

РАЗДЕЛ XVI

ЦИТОКИНЫ
И АУТОАНТИТЕЛА К ЦИТОКИНАМ

Часть 1

Е.Н. Супрун

Научно-клинический консультативный центр аллергологии и иммунологии, Москва

Цитокины – универсальные регуляторы жизненного цикла клеток, контролирующие процессы их дифференцировки, пролиферации, функциональной активности и апоптоза.

Напомним, что существует несколько различных классификаций цитокинов, основанных на их строении, функциональной активности, происхождении, типе цитокиновых рецепторов. Исходя из биологических эффектов, принято выделять несколько групп цитокинов.

- Интерлейкины (IL-1 – IL-34) – секреторные белки иммунной системы, обеспечивающие внутрисистемные медиаторные взаимодействия и связь иммунной системы с другими системами организма. Среди их на основе функциональной активности выделяют провоспалительные цитокины, ростовые факторы лимфоцитов, регуляторные цитокины.
- Интерфероны – противовирусные агенты с выраженным иммунорегуляторным действием (интерфероны 1 типа – α , β , δ , κ , ω , τ ; интерфероны 2 типа – γ , группа интерфероноподобных цитокинов – IL-28A (INF- λ 2), IL-28B (INF- λ 3), IL-29 (INF- λ 3)).
- Факторы некроза опухоли – цитокины с цитотоксическим и регуляторным действием: TNF- α , лимфотоксины.
- Факторы роста гемопоэтических клеток – фактор роста стволовых клеток (с-Kit-лиганд, IL -3, IL -7, IL -11, эритропоэтин, тромбопоэтин, ГМ-КСФ, Г-КСФ, М-КСФ).
- Хемокины (СС, СХС (IL -8), СХС3С, С) – регуляторы хемотаксиса различных типов клеток.
- Факторы роста – регуляторы роста, дифференцировки и функциональной активности клеток различной тканевой принадлежности (фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелиальных клеток, фактор роста эпидер-

миса) и трансформирующий фактор роста (ТФР) [1].

Цитокины – это, как правило, гликозилированные полипептиды средней молекулярной массы (меньше 30 кДа), которые вырабатываются клетками иммунной системы и некоторыми другими клетками в ответ на активирующий стимул (патогены, цитокины и др.) и участвуют в реакциях врожденного и адаптивного иммунитета, регулируя их силу и продолжительность. Синтез цитокинов всегда начинается с транскрипции генов. Клетки вырабатывают цитокины в низкой концентрации (пикограммы). Цитокины действуют кратковременно. Их воздействие распространяется на клетки-мишени, находящиеся в непосредственной близости от продуцента. Основное место их активности – межклеточный синапс. Избыточность системы цитокинов проявляется в том, что каждый тип клеток способен продуцировать несколько цитокинов, и каждый цитокин может секретироваться различными клетками. Для всех цитокинов свойственна плеiotропность, или полифункциональность действия. Например, проявление признаков воспаления обусловлена действием IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8. Дублирование функций обеспечивает надежность работы системы цитокинов. Действие цитокинов на клетки-мишени опосредуется высокоспецифичными мембранными рецепторами, представляющими собой трансмембранные гликопротеины, которые состоят более чем из одной субъединицы. Внеклеточная часть рецепторов отвечает за связывание цитокина. Существуют рецепторы, устраняющие избыток цитокинов в патологическом очаге – рецепторы-ловушки. Растворимые рецепторы являются ферментативно отщепленным внеклеточным доменом мембранного рецептора. Растворимые рецепторы способны нейтрализовать цитокины, а

также участвовать в их транспорте в очаг воспаления и выведении из организма.

Цитокины работают по принципу сети. Они могут действовать согласованно – синергизм действий. Примеры синергического взаимодействия цитокинов – стимуляция воспалительных реакций IL-1, IL-6, ФНО- α , TNF- α , а также синтез IgE под действием IL-4, IL-5 и IL-13.

