

Л.С. Намазова-Баранова^{1, 2}, Е.А. Вишнева¹

¹ Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Современный взгляд на иммуномодулирующую терапию

Контактная информация:

Вишнева Елена Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела стационарозамещающих технологий, врач аллерголог-иммунолог отделения восстановительного лечения детей с аллергическими болезнями и заболеваниями органов дыхания НИИ профилактической педиатрии и восстановительного лечения Научного центра здоровья детей РАМН

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2/62, тел.: (495) 967-14-12

Статья поступила: 20.12.2011 г., принята к печати: 25.01.2012 г.

В статье рассматривается одна из наиболее обсуждаемых тем клинической иммунологии — роль дендритных клеток в приобретенном иммунитете. Современные представления о роли дендритных клеток в процессах обработки антигена и его презентации, о взаимодействии с другими клетками, участвующими в иммунных процессах, позволили принципиально изменить подход к иммуномодулирующей терапии и разработать принципиально новый класс иммуномодуляторов, позволяющих одновременно воздействовать на гуморальное и клеточное звенья иммунной реакции как в местах внедрения антигена на уровне слизистых оболочек, так и системно.

Ключевые слова: дендритные клетки, иммуномодуляторы, пидотимод.

143

3 октября 2011 г. Нобелевский комитет в Стокгольме присудил Нобелевскую премию по физиологии и медицине Брюсу А. Бетлеру (Bruce A. Beutler) и Жюлю А. Хоффманну (Jules A. Hoffmann) за открытия, связанные с механизмами активации врожденного иммунитета, и Ральфу М. Стейнмену (Ralph M. Steinman) за открытие дендритных клеток и изучение их роли в приобретенном иммунитете. В их исследованиях отражены механизмы активации неспецифического и приобретенного иммунного ответа. Полученные данные определили новые возможности в разработке методов профилактики и лечения различных болезней.

Двадцатый век принес нам немало открытий в области иммунной системы: мы знаем, например, как устроены антитела и как Т клетки распознают чужеродные вещества. Однако до работ Бетлера, Хоффманна

и Стейнмена механизмы, вызывающие активацию неспецифического иммунитета и обуславливающие взаимодействие между врожденным и приобретенным иммунитетом, оставались загадкой.

В 1973 г. Ральф М. Стейнмен (Ralph M. Steinman) открыл новый тип клеток, которые он назвал дендритными. Ученый предположил, что дендритные клетки могут быть важны для иммунной системы и решил выяснить, могут ли они активировать Т клетки — ключевые компоненты адаптивного иммунитета, ответственные за иммунологическую память о большом числе различных веществ. В экспериментах на клеточных культурах Стейнмен показал, что в присутствии дендритных клеток Т клетки демонстрируют ярко выраженный ответ на эти вещества. Результаты его экспериментов были встречены научным сообществом с некоторым скептицизмом, но последующие работы ученого доказали, что

L.S. Namazova-Baranova^{1, 2}, E.A. Vishneva¹

¹ Scientific Centre of Children's Health RAMS, Moscow

² Sechenov First Moscow Medical University

Modern approach towards immunomodulation therapy

This article covers one of the most discussed issues of clinical immunology — the role of dendritic cells in acquired immunity. Modern conception of dendritic cells participating in antigen handling procedure and its presentation, interaction with other immune cells made it possible to change approach towards immunomodulating therapy dramatically and to develop a new class of immunostimulants, that influence simultaneously cell and humoral immunity both in loci of antigen intervention on the mucosal level and systemically.

Key words: dendritic cells, immunostimulants, pidotimod.

дендритные клетки обладают уникальной способностью активировать Т клетки.

Ральф М. Стейнмен родился в 1943 г. в Монреале (Канада), где изучал биологию и химию в Университете МакГилла (McGill University). После окончания Гарвардской медицинской школы (Harvard Medical School) в Бостоне (США) в 1968 г. получил степень доктора медицины. С 1970 г. сотрудничал с Университетом Рокфеллера (Rockefeller University) в Нью-Йорке. С 1988 г. — профессор иммунологии, позднее — директор Центра иммунологии и иммунных заболеваний (Center for Immunology and Immune Diseases) Университета Рокфеллера. Умер 30 сентября 2011 г. за три дня до присуждения ему Нобелевской премии. Несмотря на правило, по которому Нобелевская премия может быть присуждена только ныне здравствующему ученому, решением Нобелевского комитета она была сохранена за Ральфом Стейнменом и стала частью его наследства.

