Т-кілерів.

Слід зазначити, що імунна відповідь організму на чужорідні антигени ніколи не розвивається за типом клітинної реакції у "чистому вигляді". Паралельно з розвитком клітинних реакцій завжди відбува-

ється синтез антитіл, які можуть модифікувати клітинну відповідь. Синтезовані антитіла виконують, зокрема, важливу функцію в деяких (антитілоопосередкованих) клітинних цитотоксичних реакціях, забезпечуючи прикріплення ефекторних клітин до клітин-мішеней.

У реакціях клітинного імунітету провідна роль належить Тх1-клітинам. Вони активують (або підсилюють) за допомогою продукованих ними цитокінів функції ефекторних клітин у реакціях сповільненої гіперчутливості та клітиноопосередкованої цитотоксичності; Тх2, стимулюючи синтез антитіл, сприяють запуску реакцій антитілозалежної цитотоксичності.

11.2.1. Цитотоксична реакція Т-лімфоцитів

Клітинна цитотоксичність - важливий механізм захисту при багатьох інфекційних захворюваннях, збудники яких є внутрішньоклітинними паразитами (облігатними чи факультативними), а також при злоякісних новоутвореннях. Цей вид реактивності забезпечує захист організму від патогенів, що живуть у цитоплазмі інфікованих клітин - насамперед вірусів, а також деяких бактерій та найпростіших (наприклад, *Toxoplasma gondii*). Оскільки в клітині ці патогени є недоступними для дії антитіл, вони можуть бути еліміновані лише у разі знищення інфікованих клітин.

Цитотоксичність можуть виявляти кілька типів клітин як лімфоїдного, так і мієлоїдного (макрофаги, нейтрофіли, еозинофіли) рядів. Лімфоїдні цитотоксичні клітини мають спільну назву - *кілерні клітини*. Вбиваючи клітини-мішені, різні клітини-вбивці різняться між собою як за особливостями їх розпізнавання, так і за механізмами реалізації цитотоксичної дії. Зважаючи на ці відмінності, виділяють два типи цитотоксичних лімфоїдних клітин -Т-кілери та природні кілери. Із двох типів цитотоксичних клітин імунною специфічністю характеризуються лише Т-кілери. Т-кілери, або цитотоксичні Т-лімфоцити (ЦТЛ), активуються антигеном і вбивають ті клітини-мішені, що несуть цей самий антиген на своїй поверхні. Антигени розпізнаються ними в комплексі з молекулами МНС.

Переважну більшість ЦТЛ (90 %) становлять Т-клітини з корецептором CD8, які розпізнають антигенні пептиди в асоціації з молекулами МНС I, і лише незначна частина їх представлена CD4 Т-клітинами, які рестриктовані за антигенами МНС II. ЦТЛ належить важлива роль у захисті організму від вірусів та вірусіндукованих пухлин, у відторженні трансплантованих чужорідних органів і тканин.

Т-Кілери легко активуються вірусними, пухлинними або алогенними антигенами і вбивають клітини-мішені, що несуть відповідні антигени, розпізнаючи експресовані на їхній поверхні пептиди цих антигенів у комплексі з молекулами МНС.

В експериментальних дослідженнях Т-кілери отримують *in vivo*, імунізуючи мишей пухлинними клітинами або вірусами. Цитотоксич-

ну активність виділених (через 10-11 діб після імунізації) із селезінки тварин лімфоцитів визначають, культивуючи їх *in vitro* з міченими ^{51}Cr клітинами-мішенями — пухлинними, гомологічними тим, що використовувалися для імунізації, або інфікованими відповідним вірусом. Цитотоксичну активність Т-кілерів оцінюють за виходом у середовище ^{51}Cr .

Т-Кілери ефективно активуються також алогенними пептидами в асоціації з алогенними молекулами МНС. Це відбувається в змішаній культурі лімфоцитів (ЗКА) від несумісних особин, в якій унаслідок взаємної антигенної стимуляції генетично чужорідних клітин генеруються Т-кілери різних генотипів. Реакція залежить від наявності в культурі 1-2 % макрофагів (моноцитів), що виконують роль АПК. Отже, у цій системі і ефекторними клітинами, і клітинами-мішенями є цитотоксичні Т-лімфоцити. В алогенній ЗКА на рівні клітинної популяції спостерігається двоспрямований лізис клітин — кілерну активність виявляють лімфоцити обох генотипів. Однак у кожній окремій парі лімфоцитів, що взаємодіють між собою, літичну активність вірогідно виявляє та клітина, рецептори якої мають більшу спорідненість до антигену.

Активация цитотоксичних Т-лімфоцитів. Для вивчення клітинних взаємодій у цитотоксичній реакції Т-лімфоцитів, зокрема для з'ясування ролі Т-хелперів та АПК у диференціюванні ЦТА з їхніх наївних попередників, було використано так звану "дефектну" ЗКА, в якій виключалася функція Т-хелперів за збереження функції попередників ЦТА (пре-ЦТА). Для виключення функції Т-хелперів із ЗКА вилучали безпосередньо клітини хелперної групи фенотипу CD4 або інактивували (прогріванням, обробкою ультрафіолетовим випромінюванням) МНС II⁺ антигенпрезентувальні клітини-стимулятори, що активують Т-хелпери.

У такій "дефектній" ЗКА пре-ЦТА не диференціювалися в ефекторні ЦТА після стимуляції їх як алогенними, так і модифікованими чужорідними антигенами сингенними клітинами. Утворення ЦТА спостерігалось лише тоді, коли в культуральне середовище "дефектної" ЗКА добавляли надосадову рідину з "повноцінної" ЗКА або коли "дефектну" і "повноцінну" культури розділяли у подвійній мікродифузній камері.

У цих дослідженнях було встановлено існування та умови синтезу розчинних факторів (цитокінів) і їхню роль у клітинних взаємодіях та в активації субпопуляції лімфоцитів, що беруть участь у цитотоксичній реакції. Було зроблено висновок, що для активації пре-ЦТА і генерації ЦТА потрібно принаймні два послідовних сигнали, які індукуються антигеном та ІЛ-2. Перший сигнал пре-ЦТА отримує під час розпізнавання ТкР комплексу антигенний пептид - МНС I на клітинні-мішені, а другий сигнал -- під час зв'язування експресованим на його поверхні рецептором (ІЛ-2К) ІЛ-2, секретованого активованим на АПК

Т-хелпером. АПК потрібна лише для активації Т-хелпера, але не пре-ЦТА.

Однак сьогодні відомо, що клітини-мішені не можуть активувати наївні CD8 Т-клітини, як це вважали раніше, оскільки вони, як правило, не експресують молекули В7 (CD80 і CD86) і у зв'язку з цим не можуть забезпечити костимуляторний стимул через взаємодію з CD28 Т-лімфоцита.

Згідно з існуючими нині уявленнями, експансія і диференціювання цитотоксичних CD8Т-клітин може здійснюватися за участю лише АПК або АПК і Т-хелперів. При цьому АПК забезпечують антигенний і костимуляторний стимули, а Т-хелпери або самі прекілери є джерелом ІЛ-2 (рис. 73).

Найвірогідніше активацію наївних CD8Т-клітин (як і CD4Т-клітин) здійснюють "професійні" активовані АПК, надаючи їм для розпізнавання антигенний пептид у комплексі з МНС І та забезпечуючи сильний додатковий стимул через взаємодію великої кількості експресованих на їхній поверхні костимуляторних молекул В7 з лімфоцитарними рецепторами CD28. Під впливом індукованого розпізнавання антигену сигналу Т-клітини виходять із фази спокою (G0) у ранню фазу G1, трансформуються на бласти і експресують молекулу CD25 - α -ланцюг високоафінного рецептора для ІЛ-2. Додатковий сигнал стимулює продукування активованими Т-клітинами ІЛ-2, який, зв'язуючись із гомологічними рецепторами, забезпечує їх розмноження за аутокринним механізмом (див. рис.73, а).

Джерелом ІЛ-2 під час активації CD8 Т-клітин можуть бути й активовані Т-хелпери, які забезпечують розмноження активованих антигеном пре-ЦТА за паракринним механізмом. Однак з урахуванням феномену МНС-рестрикції Т-хелпери не можуть безпосередньо, внаслідок прямого контакту активувати CD8 Т-клітини, оскільки останні не несуть на своїй поверхні молекул МНС ІІ. Тому взаємодія між Т-хелперами і CD8 Т-клітинами опосередковується професійною АПК (ІДК), на поверхні якої експресуються молекули МНС класу І і ІІ. Активация відбувається на поверхні однієї й тієї самої АПК, де Т-хелпери і пре-ЦТА утворюють кластери (див. рис. 73, б). АПК в такій взаємодії виконує функцію "містка" між Т-хелпером і пре-ЦТА, оскільки представляє антигенні пептиди в асоціації з молекулами МНС обох класів.

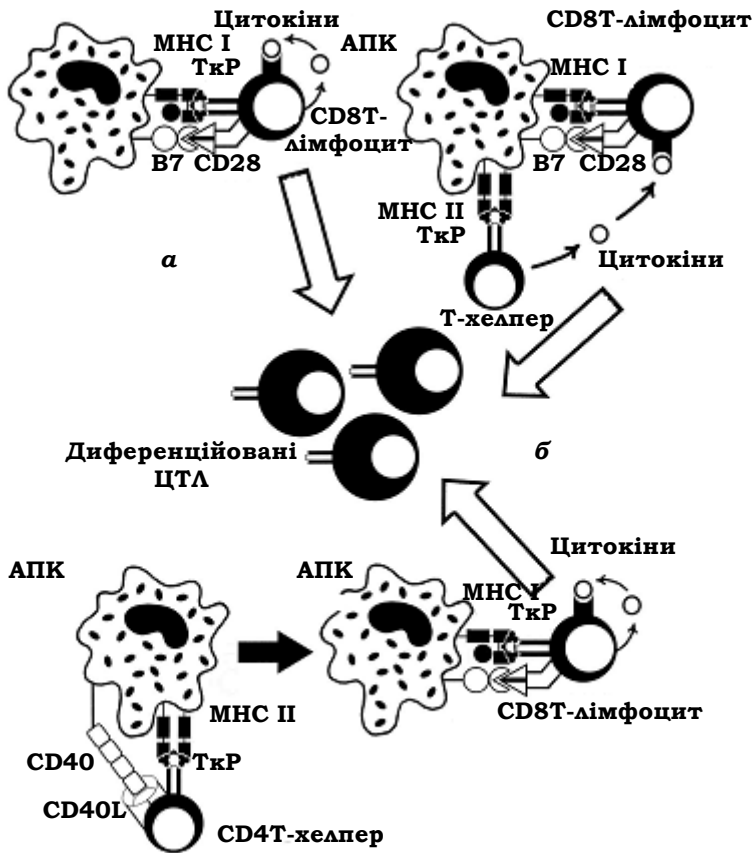


Рис. 73. Роль Т-хелперів і коstimуляторних молекул у диференціюванні ЦТЛ. Активация наївних CD8Т-клітин та їх диференціювання на ефeкторні цитотоксичні Т-лімфоцити (ЦТЛ) під впливом сигналів, індукованих: а - антигенним пептидом і коstimуляторними молекулами B7, експресованими на активованій АПК; б - антигенним пептидом, презентованим на АПК, та ІЛ-2, який продукується активованим Т-хелпером; в - антигенним пептидом і коstimуляторними молекулами B7, експресованими на АПК, що попередньо активується Т-хелпером

Крім того, активовані у процесі імунної відповіді Т-хелпери можуть посилювати експресію молекул B7 на АПК за рахунок продукування ІФН- α і, отже, стимулювати їхню здатність активувати CD8⁺Т-клітини (див. рис. 73, в).

Активовані антигеном пре-ЦТЛ розмножуються під впливом ІЛ-2 і диференціюються на ефeкторні кілерні клітини. Поділ клітин відбувається кожні 8 годин і вже через 3-4 доби після проникнення інфекційного агента (наприклад, вірусу) в організмі накопичується велика кількість ефeкторних ЦТЛ. Слід зазначити, що ІЛ-2 зумовлює перехід із ранньої фази G₁ у пізню, не впливаючи на наступний рух клітини по циклу, і підтримує тривалу проліферацію вже активованих CD8 Т-

клітин.

Активация ЦТЛ *in vivo* відбувається в тимусзалежних зонах лімфоїдних органів — паракортикальній зоні лімфатичних вузлів та періартеріолярних муфтах селезінки. Утворені ЦТЛ надходять у циркуляцію, звідки можуть мігрувати у місця запалення (завдяки посиленню експресії інтегринів) і знищувати локалізовані в них інфіковані або трансформовані клітини. ЦТЛ вбивають лише ті клітини-мішені, які несуть молекули МНС I з тим самим антигенним пептидом, що знаходиться на АПК.

Активовані ЦТЛ здійснюють кілерну функцію після взаємодії ТкР з комплексом антигенний пептид - МНС I на поверхні клітини-мішені за відсутності костимуляторних молекул, але за участю корецепторів (CD8) та молекул адгезії, які сприяють установавленню щільного контакту між клітинами. Реалізація цитотоксичної функції пов'язана з набуттям ЦТЛ здатності синтезувати білки "на експорт" (перфорин, гранзими, гранулізини), а також мембранні молекули (наприклад, Fas-L), що відіграють важливу роль у механізмах апоптозу клітин-мішеней.

