РЕФЕРАТ

на тему:

Эволюция иммунной системы

2009

Изучение разнообразных видов позвоночных позволяет составить представление об эволюционном развитии иммунной системы вплоть до формирования ее сложноорганизованных механизмов у млекопитающих. Однако филогенез системы приобретенного иммунитета позвоночных, особенно его молекулярных основ, остается неясным, несмотря на многочисленные исследования иммунитета у беспозвоночных. В то же время изучение беспозвоночных проливает свет на происхождение врожденного иммунитета, полностью сформированного уже у позвоночных. Поскольку беспозвоночные чрезвычайно многочисленны и разнообразны — одиночные и колониальные формы, полостные и бесполостные, обладающие и не обладающие ■кровеносной системой, всего более 95% всех видов животных на Земле — среди них можно найти доного удобных объектов для экспериментальных исследований.

Упрощенно представлено эволюционное древо царства животных с разделением от вторичнополостных на две основные ветви, принципиально различающиеся стадиями эмбриогенеза. Одна ветвь, ведущая к первичноротым - моллюскам, кольчатым червям и членистоногим, - дивергировала на этом раннем этапе эволюции от пути, ведущего к появлению вторично-ротых — иглокожих, оболочников и позвоночных. Исследования в области иммунитета у беспозвоночных проводятся в основном на членистоногих и моллюсках, в связи с тем что многие из них являются переносчиками возбудителей болезней или вредителями сельскохозяйственных культур. Поэтому филогенетически более близкие к позвоночным таксоны привлекают гораздо меньше внимания. Кроме того, поскольку все предки позвоночных — вымершие виды, выводы о происхождении иммунитета у позвоночных, сделанные на основании изучения беспозвоночных, могут быть лишь гипотетическими, основанными на предположении о близком родстве некоторых современных животных с предковыми позвоночными.

ИММУНИТЕТ У БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Классификация клеток крови у беспозвоночных

У большинства беспозвоночных имеются белые| кровяные клетки, но красные клетА ки, как правило, отсутствуют. Лейкоциты могут либо быть зафиксированными, либо свободно мигрировать по| кровеносным сосудам, либо заселять заполнен-' ные жидкостью полости тела, называемые цело-мом или гемоцеломом.^ Первые клетки крови образовались, вероятно, из свободноживущих предковых клеток, сходных! с простейшими. У примитивных многоклеточных, например у губок, кишечнополостных и< плоских червей, блуждающие фагоцитарные аме-1 боциты не только выполняют функцию защиты., но и участвуют в процессах питания и экскреции!

На уровне вторичнополостных, тела которых крупнее и более сложно устроены, возникла необходимость в циркуляторной системе для переноса питательных веществ и отходов внутри организма. Амебо-подобные клетки, больше не нужные для собирания пищи, вероятно, мигрировали из соединительной ткани в эту циркуляторную систему. Здесь из них образовалось множество типов клеток, часть которых приобрела специфическую роль в иммунореактивности.

Из-за огромного разнообразия беспозвоночных их свободные лейкоциты невозможно классифицировать, в отличие от лейкоцитов у позвоночных, только по окрашиваемости и морфологии. Однако по функциональным критериям удается выделить пять основных групп таких клеток.

• Клетки-предшественники, которые наряду с имеющейся в том или ином количестве гемо-поэтической тканью могут выполнять роль стволовых клеток. По строению они напоминают лимфоциты позвоночных, но данных о действительной гомологии очень мало.

• Фагоцитарные клетки, вероятно, представляют собой единственный тип клеток, присутствующий у всех представителей царства животных. Они соответствуют грану-лоцитам или макрофагам млекопитающих, но несут иные поверхностные маркеры.

• Гемостатические клетки принимают участие в коагуляции и заживлении ран и важны как эффекторные для распознавания «не-своего».

• Питающие клетки присутствуют лишь у некоторых видов.

• Пигментные клетки имеются у многих видов, но только у некоторых они содержат дыхательный пигмент, напоминая тем самым эритроциты позвоночных.

Беспозвоночные лишены лимфоцитов и антител, но тем не менее обладают эффективными механизмами защиты

Иммунные системы беспозвоночных, очевидно, не включают в качестве компонентов ни иммуноглобулинов, ни взаимодействующих субпопуляций лимфоцитов, ни лимфоидных органов. Тем не менее само существование огромного числа и разнообразия беспозвоночных свидетельствует о наличии у них эффективных систем защиты собственного организма.