Основное бремя заболеваемости в детской популяции приходится на респираторные инфекции: на их долю приходится до 90% случаев обращений к врачу первичного звена [1]. Особенно высока заболеваемость среди детей с сопутствующей соматической патологией, аллергическими болезнями, а также среди юных спортсменов.

Чаще всего «воротами» для микробных патогенов являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей. В норме механизмы неспецифической (врожденной) и адаптивной защиты препятствуют проникновению потенциальных патогенов. Слизистые оболочки содержат большое число клеточных и гуморальных факторов, действующих как самостоятельно, так и совместно с другими компонентами системы иммунобиологического надзора.

Иммунный ответ на уровне слизистых оболочек определяется в большей мере видом антигена, составом антиген-презентирующих клеток и микроокружением.

Дендритные клетки слизистой оболочки, являясь высокоспециализированными антиген-презентирующими клетками, играют важную роль в процессах захвата, обработки и презентации антигена лимфоцитам. Они обеспечивают взаимодействие механизмов неспецифического и адаптивного иммунитета, управляют активацией и направленностью специфического иммунного ответа [2].

Дендритные клетки — это гетерогенная популяция антиген-презентирующих клеток костно-мозгового происхождения. Морфологически они представлены крупными клетками круглой, овальной или полигональной формы, с эксцентрически расположенным ядром и многочисленными разветвленными отростками мембраны. Дендритные клетки экспрессируют набор поверхностных молекул, характерных для других антиген-представляющих клеток. К числу основных среди них относят:

- рецепторы для компонентов клеточной стенки и нуклеиновых кислот микроорганизмов, в т.ч. рецепторы к компонентам комплемента и Toll-подобные рецепторы (TLR);
- молекулы II класса гистосовместимости (MHC II);
- костимулирующие молекулы CD 40, B7 1/2 (CD 80, CD 86), B7-DC, B7-H1;
- молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1).

Выделяют две субпопуляции дендритных клеток:

- миелоидные; они происходят из общего миелоидного гемопоэтического ростка; локализуются в различных органах и тканях, где захватывают микроорганизмы, чужеродные белки путем фаго- и пиноцитоза, а затем экспрессируют антиген в комплексе с молекулами MHC II класса. Миграция этих клеток в регионарные лимфоузлы стимулирует пролиферацию и дифференцировку антиген-специфических Т лимфоцитов и активацию иммунного ответа. Специфическими маркерами миелоидных дендритных клеток крови являются молекулы BDCA-1, BDCA-3. В ответ на стимуляцию индукторами созревания миелоидные дендритные клетки продуцируют преимущественно цитокины Th1 спектра, включая ИЛ 6, ИЛ 12, ФНО α и ИНФ γ, экспрессируют TLR 2, 6 и 8.
- плазмоцитоидные; это клетки лимфоидного происхождения, морфологически напоминающие плазматические клетки. Это основная субпопуляция дендритных клеток крови, экспрессирующих TLR 9, лигандами которого являются CpG-олигонуклеотиды бактериальной ДНК. Плазмоцитоидные клетки секретируют в большом количестве интерфероны I типа (при противовирусном иммунном ответе), ИЛ 4 и ИЛ 10, которые переключают дифференцировку наивных Т хелперов (Th 0) в Th 2 типа. К маркерам плазмоцитоидных дендритных клеток относят молекулы BDCA-2, BDCA-4.

Дендритные клетки являются наиболее эффективным связующим звеном при активации врожденного и приобретенного иммунитета [2]. Презентация антигенов Т лимфоцитами — одна из основных функций дендритных клеток. Они также контролируют дифференцировку Т лимфоцитов, регулируя активацию и супрессию иммунного ответа. Больше всего дендритных клеток находится в тканях, которые соприкасаются с внешней средой, например в толще эпителиального слоя слизистой оболочки кишечника, респираторного, желудочно-кишечного и урогенитального трактов, а также рыхлой соединительной ткани (подслизистая основа слизистой оболочки tela submucosa).