Стадії взаємодії цитотоксичних Т-лімфоцитів з клітинами-мішенями. В експериментальних дослідженнях Т-клітинного цитолізу з використанням двох тестів - адсорбція лімфоцитів на моношарі клітин-мішеней та утворення комплексів ЦТЛ - клітина-мішень під час осадження суміші клітин центрифугуванням з наступним ресуспендуванням осаду у в'язкому середовищі було з'ясовано послідовність подій, яка призводить до загибелі клітин-мішеней.

Процес взаємодії ЦТЛ і клітини-мішені умовно поділяють на три стадії, що відбуваються послідовно: стадія 1 - розпізнавання ЦТЛ клітини-мішені і встановлення контакту між клітинами, що взаємодіють; стадія 2 - програмування лізису (смертельний удар) - запуск літичного механізму; стадія 3 - лізис клітини-мішені - реалізація літичного механізму.

Кожна стадія взаємодії реалізується за певних умов. Відрізняються вони передусім за ступенем залежності від двовалентних катіонів. Для встановлення щільного контакту між ЦТЛ і клітиною-мішенню необхідна наявність катіонів Mg^{2+} . Запуск цитолітичного механізму може відбуватися тільки за наявності в середовищі катіонів Ca^{2+} . Однак лізис клітини може відбуватися і за відсутності катіонів. Відмінності в потребах катіонів дають змогу відокремлювати стадії одна від одної та детально їх вивчати.

Під час вивчення літичного циклу використовували так званий Ca^{2+} -пульсовий метод із застосуванням катіонів Ca^{2+} і Mg^{2+} та ЕДТА. Якщо у середовище з сумішшю ЦТЛ і клітин-мішеней добавляли лише катіони Mg^{2+} , то відбувалося зв'язування без програмування лізису, а наступне введення катіонів Ca^{2+} запускало смертельний удар. Тривалість цієї стадії визначали введенням у різні періоди часу ЕДТА, який роз'єднує кон'югати ЦТЛ - клітина-мішень.

Розпізнавання клітини-мішені ЦТЛ здійснюється за допомогою ТкР (за участю корецептора CD8), який зв'язує на поверхні клітини-мішені комплекс антигенного пептиду з молекулою МНС I. Це зв'язування визначає специфічність взаємодії. Встановленню тісного контакту між клітинами, що є необхідною умовою реалізації цитотоксичної дії, сприяють взаємодії експресованих на поверхні обох клітин комплементарних молекул адгезії. Серед останніх найважливіше значення мають пов'язані з функцією ЦТЛ молекули LFA-1 (CD11a/CD18) та LFA-2 (CD2), які розпізнають експресовані на клітині-мішені відповідно молекули ICAM-1 та LFA-3 (CD58).

Зближення клітин відбувається у два етапи: перший здійснюється за участю мікрофіламентів (пригнічується цитохалазином А) і не залежить від наявності іонів Mg^{2+} , другий - Mg^{2+} -залежний.

Запуск літичного механізму (програмування лізису) - метаболічно активний процес. Він розвивається за температури 37 °С та наявності енергетичного метаболізму, збереження активності цитоскелета й ферментів ЦТЛ і пригнічується інгібіторами метаболізму (азидом натрію, динітрофенолом) й низькими температурами. В ЦТЛ відбувається реорганізація елементів цитоскелета і цитоплазматичних гранул: переміщення і концентрування гранул під мембраною в місці контакту з клітиною-мішенню та орієнтація в напрямі до неї апарату Гольджі й центру організації мікротрубочок. На стадії програмування лізису в клітині-мішені індуюються Т-кілером процеси, які неминуче призводять її до загибелі, з чим і пов'язана друга назва її - смертельний удар. Деструкція клітини-мішені відбувається після відокремлення від неї ЦТЛ. Готовність до лізису після отримання смертельного удару зберігається у клітини-мішені до 5 год за умови охолодження її до 15 °С. Для здійснення лізису потрібна температура не нижча за 30°C (максимальний ефект спостерігається при 37-41°C). Отже, ЦТЛ не бере безпосередньої участі в деструкції клітини-мішені, а лише запускає в ній цитолітичний механізм.

Механізми цитотоксичної дії Т-кілерів. ЦТЛ реалізують кілерну функцію через індукування апоптозу (див. розд.10). Найпоширеніший шлях індукування апоптозу в ЦТЛ, як і в НК-клітин, - перфорин-залежний, що пов'язаний із секрецією літичних гранул і доставлянням усередину клітини-мішені через утворені перфорином пори індукторів апоптозу гранзимів та гранулізину (див. розд. 2). Серед низки ідентифікованих гранзимів (А, В, С, Б, Е, Г, С, Н, К, М), з яких лише кілька експресуються кожною кілерною клітиною, на найбільшу увагу заслуговують найпоширеніші у людей і мишей гранзими А і В, особливо В. Механізми індукованої загибелі клітин-мішеней цими білками досліджено *in vitro*.

Роль обох білків - перфोरину і гранзиму В в загибелі клітин доведено на трансфектованих мастоцитах, у яких зшивання Fc ϵ -рецепторів та викид літичних гранул відбуваються за подібним до ЦТЛ механіз-

мом. Мастоцити, трансфековані тільки геном гранзиму В, не здатні вбивати клітини-мішені, а трансфековані лише геном перфोरину здійснюють клінінг недостатньо ефективно, однак ефективність підвищується (до її рівня в ЦТЛ) після введення їм ще гена гранзиму В. Показано, що гранзим В за відсутності перфोरину може проникати в клітину ендоцитозом, зв'язуючись із клітинним рецептором (як припускають, манозо-6-фосфатом), проте для виходу його з ендоцитозного компартменту в цитозоль потрібний перфорин.

Гранзим В індукує як каспазозалежну (див. розд. 10), так і незалежну апоптичну загибель клітин. У першому випадку гранзим В активує каспазу 3, яка розщеплює інгібітор каспазоактивованої ДНКазы (CAD) білок ICAD, що спричинює активацію ферменту та олігонуклеосомну фрагментацію ДНК. У другому випадку гранзим В індукує безпосередньо два шляхи олігонуклеосомного ушкодження ДНК за участю різних нуклеаз: вивільняючи мітохондріальну ендонуклеазу G (EndoG) внаслідок порушення зовнішньої мембрани мітохондрій та активуючи CAD розщепленням її інгібітору.

Гранзим А індукує каспазозалежний, але інший, ніж гранзим В, тип загибелі клітин через порушення мембранного потенціалу мітохондрій і активацію нуклеази GAAD (гранзим А-активована ДНКаза), яка ушкоджує ДНК не з розривами подвійних її ланцюгів, а з утворенням одно-ланцюгових надрізів. Каспазозалежну загибель клітин з одонитковими надрізами ДНК індукує також гранзим С (експресується у мишей), однак утворені при цьому кінці ДНК мітаються полімеразами Кленова і TdT, тоді як індуковані гранзимом А - лише полімеразою Кленова.

Гранулізин (експресується ЦТЛ і НК-клітинами людини) за високої концентрації порушує зовнішню мембрану мітохондрій, вивільняючи AIF (фактор, що індукує апоптоз), цитохром с та EndoG, і може індукувати каспазозалежну, а також залежну від каспаз загибель клітин-мішеней.

Слід зазначити, що високі концентрації перфोरину можуть зумовлювати загибель клітин-мішеней *in vitro* за відсутності гранзимів і гранулізину, не індукуючи фрагментацію ДНК, тобто не апоптозом, а некрозом. В умовах організму в перфоринзалежному цитолізі клітин-мішеней переважають ознаки апоптозу, але формування пор призводить і до певних проявів некрозу.

Т-Кілери використовують також інший, незалежний від перфोरину, механізм індукування апоптозу, який полягає у передаванні цитотоксичного сигналу через поверхневі молекули клітини-мішені - рецептори "смерті": Fas-рецептор і рецептор для ФНП. Ліганд для Fas - молекула FasL (Fas-ліганд) експресується на цитотоксичних CD8 Т-клітинах після їх активації, а також на активованих CD4Т-клітинах (Тх1), які, на відміну від CD8Т-клітин, не продукують ні перфорин, ні гранзими.

Зв'язування молекули Fas мембрани клітини-мішені з Fas-лігандом на мембрані ЦТЛ зумовлює агрегацію молекул Fas і приєднання до їхніх цитоплазматичних "смертоносних" доменів внутрішньоклітинного "білка смерті" MORT-1. Це призводить до індукування апоптозу через активацію каспаз аналогічно індукуванню цього процесу перфорином та гранзимами.

Передавання цитотоксичного сигналу через ФНП-рецептор, що експресується на клітині-мішені, здійснюється опосередковано через взаємодію з цим рецептором продукованого ЦТЛ цитокіну ФНП. Вважають, що ФНП лише частково відповідає за цитотоксичність Т-клітин. Зв'язування ФНП з відповідним рецептором потенціює (підсилює) сигналізацію через взаємодію FasL-Fas.

Отже, ЦТЛ використовують різні способи для того, щоб обмежити поширення внутрішньоклітинних патогенів. При цьому вони вибірково, з великою точністю вбивають інфіковані клітини, що експресують специфічний антиген, не ушкоджуючи сусідніх нормальних клітин. Така спрямована дія ЦТЛ на клітину-мішень, що несе специфічний антиген, і чітко сфокусована в точку контакту з нею має особливо велике значення для мінімізації руйнування тих тканин, в яких регенерація не відбувається (нейрони ЦНС) або дуже обмежена (острівці Лангерганса).

Т-Кілери є не лише селективними, а й "серійними" вбивцями. Після вбивства однієї клітини-мішені вони швидко відновлюють свій цитотоксичний потенціал і можуть успішно вбивати інші клітини, що було продемонстровано в тонких мікрomanipуляційних експериментах (при перенесенні окремих ефекторних Т-клітин за допомогою мікрокапіляра на нові клітини-мішені). Т-Кілери, що встановили контакт одразу з кількома клітинами-мішенями, вбивають їх по черзі, одну за одною, реорієнтуючи свій секреторний апарат у напрямі кожної з них. Відновлення цитотоксичного потенціалу пов'язано з синтезом *de novo* перфोरину і гранзимів, що індукується лігацією рецепторів. Зрілі наївні CD8T-клітини, що виходять із тимуса, запрограмовані на синтез цих ефекторних білків, але ще не експресують їх. Ці білки синтезуються під час першого контакту наївних пре-ЦТЛ з антигеном на АПК і зберігаються у вигляді неактивних молекул-попередників у гранулах. Гранули екзоцитуються під час взаємодії ефекторних ЦТЛ з клітинами-мішенями. При цьому зв'язування з антигеном і перехресне зшивання ТкР індукує *de novo* синтез перфोरину та гранзимів, і запаси їх у гранулах відновлюються. Завдяки екзоцитозу вже преформованих цитотоксичних білків програмування лізису Т-кілером клітини-мішені здійснюється швидко - впродовж кількох хвилин після встановлення контакту з нею.

Важливо, що індуковані ЦТЛ апоптичні механізми, вбиваючи клітину-мішень, можуть впливати і на локалізовані в цитоплазмі патогени. Так, активовані нуклеази можуть руйнувати вірусну ДНК, запобі-

гаючи формуванню віріонів і виходу із зараженої клітини інфекційного вірусу, який здатний інфікувати інші клітини. Інші ферменти, зокрема різні протеїнази, що активуються в ході апоптозу, можуть спричинювати несприятливий вплив (порушуючи тою чи іншою мірою життєздатність) на такі патогени, як бактерії та найпростіші, що паразитують у цитоплазмі. Відомо, що секретований ЦТЛ гранулізин вбиває внутрішньоклітинні бактерії (*Mycobacterium tuberculosis* та ін.), підвищуючи проникність їхніх мембран. У руйнуванні нуклеїнових кислот і білків не тільки клітини-мішені, а й патогенів полягає перевага апоптозу над некрозом, оскільки звільнені у процесі осмотичного лізису (некрозу) клітини інфекційні агенти можуть заражати інші клітини.

11.2.2. Реакція гіперчутливості сповільненого типу

Гіперчутливість сповільненого типу (ГСТ) постійно розвивається при хронічних бактеріальних (туберкульоз, бруцельоз, туляремія, сифіліс), зумовлених грибами (бластомікоз, кокцидіоїдоз) і вірусами (герпес) інфекціях, а також при захворюваннях, спричинюваних найпростішими (лейшманіоз) та глистовими інвазіями (шистосомоз).

Реакції ГСТ відіграють важливу роль у захисті хазяїна від тих внутрішньоклітинних патогенів, які паразитують у макрофагах і протидіють знищенню їх неактивованими макрофагами. Класичним прикладом таких інфекцій є туберкульоз і проказа, збудники яких (мікобактерії) живуть у фагосомах, протидіючи злиттю їх з лізосомами, або у фаголізосомах, запобігаючи закисленню їхнього вмісту, що є необхідним для активації лізосомальних ферментів.

За своїми механізмами реакція ГСТ відрізняється від цитотоксичної реакції лімфоцитів. Головна відмінність полягає в тому, що ефекторну функцію для знищення патогенів у реакції ГСТ виконують не лімфоцити, а клітини природного імунітету - макрофаги.

