

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ИММУНИТЕТА У ПТИЦ

Алиев А.С., профессор, д-р вет. наук, Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины
Алиева А.К., ассистент, канд. биол. наук, Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена

Устойчивое благополучие промышленного птицеводства в значительной степени обеспечивается эффективной специфической профилактикой инфекционных заболеваний. В настоящее время для этого широко используют живые и инактивированные вакцины, имеющие как преимущества, так и недостатки. Известно, что формирование напряженного и продолжительного иммунитета определяется не только свойствами используемой вакцины, но и интенсивностью иммунного ответа, развитие которого регулируется цитокинами - сигнальными полипептидными медиаторами иммунной системы.

Цитокины - низкомолекулярные пептиды, выделяемые различными типами клеток, которые определяют межклеточные и межсистемные взаимоотношения, регулируют выживаемость клеток, стимуляцию или подавление их роста, дифференциацию, функциональную активность и апоптоз, а также обеспечивают согласованность действий иммунной, эндокринной и нервной систем в норме и в ответ на патологические воздействия. Цитокины вызывают клеточные иммунные реакции посредством стимуляции: аутокринной (стимуляции клеток, которые их продуцируют), интокринной (стимуляции внутри клеток продуцента), паракринной (стимуляции клеток, расположенных вблизи) и эндокринной (стимуляции клеток, расположенных на расстоянии). Образование и секреция этих высокоактивных молекул происходят кратковременно и строго регулируются.

Основная биологическая активность цитокинов связана с регуляцией иммунного ответа, в которой они играют ведущую роль. Эта активность определяется специфическими мембранными рецепторами, которые экспрессируются во всех известных

типах клеток. Цитокины обладают чрезвычайно высокой активностью в диапазоне от пико- до фемтомолярных концентраций. Их биологический эффект реализуется через взаимодействие со специфическим рецептором, локализованным на клеточной цитоплазматической мембране.

Белки-рецепторы цитокинов - это структуры, состоящие из большого количества субъединиц, которые связывают лиганды и в то же время функционируют как сигнальные трансдукторы. Взаимодействие между различными сигнальными системами позволяет проводить разные стимулы в клетке при различных физиологических условиях.

Цитокины действуют посредством рецепторного механизма и лишены специфичности в отношении антигенов. В связи с этим специфическая диагностика инфекционных заболеваний с помощью определения уровня цитокинов невозможна. Тем не менее, определение их концентрации в крови дает информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень и о прогнозе заболевания.

В нормальных условиях цитокины находятся в неактивном или слабоактивном состоянии. В случае возникновения инфекции или иной патологии цитокиновая сеть резко активируется. Реализация механизмов естественной резистентности в месте внедрения патогена приводит к развитию местной воспалительной реакции. При неэффективности местной защиты происходит интенсивный выброс цитокинов на системном уровне, определяя развитие системного острофазового ответа. Несколько позднее включаются специфические факторы и механизмы иммунореактивности, в запуске и координации которых решающую роль



также имеют цитокины, в частности ИЛ-2. Возникновение цитокинового дисбаланса, а также продуцирование патогенами токсинов и молекул, связывающих, ингибирующих или имитирующих активность отдельных цитокинов, приводит к регуляторной дезорганизации иммунной системы. Иммунный ответ направляется по неадекватному для защиты от патогенов пути, что способствует прогрессированию инфекционного процесса.

Цитокины обладают следующими свойствами: избыточностью - одни и те же цитокины вырабатываются клетками различных типов; плейотропностью - одни и те же цитокины могут действовать на различные клетки мишени; синергизмом - для развития некоторых иммунных реакций необходимо совместное действие разных цитокинов; антагонизмом - одни цитокины могут подавлять действие других; каскадностью - при развитии иммунного ответа способность одних цитокинов усиливать или ослаблять продукцию других цитокинов обеспечивает реализацию важных активирующих или супрессорных регуляторных функций.

Все цитокины, а их в настоящее время известно более 30, по структурным особенностям и биологическому действию делятся на несколько групп. По механизму действия цитокины можно разделить на следующие группы: провоспалительные, обеспечивающие мобилизацию ответа на воспалительный процесс; противовоспалительные, ограничивающие развитие воспаления (интерлейкины); регуляторы клеточного и гуморального иммунитета (естественного или специфического), обладающие собственными эффекторными функциями (противовирусными, цитотоксическими).

К цитокинам относятся: интерфероны, интерлейкины, хемокины, факторы некроза опухоли (ФНО), колониестимулирующие факторы.

