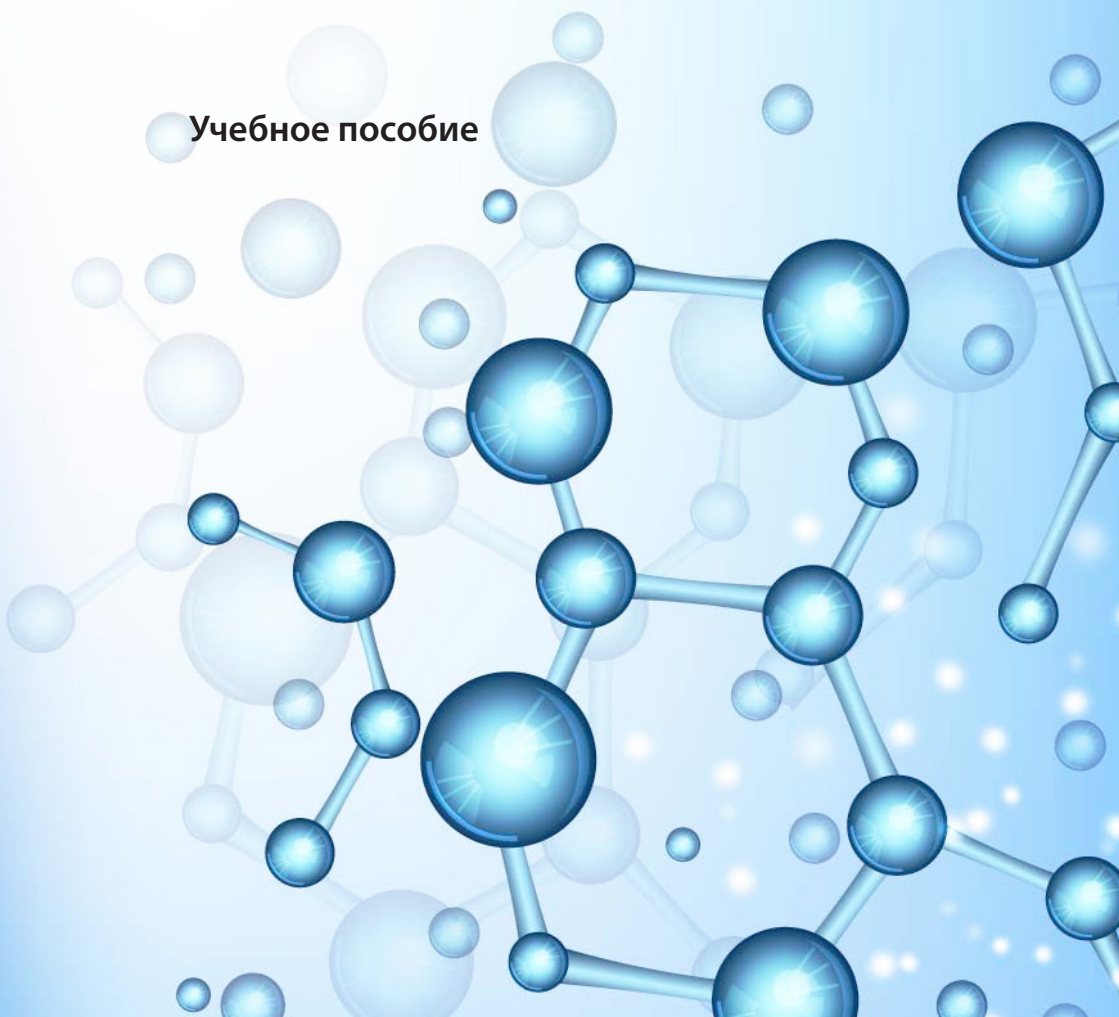


ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ

Учебное пособие



Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр
имени В.А. Алмазова»

Институт медицинского образования

ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ

Учебное пособие

Красноярск
2025

И55.4 Принципы диагностики иммунологических нарушений: Учебное пособие / А.А. Старшинова, И.В. Кудрявцев, А.Г. Борисов, А.А. Савченко, Л.П. Чурилов, Т.В. Федоткина, П.А. Соболевская, А.В. Балахонов, А.А. Рубинштейн, А.Я. Кульпина, Н.Ю. Черныш, И.Ф. Довгалюк, Д.А. Кудлай. – Красноярск: АС-КИТ, 2025. – 153 с.

ISBN 978-5-6052359-2-7

В пособии рассматриваются основы диагностики иммунопатологических нарушений. Значительное внимание уделено иммунным клеткам и растворимым молекулам, участвующим в патогенезе широкого спектра заболеваний. С помощью клинических методов исследования, таких как проточная цитометрия, иммуноферментный и иммунофлуоресцентный анализ и т. д., доступных большинству клинических лабораторий мира, собираются клинические данные о дисфункции иммунной системы при различных формах патологии. Пособие посвящено вопросам корректной интерпретации данных этих и других лабораторных анализов.

Учебное пособие предназначено для обучающихся по программе подготовки кадров высшей квалификации по программе ординатуры по специальности 31.08.45 «Пульмонология» и может быть рекомендовано для врачей таких специальностей, как «Аллергология и иммунология», «Пульмонология», «Инфекционные болезни», «Фтизиатрия», «Терапия», «Патологическая физиология», «Клиническая лабораторная диагностика».

Рецензенты: В.А. Козлов, научн. руководитель НИИФКИ, вице-президент Российского научного общества иммунологов, председатель научного цитокинового общества, зав кафедрой клинической иммунологии Новосибирского государственного медицинского университета, академик РАН, проф., д. м. н.;

Т.П. Сесь, кафедра иммунологии ПСПбГМУ имени акад. И.П. Павлова, научный руководитель СНО, зав. учебной частью, проф., д. м. н.;

А.М. Моисеева, и. о. зав. кафедрой микробиологии и вирусологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, доцент, к. м. н.

Рекомендовано: Учебно-методическим Советом ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России в качестве пособия для обучающихся по программе 31.05.01 «Лечебное дело» по дисциплинам «Аллергология и иммунология», «Пульмонология», «Инфекционные болезни», «Фтизиатрия», «Терапия», «Патологическая физиология», «Клиническая лабораторная диагностика» и утверждено протоколом № 3 от 18 марта 2025 г.

ISBN 978-5-6052359-2-7

© А.А. Старшинова, И.В. Кудрявцев, А.Г. Борисов, А.А. Савченко, Л.П. Чурилов, Т.В. Федоткина, П.А. Соболевская, А.В. Балахонов, А.А. Рубинштейн, А.Я. Кульпина, Н.Ю. Черныш, И.Ф. Довгалюк, Д.А. Кудлай, 2025

© ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, 2025

АВТОРЫ	5
ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ	7
ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	9
ПРЕДИСЛОВИЕ	10
ФОРМИРУЕМЫЕ КОМПЕТЕНЦИИ	11
ВВЕДЕНИЕ	12
I часть. ЗАКОНЫ ОБЩЕЙ НОЗОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ	13
1.1. Локальный иммунный ответ и его взаимодействие с системными защитными процессами	17
1.2. Системный воспалительный ответ: новое как хорошо забытое старое	21
1.3. Иммунопатологические синдромы, связанные с первым типом клеточного иммунного ответа	27
1.4. Иммунопатологические синдромы, связанные со вторым типом клеточного иммунного ответа	30
1.5. Иммунопатологические синдромы, связанные с третьим типом клеточного иммунного ответа	34
1.6. Иммунопатологические синдромы, связанные с нарушением гуморального звена иммунного ответа	38
1.7. Многофакторные иммунопатологические синдромы	41
II часть. МЕТОДЫ ИММУНОДИАГНОСТИКИ	45
2.1. Методы исследования гуморального звена иммунитета	45
2.2. Методы исследования клеточного звена иммунитета	47
2.3. ELISPOT	50
2.4. Масс-спектрометрия	55
2.5. Хроматография	57

III часть. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ	59
3.1. Оценка показателей клеточного иммунитета	59
3.2. Маркеры активации клеток иммунной системы	84
3.3. Показатели, отражающие степень дифференцировки Т- и В-лимфоцитов	107
3.4. Определение спектра и концентраций цитокинов	108
3.5. Оценка показателей гуморального иммунитета	109
IV часть. КОНТРОЛЬ ПОЛУЧЕННЫХ ЗНАНИЙ	113
4.1. Контрольные вопросы	113
4.2. Глоссарий основных иммунологических понятий и определений	115
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	142

АВТОРЫ

Старшинова Анна Андреевна, ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, начальник Управления научными исследованиями, профессор кафедры факультетской терапии с клиникой, доктор медицинских наук.

Кудрявцев Игорь Владимирович, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», заведующий лабораторией клеточной иммунологии, ФГБУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, доцент кафедры иммунологии, ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, заведующий лабораторией аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний, кандидат биологических наук.

Борисов Александр Геннадьевич, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН», ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии, главный врач Клиники иммунологии, кандидат медицинских наук.

Савченко Андрей Анатольевич, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН», руководитель лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии, профессор, доктор медицинских наук.

Чурилов Леонид Павлович, Санкт-Петербургский государственный университет, заведующий кафедрой патологии, зам. руководителя лаборатории микроангиопатических механизмов атерогенеза, действительный член Академии медицинских наук Республики Молдова и Международной академии наук (секция «Здоровье и экология»), доцент, кандидат медицинских наук.

Федоткина Тамара Викторовна, ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Институт медицинского образования, доцент кафедры клеточной биологии и гистологии; ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, старший научный сотрудник лаборатории сравнительной сенсорной физиологии, кандидат биологических наук.

Соболевская Полина Анатольевна, Санкт-Петербургский государственный университет, ассистент кафедры патологии, врач – иммунолог-аллерголог, научный сотрудник лаборатории микроангиопатических механизмов атерогенеза.

Балахонов Алексей Викторович, Санкт-Петербургский государственный университет, профессор кафедры физиологии, доктор педагогических наук, кандидат биологических наук.

Рубинштейн Артем Аркадьевич, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», лаборатория клеточной иммунологии, лаборант-исследователь.

Кульпина Анастасия Ярославовна, Институт педиатрии и перинатологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ординатор; Санкт-Петербургский государственный университет, инженер-исследователь.

Довгалюк Ирина Федоровна, ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, советник директора, главный внештатный специалист фтизиопедиатр Северо-Западного региона, профессор, доктор медицинских наук.

Черныш Наталия Юрьевна, ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, доцент кафедры лабораторной медицины с клиникой, главный внештатный специалист по клинической лабораторной диагностике СЗФО, доцент, кандидат медицинских наук.

Кудлай Дмитрий Анатольевич, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, профессор кафедры фармакогнозии и промышленной фармации факультета фундаментальной медицины; ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), профессор кафедры фармакологии Института фармации; ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, ведущий научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины и молекулярной иммунологии № 71, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук.

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Аллергия (сенсibilизация) – это состояние гиперчувствительности к антигенам (аллергенам), в основе которого лежит иммунологический механизм; другими словами, аллергия – это «иммунологически опосредованная гиперчувствительность». Термины «аллергия» и «сенсibilизация» равнозначны, тогда как «гиперчувствительность» – более широкое понятие, включающее «аллергическую» и «неаллергическую» гиперчувствительность.

Антиген – вещество, способное вызвать иммунный ответ – реакцию иммунной системы, имеющую целью удалить (элиминировать) это вещество из организма.

Аллерген – это антиген, способный вызвать состояние гиперчувствительности (сенсibilизации), которое развивается в результате неадекватного иммунного ответа на воздействие антигена. Не все антигены обладают свойствами аллергенов.

Антитело (иммуноглобулин) – белок, вырабатываемый В-лимфоцитами, который специфически связывается с антигеном и помогает нейтрализовать или уничтожить его.

Аллергическая реакция немедленного типа опосредуется через антитела – иммуноглобулины (наиболее значимым является иммуноглобулин E, IgE), которые вырабатываются клетками иммунной системы в ответ на воздействие аллергена; проявляется в течение от нескольких минут до 6 часов после воздействия аллергена.

Аллергическая реакция замедленного типа обусловлена взаимодействием аллергена с клетками – макрофагами и Т-лимфоцитами, стимулирующими клеточный иммунитет; проявляется в сроки от 6 часов до 72 часов после воздействия аллергена.

Адаптивный иммунитет – специфический ответ, который развивается медленнее, но обладает памятью и обеспечивает долгосрочную защиту.

Врожденный иммунитет – неспецифическая защита, которая активируется быстро, но не имеет памяти.

Гиперчувствительность (повышенная чувствительность) – отличная от «нормы» повышенная реактивность и чувствительность некоторых людей к определенным раздражителям (веществам или факторам).

Гистосовместимость – совместимость тканей, определяемая главным комплексом гистосовместимости (МНС). МНС – это группа генов, кодирующих белки, которые представляют антигены Т-клеткам.

Иммунная система – сложная система органов, тканей, клеток и молекул, которая защищает организм от патогенов (бактерий, вирусов, грибов, паразитов) и других чужеродных агентов.

Иммунологическая память – способность иммунной системы «запоминать» антигены и быстро реагировать на них при повторном контакте.

Иммунодефицит – состояние, при котором иммунная система не функционирует должным образом, что делает организм более уязвимым к инфекциям. Может быть врожденным или приобретенным (например, ВИЧ/СПИД).

Иммунопатология – это раздел иммунологии, который изучает нарушения в работе иммунной системы, приводящие к заболеваниям. Эти нарушения могут быть связаны с чрезмерной, недостаточной или неправильной активностью иммунной системы.

Иммунный комплекс – соединение антигена с антителом, которое может активировать систему комплемента и вызывать воспаление. При избыточном образовании иммунные комплексы могут откладываться в тканях, вызывая повреждение (например, при гломерулонефрите).

Фагоцитоз – процесс поглощения и уничтожения патогенов или других частиц фагоцитами (например, макрофагами и нейтрофилами).

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа

ГНТ – гиперчувствительность немедленного типа

ИФА – иммуноферментный анализ

ИЛ – интерлейкин

ИФН – интерферон

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита

ТБ – туберкулез

ТФР-β – трансформирующий фактор роста

ФНО – фактор некроза опухолей

CD – кластер дифференцировки

CD4 – Т-лимфоциты, имеющие CD4-рецепторы

CDC (USA) – Центр по контролю и профилактике заболеваний (США)

HLA – человеческие лейкоцитарные антигены

CFP10 – рекомбинантный культурально фильтрованный белковый антиген, используемый при ТОГИ-тестах

CYP3A4 – изофермент цитохрома P450

ESAT-6 – рекомбинантный ранее секретируемый белковый антиген, используемый при ТОГИ-тестах

HBeAg – поверхностный антиген гепатита В

Fc – постоянный фрагмент иммуноглобулина

Ig – иммуноглобулин

Ig M – иммуноглобулин М

ПРЕДИСЛОВИЕ

В пособии рассматриваются вопросы иммунных нарушений и их диагностики. Особое внимание уделено иммунным клеткам и растворимым молекулам, участвующим в патогенезе широкого спектра заболеваний. С помощью клинических методов исследования, таких как гематология, проточная цитометрия, ELISE и т. д., доступных большинству клинических лабораторий мира, собираются клинические данные о дисфункции иммунной системы при широком спектре заболеваний. Этот процесс, к сожалению, еще очень далек от завершения. Однако нынешние успехи в разделении иммуноопосредованных заболеваний на отдельные кластеры, основанные на различных типах воспалительных реакций, в основе которых лежит участие различных популяций Т-хелперных клеток и молекул цитокинов, представляют собой значительный прогресс. Пособие предназначено для иммунологов-аллергологов, пульмонологов, терапевтов, педиатров, инфекционистов, медицинских работников и ординаторов медицинских вузов, может представлять интерес для студентов-медиков старших курсов и обучающихся биологических и химических специальностей, стремящихся расширить свои знания в области медицинской иммунологии и патологии.

Все права авторов защищены. Ни одна часть данного пособия не может быть занесена в память компьютеров либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения авторов.

ФОРМИРУЕМЫЕ КОМПЕТЕНЦИИ

Профилактическая деятельность:

ПК-1. Готовность к осуществлению комплекса мероприятий, направленных на сохранение и укрепление здоровья и включающих в себя формирование здорового образа жизни, предупреждение возникновения и (или) распространения заболеваний, их раннюю диагностику, выявление причин и условий их возникновения и развития, а также направленных на устранение вредного влияния на здоровье человека факторов среды его обитания.

ПК-2. Готовность к проведению профилактических медицинских осмотров, диспансеризации и осуществлению диспансерного наблюдения за здоровыми и хроническими больными.

Диагностическая деятельность:

ПК-5. Готовность к определению у пациентов патологических состояний, симптомов, синдромов заболеваний, нозологических форм в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем.

Лечебная деятельность:

ПК-6. Готовность к ведению и лечению пациентов, нуждающихся в оказании фтизиатрической медицинской помощи.

ПК-7. Готовность к оказанию медицинской помощи при чрезвычайных ситуациях, в том числе к участию в медицинской эвакуации.

Реабилитационная деятельность:

ПК-8. Готовность к применению природных лечебных факторов, лекарственной немедикаментозной терапии и других методов у пациентов, нуждающихся в медицинской реабилитации и санитарио-курортном лечении.

ВВЕДЕНИЕ

Имунопатология занимается изучением заболеваний иммунной системы как таковой, а также аномальных состояний, возникающих под влиянием воздействующих на нее факторов, и аутоиммунных и аллергических заболеваний, вызванных чрезмерным или извращенным иммунным ответом, изменяющим другие органы и системы. В настоящее время заболевания иммунной системы классифицируются в клинически сходные группы, хотя имеют различные иммунопатологические механизмы.

Заболевания иммунной системы, проявляющиеся различными симптомами и признаками (синдромами), нарушают нормальное функционирование организма путем воздействия на иммуноопосредованную и нейроэндокринную регуляцию. Следовательно, в клинической практике необходимо определить наличие и охарактеризовать тот или иной иммунопатологический синдром, оценить степень его выраженности, выявить причины его возникновения, провести дополнительные лабораторные и инструментальные исследования и сформировать именно иммунологический диагноз. В других отраслях медицины врачу необходимо не только распознать конкретную нозологическую единицу (допустим, ишемическую болезнь сердца или вирусный гепатит В), но и оценить наличие и степень выраженности сердечной (или печеночной) недостаточности как синдрома. Поэтому после клинического обследования и получения результатов лабораторных исследований необходимо классифицировать иммунные нарушения.

Сегодня особенно важно продолжить обучение специалистов с целью разъяснения важности проведения вакцинации в странах с высоким уровнем распространения туберкулезной инфекции, а также для формирования приверженности к вакцинопрофилактике в целом. Большое значение в подготовке врачей любой специальности имеет знакомство с основами клинической иммунологии.

I ЧАСТЬ

ЗАКОНЫ ОБЩЕЙ НОЗОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ

Диагностика иммунных нарушений сопряжена с рядом проблем. Это связано со сложной многоуровневой организацией иммунной системы, высокой надежностью иммунитета с многочисленными компенсаторными механизмами и регуляторными связями между компонентами иммунной системы и нейроэндокринным аппаратом. Иммунный ответ (обеспеченный, регулярно проводимый, правильно направленный, оптимально регулируемый и имеющий адекватную интенсивность) минимально ощутим клинически, а его полезные эффекты несравнимо выше затрат [1].

Однако слишком сильный, плохо регулируемый и/или слишком слабый иммунный ответ служит механической основой иммунопатологических заболеваний. Поэтому после проведения клинического осмотра и получения данных лабораторных исследований необходимо классифицировать имеющиеся иммунные нарушения. Иммунный ответ (при условии, что он осуществляется штатно, правильно нацелен, оптимально отрегулирован и имеет адекватную интенсивность) минимально ощутим в клиническом отношении, а его полезный эффект несопоставимо выше его издержек [3, 4].

Но слишком сильный, плохо отрегулированный и/или неверно нацеленный, равно как и слишком слабый иммунный ответ, становится патогенетической основой иммунопатологических заболеваний. Традиционно все нарушения функции иммунной системы классифицируют, исходя из проявления подобных заболеваний [1, 3, 5-7].

В мировой практике принято выделять:

- 1) первичные иммунодефициты;
- 2) вторичные иммунодефициты (иммунодепрессивные состояния);
- 3) аутоиммунные заболевания;

- 4) аутовоспалительные заболевания;
- 5) аллергические заболевания;
- 6) опухоли иммунной системы [3, 7].

Хотелось бы обратить внимание на то, что не следует смешивать категории иммунопатологических нарушений и их классификацию с частными иммунопатологическими проявлениями различных нозологических единиц, фигурирующих в Международных классификациях болезней последних изданий. Ведь патологический процесс (или синдром), такой как печеночная либо сердечная недостаточность – это не синоним, соответственно, хронического гепатита, либо инфаркта миокарда, так как каждый из этих синдромов (патологических процессов) может иметь и совершенно иную этиологию. Более того, любая отдельная болезнь не сводится к одному, пусть даже важнейшему патологическому процессу, а всегда представляет собой их мозаичное сочетание. Так, гепатит – это не только воспаление, при этом заболевании в разных соотношениях сочетаются несколько местных и системных патологических процессов.

Имунопатология включает болезни иммунной системы, состояния, индуцированные воздействием факторов, влияющих на нее, и соматические болезни с избыточным или извращенным реагированием иммунной системы (аллергические и аутоиммунные) [4, 5, 8]. Болезни иммунной системы, по современным представлениям, включают группы заболеваний, схожих клинически, но имеющих неодинаковые иммунопатологические механизмы.

Во всех этих случаях практически диагностируются не нарушения функции собственно иммунной системы, а непосредственно определенные нозологические единицы, в патогенезе которых принимает участие, как правило, не один, а несколько типов иммунопатологических реакций. При этом с учетом клонально-селекционного принципа реагирования иммунной системы могут сочетаться разнонаправленные изменения реактивности различных ее элементов, даже гипереργические и гиперергические типы реакций, при одной и той же форме патологии [8, 9].

Не исключается, что в основе многих, а может быть, практически всех клинических форм иммунных нарушений лежит первичная иммунологическая недостаточность какого-то компонента иммунной системы, компенсированная до определенного времени за счет нормальной или высокой функциональной активности других

компонентов иммунной эндокринного аппарата, причем такая компенсация имеет свою цену в виде вторичного самоповреждения и симптоматически проявляющихся издержек и побочных эффектов. Дефект может быть компенсирован за счет нормальной или повышенной функциональной активности других компонентов иммунной системы [5, 10, 11], но не без вторичного ущерба. «Природа даром не дает, она лишь продает» (Р.У. Эмерсон).

По сути, это лишь частное иммунопатологическое проявление общепатологического закона относительной целесообразности и потенциальной патогенности любых защитных реакций. Патогенность защиты будет тем более выражена, чем больше цена адаптации и чем грубее рассогласование между применяемым защитно-компенсаторным стереотипом и конкретной нестереотипной ситуацией [11]. Образно выражаясь, иммунная система не является исключением и следует порою духу бессмертного афоризма В.С. Черномырдина: «Хотели как лучше, а получилось как всегда».

Болезни иммунной системы, проявляющиеся различными иммунологическими симптомами, признаками и синдромами, нарушают нормальную жизнедеятельность организма за счет дисфункции иммунной системы как системы регуляторной [4, 11]. Исходя из этого, в клинической работе необходимо определить наличие и характеристику того или иного иммунопатологического синдрома, оценить степень его тяжести, выявить причины его возникновения, провести дополнительные лабораторные и инструментальные исследования, сформировать именно иммунологический диагноз, аналогичный, скажем, диагнозу сердечной или печеночной недостаточности при том или ином нозологически конкретном заболевании.

Исторически сложилось так, что иммунопатологические нарушения в практике зачастую упрощенно определяют как гипореактивное и гиперреактивное состояние. Таким разделением ранее широко и обыденно пользовались. Однако эта формализация не всегда уместна, т. к., например, при классической форме антитело-опосредованной гиперчувствительности – иммунокомплексной реакции и соответствующих ей синдромах патогенного воздействия иммунных комплексов на те или иные органы – в основе патогенеза лежит как раз недостаточность функции клиренса иммунных комплексов ввиду дефектов макрофагов, факторов системы комплемента или

их клеточных рецепторов, что приводит к неполноценной элиминации иммунных комплексов, их осаждению на эндотелий (как правило, в тех областях кровеносного русла, где сосуды извитые, а кровяное давление высокое). В конечном итоге это ведет к развитию воспаления в виде васкулитов различной локализации и степени тяжести. Таким образом, данное нарушение, по сути, не столько гиперреакция, сколько недостаточная реакция макрофагально-фагоцитарного звена иммунной системы [12, 13].

Немаловажна и следующая проблема, связанная с наименованием иммунопатологических синдромов: нередко при одном и том же патогенезе определенного синдрома, в зависимости от степени его тяжести или преобладания определенной симптоматики, а то и в духе разных традиций, присущих тем или иным национальным медицинским школам или даже в рамках профессиональных жаргонов медиков разных специальностей, формируются различные наименования одного и того же феномена, причем зачастую не согласующиеся с тезаурусом общей патологии. Создается позитивистская коллизия, нарушающая знаменитый принцип Уильяма из Оккама (1285-1347): «*Entia non sunt multiplicanda praeter necessitatem*»¹.

Так, например, в последнее время, помимо понятия «системный воспалительный ответ», выделяют другие определения и синдромы. Это цитокиновый шторм или цитокиновая буря, синдром вторичного гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза (HLH), синдром гиперактивации макрофагов (MAS), вирус-индуцированный гипертрофический синдром. Но в основе всех разноименных синдромов лежат врожденные и/или приобретенные нарушения регуляции иммунного ответа и несостоятельность барьерных функций воспаления, приводящие к резко избыточному системному действию провоспалительных аутокинов (в том числе цитокинов), аномальной активации клеток иммунной системы, то есть к гиперергическому ответу острой фазы, переходящему в токсико-септический шок с нарушением кровообращения и дыхания, перфузии органов, в том числе и не затронутых первичными воспалительными очагами. Следствием бывает гипоксический некробиоз их клеток с выделением дополнительных порций провоспалительных медиаторов и, в итоге, полиорганная недостаточность [14, 15, 16].

¹ «Не следует множить сущее без необходимости» (лат.).

Значит, это ни в коей мере не отдельные патологические процессы, а лишь этиологически особые варианты давно описанных в общей патологии типовых патологических процессов – острофазового ответа и шока. С точки зрения общей патологии, уязвим даже сложившийся, но не вполне корректный термин «системная воспалительная реакция» (см. ниже), проявлениями которой все эти неологизмы, созданные специалистами различных частных областей медицины, и должны считаться. Возникшая путаница с их наименованием связана с тем прискорбным фактом, что медицина до сих пор, в отличие от физики, химии, биологии, не создала единой для всех своих отраслей и специальностей непротиворечивой и общезначимой терминологии [17]. Это затрудняет формирование единого подхода к диагностике и лечению подобных состояний. Мы называем это «парадокс Маклая» в честь замечательного русского ученого Н.Н. Миклухо-Маклая (1846-1888), который, прибыв на остров Новая Гвинея, описал удивительную ситуацию, когда обитатели расположенных всего в нескольких верстах одна от другой папуасских деревень не понимали друг друга, так как говорили на разных языках. Медикам разных специальностей и школ стоило бы, наконец, этот парадокс преодолеть, взяв за основу тезаурус общей патологии.

1.1. Локальный иммунный ответ и его взаимодействие с системными защитными процессами

Воспаление изначально – всегда местный типовой патологический процесс, ответ васкуляризованной ткани на повреждение, управляемый сигналами, производимыми внутри его очагов, а не внешними по отношению к ним биорегуляторами. Этот процесс способен создавать барьеры, ограничивающие системное распространение возбудителей, но также лимитирующие системное действие биорегуляторов, участвующих в очаговых событиях. Последнее известно как информационная аутохтонность воспалительного очага [11]. Существует чеканная формулировка основоположника военно-полевой хирургии Джона Хантера (1728-1793), несколько не устаревшая за 230 лет: «Воспаление бывает только в органе, но никогда – органа» [18]. Сохраняя свой местный характер, воспаление предупреждает этим циркуляторный шок, но, утрачивая при несостоятельности барьеров свою локальность, запускает

или усугубляет патогенез шока. Наиважнейший диагностический шаг при распознавании иммунопатологии – выявление локальных (местных) и системных признаков, зависящих от воспаления.

Организм никогда не отвечает на повреждение или заболевание каким-то одним изолированным защитным процессом. Представлять себе ответ на инфекцию или иное повреждение ткани только как воспаление было бы упрощением реальности. Параллельно и последовательно при этом срабатывают несколько типовых компенсаторно-приспособительных процессов разного уровня, поскольку как у отдельных клеток, так и у организма в целом имеются стереотипные запрограммированные ответы, автоматически реализуемые при заболевании или повреждении. Реакция организма как системы на повреждение – комплексная и многоуровневая, но остается в рамках запрограммированных стереотипов реактивности. Эти стереотипы включают более древние, присущие ответу клеток как элементов организма, а также более новые, сформированные при эволюции сложных высших животных. Первые зависят от биорегуляторов короткодистантного, юкта- и паракринного действия, вырабатываемых самими клетками (они известны в патофизиологии как медиаторы воспаления, или, шире говоря, по отношению как к патологии, так и к норме, под названием аутокиды). Их частной сборной группой, собственно, и являются цитокины.

Вторые зависят от регуляторов дальнего дистантного действия, системно продуцируемых нейроэндокринным аппаратом. К ним принадлежат гормоны и нейромедиаторы. Любое серьезное повреждение параллельно вызывает запрограммированный ответ клеточно-тканевой, местный, а также системно-интегративный. Если конфликта этих программ не происходит, то оба пути защиты удерживаются в рамках умеренной патогенности и достаточной защитной эффективности [11, 19]. Но параллельные эффекты этих биорегуляторов могут при определенных условиях приходить к конфликту, парализуя оптимальное осуществление защитных программ, особенно при обширных повреждениях и ограниченности ресурсов компенсации. Это ведет к взаимному выхолащиванию их защитного потенциала и нарастанию цены адаптации, вплоть до преобладания вторичной патогенности самой защиты [19].

Провоспалительные цитокины играют важную роль в развитии воспаления как инфекционной, так и неинфекционной

этиологии. При этом до тех пор, пока барьерные механизмы воспаления как первично местного, очагового процесса сдерживают системное распространение воспалительных аутокидов за пределы его очагов, в системный кровоток попадает их малое или умеренное количество. Тогда их защитное действие превалирует над патогенным. На уровне целостного организма сопровождением такого нормергического воспаления служат системные типовые патологические процессы, развертывающиеся под влиянием воспаления, в силу действия цитокинов и иных провоспалительных медиаторов на удаленные от первичных воспалительных очагов мишени: печень, костный мозг, гипоталамус и надпочечники.

Это ответ острой фазы, лейкоцитоз, лихорадка и стресс. Все эти процессы запускаются и/или поддерживаются малыми или умеренными системными концентрациями цитокинов, не нарушающими жизненно важных системных функций и не мешающими работе системных защитных механизмов [11].

В то же время системные механизмы, способствуя барьерности воспаления, не останавливают его, так как саморегуляторная аутохтонность воспалительных очагов обеспечивает превалирование внутри них местных сигналов над системными, в том числе такими противовоспалительными, как действие гормонов стресса. При тяжелом ожоге, например, системные концентрации таких мощных противовоспалительных регуляторов, как глюкокортикоиды, **в крови возрастает в 6-8 раз**, а катехоламинов – в 10-12 раз. Тем не менее на местах ожога воспаление аутохтонно продолжается своим чередом [20]. Более того, параллельное протекание местного воспаления и запущенных адекватным умеренным системным действием его медиаторов, прежде всего, цитокинов, общих патологических процессов – стресса и ответа острой фазы – позволяет не только сохранить барьерность воспалительного процесса, но и направить энергетические и пластические ресурсы на нужды органов, обеспечивающих антигипоксическую резистентность (за счет гормонов стресса), при сохранении обеспечения иммунной системы, клетки которой без ответа острой фазы оказались бы в состоянии стрессорной энергетической и пластической депривации [21, 22]. Противоречивое единство воспаления, стресса и острофазового ответа позволяет даже при значительных повреждениях избежать попадания значительной массы тканей и органов в состояние гипоксии и,

несмотря на ограничение распространения воспаления, должным образом подготовить адаптивный иммунный ответ. Стресс и цитокиновый ответ действуют синергично, отнимая пластические и энергетические ресурсы у клеток, располагающих только или исключительно инсулинозависимыми транспортерами глюкозы, в основном у всех видов соединительной ткани, включая специализированные, а также у ряда клеток энтодермального происхождения [21]. Но при этом для гормонов стресса и цитокинов бенефициарами, получающими эти ресурсы, являются не одни и те же адресаты. Гормоны коры надпочечников направляют ресурсы в пользу клеток, располагающих инсулинонезависимым транспортом глюкозы, жизненно важных при адаптации к острой гипоксии (миокард, ЦНС, диафрагмальная мышца, сетчатка, гонады, печень, почки и сами надпочечники).

Будь этот логистический путь единственным, любой острый стресс обрекал бы на «голодный паек» костный мозг, клетки крови, лимфоидные органы и иммунную систему, которые строго инсулинозависимы в получении ресурсов, и, таким образом, вызывал бы иммунодепрессию. Но активизация продукции и системного действия цитокинов при воспалении и антигенной агрессии, до известной степени, предупреждает это, поскольку они способствуют перетоку ресурсов к клеткам иммунной системы [22].

Вместе с тем стрессорные регуляторы сдерживают интенсивность продукции и системного действия цитокинов и других провоспалительных аутокинов, способствуют поддержанию барьерной функции воспаления и удерживают его в нормергических пределах, не допуская «цитокинового шторма».

Таким образом, при штатном координированном функционировании местных и системных защитных программ между регуляторами местного и системного действия поддерживается саногенное равновесие: эти программы минимально противоречат друг другу, а конечным результатом служит предупреждение шока.

Пока в тех органах и тканях, где нет первичных местных повреждений, не запускается динамика воспаления, организму удастся предупредить погружение большой массы клеток в состояние гипоксического или свободнорадикального некробиоза. Но если системно-местное защитное равновесие сменяется абсолютным превалированием регуляторов короткодистантного

действия (цитокиновый шторм) или, наоборот, системных регуляторных стереотипов (централизация кровообращения), то впавшие в гипоксию клетки органов, где не было первичных повреждений, сами становятся источниками возрастающего количества медиаторов воспаления, продукция которых неизбежна при некробиозе. А так как эти медиаторы при значительном избытке в системной циркуляции нарушают реологические свойства крови, делают клейким эндотелий, сдвигают в тромбогенную сторону равновесие гемостаза и антигемостаза, нарушают работу сердца и центральную регуляцию дыхания, способствуют ацидозу, то формируется гемодинамический шок, т. е. полиорганная гипоксическая недостаточность на почве нарушения перфузии органов и тканей [16, 23].

Следовательно, избыточное системное действие медиаторов воспаления – практически обязательный компонент патогенеза прогрессирующего гемодинамического шока. По сути, именно нарастание системного действия аутокинов воспаления ведет через стадию нормергического ответа острой фазы к шокоподобным состояниям и к шоку.

Классическими основными местными признаками воспаления, описанными еще в I веке нашей эры Авлом Корнелием Цельсом, считаются припухание, боль, краснота, локальное повышение температуры, а также нарушение функции органа, которое присокупил к этой тетраде в XIX веке Рудольф Вирхов. Однако в клинике гораздо важнее определить проявление системных коррелятов воспалительного ответа, особенно при выраженном, тяжелом и распространенном воспалении или при воспалении органов, скрытых от физикального обследования.

1.2. Системный воспалительный ответ: новое как хорошо забытое старое

В 1987 г. американский врач Ф.Б. Церра впервые назвал гиперметаболизм и мультиорганную недостаточность при сепсисе «системным воспалительным ответом» [24], годом позже это понятие детализировал француз П.Э. Лоран [25].

Поскольку воспаление бывает не только инфекционным, как и шок – не только септическим, такая трактовка стала универсальной, затем в начале 1990-х гг. Р. Боуном и соавт. [26] был введен

термин «синдром системного воспалительного ответа» – ССВО, SIRS (systemic inflammatory response syndrome), который обрел популярность и ассоциируется с крайне избыточным системным действием медиаторов воспаления при шокоподобных состояниях и шоке любой этиологии, а также при травматической болезни. Американская ассоциация торакальных хирургов разработала в 1992 г. критерии данного синдрома [27], из знакомства с которыми ясно, что это предшоковое состояние или крайний, гиперергический вариант хорошо известного в патофизиологии, начиная еще с 1950-х гг., типового патологического процесса, именуемого «ответ острой фазы» [28]. Ответ острой фазы сопровождается любое массивное воздействие на Toll-подобные рецепторы (TLR) и систему врожденного иммунитета, защищая метаболические интересы иммунной системы на фоне сопровождающего любую острую агрессию стресса. В случае ССВО можно говорить о его гиперергическом, избыточно сильном характере.

Хотя критерии ССВО обоснованно критиковали за их недостаточную избирательность и рекомендовали дополнить более прогностически мощными лабораторными показателями, в литературе США, а затем и других стран, особенно в клинической, понятие «системный воспалительный ответ» вошло в моду и почти вытеснило «немодное» классическое понятие «ответ острой фазы», оторвавшись от своего «прародителя». В настоящее время оно использовано в сотнях трудов и скалькировано в русском переводе. Таким образом, термин устоялся и имеет все права гражданства, хотя и не вписывается в общепатологический тезаурус, разделяющий собственно воспаление и его системные корреляты. С этой оговоркой мы далее будем употреблять устоявшийся, но не вполне корректный с точки зрения общей патологии термин ССВО, понимая его как гиперергическую степень острофазного ответа или избыточное системное действие провоспалительных медиаторов.

Диагноз синдрома ССВО/SIRS – изначально чисто клинический, однако он был впоследствии дополнен лабораторными критериями. На основании совокупности критериев можно выделить две его разновидности (табл. 1).

I – с преобладанием провоспалительной реакции (фебрильная температура, лейкоцитоз и/или смещение лейкоцитарной формулы влево);

II – с преобладанием противовоспалительной реакции (гипотермия, лейкопения и/или лимфопения).

Последняя, вторая, разновидность зачастую наблюдается как фазовое состояние. Это характерно, например, для травматической болезни, когда при тяжелых сочетанных травмах на фоне шока имеется провоспалительная реакция, сменяющаяся, в силу инертности противорегуляции, у переживших острую стадию травматической болезни противовоспалительной доминантой.