Дія захисних механізмів при ГСТ спрямована не на знищення інфікованих клітин - макрофагів, а на підвищення їхньої функціональної активності, тобто на активацію їх для знищення локалізованих у них інфекційних агентів. Ключову роль в активації макрофагів відіграють Тх1-клітини. Антигенспецифічні Тх1-клітини опосередковують реакції ГСТ та відіграють роль у їх запуску, тому і розглядаються як ефектори реакції ГСТ.

Тх1-Клітини накопичуються в організмі внаслідок первинного проникнення в нього антигену природним (наприклад, у процесі інфікування патогенами) або експериментальним шляхом. При цьому найефективнішим для індукування ГСТ є проникнення антигену через шкіру. Іншим важливим фактором, що визначає успіх індукування ГСТ, є наявність у мікробів ліпідних компонентів (особливо багато їх у мікобактерій туберкульозу та прокази) або введення антигену з ад'ювантами, що містять мікобактерії й масляні компоненти.

Активация naïвних CD4 T-клітин і диференціювання їх у Tх1-клітини відбувається переважно в регіонарних до місця проникнення антигену лімфовузлах, у їхніх паракортикальних зонах, де відбувається вловлювання (рекрутування) антигенспецифічних T-лімфоцитів. Роль АПК під час першої дії антигену можуть виконувати ДК або макрофаги. Клони Tх1-клітин, що утворилися внаслідок активації, бласттрансформації і проліферації їх naïвних попередників, виходять (у вигляді бластів) на 5-7-му добу після первинного контакту з антигеном із лімфовузлів і надходять у кровотік. Разом із кров'ю вони розносяться по всьому організму і поселяються в різних відділах імунної системи, зумовлюючи стан сенсibilізації (підвищеної чутливості) - готовність до підвищеної реакції на повторний контакт з відповідним антигеном. Ця готовність може бути виявлена за здатністю Tх1-клітин переносити стан ГСТ до імуногена інтактним особинам, які ще не контактували з ним. Здатність переносити стан сенсibilізації властива також клітинам пам'яті, що утворюються пізніше - через 30 дб. Як бластні форми, так і клітини пам'яті практично не продукують цитокіни до повторного контакту з антигеном.

Після повторного інфікування тим самим патогеном чи виходу його з ізолюваного первинного інфекційного осередку під час рецидиву (або повторного введення антигену експериментально — так званої роздільної дози антигену) Tх1-клітини, що перебувають у циркуляції, мігрують у ділянку локалізації антигену (патогену). Тут вони реактивуються, реагуючи на антиген, що знаходиться на макрофагах, які виконують роль АПК за повторної дії антигену. Слід зазначити, що реактивація Tх1-клітин може відбуватися і без повторного проникнення (введення) антигену за умови наявності в організмі первинно прониклого антигену на час виходу Tх1-клітин з лімфовузлів у циркуляцію.

Активовані Tх1-клітини продукують властивий їм профіль цитокінів, за допомогою яких у реакцію залучаються та активуються клітини інших типів, насамперед макрофаги. Мобілізовані й активовані Tх1-клітинами макрофаги підвищують у процесі активації свій антимікробний потенціал через посилення продукування активних метаболітів і самі безпосередньо знищують внутрішньоклітинні патогени. Тому активовані макрофаги можна розглядати як ефекторні клітини реакції ГСТ, а Tх1-клітини - як індуктори та регулятори цієї реакції. Існує також інша оцінка ролі задіяних у реакції ГСТ клітин, згідно з якою Tх1-клітини розглядаються як ефектори цієї реакції, а макрофаги - як клітини-партнери, що зумовлюють запалення. Слід зазначити, що саме участь запальних клітин - макрофагів визначає особливість реакції ГСТ, її суть (імунна реакція із запальним компонентом, імузне запалення).

За внутрішньошкірного введення антигену в сенсibilізований організм розвивається типова для ГСТ місцева запальна реакція, яка

використовується як тест для діагностики сповільненої гіперчутливості. Реакція розвивається повільно (не раніше, ніж через 6-8 год після ін'єкції антигену), досягаючи максимальної вираженості через 24-48 год, чим і пояснюється її назва. Реакція характеризується появою в ділянці ін'єкції антигену еритеми (почервоніння) та ущільнення шкірних покривів. З гістологічного погляду головною особливістю реакції є місцеве накопичення мононуклеарних клітин — Т-лімфоцитів (переважно Тх1) та макрофагів.

Активация макрофагів Тх1-клітинами. Активация макрофагів та підсилення антимікробних механізмів у них є найважливішою ефекторною функцією Тх1-клітин. Цю функцію здатні виконувати лише активовані Тх1-клітини внаслідок попереднього контакту з відповідним антигеном.

Активовані Тх1-клітини забезпечують обидва сигнали, необхідні для активації макрофагів (рис. 74). Один із них генерується ІФН- γ , інший - CD40-лігандом (CD40L). Секреція Тх1-клітиною ІФН- γ та експресія CD40L індукується розпізнаванням ТкР бактеріального пептиду в асоціації з молекулою МНС класу II на поверхні інфікованого макрофага. Синтез цитокіну розпочинається впродовж першої години з часу подразнення рецептора.

ІФН- γ є основним фактором, що стимулює антимікробну (і проти-пухлинну) активність макрофагів. Взаємодія CD40L Тх1-клітини з молекулою CD40 макрофага індукує сигнал, що є необхідним для підвищення чутливості макрофага до ІФН- γ (очевидно, завдяки посиленню експресії рецепторів до цього цитокіну). Роль ІФН- γ та CD40L в активації макрофагів підтверджена у дослідах на нокаутних мишах. Руйнування гена ІФН- γ чи CD40L призводить до ослаблення продукування макрофагами антимікробних медіаторів і тварини гинуть від сублетальних доз *Mycobacterium spp.*, *Leishmania spp.*, вірусу вісповакцини. Аналогічний до CD40L ефект зумовлює в дуже малій кількості бактеріальний ЛПЦ, взаємодіючи з рецептором CD14 на поверхні макрофага. Костимуляція макрофага ЛПЦ є частково важливою тоді, коли джерелом ІФН- γ є CD8T-клітини, які реагують на наявні на його поверхні асоційовані з МНС I пептиди, що походять із цитозольних білків. Припускають, що мембрано-зв'язані ФНП- α та ФНП- β можуть замінити CD40L під час активації макрофагів, акцептуючись на експресованих на їхній поверхні ФНП-рецепторах (стимулюючи одночасно секрецію ними ФНП- α). За недостатньої кількості ФНП-рецепторів миші виявляють підвищену сприйнятливність до внутрішньоклітинних патогенів.

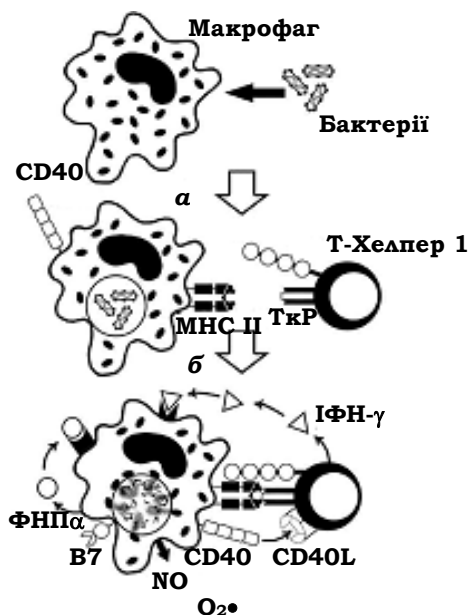


Рис. 74. Активація Т-хелпером 1 (Тх1) макрофага для знищення внутрішньоклітинних бактерій: а - інфікування макрофага бактеріями; б - презентація макрофагом чужорідного антигенного пептиду в комплексі з МНС II та зустріч з Тх1; в - розпізнавання Тх1 антигенного пептиду, взаємодія коstimуляторних молекул CD40-CD40L та виділення Тх1 цитокінів, що приводить до активації макрофага і знищення внутрішньоклітинних бактерій

Активовані макрофаги значно підвищують свій антимікробний потенціал завдяки підсиленню злиття фагосом з лізосомами, в яких містяться різні ферменти, та підсилення утворення високоактивних метаболітів кисню (O_2^{\bullet}) та нітрогену (NO). Вважають, що токсичний ефект на бактеріальні та пухлинні клітини пов'язаний не з самою сполукою NO, а переважно з пероксинітридами, що утворюються внаслідок взаємодії оксиду нітрогену NO з перексидом гідрогену H_2O_2 . Максимальна продукція NO індукується сумісною дією на макрофаги різних стимуляторів. Для цього макрофаги миші потрібно послідовно стимулювати ІФН- γ і ФНП- α , які діють синергічно: ФНП- α запускає утворення оксиду нітрогену, а ІФН- γ активує цей процес. Джерелом ФНП- α можуть бути самі макрофаги за умови активації їх ІФН- γ і мікробними продуктами, наприклад ЛПЦ. Активовані продукованим Тх1-клітинами ІФН- γ і бактеріальним ЛПЦ макрофаги посилюють експресію ФНП-рецепторів і секретують ФНП- α , який забезпечує аутокринний сигнал для запуску процесу утворення NO. Аналогічного ефекту на макрофагах людини можна досягти лише за умови стимуляції їх, як правило, кількома цитокінами з одночасним перехресним зши-

ванням експресованих на їхній поверхні FcεRII рецепторів (CD23).

Завдяки підсиленню антимикробних механізмів активовані макрофаги набувають здатності ефективно знищувати внутрішньоклітинні (або недавно фагоцитовані зовнішньоклітинні) патогени, які не знищуються неактивованими макрофагами.

В активованих макрофагах відбуваються також зміни, які допомагають посилити імунну відповідь залученням нових T_H1-клітин, - підвищення експресії коstimуляторних молекул та секреції цитокінів. Так, завдяки збільшенню експресії молекул MHC II, CD40 та CD86 (B7.2) макрофаги набувають здатності ефективніше презентувати антиген, сприймати та індукувати коstimуляторні сигнали, сприяючи таким чином активації інших наївних CD4T-клітин. Секреція активованими макрофагами IL-12 може спрямовувати диференціювання первинно активованих CD4T-клітин у бік T_H1-клітин.

Регуляція активації макрофагів. Індукована розпізнаванням антигену секреція ІФН-γ та експресія CD40L відбуваються поляризовано - в точці контакту мембран T_H1-клітини і макрофага. Завдяки такій сфокусованій секреції ІФН-γ активується саме той макрофаг, що презентує антиген T_H1-клітині, тоді як сусідні, неінфіковані клітини, як правило, не активуються, незважаючи на те що рецептори до ІФН-γ мають усі макрофаги.

Однак висока концентрація ІФН-γ може зумовити активацію не лише інфікованих, а й неінфікованих макрофагів. Гіперсекреція ІФН-γ та надмірна активація макрофагів має потенційну небезпеку ушкодження тканин, оскільки самі інфіковані клітини інших типів (наприклад, при туберкульозі легень) можуть вбиватися T-клітинами. Вражені локальні ушкодження тканин, як правило, супроводжують реакції ГСТ на патогени великих розмірів, наприклад на паразитичні черв'яки, яких макрофаги не спроможні фагоцитувати. Для знищення цих патогенів активовані макрофаги виділяють назовні активні субстанції (вони зазвичай діють під час руйнування внутрішньоклітинних патогенів), які є токсичними і для клітин хазяїна.

Для уникнення або принаймні для зменшення небажаних руйнівних ефектів на нормальні тканини активація макрофагів T_H1-клітинами має чітко регулюватися. Для мінімізації деструктивних процесів у осередку ГСТ спрацьовують механізми регуляції активації макрофагів, насамперед механізми контролю синтезу та дії ІФН-γ.

Обмеження періоду синтезу ІФН-γ може бути досягнуто скороченням періоду напіврозпаду мРНК, що кодує ІФН-γ та інші цитокіни, внаслідок наявності на 3-кінці послідовності (AУУУА)_n, що не транслюється, та руйнуванням цитокінової мРНК унаслідок активації T-клітин для продукування іншого білка. Отже, швидке руйнування цитокінової мРНК разом зі сфокусованим транспортуванням ІФН-γ в точку контакту між клітинами, що взаємодіють, лімітує дію T_H1-

клітини на інфікований макрофаг і унеможлиблює активацію сусідніх клітин.

Крім того, самоактивація макрофагів за аутокринним механізмом (секретованими ними самими ІФН- γ і ФНП- α) може пригнічуватися такими цитокінами, як ТФР- β , ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-13. Оскільки більшість цих цитокінів продукуються Тх2-клітинами, (які, до речі, разом з Тх1-клітинами виявляються в гранульомах при туберкульозі та інших хронічних інфекціях), то індукування цього типу хелперних клітин вірогідно є важливим метаболічним шляхом, що регулює активність Тх1-клітин і контролює ефекторні функції активованих макрофагів.

Відомо, що в активації макрофагів і регуляції співвідношення Тх1-/Тх2-клітин у людини бере участь кальцитріол (1,25-дигідроксикальциферол), який утворюється з неактивної його форми (25-гідроксиколекальциферолу) за участю ферменту 1- α -гідроксилази, що експресується стимульованими ІФН- γ макрофагами. Закріплюючись на відповідних рецепторах, кальцитріол додатково стимулює вже активовані ІФН- γ макрофаги і одночасно за механізмом зворотної негативної регуляції різко пригнічує Тх1-клітини. З'ясовано, що кальцитріол утворюється у значних кількостях у хворих на туберкульоз та саркоїдоз.