Одни цитокины способны индуцировать синтез других цитокинов – каскад. Каскадность действия цитокинов необходима для развития воспалительных и иммунных реакций. Способность одних цитокинов усиливать или ослаблять образование других служит основой для важных механизмов позитивной и негативной регуляции.

Действие цитокинов может быть антагонистическим: INF- γ тормозит выработку IgE В-лимфоцитами, при увеличении концентрации TNF- α происходит образование IL-6, который может угнетать образование этого медиатора воспаления.

Цитокиновая регуляция функций клеток-мишеней осуществляется по аутокринному, паракринному или эндокринному механизмам. Некоторые цитокины (например, IL-1, IL-6, TNF- α) могут обладать тремя механизмами действия.

Ответ клеток на цитокины зависит от нескольких факторов: типа клеток и их исходной функциональной активности, локальной концентрации цитокина, наличия других медиаторных молекул. Таким образом, клетки-продуценты, цитокины и специфические для них рецепторы на клетках-мишенях формируют единую медиаторную сеть. Именно набор регуляторных пептидов, а не индивидуальные цитокины, определяют окончательный ответ клетки [2].

КЛЕТКИ-ПРОДУЦЕНТЫ ЦИТОКИНОВ

Основную группу клеток-продуцентов цитокинов в адаптивном иммунном ответе составляют Т-хелперы. При распознавании антигена происходит взаимодействие корцепторных молекул CD28 и CD80/86. Т-лимфоциты активируются и индуцируется транскрипция генов цитокинов, трансляция и секреция гликозилированных пептидов в межклеточное пространство. Отметим, покоящиеся клетки не секретируют цитокины.

Дифференцированные Th1-клетки вырабатывают INF- γ , IL-2, IL-3, TNF- α , ГМ-КСФ, усиливающие клеточно-опосредованный иммунный ответ против внутриклеточных патогенов и опухолей. Th1 и секретируемые ими цитокины также участвуют в развитии аутоиммунных процессов клеточного типа. Дифференциальные Th2-клетки вырабатывают типичные для них цитокины (IL-4, 5, 6, 9, 10, 13, 21, 23, ГМ-КСФ), усиливающие гуморальный иммунный ответ и участвующие в аллергических реакциях, противогельминтном ответе, гуморальных аутоиммунных процессах. Цитокины Th1 и Th2 негативно регулируют активность Th, их продуцирующих. IL-4, IL-10 подавляют функцию Th1. INF- γ угнетает выработку Th2-клетками IL-4.

Выбор пути дифференцировки между Th1 и Th2 определяется природой антигена, действием IL-12 и IL-4, регулирующих белки STAT4 и STAT6 соответственно. Под влиянием бактериальных, вирусных агентов и сигналов опасности активируются TLR, индуцирующие синтез IL-12 дендритных клеток, что в дальнейшем активирует STAT4 и транскрипционный фактор T-bet, который запускает Th1-ответ лимфоцитов. В ряде случаев (СПИД, туберкулез, малярия, вирусные инфекции, действие ингибиторов: глюкокортикостероидов, витамина D3, IL-10, простогландина E) нарушается образование IL-12. Th2-клетки дифференцируются главным образом при действии IL-4, который может синтезироваться тучными клетками и базофилами в ответ на проникновение аллергенов. Дифференцировка Th2-клеток находится под контролем STAT6 и транскрипционного фактора GATA-3. В развитии из CD4⁺ клеток Th17 участвуют IL-1 β и IL-2.

Во врожденном иммунитете основными продуцентами цитокинов служат клетки миелоидного ряда. В результате распознавания молекулярной структуры различных патогенов с помощью паттернраспознающих рецепторов запускается внутриклеточный сигнальный каскад, приводящий к экспрессии генов двух основных групп цитокинов – провоспалительных и интерферонов типа I: IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , ГМ-КСФ, INF, хемокины и др., индуцирующих развитие воспаления и участвующих в защите организма от бактериальных и вирусных инфекций.