Таблица 1

Критерии синдрома системного воспалительного ответа

Показатель	Значение	
Температура тела	≥ 38 °С (фебрильная температура)	или ≤ 36 °С (гипотермия)
Частота сердечных сокращений	≥ 90/мин. (тахикардия)	
Частота дыхания	≥ 20/мин. или содержание диоксида углерода в крови ≤ 32 mmHg	
Клинический анализ крови	Лейкоцитоз > 12·10 ⁹ /л и/или содержание молодых форм гранулоцитов более 10 %	или лейкопения < 4·10 ⁹ /л

Подобные фазовые взаимодействия провоспалительных и противовоспалительных механизмов при тяжелой сочетанной травме и ее шоковых последствиях после цитокинового шторма ранней фазы создают в дальнейшем под воздействием контррегуляторных механизмов опасность иммунодепрессивных септических осложнений, угрожающих пациенту даже после выхода из собственно гемодинамического шока [29]. Поэтому, как впервые постулировали еще в конце прошлого века Ф.А. Мур и соавт. [30], полиорганная недостаточность, развивающаяся при этих состояниях, бимодальна: с ранней фазой, когда доминируют ССВО и гипоперфузионная гипоксия как причина органной недостаточности, и поздней фазой, когда развивается синдром компенсаторного противовоспалительного ответа (СКПВО, compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS), движимый как противовоспалительными факторами иммунной системы, так и противовоспалительным действием глюкокортикоидов

стрессорного и ятрогенного происхождения. В итоге эти синдромы могут комбинироваться, что обозначают как MARS (mixed antagonist response syndrome – ССАО, или синдром смешанного антагонистического ответа) [29]. Таким образом, и здесь ярко проявляется конфликт защитных программ разного уровня и направленности.

Как следствие MARS при тяжелой сочетанной травме в ранний отсроченный период, в том числе у выведенных из шока больных, развиваются разнообразные проявления иммунодепрессии, несмотря на то что все они ранее прошли через гипервоспалительные изменения иммунореактивности [31].

Клинические проявления цитокиновой дисрегуляции суммированы из различных источников (табл. 2).

ССВО определяется при наличии по крайней мере 5 диагностических критериев (и/или мутаций, обуславливающих его развитие). В частности, к развитию раннего ССВО в форме неонатального сепсиса предрасполагают некоторые мутации генов коллектинов и фиколлинов [32].

Первичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, сопровождаемый ССВО, развивается вследствие мутации гена перфорина либо белков, контролирующих экзоцитоз его гранул, нарушающих регуляцию клеточной цитотоксичности, что ведет к аутовоспалительной атаке клеток врожденного иммунитета против собственных тканей [33]. Сепсис самой различной этиологии напрямую связан с цитокиновым штормом, который служит ключевым звеном патогенеза ССВО, поскольку развивается токсико-септический шок [34]. В данном случае триггерами гипервоспалительного состояния служат патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs – pathogen-associated molecular patterns), стимулирующие через Toll-подобные рецепторы провоспалительные события в клетках системы врожденного иммунитета. Но при гипоксическом и свободнорадикальном некробиозе любой этиологии, в том числе не связанной с инфекциями, дегенерирующие клетки выделяют медиаторы воспаления и продукты клеточного разрушения (так называемые *danger associated molecular patterns* – DAMPs). Они стимулируют активацию и выделение цитокинов, причем даже при асептических воспалениях. В связи с этим не только септические процессы, но и любая массивная клеточная гибель чревата ССВО.

Клинические проявления цитокиновой дисрегуляции

Симптом	Показатель
Лихорадка	Максимальный подъем температуры тела >38,5 °С или ≤36 °С (гипотермия)
Тахикардия	≥90/мин.
Дыхательная недостаточность	Одышка ≥20/мин., или содержание диоксида углерода в крови ≤ 32 мм рт. ст., или сатурация менее 95 %
Гепатомегалия/спленомегалия	Печень и/или селезенка пальпируются ниже края реберной дуги
Лейкоцитоз	>12×10 ⁹ /л
Цитопения с вовлечением более 2 клеточных ростков	НЬ <90 г/л, нейтрофилы < 1×10 ⁹ /л, тромбоциты <100×10 ⁹ /л
Лимфоцитопения	Менее 1,0×10 ⁹ /л
НК-клетки, ЦТЛ	Снижение или отсутствие активности
Цитокины ИЛ-6, ИЛ-1β, ФНО, IFNγ	Повышены
Уровень растворимого ИЛ-2 (CD25)	>2400 ед./мл
Хемокин, индуцированный IFNγ, CXCL9	Повышен
С-реактивный белок	Более 5 мг/л
Ферритин в сыворотке	> 500 мкг/л
ЛДГ, АСТ, АЛТ	Повышены, связаны с поражением ткани
Гемостаз	Фибриноген <1,5 г/л, D-димер более 243 нг/мл
Гипертриглицеридемия	Триглицериды натощак >3,0 ммоль/л или превышение возрастной нормы на >3 стандартных отклонений
Прокальцитонин	Выше 2,0 нг/мл
Гемофагоцитоз	В биоптатах костного мозга, селезенки или лимфатических узлов

Неинфекционные причины, которые способны индуцировать системный провоспалительный, в частности, цитокиновый, ответ, включают тяжелые травмы и ожоги, высокодозовое радиационное поражение, острый панкреатит, значительную кровопотерю, синдром ишемии-реперфузии, генетические нарушения иммунного ответа (например, вышеупомянутый первичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз), избыточную активацию иммунной системы в ответ на непатогенные триггеры (например, синдром активации тучных клеток при аутоиммунных заболеваниях), реакцию «трансплантат против хозяина», иммунобиологическую онкотерапию Т-лимфоцитами с химерными антигенными рецепторами (CAR-T) или лечение активаторами Т-лимфоцитов и т. д. [35, 36, 37, 38].

Этиология ССВО включает и множество инфекционно-септических агентов. Наиболее изученными инфекционными триггерами ССВО являются вирус птичьего гриппа, коронавирус SARS-CoV-1, связанный с атипичной пневмонией, коронавирус, связанный с ближневосточным респираторным синдромом (MERS-CoV), возбудитель COVID-19 – SARS-CoV-2, а также вирус лихорадки Эбола [16, 39].

Пролонгированная стимуляция иммунной системы, даже изначально не слишком выраженная (как при инфекции вирусом Эпштейна – Барр или другими вирусами группы герпеса), также может стать причиной цитокинового шторма (в ходе развития так называемого вторичного гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза – см. ниже), поскольку возбудитель может оказаться поликлональным иммуностимулятором и/или обладать свойствами суперантигена, индуцируя цитокиновый ответ сразу многих неспецифических лимфоидных клонов. Бактерии, обладающие суперантигенными молекулами, например, *Staphylococcus aureus* или *Streptococcus pyogenes* некоторых штаммов, также могут индуцировать по этому механизму ССВО как элемент токсико-септического шока [40].

Одним из вариантов цитокиновой дисрегуляции в форме ССВО является синдром вторичного гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза (HLH), который был впервые описан в ревматологии при потенциально опасном для жизни осложнении системных аутоиммунных и аутовоспалительных заболеваний (системном ювенильном идиопатическом артрите, системной красной волчанке (СКВ), болезни Кавасаки и периодических лихорадках). Его

разновидностью считается так называемый синдром гиперактивации макрофагов [41]. Гемофагоцитоз определяется как поглощение клеток крови, включая эритроциты, лейкоциты и тромбоциты, фагоцитирующими клетками. Помимо этого, острая фаза HLH связана с заметно повышенным уровнем ферритина и провоспалительных цитокинов, источником которых служат лимфоидные органы, богатые активными макрофагами, главным образом, селезенка, печень и костный мозг [42].

Независимо от этиологии цитокиновый шторм запускает каскад воспалительных процессов, которые приводят к повреждению тканей, вторичной продукции провоспалительных медиаторов и без лечения, как правило, к смерти [13, 14, 15].

Хронически избыточное системное действие медиаторов воспаления не ведет к гемодинамическому шоку, но также высоко патогенно. Оно характеризует, прежде всего, метаболический синдром и его компоненты, в частности, ожирение и атеросклероз, системную дисплазию соединительной ткани и вялотекущие хронические инфекции [19, 43]. Выделение и характеристика ССВО как острого, так и хронического, обязательны для врача любой специальности. Его своевременное распознавание является основой эффективного лечения. ССВО в первом приближении можно считать гиперактивацией механизмов врожденного иммунитета.

Зачастую еще до дополнительных иммунологических исследований возможно заподозрить нарушения функции иммунной системы, происходящие в том или ином звене адаптивного иммунитета. Выделение определенных иммунопатологических синдромов является основанием для проведения топической диагностики иммунных нарушений.

1.3. Иммунопатологические синдромы, связанные с первым типом клеточного иммунного ответа

Как известно, наивные Т-лимфоциты, будучи изначально способными к продукции широкого спектра цитокинов, в ходе дальнейшей дифференцировки поляризуются и ограничивают свои возможности сигнализации неперекрывающимся набором последних. Это определяет их партнерство с различными клетками и, соответственно, разные функции при иммунологических взаимодействиях.

Th1, Th2 и Th17 субпопуляции Т-хелперов мигрируют в очаги воспаления, а фолликулярные Т-хелперы (fTh) остаются в лимфоидных органах, мигрируя в фолликулы. Соответственно этим субпопуляциям Т-лимфоцитов выделяют разные по ключевым участникам и действующим биорегуляторам типы иммунных ответов, которые, впрочем, в ходе иммунной защиты сочетаются.

Первый тип, главным образом, определяется взаимодействием дифференцирующихся под влиянием ИЛ-12 Th1-лимфоцитов с макрофагами, в высокой степени зависит от производимого Th1 клетками γ -интерферона и направлен против патогенов, персистирующих и способных размножаться внутри клеток, а также избегать гибели после фагоцитоза. Его стратегия – усиление способности макрофагов убивать такие патогены, а также индукция устранения инфицированных клеток. В отношении противовирусной и антимикобактериальной резистентности именно этот тип ответа служит главным механизмом [44].

Его ослабление коррелирует с так называемой клеточно-эффекторной недостаточностью. Этот синдром проявляется одним или несколькими следующими признаками:

- частые ОРВИ (более 4 раз в год);
- все виды бородавок, остроконечные кондиломы, опосредованные папилломавирусом человека и контагиозным моллюском;
- клинически выраженные инфекции, вызванные вирусами группы герпеса (рецидивирующее течение герпеса 1-го и 2-го типа, 3-го типа (опоясывающий лишай, Herpes zoster), цитомегаловирусная инфекция, заболевания, вызванные вирусом Эпштейна – Барр;
- вирусные гепатиты (В, С, D, F, G);
- вирусные энтериты;
- повторные детские инфекции и/или инфекции, развивающиеся после проведения вакцинации (у детей в возрасте старше 7 лет и взрослых);
- грибковые инфекции (кандидамикоз, дерматомикоз) кожи, ногтей, слизистых оболочек (молочница), внутренних органов, трихофития;
- все виды опухолевых процессов.

Особо необходимо отметить, что любое развитие опухоли невозможно без нарушений клеточного звена иммунитета. Поэтому все онкологические пациенты с момента диагностики рака

(с позиций современной концепции иммуноредактирования) рассматриваются как иммунокомпрометированные больные, имеющие, как минимум, нарушения в клеточном звене иммунитета.

Клеточно-опосредованное повреждение (гиперчувствительность замедленного типа)

Длительное персистирование антигенов внутри антигенпредставляющих клеток или наличие не устраняемых воспалением и хронически стимулирующих иммунную систему объектов (например, кристаллов) создает условия для развития гиперчувствительности замедленного типа и формирования гранулем.

Гранулема – это очаг продуктивного воспаления, управляемого цитокинами, в ее состав клетки рекрутируются под влиянием хемокинов. Важную роль в формировании гранулем играют клетки макрофагальной линии и Т-лимфоциты, в особенности Th1. Иммунный ответ первого типа может лежать в основе хронического гранулематозного воспаления, как инфекционного, так и неинфекционного, в частности, аутоиммунного. Гранулематозное воспаление сопровождается системным распространением патогена (антигена). Если же провоцирующий антиген или гаптен остается в пределах покрова тела, истинных гранулем не образуется. Когда реакция идет в пределах многослойного эпителия (эпидермис, эпителий ротовой полости), гиперчувствительность замедленного типа приобретает форму контактного дерматита (стоматита).

Если антиген-провокатор присутствует лишь внутрикожно, гиперчувствительность замедленного типа выражается в формировании папулы, как при реакции Манту, что выделяют как туберкулиновый тип гиперчувствительности.

При системном распространении инфекции гранулемы содержат персистирующие в клетках возбудители. Клинически гиперчувствительность замедленного типа, имея относительно короткий период сенсibilизации (3-6 дней), характеризуется длительным латентным периодом ответной реакции, так как рекрутирование клеток в состав гранулемы путем хемотаксиса требует времени. Гранулемы достигают видимых проявлений через 3-4 недели, способствуя ограничению инфекции.

К основным заболеваниям с реакциями гиперчувствительности замедленного типа относятся проказа, туберкулез, шистосомоз,

болезнь Крона, бруцеллез, сифилис, легионеллез, некоторые микозы (когда первый и третий типы иммунного ответа комбинируются, см. ниже), риккетсиозы, лихорадка Q, внутриклеточные паразитозы (когда первый тип иммунного ответа сочетается со вторым, см. ниже) – всего более 70 различных инфекций и неинфекционных заболеваний с персистенцией трудно метаболизируемых инородных тел и продуктов нарушенного метаболизма. Примерами неинфекционных гранулематозных заболеваний служат пневмокониозы, подагра и, в известной степени, даже атеросклероз. При ревматизме гранулемы Ашоффа – Талалаева формируются как неинфекционные, хотя это иммунопатологическое заболевание и провоцируется изначально некоторыми серотипами стрептококка (см. ниже). Многие гранулематозные болезни не имеют достоверно доказанного возбудителя, но носят черты аутоиммунных заболеваний. Таковы саркоидоз, болезнь Крона и неспецифический язвенный колит, гранулематозные васкулиты, ревматоидный артрит, тиреоидит Де Кервена, хронический лимфоцитарный гипопизит и др. [11, 45].

1.4. Иммунопатологические синдромы, связанные со вторым типом клеточного иммунного ответа

Th2-клетки отличаются продукцией интерлейкинов – 4, 5 и 13 – и взаимодействуют с эозинофилами (через ИЛ-5), базофилами и мастоцитами (при участии ИЛ-4 и ИЛ-13) в организации гиперергического экссудативного воспаления. За счет ИЛ-4 они способствуют изотипическому переключению антителообразования на реактивные классы антител (IgE, IgG1). При посредстве ИЛ-4 и ИЛ-13 Th2 способны поляризовать макрофаги в неклассические противовоспалительные M2-клетки, индукторы фиброза и дирижеры репаративного компонента воспаления. Эти же интерлейкины позволяют Th2-лимфоцитам стимулировать выделение слизи эпителиальными клетками и перистальтику ЖКТ. Все это поддерживает противопаразитарный иммунитет, в котором Th2 играют ключевую роль, особенно, что касается внеклеточных паразитов: гельминтов и их личинок.

Кроме того, поскольку плацентация у высших млекопитающих является эволюционной надстройкой, базирующейся на видоизмененных толеризованных реакциях противопаразитарного

иммунитета, Th2-зависимые процессы – это и важнейший механизм плацентообразования и физиологической беременности [11, 44].

Избыточный и плохо отрегулированный иммунный ответ второго типа – главное патогенетическое звено многих аллергических воспалительных заболеваний, принадлежащих к атопическим болезням и основанных на реактинзависимых анафилактических реакциях².

Всвязистем, что реализация данного типа ответа принадлежит не только циркулирующим эозинофилам и базофилам, но и тучным клеткам (резидентным по своей природе), клинические проявления гипореактивности данного типа ответа не определяются. Напротив, большое количество заболеваний (а аллергия, если иметь в виду все ее патогенетические разновидности, поражает более 30 % населения мира) связано с гиперреактивным (гиперергическим) состоянием – гиперчувствительностью немедленного типа [46, 47].

Рассматривая этот феномен, напомним, что в 1968 г. британские иммунологи Робин Ройстон Эмос Кумбс (1921-2006) и Филип Джордж Хаутом Джелл (1914-2001) предложили классическую градацию гиперчувствительности или аллергических реакций, включающую 2-го типа (антитело-опосредованный (I-III) и клеточно-опосредованный (IV) и три категории первого типа – анафилактическую (I), цитотоксическую (II) и иммунокомплексную аллергию (III). С тех пор попытки принципиально улучшить эту классификацию были, но оказывались логически и патогенетически не вполне состоятельными, так как «новые» категории, например, антитело-опосредованная клеточная цитотоксичность и неструктурные антирецепторные антитело-опосредованные

² Следует иметь в виду, что в медицине Северной Америки и в медицине Европы исторически по-разному понимается термин «аллергия». Если в Европе (где, собственно, и был введен этот термин и осуществлены первые экспериментальные исследования этого явления) под аллергией понимают все случаи, когда слишком сильный и плохо отрегулированный иммунный ответ ведет к заболеванию, независимо от иммунного механизма, включая анафилактические, цитотоксические, иммунокомплексные и клеточно-опосредованные формы гиперчувствительности (что и отражено в классификации Джелла-Кумбса), то в США и Канаде по традиции редуционистски отождествляют термин «аллергия» только и исключительно с анафилактическими реакциями.

реакции принципиально оказывались по механизму вариантами этих классических, в частности, цитотоксической категории.

Тем не менее, ввиду накопления большого объема новых, практически полезных данных и, не в последнюю очередь, уступая влиянию североамериканской школы (см. примечание об употреблении понятия «аллергия»), Европейская академия аллергии и клинической иммунологии (EAACI) в 2023-24 г. согласовала консенсусом новую классификацию реакций гиперчувствительности [49]. Она полностью включает классическую градацию Кумбса и Джелла (дополняя ее V-VII категориями, которые классическая аллергология относилась к псевдоаллергии или аллергоидным реакциям, где не участвуют специфические лимфоциты и антитела (какое изменение нам не кажется удачным)).

Еще одно, чисто номенклатурное отличие состоит в том, что «немедленным типом гиперчувствительности» обозначается в новой классификации EAACI только I категория аллергических реакций (анафилактические по Кумбсу и Джеллу), тогда как у классиков данный термин включал I-III категории. В контексте новой классификации EAACI и мы ниже рассматриваем немедленный тип гиперчувствительности.

Гиперчувствительность немедленного типа

Согласно классической градации Джелла и Кумбса, понятие «гиперчувствительность немедленного типа» включает все антитело-опосредованные категории аллергических реакций, а согласно классификации EAACI – только реактинзависимую, I категорию. Ее развитие связано с действием антигена (аллергена) на специфические IgE и IgG1, расположенные на тучных и других клетках, располагающих рецептором к Fc-фрагменту иммуноглобулинов упомянутых классов (реагинов).

Срок сенсибилизации при гиперчувствительности немедленного типа составляет 7-12 дней. Он больше, чем при гиперчувствительности замедленного типа, так как требуется не только экспансия нужных клонов лимфоцитов, но и их трансформация в плазматические клетки с наработкой соответствующих иммуноглобулинов. Кажущийся парадокс связан с тем, что названия даны не по срокам, потребным для сенсибилизации, а по латентному периоду ответной реакции в сенсибилизированном организме.

У реакций немедленного типа очень короткий срок, так как достаточно контакта антигена с «заряженными» реагиновыми сенсорами клетками-резервуарами медиаторов воспаления, чтобы произошла их дегрануляция и развилось воспаление. Синдром проявляется реакциями, возникающими обычно через 5-30 мин. после контакта сенсибилизированного организма со специфическим аллергеном.

Он включает атопические заболевания, ключевым звеном патогенеза которых служат усиленные IgE (IgG1)-опосредованные иммунные реакции (атопическая бронхиальная астма, аллергические ринит, риносинусит, конъюнктивит, атопические дерматит и стоматит). Классическими проявлениями этого типа гиперчувствительности служат и анафилактические реакции на чужеродные аллергены (в виде крапивницы, отека Квинке, системной анафилаксии, проявляющейся анафилактическим циркуляторным шоком, особенно при парентеральном попадании и гематогенном распространении аллергена после укусов насекомых или инъекций лекарств). Описаны и анафилактические формы пищевой аллергии [4, 7, 11, 50].

Реакция может проявляться местно, в виде альтеративно-экссудативного воспаления в разных органах и частях тела, но особенно опасна при массивном системном распространении выделяемых эффекторными клетками провоспалительных аутокидов. Как и в других случаях нарушения барьерности воспаления (см. выше о ССВО), это приводит к полиорганной гипоксической недостаточности в силу гипоперфузии органов (анафилактический шок) и представляет угрозу для жизни, требуя неотложной медицинской помощи.

При местных реакциях чаще всего страдают дыхательные пути с формированием аллергического ринита, риносинусита, атопической бронхиальной астмы (то есть дистального рецидивирующего эозинофильного бронхита на почве гиперчувствительности бронхов), отека мягких тканей ротовой полости и верхних дыхательных путей (отек Квинке). Но возможно и поражение глаз – аллергический конъюнктивит, кожи – крапивница, атопический дерматит, желудочно-кишечного тракта – аллергический энтерит.

Описан даже анафилактический коронарораспизм. Широко распространена и лекарственная аллергия этого типа [4, 7, 11, 51]. К наиболее частым триггерам лекарственной аллергии относятся

антибиотики, нестероидные противовоспалительные средства, контрастные вещества, анестетики. Следует помнить, что лекарственная аллергия может иметь и другие механизмы, относящиеся к остальным категориям гиперчувствительности, в том числе гиперреакция может быть псевдоаллергической или алергоидной (то есть похожей на аллергическую, но развивающейся без участия специфических антител и специфических клонов лимфоцитов), например, из-за прямого действия лекарств на тучные клетки и базофилы. Такие формы не относятся к анафилаксии [7, 11].

1.5. Иммунопатологические синдромы, связанные с третьим типом клеточного иммунного ответа

Третий тип иммунного ответа происходит при ключевом участии Th17-хелперов, для дифференцировки которых нужны ИЛ-1, ИЛ-23, ТФРβ и, в первую очередь, ИЛ-6.

Сигнализируя при помощи своих ИЛ-17 и ИЛ-22, эти лимфоциты взаимодействуют, главным образом, с нейтрофилами и эпителиоцитами, организуя воспаление, направленное против экстрацеллюлярно локализованных патогенов. К ним относятся капсульные микроорганизмы, не персистирующие в фагоцитах (по клинко-микробиологической терминологии – «гноеродная микрофлора»: стафилококки, стрептококки, гонококки, менингококки, синегнойная палочка, группа протей, сибиреязвенная палочка и др.), а также грибы.

Важным аспектом этого типа иммунного ответа служит опосредованное ИЛ-22 производство нейтрофилами и эпителиоцитами естественных животных антибиотиков, в частности, дефензинов.

Еще один контролируемый цитокинами Th17 лимфоцитов процесс – рост и регенерация эпителия, что важно при заживлении ран, эрозий и язв, а также в контроле репаративных процессов в солидных эпителиальных органах (печень, почки) [44, 52].

Соответственно, данный тип реакций включает наиболее эффективные «дезинфекторы» очагов воспаления и поверхностей органов и тканей – нейтрофилы с их мощным окислительным свободно-радикальным ударом по объектам фагоцитоза. Только эти клетки располагают возможностью продукции такого сильного антимикробного агента как гипохлорит-анион (перхлорат), а зеленовато-

желтый цвет гноя при дирижируемом иммунном ответе 3-го типа гнойном воспалении зависит от содержания хрома в активном центре миелопероксидазы и солей четырехвалентного хрома – в эксудате [11].

Нейтрофил, в отличие от долгоживущего макрофага, способного к антигенной презентации, это короткоживущий фагоцит одноразового действия, в котором не персистируют патогены. Он не участвует в антигенной презентации. Но это своего рода ручная граната или мина в системе противоинфекционной защиты. Такое сравнение тем более оправдано, что нейтрофилы способны не только поглощать и разрушать объекты фагоцитоза, выполнять функцию антителозависимой клеточной цитотоксичности, орошать патогены медиаторами воспаления в ходе экзоцитоза, но и могут расставлять «нейтрофильные внеклеточные ловушки», аналог мин: нити ДНК с фиксированными на них антибиотическими белками. Этот процесс известен как нетоз [44].

Клинические проявления, связанные с нарушениями третьего типа клеточного иммунного ответа, весьма разнообразны. Однако с позиций патогенеза развития заболеваний практически целесообразно выделять синдром недостаточности макрофагально-фагоцитарного звена и группу пациентов с аутовоспалительными синдромами.

Синдром недостаточности макрофагально-фагоцитарного звена

Диагностические признаки данного синдрома нередко весьма сходны с признаками синдрома недостаточности гуморального звена иммунитета (см. ниже). Однако обычно при синдроме недостаточности макрофагально-фагоцитарного звена бактериальные инфекции протекают вяло, без высокой температуры и других коррелятов воспаления. Характерными признаками недостаточности макрофагально-фагоцитарного звена считаются рецидивирующие «холодные», то есть не сопровождаемые выраженными признаками воспаления и ответа острой фазы, абсцессы разных локализаций и локальные инфекции, включая гнойные пневмонии и грибковые поражения [3, 5, 11].

Отметим, что главными эффекторами третьего типа иммунного ответа считаются не макрофаги, а нейтрофильные гранулоциты,

которые основоположник учения о фагоцитозе И.И. Мечников назвал микрофагами, поэтому патофизиологически точнее было бы называть данный синдром микрофагально-фагоцитарной недостаточностью.

Примером первичного наследственного варианта этого нарушения служит так называемый синдром Иова (по имени ветхозаветного праведника Иова из земли Уц, которого Господь испытывал, позволив Сатане наслать на него непроходящие «страшную проказу и струпья»).

Синдром в большинстве случаев зависит от мутаций мастера гена STAT3, контролирующего дифференцировку Th17. Помимо вышеназванных проявлений, он отличается уклоном дифференцировки наивных Т-клеток в сторону Th2, что ведет к усилению 2-го типа иммунных ответов, гиперпродукции реактивных IgE и проявлениям atopических заболеваний, в частности, дерматита.

Таким образом, это типичный пример сочетания гипофункции одного и связанной с ней гиперфункции другого звена иммунитета, иллюстрирующий несостоятельность односторонней трактовки иммунопатологических заболеваний, как однозначно гипер- либо гипореактивных.

Интересно, что в последнее время патогенез заболеваний, связанных с нарушениями регенерации эпителиев, также связывают с аномалиями данного типа иммунного ответа, конкретно – отклонениями в ту или другую сторону ИЛ-22-опосредованной регуляции [52]. При язвенной болезни, афтозных стоматитах, эрозиях слизистой усматривается недостаточность ростовых сигналов ИЛ-22, а при псориазе – наоборот, их избыточность (см. ниже).

Аутовоспалительные синдромы

Аутовоспалительные заболевания патогенетически связаны с аномальной активацией врожденного иммунитета (в том числе эффекторных клеток иммунной системы), клинически они проявляются повторяющимися эпизодами лихорадки с другими проявлениями острофазного ответа, а при тяжелом течении ведут к ССВО (см. выше). Их картина характеризуется различными типами поражения кожи и/или слизистых, суставов и глаз [13, 53]. В основе наиболее типичных аутовоспалительных синдромов лежат аномалии самосборки и регуляции функций инфламмасом – временных

органоидов, запускаемых при действии различных лигандов, связанных с инфекцией и повреждением клеток, на Toll-подобные рецепторы клеток системы врожденного иммунитета и производящих провоспалительные цитокины. Многие из этих заболеваний имеют генетическую основу. Примером моногенного аутовоспалительного наследственного заболевания служит синдром Блау: ранний гранулематозный дерматит с увеитом и артритом на почве аутосомно-доминантного дефекта гена NOD2/CARD15 в 16-й хромосоме, кодирующего внутриклеточный рецептор бактериальных пептидогликанов. Инфламмасомный механизм у больных избыточно активен.

Семейная средиземноморская лихорадка связана с аутосомно-рецессивным дефектом другого гена 16-й хромосомы – MEFV, кодирующего белок пирин (маренострин), участвующий в самосборке инфламмасом. Болезнь проявляется приступами лихорадки на фоне симптомов ответа острой фазы с полисерозитом и миалгией.

Вместе с тем существует немало полигенных аутовоспалительных заболеваний с аддитивным наследованием и пороговым эффектом по внешним или эндогенным триггерам, запускающим реакции врожденного иммунитета. Аутовоспалительный механизм участвует в их патогенезе, хотя и не служит исключительным, сочетаясь с другими иммунопатологическими звеньями. Таковы подагра и псевдоподагра, болезнь Крона и неспецифический язвенный колит, саркоидоз, ювенильный идиопатический артрит и его взрослая форма. Аутовоспалительные элементы (наряду с аутоиммунными и другими) усматривают в патогенезе болезни Бехчета, псориаза, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита и даже в атерогенезе [44, 54].

Некоторые аутовоспалительные заболевания (например, язвенный колит) повышают риск новообразований, лица, предрасположенные к аутовоспалительным заболеваниям, могут давать неадекватно сильный и самоповреждающий ответ при инфекциях, в том числе COVID-19. Интересно, что при синдроме Оменна (аутосомно-рецессивные дефекты генов RAG-1 и RAG-2) сочетаются проявления первичного комбинированного иммунодефицита и аутоиммунные/аутовоспалительные симптомы [44].

В реальной клинической практике **аутовоспалительные заболевания** довольно разнообразны, диагностика их затруднена и нередко отсрочена по времени. Основными их проявлениями

являются возвратные эпизоды ответа острой фазы с проявлениями умеренного ССВО (лихорадки, асептические воспаления серозных оболочек, суставов, миндалин, кожных покровов, повышение СОЭ со сдвигами протеинограммы плазмы, лейкоцитоз). Хроническое длительное течение аутовоспалительных синдромов способствует амилоидозу.

1.6. Иммунопатологические синдромы, связанные с нарушением гуморального звена иммунного ответа

Деление иммунитета на клеточный и гуморальный до известной степени условно и представляет собой дань историческому наследию иммунологии. На деле антителообразование зависит от функций клеток: В-лимфоцитов, их потомков – плазматических клеток, а также координирующих их аффинное созревание в лимфоидных фолликулах fTh-лимфоцитов (фолликулярных Т-хелперов).

С другой стороны, номинальные носители «клеточного иммунитета», например, Т-лимфоциты, выделяют многочисленные цитокины, а последние представляют собой растворимые гуморальные биорегуляторы, важные для иммунной защиты.

С этой оговоркой можно полагать, что гуморальное звено – это de facto антителообразование и антителозависимые эффектор-ные функции, в том числе осуществляемые системой комплемента и так называемыми К-клетками (см. ниже).

С нарушениями данного звена иммунитета связана большая группа заболеваний. Недостаточность этого звена иммунного ответа чаще всего проявляется как бактериальные инфекции (бактериальные пневмонии, ангины, аднексит, остеомиелит, менингит и др., вплоть до сепсиса), при гиперреакции гуморального звена на первый план в картине болезни выходит избыточно активная антителозависимая цитотоксичность как разновидность II категории гиперчувствительности (цитотоксических реакций).

Гуморально-эффекторный иммунодефицит

Недостаточность антителообразования и/или антителозависимых функций комплемента подозревается при наличии у больного:

- бактериальных инфекций верхних дыхательных путей и лор-органов (более 3-4 раз в год с затяжным течением, остаточными явлениями в виде субфебрилитета, астении, затяжной ангины);
- бактериальных инфекций легких (хронические бронхиты с бронхоспазмом или без него, пневмонии различной этиологии);
- бактериальных инфекций кожи и подкожной клетчатки (фурункулез, абсцессы, флегмоны, рецидивирующий парапроктит);
- инфекционно-воспалительных заболеваний органов мочеполовой системы (цистит, пиелонефрит, аднексит и др.);
- других бактериальных инфекций (менингоэнцефалит, артрит, сепсис);
- заболеваний пищеварительного тракта, вызванных бактериями (стоматит, пародонтит, гастрит, гастродуоденит, язвенная болезнь, колит, энтероколит, холецистит, перитонит, дисбактериоз).

Диагноз в любом случае требует лабораторного подтверждения.

Антителозависимый цитотоксический синдром

Цитолитическая или антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ) представляет собой важный механизм взаимодействия адаптивного и врожденного иммунитета.

Клетки, располагающие рецептором к Fc-фрагментам антител, способны присоединяться к помеченному антителом объекту и осуществлять цитолитическое или индуцирующее клеточную гибель воздействие на такие объекты без их поглощения. Совокупное название клеток, способных к этому, – К-клетки³. К-клетки – это не семейство, династия или клеточная линия, а «профессия», то есть в этой роли могут выступать естественные киллеры (NK-клетки), эозинофилы, нейтрофилы, макрофаги. АЗКЦ – важный механизм иммунной защиты от внутриклеточных патогенов, паразитических простейших, часть противоопухолевого иммунитета, участвует она и в отторжении трансплантата. Но при избыточной активации и неверной нацеленности процесс может быть вредоносным. При аутоиммунных заболеваниях (хроническом активном гепатите, неспецифическом язвенном колите, тиреоидите и др.), когда антитела

³ Не путать с апудоцитарными К-клетками тонкого кишечника, выделяющими глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид.

направлены против антигенов собственных клеток, АЗКЦ становится механизмом самоповреждения [11]. Для развития проявлений опосредованных АЗКЦ реакций обычно требуется от 2 до 24 часов.

Антитела, за редкими исключениями, сами не обладают прямой ферментативной активностью (хотя и описаны абзимы со свойствами ДНКаз, протеаз и гликозидаз). Повреждение, опосредованное иммуноглобулинами, может формироваться с помощью трех различных механизмов:

- АЗКЦ вышеперечисленных К-клеток;
- активации комплемента, конечный продукт которого, C5-C9, обладает цитолитическими свойствами;
- опсонизирующего эффекта и антителозависимого фагоцитоза профессиональными фагоцитами.

Если расширить понятие повреждения и распространить его на нарушения информационных процессов в клетках, то следует подчеркнуть, что антитела к клеточным рецепторам (причем как мембранным, так и находящимся внутри клетки) способны разнонаправленно модулировать их активность [11]. При патологии, в норме и в эксперименте продемонстрировано наличие антител и аутоантител, блокирующих или стимулирующих клеточные рецепторы и, таким образом, способных стимулировать или подавлять генетически детерминированные клеточные функции и влиять на рост и жизнедеятельность клеток-мишеней [55]. Таким образом, средством информационного повреждения клетки и изменения ее жизнедеятельности может быть связывание антител с ее рецепторами.

Антитела против чужеродных антигенов также могут запускать воспаление по механизму молекулярной мимикрии. Молекулярная мимикрия – один из основных механизмов, с помощью которого микроорганизмы могут вызывать аутоиммунные реакции у хозяина. Она определяется как наличие схожих эпитопов между микробными антигенами и аутоантигенами хозяина, что приводит к активации аутореактивных Т- и В-клеток в организме хозяина [56]. Как правило, речь идет о мимикрирующих секвенс-детерминантах общих пептидов и, соответственно, об активации «античужих» Т-хелперов и их взаимодействии с «антисвоими» В-лимфоцитами, презентовавшими им гомологичный пептид аутоантигена. Подобный эффект может быть спровоцирован и неинфекционными мимикрирующими антигенами. Так, пептид из состава альбумина коровьего молока

мимикрирует с пептидом человеческого инсулина, в связи с чем искусственное вскармливание в первые месяцы жизни повышает у ребенка риск развития аутоиммунного сахарного диабета I типа [11]. Классический пример – ревматизм, при котором антитела, направленные против стрептококковых антигенов, перекрестно взаимодействуют со структурно сходными антигенами сердца, провоцируя ревматический кардит.

1.7. Многофакторные иммунопатологические синдромы

Как правило, в развитии того или иного иммунопатологического заболевания участвует несколько иммунопатологических процессов. Поэтому относить их к какому-то одному паттерну можно лишь упрощенно. Скорее, следует исходить из многофакторности их патогенеза.

Синдром патогенного воздействия иммунных комплексов

Иммунные комплексы формируются в организме все время и при каждом иммунном ответе. Но при нарушениях в системе их клиренса они оседают на эндотелии микроциркуляторного русла или накапливаются периваскулярно, запуская воспаление. Значительная часть индивидов (не менее 5 %) имеет наследственные или приобретенные дефекты в системе клиренса иммунных комплексов: аномалии строения Fc-фрагментов иммуноглобулинов, Fc-рецепторов фагоцитов, CR1-рецептора комплемента, дефекты или нехватку факторов комплемента, выполняющих роль опсонизаторов при поглощении иммунных комплексов и пр. Такие индивиды предрасположены к иммунопатологическим реакциям, связанным с иммунными комплексами (гиперчувствительности категории III по Джеллу-Кумбсу) [11, 44]. Синдром патогенного действия иммунных комплексов, таким образом, возникает, если они не были адекватно удалены клетками врожденного иммунитета и способствовали формированию воспаления в местах их отложения [4, 57]. Развитие данного синдрома обычно связано с хроническими персистирующими инфекциями, аутоиммунными заболеваниями, поступлениями большого количества антигенов в сенсibilизированный или интактный организм (например, при сывороточной болезни). Иммунные комплексы при задержке их клиренса откладываются, в первую

очередь, там, где кровяное давление относительно высокое, а сосуды извитые: этому способствует турбулентный кровоток. Поэтому типичными формами иммунокомплексной патологии служат гломерулонефриты, увеиты, хориоидиты, ретиниты, артриты. Иммунокомплексный механизм участвует в патогенезе эндокардитов. Встречная диффузия ингалированных антигенов плесневых грибов и антител к ним до момента оседания иммунных комплексов в зоне эквивалентности – в пространстве между альвеолами и капиллярами малого круга – формирует интерстициальное воспаление и служит основным патогенетическим звеном интерстициальных бронхолегочных альвеолитов [7, 11]. При менингококковой инфекции иммунокомплексная реакция – один из важных патогенетических механизмов, связанных с формированием ее патогномичных симптомов и осложнений. Васкулит, вызванный иммунными комплексами, – это одно из центральных звеньев патогенеза системной красной волчанки и элемент практически всех ревматологических заболеваний [7]. Ваза-вазорит (то есть васкулит *vasa vasorum* крупных артерий) участвует в патогенезе атеросклероза и его осложнений и имеет иммунокомплексный компонент патогенеза, в связи с чем при всех ревматологических заболеваниях атерогенез ускоряется [58].

Выделяют три этапа развития данного синдрома:

- 1) образование циркулирующих иммунных комплексов;
- 2) депонирование иммунных комплексов на сосудах и в тканях;
- 3) развитие асептического воспаления.