Існує також негативна регуляція ефекторних функцій макрофагів. Показано, що вже активовані макрофаги можуть бути дезактивовані. Здатністю відмінити індуковане ІФН- γ підвищення утворення макрофагами високоактивних радикалів кисню і частково оксиду нітрогену (II) характеризується фактор, виділений із середовища, в якому культивувалися пухлинні клітини, і з урахуванням його біологічної дії названий дезактивуючим макрофаги фактором (MDF, від англ. *macrophage deactivating factor*). Таку саму активність - здатність пригнічувати функції макрофагів - виявлено у ІЛ-4, ТФР- β - подібних цитокінів, а також пептиду, зв'язаного з геном кальцитоніну.

Координування Тх1-клітинами імунної відповіді на внутрішньоклітинні патогени. Активовані Тх1-клітини крім ІФН- γ секретують інші цитокіни, які безпосередньо участі в активації макрофагів не беруть, але відіграють важливу роль у координуванні імунної відповіді на внутрішньоклітинні патогени та підвищенні її ефективності. При цьому підвищення ефективності імунної відповіді досягається різними способами.

Одні цитокіни сприяють збільшенню кількості клітин, що беруть участь в імунній відповіді: ІЛ-2 індукує проліферацію Т-клітин, а гемопоетичні фактори росту ІЛ-3 та ГМ-КСФ стимулюють утворення нових макрофагів, діючи на СКК в кістковому мозку. Інші цитокіни акумулюють макрофаги в осередку інфекції: ФНП- α і ФНП- β індукують експресію на васкулярному ендотелії адгезивних молекул, що зумовлює прилипання до нього макрофагів (моноцитів), а макрофага-

льний хемотаксичний фактор сприяє міграції їх із кров'яного русла в тканину.

Слід зазначити, що хронічно інфіковані макрофаги під впливом локалізованих усередині фаголізосом бактерій можуть втрачати здатність до активації. В таких випадках Тх1-клітини можуть вбивати ці макрофаги внаслідок індукування апоптозу через взаємодію Fas-ліганду з експресованою на їх поверхні Fas-молекулою. Біологічний сенс цього явища полягає в тому, щоб забезпечити вихід патогенів з клітини в позаклітинний простір і створити умови для залучення до боротьби з ними функціонально повноцінні ефекторні клітини. До вбивства хронічно інфікованих макрофагів (та інших типів клітин) можуть залучатися і Т-кілери, як це відбувається під час туберкульозної інфекції.

Звільнені з інфікованих макрофагів, що були вбиті CD4 і CD8 в Т-клітинами, патогени можуть бути захоплені іншими макрофагами, які ще здатні активуватися й знищувати бактерії. Крім того, є дані, що активовані CD8Т-клітини спроможні безпосередньо вбивати локалізовані у макрофагах мікобактерії туберкульозу. Відповідальним за кілінг (вбивство) бактерій є гранулізин, що міститься в секретованих ЦТЛ літичних гранулах.

Значний селективний тиск, що виникає внаслідок взаємодії мікобактерій з хазяїном, потребує залучення до захисту різних субпопуляцій Т-клітин для інтенсифікації імунної відповіді. Крім традиційних МНС-рестрикованих CD8Т-клітин, що стимулюються мікобактеріальними пептидами, в імунній відповіді проти *M.tuberculosis* беруть участь і нетрадиційні (мінорні) Т-клітини, що стимулюються різними компонентами небілкової природи, на які багата клітинна стінка цих бактерій. Ці субпопуляції Т-клітин після стимуляції продукують ІФН- γ та виявляють цитолітичну активність і, ймовірно, можуть відігравати важливу роль у відповіді на *M. tuberculosis*. У людини це CD8 Т-клітини, рестриковані за некласичними молекулами HLA, які розпізнають наявні у клітинній стінці мікобактерій гліколіпіди (фосфатидилінозитолманозиди, ліпоарабіноманани, міколові кислоти, гексозил-1-фосфоізопреноїди), презентовані молекулами CD1, та нерестриковані $\gamma\delta$ Т, які стимулюються небілковими антигенами, що містять фосфат (фенілпірофосфати, нуклеотидні кон'югати). Оскільки ці $\gamma\delta$ Т, що експресують V-2-2 комбінацію ланцюгів, становлять майже 5 % усіх Т-клітин периферичної крові дорослої людини і після стимуляції продукують ІФН- γ та виявляють мікобактерицидну активність, то вважають, що вони можуть виконувати роль першої ланки захисту при туберкульозі. Показано, що у мишей $\gamma\delta$ Т захищають організм від високої інфікуючої дози мікобактерій туберкульозу і беруть участь у формуванні гранульом.

Ізоляція патогенів у гранульомах. Активовані макрофаги мо-

жуть контролювати ріст внутрішньоклітинних патогенів, однак повне їх знищення досягається рідко. Якщо мікроорганізми ефективно протистоять впливу активованих макрофагів і не знищуються ними, інфекція набуває хронічного перебігу з розвитком запального процесу. В місці локалізації збудника формується гранульома - морфологічна структура зі скупчень клітин, яка є наслідком імунного запалення. При хронічних реакціях ГСТ в утворенні гранульом провідна роль належить не міграції клітин, а проліферативним процесам. У центрі гранульом зосереджуються збудник, інфіковані макрофаги і похідні макрофагів: багатоядерні гігантські клітини (злиті макрофаги) та епітеліоїдні клітини (сплощені макрофаги великих розмірів). Припускають, що ці змінені морфологічні форми з'являються внаслідок хронічної стимуляції макрофагів цитокінами і належать до секреторних, а не до фагоцитарних клітин. Клітини макрофагального ряду оточуються Т-лімфоцитами з переважанням CD4 Т-клітин та клітинами інших типів (залежно від природи збудника). При деяких інфекціях, наприклад туберкульозі, в центрі гранульоми (туберкули) утворюється зона некрозу, яка виникає внаслідок цитотоксичних ефектів макрофагів, руйнування самих макрофагів Т-кілерами, накопичення токсичних метаболітів, трофічної недостатності. Оскільки в зоні некрозу міститься детрит, то цей процес назвали казеозним ("сирнистим") некрозом.

Мікроби можуть тривало виживати в гранульомах, змінюючи свій метаболізм (переключатися на катаболізм ліпідів та азотисте дихання). Фактично гранульоми утворюються для ізоляції тих патогенів, які не можуть бути знищені та еліміновані. Важливу роль при цьому відіграють цитокіни ФНП- α і ФНП- β , які беруть участь у запаленні, регулюючи формування та підтримання структурної цілісності гранульом. Роль ФНП- α в обмеженні поширення *M. tuberculosis* у тканинах людини підтверджується зростанням ризику реактивації туберкульозу в осіб, яким проводилася анти-ФНП- α -терапія, зокрема у хворих на ревматоїдний артрит.

Індуковані активованими Тх1-клітинами ефекторні механізми зумовляють затримку поширення мікробів з малих гранулематозних уражень у тканині, але такий ефект не завжди є довготривалим. За певних умов бар'єрна функція гранульоми може порушуватися, що сприяє поширенню мікробів у тканині. Постійна стимуляція макрофагів, активованих антигенами персистувального патогенного агента, і виділення ними високоактивних метаболітів кисню та ферментів гідролаз може призвести до ушкодження тканин. Вважають, що після вакцинації БЦЖ або первинного інфікування *M. tuberculosis* активація Тх1-клітин є оптимальною. Впродовж первинної туберкульозної інфекції здебільшого розвивається динамічний баланс між персистентністю бактерій та захистом хазяїна, який може підтримуватися

впродовж усього життя. В гранульомах у зоні некрозу мікобактерії гинуть, що зумовлено нестачею кисню, факторів живлення (насамперед заліза), сильним закисленням середовища. В зв'язку з різким зменшенням збудника запальна реакція припиняється. Туберкула вкривається сполучнотканинною капсулою (внаслідок розмноження активованих фібробластів), рубцюється і нерідко звапнується. Точні механізми, завдяки яким цей баланс досягається, і як він порушується під час розвитку виявленої клінічно форми захворювання, нині ще не з'ясовано. В умовах надмірної активації Тх1-клітин та секреції запальних цитокінів деструктивні процеси набувають прогресивного розвитку, казеозна маса в гранульомах руйнується під дією протеолітичних ферментів макрофагів. Створюються сприятливі умови для розмноження мікобактерій, і кількість їх у казеозному детриті різко збільшується. Якщо утворені в легенях некротичні порожнини охоплюють альвеоли, хворі стають джерелом збудника інфекції і становлять небезпеку для оточуючих, а якщо збудник проникає в кров, створюються умови для генералізації інфекційного процесу.

Отже, гіперчутливість сповільненого типу, основою якої є активація макрофагів Тх1-клітинами, - це такий вид імунної реактивності, який має як позитивні, так і шкідливі для організму риси. Подібно до інших імунних реакцій реакція ГСТ спрямована на захист організму, однак у зв'язку з участю в ній факторів запального характеру вона нерідко є патологічним компонентом у розвитку локальних інфекційних процесів. Захисний чи патогенетичний ефект реакції ГСТ визнається

ступенем сенсibilізації організму. В умовах помірної сенсibilізації внаслідок розвитку реакції ГСТ створюється бар'єр, який забезпечує локалізацію збудника і протидіє його поширенню в організмі. У разі надмірно високої сенсibilізації реакції ГСТ супроводжуються ушкодженням тканин. Деструктивні процеси в тканинах, що супроводжують гранулематозну реакцію, зумовлюються не прямою дією бактерій, а опосередковуються імунними механізмами.

11.3. ГУМОРАЛЬНА ІМУННА ВІДПОВІДЬ

Гуморальну ланку адаптивної імунної відповіді опосередковують антитіла, які є головними розчинними захисними факторами організму. Зумовлений антитілами імунітет називають *гуморальним*, а процес активації В-клітин і синтезу специфічних імуноглобулінів - *гуморальною імунною відповіддю*.

Антитіла здатні зв'язувати антиген, запобігаючи його поширенню в організмі, нейтралізувати біологічну активність токсинів та запобігати прикріпленню патогенів до рецепторів клітин-мішеней. Ці функції антитіла здатні реалізовувати самостійно. Інші функції антитіл пов'язані із залученням додаткових ефекторних механізмів імунітету. Крім того, антитіла можуть виконувати важливі функції в регуляції імунної

відповіді, процесу запалення тощо.

Виконання різних функцій антитіл пов'язане з різними структурними частинами їхніх молекул: активні центри антитіл відповідають за специфічне розпізнавання антигену, а Fc-фрагмент - за реалізацію ефекторних реакцій.

Вчення про гуморальний імунітет сформувалося ще на початку ХХ ст. В 1904 р. П. Ерліх сформулював гуморальну теорію імунітету, згідно з якою у відповідь на потрапляння антигену з'являються розчинні фактори, які специфічно взаємодіють з антигеном і нейтралізують його біологічну дію. За П. Ерліхом, основою походження специфічності антитіл є селекція антигеном саме тих рецепторів на поверхні антитілоутворювальних клітин, які здатні специфічно зв'язатися з ним. Ця теорія (що дістала назву "теорії бічних ланцюгів") добре співвідноситься з сучасними уявленнями про механізми утворення специфічності антитіл, за винятком того, що антиген селекціонує не окремі рецептори на одній клітині, а цілі клітини, кожна з яких має однакові антигенспецифічні рецептори.

Таку поправку до теорії П. Ерліха зробив у 1959 р. Ф. Бернет, який передбачав, що кожний лімфоцит може продукувати антитіла лише однієї специфічності, і це є генетично запрограмованим процесом. В організмі знаходяться мільйони різних наївних лімфоцитів, які потенційно здатні розпізнавати будь-який антиген. Під час стимуляції наївних лімфоцитів антигеном, до якого вони специфічні, утворюється клон клітин, що несуть антитіла тієї самої специфічності, яку мав їхній попередник. Така експансія активованих антигеном клонів лімфоцитів зумовлює формування специфічного імунітету. Цю теорію Бернета назвали "клонально-селекційною теорією". На теорії Бернета ґрунтується сучасне уявлення про природу виникнення специфічних імунних реакцій не лише гуморального, а й клітинного типу, тобто антигеном селекціонуються не тільки клони специфічних В-лімфоцитів, а й клони специфічних Т-клітин.

У сучасному сприйнятті теорія Бернета має одне істотне доповнення. Як з'ясувалося, не всі клітини клону В-лімфоцитів, що утворилися від однієї клітини-попередника, мають однакову афінність рецепторів. У процесі антигензалежної проліферації та диференціювання афінність імуноглобулінових рецепторів може зростати і ставати більшою, ніж була у попередника клону. Цей процес характерний лише для В-клітин, в яких відбувається переключення класів імуноглобулінів з IgM на інші ізотипи.

Популяція В-лімфоцитів неоднорідна і поділяється на В1- і В2-субпопуляції, які різняться за морфологічними маркерами (див. розд. 1) та за умовами активації й особливостями синтезу антитіл.