Клетки соединительной ткани, эпителия, эндотелия спонтанно, т.е. без антигенной стимуляции, конститутивно секретируют аутокринные факторы роста и цитокины, поддерживающие пролиферацию гемопоэтических клеток [2].

КЛЕТКИ-МИШЕНИ

Действие цитокинов на клетки-мишени опосредованно через специфические рецепторы, связывающие цитокины с очень высокой аффинностью. Каждый цитокин взаимодействует со своим специфическим рецептором.

Рецепторы цитокинов – трансмембранные белки пяти различных типов. Первый тип – гемопоэтиновые рецепторы, которые имеют два внеклеточных домена, один из которых содержит общую последовательность аминокислотных остатков, который состоит из двух повторов триптофана и серина, разделенных любой аминокислотой. Второй тип рецепторов может иметь два внеклеточных домена с большим количеством консервативных цистеинов – рецепторы семейства IL-10 и INF. Третий тип представлен рецепторами цитокинов, относящихся к группе фактора некроза опухоли. Четвертый тип рецепторов цитокинов относится к суперсемейству иммуноглобулиновых рецепторов, имеющих внеклеточные домены, сходные по строению с доменами молекул иммуноглобулинов (пример, IL-1 рецептор). Пятый тип рецепторов представлен трансмембранными белками, семикратно пронизывающими клеточную мембрану. Рецепторы цитокинов могут существовать в растворимой форме, сохраняя способность связывать лиганды.

Связывание цитокина с рецептором вызывает его димеризацию, что приводит к фосфорилированию и активации Jak-киназы, которая способствует фосфорелированию и последующей димеризации STAT-киназы. STAT-киназа связывается с промоторным участком генов цитокинов и индуцирует их экспрессию.

Цитокины могут влиять на пролиферацию, дифференцировку, функциональную активность и апоптоз клеток-мишеней. Существует несколько вариантов проявления биологической активности цитокинов в клетках-мишенях в зависимости от участия различных внутриклеточных систем в передаче сигнала от рецептора. В проведении сигнала к апоптозу участвует специфиче-

ский домен рецепторов группы фактора некроза опухоли – так называемый домен смерти. Дифференцировочные сигналы передаются с участием внутриклеточных белков семейства STAT (сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции). В передаче сигнала от хемокиновых рецепторов участвуют G-белки (ГТФ-связывающие сигнальные белки), что приводит к усилению миграции и адгезии клеток.

Многочисленные эффекты Th1-клеток опосредуются плеiotропным действием ИНФ- γ . ИНФ- γ усиливает фагоцитоз, микробицидную активность макрофагов, выработку ими провоспалительных цитокинов, усиливает процессинг и презентацию антигенов макрофагами и дендритными клетками. ИНФ- γ индуцирует активацию НК-клеток, созревание цитотоксических лимфоцитов и опсонизацию внеклеточных патогенов с помощью IgG, синтез которых усиливается при действии этого цитокина на В-лимфоциты.

Одно из основных биологических свойств IL-4, IL-13, секретируемых Th2, – их способность стимулировать пролиферацию активированных антигеном В-лимфоцитов. Механизм действия IL-4 связан с переключением синтеза изотипов иммуноглобулинов с IgM на IgE и IgG4. Этот цитокин служит фактором роста для базофилов, тучных клеток и эозинофилов. IL-4, IL-13 участвуют в иммунопатогенезе многих аллергических заболеваний. IL-5 отвечает за развитие эозинофилии. IL-4, IL-5, IL-13 играют важную роль в патогенезе астмы. Избыточное образование в тканях IL-4, IL-13 при паразитарных инвазиях вызывает серьезные патологические изменения. Кроме того, IL-4, IL-13 вызывают альтернативную активацию макрофагов, индуцируя экспрессию маннозного рецептора, хемокинов CCL17, CCL18, CCL22.

Секретируемый Th2-лимфоцитами человека, IL-9 действует на кроветворные клетки-предшественники, преактивные Т- и В-лимфоциты, лабораторно доказано его влияние на дифференцировку тучных клеток у мышей [1].