Иммунозависимый гипорегенеративный синдром

Это нарушение определяется, прежде всего, тогда, когда после повреждения не происходит возмещения дефекта ткани, идентичной погибшей, с восстановлением структуры и способности органа к выполнению специализированной функции. Наглядно это проявляется при хронических незаживающих ранах, пролежнях, в структуре синдрома диабетической стопы и пр. Однако и процесс фиброплазии, то есть замещения утраченной ткани на соединительную, имеет свои издержки. Поэтому как нарушение регенерации надо рассматривать и фиброзы органов, а значит, имеет смысл диагностировать такой синдром при фиброзе, а тем более при циррозе печени. При склеродермии (системном склерозе) цитокины,

в особенности трансформирующий фактор роста- β (TGF β), и аутоантитела, продуцируемые иммунной системой больного, обуславливают резкое усиление фибротических процессов в дерме. При системной IgG4-ассоциированной иммунопатии развивается на фоне избытка антител этого подкласса и синтезирующих их плазматических клеток фиброзирующее вялотекущее воспаление многих органов и тканей (см. ниже).

Мощные регуляторы роста и регенерации как в отношении эпителиальных, так и в отношении соединительнотканых клеток выделяются клетками иммунной системы. Еще в 1950-х годах отечественный гистолог Н.Г. Хрущев на культурах клеток доказал, что митогенные стимулы в отношении соматических клеток при воспалении выделяются исключительно мононуклеарными лейкоцитами, в основном живыми лимфоцитами. Сегодня установлено, что продукт Th17, $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов слизистых оболочек и клеток врожденного иммунитета (IL3, NK-клеток), цитокин семейства ИЛ-10 – интерлейкин-22 (ИЛ-22) – действует на эпителиоциты (ЖКТ, печени, бронхолегочного аппарата, эпидермиса, многослойного плоского эпителия полости рта и половых органов) как мощный митоген, способствуя их регенерации. Он вырабатывается в ответ на стимуляцию орфанных рецепторов семейства ретиноевой кислоты и арил-гидрокарбонового рецептора. Его синтез контролируется ИЛ-23, выделяемым дендритными клетками, и стимулируется ИЛ-6, а TGF β понижает его продукцию. Как уже говорилось выше, эрозии, афты и язвы слизистых оболочек, незаживающие дефекты кожи формируются при участии нарушений этого репаративного иммунозависимого механизма [52]. Что же касается фиброплазии, то цитокины, стимулирующие размножение фибробластов и синтез ими компонентов межклеточного вещества, поставляют M2-макрофаги, контролируемые при участии Th2. Определенную роль в этих процессах играют и тромбоциты как источники факторов роста эндотелия, гладких мышц и фибробластов, а также эпидермального фактора роста, способствующие неоангиогенезу и заживлению ран. Более того, имеются как митогенные в отношении разных клеток, так и антимитогенные аутоантитела (причем последние могут быть адресованы мембранным и ядерным рецепторам, контролирующим рост клеток) [55], что дополняет патогенез иммунозависимого гипорегенераторного синдрома. Ярким проявлением этого синдрома

может, например, быть аутоиммунный атрофический гастрит на почве нарушения аутоантителами к гастриновому рецептору и/или к внутреннему антианемическому фактору Касла регуляции регенерации эпителия слизистой желудка [11].

Синдром недостаточности регуляторного звена иммунитета

Данный синдром представляет собой сочетание вышеописанных синдромов. При этом необходимо выделить некоторые особенности течения заболеваний, характеризующихся синдромом недостаточности регуляторного звена иммунитета, а именно устойчивость к стандартной специфической терапии или быстрое развитие рецидива после лечения; затяжное или хроническое течение с частыми рецидивами; активацию условно-патогенной микрофлоры, микст-инфекции, смену возбудителя в динамике болезни.

II ЧАСТЬ

МЕТОДЫ ИММУНОДИАГНОСТИКИ

Иммунодиагностика – это область медицины, которая использует иммунные реакции для диагностики заболеваний. Имеет смысл разделить методы иммунодиагностики на определения клеточных и гуморальных компонентов иммунной системы и на определения способности иммунной системы распознавать и реагировать на антигены. Данные исследования широко применяются в клинической диагностике, научных исследованиях, фармакологии и других областях играют важную роль в современной медицине, обеспечивают высокую чувствительность и специфичность, позволяя быстро и точно диагностировать различные заболевания [87].

2.1. Методы исследования гуморального звена иммунитета

Гуморальный иммунитет обеспечивается различными молекулами, которые осуществляют эффекторные и регуляторные функции иммунной системы. Их концентрация в организме обычно стабильна и изменяется при развитии каких-либо патологических процессов. При аутоиммунных заболеваниях и аллергии факторы гуморального иммунитета являются основой развития заболевания. В связи с тем, что в структуре первичных иммунодефицитов чаще всего встречаются дефекты гуморального звена иммунитета, определение различных его параметров является обязательным. На выявлении определенных антител к инфекционным антигенам во многом основана диагностика многих заболеваний. Но при определении антитела всегда следует помнить, что они могут появляться как в результате активного инфекционного процесса, так и после перенесенной в прошлом инфекции или вакцинации.

Все методы анализа, основанные на специфическом взаимодействии антигенов и антител, используются для выявления и количественного определения биологических молекул, таких как белки, гормоны, антитела, антигены и другие маркеры. Следует отметить, что для применения методов иммунодиагностики необходимы высококачественные реагенты (антитела, ферменты, метки), специальное оборудование и высококвалифицированный персонал.

Необходимо учитывать, что возможно получение как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов даже при соблюдении всех условий для проведения анализа.

Основные принципы иммунодиагностики:

1. Специфичность: антитела связываются только с определенными антигенами благодаря комплементарности их структур.

2. Чувствительность: методы позволяют обнаруживать очень низкие концентрации аналитов.

3. Количественный и качественный анализ: возможность определения наличия и количество целевых молекул.

Основные методы иммунодиагностики:

1. Иммуноферментный анализ (ИФА, ELISA): применение ферментной метки для визуализации взаимодействия антигена и антитела.

Типы ИФА:

– прямой ИФА;

– непрямой ИФА;

– сэндвич-ИФА;

– конкурентный ИФА.

Применяется для диагностики инфекционной патологии, определение гормонов, онкомаркеров.

2. Иммунофлуоресцентный анализ (ИФА) основан на использовании флуоресцентных меток для детекции взаимодействия антигена и антитела.

Применяются различные варианты ИФА:

– прямая иммунофлуоресценция;

– непрямая иммунофлуоресценция.

Применяется для диагностики аутоиммунных заболеваний, исследование клеточных маркеров.

3. Иммунохроматографический анализ (экспресс-тесты) основан на использовании хроматографической мембраны для быстрого разделения и детекции антигенов или антител.

Применяется для экспресс-диагностики инфекций (например, COVID-19, грипп), тесты на беременность.

4. Радиоиммунный анализ (РИА): принцип метода основан на использовании радиоактивных меток для детекции взаимодействия антигена и антитела.

Применяется для определения гормонов, онкомаркеров (в настоящее время используется реже из-за рисков, связанных с радиоактивностью).

5. Иммуноблоттинг (Вестерн-блоттинг) основан на принципе разделения белков электрофорезом с последующим переносом на мембрану и детекцией с помощью антител.

Применяется для диагностики инфекционной патологии (например, ВИЧ), исследования белков.

6. Проточная цитометрия: анализ клеток, меченных флуоресцентными антителами, с помощью лазера и детекторов. Метод необходим для исследования иммунных клеток, диагностики лейкозов и лимфом.

7. Иммунопреципитация основана на принципе осаждения комплексов антиген-антитело для дальнейшего анализа для определения белковых взаимодействий.

8. Иммуногистохимия основана на применении антител для визуализации антигенов в тканевых срезах. Метод необходим для диагностики опухолей и исследовании тканевых маркеров.

9. Мультиплексный анализ: проводится одновременное определение нескольких аналитов в одном образце. Применяются Luminex и ELISA-панели, которые полезны для определения уровня цитокинов.

2.2. Методы исследования клеточного звена иммунитета

Общепринято считать, что для диагностики иммунных нарушений необходимы специальные иммунологические исследования. Это отчасти верно, хотя и другие лабораторные исследования дают значимую информацию о работе иммунной системы и причинах ее неадекватной работы. Прежде всего, основным лабораторным тестом для оценки иммунитета является клинический анализ крови с оценкой количественных и качественных характеристик всех классов форменных элементов и определение скорости оседания эритроцитов.

Более детально исследование клеточного звена иммунитета с оценкой количества, функциональной активности и состояния различных популяций иммунных клеток, таких как Т-лимфоциты, В-лимфоциты, NK-клетки, макрофаги и дендритные клетки возможно с использованием проточной цитометрии [62, 66].

Проточная цитометрия

Проточная цитометрия – это метод анализа клеток и частиц, который позволяет быстро и точно измерять их физические и химические характеристики. Этот метод широко используется в биологии, медицине и иммунологии для изучения клеточных популяций, определения их свойств и функций.

Проточная цитометрия является мощным инструментом для диагностики иммунологических нарушений, так как позволяет анализировать множество параметров иммунных клеток, включая их фенотип, функциональное состояние и активацию (рис. 1). Этот метод широко используется в клинической и исследовательской практике для выявления нарушений иммунной системы, таких как иммунодефициты, аутоиммунные заболевания, аллергии и онкологические заболевания [90, 91].

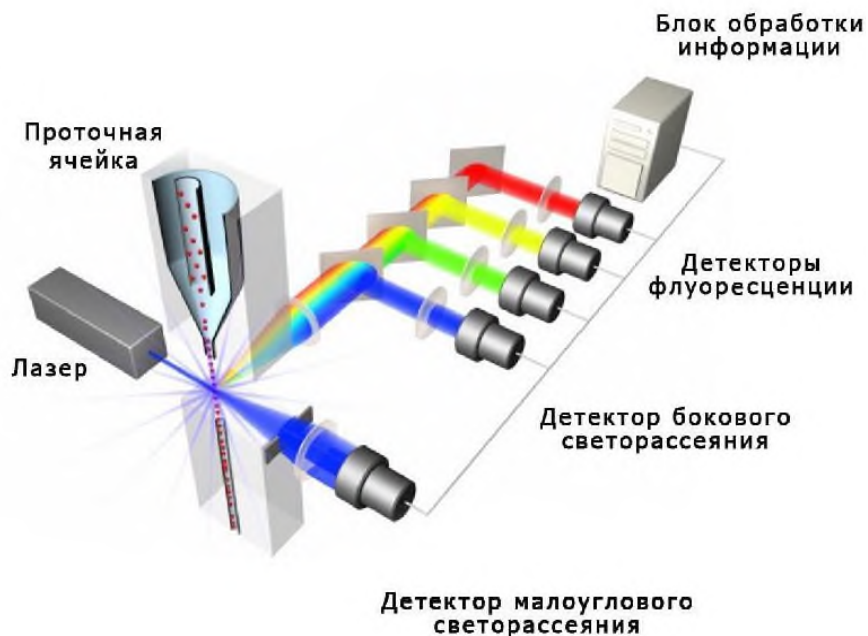


Рис. 1. Принципы работы проточной цитометрии

К преимуществам метода относятся:

– высокая скорость анализа (тысячи клеток в секунду);

– возможность одновременного измерения множества параметров;

– высокая чувствительность и точность.

К ограничениям метода относят:

– необходимость дорогостоящего оборудования и реагентов;

– необходимость тщательной подготовки образцов;

– интерпретация данных может быть сложной.

Основные направления диагностики иммунологических нарушений с помощью проточной цитометрии:

1. Оценка иммунного статуса:

– определение субпопуляций лимфоцитов (Т-клетки, В-клетки, NK-клетки);

– анализ соотношения CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитов (важно при ВИЧ-инфекции и других иммунодефицитах);

– выявление маркеров активации (например, CD25, HLA-DR) и памяти (CD45RO, CD45RA).

2. Диагностика первичных и вторичных иммунодефицитов:

– выявление дефицита специфических популяций иммунных клеток (например, отсутствие В-клеток при агаммаглобулинемии);

– оценка экспрессии поверхностных молекул, таких как CD40L, важных для функционирования иммунной системы.

3. Аутоиммунные заболевания:

– анализ регуляторных Т-клеток (Treg), которые играют ключевую роль в подавлении аутоиммунных реакций;

– выявление аутореактивных лимфоцитов и маркеров активации иммунной системы.

4. Онкологические заболевания:

– диагностика лейкозов и лимфом с помощью определения специфических маркеров (например, CD19, CD20, CD5, CD10);

– оценка минимальной остаточной болезни (МОБ) после лечения.

5. Аллергические заболевания:

– анализ базофилов и их активации (тест на дегрануляцию базофилов);

– определение специфических IgE на поверхности клеток.

6. Трансплантология:

– оценка совместимости донора и реципиента (HLA-типирование);

– мониторинг реакции «трансплантат против хозяина» (GvHD).

7. Функциональные тесты:

– оценка цитокинового профиля (например, IL-2, IFN- γ , TNF- α) для определения функциональной активности клеток;

– анализ внутриклеточных сигнальных молекул и транскрипционных факторов.

Основные маркеры, используемые в проточной цитометрии для диагностики иммунологических нарушений:

– Т-клетки: CD3, CD4, CD8, CD25, CD45RA, CD45RO;

– В-клетки: CD19, CD20, CD27, CD38, IgD, IgM;

– NK-клетки: CD16, CD56, CD57;

– моноциты/макрофаги: CD14, CD16, HLA-DR;

– стволовые клетки: CD34, CD133.

2.3. ELISPOT

ELISPOT (Enzyme-Linked Immunospot Assay) – это высокочувствительный иммунологический метод, используемый для обнаружения и количественной оценки отдельных клеток, секретирующих специфические белки, такие как цитокины, хемокины или антитела. Этот метод широко применяется для изучения иммунных ответов, особенно Т-клеточных и В-клеточных реакций (рис. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
Определение Т-лимфоцит, специфически отвечающие на антиген к вирусу SARS-CoV-2*
Тест системы: ТераТест® SARS-CoV-2 (AOI (Генератор)), срок годности: 30.10.2021, артикул: 33009421

	Негативный контроль	Позитивный контроль	Панель антигенов 1 (пептиды белка S)	Панель антигенов 2 (пептиды белков N, M, O3, O7)
Изображение				
Количество спотов	19	>500	86	>100
Параметр	Критерий		Значение	Заключение
Негативный контроль	не более 14		19	Не соответствует
Позитивный контроль	не менее 100		>500	
Количество спотов в панели антигенов 1 (за вычетом количества спотов в отрицательном контроле)	Отрицательный < 10 спотов Неопределенный = 11-12 спотов Положительный > 12 спотов		67	Положительный
Количество спотов в панели антигенов 2 (за вычетом количества спотов в отрицательном контроле)	Отрицательный < 10 спотов Неопределенный = 11-12 спотов Положительный > 12 спотов		>100	Положительный

Рис. 2. Принцип проведения ELISPOT

Применение ELISPOT:

1. Исследование Т-клеточного иммунитета:

– оценка специфического ответа Т-клеток на антигены (например, вирусные, бактериальные, опухолевые).

– изучение цитокинового профиля (IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10 и др.).

2. Оценка эффективности вакцин по индукции Т-клеточного ответа.

3. Аутоиммунные заболевания: исследование аутореактивных Т-клеток.

4. Аллергология: анализ Th2-ответа (например, IL-4, IL-5).

5. Онкология: оценка противоопухолевого иммунного ответа.

6. Инфекционные заболевания: диагностика латентной туберкулезной инфекций, дифференциальная диагностика гранулематозных заболеваний.

Преимущества ELISPOT:

1. Высокая чувствительность: метода позволяет обнаруживать даже единичные клетки, секретирующие целевой белок.

2. Количественный анализ: количество пятен соответствует количеству активированных клеток.

3. Функциональная информация: позволяет оценить функциональную активность клеток (например, способность секретировать цитокины).

4. Широкий спектр применения: может быть адаптирован для изучения различных белков (цитокины, антитела).

Примеры использования ELISPOT:

– туберкулез: оценка специфического ответа Т-клеток на антигены *Mycobacterium tuberculosis* (например, с использованием QuantiFERON-TB Gold);

– ВИЧ: исследование цитокинового профиля у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Ограничения метода:

– требуется высококачественные реагенты (антитела, субстраты);

– необходимость тщательной оптимизации условий эксперимента;

– возможность ложноположительных или ложноотрицательных результатов из-за неспецифического связывания или недостаточной стимуляции клеток.

Сравнение с другими методами:

- ELISPOT является более чувствительным, так как позволяет обнаруживать отдельные клетки, в то время как ELISA измеряет общую концентрацию белка в образце;

- проточная цитометрия: ELISPOT предоставляет информацию о функциональной активности клеток, тогда как проточная цитометрия фокусируется на фенотипе и поверхностных маркерах.

Сегодня ELISPOT является мощным инструментом для изучения клеточного иммунитета и широко используется в фундаментальных и клинических исследованиях.

В 2023 году зарегистрирован отечественный анализатор для микропланшетов для считывания результатов тестов на основе метода иммуоферментных пятен (ELISPOT) «СКРИНСПОТ®» (Generium) (рис. 3).

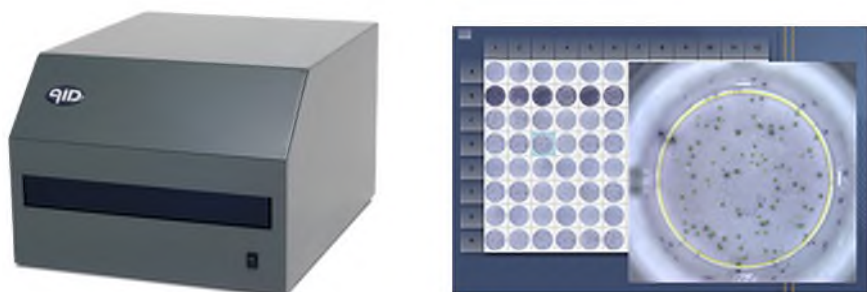


Рис. 3. Ридер для определения спотов

Блок анализатора оснащен цифровой камерой и подсветкой для фотофиксации результатов исследований в микропланшете методом иммуоферментных пятен (ELISPOT). Микропланшет размещается в лотке прибора. Прибор имеет регулировку по трем пространственным осям для позиционирования лунки в поле зрения камеры. Полученные цифровые изображения передаются на персональный компьютер с установленным программным обеспечением «СКРИНСПОТ®» для последующей обработки.

Тесты на основе методики ELISPOT

Первый тест, основанный на количественном определении

сенсibilизированных Т-лимфоцитов в ответ на стимуляцию пептидными антигенами (ESAT-6 (early-secreted antigenic target), CFP-10 (culture filtrate protein)), которые присутствуют в нуклеотидной последовательности *M. tuberculosis*, но при этом отсутствуют у *M. bovis* BCG и большинства нетуберкулезных микобактерий (кроме *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai*) (рис. 4) [92, 93].



Рис. 4. ELISPOT (метод T-SPOT.TB)

Впервые продукт (ELISPOT тест) был лицензирован в Европейском союзе в июле 2004 года, в июле 2008 года получил одобрение в США. Проведенные исследования показали, что диагностическая чувствительность и специфичность теста достигает 90-98 % [94]. В особенности тест зарекомендовал себя как наиболее эффективный при определении активности туберкулезной инфекции на фоне ВИЧ-инфекции, что обеспечивается за счет стимуляции непосредственно CD4-лимфоцитов [95, 96].

ТиграТест® ТВ

С 2024 года в России разработан и применяется тест ТиграТест®ТВ (АО «Генериум», Россия) (рис. 5).

Метод применяется для *in vitro* диагностики наличия туберкулезной инфекции путем выявления в крови Т-лимфоцитов, реагирующих на стимуляцию антигенами ESAT-6 и CFP-10, специфичными для микобактерии комплекса *Mycobacterium tuberculosis* (методика ELISPOT), в том числе:

– для скрининга среди лиц, относящихся к группам повышенного риска по развитию туберкулезной инфекции;



Рис. 5. ELISPOT (ТузраТест®ТВ)

– дифференциальной диагностики туберкулезной инфекции от поствакцинальной аллергии в результате вакцинации BCG (*Mycobacterium bovis* BCG).

Диагностическая точность тест-системы – высокая (специфичность и чувствительность на уровне 100 %). Особенностью данного теста является – полностью российские компоненты и большой срок годности составляющих после вскрытия набора [1].

QuantIFERON-TB

Практически одновременно в США был разработан и внедрен альтернативный иммунологический тест – QuantIFERON-TB, который основан на определении уровня интерферона IFN-γ после стимуляции сенсibilизированных Т-клеток аналогичными специфическими пептидами (ESAT-6, CFP-10) [97, 98].

Тест для диагностики туберкулеза *in vitro* QuantIFERON® Gold ELISA (QFT), зарегистрирован в РФ с 2010 г. (рег. КРД № 5393 от 02.02.10 приказом Росздравнадзора от 04.03.10 № 1682-Пр/10), основан на оценке продукции интерферона гамма (IFN-γ) после стимуляции сенсibilизированных Т-клеток смесью специфических пептидов (ESAT-6, CFP-10 и TB7.7).

Проводится количественное определение интерферона гамма (IFN-γ) методом иммуноферментного анализа (ELISA, ИФА (рис. 6).

Параметры диагностической эффективности теста несколько ниже, чем у ELISPOT. По данным разных авторов, они составляют



Рис. 6. QuantIFERON-TBPlus мекс

78-89 %, в том числе на фоне ВИЧ-инфекции, что послужило стимулом для разработки уже более современного теста QuantIFERON-TBPlus, основанного на стимуляции CD8 клеток [10].

Во многих зарубежных исследованиях проводился анализ эффективности данных тестов (QuantIFERON-TB и ELISPOTa) и сравнение их значимости с пробой Манту с 2ТЕ. В исследованиях, в том числе отечественными учеными, была доказана высокая информативность IGRA-тестов [92, 93].

QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)

Данный тест основан на стимуляции специфическими пептидами CD8+ Т-клеток и определении клеточного ответа на пептидные антигены ESAT-6 и CFP-10 по уровню IFN-γ в цельной крови человека. Расширены новые диагностические возможности теста, что позволяет достичь высокой информативности, которая ранее не изучалась [98].

Тест позволяет решить вопрос о выявлении различий между активной и латентной туберкулезной инфекцией, что важно для назначения превентивной противотуберкулезной терапии. По результатам исследования тест был внедрен в 2015 году.

В 2022 году был рекомендован новый ELISA-тест WANTAI TB-IGRA, разработанный в Китае. WANTAI TB-IGR имеет характеристики, аналогичные QFT-Plus [1].

2.4. Масс-спектрометрия

Масс-спектрометрия является одним из самых мощных и универсальных методов анализа, играя ключевую роль в современных научных исследованиях и прикладных областях.

Масс-спектрометрия (МС) – метод иммунодиагностики, применяемый для определения массы и структуры молекул, а также их идентификации и количественного анализа. Метод основан на ионизации молекул, разделении ионов по их массе и заряду (отношение массы к заряду, m/z) и детекции этих ионов. Масс-спектрометрия широко применяется в химии, биохимии, фармакологии, медицине, экологии и других областях.

Типы масс-спектрометрии:

1. Масс-спектрометрия с однократной ионизацией: используется для анализа простых смесей.

2. Tandemная масс-спектрометрия (MS/MS): ионы сначала разделяются, затем фрагментируются, и их фрагменты анализируются, что позволяет получить структурную информацию.

3. Хромато-масс-спектрометрия: сочетание хроматографии (например, газовой или жидкостной) с масс-спектрометрией, что применяется для анализа сложных смесей.

В медицинских исследованиях масс-спектрометрия применяется для диагностики метаболических нарушений, анализа лекарственных препаратов и их метаболитов. Проводятся исследования по метаболизму лекарств и контролю качества лекарственных средств. Возможно применение метода для анализа продуктов питания, наркотиков, взрывчатых веществ и других следов.

Преимущества масс-спектрометрии:

- высокая чувствительность: способность обнаруживать очень низкие концентрации веществ;
- высокая точность при определении массы и структуры молекул;
- широкий спектр применения для анализа различных типов молекул;
- возможность анализа сложных смесей в сочетании с хроматографией.

Ограничения метода:

- высокая стоимость оборудования и обслуживания;
- требуется квалифицированный персонал;
- необходимость тщательной подготовки образцов;
- ограниченная применимость для некоторых типов молекул (например, нелетучих соединений).

2.5. Хроматография

Хроматография – это физико-химический метод разделения, идентификации и анализа компонентов сложных смесей, основанный на различии в распределении веществ между двумя фазами: подвижной (газ или жидкость) и неподвижной (твердый носитель или жидкость, нанесенная на твердый носитель). Этот метод широко используется в химии, биохимии, фармакологии, медицине, экологии и других областях.

Типы хроматографии:

1. По агрегатному состоянию подвижной фазы:

- газовая хроматография (ГХ): подвижная фаза – газ (например, гелий или азот). Используется для анализа летучих соединений;
- жидкостная хроматография (ЖХ): подвижная фаза – жидкость (например, вода, ацетонитрил). Подходит для анализа нелетучих соединений.

2. По механизму разделения:

- адсорбционная хроматография: разделение основано на различиях в адсорбции компонентов на поверхности неподвижной фазы;
- распределительная хроматография: разделение основано на различиях в растворимости компонентов в подвижной и неподвижной фазах;
- ионообменная хроматография: разделение основано на различиях в заряде ионов;
- эксклюзионная (гель-фильтрационная) хроматография: разделение основано на различиях в размере молекул;
- аффинная хроматография: разделение основано на специфическом взаимодействии (например, антиген-антитело).

3. По форме колонки:

- колоночная хроматография: используется колонка, заполненная неподвижной фазой;
- плоскостная хроматография: используется плоский носитель (например, тонкослойная хроматография, ТСХ).

Применение хроматографии:

1. Фармакология:

- контроль качества лекарственных средств;
- исследование метаболизма лекарств.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ

Первым этапом лабораторной диагностики является количественная оценка клеток периферической крови и их морфологических элементов – подсчет лейкоцитарной формулы. При этом анализе следует обращать внимание не столько на относительное (лейкоцитарная формула), сколько на абсолютное (лейкоцитарный профиль) число клеток белой крови. При этом необходимо принимать во внимание тот факт, что современные высокотехнологичные аналитические системы гематологического анализа проводят и абсолютный, и относительный подсчет фракций лейкоцитов. Данные такого анализа более достоверны, чем подсчет лейкоцитарной формулы методом традиционной микроскопии. Объясняется данный факт количеством проанализированных лейкоцитов и используемыми при анализе технологическими особенностями приборов. Гематологические анализаторы проводят анализ от 30 до 40 тысяч лейкоцитов в каждой пробе, в то время как для традиционного исследования анализируют 100 клеток. Технологически в анализ клеточных фракций выполняется с элементами проточной цитометрии.

3.1. Оценка показателей клеточного иммунитета

Количество лейкоцитов и других клеток крови зависит от скорости выхода клеток из костного мозга и притока их в ткани, а также от процессов их эндотелиальной маргинации и демаргинации. Число лейкоцитов в периферической крови выше 9×10^9 клеток/л определяется как лейкоцитоз, ниже $4,5 \times 10^9$ клеток/л – как лейкопения.

Так как значительная часть гранулоцитарных лейкоцитов постоянно пребывает в маргинированном состоянии на эндотелии сосудов, то возможен перераспределительный нейтрофильный лейкоцитоз от демаргинирующего действия гормонов мозгового вещества и коры надпочечников на эндотелий. Он сопровождает все виды стресса, физическое напряжение, беременность, пищевую нагрузку и др. Такой лейкоцитоз считается физиологическим.

Лейкоцитоз как патологическая реакция может иметь разную этиологию и патогенез, встречаясь в структуре различных

- 2. Медицина:
 - диагностика заболеваний (например, анализ метаболитов);
 - исследование биологических жидкостей (кровь, моча).
- 3. Пищевая промышленность:
 - контроль качества и безопасности продуктов питания;
 - анализ пищевых добавок и контаминантов.
- Преимущества хроматографии:
 - высокая эффективность разделения: возможность разделения сложных смесей на отдельные компоненты;
 - высокая чувствительность: способность обнаруживать низкие концентрации веществ;
 - широкий спектр применения: подходит для анализа различных типов соединений;
 - возможность количественного анализа: точное определение концентрации компонентов.

синдромов (патологических процессов). Истинный лейкоцитоз всегда вторичен и не постоянен по отношению к первичному заболеванию, которое стало причиной его возникновения. Лейкоцитозы бывают опухолевого и реактивного происхождения. Лейкоцитозы опухолевой природы характерны для острых и хронических лейкозов и имеют клональное происхождение.

Реактивные лейкоцитозы (лейкемоидные реакции) вызваны усилением действия цитокинов, стимулирующих пролиферацию, дифференцировку лейкоцитов и их выход из костного мозга и лимфоидных органов в периферический кровоток. В некоторых случаях определенное значение в развитии реактивных лейкоцитозов имеет перераспределительный механизм (например, в генезе лейкоцитоза при шоке и при острой кровопотере).

Реактивные лейкоцитозы развиваются в ответ на внешний раздражитель и сопровождаются развернутой картиной основного заболевания. Усиление цитокиновой стимуляции лейкопоэза происходит в различных ситуациях, например:

- при инфекциях. Инфекционные заболевания, особенно гнойные, сопровождаются истинным лейкоцитозом, несмотря на то, что при гнойно-септических процессах лейкоциты усиленно маргинируют и выходят из крови в ткани;

- при асептических воспалениях. Лейкоцитоз не должен восприниматься как симптом, однозначно указывающий на инфекцию. Аллергические реакции, аутоиммунные болезни, ожоги, обморожения и травмы, включая электрическую, распад злокачественных опухолей и развитие некроза миокарда при инфаркте, могут сопровождаться лейкоцитозом;

- при отравлениях и облучении, сопровождаемых гибелью клеток крови и костного мозга, в острую фазу происходит компенсаторная активация лейкопоэза. Поэтому лейкоцитозом характеризуется дебют острых лучевых поражений и интоксикации нитробензолом, мышьяковистым водородом, анилином и другими ядами, уремическая эндогенная интоксикация.

При глубокой дегидратации организма и сгущении крови (например, при гиперосмолярной диабетической коме) имеется ложный лейкоцитоз, без усиления лейкопоэза [59].

Лейкопения может быть физиологической (leucopenia innocens – конституциональная безвредная лейкопения,

наблюдаемая у 2-10 % практически здоровых европеоидов и у большинства негроидов в норме) и патологической. Патологическая лейкопения разнообразна по этиологии, патогенезу и встречается при разных синдромах и болезнях. Принципиально, она может быть перераспределительной и истинной. Перераспределительная лейкопения происходит от усиленной экстренной маргинации лейкоцитов при усилении экспрессии молекул клеточной адгезии. Примером может служить лейкопения при бактериемических фазах инфекций грамотрицательными бактериями, например, сальмонеллезом, а также при эндотоксинемии, когда эндотелий становится более клейким для лейкоцитов.

Истинные лейкопении объясняются абсолютным уменьшением числа лейкоцитов в организме вследствие существенного и длительного преобладания скорости гибели лейкоцитов над темпами их выхода в кровь. Истинная лейкопения при апластических состояниях бывает связана с малой продукцией лейкоцитов из-за костномозговой недостаточности. Она может иметь смешанный механизм, то есть зависеть и от понижения рекрутирования, и от ускорения гибели лейкоцитов. Так, при тяжелых мегалобластических состояниях лейкопения происходит как от снижения скорости пролиферации костномозгового пула лейкоцитов, так и от укорочения жизни зрелых белых клеток. При аутоиммунных лейкопениях также могут сочетаться ускоренная гибель клеток-предшественников и малый выход лейкоцитов в кровь, с одной стороны, с аутоиммунным цитолизом зрелых лейкоцитов в крови и тканях, с другой. В некоторых случаях причина лейкопении – ускоренное разрушение тех или иных лейкоцитов. При затяжном, тяжелом течении и неадекватной терапии гнойно-септических процессов возможно развитие вторичной лейкопении после первичного лейкоцитоза, в результате активной гибели лейкоцитов в гнойных очагах и истощения ресурсов гранулопоэза. При ВИЧ-инфекции лимфопения – также, в первую очередь, результат ускоренной апоптотической гибели CD4-положительных лимфоцитов.

Лейкопения встречается при аплазии и гипоплазии красного костного мозга, гиперспленизме, лейкопенических стадиях острых лейкозов, миелофиброзе, плазмцитоме, метастазах новообразований в костный мозг, системных аутоиммунных заболеваниях и может наступать под действием лекарственных средств [59].

Колебания общего числа лейкоцитов могут сопровождаться другими изменениями в лейкоцитарной формуле и акцентировать внимание на патогенезе происходящих в организме процессов.

Лейкоцитоз со сдвигом влево – изменение соотношения лейкоцитов, при котором в лейкоцитарной формуле появляются молодые нейтрофилы вплоть до миелоцитов. Происходит за счет усиления лейкопоэза при бактериальных инфекциях (неспецифических и специфических), интоксикациях (при отравлении угарным газом, грибами и пр.), коматозных состояниях (уремии, диабетической, печеночной и др.), после острых кровопотерь, во время гемолитического криза.

Лейкоцитоз со сдвигом вправо – изменение соотношения лейкоцитов, при котором в лейкоцитарной формуле преобладают зрелые сегментоядерные нейтрофилы в отсутствие молодых форм нейтрофильного ростка. Связан с угнетением лейкопоэза, торможением выхода молодых форм, старением популяции циркулирующих гранулоцитов (при вирусных и хронических бактериальных инфекциях, дефиците фолиевой кислоты и витамина В12, костномозговой недостаточности, лучевой болезни, сепсисе).

Нейтрофилез, как правило, сопровождает лейкоцитозы при гнойно-воспалительных и септических процессах.

Нейтропения обычно сочетается с лейкопенией при тяжелых и вирусных инфекциях, аутоиммунных и лекарственных гемопатиях, мегалобластических и апластических анемиях, тяжелой гипоксии, голодании, авитаминозе.

Эозинофилия выявляется при аллергических заболеваниях (особенно в предприступный период), глистной инвазии, кожных аутоиммунных и инфекционных заболеваниях в период развития клинической картины и на этапе выздоровления, при злокачественных новообразованиях, при лимфогранулематозе, некоторых миелолейкозах, синдроме Леффлера, эозинофильном гранулематозном артериите, эозинофильном фасциите, надпочечниковой недостаточности, некоторых иммунокомплексных заболеваниях и др. Увеличение числа эозинофилов при отсутствии причины их появления не должно оставаться незамеченным – такие пациенты требуют динамического наблюдения.

Эозинопения имеет место при стрессе, гиперкортицизме, агранулоцитозе, острых инфекциях, интоксикациях, шоке, инфар-

кте миокарда, острым лимфобластным лейкозом, может наступать в послеприступный период при atopических заболеваниях.

Базофилия встречается при анафилактических аллергических реакциях, при аутоиммунных заболеваниях (неспецифический язвенный колит, ревматические болезни, аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура, иммунопатологические гломерулонефриты), при некоторых гельминтозах (анкилостомидоз). Интересен факт существования базофилии при ряде аутоиммунных эндокринопатий (тиреоидите, сахарном диабете I типа). Базофилия характерна для клональных пролиферативных заболеваний костного мозга с полностью или частично сохраненной дифференцировкой клонов – так называемых миелопролиферативных болезней (истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии, миелоидной метаплазии, хронического миелолейкоза). Усиленная выработка базофилов, которые являются активаторами роста эозинофилов, может приводить к сочетанной базофильно-эозинофильной ассоциации, наблюдающейся при лимфогранулематозе, хронических миелопролиферативных заболеваниях, однако это не обязательный критерий. Идиопатический системный мастоцитоз также может протекать с базофилией [59]. Она бывает ятрогенной при лечении гепарином, при серотерапии.

Базофилы – единственная клеточная линия лейкоцитарного ростка, которая может отсутствовать в норме даже в абсолютных значениях. Соответственно, низкий уровень базофилов или их полное отсутствие в лейкоцитарной формуле не имеет клинического значения.

Лимфоцитоз наблюдается у детей, формируясь на 4–6-е сутки после рождения (первый перекрест) и сохраняясь до 4–6 лет как физиологическое состояние (второй перекрест). Процесс перекреста не одномоментный: происходит постепенно и может наблюдаться длительно на протяжении нескольких лет до полного перехода соотношения клеток лейкоцитарной формулы к преобладанию зрелых нейтрофилов. При лимфатико-гиперпластическом диатезе лимфоцитоз персистирует дольше этого физиологического срока. У взрослых увеличение числа лимфоцитов наблюдается при инфекционных заболеваниях вирусной этиологии (особенно при инфекциях вирусами группы герпеса и энтеровирусами), а также при длительно протекающих, хронических, невирус-

ных инфекциях с персистенцией возбудителей в клетках (листериоз, токсоплазмоз, коклюш, туберкулез, сифилис, бруцеллез, микоплазмоз, хламидиоз), при протозоозах, риккетсиозах, лептоспирозе, иерсиниозах и болезни кошачьих царапин, некоторых микозах. Неинфекционными причинами лимфоцитоза могут быть многие системные и органоспецифические аутоиммунные заболевания, реакция «трансплантат против хозяина», сывороточная болезнь, а также хронический лимфолейкоз и другие онкогематологические заболевания лимфоидного ряда.

Лимфопения обнаруживается при общем и белковом голодании, некоторых инфекциях, в частности, в дебюте брюшного тифа и при COVID-19, при лучевой болезни, ВИЧ-инфекции с развитием синдрома приобретенного иммунодефицита, первичных Т-клеточных и смешанных иммунодефицитах, костномозговой недостаточности, хроническом алейкемическом миелолейкозе, на определенных стадиях лимфогранулематоза, при крайне выраженных миелоидных лейкомоидных реакциях, при гиперкортицизме и по ятрогенным причинам (применение иммунодепрессантов). При тяжелом течении инфекций лимфотропными вирусами начальный лимфоцитоз может сменяться лимфопенией [59]. Лимфопения при стрессе отчасти связана с хоумингом лимфоцитов из крови в ткани, отчасти с апоптозом лимфоцитов, под действием гормонов коры надпочечников.

Моноцитоз обнаруживается часто и по многим причинам. Дело в том, что репертуар фагоцитоза у макрофагов гораздо шире, нежели у гранулоцитов. Ряд возбудителей фагоцитируют преимущественно макрофаги: микобактерии, бруцеллы, сальмонеллы, актиномицеты, клебсиелла риносклеромы, *Pseudomonas mallei* et *pseudomallei*, *Francisella tularensis*, листерии, токсоплазмы, некоторые грибы и пораженные вирусами собственные клетки. Прежде всего, макрофагальный фагоцитоз и, соответственно, моноцитоз в крови характерны для ответа на факультативные и облигатные внутриклеточные паразиты. Так, он наблюдается при бруцеллезе, сифилисе, туберкулезе, инфекционном мононуклеозе, сапе, мелиоидозе, протозоозах, ряде микозов, например, гистоплазмозе. При наиболее распространенном протозоозе человека – малярии – характерно чередование лимфоцитоза и нейтрофильного лейкоцитоза в крови, соответственно фазам жизненного

цикла возбудителя. Лимфоцитоз и моноцитоз нередко сочетаются при инфекциях.