В1-клітини відповідають на Т-незалежні, а В2-клітини - на Т-залежні антигени (див. розд. 3). В2-клітини активуються Т-хелперами і для перетворення на АУК потребують когнатної взаємодії з ними,

тоді як В2-клітини активуються безпосередньо антигенами (деякими мікробними субстанціями) і допомоги Т-хелперів не потребують.

Умови активації В1-клітин ще недостатньо вивчені. Вважають, що антиген має надавати такій В-клітині мітогенний сигнал, як, наприклад, це робить АПЦ (Т-незалежний антиген першого типу), або мітогенний сигнал у вигляді розчинних цитокінів можуть забезпечувати деякі типи АПК, тоді як сам антиген перехресно зв'яже велику кількість рецепторів В-лімфоцитів завдяки своїй полівалентності (Т-незалежні антигени другого типу, такі як капсульні поліцукриди бактерій, декстрини тощо).

Відповідь на Т-незалежні антигени, як правило, не супроводжується формуванням клітин "пам'яті" та підвищенням афінності рецепторів. Отже, гуморальну відповідь на Т-незалежні антигени можна розглядати як прояв реакцій неспецифічного захисту. Тому розглянемо процеси під час гуморальної імунної відповіді лише на Т-залежні антигени, основою якої є активація В2-клітин.

Розпізнавання антигену В-лімфоцитами. Наївні В-лімфоцити, що утворилися в кістковому мозку і мігрували з нього на периферію, локалізуються в В-зонах периферичних лімфоїдних органів, де утворюють первинні фолікули (див. розд. 12). В-лімфоцити, що експресують хемокіновий рецептор ССR7, можуть заселяти також Т-зони.

Наївні В-лімфоцити розпізнають антиген за допомогою своїх рецепторів, які представлені антитілами класу М. Після зв'язування з рецептором В-лімфоцит поглинає антиген і представляє його пептидні фрагменти в комплексі з МНС класу ІІ. Однак такий В-лімфоцит не може активувати наївні Т-хелпери, оскільки в нього невисокий рівень експресії молекул В7.1(В7.2), необхідних для надання Т-клітині коштимуляторного сигналу. Лімфоцит у такому стані пасивно представляє антиген, чекаючи на допомогу активованого Т-хелпера, з яким він зможе взаємодіяти.

Постає питання, де наївні В-лімфоцити зустрічаються з антигеном?

В-Клітини, які локалізовані у В-зонах лімфовузлів та селезінки, можуть поглинати антиген, який буде пасивно транспортовано в ці органи. Причому В-клітини лімфовузлів можуть поглинати нативний антиген, який потрапляє туди з течією аферентної лімфи, а В-клітини селезінки "виловлюють" антиген, що циркулює в крові. Надалі можливі кілька варіантів перебігу подій.

Локалізовані у В-зонах В-лімфоцити, які поглинули антиген, виходять із цих зон і прямують у Т-клітинні зони, де активуються відповідними Т-хелперами. Активовані В-лімфоцити повертаються у В-зони, де утворюють зародкові центри, внаслідок чого первинний фолікул стає вторинним.

Можливо, що деякі В-лімфоцити після поглинання антигену залишаються у В-зонах, процесують і представляють антиген, виділяють певні цитокіни, які приваблюють до них активовані Т-хелпери з Т-

зон. Якщо Т-клітини знайдуть і активують відповідні В-лімфоцити у В-зонах, то в первинному фолікулі утворюється зародковий центр і первинний фолікул перетворюється на вторинний.

З антигеном можуть взаємодіяти також В-лімфоцити, які поселилися в Т-зонах лімфовузлів. Такі В-лімфоцити можуть безпосередньо взаємодіяти з Т-клітинами в місці зустрічі з антигеном, а потім емігрувати в В-зону й утворювати зародкові центри.

Можливо, що з деякими полімерними антигенами В-клітини можуть взаємодіяти під час вільної циркуляції в крові, але навряд чи кров є головним місцем зустрічі переважної більшості антигенів з В-лімфоцитами.

Події, пов'язані з розпізнаванням антигену, по-іншому розвиваються в слизових. Наївні В-лімфоцити, які заселяють лімфоїдну систему слизових, зустрічаються з антигеном також у місці своєї локалізації. Далі вони поглинають антиген і мігрують у Т-зони слизових або найближчих мезентеріальних лімфовузлів. Після активації вони мігрують у В-зони, де утворюють зародкові центри, проліферують і диференціюються, а потім повертаються у формі плазмобластів у *Lamina propria* слизових.

Активация В-клітин активованими Т-хелперами. Слід зазначити, що в будь-якому випадку після первинної взаємодії з антигеном В-клітина потрапляє в таку зону вторинних лімфоїдних органів, де можливий контакт з активованими Т-хелперами. Т-Хелпери активують лише ті В-клітини, на поверхні яких представлені пептидні фрагменти антигену у комплексі з МНС II. З'ясувалося, що В- і Т-клітини, які кооперуються під час гуморальної імунної відповіді, розпізнають на молекулі антигену різні ділянки (В- і Т-епітопи), але не одночасно, а послідовно. Спочатку В-клітини розпізнають В-епітопи антигену, потім поглинають його, вилучають із білкової частини антигену антигенні пептиди, презентують їх на своїй поверхні в комплексі з МНС II, а потім Т-хелпери розпізнають ці Т-епітопи.

Розпізнавання Т-епітопів, зв'язаних із МНС II на поверхні В-клітин, призводить до контактної взаємодії мембран Т- і В-клітин. Внаслідок такої взаємодії Т-хелпери активують В-лімфоцити за допомогою мембранозв'язаних і секреторних коstimуляторних молекул. Активация В-клітин за допомогою Т-хелперів потребує встановлення численних контактів між відповідними парами рецепторів та їхніми лігандами на поверхні двох клітин. Деякі відомі ліганд-рецепторні пари, що беруть участь у взаємодії Т- і В-клітин, наведено в табл. 41. Кінцевий результат такої взаємодії залежить від сигналів, які отримує В-клітина. Для утворення В-клітин, здатних формувати зародкові центри, необхідно, щоб антиген перехресно зв'язав імуноглобулінові рецептори, а Т-хелпер надав ліганд CD154(CD40L) для зв'язування з CD40-рецептором В-лімфоцита.

Таблиця 41. Комплементарні молекули Т- і В-клітин, що беруть участь у регуляції активації В-лімфоцитів

Рецептори В-клітин	Ліганди на Т-клітинах	Наслідок міжклітинної взаємодії для В-клітин
MHC II	TкР, CD4	Стимуляція разом з іншими сигналами проліферації, диференціювання та презентації антигену
CD40	CD154 (CD40L)	Проліферація, диференціювання, переключення ізотипів антитіл, продукування цитокінів, захист від апоптозу, здатність формувати зародкові центри й утворювати клітини пам'яті
CD11a-CD18/CD54	CD54/CD11a-CD18	Клітинна адгезія, підсилення презентації антигену та активації клітин
CD72	CD100	Продукування високоафінних IgG та підсилення презентації антигену В2-клітинами
CD134L/OX40L	CD134/OX40	Підсилення продукування IgG
CD27	CD70	Диференціювання на плазмоцити
Cd30/CD153	CD153/CD30	Інгібування В-клітинної відповіді, переключення ізотипів та диференціювання на плазмоцити
CD95/Fas	CD95l/FasL	Індукування апоптозу

За первинної імунної відповіді спочатку ДК активують Т-хелпери, а активовані Т-хелпери (Тх2), у свою чергу, активують В2-лімфоцити. Після активації В-лімфоцити набувають здатності активувати наївні Т-хелпери завдяки індукованій експресії на них коstimуляторних молекул В7.1 (В7.2). Тому виникає позитивний зворотній зв'язок в імунній відповіді, що призводить до різкого збільшення числа активованих лімфоцитів. Вважають, що за вторинної імунної відповіді активація Т-хелперів може відбуватися також на активованих В-клітинах пам'яті, що призводить до більш швидкої та сильної відповіді.

Активовані Т-хелпером В-клітини проліферують і диференціюються на плазматичні клітини (плазмоцити), які виконують функцію продукування антитіл.

Проліферація В-клітин і диференціювання їх на плазматичні клітини. Для того щоб виконати функцію продуцентів антитіл, активовані В-лімфоцити мають пройти багатостадійний процес диференціювання в умовах різного мікрооточення. Кінцевою стадією диференціювання активованих В-лімфоцитів є плазматичні клітини - продуценти антитіл. Слід зазначити, що не всі наївні В-лімфоцити досягають цієї стадії. Якщо В-лімфоцит тривалий час не зустрічається зі специфічним антигеном, він може загинути внаслідок апоптозу. Стимульована антигеном В-клітина проходить 7-8 клітинних циклів перед тим, як стане плазматичною клітиною. Тому від однієї В-клітини потенційно може утворитися клон із 128-256 плазмоцитів, які будуть синтезувати антитіла тієї самої або більшої афінності, ніж мав імуноглобуліновий рецептор наївних В-клітин. При цьому може змінитися

клас і підклас імуноглобулінів, що секретуються. Морфологічні особливості плазматичних клітин описано в розд. 1.

За класом антитіл, що синтезуються, плазматичні клітини можна поділити на IgM-синтезуючі плазматичні клітини та плазматичні клітини, що синтезують усі інші класи імуноглобулінів, які різняться диференціюванням їхніх попередників. Для утворення IgM-синтезуючих плазматичних клітин формування зародкових центрів не потрібно. Ці клітини в своєму розвитку не проходять етапи підвищення афінності рецепторів та соматичного мутагенезу. Їх розмноження здійснюється у "первинних фокусах" Т-зон, звідки вони мігрують безпосередньо у медулярні тяжі, де і відбуваються процеси антитілогенезу. Утворення IgM є дуже важливим для подальшого перебігу імунної відповіді, оскільки IgM дає змогу концентрувати антиген на поверхні ФДК за первинної імунної відповіді, що є необхідною умовою для повноцінного розвитку зародкових центрів.

Плазматичні клітини, що синтезують усі інші ізотипи імуноглобулінів, утворюються з В-лімфоцитів у зародкових центрах вторинних лімфоїдних фолікулів. У своєму розвитку такі В-клітини зазнають більше поділів, ніж В-клітини - попередники IgM-синтезуючі клітин, і потребують більше часу для остаточного диференціювання. Тому первинна імунна відповідь за участю IgG- або IgA-антитіл, розвивається повільніше, але сформовані в зародкових центрах плазматичні клітини можуть продукувати антитіла з підвищеною афінністю до антигену, що зумовлено процесами дозрівання афінності рецепторів під час розвитку цих клітин.

Утворення зародкових центрів. В-клітини можна поділити, як уже зазначалося, на такі функціональні субпопуляції: наївні B1- (IgM⁺CD5⁺CD38⁻CD23⁻) і B2-клітини (IgM⁺CD5⁺CD38⁻CD23⁺), які потенційно здатні реагувати відповідно на тимуснезалежні та тимусзалежні антигени. Крім того, серед B2-клітин виокремлюють клітини, здатні безпосередньо перетворюватися на плазматичні клітини та клітини, які можуть формувати зародкові центри, де відбуваються процеси, пов'язані зі збільшенням афінності та переключенням ізотипу імуноглобулінів. Популяцію B2-клітин, що утворюють зародкові центри, іноді називають B2'-клітинами. Для плазматичних клітин, що є нащадками B2'-клітин, характерна висока кількість мутацій у V-генах легких і важких ланцюгів.

Розпізнавання антигену В-лімфоцитом і взаємодія з активованим Т-хелпером - це перша (індуктивна) фаза гуморальної імунної відповіді. Друга фаза первинної гуморальної відповіді починається тоді, коли активовані В-клітини мігрують у первинні фолікули, де проліферують і утворюють зародкові центри. Зародкові центри утворюють переважно ті В-лімфоцити, які після взаємодії з Т-хелпером можуть експресувати мембранні імуноглобуліни IgD.

Зародкові центри формуються активованими В-лімфоцитами на-

вколо ФДК, що знаходяться у первинних фолікулах В-зон. ФДК експонують на своїй поверхні нативний антиген у формі імунних комплексів і надають В-клітинам сигнали, необхідні для виживання.

Міграції активованих В-клітин у первинні фолікули сприяє хемокін ВЛС, який взаємодіє з хемокіновим рецептором CXCR5 В-лімфоцитів. Деякі Т-хелпери після активації починають експресувати рецептор CXCR5, внаслідок чого вони також мігрують до фолікулів. Такі Т-клітини називають фолікулярними Т-хелперами (Тхф).

У зародкових центрах локалізуються також ІДК, що активують тут Т-хелпери, які, можливо, входять у зародкові центри і підтримують антигензалежну проліферацію В-лімфоцитів.

Морфологічно зародковий центр поділяють на базальну (нижню) та апікальну (верхню) частини (рис. 75). У базальній частині відбувається проліферація В-клітин та відбір репертуару їхніх рецепторів, а в апікальній частині збираються перед виходом уже зрілі плазматичні клітини і клітини пам'яті. Базальна частина має світлу і темну зони. Зовні зародковий центр укритий мантиєю, що складається з В-клітин пам'яті і плазмобластів. Навколо мантиї розміщені Т-лімфоцити, які продукують цитокіни, необхідні для диференціювання В-клітин.