ЦИТОКИНЫ И ВОСПАЛЕНИЕ

По характеру воздействия на воспалительный процесс цитокины подразделяются на провоспалительные (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , IL-12) и противовоспалительные (IL-4, IL-10, TFP- β).

На местном уровне цитокины отвечают за последовательные этапы развития адекватного ответа на внедрение патогена, его локализацию и удаление, активацию метаболизма соединительной ткани, стимуляцию пролиферации фибробластов и клеток эпителия, т.е. заживление повреждений и восстановление целостности ткани.

Распознавание патогена нейтрофилами и макрофагами происходит при участии Toll-подобных рецепторов. В первые сутки в очаге воспаления преобладают нейтрофилы, затем преобладает количество моноцитов и макрофагов. Макрофаги способны вырабатывать IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α – провоспалительные цитокины. В клетках воспалительного экссудата под влиянием IL-1 возрастает концентрация продуктов метаболизма фосфолипидов – простагландины, тромбоксан, тромбоцитактивирующий фактор, что приводит к расширению стенок кровеносных сосудов. С повышением локального уровня IL-1 усиливаются процессы дегрануляции. Под действием TNF- α увеличивается количество молекул адгезии на эндотелиальных клетках сосудов, что способствует привлечению лейкоцитов в очаг воспаления; происходит активация клеток, участвующих в воспалительной реакции; увеличивается количество молекул главного комплекса гистосовместимости на поверхности инфицированных клеток, что способствует их разрушению цитотоксическими клетками.

При контакте с микроорганизмами цитокины могут выделять и другие клетки: НК-клетки и Т-лимфоциты – ИНФ- γ , базофилы – ИЛ-4.

Следующий этап воспаления, который развивается при несостоятельности местной иммунной защиты, это системная воспалительная реакция или острофазовый ответ на системном уровне. Провоспалительные цитокины влияют почти на все органы и системы организма, вовлеченные в систему гомеостаза.

Действие провоспалительных цитокинов на ЦНС снижает аппетит, изменяет поведенческие реакции. Начало воздействия цитокинов на терморегуляторный центр гипоталамуса сопровождается повышением температуры тела. Повышение температуры уменьшает способность ряда бактерий к размножению и усиливает пролиферацию лимфоцитов.

В печени под влиянием цитокинов усиливается синтез белков острой фазы и компонентов системы комплемента, но ослабевает интенсивность синтеза альбумина.

Изменение ионного состава плазмы крови при развитии системной воспалительной реакции: снижается уровень железа, что угнетает пролиферацию бактериальных клеток; увеличивается уровень цинка, что необходимо для образования биологически активного сывороточного фактора тимуса – одного из тимических гормонов, обеспечивающих дифференцировку лимфоцитов [2].

Влияние цитокинов на кроветворную систему связано с существенной активацией гемопоэза, увеличением количества лейкоцитов и их функциональной активности, усилением свертываемости [3].

В иммунной системе цитокины осуществляют взаимосвязь между реакциями врожденного и адаптивного иммунитета, координируя их активность при уничтожении патогенов.

На уровне организма цитокины осуществляют связь между иммунной, нервной, эндокринной, кроветворной и другими системами и вовлекают их в формирование единой защитной реакции и ее регуляцию.

ЦИТОКИНЫ – САМОРЕГУЛИРУЮЩАЯСЯ СИСТЕМА

Избыточная экспрессия цитокинов небезопасна для организма и может привести к развитию чрезмерной воспалительной реакции, острофазового ответа. В регуляцию выработки провоспалительных цитокинов вовлечены различные ингибиторы. Например, для IL-1 описан ряд молекул, неспецифически связывающих цитокин и препятствующих проявлению его биологического действия – α 2-макроглобулин, компонент комплемента C3, уромодулин. Специфическими ингибиторами IL-1 могут выступать растворимые рецепторы-ловушки, антитела и рецепторный антагонист IL-1. При развитии воспаления происходит усиление экспрессии гена, кодирующего рецепторный антагонист IL-1. В норме этот антагонист присутствует в циркуляции в высокой концентрации (до 1 нг/мл и более), блокируя действие эндогенного IL-1.