Неинфекционный физиологический моноцитоз может наблюдаться у детей первого года жизни (и для них верхняя граница нормального относительного содержания моноцитов в крови не до 9 %, как в другие возрастные периоды, а до 10 %). Однако в первую очередь обращать внимание необходимо на абсолютные показатели, и если в абсолютных значениях выявлен результат, укладывающийся в референсный диапазон, то относительный результат не следует оценивать. Неинфекционные формы моноцитоза сопровождают аутоиммунные болезни с преобладанием клеточных механизмов аутоагрессии (например, неспецифический язвенный колит). Бывает моноцитоз при ревматизме, особенно в период обострения. Аллергические реакции на некоторые гаптены, например, хлорорганические соединения, протекают с моноцитозом. Моноцитоз бывает при саркоидозе и панникулите Крисчена-Вебера.

До 8 % случаев стойкого моноцитоза связаны с онкогематологическими и онкологическими причинами (острый миелобластный лейкоз подтипов М4 (миеломонобластный) и М5 (монобластный), хронический миелолейкоз, лимфогранулематоз, гистиоцитоз Х, реактивные моноцитозы при солидных опухолях). Состояние регенерации костного мозга после его подавления также характеризуется транзиторным моноцитозом [59].

Моноцитопения встречается транзиторно лишь при крайне серьезных лейкокемических и глубоких миелоидных лейкомоидных сдвигах в картине белой крови, при очень тяжелых формах инфекционных заболеваний, будучи одним из признаков нарушения процессов регенерации клеток макрофагальной линии.

Анализируя данные клинического анализа крови, возможно ориентировочно определить тип и характер иммунного ответа.

Тип реакции иммунной системы рассчитывается из соотношения абсолютного количества гранулоцитов и лимфоцитов и характеризует состояние врожденного и адаптивного иммунитета (табл. 3).

Помимо данных лейкоцитарной формулы/профиля, важным является определение концентрации гемоглобина, количества тромбоцитов и эритроцитов, величины гематокрита и эритроцитарных индексов (MCV, RDW, MCH, MCHC). В настоящее время в общий (клинический) анализ крови входит множество расчетных

Таблица 3

Тип реакции иммунитета по развернутому анализу крови

Показатели		Лимфоциты, абс.		
		Понижены	Норма	Повышены
Гранулоциты, абс.	Повышены	Активация врожденного иммунитета	Активация врожденного иммунитета	Активация адаптивного иммунитета
	Норма	Угнетение иммунитета	Ареактивность иммунитета	Активация адаптивного иммунитета
	Понижены	Угнетение иммунитета	Угнетение иммунитета	Активация адаптивного иммунитета

показателей эритроцитарного, ретикулоцитарного, тромбоцитарного звена гемограммы, которые в том числе отражают реакцию костного мозга, а также целый ряд индексов, указывающих на омоложение лейкоцитарного ростка, так что анализировать показатели гемограммы всегда необходимо в полном объеме и по совокупности данных принимать решение о синдромальных состояниях у пациента.

Более подробно оценить клеточный состав можно при дополнительных исследованиях, и, прежде всего, используя методы проточной лазерной цитометрии. Это технология быстрого измерения различных характеристик клеток или их органелл. Клеточная суспензия, предварительно меченная флуоресцирующими моноклональными антителами или флуоресцентными красителями, подается к потоковому элементу. Клетки идут одна за другой, где в проточной ячейке их пересекает лазерный луч, под действием которого окрашенные клетки флуоресцируют. Далее через оптическую систему излучение попадает на регистрирующее устройство, где в дальнейшем обрабатывается. С помощью проточной цитометрии можно определить размеры клетки, соотношение ядра и цитоплазмы, степень асимметричности и интенсивность флуоресценции [60, 61].

Анализ Т-лимфоцитов и их основных субпопуляций

В проточной цитометрии CD3 (ранее описанный под названием «Т3») рассматривается в качестве «линейного» маркера всех Т-лимфоцитов. В первую очередь, это связано с тем, что молекулы CD3 играют важнейшую роль в передаче сигнала от Т-клеточного рецептора, не способного самостоятельно при распознавании антигена передавать сигнал в ядро клетки. CD3 является высокомолекулярным белковым комплексом, в состав которого входят две субъединицы CD3 ϵ , способные к образованию гетеродимерных комплексов с CD3 γ и CD3 δ . Цепи CD3 γ , CD3 δ и CD3 ϵ являются трансмембранными белками, содержащими по одному внеклеточному иммуноглобулиновому домену на N-конце молекулы, что позволяет отнести их к суперсемейству иммуноглобулинов. Наличие аспартатных остатков в трансмембранной области цепей CD3 создает отрицательный заряд, что дает возможность этим цепям взаимодействовать с положительно заряженными аминокислотными остатками в составе α - и β -цепей TCR. Внутриклеточные участки в составе C-конца молекул CD3 состоят из 44-81 аминокислотного остатка и содержат по одному консервативному участку, известному как ITAM (от англ. «Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif»), отвечающему за формирование активирующего сигнала. Аналогичные повторы – 3 ITAM повторы – обнаружены в составе ζ -цепей. При распознавании антигена происходит образование комплекса, в состав которого входят $\alpha\beta$ - или $\gamma\delta$ -гетеродимер Т-клеточного рецептора (TCR), два гетеродимера CD3, образованные $\gamma\epsilon$ - и $\delta\epsilon$ -цепями, а также гомодимер из двух ζ -цепей, соединенных друг с другом при помощи дисульфидных связей. Белки CD3 и ζ -цепи абсолютно идентичны во всех Т-клетках независимо от их антигенной специфичности, что еще раз подчеркивает роль CD3 как оптимального «линейного» маркера всех Т-лимфоцитов периферической крови. Так как ζ -цепи не содержат крупных внеклеточных доменов, а γ - и δ -цепи в составе комплекса представлены лишь в одной копии, а ϵ -цепи – двумя, то именно поэтому ϵ -цепи были выбраны в качестве главной мишени для получения моноклональных антител. CD3 ϵ обладает молекулярной массой около 20 кДа, его экспрессия обнаруживается на всех Т-клетках и начинается при переходе от стадии DN к стадии DP тимоцитов. На Т-лимфоцитах CD3 представлен на весьма высоком уровне (порядка 120-140 тысяч молекул на один лимфоцит), поэтому для

оценки его экспрессии можно применять антитела, конъюгированные практически с любыми флуорохромами вне зависимости от их яркости. Более того, максимальный уровень CD3 характерен для $\gamma\delta$ -Т-клеток, промежуточный – для Т-хелперов, а цитотоксические Т-лимфоциты имеют самую низкую плотность данной молекулы среди всех Т-лимфоцитов (рис. 7).

CD4 (также известный как Leu-3 или T4) является трансмембранным гликопротеином с молекулярной массой около 55 кДа и относится к суперсемейству иммуноглобулинов. В составе его внеклеточного участка обнаружено 4 иммуноглобулиновых домена (D1-D4), причем D1 и D3 обладают некоторой гомологией с вариабельными иммуноглобулиновыми доменами (IgV), тогда как D2 и D4 более схожи с константными иммуноглобулиновыми доменами (IgC). Ключевую роль играет домен D1, так как именно он несет сайты для распознавания и взаимодействия с $\beta 2$ -доменом молекул МНС класса II. В состав молекулы входят трансмембранный домен, пронизывающий липидный бислой и состоящий из гидрофобных аминокислотных остатков, и цитоплазматический домен из 38 аминокислотных остатков, в составе которого располагается сайт связывания с тирозиновой киназой Lck (от англ. «Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase»). Киназа Lck обычно находится в непосредственной близости с цитоплазматическими доменами как молекулы CD4, так и CD8. После распознавания антигена ТСR, представленном в случае Т-хелперов в ассоциации с МНС II, Lck начинает фосфорилировать внутриклеточные цепи CD3 и ζ -цепи (в составе которых, как отмечалось выше, обнаружены ИТАМ), которые, в свою очередь, взаимодействуют с другой цитоплазматической тирозинкиназой под названием ZAP-70 (от англ. «Zeta-chain-Associated Protein kinase 70»). В итоге запускается каскад реакций, направленный на активацию транскрипционных факторов NFAT, NF- κ B и AP-1, которые отвечают за регуляцию продукции множества генов (например, гена IL-2), контролирующих пролиферацию и дифференцировку активированных лимфоцитов.

CD4 представлен на поверхности отдельной субпопуляции Т-лимфоцитов, получивших название Т-хелперов и обладающих фенотипом CD3+CD4+, то есть клетки, экспрессирующие эти две молекулы одновременно. В ходе развития Т-лимфоцитов CD4 обнаруживается в тимусе, начиная со стадии DP, после чего

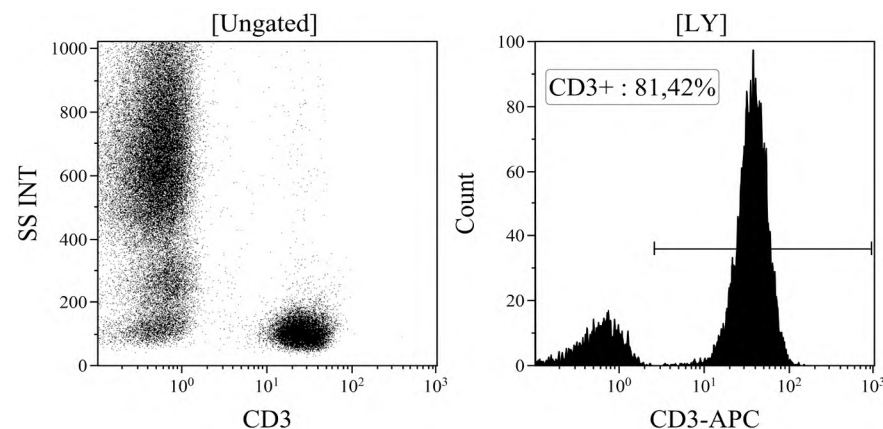


Рис. 7. Анализ экспрессии CD3 клетками периферической крови. Гистограмма А: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток. На гистограмме приведены все популяции лейкоцитов периферической крови (гистограмма «не гейтирована» – «[Ungated]»); клетки, не экспрессирующие CD3, расположены в первой декаде логарифмической шкалы флуоресценции. Гистограмма Б: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – относительное содержание клеток («count»), обладающих определенной флуоресценцией антител против CD3. В области «CD3+» располагаются Т-лимфоциты, составляющие 81,42 % от всех проанализированных лимфоцитов

сохраняется на Т-хелперах до терминальных стадий дифференцировки. CD4 обнаружен на мембране моноцитов, макрофагов и некоторых популяций дендритных клеток. Именно поэтому для корректного выделения Т-хелперных клеток в рамках проведения иммунофенотипирования необходимо оценивать ко-экспрессию CD3 и CD4, чтобы избежать контаминации данной популяции Т-лимфоцитов другими клетками периферической крови (рис. 8).

Определение относительного содержания клеток с фенотипом «CD3–CD4+» в рамках популяции лимфоцитов имеет чисто техническое значение, так как характеризует корректность постановки лимфоцитарного «гейта», указывая на наличие моноцитов.

Считается, что популяция лимфоцитов выделена правильно, если в ней содержится не более 2 % клеток с фенотипом «CD3–CD4+».

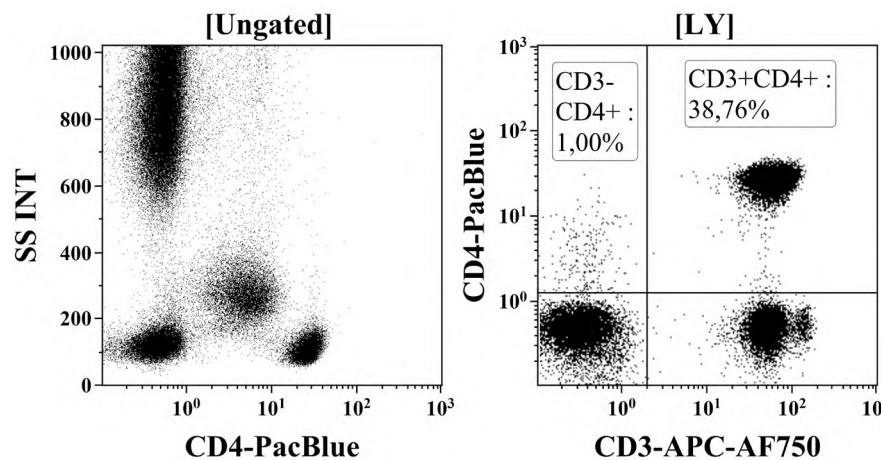


Рис. 8. Анализ экспрессии CD4 клетками периферической крови. Гистограмма А: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD4, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток. На гистограмме приведены все популяции лейкоцитов (гистограмма «не гейтирована» – «[Ungated]») периферической крови; клетки, не экспрессирующие CD4 расположены в первой декаде логарифмической шкалы флуоресценции. Во второй декаде расположены моноциты, экспрессию CD4 которыми можно описать как «dim», то есть средняя по сравнению с негативными клетками и Т-хелперами, расположенными в третьей декаде логарифмической шкалы. Гистограмма Б: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD4. В области «CD3+CD4+» располагаются Т-хелперы, составляющие 38,76 % от всех проанализированных лимфоцитов. В области «CD3–CD4+» располагаются моноциты, попадающие в область для лимфоцитов при выявлении лимфоидной популяции (относительное содержание этих клеток не должно превышать 2 %)

На Т-хелперах CD4 представлен на высоком уровне (порядка 100 тысяч молекул на один Т-хелпер), поэтому для оценки его экспрессии можно применять антитела, конъюгированные практически с любыми флуорохромами вне зависимости от их яркости.

CD8 (также известный как Leu2 и Т8) является трансмембранным белком, который относится к суперсемейству иммуноглобулинов. Эта молекула представлена на поверхности клеток в виде димера, причем наиболее распространенной и характерной для

Т-лимфоцитов формой является гетеродимер, сформированный из соединенных ковалентно α- и β-цепей, каждая из которых обладает молекулярной массой в районе 34 кДа (рис. 9).

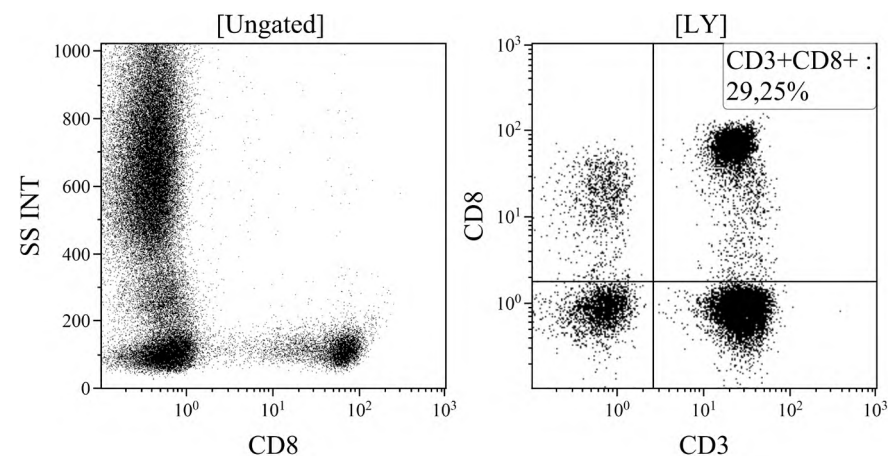


Рис. 9. Анализ экспрессии CD8 клетками периферической крови. Гистограмма А: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD8, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток. На гистограмме приведены все популяции лейкоцитов (гистограмма «не гейтирована» – «[Ungated]») периферической крови; клетки, не экспрессирующие CD8, расположены в первой декаде логарифмической шкалы флуоресценции. Во второй и, частично, первой половине третьей декад расположены лимфоциты (НК-клетки, γδ-Т-лимфоциты, а также некоторые субпопуляции Т-хелперов, коэкспрессирующие эту молекулу), экспрессию CD8 которыми можно описать как «dim», то есть средняя по сравнению с негативными клетками и зрелыми цитотоксическими Т-лимфоцитами, расположенными во второй половине третьей декады логарифмической шкалы. Гистограмма Б: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD8. В области «CD3+CD8+» располагаются цитотоксические Т-клетки, составляющие 29,25 % от всех проанализированных лимфоцитов. В области «CD3–CD8+» располагаются НК-клетки, несущие CD8 (комментарии в тексте)

Оба типа цепей CD8 в составе внеклеточного домена содержат иммуноглобулиновый домен из 144 аминокислотных остатков, гомологичный вариабельным доменам иммуноглобулинов (IgV).

Гидрофобный трансмембранный домен позволяет молекуле заякориваться в плоскости мембраны клеток, а внутриклеточный участок состоит из 25 аминокислотных остатков и содержит консервативный участок CXCP для взаимодействия с тирозиновой киназой Lck. Взаимодействие TCR с антигеном, презентированным в ассоциации с МНС I, и связывание CD8 с МНС I активируют киназу Lck, которая начинает фосфорилировать ITAM повторы внутриклеточных цепей CD3 и ζ -цепи (в составе которых, как отмечалось выше, также обнаружены ITAM), которые, в свою очередь, активируют ZAP-70. Механизмы передачи сигнала в ядро клетки от CD8 и CD4 практически полностью совпадают.

В ходе антигеннезависимой дифференцировки CD8 появляется на поверхности тимоцитов при переходе от стадии DN к стадии DP параллельно с увеличением экспрессии CD4, однако после прохождения финальных этапов селекции он сохраняется лишь на «наивных» цитотоксических Т-лимфоцитах. В периферической крови человека CD8 представлен на поверхности цитотоксических Т-лимфоцитов, несущих $\alpha\beta$ Т-клеточный рецептор, обладающих фенотипом CD3+CD8+ и в большинстве своем экспрессирующих гетеродимерную форму этой молекулы. Однако некоторые активированные Т-клетки и клетки памяти экспрессируют $\alpha\alpha$ CD8, и по результатам некоторых исследований эта форма CD8 обладает ингибирующими, а не активирующими функциями, так как она не обнаруживается в пределах липидных «рафтов» с TCR. Для Т-хелперов, находящихся на терминальных стадиях дифференцировки, также характерно появление CD8 (обычно $\alpha\alpha$ гомодимера) на поверхностной мембране. CD8 может обнаруживаться на поверхности Т-клеток, несущих $\gamma\delta$ -Т-клеточный рецептор, а также на «инвариантных» НКТ-клетках. Способностью к экспрессии $\alpha\alpha$ CD8 обладают некоторые популяции НК-клеток.

В проточной цитометрии обычно применяются антитела, способные к специфическому распознаванию α -цепей CD8. Следует отметить и то, что цитотоксический Т-лимфоцит с фенотипом CD3+CD8+ может нести на своей мембране до 80 000 молекул CD8. Из-за высокой плотности данного антигена для его выявления можно использовать антитела, конъюгированные практически с любым флуорохромом.

Анализ соотношения CD4/CD8

Соотношение субпопуляций Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток (также известное под устаревшим названием «иммунорегуляторный» индекс) является расчетным показателем, получаемым в результате деления величины относительного (или абсолютного) содержания CD3+CD4+ клеток на аналогичное значение CD3+CD8+ клеток (рис. 10).

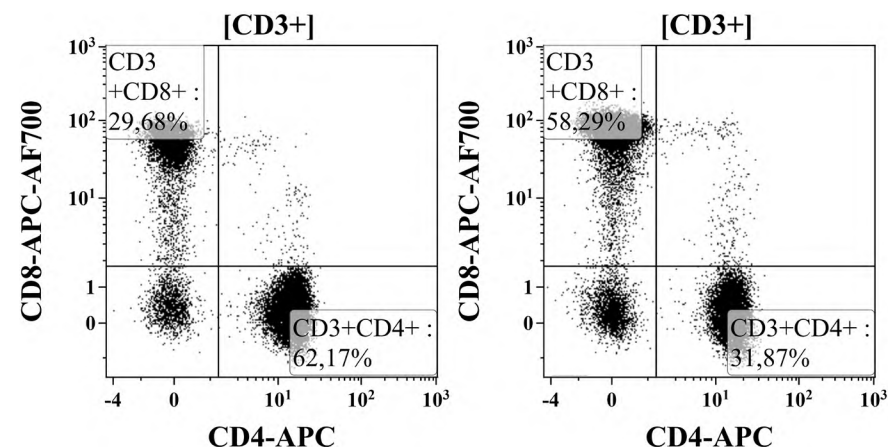


Рис. 10. Анализ соотношения CD4/CD8 в норме (гистограмма А) и при ВИЧ-инфекции (гистограмма Б)

В норме это значение находится в пределах 1,5-2,6, тогда как при ряде патологических состояний, связанных с нарушениями в функционировании клеточных механизмов приобретенного иммунитета, эта величина существенно изменяется.

Классическим примером является сниженное соотношение CD4/CD8 при ВИЧ-инфекции. В целом устойчиво низкое соотношение CD4/CD8 в течение длительного применения антиретровирусной терапии является маркером нарушений в функционировании иммунной системы, наличия хронического воспалительного процесса, а также высокого риска заболеваемости «сопутствующими» инфекциями и, как следствие, повышенной вероятности летального исхода.

На гистограммах приведены результаты анализа распределения клеток по экспрессии CD4 (ось абсцисс) и CD8 (ось ординат)

в рамках популяции Т-лимфоцитов. У условно здорового донора CD4/CD8 составляет 2,09 ($62,17/29,68 = 2,09$), тогда как у пациента с ВИЧ-инфекцией – 0,55 ($31,87/58,29 = 0,55$).

Выявление натуральных киллеров (НК-клеток)

CD16 также известен как низкоаффинный рецептор для иммуноглобулинов IgG III типа (FcγRIII). Эта молекула может быть представлена на поверхности лейкоцитов периферической крови в виде двух различных форм, получивших обозначения CD16a и CD16b,

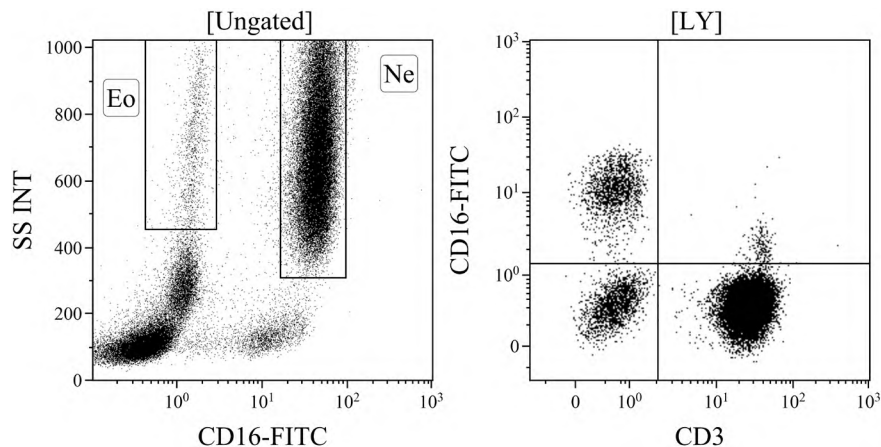


Рис. 11. Анализ экспрессии CD16 клетками периферической крови. Гистограмма А: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD16, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток. На гистограмме приведены все популяции лейкоцитов (гистограмма «не гейтирована» – «[Ungated]») периферической крови; клетки, не экспрессирующие CD16, расположены в первой декаде логарифмической шкалы флуоресценции (большая часть лимфоцитов и моноцитов). На второй и третьей декадах логарифмической шкалы лимфоциты и моноциты (НК-клетки, некоторые популяции $\gamma\delta$ - и $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов, а также «переходные» и «не классические» моноциты соответственно), экспрессию CD16 которыми можно описать как «dim»; высокий уровень экспрессии CD16 характерен для нейтрофилов периферической крови (область «Ne»), что позволяет в рамках популяции гранулоцитов их отделить от эозинофилов (область «Eo»), не несущих CD16. Гистограмма Б: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD16 (комментарии в тексте)

которые являются продуктами двух разных, но гомологичных друг другу генов. Анализ последовательности аминокислотных остатков внеклеточных участков CD16a и CD16b показал, что они совпадают более чем на 95 % (рис. 11).

CD16a (FcγRIIIA) является трансмембранным белком с молекулярной массой 50-65 кДа и обнаруживается на поверхности NK-клеток, активированных моноцитов, макрофагов и плацентарных трофобластов человека. При взаимодействии с комплексом антиген-антитело (обычно IgG1 и IgG3) CD16a генерирует активирующий сигнал, который передается на ядро НК-клетки. В составе короткого цитоплазматического домена CD16a тирозин-киназные сайты не обнаруживаются. Однако конформационные изменения, вызванные взаимодействием с лигандами, сопровождаются образованием связей между CD16a и FcεRI γ -цепью (также известной под названием Fc γ или γ -цепь FcR) или ζ -цепью, про которую уже упоминалось выше при описании корцепторного комплекса TCR. Эти сигнальные молекулы могут выступать в качестве гомодимеров, однако возможно и формирование гетеродимера Fc γ - ζ -цепь. В составе этих двух сигнальных молекул находятся ITAM повторы, которые инициируют каскад реакций, сопровождающихся активацией клетки. В случае НК-клетки, CD16a играют ведущую роль в запуске антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC, от англ. «Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity»). CD16b (FcγRIIIB) является трансмембранным белком с молекулярной массой около 48 кДа. В отличие от CD16a, эта молекула не проникает в цитоплазму клетки, а крепится к клеточной мембране при помощи гликозилфосфатидилинозитола («GPI-якорь»). Эта форма CD16 экспрессируется в основном нейтрофилами периферической крови, ее роль в передаче сигнала остается мало изученной до настоящего времени, хотя показано, что особой роли при фагоцитозе и активации клеток она не играет.

Из-за высокой гомологии между внеклеточными доменами CD16a и CD16b большинство антител, применяемых в клинических исследованиях, распознают эти две молекулы с одинаковой эффективностью. Поэтому с использованием антител против CD16 человека можно обнаружить, что эти антитела с высокой эффективностью связываются с нейтрофилами (при этом эозинофилы – область «Eo» на гистограмме А – не несущие CD16, формируют группу клеток,

расположенных на границе первой декады логарифмической шкалы), выделяя эти популяции среди остальных гранулоцитов. Кроме того, среди моноцитов (линейным маркером которых долгое время считался CD14) также можно выявить клетки, позитивные по CD16. Так, популяция «классических» моноцитов CD16 не несет (на них обнаруживается только CD14, их фенотип описывается как CD14++CD16–), в то время как моноциты «неклассической» и «переходной» популяций CD16 экспрессируют (фенотипы CD14+CD16++ и CD14++CD16+ соответственно). CD16 также представлен на поверхности некоторых популяций дендритных клеток, равно как и отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов (как это показано на гистограмме Б), в том числе зрелых цитотоксических Т-клеток с $\alpha\beta$ TCR, $\gamma\delta$ Т-клеток и инвариантных NKT-клеток. Что же касается НК-клеток, то наличие CD16 является главным признаком зрелых клеток, обладающих выраженными цитолитическими свойствами, тогда как менее дифференцированные НК-клетки CD16 не экспрессируют. Именно поэтому основным маркером популяции натуральных киллерных клеток периферической крови является CD56.

CD56, или NCAM (от англ. «Neural Cell Adhesion Molecule»), или Leu-19, или NKN-1 является поверхностным гликопротеином с молекулярной массой около 140-220 кДа и принадлежит суперсемейству иммуноглобулинов. В составе внеклеточного домена данной молекулы насчитывается пять иммуноглобулиновых и два фибронектиновых доменов третьего типа. Экспрессия CD56 обнаружена на клетках нейронального происхождения, мышечных клетках, а также натуральных киллерах и некоторых популяциях Т-лимфоцитов периферической крови (рис. 12).

В клетках нервной системы CD56 отвечает за межклеточные взаимодействия. Аналогичные функции, по-видимому, он выполняет и на клетках периферической крови, когда было показано, что блокада данной молекулы при помощи блокирующих антител сопровождалась снижением способности НК-клеток вызывать гибель клеток-мишеней. Однако имеются и диаметрально противоположные данные, указывающие на тот факт, что CD56 не участвует в процессах распознавания и в формировании контактов между цитотоксическими клетками и их мишенями. Что касается популяции циркулирующих НК-клеток (с фенотипом CD3–CD56+), то среди них обычно выделяют две основные субпопуляции.

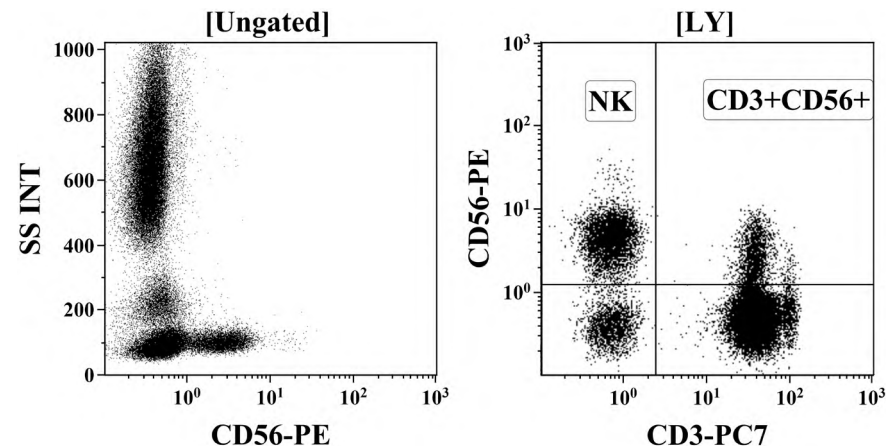


Рис. 12. Анализ экспрессии CD56 клетками периферической крови. Гистограмма А: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD56, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток. На гистограмме приведены все популяции лейкоцитов (гистограмма «не гейтирована» – «[Ungated]») периферической крови; клетки, не экспрессирующие CD56 расположены в первой декаде логарифмической шкалы флуоресценции. Во второй и, частично, первой половине третьей декад расположены лимфоциты (НК-клетки, некоторые популяции $\gamma\delta$ - и $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитов), способные к экспрессии CD56. Гистограмма Б: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD56. В области «CD3+CD56+» располагаются Т-клетки, позитивные по CD56 (в отечественной традиции их называют еще НКТ- или ТНК-клетки). В области «CD3–CD56+» располагаются НК-клетки, которые различаются по экспрессии CD56 – в третьей декаде расположены CD56bright клетки, а во второй декаде логарифмической шкалы – CD56dim НК-клетки (комментарии в тексте)

Первая экспрессирует CD16 и среднее количество молекул CD56 (обозначается как CD16+CD56dim). Вторая экспрессирует CD56 на высоком уровне, тогда как CD16 на них представлен в низкой плотности или полностью отсутствует (обозначается как CD16neg-to-lowCD56bright). Последняя субпопуляция составляет приблизительно 10-20 % от общего количества НК-клеток. В ответ на стимуляцию IL-2 данная популяция клеток способна секретировать IFN- γ , TNF- β , IL-10, IL-13, GM-CSF и некоторые другие цитокины и обладает

меньшей цитолитической активностью. В свою очередь, субпопуляция CD16^{high}CD56^{dim} составляет приблизительно 80-90 % от НК-клеток периферической крови, они слабо секретируют цитокины, но обладают высокой цитолитической активностью. В периферической крови CD3+CD56+ клетки могут составлять от 5 до 15 % от общего числа циркулирующих лимфоцитов, в то время как в таких периферических органах, как печень или ткани кишечника, они могут составлять до 50 % от общего числа Т-клеток, инфильтрирующих ткань. В случае Т-клеток экспрессия CD56 обнаруживается практически на всех основных популяциях, в том числе на Т-лимфоцитах, экспрессирующих αβ-, γ- и Va24Ja18 цепи Т-клеточных рецепторов.

Однако в настоящее время для локализации НК-клеток в периферической крови наиболее широко используют анализ экспрессии CD16 и CD56, конъюгированных с одним и тем же флуорохромом, на CD3-негативных клетках. Данная комбинация моноклональных антител позволяет локализовать общую популяцию НК-клеток и количественно ее охарактеризовать, но не охарактеризовать их отдельные субпопуляции. Кроме того, у такого подхода есть

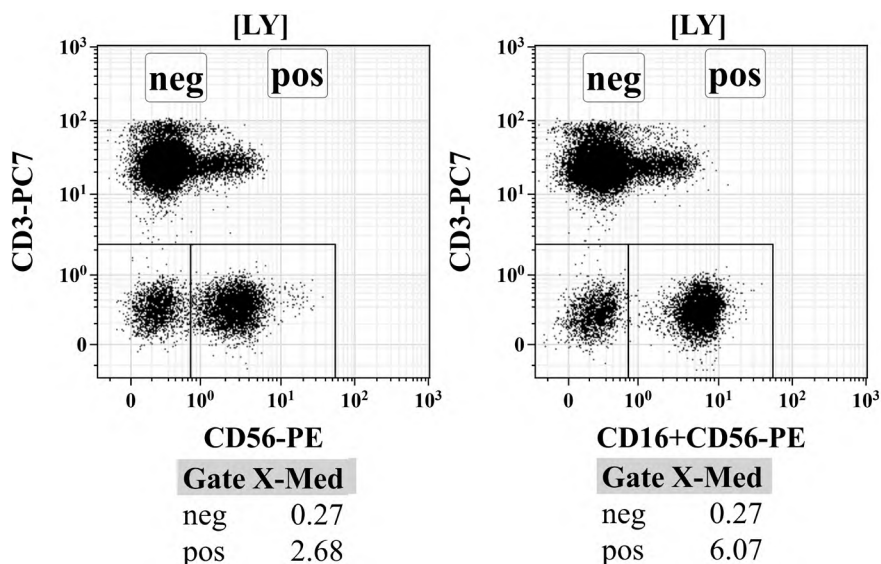


Рис. 13. Сравнение использования антител против CD56 и смеси антител против CD56 и CD16, конъюгированных с одним флуорохромом, для выявления популяции НК-клеток. Комментарии в тексте

чисто практическое значение, позволяющее упростить процедуру идентификации НК-клеток в клинической практике (рис. 13).

Следует отметить, что CD56 является антигеном с очень низкой плотностью экспрессии на поверхности клеток (в среднем около 8-10 тыс. молекул на НК-клетке), к тому же его экспрессия снижается при созревании и дифференцировке клеток. По мере снижения уровня CD56 на НК-клетках возрастает уровень CD16, на основании экспрессии которого возможно более эффективно выявлять зрелые субпопуляции НК-клеток. На рисунке приведено сравнение результатов окрашивания образца периферической крови антителами только против CD56 (гистограмма А) и смесью двух антител против CD16 и CD56 (гистограмма Б), конъюгированных с одним и тем же флуорохромом. Клетки, негативные по CD3 и маркерам НК-клеток, то есть не экспрессирующие указанных антигенов на своей поверхности, обозначены как «neg» и располагаются в первой декаде логарифмической шкалы. НК-клетки располагаются правее по оси, характеризующей экспрессию данных антигенов.

В проточной цитометрии иногда применяется понятие «соотношение сигнал-шум», обозначаемое как S/N (от англ. «signal-to-noise ratio»), которое является отношением средних значений флуоресценции позитивной и негативной популяций. Увеличение этого значения свидетельствует о более эффективном расхождении популяций позитивных и негативных клеток: чем оно больше, тем меньше вероятность некорректно выставить области разделяемых клеток и получить неверный результат. Так, в случае применения антител только против CD56 S/N составляет 9,93, тогда как использование смеси антител позволяет получить значение в S/N, равное 22,48. Визуально на рисунке это выражается в более четкой границе между позитивными и негативными популяциями.

Выявление В-лимфоцитов на основании экспрессии CD19

CD19 (также известный как B4) является трансмембранным белком с молекулярной массой около 95 кДа, который относится к суперсемейству иммуноглобулинов. В состав внеклеточного домена входят два иммуноглобулинподобных домена С2-типа, трансмембранный домен имеет типичной строение, а внутриклеточная часть молекулы состоит из 242 аминокислотных остатков, на С-конце которой располагаются девять остатков тирозина. Ведущую роль

в формировании активирующего сигнала играют остатки тирозина в положениях Y391, Y482 и Y513. CD19 входит в состав корцепторного комплекса В-клеточного рецептора (BcR), в рамках которого он взаимодействует с CD21 (CR2, один из рецепторов для компонентов каскада комплемента) и CD81 (тетраспаниновый белок, известный как TAPA-1). Комплекс CD21-CD19-CD81 играет важную роль в амплификации сигнала, полученного В-клеткой через BcR. Так, CD21 связывается с антигеном, опсонизированным C3d компонентом каскада комплемента, одновременно этот антиген распознается мембранным BcR. Связывание C3d с рецептором комплемента В-лимфоцитов приводит к сближению CD19 и BCR-ассоциированных киназ,

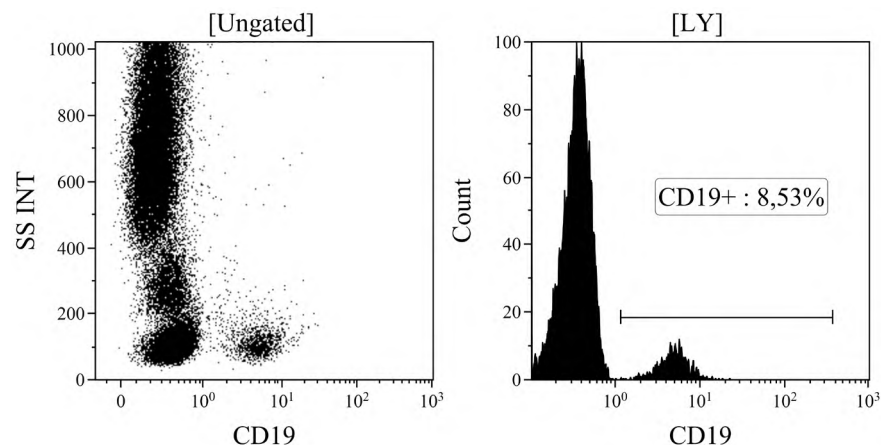


Рис. 14. Анализ экспрессии CD19 клетками периферической крови. Гистограмма А: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD19, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток. На гистограмме приведены все популяции лейкоцитов периферической крови (гистограмма «не гейтирована» – «[Ungated]»); клетки, не экспрессирующие CD19 расположены в первой декаде логарифмической шкалы флуоресценции. Во второй декаде располагаются В-лимфоциты, несущие данный антиген на своей поверхности. Гистограмма Б: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD19, по оси ординат – относительное содержание клеток («count»), обладающих определенной флуоресценцией антител против CD19. В области «CD19+» располагаются В-лимфоциты, составляющие 8,53 % от всех проанализированных лимфоцитов образца

результатом чего является фосфорилирование остатков тирозина в составе цитоплазматической части CD19. После активации CD19 может взаимодействовать с различными киназами, содержащими SH2-домены (от англ. «Src-homology domain 2»), в первую очередь, с киназой Lyn. Данная киназа способна значительно усиливать фосфорилирование ITAM-повторов в составе Igα и Igβ, что является необходимым условием для эффективного проведения сигнала от BcR и его усиления. Кроме того, фосфорилированный CD19 способен активировать и другие пути сигнала внутри клетки, в том числе PI3-киназу. Это усиливает активирующий сигнал В-клетки за счет активации Btk и PLCγ2. Таким образом, CD19 является важнейшим компонентом рецепторного аппарата В-клеток, без которого функционирование данной популяции лимфоцитов невозможно. Экспрессия CD19 обнаруживается со стадии про-В-клетки и сохраняется на протяжении всей жизни В-лимфоцита, несколько снижаясь лишь на плазматических клетках. Более того, этот антиген рассматривается в качестве «линейного» маркера всех В-лимфоцитов. Его экспрессия может быть обнаружена в некотором количестве на фолликулярных дендритных клетках, относительное содержание которых в периферической крови крайне низко. Что касается плотности экспрессии CD19, то один В-лимфоцит несет на своей поверхности около 18 тысяч молекул. Поэтому для анализа экспрессии CD19 рекомендуется применять антитела, конъюгированные с достаточно яркими флуорохромами (рис. 14).

