

УДК: 612.68.014.3:577.73:612.67

Маслянюк Р.П., професор, д.б.н.,
Романович М.С., асистент, к.вет.н.,
Флюнт Р.Б., асистент, к.вет.н.,
Матвіїшин Т.С., асистент[©]

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З.Гжицького*

РОЛЬ АПОПТОЗУ В ІМУННІЙ СИСТЕМІ ТВАРИН

У статті узагальнено сучасні дані літератури про роль і механізми апоптозу клітин імунної системи у тварин.

Ключові слова: апоптоз, імунна система, тварини.

Структурно-функціональна постійність тканин і органів біологічних систем, в тому числі імунної, підтримують збалансовані процеси відмирання та відновлення клітин. В процесі еволюції були розроблені універсальні механізми регулювання та контролю клітинної загибелі і регенерації.

Згідно сучасних уявлень прийнято виділяти два основних типи клітинної смерті: апоптоз і некроз. Стосовно апоптозу, то вперше цей термін з'явився в літературі в 1950 році у зв'язку з відкриттям лізосомних ферментів Де Дювом, який висунув концепцію клітинного суїциду з використанням вмістимого лізосом. У 1971 році Керр описав особливий тип некрозу, що характеризується різким зменшенням об'єму клітин, немов стиснення її і назвав такий вид загибелі «стиснутим некрозом». Лише через рік (1972) Керр і співавтори запропонували для цього типу «смерті» клітин термін «apoptosis», що з грецького означає «листопад».

Що стосується некрозу, то цей термін «necrosis» був відомий давно, ще до часів Галена. Вперше гістологічний опис смерті клітин опублікував у 1859 році Вірхов. Він використав терміни «регенерація», «загибель клітин» як синоніми гангрені.

Апоптоз – запрограмована загибель клітин – це активний двофазний енергозалежний процес, який знаходиться під генетичним контролем.

У першу фазу (латентну) у відповідь на різні стимули та сигнали, зв'язані з пошкодженням ДНК (вірусна інфекція, радіація, токсикоз, усунування чи посилення гормонів росту, що невластиве експресії генів) клітина «присуджує себе» до «самогубства». Дія цієї фази коливається від декількох годин до кількох днів.

У другу фазу (активну) – клітина зазнає серії морфологічних і функціональних змін, кульмінацією яких є загибель клітини протягом декількох хвилин. Апоптоз починається з конденсації ядерного хроматину по периферії ядра, зменшенням його (пікноз), його фрагментація (каріорексис), відтак настає конденсація, ущільнення клітинних органел, зменшення об'єму

© Маслянюк Р.П., Романович М.С., Флюнт Р.Б., Матвіїшин Т.С., 2010

цитоплазми, мембрани набувають пухирчастий вигляд, надалі відбувається відбруньковування фрагментів клітини з утворенням опоптозних тілець, оточених мембраною та містять ущільнені залишки органел і ядра. Апоптозні тілця утилізуються макрофагами або сусідніми фагоцитами, при цьому запальна реакція не розвивається, що виключає пошкодження інших клітин.

У 1994 році Фарбер запропонував наступну класифікацію запрограмованої загибелі клітин:

- запрограмована загибель клітин відбувається в онтогенезі у ході нормального ембріогенезу та/або метаморфозу;
- фізіологічно запрограмована загибель клітин настає внаслідок різних дій на органи та тканини, а також загибель клітин відновлюючих популяцій, зокрема клітин лімфоїдної та міелоїдної тканини.

Згідно сучасних даних руйнування лімфоцитів шляхом апоптозу важливий момент у функціонуванні імунної системи в цілому. Індукує апоптоз алель гена p53 (wt53). Це ген-супресор, який запобігає пухлинну трансформацію клітин. Мутантні алелі гена p53 – проонкогени вс1-2 і вс7-х - блокують апоптоз, в результаті чого клітина втрачає здатність до альтруїстичного суїциду, тобто загибелі внаслідок дії агентів різної природи, в результаті розвивається пухлина. Деякі види вірусів, зокрема ДНК-містимий вірус гепатиту В, аденовіруси, віруси герпеса та ін. інгібують програму апоптозу клітин. Запобігання апоптозу відіграє важливу роль в механізмі латентної інфекції, особливо вірусного походження. Вірусний ген LMP-1, який виробляється при латентності, специфічно регулює вміст білка вс1-2, забезпечуючи виживання латентно інфікованих клітин. Пригнічення апоптозу у вірусмістимих клітинах пояснює механізм персистенції вірусу в організмі та може стати основою розвитку онкопатології. Наприклад, гепатит В, при якому спостерігається пригнічення апоптозу в гепатоцитах, може переходити у хронічні, персистуючі форми гепатиту в людей, часто співпадає з наступним розвитком гепатокарциноми [2, 9].