В-клітини зародкових центрів гістологічно можна розподілити на центроцити (sIgD-CD38⁺CD77⁻) і центробласти (sIgD-CD38⁺CD77⁺). У центроцитах відбуваються процеси переключення ізотипів антитіл, а в центробластах активуються процеси соматичного гіпермутагенезу. Центроцити розміщені переважно у світлій зоні зародкових центрів, тоді як центробласти, які активно проліферують, - у темній зоні. У світлій зоні розміщені також ФДК, які забезпечують процес відбору центроцитів. У темній і світлій зонах відбуваються не лише процеси проліферації й відбору, а й активної апоптичної загибелі клітин, що не здатні розпізнати антиген, представлений на ФДК. Апоптичні тільця фагоцитуються розміщеними тут макрофагами.

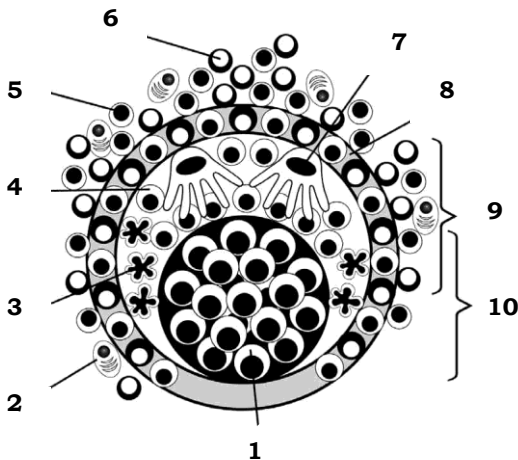


Рис. 75. Будова зародкового центру: 1 - центробласт; 2 - плазматична клітина; 3 - апоптична клітина; 4 - центроцит; 5 - В-клітина; 6 - Т-клітина; 7 - фолікулярна дендритна клітина; 8 - мантия фолікула; 9, 10 - світла і темна зони

У зародкових центрах здійснюється активна проліферація В-клітин, під час якої відбуваються соматичні гіпермутації у V-генах імуноглобулінів та відбираються В-клітини з підвищеною афінністю рецепторів до антигену. Крім того, в зародкових центрах відбуваються процеси переключення константних ділянок важких ланцюгів антитіл, що призводить до зміни ізотипу антитіл, які продукуються.

Переключення синтезу антитіл різних класів. Плазматичні клітини синтезують тільки один певний клас антитіл. Причому переключення ізотипів імуноглобулінів відбувається під час диференціювання активованих В-лімфоцитів у плазматичні клітини. Активацію наївних В-клітин, що експресують лише мембранні IgM-рецептори, можуть зумовити тільки Тх2. Експресія IgD на поверхні В-клітин індукується, коли активований В-лімфоцит знаходиться ще в Т-зоні лімфовузла. Переключення інших ізотипів антитіл відбувається переважно в зародкових центрах після активації В-клітин відповідними Т-хелперними сигналами або безпосередньо після виходу плазмобластів із фолікула.

Переключення ізотипу імуноглобулінів залежить від експресії CD40L молекули на хелперній Т-клітині й спрямовується певними цитокінами. Переключення ізотипів антитіл залежить від наявності цитокінів, які продукують не лише Тх2, а й Тх1 і Тх3. Отже, в зародковій центри крім Тх2, можливо, можуть проникати Т-хелпери інших субпопуляцій або їхні розчинні продукти - цитокіни. Вплив основних цитокінів на синтез різних ізотипів антитіл наведено в табл. 42.

Таблиця 42. Вплив цитокінів на експресію імуноглобулінів різних ізотипів

Цито- кін	Ім.	IgG 3	IgG 1	IgG 2b	IgG 2a	IgE	IgA
ІЛ-4	↓	↓	↑	-	↓	↑	-
ІЛ-5	-	-	-	-	-	-	↑↑↑
ІФН-γ	↓	↑	↓	-	↑	↓	-
ТФР-β	↓	↓	-	↑	-	-	↑

Примітка: ↑ - індукування експресії; ↓ - інгібування експресії; ↑↑↑ - збільшення продукування.

Ізотип антитіл, які синтезує плазматична клітина, залежить від способу проникнення антигену та особливостей мікрооточення В-клітини в лімфоїдному органі, наявності цитокінів і генотипу організму.

Антитіла класу IgG синтезуються переважно плазматичними клітинами, що утворилися в селезінці й функціонують у кістковому мозку, а антитіла класів IgA та IgE - плазматичними клітинами у слизових. Важливо, що в слизові мігрують В-лімфоцити, які пройшли певний розвиток у зародкових центрах, але ще не повністю диференціювалися на плазматичні клітини. Ймовірно, такі плазмобласти можуть змінювати ізотип синтезованих антитіл саме під дією локального мікроочередження в MALT. Переключення синтезу антитіл на IgA відбувається під дією ТФР- β , який виділяють Тх3, а переключення на IgE - під дією ІЛ-4 та ІЛ-5, що можуть секретуватися Тх2, Тх3 та мастоцитами.

Збільшення афінності рецепторів. Майже 40 років минуло з того часу, коли Eisen та Siskind уперше повідомили про феномен *дозрівання афінності імунних рецепторів*, який можна розглядати, поперше, як збільшення афінності рецепторів В-клітин під час перебігу імунної відповіді і, по-друге, як збільшену афінність рецепторів клітин пам'яті порівняно з середньою афінністю ефекторних клітин, що брали участь у первинній імунній відповіді.

Виявилося, що процеси дозрівання афінності відбуваються під час утворення плазматичних клітин та клітин пам'яті у зародкових центрах. Основою цього явища є два процеси - соматичний гіпермутагенез і відбір, які відбуваються у різних зонах лімфоїдного фолікула зародкового центру.

У темній зоні центробласти активно проліферують, при цьому в їхніх V-генах активуються процеси соматичного гіпермутагенезу. Частота соматичних гіпермутацій досягає 2 %, що на 6-8 порядків вище, ніж частота спонтанного соматичного мутагенезу. Гіпермутації відбуваються переважно в гіперваріабельних ділянках, що кодують CDR-райони антитіл. У наслідок цих процесів можуть з'являтися В-клітини, які мають як підвищену, так і знижену афінність до антигену.

Наступний процес — відбір утворених центробластів за здатністю зв'язувати антиген. Відбір відбувається на ФДК, розміщених у світлій зоні зародкового центру. Центробласти стають центроцитами і намагаються зв'язати антиген, фіксований на поверхні ФДК. Після зв'язування з антигеном В-клітини отримують від ФДК "дозвіл" на виживання, який полягає у збільшенні в клітинах антиапоптичного фактора bcl-2. Вважають, що сигнал для виживання В-клітина отримує від корецептора CD21, який зв'язується з певним лігандом на поверхні ФДК. У міру розвитку імунної відповіді кількість В-клітин у зародковому центрі збільшується, а отже, між центроцитами виникає конкуренція за зв'язування з антигеном. Тільки ті В-клітини, що мають найбільшу афінність рецепторів до антигену, зможуть зв'язатися з поверхнею ФДК і продовжити диференціювання на плазмобласти, а всі інші В-клітини гинуть унаслідок апоптозу або повертаються для подальшого розмноження в темну зону, де накопичують нові мутації

в активних центрах своїх рецепторів. Плазмобласти, які мають підвищений рівень експресії bc1-2, емігрують з вторинного лімфоїдного фолікула, заселяють місця в лімфоїдній тканині, в яких вони диференціюються на плазмоцити.

Стадії диференціювання плазматичних клітин. У зародкових центрах формуються плазмобласти, плазматичні клітини та клітини пам'яті. Плазматичні клітини розміщуються в лімфоїдній тканині у місцях синтезу антитіл, а клітини пам'яті рециркулюють.

Перші стадії диференціювання В-клітин під дією антигенного стимулу відбуваються в зародкових центрах лімфатичних фолікулів. Малі В-лімфоцити трансформуються на плазмоцити через стадію великого лімфоцита. Плазматичні клітини проходять у своєму розвитку такі етапи: плазмобласт (15-20 мкм), юний плазмоцит (10-15 мкм) та зрілий плазмоцит (10-12 мкм). З регіонарних лімфатичних вузлів плазмобласти мігрують в інші лімфоїдні органи, де вони диференціюються на плазматичні клітини, що забезпечує генералізацію імунної відповіді.

Мітотичний цикл плазмобластів триває 8-12 год. Після 3-6 поділів плазмобласт переходить у стадію юного плазмоцита, а через 2-4 поділи, що відбуваються впродовж 18-24 год, юний плазмоцит трансформується на зрілий плазмоцит, не здатний до проліферації. Отже, зрілі плазмоцити утворюються через три доби після початку диференціювання В-клітини. Їх число досягає максимуму на четверту-п'яту добу і через кілька днів починає зменшуватися.

Плазмоцити у лімфоїдній тканині формують певні клони, які утворюються в результаті проліферації та диференціювання В-клітини-попередника. Важлива особливість клону - здатність продукувати антитіла з однаковою специфічністю до певного антигену. Всі клітини клону успадковують цю властивість від В-клітини-попередника. В умовах гіперімунізації число плазмоцитів з однаковою специфічністю антитіл, як правило, становить 1-2 % загальної кількості лімфоцитів регіонального лімфовузла. Клітини, що продукують один вид антитіл, розміщені клонами навколо однієї ретикулярної клітини, що свідчить про походження цієї групи клітин від однієї клітини та підтверджує клонально-селекційну теорію Бернета.

Зрілі плазматичні клітини вже не здатні до поділів і дуже стійкі до зовнішніх впливів. Так, опромінення плазмоцитів дозами 10 Гр не впливає на синтез антитіл. Тривалість життя більшості плазмоцитів не перевищує 48 год, і лише частина з них живе в організмі 6 міс. і більше. Однак завдяки високій синтетичній активності (кожний плазмоцит синтезує $(1,25...7,5) \cdot 10^{13}$ молекул антитіл) плазматичні клітини встигають виконати за цей досить короткий час детерміновану їхню функцію як продуцентів антитіл. Специфічні антитіла виявляються в крові на третю-сьому добу після першого контакту з антигеном, а в

разі повторних контактів — значно раніше.

Антигілогенез і функції антитіл. Головними місцями синтезу антитіл є медулярний тяж лімфовузлів, кістковий мозок та *Lamina propria* слизових. У кістковий мозок мігрують переважно плазматичні клітини, що утворилися в селезінці, а в *Lamina propria* — ті клітини, що утворилися в мезентеріальних лімфовузлах або безпосередньо в MALT. Більша частина В-лімфоцитів, що утворилися в лімфовузлах, здійснюють антитілопродукування в медулярному тяжі і лише 10 %, ймовірно, емігрує до кісткового мозку.

Властивості й захисні функції антитіл різних класів докладно описано в розд. 4. Тому лише нагадаємо основні способи елімінації антигенів антитілами та схарактеризуємо Fc-рецептори для антитіл на різних клітинах імунної системи, за допомогою яких реалізуються ефекторні функції, що зумовляються антитілами.

Антитіла різних ізотипів мають різні функції. Наприклад, найбільшу кількість антитіл в організмі становлять антитіла класу IgG та IgA, причому IgG здійснюють переважно захист внутрішнього середовища організму, а IgA — захист слизових.

Транспортні білки, які зв'язують Fc-ділянки, здатні переносити імуноглобуліни IgA та IgM крізь епітелій. Цю функцію виконує полі-Ig рецептор (pIgR) епітеліальних клітин.

Високоафінні IgA і IgG сприяють нейтралізації бактеріальних токсинів та інгібують інфекційність вірусів. Антитіла можуть блокувати здатність бактерій прикріплюватися до клітин хазяїна і запобігати адгезії збудника на епітелії.

Комплекс антигенів з антитілами IgG та IgM може активувати класичний шлях активації комплементу. Це призводить до лізису клітин-мішеней унаслідок формування МАК. Крім того, елімінації антигену сприяє зв'язування з ним антитіл та утворення імунних комплексів, які поглинаються фагоцитами. Цей процес підсилюється комплементом, оскільки фагоцитарні клітини на своїй поверхні несуть рецептори до певних компонентів комплементу.

Багато ефекторних механізмів, які здійснюються за участю антитіл, залежать від Fc-рецепторів, що розпізнають специфічно різні ізо типи імуноглобулінів.

Роль Fc-рецепторів у реалізації ефекторних функцій антитіл. Fc-рецептори експресуються на різних клітинах імунної системи. Зв'язуючи імунні комплекси (рідше - вільні антигени), Fc-рецептори можуть сприяти реалізації ефекторних функцій клітинами, що їх утримують.

Для IgM відомий лише один рецептор Fc μ R, який знаходиться на моноцитах і деяких В-лімфоцитах. На моноцитах він активує фагоцитоз комплексів IgM з антигеном, а на В-лімфоцитах - стимулює антигілогенез.

Відомо три типи рецепторів для IgG: Fc γ RI(CD64), Fc γ RII(CD32) та Fc γ RIII (CD16), які мають кілька ізоформ. Ці рецептори підсилюють фагоцитоз та зумовлюють АЗКЦ. Рецептор Fc γ RII може бути гальмівним рецептором В-лімфоцитів, тобто зв'язування імунних комплексів цими рецепторами може блокувати активацію В-клітин. Fc γ RII наявний також на ФДК, де він здатний зв'язувати імунні комплекси, але не зумовлює їх ендоцитоз.