Нормативные показатели по исследуемым популяциям лимфоцитов периферической крови

В качестве нормативных показателей на территории Российской Федерации обычно применяют значения, полученные С.В. Хайдуковым и соавторами и приведенные в виде стандартизированной технологии «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (табл. 5).

Данная стандартизованная технология составлена в соответствии с заданием Правления Всероссийского научно-практического общества по клинической лабораторной диагностике. Первоначальный проект данного документа был опубликован в журналах

Таблица 4

Относительное и абсолютное содержание основных популяций лимфоцитов в периферической крови условно здоровых добровольцев (возраст 17-50 лет)

Популяции и субпопуляции	Относительное кол-во клеток (%)	Абсолютное кол-во кл/л ($\times 10^9$)
Лимфоциты (CD45bright)	28-36	1,363-2,808
В-клетки общие (CD3-CD19+)	7-17	0,111-0,376
НК-клетки (CD3-CD16+CD56+)	8-17	0,123-0,369
Т-клетки общие (CD3+CD19-)	61-85	0,946-2,079
Т хелперы (CD3+CD4+)	35-55	0,576-1,336
Т цитотоксические (CD3+CD8+)	19-35	0,372-0,974
НКТ клетки (CD16+CD56+CD3+)	0,5-6	0,007-0,165
Расчетные показатели		
Показатель	Нормативные показатели	
Индекс соотношения (Тх/Тц)	1,5-2,6	
Контрольная сумма (Т+В+НК)	100 \pm 5 %	

«Медицинская иммунология», 2012, Т. 14, № 3, и «Проблемы стандартизации в здравоохранении», 2012, № 5-6.

Он был обсужден на научных и научно-практических мероприятиях различного уровня, проводимых Всероссийским научно-практическим обществом по клинической лабораторной

диагностике, Российским научным обществом иммунологов и Санкт-Петербургским региональным отделением Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов, а также в интернете на специализированном портале «Аллергологи-иммунологи» (www.allergologi-immunologi.ru). Окончательный вариант стандартизированной технологии был одобрен Профильной комиссией по клинической лабораторной диагностике МЗ России 18.03.2014.

В рамках стандартизированной технологии приводят значения относительного и абсолютного содержания различных популяций лимфоцитов, полученных с использованием проточной цитофлуориметрии.

Относительное содержание – это процент клеток той или иной популяции лимфоцитов в рамках общего пула лимфоцитов периферической крови, выявленных на основании параметров светорассеяния лимфоцитов и оценки уровня экспрессии CD45, как это было описано выше. Для получения значений абсолютного содержания клеток (количество клеток в 1 мкл или литре периферической крови) обычно применяется одна из следующих технологий:

– двухплатформенная технология, в рамках реализации которой для подсчета абсолютного количества клеток задействованы два прибора: проточный цитофлуориметр и гематологический анализатор. Результат гематологического анализа вводится в программу обсчета цитофлуориметра для расчета абсолютного количества определенных популяций клеток в единице объема;

– одно-платформенная технология, подразумевает подсчет абсолютного и относительного количества клеток исключительно на проточном цитофлуориметре с применением специальных реагентов.

Особое внимание при проведении иммунофенотипирования следует уделить подсчету контрольных сумм, характеризующих качество и достоверность проведенного исследования. Пожалуй, главной из них является сумма Т-, В- и НК-клеток, которая должна находиться в пределах 100 % (100 \pm 5 %). Например, Т-лимфоциты составляют 69,2 %, В-лимфоциты – 8,3 %, натуральные киллеры – 22,8 %. При помощи нехитрых подсчетов становится очевидно, что контрольная сумма будет равна 100 %, что полностью соответствует нормативным значениям. Еще одним «внутренним» контролем может являться то положение, что сумма Т-хелперов, выделенных

при помощи CD3 и CD4, и цитотоксических Т-клеток с фенотипом CD3+CD8+ должна равняться общему числу CD3-позитивных клеток $\pm 5\%$. Хотя даже в рамках приведенных выше рекомендаций допускается расхождение не более 10% из-за присутствия в образце γ T-клеток (увеличение числа дважды-негативных клеток в образце, что сопровождается уменьшением суммарного показателя Т-лимфоцитов) или наличия большого числа клеток, ко-экспрессирующих CD4 и CD8. В последнем случае сумма CD3+CD4+ и CD3+CD8+ может существенно превосходить общее число CD3+ клеток и выходить за прописанные в рекомендациях нормативы. Клиническая значимость этих параметров в настоящее время обсуждается при широком круге патологических состояний [62].

3.2. Маркеры активации клеток иммунной системы

Помимо определения количественного состава клеток иммунной системы, очень важно дать качественную характеристику их функциональной активности. Благодаря применяемой в последнее время многоцветной проточной цитометрии по наличию тех или иных рецепторов можно оценить функциональную активность клеток. С клинической точки зрения наиболее важны следующие рецепторы:

CD5 – молекула адгезии, регулирует активацию клеток. Определяется на Т-лимфоцитах, тимоцитах, В1-клоне В-клеток;

CD11b относится к наиболее важным для миграции клеток интегринам, которые определяют активность фагоцитоза, клеточной цитотоксичности, хемотаксиса и клеточной активации Т-эффекторов, NK-клеток, макрофагов и гранулоцитов [5, 67];

CD16 является рецептором Fc-фрагмента IgG, опосредует фагоцитоз и антителозависимую клеточную цитотоксичность, при его активации усиливается цитотоксичность NK-клеток, стимулируется секреция IFN и TNF- α [5, 68];

CD23 экспрессируется на активированных В-клетках, макрофагах, клетках тимического эпителия, эозинофилах, тромбоцитах. Показатель активности В-клеток [5, 69];

CD25 – α -цепь рецептора IL-2. Экспрессируется на различных типах клеток периферической крови: CD4+, CD8+, NK-лимфоцитах, NKT-клетках, В-лимфоцитах, моноцитах. Маркер ранней

активации Т-лимфоцитов. Повышение их количества, также как и общей популяции CD25-позитивных лимфоцитов, может свидетельствовать о воспалительном процессе любой природы (инфекционный, аутоиммунный) [5, 70];

CD27 – дополнительный маркер В2-лимфоцитов. Указывает на переход В-лимфоцитов из наивных клеток в клетки памяти;

CD28 экспрессируется на большинстве активированных Т-лимфоцитах, наивных Т-клетках и Т-клетках памяти. Необходим как костимулирующий фактор для индукции иммунного ответа (пролиферации и активации клеток) [5, 71];

CD38 – циклическая АДФ-рибозилгидролаза, находится на поверхности лимфоцитов, обеспечивает адгезию, передачу сигнала, является также маркером активации клеток (метаболический маркер). Понижается при ВИЧ-инфекции, лейкемии, миеломе, солидных опухолях, сахарном диабете II типа [5, 72];

CD50 – межклеточная молекула адгезии (ICAM-3), помимо этого является мощной сигнальной молекулой. Представлена на всех лейкоцитах, эндотелиальных и дендритных клетках. Обеспечивает костимуляторные сигналы для Т-клеток и регулирует адгезию клеток путем взаимодействия с интегринами. Показано снижение количества CD50+-клеток при опухолевых заболеваниях [5, 60];

CD57 экспрессируется на субпопуляциях 15-20% мононуклеарных клеток периферической крови, у 60% NK- и Т-клеток. Повышение показателей определяется у онкологических больных, больных после трансплантации, у пациентов с ВИЧ, а также с ревматоидным артритом и синдромом Фелти. Снижение патогномично при хронизации болезни Лайма [4, 73];

CD62L – представитель семейства молекул клеточной адгезии (L-селектин), находящийся на клеточной поверхности лейкоцитов (Т- и NK-клетки, моноциты, гранулоциты), обеспечивает транслокацию лейкоцитов из крови в лимфоидную ткань, где они взаимодействуют с антигеном [4, 74];

CD64 – посредник антителозависимой клеточной цитотоксичности (функциональный маркер);

CD158a – важный функциональный маркер NK-активности;

HLA-DR экспрессируются различными клетками периферической крови. Определяются на всех В-лимфоцитах и моноцитах, на активированных Т-лимфоцитах (маркер поздней активации). Уровень

экспрессии HLA-DR-рецептора на моноцитах менее 50 % является неблагоприятным патогномичным признаком развития тяжелой бактериальной инфекции (сепсис, перитонит) [4, 75].

Активация Т-лимфоцитов в физиологических условиях включает в себя распознавание Т-клеточным рецептором антигена, презентруемого в ассоциации с МНС I или МНС II, получение подтверждающего сигнала от CD8 или CD4 соответственно, а также сигнала от костимуляционных молекул и наличие определенного цитокинового микроокружения. В условиях *in vitro* также возможна «имитация» подобного рода сигналов. Для этих целей традиционно применяют митогены (лектины типа фитогемагглютинаина (ФГА) или конканавалина А (КонаА)), способные вызывать «кластеризацию» (сближение или сборку) корецепторного комплекса Т-клеточного рецептора, антител против CD3 и CD28 человека, имитирующие распознавание антигена TCR и получение второго сигнала через костимуляционные молекулы, либо используют различные химические активаторы протеинкиназы С (например, форболовый эфир – форбол 12-миристат ацетат, РМА) и/или вещества, способствующие высвобождению кальция из внутриклеточных депо (например, иономицин). Все эти методические подходы направлены на исследование способности Т-лимфоцитов больных с различными патологическими состояниями отвечать на антигены при контакте с ними в условиях *in vivo*. Вместе с тем при некоторых патологических состояниях – наличие вирусного заболевания (например, ВИЧ-инфекции) либо хронического аутоиммунного процесса (например, системная красная волчанка) – наблюдается увеличение уровня экспрессии ряда активационных молекул и на циркулирующих клетках периферической крови.

Все маркеры активации традиционно с некоторой долей условности разделяются на маркеры «ранней» и «поздней» или «хронической» активации. К первой категории относятся CD69 (иногда еще его называют маркером «сверх ранней» активации, так как он детектируется при помощи проточной цитометрии на поверхности активированного Т-лимфоцита уже через 2 часа после стимуляции клетки, а при помощи ПЦР – примерно через 30 минут после получения лимфоцитом активирующего сигнала), CD71 (маркер «ранней» активации, рецептор для трансферрина, который

необходим для доставки ионов железа в активированную и/или пролиферирующую клетку), а также CD25, который некоторыми авторами может относиться к маркерам «ранней» активации, а некоторые его рассматривают в качестве маркера поздней активации. Более подробно мы остановимся на CD25 и CD69, так как их применение имеет клиническое значение. Классическими примерами маркеров «поздней» активации Т-клеток *in vivo* могут служить CD38 и HLA-DR, оценка уровня экспрессии которых связана с диагностикой ВИЧ-инфекции.

Что касается технической стороны определения уровня экспрессии маркеров активации Т-лимфоцитами, то следует помнить про несколько основных моментов:

– так как эти маркеры имеют переменную экспрессию, то есть нет четких, хорошо выявляемых популяций клеток, которые либо позитивны, либо негативны по данным антигенам (как до этого мы видели на примере таких молекул как CD3, CD19 и CD4), для их корректной оценки необходимо использовать антитела изотипического контроля, позволяющие определить границы негативной зоны (примеры приведены ниже в разделах, посвященных конкретным маркерам активации Т-лимфоцитов);

– так как эти поверхностные антигены могут быть представлены на клетках на очень низком уровне (особенно это актуально для CD25 – всего несколько тысяч молекул на одной Т-клетке), то необходимо применять технологию пробоподготовки, включающую стадию отмывки – удаление из образца избытка антител – после инкубации клеток с препаратами антител (обычно для этих целей применяют так называемый «отмывочный» раствор или буфер, приготовленный на основе забуференного фосфатами физиологического раствора с содержанием 2-4%-ной термоинактивированной сыворотки крупного рогатого скота; к образцу добавляют избыток «отмывочного» раствора в 10-20-кратном объеме, после чего образцы центрифугируют при 300-330 g в течение 5-7 минут, эту процедуру проводят от 1 до 3 раз, причем как для образцов, окрашенных специфическими антителами, так и для образцов, окрашенных антителами изотипического контроля). Пример использования подобной процедуры для анализа уровня экспрессии CD25 Т-хелперами периферической крови приведен на рис. 15.

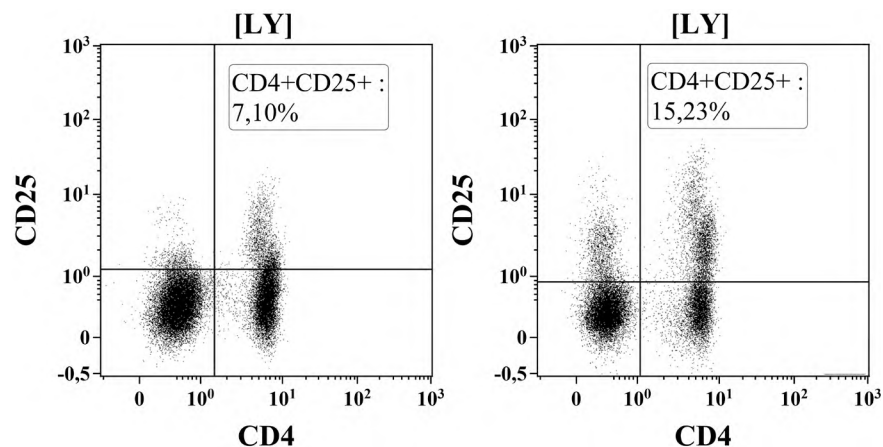


Рис. 15. Сравнение образцов периферической крови, окрашенных антителами против CD4 и CD25, подготовка к анализу которых проводилась по безотмывочной технологии (гистограмма А) и с однократной отмывкой избытком физиологического раствора после инкубации с антителами и удаления эритроцитов (гистограмма Б)

По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD4; по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD25. Область, разделяющая поле гистограмм на четыре участка («квадрантный» регион), выставлена с учетом образцов, окрашенных антителами изотипического контроля, подготовка которых к анализу проводилась по соответствующей схеме:

– для получения корректных результатов следует использовать антитела против маркеров активации, которые конъюгированы с яркими флуорохромами, а также использовать эти антитела по таким каналам флуоресценции, которые подвергаются минимальному влиянию (минимальные значения коэффициентов компенсации) со стороны флуорохромов, детектируемых по другим каналам флуоресценции прибора;

– в том случае, если для оценки маркеров активации в условиях *in vitro* применяются какие-либо активирующие агенты или стимуляторы, то необходимо использовать флуоресцентные красители, позволяющие отличить погибшие клетки от живых (необходимо помнить про то, что разрушенные клетки – утратившие целостность поверхностной клеточной мембраны – способны сорбировать

антитела неспецифически как на своей поверхности, так и внутри цитоплазмы);

– любая работа *in vitro* с мононуклеарными клетками, полученными из цельной крови при помощи градиентного центрифугирования, магнитной сепарации или клеточного сортирования, также требует удаления погибших в ходе выделения и инкубации клеток из зоны анализа, что предполагает применение красителей, определяющих жизнеспособность клеток;

– в том случае, если оценка маркеров активации производится с введением коэффициентов компенсации между различными каналами флуоресценции, то необходимо использовать FMO (Fluorescence-Minus-One) контроли – образцы, окрашенные всеми антителами, кроме одного из комбинации (примеры приведены ниже).

CD25 – это трансмембранный белок I типа, состоящий из 251 аминокислотного остатка и обладающий молекулярной массой около 55 кДа. Этот белок также известен как α -цепь рецептора для IL-2 – ключевого цитокина, отвечающего за пролиферацию Т-лимфоцитов при формировании клона антиген-специфических клеток в ходе реализации реакций приобретенного иммунитета. CD25 необходим для формирования высокоаффинного рецептора для IL-2, в качестве дополнительных субъединиц которого выступают конститутивно экспрессирующиеся на большей части лимфоцитов CD122 (β -цепь) и CD132 (общая γ -цепь). Формирование такого комплекса повышает родство рецептора с IL-2 в десятки и сотни раз, в результате чего активируются многочисленные внутриклеточные каскады передачи сигнала на ядро клетки. К основным эффектам связывания CD25 с лигандом следует относить активацию STAT5, mTOR и различных MAPK, что сопровождается выживанием клеток и продвижением по клеточному циклу, то есть усилением пролиферативной активности в составе лимфоидной ткани.

Высокий уровень спонтанной экспрессии CD25 характерен лишь для регуляторных Т-лимфоцитов (отдельной субпопуляции Т-хелперов, обладающих выраженными супрессорными свойствами по отношению к антиген-презентирующим клеткам и зрелым лимфоцитам эффекторных популяций), тогда как остальные субпопуляции Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток способны увеличивать уровень поверхностного CD25 только в ответ на распознавание

антигена Т-клеточным рецептором и получение второго активационного сигнала от костимулирующих молекул. Более того, если говорить про Т-хелперы периферической крови, то экспрессия CD25 на «не высоком» уровне, которая в литературе по проточной цитометрии обычно обозначается как «dim», характерна для клеток памяти, которые прошли антигензависимую стадию дифференцировки в периферических лимфоидных органах. Среди Т-хелперов, негативных по CD25, обычно доминируют «наивные» клетки, прошедшие только антигеннезависимую дифференцировку в тимусе и еще ни разу не контактировавшие с АПК, презентующими специфический для их Т-клеточного рецептора антиген. С этой точки зрения большая часть современных работ, посвященных анализу субпопуляционного состава Т-лимфоцитов периферической крови, рассматривает CD25 в качестве, в первую очередь, маркера регуляторных Т-клеток, тогда как для применения его в качестве маркера активации необходима стимуляция (антиген-специфическая или при помощи химических агентов и митогенов) клеток в условиях *in vitro*.

Следует отметить, что в условиях стимуляции *in vitro* уровень CD25 возрастает через 18-24 часа после начала эксперимента, что позволяет, как уже отмечалось выше, относить данный антиген к маркерам «ранней» активации Т-лимфоцитов. Максимальный уровень экспрессии CD25 Т-хелперами и цитотоксическими Т-лимфоцитами наблюдается на 3-и сутки после стимуляции, после чего его уровень начинается снижаться. Помимо Т-клеток, CD25 обнаруживается на поверхности «незрелых» НК-клеток (около 5-7 % от общей популяции НК-клеток), а также на мембране регуляторных В-лимфоцитов, способных синтезировать IL-10 (рис. 16).

По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD25. Гистограмма А – результаты анализа образца условно здорового донора, окрашенных антителами изотипического контроля для CD25 (пример так называемого «FMO-контроля» – антитела против CD25 заменены на изотипический контроль, все остальные антитела внесены в пробу). По этим образцам выставлены зоны позитивной и негативной экспрессии CD25 (в позитивной области должно находиться не более 2 % клеток). Гистограммы Б – результаты анализа экспрессии CD25 Т-клетками условно здорового донора. В областях «CD3+CD25+» располагаются Т-клетки, позитивные по CD25, которые составляют 13,83 %

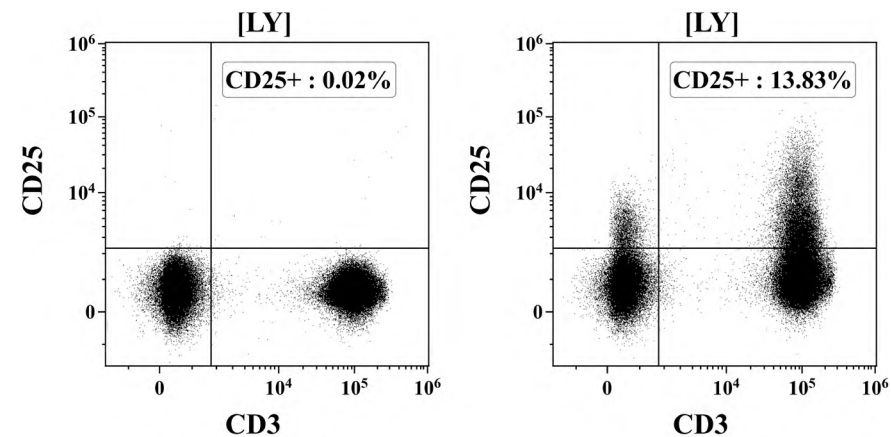


Рис. 16. Анализ экспрессии CD25 лимфоцитами периферической крови

от всех Т-лимфоцитов. Квадрантный регион выставлен с учетом анализа образца, окрашенного антителами изотипического контроля.

Первые упоминания об экспрессии CD38 датируются 1980 годом, когда с использованием проточной цитофлуориметрии эта молекула была обнаружена на поверхности тимоцитов различных стадий дифференцировки и зрелых активированных Т-клеток. В 1989 году было показано, что увеличение уровня CD38 на цитотоксических Т-клетках при ВИЧ-инфекции коррелирует со снижением абсолютного содержания Т-хелперов в периферической крови и развитием синдрома приобретенного иммунодефицита, что и послужило одной из основных причин активного применения антител против CD38 в клинической практике. В настоящее время CD38 относят к гликопротеинам II типа, его молекулярная масса находится в пределах 45кДа, а сам белок состоит из 301 аминокислотного остатка (рис. 17).

Причем 257 аминокислотных остатков формируют внеклеточный домен, который обладает свойствами рибозилциклазы аденозиндифосфата и гидролазы циклической АДФ-рибозы. Из оставшихся 44 аминокислотных остатков 23 входят в состав трансмембранного домена, а остальные формируют цитоплазматический участок данной молекулы. Единственным описанным лигандом CD38 является CD31, или PECAM-1, представленный

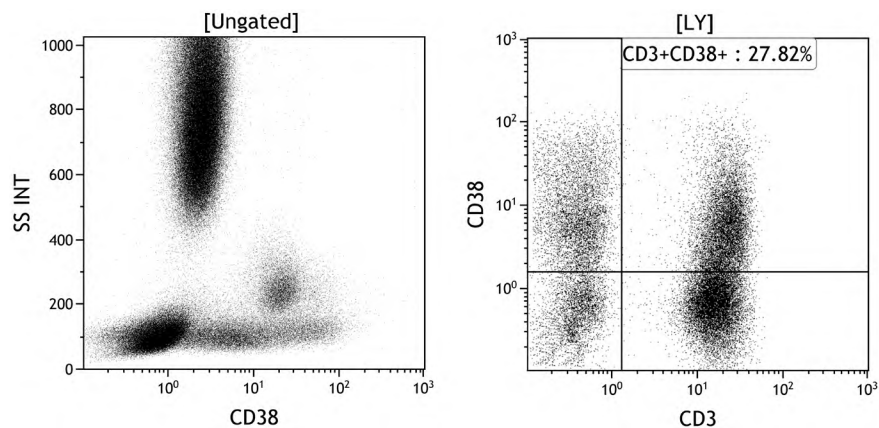


Рис. 17. Анализ экспрессии CD38 клетками периферической крови. Гистограмма А: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD38, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток. На гистограмме приведены все популяции лейкоцитов (гистограмма «не гейтирована» – «[Ungated]») периферической крови; клетки, не экспрессирующие CD38 (часть популяции лимфоцитов), расположены в первой декаде логарифмической шкалы флуоресценции. В начале второй декады логарифмической шкалы располагается облако гранулоцитов, слабо позитивных по CD38. Вторая декада логарифмической шкалы содержит часть популяции лимфоцитов, обладающих средней, или «dim», экспрессией CD38. В третьей декаде располагаются клетки с высоким уровнем CD38 (CD38bright). Моноциты обычно экспрессируют высокий уровень этой молекулы, причем на «классических» моноцитах ее плотность несколько ниже по сравнению с «переходными» и «не классическими». Гистограмма Б: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD38. В области «CD3+CD38+» располагаются Т-клетки, позитивные по CD38, которые составляют 27,82 % от всех лимфоцитов. Квадрантный регион выставлен с учетом анализа образца, окрашенного антителами изотипического контроля

на поверхности весьма широкого спектра клеток, к которым относятся лимфоциты (Т-, В- и НК-клетки), гранулоциты, макрофаги, дендритные клетки эндотелия сосудов, а также тромбоциты. Взаимодействие этих двух молекул сопровождается изменением конформации CD38, поэтому CD31 рассматривается в качестве потенциального регулятора функциональной активности CD38 по отношению к его субстратам.

В случае Т-лимфоцитов CD38 принимает участие в проведении сигнала от Т-клеточного рецептора, так как была обнаружена его локализация в составе липид-белковых микродоменов вместе с основными компонентами Т-клеточного корецепторного комплекса. Более того, анализ кристаллической структуры молекулы показывает, что CD38 может функционировать как димер или тетрамер, формируя центральный канал для интернализации продуктов катализа в клетку. Поэтому считается, что NAD⁺ и NADP⁺ превращаются внеклеточной частью CD38 в cADP-рибозу и NAADP, которые могут быть доставлены в цитоплазму, где вызывают выход катионов кальция из депо, что сопровождается активацией Ca²⁺-зависимых киназ и проведением сигнала в ядро клетки (рис. 18).

Таким образом, CD38 может одновременно выполнять несколько различных функций, которые в той или иной степени связаны с активацией Т-лимфоцитов. Около 52 % Т-хелперов и 47 % цитотоксических Т-клеток экспрессируют на своей поверхности CD38. В рамках другого аналогичного исследования эти показатели составляли 52,6 и 35,2 % соответственно. Однако другая группа авторов показала, что среди Т-хелперов с фенотипом CD3+CD4+ только 22,63±1,68 % клеток экспрессировали CD38.

Следует отметить, что определение уровня CD38 на лимфоцитах периферической крови для решения клинических задач имеет ряд существенных ограничений. Во-первых, как уже было показано на рис. 12, данный поверхностный антиген имеет «переменный» уровень экспрессии. Во-вторых, литературные данные указывают на то, что получаемые результаты могут существенно зависеть от флуорохрома, с которым конъюгированы моноклональные антитела. Столь же существенные различия в получаемых результатах могут быть обусловлены использованием антител против CD38, полученных от различных клонов, как это было показано для клонов HB7 и HIT2.

Что же касается экспрессии CD38 цитотоксическими Т-лимфоцитами, то исследование этого вопроса имеет, в первую очередь, чисто практическое применение, как это уже было отмечено выше. Более того, обнаружена высокая корреляция между увеличением CD38+CD3+CD8+ клеток и вирусной нагрузкой, что также является одним из важнейших критериев для оценки состояния пациентов, инфицированных ВИЧ (рис. 12). Помимо ВИЧ-инфекции, увеличение

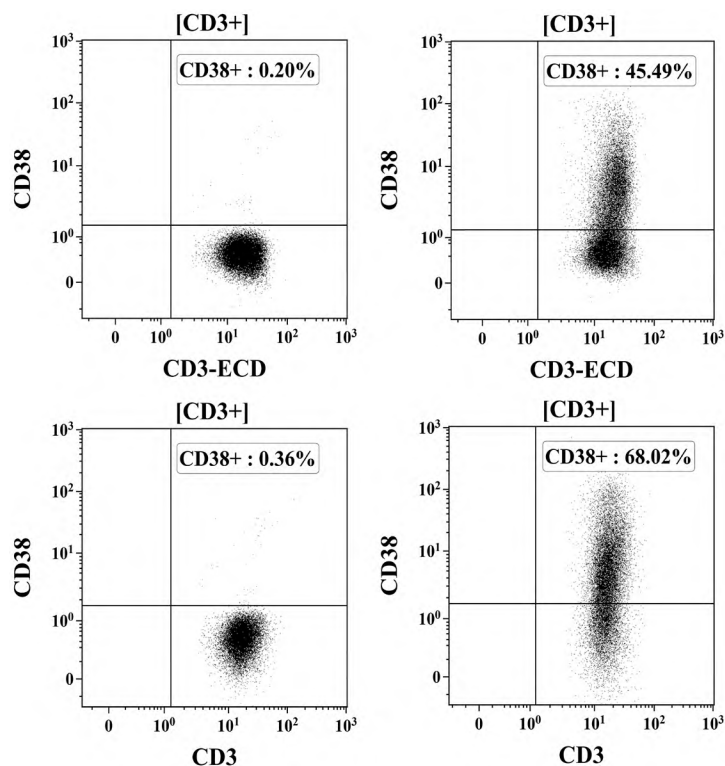


Рис. 18. Анализ экспрессии CD38 Т-лимфоцитами периферической крови условно здорового донора и ВИЧ-инфицированного пациента. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD38. На гистограммах приведены только CD3-позитивные лимфоциты. Гистограммы А и В – результаты анализа образцов условно здорового донора и ВИЧ-инфицированного пациента (соответственно), окрашенных антителами изотипического контроля для CD38 (пример так называемого «FMO» – антитела против CD38 заменены на изотипический контроль, все остальные антитела внесены в пробу). По этим образцам выставлены зоны позитивной и негативной экспрессии CD38 (в позитивной области должно находиться не более 2 % клеток). Гистограммы Б и Г – результаты анализа экспрессии CD38 Т-клетками условно здорового донора и пациента с ВИЧ-инфекцией. В областях «CD3+CD38+» располагаются Т-клетки, позитивные по CD38, которые составляют 45,49 и 68,02 % от всех Т-лимфоцитов соответственно. Квадрантный регион выставлен с учетом анализа образца, окрашенного антителами изотипического контроля

в периферической крови уровня CD8+CD38+ Т-клеток отмечается и при других инфекционных заболеваниях, например, при инфекциях, вызванных *Mycobacterium tuberculosis*, инфицировании вирусом Эпштейн – Барр и цитомегаловирусом (Rodrigues et al., 2002). Поэтому в контексте инфекционных заболеваний CD38 рассматривается в качестве маркера активации клеток, позволяющего выходить из кровяного русла и повышать концентрацию ионов кальция внутри цитоплазматического компартмента.

CD69 (или Leu-23) является трансмембранным лектином С-типа и состоит из двух субъединиц, объединенных при помощи дисульфидных связей. Ген, кодирующий данный белок, расположен у человека на 12-й хромосоме в составе кластера генов НК-клеток, кодирующих активирующие и ингибиторные рецепторы НК-клеток, такие как CD94 и NKG2. В составе промотора гена CD69 у мыши обнаружены сайты для связывания NF-κB и AP-1, что свидетельствует об увеличении уровня экспрессии данной молекулы в ответ на активационные сигналы различной природы. В результате транскрипции у человека формируется полипептид с молекулярной массой 22,5 кДа, однако в ходе посттрансляционных модификаций и гликозилирования молекулярный вес мономерного CD69 возрастает до 28 или 32 кДа. Эти субъединицы могут формировать димеры трех типов, состоящие из мономеров с молекулярными массами 28 и 28, 28 и 32 или 32 и 32 кДа соответственно. В составе внеклеточной части молекулы CD69 обнаружен лектиновый домен С-типа (CTLD, от англ. «C-type lectin domain»), характерный для некоторых паттерн-распознающих рецепторов врожденного иммунитета, однако до сих пор вопрос о лигандах CD69 остается открытым. Активация CD69 сопровождается активацией киназы Jak3, которая, в свою очередь, активирует транскрипционный фактор STAT5. Активационный путь Jak/STAT характерен для многих клеток, принимающих участие в защитных реакциях, так как под его контролем находятся гены, кодирующие ключевые семейства интерферонов и интерлейкинов. Перекрестное связывание CD69 моноклональными антителами на поверхности лимфоцитов сопровождается повышением уровня внутриклеточных катионов Ca²⁺ за счет притока внеклеточного кальция. Уровень экспрессии CD69 крайне низок на циркулирующих в периферической крови лейкоцитах (рис. 19), например, только 3-5 % Т-лимфоцитов несут данный антиген на своей поверхности.

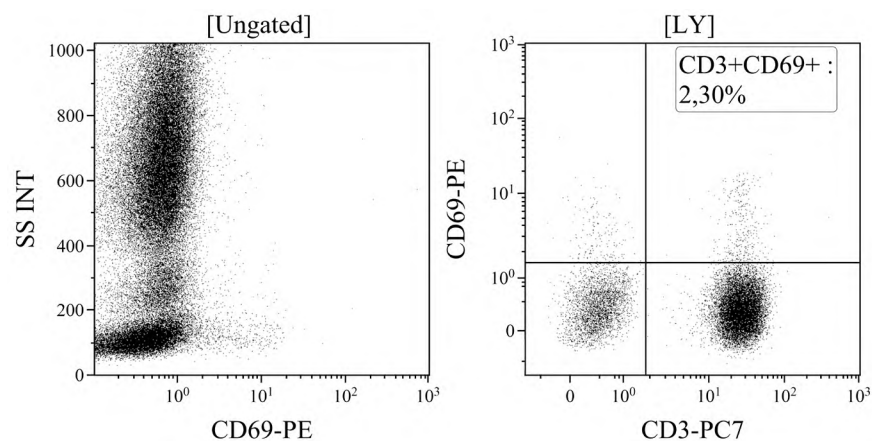


Рис. 19. Анализ экспрессии CD69 клетками периферической крови. Гистограмма А: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD69, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток. На гистограмме приведены все популяции лейкоцитов (гистограмма «не гейтирована» – «[Ungated]») периферической крови; клетки, не экспрессирующие CD69 (практически все популяции лейкоцитов), расположены в первой декаде логарифмической шкалы флуоресценции. В начале второй декады логарифмической шкалы располагаются лимфоциты, несущие CD69 на своей поверхности. Гистограмма Б: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD69. В области «CD3+CD69+» располагаются Т-клетки, позитивные по CD69, которые составляют 2,30 % от всех лимфоцитов. Квадрантный регион выставлен с учетом анализа образца, окрашенного антителами изотипического контроля

В последнее время считается, что наличие CD69 на поверхности циркулирующих в периферической крови Т-лимфоцитов является не маркером их активации, а, скорее, маркером клеток, мигрирующих в периферические ткани. Так, коэкспрессия CD69 и CD103 ($\alpha\text{E}\beta 7$ -интегрин) считается признаком «резидентных» или тканевых Т-клеток памяти. Показано, что CD69 экспрессируется на 60-100 % CD45R0-позитивных Т-клетках в зависимости от локализации в определенных тканях. Причем максимальные значения были зарегистрированы для CD4+ и CD8+ Т-клеток, выделенных из подслизистых оболочек различных отделов кишечника.

В ответ на стимуляцию *in vitro* плотность CD69 резко возрастает на поверхностной мембране Т-, В- и НК-клеток, макрофагов, нейтрофилов и эозинофилов человека. Более того, именно CD69 является первой или «очень ранней» (по сравнению с CD71, CD25 и HLA-DR) активационной молекулой, которая появляется на поверхности лимфоцитов при их активации. CD69 определяется при помощи проточной цитометрии на мембране активированных Т-лимфоцитов уже через 2-4 часа после активации клеток *in vitro*, однако в цитоплазме на уровне РНК его можно определять уже через 30 минут после начала эксперимента (рис. 20).

Максимум экспрессии после стимуляции антителами против CD3 человека приходится на 18-48 часов, но к началу третьих суток (72 часам) инкубации *in vitro* экспрессия данного антигена значительно снижается. Пример приведен на рис. 20. Из периферической крови при помощи градиентного центрифугирования были выделены мононуклеарные клетки, после чего часть клеток инкубировалась в течение 18 часов в присутствии 50 нг/мл РМА (гистограммы В и Г), контролем служило внесение равного объема полной культуральной среды, на которой осуществлялось приготовление рабочих разведений РМА (гистограммы А и Б). По завершению инкубации клетки дважды отмыли избытком «отмывочного» раствора по указанной выше схеме, после чего стимулированные и не стимулированные образцы были разделены на две равные части, после чего проводили окраску антителами, а по ее завершению – все образцы дважды отмывали «отмывочным» раствором.

Кроме того, во все образцы вносили ДНК-связывающий краситель DAPI (финальная концентрация DAPI 1 мкг/мл) для удаления из зоны анализа клеток с разрушенной цитоплазматической мембраной. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции CD69. На гистограммах приведены только CD3-позитивные лимфоциты, выявленные среди мононуклеарных клеток, полученных в результате градиентного центрифугирования периферической крови.