Как и у позвоночных, первой линией обороны у них служат эффективные физико-химические барьеры. Слизь, покрываю-! щая тело у многих кишечнополостных, кольча-i тых червей, моллюсков и некоторых оболочников, задерживает и уничтожает потенциальна патогенные микроорганизмы. Твер-| дый наружный скелет, такой как панцирь или скорлупа, у некоторых кишечнополостных и; моллюсков, иглокожих и насекомых также препятствует инвазии в организм чужеродного ма-1 териала.

При нарушении целостности этих барьеров против проникшего в организм чужеродного тела, действует целый ряд взаимосвязанных клеточных и гуморальных защитных механизмов, к ко-| торым относятся следующие.

• Свертывание/коагуляция крови и заживление' ран.

• Фагоцитоз.

• Инкапсулирование.

• Действие врожденных и индуцибельных антимикробных факторов.

Эти механизмы предполагают распознавание, «не-своего» и присутствие рецепторных молекул! в крови и на поверхности клеток крови.

Раны быстро закрываются благодаря коагуляции жидкостей организма, вызываемой гемостатическими клетками и компонентами плазмы

Раны, образующиеся у беспозвоночных при травме или инвазии паразитов, быстро заживают, что предотвращает смертельную потерю жидкостей организма. Раны закрываются вследствие выпячивания жирового тела или кишки, сокращения мышц, коагуляции плазмы, миграции клеток крови к месту поражения и их агрегации с образованием тромба и/или за счет отложения меланина. Миграцию лейкоцитов к ране стимулируют, вероятно, цитокин-подобные факторы.

Тромбирование раны с коагуляцией плазмы наблюдается главным образом у членистоногих, хотя получены данные об аналогичном процессе у кольчатых червей и иглокожих. В коагуляции участвуют гемостатические клетки, которые агрегируют в месте повреждения и выделяют свое содержимое, вызывающее свертывание плазмы и образование прочной гемоцитарной «пробки». У многих видов в этом процессе участвуют и компоненты плазмы. Как и у млекопитающих, сама поврежденная ткань, микробные компоненты, а также изменения концентрации Са2+ или рН индуцируют сложный каскад ферментативных реакций в месте повреждения. Это напоминает альтернативный путь активации комплемента. Система настолько чувствительна, что у мечехвостов, например, она активируется эндотоксином Escherichia coli в дозе всего 4 нг/мл. Процесс коагуляции чрезвычайно важен, поскольку обеспечивает высокочувствительное распознавание «чужого» благодаря дегрануляции гемостатиче-ских клеток. В коагуляции может принимать участие фермент профенолоксидаза: превращаясь под действием каскада сериновых протеаз в фенолоксидазу, она способствует образованию медиаторов более поздних стадий иммунного ответа. Недавно установлено, что каскад ПФО существует и у других беспозвоночных, таких как круглые черви и оболочники.

Внедрившихся микробов поглощают фагоцитарные клетки, более крупные агенты окружаются многоклеточными капсулами

Фагоцитарные клетки присутствуют у всех беспозвоночных и вместе с врожденными гуморальными факторами образуют первую линию защиты от микроорганизмов. Как и у позвоночных, здесь наблюдаются все фазы их действия: хемотаксис, прикрепление, поглощение и уничтожение. Однако распознавание мишени опосредуют не Fc-рецепторы, и лишь у одного вида на поверхности фагоцитов обнаружены СЗЬ-подобные рецепторы. Фагоцитоз, как и у позвоночных, может происходить без участия опсонизирующих факторов. Однако у моллюсков, членистоногих и оболочников в присутствии лектинов плазмы и компонентов профеноло-ксидазного каскада он усиливается.

Если внедрившиеся патогенные микробы слишком крупны или многочисленны, вокруг них образуются многоклеточные агрегаты, называемые узелками или капсулами и напоминающие гранулемы у млекопитающих. Секвестрированные таким образом микроорганизмы предположительно погибают под действием лизосомных ферментов и лизоцима, содержащихся в лейкоцитах, а также под действием перо-ксидазы и активных форм кислорода.

И фагоцитоз, и инкапсулирование зависят от кооперации гемостатических и фагоцитарных клеток.

Жидкости организма содержат у беспозвоночных ряд врожденных и индуцибельных гуморальных защитных факторов

Врожденные защитные факторы У беспозвоночных не обнаружено иммуноглобулинов, но жидкости организма содержат ряд защитных гуморальных факторов — агглютинины, лизоцим и другие лизины, иные антимикробные соединения, лизосомные ферменты и обездвиживающие факторы. Имеются также данные, указывающие на присутствие компонентов комплемент-подобной системы. Например, у морских ежей на фагоцитах могут присутствовать СЗЬ-подобные рецепторы и обнаружена гуморальная литическая система, сходная с системой комплемента. Кроме того, установлено, что кровь гусениц реагирует с одним из факторов яда кобры и при этом появляется СЗ-конвертазная активность. Обладающий ею фермент расщепляет молекулы СЗ быка с образованием молекул, подобных СЗЬ. Профенолоксидазный каскад у членистоногих сравним с альтернативным путем активации системы комплемента, поскольку оба они стимулируются непосредственно компонентами микробных клеток и включают ряд последовательно активируемых протеаз. Для того чтобы подтвердить наличие у беспозвоночных альтернативных путей активации комплемента, необходимы детальные исследования на молекулярном уровне.