Интерфероны (ИФН) - это низкомолекулярные белки (протеины и гликопротеины), продуцируемые клетками организма при внедрении в него вирусов и других микроорганизмов и при использовании интерферогенных средств, обладающих противовирусными, противоопухолевыми и/или иммуномодулирующими свойствами. Молекулы интерферонов принято обозначать буквами греческого алфавита (альфа, бета и гамма) в зависимости от клеток продуцентов (лейкоцитов, фибробластов, лимфоцитов): лейкоцитарный (α -интерферон, продуцируется В-лимфоцитами), фибробластный (β -интерферон, синтезируется фибробластами) и иммунный (γ -интерферон, выделяется Т-лимфоцитами).

Интерфероны являются важным фактором защиты макроорганизма на первых этапах развития вирусных инфекций и в процессе манифестации вирусного инфекционного процесса.

В настоящее время у птиц известны I и II типы интерферонов. Тип I (ИФН- α/β) вырабатывается мононуклеарными клетками и фибробластами, зараженными вирусами. Тип II (ИФН- γ), продуцируют Т-лимфоциты и естественные клетки-киллеры. ИФН- α и ИФН- β преимущественно участвуют в формировании противовирусного иммунитета, а ИФН- γ - это плейотропная молекула, которая в той или иной степени влияет на все стадии воспалительного процесса и иммунного ответа. Как I, так и II типы ИФН были выделены

(клонированы) от кур.

Известно, что неспецифическая защита организма от вирусов (внутриклеточных паразитов) реализуется двумя путями. Первый - захват и уничтожение вирусов вместе с зараженными ими клетками с помощью цитотоксических клеток-киллеров. Распознав на поверхности зараженной клетки чужеродные антигены, клетки-киллеры впрыскивают в такую клетку-мишень содержимое своих цитоплазматических гранул, куда входит ФНО, протеолитические и липолитические ферменты, а также другие молекулы, повреждающие клетку-мишень. Результатом атаки киллеров, как правило, является гибель клетки-мишени вместе с внутриклеточными паразитами. Второй механизм неспецифической противовирусной защиты связан с интерфероном, который синтезируется клеткой-продуцентом в ответ на заражение вирусом. Клетка-продуцент выделяет (секретирует) молекулы интерферона, которые соединяются с соответствующими рецепторами на поверхности клеток, зараженных вирусом. Как в любом другом случае, взаимодействие цитокина (в данном случае интерферона) со специфическим рецептором влечет за собой передачу внутриклеточного сигнала к ядру клетки. В клетке активизируются гены, ответственные за синтез белков и ферментов, препятствующих самовоспроизведению вируса в этой клетке. Таким образом, интерферон блокирует биосинтез вирусных частиц в зараженной клетке. Это позволяет при вирусных инфекциях использовать препараты интерферона в качестве лечебных.

Активированные γ -интерфероном макрофаги пополняют ресурсы клеток-киллеров, но только при участии специфических противовирусных антител, которые образуют своеобразные мостики между макрофагами и зараженными клетками-мишенями. Специфический ответ на вирусные антигены неизбежно инициирует популяцию Т-клеток-помощников, которые в ответ на активацию начинают усиленно синтезировать и секретировать интерлейкин-2 (ИЛ-2). А этот цитокин известен своей способностью резко активизировать клетки-киллеры. Интерлейкин-2 обладает относительно узким спектром мишеней среди иммунокомпетентных клеток. Основные из них - активированные Т- и В-лимфоциты и естественные киллеры (НК-клетки), для которых он является фактором роста и дифференцировки. ИЛ-2 воздействует также на моноциты, несущие рецептор для ИЛ-2 на своей поверхности, усиливая генерацию активных форм кислорода и перекисей. Его действие может быть прямым и опосредованным. ИЛ-2 работает на всех стадиях противодействия инвазии этиопатогенов. При болезнях бактериальной этиологии в самом начале инфекции в борьбу включаются фагоцитирующие клетки - нейтрофилы и макрофаги. Первый сигнал к мобилизации эти клетки получают от самих бактерий-агрессоров в виде молекул их токсинов. Действие микробных токсинов на соответствующие рецепторы служит сигналом активации многих генов в геноме клеток макрофагов. При этом активируется продукция цитокинов - молекул, которые служат для связи макрофагов с другими клетками. Под влиянием цитокинов усиливается прилипание циркулирую-

ших лейкоцитов к эндотелию сосудов, их выход из сосудов и мобилизация в очаге инфекции. Те же цитокины усиливают антибактериальную активность фагоцитов. Если фагоцитирующие клетки не справляются с очищением очага инфекции от бактерий, интерлейкин-1 (ИЛ-1) выполняет роль межклеточного сигнала, вовлекающего в процесс активации Т-лимфоциты и включающего механизмы специфического иммунного ответа.