Рецептор для IgA - Fc α R здатний активувати фагоцитоз, якщо зв'яжеться з мономерним сироватковим IgA. Поліімуноглобуліновий рецептор pIgR здатний зв'язуватися з димерним IgA та пентамерним IgM, що зумовлює трансцитоз цих молекул через епітелій слизових.

Існують два типи рецепторів до IgE: високоафінний Fc ϵ RI та низькоафінний Fc ϵ RII. Рецептор Fc ϵ RI сприяє вивільненню медіаторів запалення мастоцитами і базофілами під час перехресного зв'язування імунними комплексами IgE з антигеном. Рецептор Fc ϵ RII розміщений на поверхні еозинофілів і моноцитів, завдяки чому він може стимулювати фагоцитоз опсонізованих IgE патогенів.

Отже, експресовані на клітинах імунної системи Fc-рецептори, зв'язуючи комплекси антиген-антитіло, можуть не лише підвищувати ефективність опосередкованих цими клітинами ефекторних реакцій імунітету, а й регулювати імунні реакції.

11.4. РЕГУЛЯЦІЯ ІМУННИХ РЕАКЦІЙ. ПРИЗУПИНЕННЯ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ

Завдяки механізмам, що забезпечують можливість постійної зміни клонів лімфоїдних клітин, специфічних до того чи іншого антигену, зберігається постійна готовність лімфоїдної тканини реагувати на будь-який новий антиген, що потрапляє до організму. Принцип зміни клонів забезпечує адаптивність лімфоїдної системи, тобто змогу пристосовуватися до боротьби з різними інфекційними агентами та порушеннями метаболізму власних клітин, зумовлених мутаціями.

Головний механізм, що призупиняє імунну відповідь, - загибель активованих лімфоцитів. Тривалість життя більшості диференційованих ефекторних клітин дуже короткий - кілька діб. Після цього вони гинуть унаслідок апоптозу. Цей тип загибелі клітин називають *клітинною смертю*, що індукується активацією АІСД (від англ. *activation induced cell death*). Якщо в організмі весь антиген буде еліміновано, то АІСД призведе до того, що кількість лімфоцитів в організмі зменшиться до нормального рівня й імунні реакції не відбуватимуться, оскільки нові лімфоцити не будуть активуватися через відсутність антигенної стимуляції.

Крім того, в імунній системі важливу роль відіграють негативні зворотні зв'язки, які можна розглядати як інгібування початкових етапів активації неактивованих клітин продуктами вже активованих

клітин тієї самої популяції. Так, відомо, що велика кількість IgG анти-тіл, специфічних до певного антигену, призводить до гальмування активації В-клітин, специфічних до цього самого антигену. Механізм такого гальмівного впливу полягає у перехресному зв'язуванні FcγRII та BкР (IgM-рецепторів) на поверхні В-клітини, що можливо лише за умови, коли FcγRII- зв'яже IgG тієї самої специфічності, яку має BкР. Молекулярні механізми цього процесу розглянуто у розд. 10.

Відомо, що активовані ЦТЛ експресують мембранну молекулу СТЛА-4, яка є гальмівним рецептором Т-клітин. СТЛА-4, як і CD28, здатний зв'язуватися з B7.1(B7.2) на АПК, але, на відміну від CD28, проводить не активаційний, а гальмівний сигнал. Вважають, що за допомогою цієї молекули ЦТЛ можуть інактивуватися на поверхні АПК, якщо активованих ЦТЛ буде дуже багато. Крім того, СТЛА-4 може продукуватися в розчинному вигляді та блокувати коstimуляторні молекули B7.1 (B7.2) на АПК, необхідні для активації наївних ЦТЛ.

Ще одним важливим механізмом регуляції імунної відповіді є те, що ряд цитокінів та мембранних молекул ТНФ-родини (ТНФ, CD40L, FasL тощо) у великій концентрації призводять не до активації, а до апоптичної загибелі імунних клітин.

Важлива імунорегуляторна роль належить Т-клітинам, що активувалися без достатньої коstimуляторної допомоги і тому зазнали стану анергії. Вважають, що такі анергізовані Т-клітини можуть конкурувати з наївними Т-клітинами за АПК, і це призводить до втрати АПК своїх функцій як активаторів цих клітин. Припускають, що в деяких випадках активовані ЦТЛ можуть вбивати АПК, які їх активували, коли кількість активованих лімфоцитів значно перевищує кількість наївних.

Функцію супресорів імунної відповіді, які раніше виділяли в окрему популяцію Т-клітин, ймовірно, можуть виконувати різні клітини залежно від типу імунної реактивності, яку вони гальмують. Так, Тх1 виявляють супресорні властивості щодо Тх2, і навпаки. Крім того, ЦТЛ, що також поляризовані за цитокіновим профілем, можуть інгібувати відповідні ланки імунної відповіді за аналогічним механізмом.

Вважають, що найбільшу гальмівну активність щодо процесів розвитку імунної відповіді мають АПК, що не здатні експресувати коstimуляторні молекули B7.1(B7.2), але перебувають у стані активації, тобто здатні до взаємодії з наївними Т-клітинами. Індукувати такі супресорні АПК можна *in vitro* за допомогою Т-хелперів або ЦТЛ, які не мають молекули CD28. Отже, фенотип супресорних Т-клітин може бути CD4⁺CD28⁻ або CD8⁺CD28⁻. Чи відбувається така імунорегуляція *in vivo*, належить ще з'ясувати.

Отже, розвиток імунної відповіді контролюється різними регуляторними механізмами, спрямованими на його обмеження. Після вида-

лення антигену ефекторні клітини елімінуються, але залишаються клітини пам'яті, які здатні швидко поповнити кількість ефекторних клітин після наступного потрапляння антигену.

11.5. КЛІТИНИ ПАМ'ЯТІ І ВТОРИННА ІМУННА ВІДПОВІДЬ

Динаміка утворення антитіл за первинної і вторинної імунної відповіді значно різниться, що пов'язано з різною динамікою утворення антитілоутворювальних клітин (АУК) з наївних В-клітин та В-клітин пам'яті.

Під час первинної імунної відповіді утворюється відносно невелика кількість плазмоцитів, але їх кількість значно збільшується під час наступних імунізацій. Наприклад, у процесі первинної стимуляції кролів антигеном сальмонел плазмоцити виявляються в регіонарних лімфовузлах на четверту добу, їх кількість збільшується вдвічі на шосту - восьму добу, а на чотирнадцяту - зменшується до вихідного рівня. Під час вторинної відповіді вони з'являються вже через дві доби, а в період між другою і четвертою добою їх кількість збільшується вдвічі кожні 12 год.

У динаміці утворення антитіл виділяють чотири фази:

- 1) фаза спокою (лаг-фаза, індуктивна фаза) - з моменту надходження антигену в організм до появи антитіл у сироватці крові;
- 2) фаза наростання титру антитіл (лог-фаза, продуктивна фаза) - від появи антитіл до моменту досягнення їх максимальної кількості;
- 3) фаза стабілізації, в якій титр антитіл залишається незмінним;
- 4) фаза зниження рівня антитіл унаслідок виведення їх (у комплексі з антигеном) або завдяки катаболізуванню.

Тривалість кожної фази і рівень антитіл залежить від природи антигену та особливостей організму (за умови використання однакових доз та способу введення антигену).

Повторна імунізація через кілька тижнів або місяців змінює динаміку імунної відповіді. Латентний період і період наростання титру антитіл стають коротшими, а фази стабілізації й зниження титру тривалішими. Титр антитіл значно вищий (у 10 і більше разів), досягає максимуму швидше і зберігається на високому рівні довше. Крім того, підвищується афінність антитіл та спорідненість до антигену.

В складі антитіл переважають IgG, тоді як за первинної імунної відповіді значну частку становлять IgM, синтез яких передуює появі IgG (рис. 76).

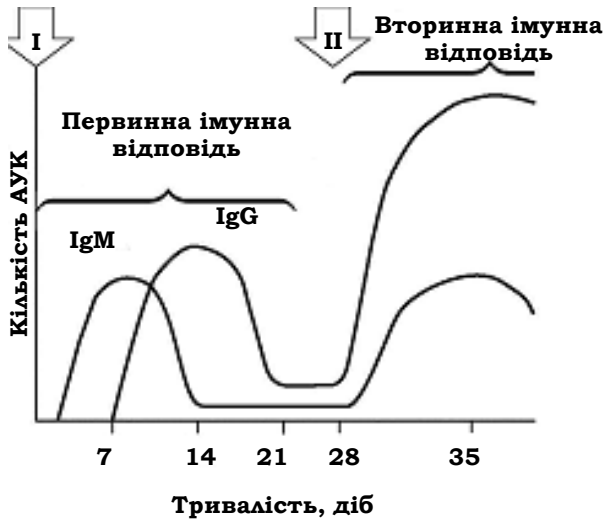


Рис. 76. Динаміка утворення клітин-антитілопродуцентів, що синтезують антитіла класів IgM та IgG, за первинної і вторинної імунної відповіді

Підсилена гуморальна вторинна імунна відповідь на Т-залежні антигени свідчить про утворення в організмі не лише В-клітин пам'яті, а й Т-клітин пам'яті з хелперною активністю.

Прискорений розвиток вторинних клітинних реакцій, таких як відторгнення вторинного трансплантата, свідчить також про утворення Т-клітин пам'яті з цитотоксичною функцією та їхню роль у формуванні вторинної імунної відповіді клітинного типу.

Отже, імунна відповідь клітинного і гуморального типу супроводжується утворенням ефекторних клітин та клітин пам'яті. Основою цих процесів є проліферація і диференціювання антигенспецифічних клонів. Клітини пам'яті можуть бути окремою лінією диференціювання активованих антигеном клітин, що з'являються паралельно з утворенням ефекторів, але в меншій кількості, бо клітини пам'яті — не повністю зрілі ефектори, диференціювання яких припинилося у зв'язку зі зменшенням кількості антигену в організмі. Очевидно, що обидва механізми контролюють утворення різних субпопуляцій клітин пам'яті. Розрізняють клітини центральної пам'яті, або центральні клітини пам'яті, які рециркулюють у лімфі та крові між вторинними лімфоїдними органами, і клітини периферичної пам'яті, або ефекторні клітини пам'яті, здатні активуватися на АПК у тканинах. Клітини центральної пам'яті відрізняються від клітин периферичної пам'яті експресією хемокінового рецептора CCR7, який зумовлює їхній рух до вторинних лімфоїдних органів.

Вважають, що ефекторні Т-клітини пам'яті після зустрічі з антигеном (у периферичних тканинах) у відповідь на активацію швидко

продукують цитокіни або виділяють цитотоксичні гранули, опосередковуючи запальні або цитотоксичні реакції. Центральні Т-клітини пам'яті опосередковують вторинні імунні відповіді до повторно введених (чи тих, що проникли природним шляхом) антигенів.

Хемокінові рецептори, характерні для наївних Т-клітин, на Т-клітинах периферичної пам'яті містяться у значно вищій кількості, ніж на ефекторних Т-клітинах, що підтверджує припущення про те, що Т-клітини пам'яті - попередники ефекторних клітин, які уникли загибелі.

Для диференціювання клітин пам'яті на ефектори потрібна менша кількість сигналів, ніж для наївних клітин, що і зумовлює прискорений розвиток імунної відповіді після наступного потрапляння антигену в організм.

Ще одним поясненням існування тривалого імунітету після імунізації є уявлення про персистенцію антигену на ФДК і ІДК у лімфоїдних структурах упродовж кількох років. Така персистенція антигену потрібна, з одного боку, для підтримування життєдіяльності певних типів клітин пам'яті, а з іншого - дає змогу постійно підтримувати процес активації, що супроводжується проліферацією та диференціюванням, у відносно невеликій кількості наївних Т- і В-клітин.

Завдяки існуванню імунної пам'яті іноді можна спостерігати явище конкуренції антигенів, які були введені послідовно. Це створює певні прогалини в лінії імунного захисту. Відомо, що за вторинної імунної відповіді до реакції переважно залучаються клітини пам'яті, які усувають від участі в цьому процесі наївні клітини, скажімо, конкуренцією за сайти зв'язування на АПК. Це може призводити до несподіваних наслідків. Наприклад, людина, яка щойно перенесла інфекцію грипу, зумовлену вірусом одного штаму, може легко заразитися аналогічним вірусом іншого штаму. Причому в разі зараження новим штамом буде зумовлена імунна відповідь переважно на ті антигенні детермінанти, які є спільними з детермінантами вірусу першого штаму. Особливі, характеристичні епітопи другого штаму розпізнаватимуться гірше, оскільки наївні клітини майже не будуть залучені до імунної відповіді. Отже, розвиток імунної відповіді та створення тривалого імунітету до вірусу другого штаму не таке ефективне, як до вірусу першого штаму.