Дендритные клетки поглощают антигены, обрабатывают их и представляют на своей поверхности в комплексе с MHC I или MHC II классов. Только в таком виде Т клетки способны распознать антиген с последующим развитием ответной иммунной реакции. В зависимости от типа патогена дендритные клетки способны направлять дифференцировку наивных Th 0 в Th 1 типа, Th 2 типа, регуляторных Т клеток или же Th 17.

Результаты исследований указывают на то, что степень зрелости дендритных клеток играет важную роль в инициации и стимулировании иммунного ответа [3]. Незрелые дендритные клетки обладают высокой способностью к захвату антигенов, но слабой способностью стимулировать Т лимфоциты [2]. После первого контакта с патогеном дендритные клетки претерпевают фенотипические и функциональные изменения, дифференцируясь в зрелые клетки, что приводит к повышению активности специфических белков, участвующих в презентации антигена и активации Т лимфоцитов, включая главный комплекс гистосовместимости и костимулирующие молекулы.

кулы CD 40, CD 80 и 86. Они также повышают активность хемокинового C–C рецептора 7 (CCR7), необходимого для осуществления процесса миграции ДК.

Учитывая эссенциальную роль дендритных клеток в процессе иммунного ответа, поиск веществ, способных влиять на созревание ДК, изменять активность данных клеток, в т.ч. оказывать стимулирующий эффект и оказывать регулирующее действие, представляется несомненно важным. Особенно актуальным является понимание механизма мобилизации дендритных клеток слизистых оболочек при активации иммунного ответа против инфекций, передающихся через слизистые оболочки.

Особое внимание специалистов привлекают так называемые группы риска по развитию острых респираторных инфекций и их осложнений: дети, пожилые люди и лица с иммунодефицитными состояниями. Риск развития инфекционной патологии в данных группах выше, что может быть обусловлено как общими возрастными, так и индивидуальными особенностями иммунного реагирования на различные антигены и потребовать профилактической и терапевтической иммунной коррекции [4].

В указанных группах также описано снижение уровня иммунного («антительного») ответа на введение вакцин, что связано, главным образом, со снижением способности неспецифического иммунитета адекватно реагировать на воздействие антигенов и развивать иммунный ответ [5].

Сочетанное применение различных иммуномодулирующих препаратов — широко применяемая стратегия, направленная на повышение местного (на уровне слизистой) и системного иммунного ответа [6, 7] и способствующая развитию более выраженного иммунного ответа, включающего как гуморальный, так и клеточный иммунитет. Однако в настоящее время известно лишь небольшое число препаратов, обладающих иммуномодулирующей активностью и свойствами адъювантов на уровне слизистой.

Одним из таких препаратов является пидотимод (Имунорикс). Препарат представляет собой синтетическую молекулу (3-L-пироглутамил-L-тиазиолидин-4-карбоксильная кислота), обладающую значительными иммуномодулирующими свойствами *in vitro* и *in vivo* [8]. Его способность индуцировать иммунный ответ при вирусных и бактериальных инфекциях была продемонстрирована в ряде контролируемых клинических исследований. При пероральном применении он повышает резистентность к вирусным инфекциям [9] и увеличивает активность противовирусных препаратов к рекуррентным респираторным инфекциям [10–12].

Исследование С. Giagulli с соавт. [13] доказало способность пидотимода индуцировать созревание незрелых ДК, полученных из моноцитов человека, воздействовать на продукцию цитокинов и стимулировать пролиферацию и дифференцировку CD 4+ Т лимфоцитов в клетки Th 1 фенотипа. Кроме того, в экспериментальных работах с использованием животных моделей, была показана способность этого вещества влиять на созревание дендритных клеток и выступать в качестве фактора, повышающего эффективность презентации антигена [13].

Для исследования воздействия пидотимода на созревание дендритных клеток моноциты CD 14+ челове-

ка сначала культивировали с ГМ-КСФ и ИЛ 4 в течение 6 сут для индукции дифференцировки в типичные незрелые клетки. На этом этапе отмечалось снижение экспрессии молекулы CD 14, характерной для других клеток иммунной системы, таких как моноциты, макрофаги и нейтрофилы, и повышение активности антигенов HLA-DR и CD 86 (CD 14-/HLA-DR+/CD 86), более характерных для дендритных клеток. Затем клетки культивировали в течение 24 ч с добавлением или без добавления 1 мкг/мл пидотимода. При анализе под световым микроскопом клетки, культивированные в присутствии пидотимода, имели фенотип, характерный для зрелых дендритных клеток и сопоставимый с фенотипом, индуцируемым при обработке липополисахаридом. При молекулярно-генетических исследованиях показано, что воздействие пидотимода в течение 24 ч приводило к повышению уровня экспрессии HLA-DR, CD 83 и CD 86 у 20, 15 и 10%, соответственно.