В основі розвитку аутоімунних захворювань лежить порушення функції молекули Fas/APO-1 та її лігандів. Нездатність до усунення аутореактивних клітин у процесі розвитку лімфоцитів може привести до аутоімунних хвороб. Однією з критичних молекул у регулюванні загибелі лімфоцитів є поверхневий клітинний рецептор Fas-важливий компонент сімейства рецепторів TNF (tumor necrosis factor). Стимуляція Fas у активованого лімфоцита приводить до індукції апоптозу. Встановлено, що при втраті чи пригніченні функції цієї молекули у мишей спостерігається дефект, подібний зі системним червоним вовчаком людини та характеризується нагромадження Т-лімфоцитів у периферичній крові та лімфовузлах з посиленою продукцією аутоантитіл [3, 10].

Апоптоз відіграє істотну роль у розвитку Т-клітин різних субпопуляцій. У тимусі, де відбувається дозрівання Т-лімфоцитів, тимоцити піддаються позитивній і негативній селекції. Позитивна селекція полягає у відборі клітин з фенотипом TCR⁺ CD⁺ CD8⁺, які несуть диференціюючі антигени CD, CD8 та клітинний рецептор, здатний зв'язуватися з антигенами МНС (головним

комплексом гістосумності) класів I і II на антигенпредставляючих клітинах тимусу. Такі клітини виживають, а решта гинуть шляхом апоптозу [7].

Негативна селекція полягає в елімінації клітин, які мають TCR, специфічні по відношенню до власних антигенів організму, що представлені в тимусі. Таким чином, створюється природна толерантність до «свого», основою якої є виведення клонів аутореактивних Т-лімфоцитів шляхом апоптозу.

Після завершення диференціювання Т-лімфоцити, які володіють TCR специфічний до чужорідних для організму антигенів, покидають тимус і розселюються в периферичних органах імунної системи. Експресія генів *vs1-2* і *Fas* на лімфоїдних клітинах має фазний характер.

Незрілі тимоцити на ранніх стадіях розвитку (TCR-CD4-CD8) і зрілі Т-клітини (TCR+ CD4+ і CD8+) володіють найвищим рівнем експресії гена *vs1-2* та слабкою експресією гена *Fas/AP0-1*.

Оновлення лімфоцитів відбувається зі швидкістю порядку 10^6 клітин на хвилину, причому джерела їх поповнення різні. Біля 20% лімфоцитів, які циркулюють у крові неактивні, що утворилися в кістковому мозку та не мали контакту з антигенами «незаймані». Решта 80% - нащадки зрілих, активних, імунних лімфоцитів, які проконтактувалися з антигеном і перетворилися в клітини пом'яті. Незаймані лімфоцити або гинуть протягом 2-3 днів, або зустрічають специфічний антиген свого існування місяцями або роками. З віком число імунних лімфоцитів зростає, а число незайманих знижується [7].

В організмі тварин виділяють 2 великі популяції лімфоцитів: Т- і В-клітини. Лімфоцити обох популяцій розвиваються в кістковому мозку; у птахів В-лімфоцити формуються у бурсі фабриціуса із загальних клітин-попередників, з наступним їх розселенням у інші органи для подальшої диференціації: Т-лімфоцити – в тимус, В-лімфоцити – в селезінку, лімфатичні вузли, пейерові бляшки та солітарні фолікули слизових оболонок.

Більшість (80%) циркулюючих лімфоцитів крові представлено Т-клітинами в складі 3-х субпопуляцій: Т-гелпери, Т-супресори та Т-кілери, оскільки власне вони ведуть найбільш рухливий спосіб життя, постійно контролюючи антигенний гомеостаз, розпізнаючи та видаляючи з організму все чужорідне [1, 2, 7].

В-лімфоцитів у крові всього біля 10%, більша частина їх перебуває в кістковому мозку у ссавців, і бурсі фабриціуса у птахів.

Решта біля 10% складають недиференційовані, так звані «нульові» лімфоцити, що знаходяться в крові тимчасово по шляху з кісткового мозку до місць подальшої диференціації.

Різниця функції Т- і В-лімфоцитів в імунній системі дозволяє виділити дві ланки – клітинний імунітет, зв'язаний з Т-клітинами і гуморальний, опосередкований В-лімфоцитами та їх розчинними продуктами – антитілами.

Серед органів імунної системи (ІС) розрізняють – центральні органи: тимус і кістковий мозок у ссавців; тимус і bursa фабриціуса у птахів. До периферичних органів ІС відносять: селезінку, лімфовузли, лімфоїдні фолікули

слизових оболонки і інші скупчення лімфоїдної тканини, де реалізуються імунна відповідь на антигени.

Головна функція Т-лімфоцитів – розпізнання чужорідних антигенів із наступним їх знищенням (самостійним, у випадку цитотоксичних лімфоцитів, або за допомогою інших клітин – макрофагів і В-лімфоцитів – у випадку Т-гелперів). Найбільший інтерес у цьому зв'язку представляє структура Т-клітинного антигенрозпізнаючого рецептора (TCR). Це структура, що складається з α і β -ланцюгів, кожний з них має дві ділянки, які формують антигенрозпізнавальний центр.

Ефекторами гуморального імунітету є імуноглобуліни. Це білки сироватки крові, які синтезуються в плазматичних клітинах і утворюють при електрофорезі фракцію γ -глобулінів [1].