11.6. ЕФЕКТОРНІ МЕХАНІЗМИ ІМУНІТЕТУ

Антигенспецифічні ефекторні фактори специфічної імунної відповіді (антитіла та Т-лімфоцити) можуть самостійно реалізувати захисні функції нейтралізацією шкідливої дії патогенів чи їхніх продуктів (токсинів) та знищенням власних клітин організму, що змінили антигенні властивості внаслідок інфекції або злоякісної трансформації. Антитіла та продуковані Т-лімфоцитами цитокіни здатні також підсилювати ефекторні механізми природного імунітету - фагоцитоз, компле-

ментзалежний цитоліз, клітиноопосередкований цитоліз. Завдяки високій специфічності щодо антигену зазначені фактори зумовляють вибірковість дії та підвищують ефективність ефекторних механізмів природного імунітету. Взаємодія ефекторних механізмів адаптивного та природного імунітету значно посилює захист організму і забезпечує швидшу елімінацію чужорідних антигенів чи їхніх носіїв.

Нейтралізація як опосередкований антитілами ефекторний механізм. Нейтралізація антигенів за допомогою антитіл - важливий самостійний ефекторний механізм та початковий етап інших ефекторних реакцій. Як самостійний ефекторний механізм нейтралізація реалізується під час взаємодії антитіл з ізольованими антигенними молекулами, наприклад бактеріальними токсинами. При цьому ефективними є антитіла, спрямовані як до функціональної групи в молекулі токсину, що відповідає за прояв ним біологічної дії (токсичного ефекту), так і до акцепторної (рецепторної) групи, що забезпечує його фіксацію на клітині-мішені.

Нейтралізувальна функція антитіл може виявлятися і в їхній здатності блокувати компоненти мікробної клітини, що відповідають за прикріплення її до клітин хазяїна. Ця функція здебільшого властива антитілам, які не спроможні залучати в реакцію інші ефекторні фактори (комплемент, фагоцити, НК-клітини) або ця здатність у них виражена слабко, що може бути зумовлено властивостями самих антитіл (наприклад, відсутністю здатності зв'язувати комплемент) чи ефекторних клітин (відсутністю рецепторів до відповідних антитіл). Так, локалізовані в секретах слизових оболонок антитіла ізотипу sIgA блокують компоненти клітин патогенних мікробів (адгезини), відповідальні за прилипання (адгезію) до епітелію, запобігаючи таким чином розвитку інфекцій, що асоціюються зі слизовими оболонками.

Ефекторні механізми, основані на фагоцитозі. Фагоцитоз можна вважати найважливішим фактором природного імунітету, якому належить провідна роль в антимікробному, зокрема антибактеріальному, захисті. Основою його є розпізнавання фагоцитами за допомогою примітивних (неспецифічних) механізмів патогенних бактерій, поглинання їх і розщеплення за участю бактерицидних факторів (та гідролітичних ферментів). Однак патогенні бактерії використовують найрізноманітніші способи для того, щоб протидіяти розпізнаванню і поглинанню їх фагоцитами або протистояти дії бактерицидних субстанцій усередині фагоцита (докладніше ці способи викладено у розд. 15).

Фактори адаптивного імунітету підвищують ефективність фагоцитарної реакції привнесенням елемента специфічності для розпізнавання об'єктів фагоцитозу або посиленням бактерицидних механізмів. Підвищення ефективності розпізнавання досягається за допомогою опсонізації об'єктів фагоцитозу (бактерій та їхніх токсинів) антитілами субкласів IgG1 та IgG3 та компонентом комплексу С3b (що

фіксується на комплексах антиген-антитіло). Такі опсонізовані об'єкти розпізнаються завдяки наявності на фагоцитах Fcγ-рецепторів (FcγRI - на макрофагах, FcγRII - на нейтрофілах), які зв'язуються з антитілами, та рецепторів для комплементу (СК), що розпізнають переважно C3b.

Основою стимулюючої дії цитокінів на фагоцитоз є підсилення бактерицидних властивостей фагоцитів. Продуковані Tх1-клітинами цитокіни, насамперед ІФН-γ, зумовлюють активацію макрофагів, яка супроводжується посиленням утворення різних факторів бактерицидності, що сприяє вбивству та розщепленню внутрішньоклітинних патогенів.

Антитіла, специфічні до поверхневих антигенів клітин-мішеней, зв'язуючись із ними, утворюють імунні комплекси, які фіксують комплемент і запускають його активацію за класичним шляхом, різко підвищуючи ефективність цитолізу (порівняно із зумовленим активацією комплементу без участі антитіл). Цей механізм цитолізу відіграє основну роль у лізисі еритроцитів під час переливання несумісної крові та під час аутоімунної патології. Однак значення його в антимікробному імунітеті набагато менше, ніж це вважалося раніше, й обмежується, як нині доведено, лише інфекціями, що спричинені збудниками роду нейсерія.

Ефекторні механізми, основані на клітино-опосередкованому цитолізі. Описаний вище механізм цитотоксичності за участю Т-клітин є формою імунного цитолізу, пов'язаною зі специфічним розпізнаванням кілерними клітинами клітин-мішеней. Відомі й інші форми клітино-опосередкованого цитолізу, що ґрунтуються на функціонуванні клітин природного імунітету, ефекторні функції яких значно підсилюються факторами імунної відповіді - антитілами та цитокінами.

Одним із варіантів природного цитолізу, механізми якого "вдосконалюються" антитілами і цитокінами, є НК-цитотоксичність. НК-Клітини використовують зовсім інший механізм розпізнавання клітин-мішеней, ніж цитотоксичні Т-лімфоцити (див. розд. 2). Реалізація обох видів цитотоксичності залежить від експресії на клітинах-мішенях молекул МНС I, однак розпізнавання цих молекул ЦТЛ та НК-клітинами індукує цілком протилежні сигнали -- відповідно "дозвіл" та "заборону" на вбивство. Цитотоксична активність НК-клітин суворо контролюється інгібіторними рецепторами (KIR), що реалізують інгібіторну функцію через розпізнавання аутологічних молекул МНС I.

НК-Клітини ідентифікують клітини-мішені, розпізнаючи своїми рецепторами конститутивно експресовані на їхній поверхні ліганди, наприклад залишки манози на молекулах глікопротеїнів та гліколіпідів, і вбивають їх лише за умови втрати ними (внаслідок інфікування чи трансформації) експресії молекул МНС I (природна НК-

цитотоксичність).

НК-Цитотоксичність може модифікуватися антитілами підкласів IgG1 та IgG3 завдяки наявності на НК-клітинах Fc-рецепторів типу Fc γ RIII (CD16), за допомогою яких кілерні клітини зв'язуються з антитілами, що опсонізували клітину-мішень, активуються і зумовлюють цитоліз (*антитілозалежна клітинна цитотоксичність* - АЗКЦ). Залучення Fc-рецепторів до процесу розпізнавання значно підвищує ефективність цитолізу.

Слід зазначити, що активація НК-клітин як через зв'язування ліганду для Fc-рецептора, так і через взаємодію з численними лігандами під час здійснення природної цитотоксичності залежить від тирозинової протеїнкінази. Однак активаційні сигнали, що надходять цими двома шляхами, різні. У разі АЗКЦ активація НК-клітин залежить від фосфоінозитид-3-кінази, а в разі природної цитотоксичності - від протеїнкінази С. Незважаючи на відмінності в розпізнаванні клітин-мішеней та у трансдукції активаційних сигналів, обидва види цитотоксичності здійснюються НК-клітинами з використанням одного механізму - перфоринзалежного цитолізу.

Цитотоксична активність НК-клітин значно підвищується також під дією цитокінів, насамперед ІЛ-2. Активовані ІЛ-2 НК-клітини, що становлять більшість лімфокінативованих клітин - ЛАК, проліферують, значно підвищуючи свій цитотоксичний потенціал, і набувають здатності зумовити лізис багатьох клітин-мішеней, в тому числі щойно виділених пухлинних клітин деяких типів. Оскільки щойно виділені пухлинні клітини досить часто експресують молекули МНС I і не вбиваються неактивованими НК-клітинами через інгібування клілінгу KIR-рецепторами, то припускають, що ефект ІЛ-2 може зумовлюватися зняттям KIR-інгібування. Отримання ЛАК-клітин унаслідок активації *in vitro* інтерлейкіном 2 лімфоцитів хворого з наступним введенням їх в організм, як сподівалися, буде ефективним способом протипухлинної терапії, однак клінічні випробування поки що бажаних результатів не дали.

НК-Клітини і ЦТЛ відіграють важливу роль у забезпеченні протівірусного та протипухлинного імунітету знищенням інфікованих вірусами та злоякісно трансформованих клітин, функціонуючи як дві складові, що за певних умов доповнюють одна одну.

Ще одним прикладом ефективною сумісної дії факторів набутого і природного імунітету є підвищення цитотоксичності еозинофілів, механізм якої пов'язаний з екзоцитозом гранул і звільненням активних субстанцій (позаклітинний цитоліз). Озброєні антитілами та активовані ІЛ-5, продукованим Тх2, еозинофіли відіграють важливу роль при паразитарних інфекціях, наприклад шистосомозі та ін. Зв'язуючись за допомогою Fc ϵ RII або Fc α RII з опсонізованими IgE або IgA гелмінтами, еозинофіли починають синтезувати та секретувати

токсини (ЕСР, МВР), які уражують патогени. Залученню еозинофілів до місця локалізації гельмінта сприяють медіатори запалення, які звільняються внаслідок дегрануляції базофілів і мастоцитів, активованих зв'язуванням фіксованим на їхній поверхні (на FcεRI) IgE паразитарного антигену.

Таким чином, ефекторні клітини і молекули адаптивної ланки імунної відповіді здійснюють імунний захист як самостійно, так і в поєднанні з ефекторними факторами природної ланки, завдяки чому значно розширюється арсенал ефекторних реакцій імунітету й підвищується їхня інтенсивність.

ВИСНОВКИ

Імунна відповідь - реакція імунної системи на чужорідні агенти, спрямована на видалення їх з організму. Вона включає дві ланки - природну та адаптивну, що формуються послідовно і забезпечуються відповідно неспецифічними та специфічними до антигену факторами. Адаптивна відповідь є наслідком низки метаболічних процесів, що здійснюються в АПК і лімфоцитах, включаючи ідентифікацію антигенних молекул АПК, процесинг і переведення їх у доступну для розпізнавання Т-лімфоцитами форму, активацію антигенспецифічних клонів лімфоцитів і синтез ефекторів (антитіл та клітин) із чіткою реактивністю щодо цього антигену.

Тип адаптивної імунної відповіді залежить переважно від цитокінів, що продукуються АПК та клітинами мікрооточення і спрямовують диференціювання CD4 Т-клітин в Th1 чи Th2, які запускають відповідно розвиток клітинної чи гуморальної імунної реакції. Основою гуморальної імунної відповіді є активація В-лімфоцитів і синтез антитіл. У процесі відповіді відбувається переключення синтезу антитіл з IgM на ефективніші в імунному захисті IgG та IgA (у слизових оболонках), підвищується афінність антитіл - спорідненість їх до антигену. Антитіла реалізують захисну функцію різними способами: блокують здатність патогенів прикріплюватися до клітин хазяїна, нейтралізують токсичні властивості їхніх продуктів, утворюють імунні комплекси, сприяючи швидшому виведенню антигенів з організму.

Клітинна імунна відповідь ґрунтується на функціонуванні Т-кілерів (цитотоксична реакція Т-лімфоцитів) та на діяльності активованих Th1-клітинами макрофагів (реакція гіперчутливості сповільненого типу). Т-Кілери реалізують захисну функцію, вбиваючи інфіковані патогенами або трансформовані клітини-мішені, а активовані Th1 макрофаги - знищуючи внутрішньоклітинні патогени, що паразитують у них.

Синтезовані лімфоцитами антитіла і цитокіни підвищують ефективність механізмів природного захисту. Антитіла активують компле-

мент, сприяючи лізису корпускулярних антигенів (і комплексів антиген-антитіло), опсонізують клітини-мішені фагоцитів і природних кілерів або "озброюють" самі ефекторні клітини, зумовлюючи специфічність і прицільність їхньої дії, а продуковані Т-лімфоцитами цитокини підвищують активність фагоцитів та НК-клітин.

Розвиток імунної відповіді регулюється різними механізмами, які спрямовані переважно на її поступове обмеження паралельно з виведенням антигену. У результаті імунної відповіді утворюються Т- і В-клітини пам'яті, які заміщують виснажені клони лімфоцитів та забезпечують розвиток прискореної й ефективної реакції на повторне проникнення в організм того самого антигену.

Контрольні запитання

1. Які істотні відмінності реакції системи неспецифічного захисту від специфічних імунних реакцій?
2. Які головні шляхи появи антигенів в організмі та способи транспортування їх у лімфоїдні органи?
3. Яку функцію виконують М-клітини в організмі?
4. Чому індукування специфічних імунних реакцій може відбуватися лише в спеціалізованій лімфоїдній тканині та лімфоїдних органах? У чому полягає біологічний сенс уловлювання клонів Т-клітин у лімфатичному вузлі?
5. Яку функцію виконують дендритні клітини та як відбувається ініціювання специфічних імунних реакцій?
6. Які процеси відбуваються з активованими В-клітинами в зародкових центрах?
7. Які головні ефекторні реакції клітинного імунітету?
8. Які ефекторні реакції зумовлюються антитілами?
9. Які механізми задіяні в регуляції імунної відповіді?
10. Чим зумовлена більша ефективність вторинної імунної відповіді порівняно з первинною і в чому вона виявляється?