Таким образом, пидотимод способен вызывать фенотипическое созревание дендритных клеток путем повышения уровня экспрессии поверхностных маркеров, играющих ключевую роль во взаимодействии с клетками адаптивного звена иммунитета, а также индуцировать высвобождение высоких концентраций провоспалительных цитокинов MCP-1 и ФНО α . Дендритные клетки, обработанные пидотимодом, продуцируют значительно более высокие количества MCP-1 и ФНО α , чем необработанные клетки: зафиксирован рост на 180 и 450% для MCP-1 и ФНО α , соответственно ($p < 0,01$). Т лимфоциты, культивированные совместно с незрелыми дендритными клетками, обработанными пидотимодом, секретируют значительно большее количество Th1 цитокина — ИФН γ ($p < 0,01$).

Для оценки адъювантной способности пидотимода вводили совместно с антигеном ОВА (овальбумин в фосфатно-солевом растворе) [13]. Мыши линии C57BL/6 (H-2b), имеющие генетически детерминированный дефицит ИФН γ , были интраназально иммунизированы ОВА отдельно (50 мкг/доза) и в сочетании с пидотимодом (100 мкг/доза) на 0, 14 и 21-е сут. В группе мышей, получавших пидотимод в сочетании с ОВА, наблюдалось значительное повышение титра ОВА-специфических антител уже после однократной поддерживающей иммунизации.

К окончанию протокола иммунизации титр ОВА-специфических антител был приблизительно в 35 раз выше у животных, привитых ОВА в сочетании с пидотимодом, по сравнению с животными, получавшими ОВА отдельно. После интраназальной иммунизации не было обнаружено изменений поведения у мышей, получавших пидотимод, по сравнению с животными, получавшими только овальбумин. Сочетанное применение белка ОВА и пидотимода стимулировало выработку спленоцитами и клетками костного мозга ИФН γ . Наблюдалось значительное увеличение числа клеток костного мозга, секретировавших IgG, IgG1, IgG2b и ОВА-специфический IgG и IgG1 у мышей, интраназально иммунизированных ОВА в комбинации с пидотимодом, по сравнению с мышами, иммунизированными только ОВА. При этом число спленоцитов, секретирующих общие и ОВА-специфические антитела класса IgG, не возросло.

Проведенное исследование выявило новый факт: пидотимод как иммуномодулирующий агент оказал иммуномодулирующее действие на важнейшее звено иммунного ответа — дендритные клетки. Представленные свойства пидотимода делают возможным его применение в качестве молекулы-адьюванта при разработке методов управления иммунным ответом.

Нанесение вакцины на слизистую оболочку — один из эффективных методов достижения системного и местного иммунного ответа в месте входных ворот инфекции, являющегося первой линией защиты. Однако антигены,