На гистограммах А и В приведены результаты окрашивания клеток антителами изотипического контроля (следует отметить, что интенсивность связывания антител изотипического контроля в стимулированных образцах несколько выше при сравнении с интактными пробами – это связано с активацией клеток, на фоне

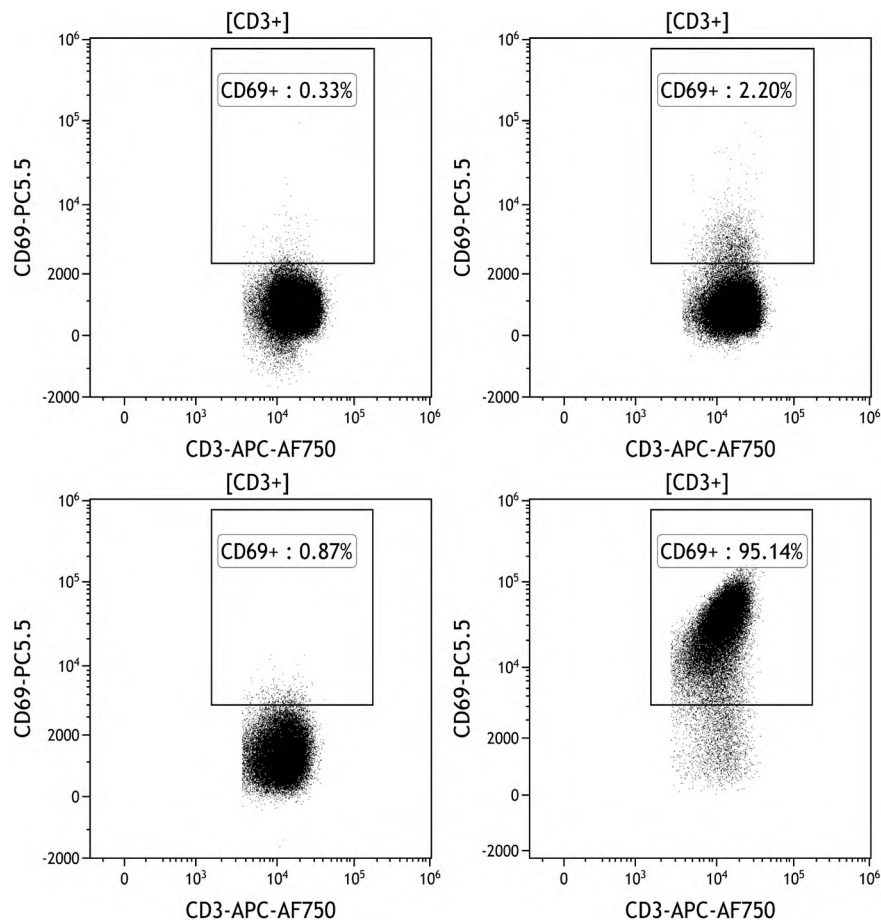


Рис. 20. Анализ экспрессии CD69 T-лимфоцитами в условиях *in vitro*. Гистограммы А и Б – результаты анализа спонтанной экспрессии CD69; гистограммы В и Г – результаты ПМА-индуцированной (50 нг/мл, 18 часов инкубации при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂) экспрессии CD69. Гистограммы А и В – образцы окрашенных антителами изотипического контроля для CD69 (пример так называемого «FMO-контроля»). В областях «CD69+» располагаются Т-клетки, позитивные по CD69, которые составляют 2,20 % в случае спонтанной экспрессии и 95,14 % от всех Т-лимфоцитов в случае активации клеток ПМА. Квадрантный регион выставлен с учетом анализа образца, окрашенного антителами изотипического контроля для каждого из типа образцов

которой изменяются свойства плазмолеммы, что сказывается на неспецифическом связывании антител с ее поверхностью; данное обстоятельство требует постановки проб с изотипическими контролями для всех типов образцов, инкубация которых проводилась на фоне стимулирующих агентов в условиях *in vitro*). На гистограммах Б и Г приведены результаты окраски антителами против CD69, причем регионы «CD69+» выставлены аналогично таковым гистограмм А и В соответственно. Как следует из гистограммы Б, лишь около 2 % Т-лимфоцитов несут на своей мембране CD69, что указывает на отсутствие спонтанной активации лимфоцитов в условиях *in vitro* (результаты сопоставимы со значениями, полученными для периферической крови). Внесение ПМА привело к тому, что CD69 появился на поверхности более чем 95 % CD3-позитивных клеток в исследованном образце, что свидетельствует о высокой способности клеток данного пациента к активации в условиях *in vitro*.

Молекулы **HLA-DR** (от англ. «Human Leukocyte Antigen – antigen D Related») относятся к суперсемейству иммуноглобулиновых молекул, ассоциированных с поверхностной мембраной клеток. Гены, кодирующие HLA-DR, расположены в кластере генов главного комплекса гистосовместимости II класса, локализованного на коротком плече 6-й хромосомы человека. Как и остальные представители молекул МНС II класса HLA-DR крайне гетерогенны, поэтому молекулярный вес α - и β -цепей, формирующих нековалентно соединенный гетеродимер на поверхностной мембране клеток, может находиться в пределах 32-42 кДа и 29-32 кДа соответственно. Каждая из полипептидных цепей представлена двумя иммуноглобулиновыми доменами, причем в рамках популяции α 1- и β 1-домены, отвечающие за связывание презентруемого антигена, обладают максимальным разнообразием, тогда как α 2- и β 2-домены весьма консервативны, что связано, по-видимому, с выполняемыми ими структурными функциями, равно как и взаимодействием с CD4 на поверхности Т-хелперов (рис. 21).

Конститутивная экспрессия HLA-DR свойственна всем «профессиональным» антиген-презентирующим клеткам, к числу которых относятся дендритные клетки, моноциты и тканевые макрофаги, а также В-лимфоциты. Все моноциты периферической крови экспрессируют высокий по сравнению с гранулоцитами уровень HLA-DR. Тогда как среди лимфоцитов высокая плотность HLA-DR

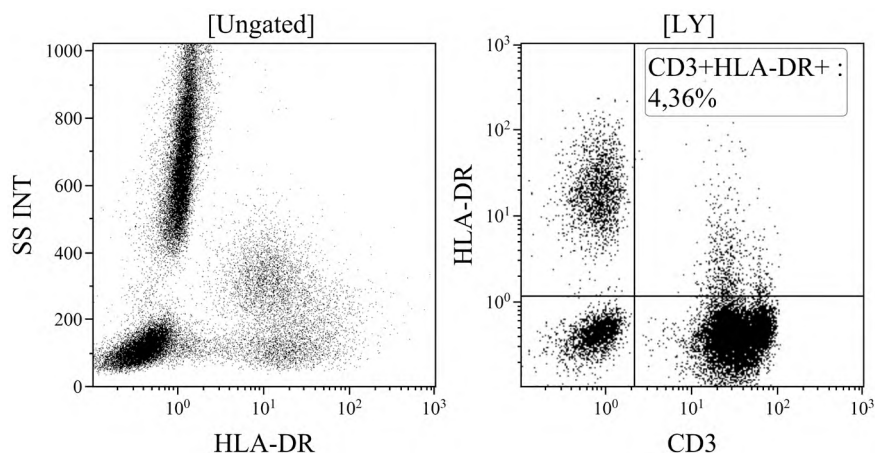


Рис. 21. Анализ экспрессии HLA-DR клетками периферической крови. Гистограмма А: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции HLA-DR, по оси ординат – боковое светорассеяние, характеризующее сложность организации цитоплазмы клеток. На гистограмме приведены все популяции лейкоцитов (гистограмма «не гейтирована» – «[Ungated]») периферической крови; клетки, не экспрессирующие HLA-DR (часть популяции лимфоцитов) расположены в первой декаде логарифмической шкалы флуоресценции. В начале второй декады логарифмической шкалы располагается облако гранулоцитов, слабо позитивных по HLA-DR. Вторая декада логарифмической шкалы содержит часть популяции лимфоцитов, обладающих средней или «dim» экспрессией HLA-DR. В третьей декаде располагаются клетки с высоким уровнем HLA-DR (HLA-DRbright). Моноциты обычно экспрессируют высокий уровень этой молекулы, причем на «классических» моноцитах ее плотность несколько ниже по сравнению с «переходными» и «не классическими». Гистограмма Б: по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции HLA-DR. В области «CD3+ HLA-DR+» располагаются Т-клетки, позитивные по HLA-DR, которые составляют 4,36 % от всех лимфоцитов. В области «CD3–HLA-DR+» располагаются В-лимфоциты, а также моноциты и дендритные клетки, попадающие в область лимфоцитов

характерна для CD3-негативных клеток – в этой области, помимо В-клеток, также располагаются моноциты и дендритные клетки, попавшие в лимфоцитарный «гейт». Поэтому еще одним из способов оценки корректности выделения лимфоцитов при двойном иммунологическом гейтировании является то, что относительное

содержание клеток с фенотипом CD3–HLA-DR+ должно незначительно – максимум на 1-2 % – превосходить значения, полученные для В-клеток.

В случае Т-лимфоцитов, как Т-хелперов, так и цитотоксических Т-лимфоцитов, HLA-DR рассматривается в качестве маркера «поздней» активации (так как в условиях *in vitro* уровень его экспрессии возрастает лишь на третьи сутки после стимуляции митогеном, то есть гораздо позднее по сравнению с такими поверхностными антигенами, как CD69, CD71 и CD25), хотя иногда его еще называют маркером «хронической», то есть длительной, активации Т-лимфоцитов. Последнее обстоятельство связано с чисто клиническим наблюдением, основанным на увеличении уровня экспрессии HLA-DR Т-клетками периферической крови ВИЧ-инфицированных пациентов. Именно последнее обстоятельство, по-видимому, было принято во внимание при включении данной молекулы в стандартную панель для иммунофенотипирования как массового скринингового теста для выявления ключевых патологических состояний иммунной системы человека.

Следует отметить, что экспрессия HLA-DR на Т-клетках, подобно экспрессии CD38, может изменяться в весьма широком диапазоне, что требует использования изотипических контролей для корректного отделения активированных Т-клеток от не активированных. Это положение касается как экспериментов в условиях *in vitro*, так и анализа образцов периферической крови, предварительная стимуляция которых не производилась. На рис. 22 приведены результаты анализа уровня экспрессии HLA-DR общей популяции Т-лимфоцитов, выделенных на основании экспрессии CD3, периферической крови условно здорового донора и пациента с моноинфекцией ВИЧ. Как видно из приведенных гистограмм, значения, полученные для пациента с ВИЧ-инфекцией, примерно в 10 раз превосходят результаты условно здорового донора. Подобного рода лабораторные тесты являются весьма надежными, а их результаты – значимыми для выбора дальнейшей тактики ведения пациентов. Следует также отметить и тот факт, что в настоящее время особое внимание уделяется оценке уровня экспрессии маркеров активации цитотоксическими Т-лимфоцитами на фоне моноинфекции ВИЧ, равно как и при коинфекциях ВИЧ и гепатитом, или *Mycobacterium tuberculosis*, или цитомегаловирусом. При этом наиболее информативными

параметрами является коэкспрессия CD3+CD8+ лимфоцитами HLA-DR и CD38, так как уровень этих клеток в периферической крови тесно связан с выживаемостью пациентов без терапии и на фоне антиретровирусной терапии, уровнем вирусной нагрузки и падением абсолютного содержания CD4+ клеток в периферической крови. Например, при сравнении больных с ВИЧ-инфекцией, ВИЧ-инфекцией и латентной формой туберкулеза, а также ВИЧ-инфекцией и активной формой туберкулеза было показано, что уровень экспрессии CD38 на CD3+CD8+ клетках достоверно возрастает (Sullivan et al., 2015). Однако разница между ВИЧ-инфицированными пациентами с различными формами туберкулеза была не очень выраженной по относительно содержанию CD38+CD8+CD3+, что затрудняло применение данного параметра в клинической практике. С другой стороны, анализ HLA-DR+CD38+ цитотоксических Т-клеток выявил более чем двукратное увеличение данной субпопуляции клеток у больных с активной формой туберкулеза при сравнении как с моноинфекцией ВИЧ, так и с больными ВИЧ с латентной формой туберкулеза. Сходные результаты были получены и при анализе CD38+ и HLA-DR+CD38+ субпопуляций Т-хелперов периферической крови указанных групп больных (рис. 22).

Именно поэтому различные маркеры активации следует оценивать одновременно – в рамках единого исследования – причем отдельно для субпопуляций Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов, если приборная база позволяет проводить подобного рода исследования.

Основные популяции лимфоцитов периферической крови здоровых лиц представлены в табл. 5.

Эти показатели можно считать нормативными при проведении иммунологических исследований.

Однако область применения проточной цитометрии куда разнообразнее. Помимо морфологических характеристик клеток, с помощью моноклональных антител можно достоверно определять популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов, выявлять стадию дифференцировки и активации клеток, оценивать уровень функциональной активности лимфоцитов, определять внутриклеточные и секретируемые цитокины, проводить исследования фагоцитоза, анализировать клеточный цикл, оценивать апоптоз и пролиферацию.

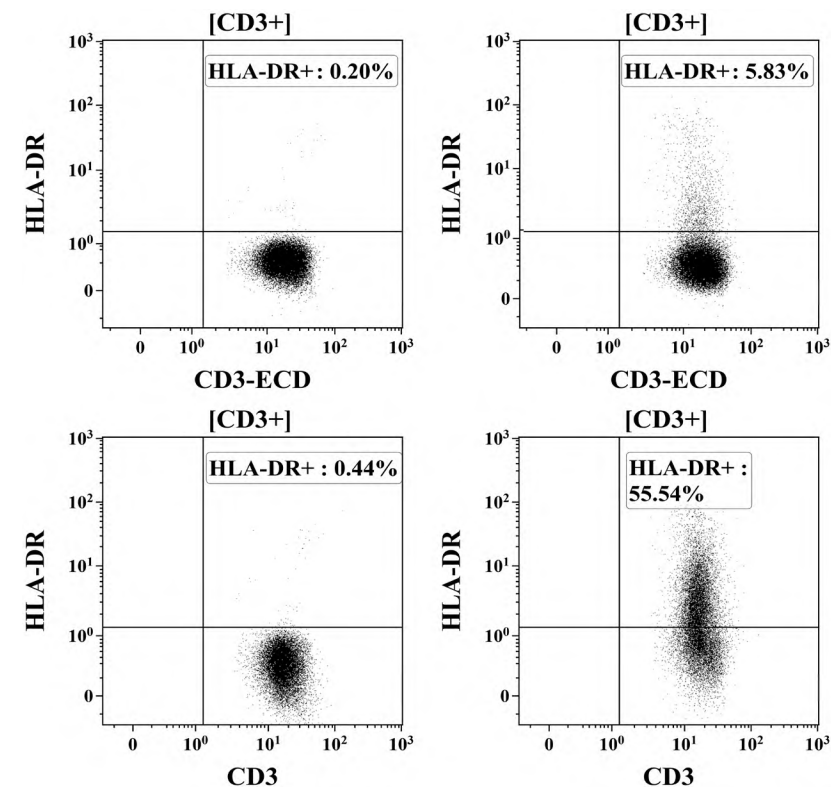


Рис. 22. Анализ экспрессии HLA-DR Т-лимфоцитами периферической крови условно здорового донора и ВИЧ-инфицированного пациента. По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции CD3, по оси ординат – интенсивность флуоресценции HLA-DR. На гистограммах приведены только CD3-позитивные лимфоциты. Гистограммы А и В – результаты анализа образцов условно здорового донора и ВИЧ-инфицированного пациента (соответственно), окрашенных антителами изотипического контроля для HLA-DR (пример, так называемого «ФМО-контроля»).

По этим образцам выставлены зоны позитивной и негативной экспрессии HLA-DR (в позитивной области должно находиться не более 2 % клеток). Гистограммы Б и Г – результаты анализа экспрессии HLA-DR Т-клетками условно здорового донора и пациента с ВИЧ-инфекцией соответственно. В областях «HLA-DR+» располагаются Т-клетки, позитивные по HLA-DR, которые составляют 5,83 и 55,54 % от всех Т-лимфоцитов соответственно. Квадрантный регион выставлен с учетом анализа соответствующего образца, окрашенного антителами изотипического контроля

Таблица 5

Интервалы распределения основных и малых популяций лимфоцитов в периферической крови практически здоровых лиц (Хайдуков С.В. и др., 2009)

Популяции и субпопуляции лимфоцитов	Содержание	
	%	×10 ⁹ /л
В-клетки (CD3-CD19+HLA-DR+CD45+)	7,0-17,0	0,111-0,376
В1-клетки (CD19+CD5+CD27-CD45+)	0,5-2,1	0,022-0,115
В2-клетки (CD19+CD5-CD27-CD45+)	6,5-14,9	0,081-0,323
В-клетки памяти (CD19+CD5-CD27+CD45+)	1,8-6,8	0,012-0,040
НК-клетки (CD3-CD16+CD56+CD45+)	8,0-18,0	0,123-0,369
НК-клетки цитолитические (CD3-CD16+CD56dimCD45+)	0,2-1,0	0,003-0,022
НК-клетки цитокин-продуцирующие (CD3-CD16- CD56brightCD45+)	7,8-17,0	0,120-0,347
TNK-клетки (CD16-CD56+CD3+CD45+)	0,5-6,0	0,007-0,165
T-клетки (CD3+CD19-CD45+)	61,0-85,0	0,946-2,079
T-хелперы (CD3+CD4+CD8-CD45+)	35,0-55,0	0,576-1,336
T-цитотоксические (CD3+CD8+CD4-CD45+)	19,0-35,0	0,372-0,974
T-хелперы активированные/памяти (CD4+CD45R0+CD45RA±CD45+)	5,0-25,0	0,068-0,702
T-хелперы нативные (CD4+CD45RA+CD45R0-CD45+)	20,0-40,0	0,272-1,123
T-лимфоциты активированные (CD3+HLA-DR+CD25+CD45+)	0,5-6,0	0,007-0,165
Регуляторные T-лимфоциты (CD4+CD25brightCD127-CD45+)	1,6-5,8	0,009-0,078
Индекс соотношения (T-хелперы/T-цитотоксические)	1,5-2,6	

Снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов свидетельствует о недостаточности клеточного иммунитета (недостаточность клеточно-эффекторного звена иммунитета), которая встречается довольно часто при различных инфекциях, неспецифических воспалительных процессах, злокачественных опухолях, в постоперационный период, при инфаркте и т. д. Повышение числа Т-лимфоцитов в динамике заболевания – клинически благоприятный признак. Полное завершение болезни обычно сопровождается нормализацией количества Т-лимфоцитов.

Увеличение абсолютного числа CD4+ Т-лимфоцитов свидетельствует о стимуляции иммунной системы на какой-либо антиген и служит подтверждением гиперреактивных синдромов. Однако необходимо иметь в виду, что увеличение их содержания чаще всего не что иное, как нормальная физиологическая реакция на антиген, что мы и наблюдаем при специфических и неспецифических инфекционных заболеваниях. Пролиферация CD4+ Т-лимфоцитов продолжается 3-5-е сутки после активации. Она обеспечивает умножение численности клеток в клонах, вовлекаемых в иммунный ответ, пролиферативную экспансию клонов. Т-клетки проходят 6-8 делений, что обеспечивает увеличение их числа примерно в 100-200 раз. Так, если исходную численность Т-клеток в клоне у человека можно оценить примерно в 2×10^3 (исходя из оценки общего числа Т-хелперов в 7×10^{10} и возможного числа клонов в 3×10^7), то после пролиферации их число может превысить 10^6 . Это обеспечивает должную эффективность иммунного ответа, поскольку формирование активных Т-хелперов необходимо для успешной реализации практически всех его ветвей [4, 7, 13, 44, 60]. Снижение числа Т-хелперов свидетельствует о гипореактивном синдроме с нарушением регуляторного звена иммунитета. Особенно наглядно это определяется при ВИЧ-инфекции.

Повышение количества цитотоксических Т-лимфоцитов определяется практически при всех вирусных, бактериальных, протозойных инфекциях. Относительное увеличение числа CD8+ Т-клеток обычно обусловлено уменьшением количества Т-хелперов, хотя такую закономерность наблюдают не всегда. Это связано с тем, что цитотоксические Т-лимфоциты синтезируют IFN- γ , который угнетает пролиферацию Th2-клеток, и с тем, что ранее CD8+ Т-лимфоциты расценивались как Т-супрессоры. Уменьшение количества

цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов служит подтверждением недостаточности клеточно-эффекторного звена иммунитета, что особенно важно при лечении хронических вирусных инфекций (вирусных гепатитов, герпеса и пр.) [61, 62, 63].

Количество В-лимфоцитов в периферической крови определяется с помощью CD19-маркера, который присутствует на всех В-клетках периферической крови, но отсутствует на плазматических клетках.

NK-лимфоциты с диагностической точки зрения имеют два важных CD-маркера – CD16 и CD56. Общее количество их в крови составляет: CD16+-клеток – 6-26 %, CD56+-клеток – 7-31 % ($0,09-0,6 \times 10^9/\text{л}$). Снижение количества этих клеток – патогномичный признак клеточно-эффекторного иммунодефицита, обусловленный тяжестью течения онкологических и вирусных инфекций, который наблюдается и при приеме иммунодепрессантов [13, 64]. Увеличение количества NK-клеток связано с активацией трансплантационного иммунитета, в некоторых случаях отмечается при бронхиальной астме, т. е. является патогномичным признаком клеточно-опосредованной цитотоксичности.

На сегодняшний день теряет свой клинический смысл так называемый регуляторный (дифференцировочный) индекс – соотношение CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов. Считается, что значение этого индекса ниже 1,0 соответствует иммунодефициту, более 2,5 – гиперактивности. С современных позиций интерпретировать этот показатель таким образом будет не вполне корректно. Более информативным основанием для таких выводов служат абсолютное число отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов и маркеры их активации [13].

Проявлением активации служит экспрессия на клетках различных маркеров активации. Так, уже через 2-3 ч. после действия стимуляции на поверхности Т-лимфоцитов появляется CD69 – самый ранний активационный антиген, частично мобилизуемый из внутриклеточных депо, а частично экспрессируемый *de novo*. Его экспрессия продолжается немногим более суток. Вскоре после CD69 на поверхности клетки появляется другой ранний маркер активации – CD25. Следующие проявления активации наблюдают через сутки после действия стимулятора, когда экспрессируется молекула рецептора для трансферрина (CD71). В последующие дни (3-6 сут.) экспрессируются молекулы МНС-II, относимые к поздним маркерам

активации Т-клеток, а затем интегрин, обозначаемые как очень поздние активационные антигены VLA (Very late activation antigens), и секретируются хемокины [65, 66]. Эти поздние проявления активации клеток совмещаются с пролиферативным процессом.

О функциональном состоянии Т-лимфоцитов свидетельствует количество клеток, экспрессирующих α -цепь рецепторов к IL-2 (CD25+-лимфоциты). В норме в крови их относительное число составляет 13-24 %. При гиперреактивных синдромах количество этих клеток возрастает, при иммунодефицитах снижается. Следует помнить, что к этой группе принадлежат Т-регуляторы, ответственные за периферическую иммунную толерантность [44]. Показателем гиперреактивности иммунитета является также количество лимфоцитов, несущих два рецептора – CD3 и HLA-DR. В норме их должно быть не более 12 %.

В настоящее время типизируются и другие маркеры, сейчас их насчитывается около 360 разновидностей. Особенно это важно в онкогематологии [60].

3.3. Показатели, отражающие степень дифференцировки Т- и В-лимфоцитов

В процессе созревания Т- и В-лимфоцитов в вилочковой железе (тимусе) и костном мозге происходит формирование клеточных рецепторов посредством рекомбинации генов в цепи эписомальной ДНК с целью создания уникального участка, распознающего антиген. Во время каждой такой рекомбинации из цепи вырезается небольшой фрагмент, образующий эксцизионное кольцо. Эти кольца получили названия TREC (T-cell Receptor Excision Circle) и KREC (Kappa-deleting Recombination Excision Circle) [78-80]. TREC сопровождают созревание практически всех Т-лимфоцитов, а KREC – всех В-лимфоцитов и, таким образом, являются маркерами их количества. Снижение количества TREC и/или KREC свидетельствует о нарушениях Т- и/или В-клеточного лимфопоэза. Особого внимания заслуживают взрослые с отсутствием TREC и KREC, т. к., согласно проведенным исследованиям, в этой группе очень высокий риск развития смертельных исходов в острый период заболеваний [80]. Как предварительную оценку определения нарушения дифференцировки Т- и В-лимфоцитов при отсутствии необходимого оборудования

(проточного цитометра) вместе с развернутым анализом крови можно проводить определение TREC и KREC. В настоящий момент в России разработаны и зарегистрированы отечественные тест-системы «ИММУНО-БИТ МУЛЬТИ» (для количественного определения ДНК TREC и KREC во всех возрастных группах), «ИММУНО-БИТ» (для определения ДНК TREC и KREC у детей до 18 лет) и «ТК-SMA» с дополнительным каналом качественного выявления делеции SMN1 гена, ассоциированной со спинальной мышечной атрофией (применяется в рамках расширенного неонатального скрининга).

Материалом для исследования может служить цельная кровь и сухое пятно крови. Накопленные данные позволяют утверждать, что TREC и KREC могут быть новыми биомаркерами тяжести течения и исхода заболевания, а также мониторинга эффективности лечения таких патологических состояний, как COVID-19, туберкулез, злокачественные новообразования, аутоиммунные заболевания и др.

3.4. Определение спектра и концентраций цитокинов

Для характеристики клеточного звена иммунной системы является важным определение концентрации цитокинов. Их идентификация в ряде случаев позволит более точно установить диагноз и механизм иммунного нарушения. Большое значение имеет определение таких провоспалительных цитокинов, как TNF- α , IL-1 и IFN- γ , особенно в этиологии и патогенезе различных острых и хронических воспалительных процессов как инфекционной, так и аутоиммунной природы. Их повышенное образование и избыточное системное действие – главная причина септического шока. При сепсисе уровень TNF- α в крови может достигать 1 нг/мл. Этот цитокин, действуя на гипоталамус, вызывает разбалансировку анаболических и катаболических реакций обмена, его уровень повышен при нейрогенной анорексии, раневой, опухолевой и инфекционной кахексии, при сердечной недостаточности он способствует переброске белковых ресурсов из соматического отсека тела на нужды гипертрофирующегося миокарда («сердечная кахексия»). На пост-рецепторном уровне TNF α препятствует эффектам инсулина [11]. Накапливаются данные о роли провоспалительных цитокинов в этиологии и патогенезе неспецифического язвенного колита,

рассеянного склероза, ревматоидного артрита, инсулинозависимого диабета, аутоиммунного тиреоидита и др [76, 77]. Существенным является их определение у больных с соответствующим врожденным иммунодефицитом. И если раньше тесты на определение цитокинов были полезны только в научно-исследовательских целях, в настоящее время они становятся важными показателями для выявления течения заболевания и тактики лечения (особенно при применении методов цитокинотерапии).

Таким образом, лабораторное исследование состояния клеточного звена иммунной системы позволяет уточнить уровень нарушения иммунитета и в последующем проводить эффективную иммуноактивную терапию.

3.5. Оценка показателей гуморального иммунитета

Определение уровня иммуноглобулинов – это по-прежнему важный и надежный метод оценки гуморального иммунитета. Его можно считать главным методом диагностики всех форм иммунодефицитов, связанных с недостаточностью биосинтеза антител, т. е. с пластическим звеном метаболизма В-клеток.

Изменения концентрации иммуноглобулинов служат подтверждением наличия гуморально-ассоциированной иммунопатологии. Снижение их концентрации в сыворотке крови больных может свидетельствовать о различных формах патологии – от генетических дефектов синтеза иммуноглобулинов до транзиторных состояний, связанных с потерей организмом белка (гуморально-эффекторный иммунодефицит). Повышение их концентраций относительно нормативных значений может свидетельствовать о наличии аллергических, аутоиммунных процессов (антителозависимая цитотоксичность), оно характерно для инфекционных заболеваний на определенных этапах их развития (увеличение IgM в острый период заболевания и/или обострения хронической инфекции, а IgG – в стадии разрешения и/или формирования хронической инфекции). Кроме того, указанный метод является критерием эффективности проводимого лечения, в том числе заместительной терапии иммуноглобулинсодержащими препаратами.

Определение подклассов IgG представляет диагностическую ценность, так как при нормальном его общем уровне могут быть

дефициты по тем или иным подклассам иммуноглобулинов. У таких людей в ряде случаев наблюдаются иммунодефицитные состояния, проявляющиеся в повышенной частоте инфекционных болезней. Так, IgG2-субкласс иммуноглобулина G преимущественно содержит антитела против полисахаридов инкапсулированных бактерий (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*), поэтому дефицит, связанный с IgG2, а также с IgA, ведет к повышенной заболеваемости респираторными инфекциями. Нарушения в соотношении подклассов IgA и в соотношении их κ - и λ -цепей также могут быть причиной иммунодефицитных состояний [44].

Уровни сывороточных иммуноглобулинов, характерные для взрослых (IgM, IgG1, IgG3), достигают нормальных значений уже в раннем постнатальном периоде. Концентрации IgG2, IgG4, IgA не достигают «взрослой» нормы даже к периоду полового созревания. Распределение подклассов IgG в сыворотке крови взрослого человека следующее: IgG1 – 60-65 %, IgG2 – 20-25 %, IgG3 – 10-20 %, IgG4 – 10-20 %. Наиболее часто у больных имеются ассоциации дефицитов IgG2, IgG4, IgA и IgE. Определение уровня подклассов IgG существенно при повышенной чувствительности к бактериальным инфекциям. Дефициты установлены практически для всех иммуноглобулинов. Наиболее значим дефицит IgG2, который часто сочетается с полным отсутствием IgA. Поскольку существует системное мультиорганное воспалительно-фиброзирующее заболевание с гиперпродукцией иммуноглобулинов, в том числе аутоантител, принадлежащих к подклассу IgG4 (IgG4-ассоциированная иммунопатия), при которой в начальную фазу от половины до 70 % больных имеют избыток иммуноглобулинов этого подкласса в крови, следует иметь в виду возможность лабораторной диагностики этой формы патологии в латентной стадии, до выраженных проявлений органофиброза [81].

Важную информацию о состоянии гуморального иммунитета дает определение специфических антител к различным антигенам, так как степень защиты организма от данной конкретной инфекции зависит не от общего уровня иммуноглобулинов, а от количества специфических антител к ее возбудителю. То же относится и к специфическим антителам против конкретных аллергенов при аллергии и к конкретным аутоантителам-маркерам тех или иных аутоиммунных болезней.

В настоящее время существует большое количество тест-систем по распознаванию уровня антител к бактериальным, вирусным, грибковым инфекциям и инвазиям, аллергенам, равно как и для определения различных аутоантител.

Определение общего уровня IgE существенно для дифференциальной диагностики атопических заболеваний, наряду с IgG1. Высокий уровень IgE в пуповинной крови может быть полезен как индикатор высокого риска атопических заболеваний.

Аутоиммунный процесс может диагностироваться у больных при обнаружении в сыворотке крови тех или иных аутоантител [82, 83]. В противном случае аутоиммунный генез заболеваний может быть поставлен под сомнение, что окажет существенное влияние на ход дальнейших исследований и тактику лечения. Но следует помнить, что в низких титрах аутоантитела могут заурядно присутствовать у здоровых людей [84]. Более того, некоторые аутоиммунпатии (скажем, тиреозидит Хасимото), в основном имеют патогенез, связанный с Т-клеточными механизмами аутоагрессии, и ввиду этого их ход и тяжесть не коррелируют с уровнями аутоантител [85].

Тем не менее, обнаружение различных маркерных аутоантител – важный способ диагностики, особенно в ревматологии. Так, нахождение в сыворотке крови антител к нативной и денатурированной двуспиральной ДНК подтверждает диагноз системной красной волчанки и может проводиться методом ИФА на твердофазном носителе. ДНК как антиген сорбирована на пластике, с этим антигеном специфически взаимодействуют аутоантитела к ДНК, содержащиеся в исследуемой сыворотке. Выявление аутоантител к нативной и денатурированной ДНК имеет диагностическое значение при ряде системных заболеваний соединительной ткани, активных воспалительных процессах, хронических гепатитах, при инфекционном эндокардите и других заболеваниях, сопровождающихся аутоиммунными процессами. Наличие аутоантител к двуспиральной ДНК при различных заболеваниях наряду с клиническими проявлениями может служить доказательством аутоиммунного процесса. Большой прогресс в этой области связан с разработкой иммунофлуоресцентной детекции аутоантител к различным ядерным и рибосомальным антигенам на коммерчески доступных препаратах человеческих клеток HEp2 с помощью меченых флуоресцеином антител к человеческим иммуноглобулинам, так как при наличии аутоантител разной специфичности

сыворотка пациента дает разные паттерны свечения [84]. Наряду с оценкой экспертами этот метод допускает применение искусственного интеллекта, что ускоряет и объективизирует процесс.

Различные методы иммунодиагностики позволяют находить специфические аутоантитела к антигенам тканей сердца, легких, почек, печени, толстой и тонкой кишки, эндокринных желез, а также к неорганоспецифическим антигенам, таким как эластин и коллаген, белки хроматина, цитоскелета, митохондрий и пр. Поскольку описано более 90 аутоиммунных заболеваний всех органов и тканей, потребность в подобных средствах диагностики ширится. Ревматология из дисциплины, сосредоточенной на диагностике, лечении и профилактике ревматизма и «похожих на него заболеваний», какой она была в середине прошлого века, на наших глазах превращается в аутоиммунологию [86].

IV ЧАСТЬ

КОНТРОЛЬ ПОЛУЧЕННЫХ ЗНАНИЙ

4.1. Контрольные вопросы

1. Иммунопатология – это раздел иммунологии, который изучает:

- а) нарушения в работе иммунной системы, приводящие к заболеваниям;
- б) изменения, связанные с недостаточной или неправильной активностью иммунной системы;
- в) все перечисленное выше.**

2. Под иммунным комплексом понимают:

- а) соединение антигена с антителом, которое может активировать систему комплемента и вызывать воспаление;
- б) иммунные комплексы, которые могут откладываться в тканях, вызывая повреждение (например, при гломерулонефрите);
- в) иммунные комплексы, которые образуются и выводятся из организма;
- г) характеристики а) и б).**

3. Иммунодефицит:

- а) состояние, при котором иммунная система не функционирует должным образом;
- б) состояние, при котором организм более уязвим к инфекциям;
- в) оба утверждения верны.**

4. Аллергия:

- а) это состояние гиперчувствительности к антигенам (аллергенам), в основе которого лежит иммунологический механизм;
- б) термины «аллергия» и «сенсibilизация» равнозначны, тогда как «гиперчувствительность» – более широкое понятие, включающее «аллергическую» и «неаллергическую» гиперчувствительность;
- в) оба утверждения верны.**

5. Вещество, способное вызвать иммунный ответ, называют:

- а) **антиген;**
- б) аллерген;
- в) иммуноглобулин;
- г) все ответы возможны.

6. Аллерген – это антиген, способный вызвать состояние гиперчувствительности (сенсibilизации).

- а) **да;**
- б) нет;
- в) антиген, способный вызвать состояние иммунного ответа.

7. Белок, вырабатываемый В-лимфоцитами, который специфически связывается с антигеном и помогает нейтрализовать или уничтожить его:

- а) **антитела;**
- б) аллерген;
- в) цитокин;
- д) все ответы верны.

8) Аллергическая реакция немедленного типа опосредуется через антитела, которые вырабатываются:

- а) клетками иммунной системы в ответ на воздействие аллергена;
- б) проявляется в течение от нескольких минут до 6 часов после воздействия аллергена;
- в) проявляется через 12 часов от контакта с аллергеном;
- г) **ответы а) и б) верны.**

9) Адаптивный иммунитет – специфический ответ:

- а) который развивается медленнее;
- б) иммунитет, который развивается быстрее;
- в) **иммунитет, который развивается медленнее, но обладает памятью и обеспечивает долгосрочную защиту.**

4.2. Глоссарий основных иммунологических понятий и определений

АБЗИМЫ – антитела с ферментативными свойствами (гликозидаз, ДНКаз, протеаз и др.).

АДЪЮВАНТ (лат. *adjuvantis* – способствующий) – 1) вещество, повышающее иммуногенность антигена, применяется в экспериментальной иммунологии и при вакцинации; 2) вещество, усиливающее или пролонгирующее действие лекарственных средств. См. АСИА-синдром.

АКТИВНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ – индукция иммунного ответа путем введения антигена, например, вакцинация. См.: вакцина, вакцинация.

АЛЛЕРГЕН (аллергия + ...ген) – вещество антигенной природы, обладающее способностью сенсibilизировать организм (вызывать усиленный и плохо отрегулированный первичный иммунный ответ) и провоцировать аллергическую реакцию при взаимодействии с сенсibilизированным организмом (вторичный иммунный ответ и связанное с ним гиперергическое воспаление), например, пыльца растений, определенная пища, домашняя пыль, лекарство. Аллергогенность – не универсальное свойство антигена, она проявляется только в отношении более или менее широкого круга индивидов, что определено их генетической предрасположенностью.

АЛЬТЕРАЦИЯ (лат. *alteratio* – изменение) – изменение функции и строения клеток, тканей и органов под влиянием повреждающих факторов (механических, температурных, химических, электрических и т. д.); в патологии – собирательный термин для обозначения различных видов и стадий некробиоза клеток при их повреждении, компонент воспаления. Первичная альтерция служит результатом действия агента, вызвавшего воспаление, вторичная – результатом самоповреждения ткани под действием медиаторов воспаления и клеток-участниц воспаления.

АНАФИЛАКСИЯ (АТОПИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ) (ана... + anaphylaxis – беззащитность; а... + греч. topos – место. Термин предложен первооткрывателем явления уменьшения устойчивости собак к яду актиний при его повторном введении, франц. патофизиологом Ch.R. Richet, 1850-1935, как антоним ранее известной «профилактики», то есть увеличения устойчивости к яду при адаптации к его малым дозам) – комплементнезависимая разновидность аллергических реакций немедленного типа, опосредованная гомоцитотропными реактивными антителами – иммуноглобулинами (у человека – классов Е и G4, у грызунов – Е и G1), почти исключительно – против чужеродных Т-зависимых поливалентных аллергенов; характеризуется развитием острого экссудативного гиперергического воспаления; вызывается высвобождением провоспалительных аутокоидов и ферментов (гистамин, брадикинин, серотонин, эйкозаноиды, химаза, триптаза, фактор активации тромбоцитов и др.) из тучных клеток, базофилов и позже – эозинофилов; индуцируется взаимодействием аллергена с фиксированными на этих клетках иммуноглобулинами; ключевое звено патогенеза многих атопических болезней (ряд форм бронхиальной астмы, дерматита, отека Квинке, стоматита, аллергии на укусы насекомых, лекарства и др.); см. также анафилактический шок.

АНТИГЕН (анти... + ...ген) – природный или синтетический биополимер (напр., белок, нуклеиновая кислота, гликолипид, их комплексы и др.), имеющий достаточную молекулярную массу и пространственную сложность, чтобы вызывать специфический иммунный ответ, т. е. взаимодействовать с клонально специфическими рецепторами Т- и В-лимфоцитов; см. также антитела, антиген-антитело реакция.