Активированные Т-лимфоциты пополняют ресурсы противовоспалительных цитокинов, синтезируя γ -интерферон, активирующий макрофаги. Существенную помощь фагоцитирующим клеткам в борьбе с бактериями оказывают продукты В-лимфоцитов - специфические антитела-иммуноглобулины. Взаимодействуя с антигенами бактерий, антитела как бы подготавливают бактерии для фагоцитоза, делая их более «удобоваримыми».

Колониестимулирующий фактор (КСФ) - полипептидный фактор роста, регулирующий деление и дифференцировку костномозговых стволовых клеток и клеток крови. У птиц, как и у млекопитающих, известны и детально изучены четыре КСФ, получившие название от типа клеток, на которых они действуют. Мульти-КСФ или интерлейкин-3 (ИЛ-3) индуцирует развитие макрофагов, гранулоцитов, эозинофилов, тучных клеток и эритроидных клеток. Макрофагальный КСФ (М-КСФ) и гранулоцитарный КСФ (Г-КСФ) способствуют выживанию, пролиферации и дифференциации макрофагов и гранулоцитов соответственно. Гранулоцитарно-макрофагальный КСФ (ГМ-КСФ), взаимодействуя с миелоидными клетками-предшественниками стимулирует деление и дифференцировку их в нейтрофилы или макрофаги. Оказалось, что препараты неочищенных цитокинов птиц проявляют *in vitro* кроветворные эффекты, сходные с эффектами, вызываемыми Г-КСФ, М-КСФ и ГМ-КСФ млекопитающих. На сегодняшний день у птиц клонирован только миеломоноцитарный фактор роста кур (МФРк), который участвует в дифференциации преимущественно мононуклеарных клеток костного мозга. По своей структуре МФРк имеет сходство с человеческим Г-КСФ и интерлейкином-6 (ИЛ-6). Введение *in ovo* рекомбинантного МФРк увеличивает количество регенерирующих клеток костного мозга у суточных цыплят с последующим увеличением числа моноцитов в периферической крови и усилением их функциональной активности. Аналогичный эф-

фект продолжительностью 15 суток имеет место при введении однодневным цыплятам рекомбинантного МФРк с помощью вектора вируса оспы птиц.

В ответ на инфекцию или повреждение тканей запускается обеспечивающий раннюю защиту каскад неспецифических процессов (острофазовая реакция), ограничивающих действие повреждающего фактора в первичном очаге. Острофазовая реакция начинается после активации как местных фагоцитарных, так и неиммунных клеток (фибробластов и эпителиальных клеток) и выработки ими провоспалительных цитокинов: интерлейкинов 1, 6 и 12 (ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-12) и ФНО. Эти цитокины действуют синергично, вызывая локальный и системный иммунный ответ на повреждающий фактор. Местные реакции, развивающиеся вследствие влияния продукции провоспалительных цитокинов, включают в себя повышение проницаемости сосудистой стенки, индуцирование экспрессии адгезивных молекул на эндотелии сосудов, индуцирование локальной выработки хемокинов, а именно ИЛ-8, для привлечения специфической популяции лейкоцитов к очагу инфекции. Системный ответ, опосредованный провоспалительными цитокинами, проявляется лихорадкой, выработкой острофазных белков в печени и выделением КСФ эндотелиальными клетками, что приводит к гемопоэзу и временному повышению способности соответствующих лейкоцитов противостоять инфекции.

Механизмы взаимодействия клеточного и молекулярного звеньев, как при воспалении, так и формировании иммунитета, направлены на защиту организма от патогенов, что контролируется сложной системой цитокинов.

В заключение отметим, что использование природных и рекомбинантных цитокинов, обладающих широким спектром иммуномодулирующего и адьювантного действия, является новым подходом к решению проблемы профилактики и лечения инфекционных заболеваний в современном промышленном птицеводстве. Цитокины действуют не отдельно сами по себе, а выполняют функцию стимуляторов или антагонистов других цитокинов, формируя сеть или каскад цитокиновых реакций, контролируемых локальный или системный клеточный иммунный ответ. Вместе с тем следует избегать упрощенного рассмотрения процессов, вызываемых цитокинами, учитывая сложность и противоречивость их действия на организм.