наносимые на слизистую оболочку, как правило, обладают слабой иммуногенностью. В связи с этим, с целью потенцирования эффективности местного и системного иммунного ответа, необходимо их введение в сочетании с адьювантами. Антиген-специфический иммунный ответ, индуцируемый пидотимодом, также может играть важную роль в контроле над инфекционным процессом и дает объяснение многим клиническим наблюдениям активности пидотимода при профилактике и/или контроле инфекций верхних и нижних дыхательных путей у взрослых и детей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Steinman R.M., Banchereau J. Taking Dendritic Cells into Medicine // *Nature*. — 2007; 449: 419–426.
2. Харит С.М., Начарова Е.П., Намазова-Баранова Л.С. и соавт. Эффективность пидотимода для профилактики респираторных заболеваний у детей // *Детские инфекции*. — 2010; 4: 32–36.
3. Sheng K.C., Pietersz G.A., Wright M.D. et al. Dendritic cells: activation and maturation applications for cancer immunotherapy // *Curr. Med. Chem.* — 2005; 12: 1783–1800.
4. Аллергия у детей: от теории к практике / под ред. Л.С. Намазовой-Барановой. — М.: Союз педиатров России, 2010–2011. — 668 с.
5. Donnini A., Argentari K., Mancini R. et al. Phenotype, antigen-presenting capacity, and migration of antigen-presenting cells in young and old age // *Exp. Gerontol.* — 2002; 37: 1097–1112.
6. Rharbaoui F., Drabner B., Borsutzky S. et al. The mycoplasma-derived lipopeptide MALP-2 is a potent mucosal adjuvant // *Eur. J. Immunol.* — 2002; 32: 2857–2865.
7. Fiorentini S., Becker P.D., Marini E. et al. HIV-1 matrix protein p17 modulates in vivo preactivated murine T-cell response and enhances the induction of systemic and mucosal immunity against intranasally co-administered antigens // *Viral. Immunol.* — 2006; 19: 77–88.
8. Riboldi P., Gerosa M., Meroni P.L. Pidotimod: a reappraisal // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* — 2009; 22 (2): 255–262.
9. Marelli P., Lupetti A., Senesi S. et al. Potenzamento della resistenza alle infezioni virali e batteriche dopo somministrazione di Pidotimod nel topo // *Drugs. Exp. Clin. Res.* — 1993; 19: 15–21.
10. Careddu P., Biolchini A., Alfano S., Zavattini G. Pidotimod in the prophylaxis of recurrent acute tonsillitis in childhood // *Adv. Otorhinolaryngol.* — 1992; 47: 328–331.
11. Careddu P. Role of immunoactivation with pidotimod in recurrent respiratory infections in childhood // *Drug. Res.* — 1994; 44: 1506–1511.
12. Aivazis V., Hatzimichail A., Papachristou A. et al. Clinical evaluation and changes of the respiratory epithelium function after administration of pidotimod in Greek children with recurrent respiratory tract infections // *Minerva Pediatr.* — 2002; 54: 315–319.
13. Giagulli C., Noerder M., Avolio M. et al. Pidotimod promotes functional maturation of dendritic cells and displays adjuvant properties at the nasal mucosa level // *Int. Immunopharmacol.* — 2009; 9 (12): 1366–1373.

Из истории медицины



Морганьи Джованни Баттиста

Морганьи Джованни Баттиста. 250 лет патологической анатомии

Возможность изучения патологических изменений органов человеческого тела

появилась в XV–XVII вв. благодаря развитию научной анатомии. Значительную роль в создании метода анатомического исследования, описании строения важнейших органов и их взаиморасположения сыграли в середине XVI в. работы А. Везалия, Г. Фаллопия, Р. Коломбо и Б. Евстахия. В начале XVII в. в употребление вошел термин «общая патология» для обозначения системы представлений о сущности и причинах болезни.

Патологическая анатомия получила развитие в XVIII в. благодаря выходу в свет трудов, принципиально отличавшихся новизной методов исследования.

Морганьи Джованни Баттиста (1682–1771), итальянский врач, доктор медицины и философии, профессор практической медицины Болонского (с 1706 г.) и Падуанского (с 1711 г.) университетов. Прославился уникальными исследованиями в области анатомии, результаты которых изложил в *Анатомических записках (Adveraria anatomica omnia, 1719)*. Основываясь на результатах вскрытия, описал многочисленные патологии, аномалии, опухоли разных органов. Стремился не только излагать основы патологических

процессов, но и давать сведения о патогенезе, симптоматике и диагностике соответствующих болезней. Главной работой ученого признают труд «О местонахождении и причинах болезней, выявленных анатомом» (*De sedibus et causis morborum per anatomiam indigatis, 1761*), в котором изложены основы патологической анатомии как науки. Основанная более чем на 700 примерах, она объединяет анатомию, патологическую анатомию и клиническую медицину за счет тщательного сопоставления клинических наблюдений с данными вскрытия. Кроме того, Морганьи ввел в теорию болезней концепцию патологического изменения органов и тканей, описал многие анатомические структуры.

В том же 1761 г. Дж. Б. Морганьи впервые описал трихоцефалез — гельминтоз из группы нематодозов, характеризующийся поражением органов желудочно-кишечного тракта и нервной системы, коарктацию аорты — врожденное сегментарное сужение грудной аорты, а также артериальную аневризму головного мозга.

Материал подготовила Е. Зайцева