АНТИГЕН-АНТИТЕЛО РЕАКЦИЯ (антиген; антитело) – специфическое связывание антигена с соответствующим антителом, приводящее к образованию иммунного комплекса; обусловлена комплементарностью взаимодействующих структур и осуществляется под действием гидрофобных, водородных, электростатических связей и сил Ван-дер-Ваальса (антиген при этом соединяется т. н. антигенной детерминантой, а антитело – активным центром); основные формы проявления – агглютинация, преципитация, нейтрализация токсинов, специфическая опсонизация и иммобилизация бактерий,

цитолитические реакции с участием комплемента или К-клеток, цитостимулирующие и цитоблокирующие реакции с антирецепторными антителами; лежит в основе гуморального иммунитета; с этой реакции начинается обезвреживание токсинов, устранение болезнетворных микроорганизмов и собственных клеток с измененной поверхностной мембраной; опосредует основные проявления ряда аутоиммунных и аллергических заболеваний, служит основой диагностики при определении антигенов или антител.

АНТИГЕННАЯ ДЕТЕРМИНАНТА (ЭПИТОП) (антиген; лат. determinare – определять; эпи... + греч. topos – место) – часть молекулы антигена (6-8 аминокислот), которая непосредственно связывается с активным центром антитела:

– **СЕКВЕНЦИАЛЬНАЯ** обусловлена первичной структурой белка, сохраняется при обработке поглощенного антигена в антиген-презентирующей клетке, распознается Т-хелперами в контексте белков ГКГС II класса;

– **КОНФОРМАЦИОННАЯ** обусловлена третичной структурой белка, не сохраняется при обработке поглощенного антигена в антиген-презентирующей клетке, распознается антителами и В-лимфоцитами.

АНТИГЕНПРЕДСТАВЛЯЮЩИЕ КЛЕТКИ (А-КЛЕТКИ) (антиген + лат. praesentatio – представление) – гетерогенная популяция клеток: мононуклеарные фагоциты и другие подвижные и оседлые клетки разного происхождения (микроглиальные, клетки Лангерганса, дендритные клетки и В-клетки лимфоидных органов, звездчатые клетки тимуса и пр.), способные конституционально экспрессировать белки HLA II класса, поглощать антиген, обрабатывать и представлять (презентировать) его в иммуностимулирующей форме в контексте белков HLA на своей поверхности Т-лимфоцитам для распознавания; локализованы преимущественно в коже, лимфатических узлах, селезенке, слизистых оболочках, неинкапсулированных скоплениях лимфоидной ткани и в тимусе, способны к адресной миграции. См. также Лангерганса клетки, дендритные клетки.

АНТИНУКЛЕАРНЫЕ (АНТИЯДЕРНЫЕ) ФАКТОРЫ – семейство аутоантител, связывающихся с антигенами хроматина (нуклеиновыми

кислотами, ассоциированными с ними белками; кардиолипином, ядерной мембраной), выявляются более чем у 90 % больных с диффузными иммунопатологическими заболеваниями соединительной ткани (системная красная волчанка, ревматоидный артрит, склеродермия, дерматомиозит и др.); тест на наличие тех или иных маркерных антиядерных аутоантител лежит в основе диагностики этих аутоиммунных заболеваний (например, при системной красной волчанке – на аутоантитела к двуспиральной ДНК и кардиолипину, при ревматоидном артрите – к нативному гистоновому комплексу, при склеродермии – к ДНК-топоизомеразе I и белкам центромеры хромосом); могут образовываться из-за аутоиммунизации материалом апоптотических телец при гибели клеток, образуются по идиотип-антиидиотипическому механизму, как аутоантиидиотипы против антител к антигенам вирусов, обеспечивающим их проникновение в ядра. Способны проникать в ядра живых клеток-мишеней. Оказывают в эксперименте *in vivo* действие на внутриядерные процессы, в низких титрах некоторые антиядерные факторы обнаруживаются у здоровых индивидов, согласно теории иммунного клиренса, служат для устранения остатков погибших клеток, согласно теории иммунологической регуляции клеточных функций, могут быть регуляторами экспрессии генов или нарушать эту экспрессию.

АНТИТЕЛА (ИММУНОГЛОБУЛИНЫ) (анти...; иммунитет + глобулярный; ре... [2] + лат. ago – действовать) – рецепторные белки, образующиеся в В-лимфоцитах и секретируемые плазматическими клетками теплокровных животных в ответ на антигены или гаптены; комплементарно связывают свои мишени и опосредуют реакции антиген-антитело, включая гиперчувствительность немедленного типа, запуская антителозависимые эффекторные механизмы; известно 5 классов иммуноглобулинов (A, D, G, E, M), отличающихся по свойствам и биологической роли; при электрофорезе иммуноглобулины мигрируют в основном в составе гамма- и бета-глобулинов сыворотки крови; см. также аутоантитела:

– **МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ** (моно... + клон) – антитела, синтезируемые одним клоном антителообразующих клеток, т. е. клеток генетически идентичных, происходящих из одного и того же В-лимфоцита; служат важным экспериментальным и диагностическим инструментом в медицине, используются в иммунотерапии.

АПОПТОЗ (греч. apoptōsis – отпадение) – генетически запрограммированная гибель клетки путем деградации ее компонентов (включая конденсацию хроматина и фрагментацию ДНК); посредством апоптоза внутренние или внешние факторы, активируя генетическую программу, приводят к гибели клетки и ее эффективному удалению из ткани без выраженного образования медиаторов воспаления; обнаружен у многоклеточных организмов – животных, растений и грибов; наблюдается при морфогенезе органов, удалении аутореактивных клонов иммунокомпетентных клеток, регуляции численности пролиферирующих клеточных популяций, повреждении генома клетки и др.

АСИА-СИНДРОМ – аутоиммунно-аутовоспалительный синдром, индуцированный адьювантами, состояние перенапряжения иммунной системы, предрасполагающее к появлению иммунопатологических поражений различных органов и тканей, спровоцированных действием адьювантов, входящих в состав различных бытовых и профессиональных химикатов, а также вакцин. Адьювантоподобным действием обладают компоненты некоторых микробов и вирусов.

АУТОАЛЛЕРГИЯ (авто... + аллергия) – состояние патологического усиления и разрегуляции физиологического аутоиммунитета при измененной реактивности организма, основным выражением которого является повышенная чувствительность к каким-либо неизменным компонентам собственных тканей. См. также аутоантигены, аутоиммунные болезни.

АУТАКОИДЫ (АУТОКОИДЫ) (авто... + ...оид) – сигнальные молекулы биологически активных веществ беспроводникового паракринного, юкстакринного или аутокринного действия, осуществляющие в норме и при патологии регуляцию процессов более или менее локально, в месте их синтеза или выделения, напр., при иммунном ответе, воспалении; образуются многими клетками, а не в специфических эндокриноцитах или нейроцитах; в отличие от них нейротрансмиттеры действуют проводниковым путем и лишь в синапсе, а гормоны – дистантно, к аутакоидам относятся эйкозаноиды, биогенные амины вне синапсов, эндотелины, кинины, хемокины, многие цитокины и др.

АУТОАНТИГЕНЫ (авто... + антигены) – собственные интактные антигены, по отношению к которым в норме формируется относительная ауто толерантность, но при определенных обстоятельствах на них может развиваться физиологический аутоиммунный или патологический аутоаллергический ответ.

АУТОАНТИТЕЛА (авто... + антитела) – иммуноглобулины, обладающие способностью вступать в иммунные реакции с интактными антигенами собственного организма.

АУТОИММУНИТЕТ (авто... + иммунитет) – функция иммунной системы, связанная с распознаванием аутоантигенов и иммунным ответом на них; играет важную роль в физиологической саморегуляции иммунной системы, имеет значение для интеграции функций и синхронизации морфогенетических процессов в организме, при разрегулировании и усилении обуславливает патогенез аутоиммунных болезней. См. также аутоаллергия, аутоиммунные болезни.

АУТОИММУННЫЕ БОЛЕЗНИ (авто... + иммунитет) – различные по механизмам возникновения заболевания, обусловленные выработкой антител к образующимся в собственном организме антигенам и направленные против собственных тканей и органов, что приводит к их повреждению, например, аутоиммунная гемолитическая анемия, диффузный токсический зоб, системная красная волчанка, генерализованная миастения и др. См. также аутоиммунитет.

АУТОКРИННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ (авто... + ...крино) – тип регуляции, при котором клетка-продуцент регуляторных веществ имеет рецепторы к этим же веществам, т. е. клетка-продуцент биорегулятора сама служит его мишенью, например, эндотелины, вырабатываемые клетками эндотелия и воздействующие на эти же эндотелиальные клетки, Т-лимфоциты, секретирующие интерлейкины, имеющие мишенями разные клетки, в том числе и сами Т-лимфоциты.

АУТОТОЛЕРАНТНОСТЬ (авто... + толерантность) – комплекс механизмов, сдерживающих интенсивность и строго ограничивающих репертуар физиологического аутоиммунитета; основывается на негативной селекции аутореактивных клонов В- и Т-лимфоцитов

в процессе их созревания, апоптозе аутореактивных клеток при контакте с аутоантигенами, отсутствии молекул HLA II класса на соматических клетках, за исключением антиген-презентирующих, индукции анергии (отсутствие иммунной реакции) аутореактивных клонов иммунокомпетентных клеток вследствие краткости существования иммуносинапса без сопутствующего воспаления и ослабленной ко-стимуляции, продуцирования супрессивных цитокинов, активности Т-регуляторов, функциях тормозных рецепторов Т-лимфоцитов и их лигандов; нарушение одного или нескольких из этих механизмов может привести к развитию аутоаллергии.

БАЗОФИЛЫ (базофилия) – клетки, в цитоплазме которых находятся окрашивающиеся основными красителями структуры: 1) один из видов гранулоцитов, в гранулах содержат гистамин, серотонин, лейкотриены, простагландины и другие медиаторы аллергии и воспаления; вместе с тучными клетками отвечают за аллергические реакции, с другими гранулоцитами участвуют в воспалительной реакции; 2) один из трех типов клеток передней доли гипофиза; вырабатывают адренокортикотропный гормон.

БЛАСТЫ (БЛАСТНЫЕ КЛЕТКИ) (бласт...) – недифференцированные, наиболее «молодые» элементы крови; составляют около 1 % всех нормально развивающихся клеток костного мозга; по морфологическим, цитохимическим и иммунофенотипическим признакам могут быть отнесены к гранулоцитарному, лимфоидному или эритроидному ряду; от других клеток крови и костного мозга бластные клетки отличаются строением ядра (структура ядра напоминает тонкое кружево), а также наличием крупных ядрышек (2-5 на одну клетку); увеличение числа бластов в костном мозге и появление их в периферической крови свидетельствует о напряженном гемопоэзе, а иногда – о патологических процессах.

ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ – эпидемическое контагиозное ретровирусное заболевание, характеризующееся глубокой иммунодепрессией, связанной с оппортунистическими полиинфекциями, развитием неоплазм, аутоиммунных поражений и частым вовлечением ЦНС, которое в развернутой далеко зашедшей стадии манифестирует как приобретенного иммунодефицита синдром (СПИД). Проявления

связаны с гибелью CD4+ лимфоцитов и персистенцией возбудителя в антиген-представляющих клетках, включая клетки макрофагальной линии.

ВТОРИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ – дефекты иммунной системы, возникающие в результате поражения того или иного ее компонента и иммунодепрессии из-за заболеваний, в т. ч. инфекционных, старения, плохого питания, или как побочный эффект иммуносупрессивной терапии, облучения, химиотерапии и т. д.

ВТОРИЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ – усиленный иммунный ответ на специфический антиген со стороны организма, уже с ним встречавшегося, который в результате первичного иммунного ответа (сенсibilизации) приобрел не только лимфоциты памяти и определенные титры антител, но и развил ряд идиотип-антиидиотипических взаимодействий; в зависимости от действия регуляторных механизмов может развиваться в виде классического (штатного) ответа с минимумом внешних проявлений и высоким саногенным потенциалом, а также в виде гиперчувствительности (при выраженных внешних проявлениях и патогенном потенциале) или в виде толерантности.

ГИПОПЛАЗИЯ (гипо... + ...плазия) – общее название аномалий развития, заключающихся в недоразвитии органа, части тела или целого организма; проявляется дефицитом массы или уменьшением размеров.

ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ (АЛЛЕРГИЯ) – типовой иммунопатологический процесс, развивающийся в сенсibilизированном к данному антигену организме, при контакте с этим антигеном (аллергеном); чаще всего выражается в гиперергическом воспалении.

ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА (ГЗТ) – иммунопатологические реакции, развивающиеся без участия циркулирующих антител, исключительно через действие специфических клонов лимфоидных клеточных эффекторов.

ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА (ГНТ) – иммунопатологические реакции, для осуществления которых

необходимы циркулирующие иммуноглобулины, играющие в них ключевую роль.

ГИСТОСОВМЕСТИМОСТЬ (ТКАНЕВАЯ СОВМЕСТИМОСТЬ) – состояние, при котором клетки или органы особи (донора) приживаются и функционируют во внутренней среде другой особи (реципиента); определяется генетически обусловленным сходством антигенного состава клеток донора и реципиента; благодаря генетической идентичности полностью совместимы ткани однояйцевых близнецов и однополых особей, принадлежащих к одной и той же инбредной линии животных, наблюдается также у химер, возникших в эмбриональном или раннем постнатальном периоде либо после радиационного или медикаментозного подавления иммунитета, в результате формирования специфической иммунологической толерантности к чужеродным антигенам тканевой совместимости; за исключением этих редких состояний, в природе наблюдается универсальная несовместимость тканей, которая отражает полиморфизм по кодоминантным генам гистосовместимости в свободно скрещивающихся популяциях; эти гены кодируют структуру некоторых мембранных гликопротеидов (антигенов гистосовместимости), расположенных на поверхности всех ядродержащих клеток. Для клеток, не экспрессирующих антигенов главного комплекса гистосовместимости, при тканевой совместимости важную роль играют другие антигены: так, для эритроцитов – полисахаридные агглютиногены системы АВ0, резус-фактор и др. См. также антиген HLA, главный комплекс гистосовместимости, группы крови.

ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ (англ. MHC – Major Histocompatibility Complex, русск. ГКГС) – группа генов и кодируемых ими антигенов клеточной поверхности, которые играют важнейшую роль в презентации и распознавании антигенов, определении силы и репертуара иммунных ответов индивида на те или иные антигены, в развитии иммунного ответа; включает несколько классов генов: I (кодируют трансплантационные антигены, экспрессированы во всех ядерных клетках, вовлечены в презентацию эндоцеллюлярных антигенов и регуляцию гиперчувствительности замедленного типа, распознаются CD8-положительными лимфоцитами), II (кодируют белки, экспрессированные на поверхности

профессиональных антиген-представляющих клеток, В-лимфоцитов и активированных Т-клеток, вовлечены в презентацию экзоцеллюлярных антигенов и регуляцию гиперчувствительности немедленного типа, распознаются CD4-положительными лимфоцитами) и III (негомологичны первым двум классам, кодируют ряд эффекторных белков иммунной системы, в том числе комплемента); у человека главный комплекс гистосовместимости обозначается как HLA (см. антиген HLA), у мыши – H2. См. также антиген, лимфоциты.

ГКГС-антигены I класса – белки, закодированные в трех тесно сцепленных локусах: HLA-A, HLA-B, HLA-C, а также в неклассических локусах E, F и G. Они принимают участие в распознавании антигенов, возникающих внутри антиген-представляющих клеток или эндоцеллюлярных антигенов. В норме присутствуют на всех ядерных клетках, отсутствуют на эритроцитах, трофобласте, слабо выражены на нейронах и распознаются CD8-положительными цитотоксическими лимфоцитами.

ГКГС-антигены II класса – белки, закодированные в регионе, известном как HLA-D. В норме присутствуют на плазматической мембране профессиональных антиген-представляющих клеток, В-клеток и активированных Т-клеток. Аберрантная экспрессия на других клетках происходит при иммуностимуляции и нарушениях регуляции иммунного ответа и способствует аутоиммунным заболеваниям. Обязательные участники распознавания антигенов, попавших в антиген-представляющую клетку извне (экзоцеллюлярных). Распознаются CD4+ лимфоцитами.

ГКГС-антигены III класса – традиционное обозначение для нескольких гуморальных эффекторных белков иммунной системы (в том числе некоторых факторов комплемента), закодированных в 6-й хромосоме между генами ГКГС I и II, белкам которых они негомологичны.

ГЛОБУЛИНЫ (глобулярный) – глобулярные белки, растворимые в разбавленных растворах нейтральных солей, кислот, оснований и выпадающие в осадок при 50-процентном насыщении растворов сульфатом аммония; как правило, слабо растворимые

в воде; входят в состав растительных и животных тканей; определяют иммунные свойства (антитела, комплемент), свертываемость крови (протромбин, фибриноген и др.), участвуют в транспорте железа (трансферрин, гаптоглобин), меди (церулоплазмин), в регуляции гемопоэза (эритропоэтины), в преиммунном ответе (ответе острой фазы) – см. положительные глобулины острой фазы, отрицательные глобулины острой фазы и др.

ГОМЕОСТАЗ (ГОМЕОСТАЗИС) (гомео... + греч. stasis – стояние, неподвижность) в физиологии – относительное динамическое постоянство внутренней среды (крови, лимфы, тканевой жидкости) и устойчивость основных физиологических функций (кровообращения, дыхания, терморегуляции, обмена веществ и т. д.) организма; у животных достигается на основе реактивности системой физиологических регуляторных механизмов (нервных, эндокринных, аутоагонных, иммунологических), управляющих экспрессией генов; у растений основное значение для поддержания гомеостаза на клеточном уровне имеют плазмалемма и тонопласт, на тканевом уровне – плазмодесмы; понятие «гомеостаз» также широко используется в экологии при характеристике состояния экосистем и их устойчивости, благодаря гомеостазу поддерживается постоянство видового состава и численности особей в биоценозах.

ГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ (гуморальный) – регуляция и координация проявлений жизнедеятельности организма, осуществляемая беспроводниковым путем, биорегуляторами (например, гормонами, аутоагондами, субстратами, антителами, ионами), растворенными в жидких средах организма (кровь, лимфа, цереброспинальный ликвор, тканевая жидкость). См. также нейрогуморальная регуляция.

ГУМОРАЛЬНЫЙ (лат. humor – жидкость) – связанный с жидкостями животного организма – кровью, лимфой, тканевой жидкостью.

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ – условное историческое наименование антитело-опосредованных реакций гиперчувствительности немедленного типа. По современным представлениям,

гуморальные факторы (например, цитокины) участвуют во всех иммунных реакциях.

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ (дендрит) – гетерогенная популяция антигенпрезентирующих клеток; имеют многочисленные разветвленные отростки; основная функция – презентация антигенов Т-лимфоцитам – представляют на своей поверхности антигены вместе с главным комплексом гистосовместимости (МНС I и МНС II); также выполняют иммунорегуляторные функции – контроль за дифференцировкой Т-лимфоцитов, регуляция активации и супрессии иммунного ответа; способны захватывать из окружающей среды различные антигены при помощи фагоцитоза, пиноцитоза и рецептор-опосредованного эндоцитоза; располагаются в основном в тканях, соприкасающихся с внешней средой, например, в толще эпителиального слоя слизистой оболочки кишечника, в подслизистой респираторного, желудочно-кишечного и урогенитального трактов.

ИДИОТИПЫ (идио... + греч. typos – отпечаток) – 1) набор антигенных детерминант (идиотопов) переменного домена антител, образуемых одним клоном В-лимфоцитов, а также молекулы рецептора Т-лимфоцитов; см. также антиидиотипы; 2) совокупность наследственных факторов особи и ее специфическая структура.

ИММУНИЗАЦИЯ (иммунитет) – создание искусственного иммунитета, достигаемого введением в организм убитых или ослабленных возбудителей какой-либо болезни, кровяной сыворотки вакцинированных животных.

ИММУНИТЕТ (лат. immunitas – освобождение, избавление от чего-либо) – врожденное или приобретенное состояние невосприимчивости организма к различным инфекционным агентам (вирусам, бактериям, грибкам, простейшим, гельминтам и др.) и продуктам их жизнедеятельности, а также к веществам растительного и животного происхождения (например, ядам), обладающим чужеродными антигенными свойствами; появление и накопление в организме клеток, отличающихся антигенной специфичностью (например, опухолевых клеток) также вызывает иммунную реакцию; механизмы иммунитета служат составной частью общей

системы поддержания гомеостаза организма; иммунная система участвует в регуляции функциональной, пролиферативной и репаративной активности клеток разных органов и систем организма; обеспечивается многочисленными клеточными и гуморальными факторами и обуславливает постоянство и целостность внутренней среды организма в течение всего периода жизни:

– **АДОПТИВНЫЙ** (приобретенный) (лат. adoptivus – усыновленный; привитой) – иммунитет, развивающийся в результате предварительного контакта с антигеном вследствие перенесенной инфекции (активный адоптивный иммунитет) или искусственной иммунизации (пассивный); антитело-опосредованный обеспечивается передачей антител, которые вырабатываются В-лимфоцитами, клеточный обеспечивается передачей Т-лимфоцитов; см. также адоптивный перенос;

– **ВРОЖДЕННЫЙ** (естественный, палеоиммунитет) – иммунитет, присущий тому или иному виду организмов и передающийся по наследству так же, как ряд других генетических признаков; существуют клеточные (тканевые макрофаги, нейтрофилы, естественные киллерные клетки) и гуморальные (дефензины, кателицидины и др.) факторы врожденного иммунитета;

– **ГУМОРАЛЬНЫЙ** (лат. humor – жидкость) – синтез антител потомками В-лимфоцитов, плазматическими клетками иммунной системы и распространение их по жидким средам организма в ответ на появление в организме чужеродных антигенов; направлен на экзоцеллюлярные антигены, представленные в контексте белков главного комплекса гистосовместимости II класса, в первоначальном распознавании антигена рецепторами принимают участие антигенпрезентирующие клетки, участие вновь образуемых антител в гуморальном иммунитете проявляется в различных формах: нейтрализация антигенов, опсонизация антигенов и активация системы комплемента, антитело-зависимая клеточная цитотоксичность, рецептор-опосредованное регуляторное действие антител;

– **ИСКУССТВЕННЫЙ**: а) пассивный: иммунитет, который возникает при введении в организм сыворотки, содержащей антитела, выработанные другим человеком или животным в результате активной иммунизации; наблюдается также у новорожденных (передается внутриутробно, через плаценту, либо с материнским молоком, в

котором присутствуют антитела матери); б) активный: иммунитет, возникающий в организме после введения вакцины, антигена;

– **КЛЕТОЧНЫЙ** – иммунный ответ организма на появление антигенов, обеспечиваемый антиген-специфическими клонами Т-лимфоцитов, требует участия цитотоксических CD8+Т-лимфоцитов и CD4+Т-хелперов; направлен на эндоцеллюлярные антигены, представленные в контексте белков главного комплекса гистосовместимости I класса, в первоначальном распознавании антигена рецепторами принимают участие антигенпрезентирующие клетки; активность Т-клеток может быть направлена против зараженной вирусом или иным внутриклеточным паразитом клетки организма; Т-клетки принимают также активное участие в процессе отторжения чужеродной ткани; противоопухолевом иммунитете, гиперчувствительности замедленного типа, гранулематозном продуктивном воспалении, механизмы элиминации клеток-мишеней цитотоксическими Т-клетками разнообразны (перфориновый лизис, синтез и экспрессия белков Fas-лигандов, обеспечивающих активацию апоптоза клеток-мишеней и др.); Т-хелперы участвуют в регуляции и формировании как клеточного, так и гуморального иммунного ответа.

ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ – комплексы антител, связанных с антигенами; могут содержать иммуноглобулины различных классов (G, M, A, иногда E), компоненты комплемента, образуются при каждой встрече антител с антигеном и обычно эффективно поглощаются и разрушаются мононуклеарными фагоцитами (клиренс иммунных комплексов), но при дефиците опсонизирующих факторов комплемента и дефектах рецепторов, обеспечивающих этот процесс, сохраняются в течение длительного времени и откладываются на внутренней стенке сосудов (при циркулирующем антигене) или в зоне эквивалентности в тканях (при внесосудистом расположении антигена), в различных тканях и органах, вызывая острое воспаление, в том числе микрососудов и мезангия, с повышением сосудистой проницаемости, выходом жидкой части плазмы в ткани, фибринообразованием, тромбообразованием и кровоизлияниями; реакции, развивающиеся в таких случаях и опосредуемые комплементом и эффекторными клетками, называются реакциями гиперчувствительности III типа, или иммунокомплексными реакциями.

ИММУНОГИСТОХИМИЯ – метод микроскопической морфологической диагностики, в основе которого лежит определение и оценка результатов реакции антиген-антитело в срезах биопсированной ткани; в качестве антигена выступают компоненты клеточных структур или межклеточного вещества ткани, антитела обычно получают из сыворотки крови животных, иммунизированных интересующим антигеном.

ИММУНОДЕПРЕССАНТЫ (ИММУНОДЕПРЕССОРЫ, ИММУНОСУПРЕССОРЫ, ИММУНОСУПРЕССАНТЫ) (иммунитет + лат. depressio – понижение; лат. suppressio – подавление) – вещества, понижающие иммунитет организма; искусственные применяются при аутоиммунных заболеваниях и для преодоления тканевой несовместимости при трансплантациях, естественные вырабатываются самим организмом для предотвращения или ослабления нежелательной иммунной реакции, например, при имплантации эмбриона в стенку матки.

ИММУНОДЕФИЦИТ (иммунитет + лат. deficit – недостает) – приобретенное или генетически обусловленное отсутствие одного или более компонентов иммунной системы, нарушение баланса между ними или утрата их эффективности.

ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫЕ КЛЕТКИ (ИММУНОЦИТЫ) (иммунитет + лат. competentia – принадлежность по праву; цито...) – клетки, входящие в состав иммунной системы организма и способные участвовать в формировании иммунного ответа (взаимодействовать с антигенами); главными клетками, осуществляющими иммунологический контроль и иммунологическую защиту в организме, являются Т-лимфоциты, В-лимфоциты, плазмоциты и макрофаги.

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ – способность иммунной системы организма после первого взаимодействия с антигеном изменять численное соотношение клонов лимфоцитов и/или титры антител и за счет этого специфически с измененной силой отвечать на его повторное введение; при ответе на разные антигены различна: может быть краткосрочной (дни, недели), долговременной (месяцы, годы) и пожизненной; основные носители – долгоживущие Т- и В-лимфоциты, которые образуются при первичном иммунном ответе

и продолжают циркулировать с кровью и лимфой в качестве специфических предшественников антиген-реактивных лимфоцитов, при вторичном ответе эти клетки размножаются, обеспечивая быстрое увеличение клона антителообразующих или антиген-реактивных лимфоцитов данной специфичности; наличие иммунологической памяти отличает иммунные взаимодействия от неиммунных;

– негативная (лат. *negativus* – отрицательный) – естественная и приобретенная иммунологическая толерантность, проявляющаяся ослабленным ответом или его полным отсутствием как на первое, так и на повторное введение антигена; нарушение негативной иммунологической памяти к собственным антигенам организма является одним из патогенетических механизмов некоторых аутоиммунных заболеваний;

– позитивная (лат. *positivus* – положительный) – ускоренный и усиленный специфический ответ на повторное введение антигена; в клеточном иммунитете проявляется ускоренным отторжением вторичного трансплантата и более интенсивной воспалительно-некротической реакцией на повторное внутрикожное введение антигена; позитивная иммунологическая память к антигенным компонентам окружающей среды лежит в основе аллергических заболеваний, а к резус-антигену – в основе гемолитической болезни новорожденных.

ИММУНОМОДУЛЯЦИЯ (иммунитет + лат. *modulatio* – соразмерность) – направленное изменение иммунитета с помощью иммуностимуляторов или иммунодепрессоров.

ИММУНОПАТОЛОГИЯ (иммунитет + пато... + ...логия) – раздел прикладной иммунологии, перекрывающийся с патофизиологией и патоморфологией врожденных или приобретенных болезней, обусловленных нарушениями в системе клеточного или гуморального иммунитета, а также неадекватной реакцией иммунной системы на различные антигены. Ср.: аллергия. Также: в обиходном разговорном языке медиков – собирательное название таких заболеваний (жаргонизм).

ИММУНОЦИТОХИМИЯ (иммунитет + цито... + ср.-лат. [*al*] *chimia* – [ал]химия) – метод, основанный на использовании меченых антител для локализации компонентов (антигенов) ткани *in situ*.

ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ (иммунитет + флуоресценция) – техника выявления антигенов с помощью антител, меченных флуорохромами; образующийся комплекс антиген-антитело внутри тканей определяется с помощью люминесцентной микроскопии.

ИММУННЫЕ СЫВОРОТКИ (иммунитет) – сыворотки крови животных или человека, содержащие антитела: а) диагностические содержат антитела против одного (моновалентные, моноспецифические) или нескольких (поливалентные, полиспецифические) антигенов; получают путем иммунизации животных известными полноценными антигенами; применяют для идентификации возбудителей, как тест-сыворотки в серологических реакциях, для установления групп крови и т. д.; б) лечебно-профилактические содержат антитела против бактерий, вирусов, экзотоксинов, ядов змей, пауков и др.; готовят из крови гипериммунизированных животных, здоровых людей, в прошлом перенесших инфекционное заболевание, или специально иммунизированных людей-доноров; используют для лечения и предупреждения инфекционных заболеваний или токсикозов (при дифтерии, столбняке, ботулизме, анаэробной газовой инфекции, оспе, краснухе, гриппе, бешенстве, укусе змей, ядовитых пауков и др.). Ср. вакцина.

КВИНКЕ ОТЕК (по имени немецкого врача Н. J. Quincke, 1842-1922) – ангионевротический отек; заболевание, обычно являющееся формой аллергии (редко имеет наследственный характер), проявляется внезапным отеком кожи, подкожной клетчатки, слизистых оболочек ротовой полости, глотки, гортани, желудочно-кишечного тракта; отек верхних дыхательных путей вызывает опасное нарушение дыхания.

КЛЕТОЧНАЯ ЛИНИЯ – культивируемые *in vitro* путем пассирования (пересевов) генотипически однородные клетки, полученные или от многоклеточно организма, или из первичной культуры путем отбора и клонирования клеток, имеющих определенные свойства или маркеры, которые должны сохраняться в течение последующего культивирования.

КЛЕТОЧНАЯ ПОПУЛЯЦИЯ – группа клеток, объединенных каким-либо общим признаком; содержание термина зависит от выбранного критерия, поэтому под клеточной популяцией можно понимать как группу узкоспециализированных клеток одного типа ткани (например, популяция эритроцитов), так и группу способных к дифференцировке и размножению клеток (например, популяция стволовых клеток).

КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ МОЛЕКУЛЫ – белки, участвующие в адгезии клетка-клетка; могут объединять клетки в эпителиальные слои и конденсировать мезенхимные клетки; подразделяются на кальцийзависимые кадгеринины (чьи адгезионные свойства зависят от ионов кальция), иммуноглобулиновое сверхсемейство (чьи домены, связывающие клетки, сходны с доменами антител) и сахаридопосредованные (способные узнавать углеводные остатки на соседних клетках). Ср. адгезионные молекулы субстрата.

КЛОН (греч. klōn – отпрыск, ветвь) – 1) в цитологии: популяция организмов или клеток, генетически идентичных одному родоначальному организму или клетке, которая образуется либо в результате бесполого размножения (например, штамм микроорганизмов, полученный из одной изолированной клетки высевом на питательную среду, потомство одного растения, размноженного отводками, черенками, совокупность клеток, возникшая в культуре путем митотического деления), либо с помощью пересадки ядер соматических клеток животных в оплодотворенное яйцо с удаленным пронуклеусом; 2) в генной инженерии: множественные копии идентичных нуклеотидных последовательностей ДНК, полученные с помощью методов генной инженерии; 3) в химии: совокупность однородных органических молекул.

КОМПЛЕМЕНТ, СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА (комплементарность) (устар. – алексин [греч. alexō – защищаю]) – в иммунологии: фактор естественного иммунитета; термолабильная медиаторная система плазмы крови, ответственная за литическую активность антисывороток по отношению к клеткам-мишеням, включает, по меньшей мере 13 белковых факторов и 7 ингибиторов. Эти биорегуляторы обычно циркулируют в неактивной форме. Они способны

самособираться в ответ на некоторые иммунологические (IgG, IgM, IgA, иммунные комплексы) и неиммунологические (бактериальные липополисахариды, некоторые вирусы, С-реактивный белок, плазмин, инулин, полианионные молекулы) сигналы, действуя при этом как сериновые протеазы и/или взаимно комплементарные рецепторы. Результатом их ограниченного протеолиза и самосборки служит направляемый антителами цитолиз и запуск воспаления; отдельные фрагменты комплемента служат опсонинами, анафилоксинами, участвуют в изоиммунном переключении и пр.; с его действием связаны устойчивость организма к болезнетворным микроорганизмам, некоторые аутоиммунные процессы и др.

ЛИМФОПЕНИЯ (лимфа + ...пения) – относительное или абсолютное снижение количества лимфоцитов в периферической крови; может наблюдаться при стрессе, при выраженном гранулоцитозе, при различных заболеваниях.

ЛЕЙКОПЕНИЯ (лейко... + греч. penia – бедность) – уменьшение числа лейкоцитов в периферической крови; ср. лейкоцитоз; – со сдвигом влево – лейкопения, сочетающаяся с наличием незрелых и юных форм лейкоцитов (преимущественно гранулоцитарного ряда), представляющая «сдвиг влево» в формуле крови.

ЛИГАНД (лат. ligo – связываю) – молекула, специфически взаимодействующая с участком определенной структуры другой молекулы; термин используется чаще всего применительно к соединению, специфическим образом взаимодействующему с активным сайтом рецептора; в химических комплексных соединениях молекулы или ионы, непосредственно связанные с центральным атомом.

МИКРОФАГИ – полиморфонуклеарные фагоциты, главным образом, нейтрофилы; фактически к этой группе принадлежат и другие гранулоциты и кровяные пластинки, способные к фрустрированному фагоцитозу.

МИМИКРИЯ (англ. mimicry – подражательность) – в биологии подражательное сходство по внешним признакам или поведению нехищного, неядовитого или съедобного животного с другим,

более сильным, защищенным или несъедобным (миметизм, псевдосематическая окраска [греч. *mimetes* – подражатель; псевдо... + греч. *sēma*, род. падеж *sēmatos* – знак, сигнал]), а также с предметами окружающей среды и растениями (мимезия); у растений мимикрия служит для привлечения полезных животных (например, при отсутствии нектара может возникать сходство с растениями-медоносами) или отпугивания вредных;

– АНТИГЕННАЯ – наличие схожих эпитопов между чужеродными (например, микробными) антигенами и аутоантигенами организма, один из механизмов, с помощью которого микроорганизмы могут провоцировать аутоиммунные реакции у хозяина, в основном касается секвенциальных антигенных детерминант белков, но описана и перекрестная реактивность по конформационным и по небелковым антигенам;

– ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ – воспроизведение связывающих, а иногда и функциональных возможностей антигена антиидиотипическими антителами.

МАРКЕР (франц. *marquer* – отмечать) – 1) свойство или фактор, по которому клетка или молекула могут быть распознаны или идентифицированы среди прочих; 2) аллель или признак, наследование которых прослеживается в потомстве.

МИЕЛОПЕРОКСИДАЗА – общее название ферментов, относящихся к пероксидазам и содержащихся в клетках крови миелоидного ряда.

МИЕЛОПОЭЗ (миело... + ...поэз) – образование в костном мозге всех форменных элементов крови, кроме лимфоцитов; происходит в миелоидной ткани, расположенной в эпифизах трубчатых и полостях многих губчатых костей; см. кроветворение.

МИЕЛОЦИТЫ (миело... + ...цито) – одна из форм клеток миелоидной ткани красного костного мозга позвоночных, образуется из стволовых кроветворных клеток, проходя стадии миелобласта и промиелоцита; из миелоцитов развиваются все формы гранулоцитов.

НЕКРОБИОЗ (греч. *nekros* – мертвый + ...биоз) – глубокая, частично необратимая стадия повреждения клетки, предшествующая ее нефизиологической гибели, процесс умирания клеток; иногда при устранении причины, вызвавшей некробиоз, возможно возвращение клетки или ткани к исходному состоянию (в отличие от некроза); наиболее характерные признаки нарушения вязкости цитоплазмы, иное отношение клеток к прижизненному окрашиванию (по сравнению с нормальными клетками), дезорганизация ферментативных систем клетки, приводящая к ее аутолизу; в зависимости от причины выделяют гипоксический и свободно-радикальный типы некробиоза, глубокие стадии которых сходны. См. также некроз.

НК-КЛЕТКИ (НК-КЛЕТКИ, НАТУРАЛЬНЫЕ КИЛЛЕРЫ, ЕСТЕСТВЕННЫЕ КИЛЛЕРЫ) – клетки с морфологией больших гранулярных лимфоцитов, не экспрессирующие ни поверхностных Ig, ни Т-клеточных антигенных рецепторов и, таким образом, не содержащие CD3 маркеров. НК-клетки не относятся ни к В-, ни к Т-лимфоцитам. Их главный маркер – Fc-рецептор для IgG (CD16). НК-клетки способны распознавать и убивать клетки, зараженные вирусом, опухолевые клетки, а также другие патологические клетки без участия ГКГС-зависимой презентации антигенов, либо сканируя клетки на плотность ГКГС-белков своими KIR-рецепторами. Все НК-клетки являются по функции К-клетками, то есть способны к антителозависимой клеточной цитотоксичности.

ОТТОРЖЕНИЕ ТРАНСПЛАНТАТА – форма иммунного ответа на пересадку чужеродной ткани, проявляющаяся вследствие несовпадения антигенов главного комплекса гистосовместимости трансплантата и организма-реципиента; приводит к омертвлению и отторжению пересаженных тканей или органов. См. также трансплантационный иммунитет.

ПАССИВНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ – обеспечение временной иммунной защиты посредством введения извне готовых эффекторов иммунитета против определенного антигена(ов).

ПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ (ПЛАЗМОЦИТЫ, КЛЕТКИ УННЫ, КЛЕТКИ МАРШАЛКО) (плазма + цито...; P.G. Unna (1850-1929) –

немецкий дерматолог, T. von Marschalko (1862-1915) – венгерский дерматовенеролог) – свободные клетки соединительной, в т. ч. кроветворной, ткани, обеспечивающие гуморальный иммунитет в организме позвоночных (выработку циркулирующих в крови антител); происходят из стволовых кроветворных клеток костного мозга, относятся к линии В-лимфоцитов; у птиц В-лимфоциты образуются в фабрициевой сумке, у млекопитающих – в костном мозге; при попадании в организм антигена В-клетки превращаются сначала в плазмобласты, которые в результате ряда последовательных делений дают колонию зрелых плазмочитов (крупные клетки с эксцентрично расположенным ядром и развитой гранулярной эндоплазматической сетью); это функционально активные короткоживущие производные В-лимфоцитов, лишённые, в отличие от В-лимфоцитов, поверхностных иммуноглобулиновых рецепторов, но несущие поверхностный РС-1-маркер, строго специфичны по отношению к определенным антигенам – каждая клетка синтезирует антитела только одной специфичности, хотя может изотипически переключать их классы.

ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ – традиционное обозначение основы для усиленного вторичного иммунного ответа на специфический антиген. Субстратом иммунологической памяти являются не только Т- и В-лимфоциты памяти и антитела, появившиеся в результате первичного иммунного ответа, но и вся система идиотип-антиидиотипических взаимодействий, которая, раз возникнув в ходе этого первичного ответа на антиген, продолжает функционировать, воспроизводя эффекторы иммунного ответа и антиидиотипический образ самого антигена, который не дает иммунному ответу сойти на нет.

ПЕРВИЧНЫЙ ОТВЕТ – в иммунологии: иммунологическая перестройка организма, возникающая в ответ на антиген, с которым ранее данный индивидуум не встречался; характеризуется продукцией ограниченного количества антител, относящихся преимущественно к иммуноглобулинам М.

ПРОТЕАСОМА (ПРОТЕОСОМА) (англ. protease – протеиназа + сома...) – белковый комплекс, осуществляющий разрушение белков

в конце их жизненного цикла; у эукариот содержится в ядре и цитоплазме, встречается также у архей и некоторых бактерий; обеспечивает убиквитинзависимую деградацию белков цитоплазмы и нуклеоплазмы, например, в протеасомах разрушаются метаболические ферменты (короткоживущие из-за регуляторной функции), реплицирующие ДНК белки (которые нужны только на период S-фазы клеточного цикла), гемоглобин, структурные белки и др. В антигенпредставляющих клетках иммунопротеасома участвует в процессе и презентации белковых эндоцеллюлярных антигенов.

РЕАКТИВНОСТЬ (ре... [2] + лат. actio – действие) – способность живой системы отвечать (реагировать) на внешнее воздействие. В общей нозологии – совокупность имеющихся в распоряжении организма генетически и эпигенетически (в том числе иммунологически) детерминированных программ реагирования и наследственно обусловленная тенденция к выбору определенных программ из этой «библиотеки».

РЕАКЦИЯ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» (РТПХ) – агрессия против тканей хозяина со стороны иммунологически активного трансплантата, содержащего Т-клетки и не отторгаемого в силу иммунодефицита у хозяина, либо в силу антигенной близости к хозяину (например, при пересадке костного мозга); по механизмам к РТПХ близки некоторые формы иммунологического конфликта матери и плода (например, при позднем гестозе, нефропатии беременных).

РЕТИКУЛОЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ (МАКРОФАГИЧЕСКАЯ) СИСТЕМА (ретикулум + эндотелий; макрофаги) – совокупность клеток мезенхимного происхождения у позвоночных, объединяемых на основе способности к фагоцитозу (клетки ретикулярной ткани, прерывистого эндотелия синусоидов кроветворных органов, печени, коры надпочечников и др., а также все виды макрофагов, происходящих из стволовой кроветворной клетки в систему мононуклеарных фагоцитов); выполняет защитную функцию, играет существенную роль во врожденном иммунитете.

ТРОМБОПЕНИЯ (ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ) (тромб + греч. penia – бедность) – уменьшение числа тромбоцитов или кровяных

пластинок в периферической крови при их ускоренной гибели и/или недостаточном образовании, нередко вызвана аутоиммунным поражением тромбоцитов и/или мегакариоцитов.

Т-КИЛЛЕРЫ (Т-ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ) – традиционное обозначение для цитотоксичной CD8+-субпопуляции Т-лимфоцитов, способных распознавать антигены, ассоциированные с ГКГС класса I на поверхности любых клеток, и уничтожать такие клетки посредством перфоринового лизиса и других механизмов, без их поглощения.

Т-ЛИМФОЦИТЫ – лимфоидные клетки, экспрессирующие TcR-гены (CD3-позитивны). В отличие от В-лимфоцитов, Т-клетки не могут связываться с антигенами в нативном состоянии, требуя предварительного процессинга антигенов, ассоциации с ГКГС-белками и презентации антиген-презентирующими или (для эндоцеллюлярных антигенов) любыми ядродержащими клетками.

ТОЛЕРАНТНОСТЬ (лат. *tolerantia* – терпение) – в иммунологии: отсутствие или ослабление иммунологического ответа на данный антиген (толероген) при сохранении иммунореактивности организма ко всем прочим антигенам.

ТРАНСПЛАНТАТ (трансплантация) – орган или участок живой ткани, пересаживаемый путем трансплантации от донора к реципиенту.

ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ (МАСТОЦИТЫ, ЛАБРОЦИТЫ – устар.) (греч. *mastos* – грудь + цито...; греч. *labros* – огромный) – разновидность иммунных клеток рыхлой соединительной ткани позвоночных животных, аналоги базофилов крови; образуются в костном мозге; в цитоплазме имеются гранулы, содержащие гепарин, гистамин, серотонин, химазу, триптазу и другие физиологически активные вещества, что свидетельствует об участии этих клеток в процессах анафилактики, воспаления, свертывания крови, аллергических реакций и др. См. также химаза, триптаза.

Т-ХЕЛПЕРЫ – CD4+ Т-лимфоциты, регулирующие иммунный ответ, влияя на рост и функции лимфоцитов, костномозговых и, возможно, других соматических клеток посредством продукции цитокинов. Эти CD4+ Т-клетки связываются своими антиген-специфическими рецепторами (TcR) с олигопептидами, ассоциированными с ГКГС-II на поверхности АПК, активируются, секретируют IL-2 и другие лимфокины, а также рецепторы для IL-2. Основные типы Т-хелперов (Th1, Th2, Th17) соответствуют основным разновидностям иммунного ответа.

ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ОРГАНЫ ИММУНОГЕНЕЗА – те, в которых незрелые лимфоциты развиваются и подвергаются первичной клональной селекции (у человека – костный мозг, тимус).

ЦИТОКИНЫ (cito... + кин...) – обширная (более 260) и разнообразная группа небольших по размерам медиаторов белковой природы («сигналов связи»), вырабатываемых многими клетками (иммунокомпетентными, эпителиальными, макрофагами и др.) в ответ на повреждение тканей или внедрение в организм патогенов, а также в ходе физиологических межклеточных взаимодействий; обладают эндокринным, паракринным, юстакринным и аутокринным действием; служат межклеточными медиаторами при иммунном ответе, участвуют в регуляции защитных процессов (ответ острой фазы, воспаление, тромбоз, лихорадка и др.); к цитокинам относят, например, фактор некроза опухоли, интерфероны, интерлейкины, факторы роста и др. См. также хемокины.

ЦИТОЛИЗИНЫ (ЦИТОТОКСИНЫ) (цитоллиз) – 1) в широком смысле: токсины, большинство из которых действуют как гидролитические ферменты, разрушая клеточные мембраны и вызывая лизис различных клеток, например, некоторые токсины змеиных ядов, α-токсины *Clostridium perfringens* и *Staphylococcus aureus*; 2) в узком смысле: антитела, вызывающие разрушение различных клеток организма (эритроцитов – гемолизины, лейкоцитов – лейколизины и т. д.) и бактерий (бактериолизины); действие цитолизин проявляется в присутствии комплемента либо через антителозависимую клеточную цитотоксичность К-клеток и связано

с частичным разрушением клеточной мембраны и выходом содержимого клетки наружу.

ЦИТОПЕНИЯ (цито... + ...пения) – уменьшение по сравнению с нормой содержания определенных типов клеток в единице объема крови, например, лимфопения.

ШОК (франц. choc – удар, потрясение) – типовой патологический процесс, синдром, представляющий экстремальное состояние организма, угрожающее жизни, в основе которого лежит острая недостаточность кровообращения, сопровождаемая его централизацией (в отличие от коллапса) и гипоксической полиорганной недостаточностью от нарушения перфузии почек, печени, кишечника, легких и др., сопровождается избыточным системным действием медиаторов воспаления, диссеминированным внутрисосудистым свертыванием – тромбообразованием, нарушениями реологических свойств крови, бывает в ответ на тяжелые сочетанные травмы, массивный гемолиз, ожоги, системную анафилаксию, сепсис, нарушение венозного возврата в правое сердце, острую сердечную недостаточность и мн. др. причины. Ср. Коллапс.

ЭКЗОЦЕЛЛЮЛЯРНЫЕ АНТИГЕНЫ – чужеродные или собственные экзогенные либо эндогенные антигены, которые захватываются антиген-представляющими клетками извне, путем эндоцитоза процессируются с участием лизосом, а представляются в комплексе с белками главного комплекса гистосовместимости II класса, запуская, таким образом, преимущественно (но не исключительно) реакции гиперчувствительности немедленного типа.

ЭКЗОЦИТОЗ (экзо... + цито... + ...оз) – выведение веществ из клетки путем их включения в ограниченный мембраной пузырек и транспортировки его к поверхности клетки, где мембрана пузырька сливается с клеточной мембраной, а содержимое пузырька выходит наружу; в том числе в патофизиологии: выделение бактерицидных и цитотоксических агентов, а также иных медиаторов воспаления из фагоцита во время фагоцитоза.

ЭНДОЦЕЛЛЮЛЯРНЫЕ АНТИГЕНЫ – такие чужеродные или собственные экзогенные либо эндогенные антигены, которые возникают (или персистируют) в антиген-представляющих клетках, процессируются с участием иммунопротеасом и пластинчатого комплекса, а представляются в комплексе с белками главного комплекса гистосовместимости I класса, запуская, таким образом, преимущественно (но не исключительно) реакции гиперчувствительности замедленного типа.

ЭОЗИНОПЕНИЯ (эозин + ...пения) – уменьшение числа эозинофилов в единице объема крови; наблюдается при стрессе, на фоне терапии глюкокортикоидами и др.

ЭПИТОП (или иммунодоминантная область) – минимальная структурная единица антигена, распознаваемая антителами и антигенными рецепторами лимфоцитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисов А.Г. Клиническая характеристика нарушения функции иммунной системы // Медицинская иммунология. – 2013. – Т. 15, № 1. – С. 45-50.
2. Борисов А.Г., Савченко А.А., Кудрявцев И.В. Особенности иммунного реагирования при вирусных инфекциях// Инфекция и иммунитет. –2015. – Т. 5, № 2. – С. 148-156.
3. Борисов А.Г., Савченко А.А., Смирнова С.В. К вопросу о классификации нарушений функционального состояния иммунной системы // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – Т. 23, № 3 (выпуск 1). – С. 13-18.
4. Козлов В.А., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Козлов И.Г., Кудлай Д.А., Продеус А.П., Борисов А.Г. Клиническая иммунология. – Красноярск: Поликор, 2020. – 345 с.
5. Козлов В.А., Тихонова Е.П., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Андропова Н.В., Анисимова Е.Н., Головкин А.С., Демина Д.В., Здзитовецкий Д.Э., Калинина Ю.С., Каспаров Э.В., Козлов И.Г., Корсунский И.А., Кудлай Д.А., Кузьмина Т.Ю., Миноранская Н.С., Продеус А.П., Старикова Э.П., Черданцев Д.В., Чесноков А.Б., Шестерня П.А., Борисов А.Г. Клиническая иммунология. Практическое пособие для инфекционистов. – Красноярск: Поликор, 2021. – 560 с.
6. Pizano J.M., Williamson C.B., Dolan K.E., Gossard C.M., Burns C.M., Gasta M.G., Finley H.J., Parker E.C., Lipski E.A. Probiotics and Disease: A Comprehensive Summary-Part 7, Immune Disorders. Integr Med (Encinitas). 2017 Oct;16(5):46-57. PMID: 30936805; PMCID: PMC6438099.
7. Чурилов Л.П., Васильев А.Г. Патофизиология иммунной системы. – СПб.: Фолиант, 2014. – 664 с.
8. Marshall J.S., Warrington R., Watson W., Kim H.L. An introduction to immunology and immunopathology. Allergy Asthma Clin Immunol 14 (Suppl 2), 49 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13223-018-0278-1>.
9. Борисов А.Г., Савченко А.А., Черданцев Д.В., Здзитовецкий Д.Э., Первова О.В., Кудрявцев И.В., Беленюк В.Д., Шапкина В.А. Типы иммунного реагирования при распространенном гнойном перитоните // Хирургия им. Н.И. Пирогова. – 2016. – № 9. – С. 28-34.
10. Lauten T.H., Natour T., Case A.J. Innate and adaptive immune system consequences of post-traumatic stress disorder. Auton Neurosci. 2024;103159.doi: 10.1016/j.autneu.2024.103159. Epub 2024 Feb 23. PMID: 38428324.
11. Чурилов Л.П. Общая патофизиология с основами иммунопатологии. Изд-е 5-е. – СПб: Медиздат-СПб, 2020. – 656 с.
12. Каспаров Э.В., Савченко А.А., Кудлай Д.А., Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Тихонова Е.П., Борисов А.Г. Клиническая иммунология. Реабилитация иммунной системы. – Красноярск: Версо, 2022. – 194 с.
13. Тихонова Е.П., Савченко А.А., Елистратова Т.А., Каспаров Э.В., Кудлай Д.А., Кузьмина Т.Ю., Каспарова И.Э., Кудрявцев И.В., Калинина Ю.С., Борисов А.Г. Иммунореабилитация больных, перенесших COVID-19. – Красноярск: АС-КИТ, 2023. – 112 с.
14. Reddy H., Javvaji C.K., Malali S., Kumar S., Acharya S., Toshniwal S. Navigating the Cytokine Storm: A Comprehensive Review of Chemokines and Cytokines in Sepsis. Cureus. 2024;16(2):e54275. doi: 10.7759/cureus.54275. PMID: 38496165; PMCID: PMC10944554.
15. Li T., Wang D., Wei H., Xu X. Cytokine storm and translating IL-6 biology into effective treatments for COVID-19. Front Med. 2023 Dec;17(6):1080-1095. doi: 10.1007/s11684-023-1044-4. Epub 2023 Dec 29. PMID: 38157195.
16. Ryabkova V. A., Churilov L.P., Shoenfeld Y. Influenza infection, SARS, MERS and COVID-19: Cytokine storm – The common denominator and the lessons to be learned. Clinical Immunology. – 2021. – Vol. 223. – P. 108652. – DOI 10.1016/j.clim.2020.108652.
17. Балахонов А.В., Чурилов Л.П. Язык биологии – одна из основ междисциплинарного естественнонаучного знания и образования. Биосфера. – 2016. – Т. 8, № 2. – С. 235-242. – EDN WKNRJD.
18. Hunter J.A. A treatise on the blood, inflammation, and gunshot wounds. London: Nicol Publ., 1794.
19. Строев Ю.И., Каминова О.М., Сердюк И.Ю., Ница Н.А., Чесноков О.Д., Чурилов Л.П. Иммуноэндокринные взаимодействия при острых и хронических заболеваниях как проявление типового конфликта системной и местной регуляции // Таврич. мед.-биол. вестник, 2012; 15:230–232. – EDN TEGGMH.
20. Hawker F. Endocrine changes in the critically ill. Br J Hosp Med. 1988; 39(4):278-80, 282-4, 286 passim.
21. Лабори А. Регуляция обменных процессов. – М.: Медицина, 1970. – 384 с.
22. Churilov L.P., Utekhin V.I. The metabolic logistics of stress, diabetes mellitus and works by Bernardo Alberto Houssay. Pediatrician (St Petersburg), 2015; 6:104–111. doi.org/10.17816/PED63104-111.

23. Чурилов Л.П. О системном подходе в общей патологии: необходимость и принципы патоинформатики // Вестн С.-Петерб. ун-та. – Сер. 11. Медицина. 2009; 3: 5–23. – EDN GOGMIX.

24. Cerra F.B. Hypermetabolism, organ failure, and metabolic support. *Surgery* 1987; 101:1–14.

25. Laurent P.E. Induction et régulation de la réaction inflammatoire systémique. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1988; 46(5):329-35.

26. Bone R.C. Toward an epidemiology and natural history of SIRS (systemic inflammatory response syndrome). *JAMA* 1992; 268:3452–5. doi.org/10.1001/jama.1992.03490240060037.

27. Bone R.C., Balk R.A., Cerra F.B., Dellinger R.P., Fein A.M., Knaus W.A. et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101:1644–55. doi.org/10.1378/chest.101.6.1644.

28. Kaplan M.A., Lebretti A. The role of C-reactive protein in allergic inflammation; relationship between the acute phase response and the antibody titer. *J Allergy*. 1956; 27(5):450-60. doi: 10.1016/0021-8707(56)90105-8.

29. Hietbrink F., Koenderman L., Rijkers G., Leenen L. Trauma: the role of the innate immune system. *World J Emerg Surg* 2006;1:15. doi.org/10.1186/1749-7922-1-15.

30. Moore F.A., Sauaia A., Moore E.E., Haenel J.B., Burch J.M., Lezotte D.C. Postinjury multiple organ failure: a bimodal phenomenon. *J Trauma* 1996; 40:501–10; discussion 510-512. doi.org/10.1097/00005373-199604000-00001.

31. Гуманенко Е.К., Хромов А.А., Чурилов Л.П., Рудь А.А., Супрун А.Ю. Шок, системный воспалительный ответ, полиорганная дисфункция и сепсис – основные звенья патогенеза травматической болезни при политравме // Нестираемые скрижали: сепсис et cetera. Сборник материалов конференции Ассоциации общих хирургов, приуроченной к юбилею кафедры общей хирургии ЯГМУ. – Ярославль, 2020. – С. 74-78.

32. Cedzyński M., Świerzko A.S. Collectins and ficolins in neonatal health and disease. *Front Immunol*. 2023; 14:1328658. doi: 10.3389/fimmu.2023.1328658.

33. Zur Stadt U., Beutel K., Kolberg S., Schneppenheim R., Kabisch

H., Janka G., Hennies H.C. Mutation spectrum in children with primary hemophagocytic lymphohistiocytosis: molecular and functional analyses of PRF1, UNC13D, STX11, and RAB27A. *Hum Mutat*. 2006; 27(1):62-8. doi: 10.1002/humu.20274.

34. Chousterman B.G., Swirski F.K., Weber G.F. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Semin Immunopathol* 2017; 39:517–28. doi.org/10.1007/s00281-017-0639-8.

35. Tisoncik J.R., Korth M.J., Simmons C.P., Farrar J., Martin T.R., Katze M.G. Into the eye of the cytokine storm. *Microbiol Mol Biol Rev* MMBR 2012;76:16–32. https://doi.org/10.1128/MMBR.05015-11.

36. Rosário C., Zandman-Goddard G., Meyron-Holtz E.G., D’Cruz D.P., Shoenfeld Y. The hyperferritinemic syndrome: macrophage activation syndrome, Still’s disease, septic shock and catastrophic antiphospholipid syndrome. *BMC Med* 2013; 11:185. https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-185.

37. Cauwels A., Rogge E., Vandendriessche B., Shiva S., Brouckaert P. Extracellular ATP drives systemic inflammation, tissue damage and mortality. *Cell Death Dis* 2014; 5:e1102. https://doi.org/10.1038/cddis.2014.70.

38. Кубышкин А.В., Фомочкина И.И. Патогенетическая взаимосвязь синдрома системной воспалительной реакции и шока // Вестн. С.-Петербургск. ун-та. Серия 11. – Медицина. 2011;3:69-75.

39. Teijaro J.R. Cytokine storms in infectious diseases. *Semin Immunopathol* 2017; 39:501–3. https://doi.org/10.1007/s00281-017-0640-2.

40. Santacroce L., Topi S., Charitos I.A., Lovero R., Luperto P., Palmirotta R., Jirillo E. Current Views about the Inflammatory Damage Triggered by Bacterial Superantigens and Experimental Attempts to Neutralize Superantigen-Mediated Toxic Effects with Natural and Biological Products. *Pathophysiology*. 2024; 31(1):18-31. doi: 10.3390/pathophysiology31010002.

41. McGonagle D., Ramanan A.V., Bridgewood C. Immune cartography of macrophage activation syndrome in the COVID-19 era. *Nat Rev Rheumatol* 2021;17:145–57. https://doi.org/10.1038/s41584-020-00571-1.

42. Carter S.J., Tattersall R.S., Ramanan A.V. Macrophage activation syndrome in adults: recent advances in pathophysiology, diagnosis

and treatment. *Rheumatol Oxf Engl* 2019; 58:5–17. doi.org/10.1093/rheumatology/key006.

43. Чурилов Л.П., Рыбакина Е.Г., Строев Ю.И., Сесь Т.П., Калашникова А.В., Муджигова-Каминова О.М., Чесноков О.Д. Нарушение баланса местных и системных регуляторных влияний при острой и хронической патологии // Бюлетень VIII читань ім. В.В. Підвисоцького, 28–29 травня 2009 року. – Одеса: Изд-во ОДМУ, 2009. – С. 91-94.

44. Abbas A., Lichtman A.H., Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 10th Edition. Elsevier: Philadelphia a.e., 2022.

45. Roitt I., Brostoff J., Male D. Hypersensitivity Type IV. In: L. Cook, Ed., *Immunology*, 4th Edition, Mosby: Barcelona, 1998: 255-276.

46. Савченко А.А., Кудлай Д.А., Кудрявцев И.В., Каспаров Э.В., Головкин А.С., Продеус А.П., Борисов А.Г. Технологии диагностики и коррекции иммунометаболических нарушений. Клиническая иммунология для практических врачей. – Красноярск: АС-КИТ, 2023. – 454 с.

47. Han Y., Jia Q., Jahani P.S., Hurrell B.P., Pan C., Huang P., Gukasyan J., Woodward N.C., Eskin E., Gilliland F.D., Akbari O., Hartiala J.A., Allayee H. Genome-wide analysis highlights contribution of immune system pathways to the genetic architecture of asthma. *Nat Commun*. 2020 Apr 15;11(1):1776. doi: 10.1038/s41467-020-15649-3. PMID: 32296059; PMCID: PMC7160128.

48. Coombs R.R.A., Gell P.G.H. Classification of allergic reactions responsible for drug hypersensitivity reactions. In: Coombs R.R.A. and Gell P.G.H., Eds., *Clinical Aspects of Immunology*, Davis Publ.: Philadelphia, 1968: 575- 596.

49. Jutel M., Agache I., Zemelka-Wiacek M., Akdis M., Chivato T., Del Giacco S., Gajdanowicz P., Gracia I.E., Klimek L., Lauerma A., Ollert M., O'Mahony L., Schwarze J., Shamji M.H., Skypala I., Palomares O., Pfaar O., Torres M.J., Bernstein J.A., Cruz A.A., Durham S.R., Galli S.J., Gómez R.M., Guttman-Yassky E., Haahtela T., Holgate S.T., Izuhara K., Kabashima K., Larenas-Linnemann D.E., von Mutius E., Nadeau K.C., Pawankar R., Platts-Mills T.A.E., Sicherer S.H., Park H.S., Vieths S., Wong G., Zhang L., Bilò M.B., Akdis C.A. Nomenclature of allergic diseases and hypersensitivity reactions: Adapted to modern needs: An EAACI position paper. *Allergy*. 2023; 78(11):2851-2874. doi: 10.1111/all.15889. Epub 2023 Oct 10. Erratum in: *Allergy*. 2024 Jan;79(1):269-273. doi: 10.1111/all.15983.

50. Ebo D.G., Beyens M., Heremans K., van der Poorten M.M., Van

Gasse A.L., Mertens C., Houdt M.V., Sabato V., Elst J. Recent Knowledge and Insights on the Mechanisms of Immediate Hypersensitivity and Anaphylaxis: IgE/FcεRI- and Non-IgE/FcεRI-Dependent Anaphylaxis. *Curr Pharm Des*. 2023;29(3):178-184. doi: 10.2174/1381612829666221025091827. PMID: 36284380.

51. Doña I., Torres M.J., Celik G., Phillips E., Tanno L.K., Castells M. Changing patterns in the epidemiology of drug allergy. *Allergy*. 2024 Mar; 79(3):613-628. doi: 10.1111/all.15970. Epub 2023 Dec 12. PMID: 38084822.

52. Kumar P., Rajasekaran K., Palmer J.M., Thakar M.S, Malarkannan S. IL-22: An Evolutionary Missing-Link Authenticating the Role of the Immune System in Tissue Regeneration. *J Cancer*. 2013; 4(1):57-65. doi: 10.7150/jca.5048.

53. Cardoneanu A., Rezus I.I., Burlui A.M., Richter P., Bratoiu I., Mihai I.R., Macovei L.A., Rezus E. Autoimmunity and Autoinflammation: Relapsing Polychondritis and VEXAS Syndrome Challenge. *Int J Mol Sci*. 2024 Feb 13;25(4):2261. doi: 10.3390/ijms25042261. PMID: 38396936; PMCID: PMC10889424.

54. Malkova A., Zinchenko Y., Starshinova A., Kudlay D., Kudryavtsev I., Glushkova A., Yablonskiy P. and Shoenfeld Y. Sarcoidosis: Progression to the chronic stage and pathogenic based treatment (narrative review). *Front. Med*. 2022; 9:963435. doi: 10.3389/fmed.2022.963435

55. Zaichik A.Sh., Churilov L.P., Utekhin V.J. Autoimmune regulation of genetically determined cell functions in health and disease. *Pathophysiology*. 2008; 15(3):191-207. doi: 10.1016/j.pathophys.2008.07.002.

56. Rojas M., Restrepo-Jiménez P., Monsalve D. M., Pacheco Y., Acosta-Ampudia Y., Ramírez-Santana C. ... & Anaya J. M. Molecular mimicry and autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*, 2018; 95, 100-123.

57. Sunderkötter C., Golle L., Pillebout E., Michl C. Pathophysiology and clinical manifestations of immune complex vasculitides. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Mar 3;10:1103065. doi: 10.3389/fmed.2023.1103065. PMID: 36936215; PMCID: PMC10020193.

58. Чурилов Л. П., Федоткина Т.В., Шенфельд И. Аутоиммунное и инфекционное воспаление как звено атерогенеза в эксперименте и клинике // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2022. – Т. 17, № 2. – С. 720-735. – EDN YHQAAM.

59. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Механизмы развития болезней и синдромов. Изд. 2-е, доп. и перер. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2005. – 508 с.

60. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. – Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018. – 720 с.

61. Савченко А.А., Борисов А.Г., Черданцев Д.В., Первова О.В., Кудрявцев И.В., Беленюк В.Д. Особенности фенотипа Т-лимфоцитов в динамике послеоперационного периода у больных перитонитом в зависимости от исхода заболевания // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9, № 1. – С. 115-127.

62. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Волков А.Е., Савченко А.А., Серебрякова М.К., Полевщиков А.В. Анализ уровня экспрессии CD56 и CD57 цитотоксическими Т-лимфоцитами различного уровня дифференцировки // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2015. – № 2. – С. 30-35.

63. Eggenhuizen P.J., Ooi J.D. The Influence of Cross-Reactive T Cells in COVID-19. *Biomedicines*. 2024 Mar 2;12(3):564. doi: 10.3390/biomedicines12030564. PMID: 38540178; PMCID: PMC10967880.

64. Jiang H., Jiang J. Balancing act: the complex role of NK cells in immune regulation. *Front Immunol*. 2023;14:1275028. doi: 10.3389/fimmu.2023.1275028. PMID: 38022497; PMCID: PMC10652757.

65. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Васильева Е.В., Кробинец И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К., Тотолян А.А. Фенотипическая характеристика цитотоксических Т-лимфоцитов: регуляторные и эффекторные молекулы // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 20, № 2. – С. 227-240.

66. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Кробинец И.И., Рак А.Я., Савченко А.А., Серебрякова М.К. Особенности экспрессии поверхностных рецепторов семейства KLR цитотоксическими Т-клетками различного уровня дифференцировки // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т. 10 (19), № 3. – С. 297-302.

67. Thome S., Begandt D., Pick R., Salvermoser M., Walzog B. Intracellular $\beta 2$ integrin (CD11/CD18) interacting partners in neutrophil trafficking. *Eur J Clin Invest*. 2018;48 Suppl 2:e12966. doi: 10.1111/eci.12966. Epub 2018 Jun 29. PMID: 29896791.

68. Gonzalez J.C., Chakraborty S., Thulin N.K., Wang T.T. Heterogeneity in IgG-CD16 signaling in infectious disease outcomes.

Immunol Rev. 2022 Aug; 309(1):64-74. doi: 10.1111/imr.13109. Epub 2022 Jul 3. PMID: 35781671; PMCID: PMC9539944.

69. Engeroff P., Vogel M. The role of CD23 in the regulation of allergic responses. *Allergy*. 2021 Jul;76(7):1981-1989. doi: 10.1111/all.14724. Epub 2021 Jan 16. PMID: 33378583; PMCID: PMC8359454.

70. Peng Y., Tao Y., Zhang Y., Wang J., Yang J., Wang Y. CD25: A potential tumor therapeutic target. *Int J Cancer*. 2023;152(7):1290-1303. doi: 10.1002/ijc.34281. Epub 2022 Oct 1. PMID: 36082452.

71. Burke K.P., Chaudhri A., Freeman G.J., Sharpe A.H. The B7:CD28 family and friends: Unraveling coinhibitory interactions. *Immunity*. 2024 Feb 13;57(2):223-244. doi: 10.1016/j.immuni.2024.01.013. PMID: 38354702; PMCID: PMC10889489.

72. Bisht K., Fukao T., Chiron M., Richardson P., Atanackovic D., Chini E., Chng W.J., Van De Velde H., Malavasi F. Immunomodulatory properties of CD38 antibodies and their effect on anticancer efficacy in multiple myeloma. *Cancer Med*. 2023 Oct;12(20):20332-20352. doi: 10.1002/cam4.6619. Epub 2023 Oct 15. PMID: 37840445; PMCID: PMC10652336.

73. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Кробинец И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К. Определение основных субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов методом многоцветной проточной цитометрии // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17, № 6. – С. 525-538.

74. Patnaik R., Azim A., Agarwal V. Neutrophil CD64 a Diagnostic and Prognostic Marker of Sepsis in Adult Critically Ill Patients: A Brief Review. *Indian J Crit Care Med*. 2020 Dec;24(12):1242-1250. doi: 10.5005/jp-journals-10071-23558. PMID: 33446980; PMCID: PMC7775945.

75. Joshi I., Carney W.P., Rock E.P. Utility of monocyte HLA-DR and rationale for therapeutic GM-CSF in sepsis immunoparalysis. *Front Immunol*. 2023 Feb 7;14:1130214. doi: 10.3389/fimmu.2023.1130214. PMID: 36825018; PMCID: PMC9942705.

76. Aravindhan V., Yuvaraj S. Immune-endocrine network in diabetes-tuberculosis nexus: does latent tuberculosis infection confer protection against meta-inflammation and insulin resistance? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024 Jan 24;15:1303338. doi: 10.3389/fendo.2024.1303338. PMID: 38327565; PMCID: PMC10848915.

77. Lee Y.E., Lee S.H., Kim W.U. Cytokines, Vascular Endothelial Growth Factors, and PlGF in Autoimmunity: Insights From Rheumatoid Arthritis to Multiple Sclerosis. *Immune Netw*. 2024; 24(1):e10. doi: 10.4110/in.2024.24.e10. PMID: 38455464; PMCID: PMC10917575.

78. Khadzhieva M.B., Kalinina E.V., Larin S.S., Sviridova D.A., Gracheva A.S., Chursinova J.V., Stepanov V.A., Redkin I.V., Avdeikina L.S., Rummyantsev A.G., Kuzovlev A.N., Salnikova L.E. TREC/KREC Levels in Young COVID-19 Patients. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Aug 16;11(8):1486. doi: 10.3390/diagnostics11081486. PMID: 34441420; PMCID: PMC8392044.

79. Korsunskiy I., Blyuss O., Gordukova M., Davydova N., Zaikin A., Zinovieva N., Zimin S., Molchanov R., Salpagarova A., Ereemeeva A., Filipenko M., Prodeus A., Korsunskiy A., Hsu P., Munblit D. Expanding TREC and KREC Utility in Primary Immunodeficiency Diseases Diagnosis. *Front Immunol*. 2020; 11:320. doi: 10.3389/fimmu.2020.00320. PMID: 32194560; PMCID: PMC7062706.

80. Savchenko A.A., Tikhonova E., Kudryavtsev I., Kudlay D., Korsunsky I., Beleniuk V., Borisov A. TREC/KREC Levels and T and B Lymphocyte Subpopulations in COVID-19 Patients at Different Stages of the Disease. *Viruses*. 2022; 14(3):646. <https://doi.org/10.3390/v14030646>.

81. Chen L.Y.C. IgG4-related disease for the hematologist. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2024; 2024(1):594-603. doi: 10.1182/hematology.2024000584.

82. Jia X., Yu L. Understanding Islet Autoantibodies in Prediction of Type 1 Diabetes. *J Endocr Soc*. 2024 Jan 2;8(1):bvad160. doi: 10.1210/jendso/bvad160. PMID: 38169963; PMCID: PMC10758755.

83. Steiner G., Toes R.E.M. Autoantibodies in rheumatoid arthritis-rheumatoid factor, anticitrullinated protein antibodies and beyond. *Curr Opin Rheumatol*. 2024 May 1;36(3):217-224. doi: 10.1097/BOR.0000000000001006. Epub 2024 Feb 26. PMID: 38411194.

84. Pashnina I.A., Krivolapova I.M., Fedotkina T.V., Ryabkova V.A., Cheresheva M.V., Churilov L.P., Chereshev V.A. Antinuclear Autoantibodies in Health: Autoimmunity Is Not a Synonym of Autoimmune Disease. *Antibodies (Basel)*. 2021 Feb 25;10(1):9. doi: 10.3390/antib10010009.

85. Ragusa F., Fallahi P., Elia G., Gonnella D., Paparo S.R., Giusti C., Churilov L.P., Ferrari S.M., Antonelli A. Hashimoto's thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2019 Dec;33(6):101367. doi: 10.1016/j.beem.2019.101367.

86. Чурилов Л. П., Шенфельд И. Аутоиммунология: новая отрасль медицины // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2017. – Т. 36, № 3. – С. 3-14. – EDN YZKHTV.

87. Лигская Е.В., Корсунский А.А., Еремеева А.В., Сатышев О.В., Кудлай Д.А. Роль иммунного ответа в развитии гипоксических осложнений респираторных инфекций нижних дыхательных путей у детей // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. 2024; 103 (4): 142–150. DOI: 10.24110/0031-403X-2024-103-4-142-150.

88. Корсунский И.А., Продеус А.П., Румянцев А.Г., Гордукова М.А., Корсунский А.А., Кудлай Д.А., Филипенко М.Л., Шустер А.М. Скрининг новорожденных на первичные иммунодефициты и группу риска иммунорегуляторных расстройств, требующих диспансерного наблюдения // Педиатрия. 2019; 98 (3): 49–54. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-3-49-54>.

89. Корсунский И.А., Кудлай Д.А., Продеус А.П., Щербина А.Ю., Румянцев А.Г. Неонатальный скрининг на первичные иммунодефицитные состояния и Т-/В-клеточные лимфопении как основа формирования групп риска детей с врожденными патологиями // Педиатрия им. Г.Н. Сперанского. 2020; 99 (2): 8–15. <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2020-99-2-8-15>.

90. Султанбаев А.В., Тузанкина И.А., Насретдинов А.Ф., Султанбаева Н.И., Мусин Ш.И., Меньшиков К.В., Султанбаев М.В., Сатышев О.В., Измайлов А.А., Кудлай Д.А., Имянитов Е.Н. Механизмы формирования специфического противоопухолевого иммунитета и резистентности к ингибиторам контрольных точек иммунного ответа // Вопросы онкологии. – 70(3), 433–439. <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2024-70-3-433-439>

91. Kudlay D., Kofadi I., Khaitov M. Peculiarities of the T Cell Immune Response in COVID-19. *Vaccines*, 10(2), 242. <https://doi.org/10.3390/vaccines10020242>.

92. Centers for Disease Control and Prevention. Latent Tuberculosis Treatment Guidelines: 2020 Update. 2020. Available online: <https://www.cdc.gov/tb/publications/ltbi/pdf/LTBIfbooklet508.pdf> (accessed on).

93. Руководство по управлению латентной туберкулезной инфекцией (ВОЗ, 2014 г.) (режим доступа: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21682ru/s21682ru.pdf>).

94. Старшинова А.А., Довгалюк И.Ф., Яблонский П.К. Иммунодиагностика туберкулеза: десятилетний опыт применения иммунологических тестов в России. *Туберкулез и болезни легких*, 2019;5: 58-65.

95. Старшинова А.А., Кудлай Д.А., Довгалюк И.Ф., Басанцова Н.Ю., Зинченко Ю.С., Яблонский П.К. Эффективность применения

новых методов иммунодиагностики туберкулезной инфекции в Российской Федерации (обзор литературы) // Педиатрия им. Сперанского. – 2019. – № 4. С. – 274-279.

96. Starshinova A., Zhuravlev V., Dovgaluk I., Panteleev A., Manina V., Zinchenko U., Istomina E., Pavlova M., Yablonskiy P. A Comparison of Intradermal Test with Recombinant Tuberculosis Allergen (Diaskintest) with Other Immunologic Tests in the Diagnosis of Tuberculosis Infection. *International Journal of Mycobacteriology*. 2018; 1(2): 32–39.

97. Инструкция по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro* «ТиграТест® TB» Тест на высвобождение интерферона гамма *in vitro* для определения в крови Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены ESAT-6 и CFP-10 комплекса *Mycobacterium tuberculosis*, методом IGRA ELISPOT по ТУ 21.20.23-002-89761464-2023.

98. Takasaki J., Manabe T., Morino E., Muto Y., Hashimoto M., Iikura M., Izumi Sh., Sugiyama H., Kudo K. Sensitivity and specificity of QuantiFERON-TB Gold Plus compared with QuantiFERON-TB Gold In-Tube and T-SPOT.TB on active tuberculosis in Japan. *J Infect Chemother*. 2018 Mar;24(3):188-192. doi: 10.1016/j.jiac.2017.10.009.

Старшинова Анна Андреевна
Кудрявцев Игорь Владимирович
Борисов Александр Геннадьевич
Савченко Андрей Анатольевич
Чурилов Леонид Павлович
Федоткина Тамара Викторовна
Соболевская Полина Анатольевна
Балахонов Алексей Викторович
Рубинштейн Артем Аркадьевич
Кульпина Анастасия Ярославовна
Черныш Наталия Юрьевна
Довгалюк Ирина Федоровна
Кудлай Дмитрий Анатольевич

ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ

Учебное пособие

Подписано в печать 10.03.2025.
Бумага офсетная 80 г/м². Усл. п. л. 9,625.
Тираж 1000 экз. Заказ № 790.
Отпечатано в ООО «Версона».
660079, Красноярск, ул. А. Матросова, 30к.
Тел. 296-43-70, e-mail: tel2964370@yandex.ru.