Первинні етапи дозрівання В-лімфоцитів та їх диференціація відбувається в кістковому мозку, де більша частина їх гине шляхом апоптозу внаслідок такої ж селекції. Під контролем цього процесу знаходиться ген *Bcl-2*, у периферичних лімфоїдних органах зрілі В-клітини також піддаються селекції. Після зустрічі з чужорідним антигеном вони переносяться в лімфоїдні фолікули лімфовузлів і селезінки, проліферують, а відтак відбувається селекція лімфоцитів, та набувають імуноглобулінових рецепторів, з високою спорідненістю до антигенів. Клітини з низькою спорідненістю (афінитетом) імуноглобулінових рецепторів гинуть шляхом апоптозу. Одночасно формуються довгоживучі В-лімфоцити пам'яті, які відрізняються підвищеною експресією гена *Bcl-2*.

На думку окремих авторів при імунній реакції проти інфекційних агентів запрограмована загибель клітин є механізмом елімінації активованих Т-клітин, які виконують свою роль, оскільки вони є потенційно небезпечними через виробництво значної кількості цитокінів і можуть сприяти гіперплазмії лімфоїдної тканини, що викликана інфекцією (попередник злоякісного росту). Яким чином зріла клітина, стимульована зв'язуванням антигену з її антигенспецифічним рецептором (TCR або імуноглобуліном) вибирає між функціональною активацією (імунна відповідь) та апоптозом (імунологічна толерантність), минуючи стадію активації. Більшість дослідників вважають, що стимуляція TCR чи імуноглобулінового рецептору веде до інактивації клітин. Для її активації одночасно потрібен другий додатковий сигнал, який поставляється через інші клітинні рецептори за рахунок зв'язування останніх цитокінами.

При масовому проникненні в організм інфекційних агентів вже з перших годин до місць інвазії мігрує значна кількість фагоцитів які активно поглинають збудників і викидають у міжклітинний простір велике число факторів, індукуючих апоптоз. Ці фактори здійснюють деградацію нуклеїнового комплексу будь-яких біологічних систем і представляють загрозу для організму, тому їх дія повинна бути заблокована. Нейтрофільні гранулоцити, як найбільш активні фагоцити, нафаршировані мікробами, першими піддаються

апоптозу. Індукторами апоптозу є ендотоксини мікробів кишкової групи та екзотоксини різного походження [3].

Останнім часом вбачають перспективи терапевтичного контролю, за процесом апоптозу механізмами клітинної смерті, в тому числі й елементів ІС.

При розробці тактики терапевтичної дії з врахуванням процесів активації чи інгібування запрограмованої загибелі клітин, на думку окремих авторів, доцільно проводити лабораторний контроль експресії генів Bcl-2 на клітинах периферичної крові чи інших тканин, а також рівень розчинних білків Bcl-2 і Fas-ліганду в сироватці крові.

Література

1. Маслянюк Р.П. Основи імунології / Р.Маслянюк// Львів, Вертикаль. – 1999. – 472 с.
2. Маслянюк Р.П. Апоптоз імунокомпетентних клітин тварин різного віку / Р.П.Маслянюк, Ю.Р.Кравців // Наук. вісник ЛДАВМ. – 2001. т. 3 (№4). – С. 157-163.
3. Маянський А.Н. Апоптоз нейтрофилов человека / А.Н.Маянский, М.М.Заславская, Д.Н.Маянский // Иммунология. – 2000. - №2. – С. 11-13.
4. Маянский А.Н. Лекции по иммунологии / А.Н.Маянский // Нижний Новгород: Из-во НГА. – 2003. – 272 с.
5. Новиков Д.Г. Патология системы иммунитета / Д.Г.Новиков // М. – 2003. – 368 с.
6. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы / Р.М.Хаитов // М. Медицина. – 2001. 223 с.
7. Didere N. Genetic disorders of programmed cell death of the immune system / N. Bidere, H.C.Su, M.I.Lenardo // Annu. rev. Immunol. – 2006. - v. 24. – P. 33-65.
8. Bouchon A. Critical role for mitochondria in B-cell receptor-mediated apoptosis / A. Bouchon, P.H.Krammer, H.Walezak // Eur. J. Immunol. – 2000. - v. 30. – P. 69-77.
9. Brenner C. A revolution in apoptosis: from a nucleocentric to a mitochondriocentric perspective / C. Brenner, J.Mazzo, G.Kroemer // Exp. Gerontol. – 1998. - v. 33. – P. 543-553.
10. Cohen J.J. Mechanisms of apoptosis / J.J.Cohen // Immunol. Today. – 1993. - v. 14. – P. 126-130.
11. Doberty P.C. Challenged by complexity: My twentieth century in Immunology | P.C. Doberty // Annu. Rev. Immunol. – 2007. - v. 25. – P. 1-21.

Summary

ROLE APOPTOSIS OF IMMUNE SYSTEM IN MAN AND ANIMALS

An analytical literature review with the role and mechanisms of apoptosis calls of immune system in man and animals.

Стаття надійшла до редакції 2.09.2010