Появление цитокинов в кровотоке сразу приводит к увеличению синтеза стероидных гормо-

нов, усилению синтеза рилизинг-факторов, стимуляции продукции гормонов клетками коры надпочечников. Как известно, стероидные гормоны – одни из наиболее сильных иммуносупрессоров. Они блокируют синтез цитокинов и не позволяют их уровню превысить предельных значений. Это служит эффективным механизмом отрицательной обратной связи для контроля гиперпродукции цитокинов [2].

Необходимо отметить, что агрессивный воспалительный ответ организма-хозяина при некоторых инфекционных заболеваниях представляет даже большую проблему, чем сама инфекция. Так, у пациентов с молниеносной грамотрицательной бактериальной инфекцией развивается тяжелое клиническое состояние – сепсис, приводящий к септическому шоку с полиорганной недостаточностью и высокой смертностью. В патогенезе играют роль следующие факторы. Повреждающее воздействие цитокинов на эндотелий сосудов и альвеолярный эпителий легких приводит к затруднению диффузии кислорода через альвеолярно-капиллярную мембрану и резко снижает выработку сурфактанта. В результате развивается острый респираторный дистресс-синдром, приводящий к прогрессирующей кислородозависимой гипоксемии. Кроме того, цитокины стимулируют тромбообразование, которое при их системном действии способно вылиться в развитие синдрома диссеминированного свертывания крови (ДВС-синдром). Во-вторых, медиаторы воспаления и цитокины (в частности, $\text{TNF-}\alpha$) способствуют гиперпродукции клетками эндотелия сосудов оксида азота (NO), молекулы которого обладают мощным сосудорасширяющим эффектом. Действие оксида азота на сосуды дополняется третьим основным патогенным эффектом цитокинов – их влиянием на сердечную мышцу, которое проявляется аритмиями и ослаблением сократительной способности миокарда.

Сочетание всех этих повреждающих факторов в большинстве случаев приводит к гибели организма. Таков, к сожалению, весьма вероятный итог генерализации воспалительного процесса и развития «цитокиновой бури» в организме, который не смог локализовать первичный воспалительный очаг.

В подобных случаях эффективны препараты, направленные на подавление действия цитокинов. Эти препараты могут угнетать синтез или секрецию цитокинов, связываться с секретируемыми цитокинами, с его рецептором на клетке-мишени или блокировать передачу сигнала с цитокинового рецептора.

Измерение содержания цитокинов в сыворотке представляет одну из потенциальных возможностей оценки воспалительных реакций. Действительно, они являются основными медиаторами иммунного ответа, во многом определяя его направление. Их соотношение и динамика их содержания теоретически позволяют описать иммунный статус и определить фазу и прогноз заболевания.

Цитокины осуществляют преимущественно паракринные взаимодействия, и содержание большинства из них в системной циркуляции непостоянно и рассматривается как вторичное явление. Диагностическое значение определения цитокинов возрастает при их исследовании непосредственно в очаге специфического воспалительного процесса. С этой целью используется определение цитокинов в жидкостях полостей и секретах, таких как синовиальная и цереброспинальная жидкость, слюна, моча, отделяемое из хирургических дренажей. В связи с этими особенностями действия цитокинов, их концентрация в биологических жидкостях, таких как спинномозговая или синовиальная, имеет большую ценность по сравнению с определением цитокинов в сыворотке крови [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // *Цитокины и воспаление*. – 2004. – Т.3, № 2. – С. 16–23.
2. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. *Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии*. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 633 с.
3. Фрейдлин И.С., Шейкин Ю.А. *Эндотелиальные клетки в качестве мишеней и продуцентов цитокинов* // *Медицинская иммунология*. – 2001. – Т.3, № 4. – С. 499–514.
4. Лапин С.В., Тотолян А.А. *Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний*. – С-Пб.: Человек, 2010. – 272 с. ■