Индуцибельные гуморальные защитные факторы

Известно, что у беспозвоночных содержание агглютининов и гемолизинов иногда возрастает, однако подробно индуцибельные антимикробные факторы исследованы только у насекомых.

Предполагается присутствие этих факторов и у некоторых других беспозвоночных, но для выявления их у большего числа организмов и для описания свойств необходимо подбирать подходящие иммуногены и/или проводить эксперименты по иммунизации. У таких насекомых, как мухи, бабочки и пчелы, через несколько часов после введения антигена может появляться до 15 антибактериальных белков. Многие из этих пептидов очищены и секвенированы; они обладают активностью широкого спектра, но сохраняют ее лишь в течение нескольких суток, чем резко отличаются от иммуноглобулинов позвоночных. Недавно аналогичные антибактериальные белки были обнаружены и у некоторых позвоночных. По-видимому, они представляют собой древние, но все еще важные факторы иммунитета. Один из таких факторов, цекропин, называемый также Р4 или гемолином, гомологичен некоторым доменам иммуноглобулинов. Возможно, гемолин — это примитивная форма иммуноглобулина, но не исключено и его независимое развитие у беспозвоночных. У таракана американского обнаружен другой вид индуцибельного белка, гораздо более сходный с иммуноглобулинами позвоночных. Он обладает молекулярной массой 700 кДа, высокоспецифичен и сохраняет активность в течение недель, а не суток. Для сопоставления его с иммуноглобулинами позвоночных требуются исследования на молекулярном уровне.

В распознавании «не-своего» и в межклеточной кооперации участвуют разнообразные факторы

Беспозвоночные обладают способностью распознавания, часто с весьма высокой специфичностью, разнообразного чужеродного материала. Это распознавание осуществляют присутствующие в жидких средах организма молекулы, к которым относятся агглютинины, компоненты профенолоксидазного каскада, а также цекропин насекомых.

Агглютинины Эти белки, выделенные из гемолимфы моллюсков и насекомых и из крови оболочников, усиливают распознавание тест-частиц in vitro и их выведение из циркуляции in vivo. Агглютинины присутствуют также на поверхности клеток крови и служат молекулами-мостиками, соединяющими лейкоциты с чужеродными частицами, как и в иммунной системе млекопитающих.

Система профенолоксидазы У членистоногих и эта система служит, вероятно, источником распознающих факторов. При превращении ПФО в фенолоксидазу из ге-мостатических клеток высвобождаются факторы распознавания, которые усиливают фагоцитоз и инкапсулирование чужеродных агентов. Недавно было установлено, что очищенный агглютинин из крови таракана, обозначенный BDL1, активирует каскад ПФО; этот факт позволяет объединить представления о функции двух систем распознавания. Белок BDL1 обладает также высоким структурным и функциональным сходством с маннозосвязывающими лектинами позвоночных. Подобно МСЛ, белок BDL1 активирует комплемент и содержит коллаген- и углевод-распоз-нающие домены.

Гемолин Кроме агглютининов и ПФО, в гемолимфе насекомых присутствует и иммунный белок, называемый гемолином. В нем различают четыре иммуноглобулин-подобных домена, которые связываются с поверхностью бактерий и могут участвовать в распознавании чужеродных молекул.

Процесс распознавания «не-своего» с последующим фагоцитозом предполагает кооперацию между гемостатическими и фагоцитарными клетками. Таким образом, хотя беспозвоночные лишены взаимодействующих субпопуляций антигенпрезентирующих клеток и лимфоцитов, клеточный иммунитет и у них осуществляется путем кооперации разнообразных иммуноцитов.

У видов - переносчиков возбудителей болезней клеточные и гуморальные защитные механизмы определяют устойчивость к паразитарным инвазиям

Все больше данных указывает на то, что способность некоторых беспозвоночных передавать болезни существенно зависит от их иммунореактивности. Так, установлено, что иммунный ответ в форме инкапсулирования у москитов и легочной улитки обусловливает эффективную изоляцию и, возможно, гибель инкапсулированных паразитов. Кроме того, в недавно проведенных исследованиях у москитов, мух цеце, мошек и клещей обнаружены кишечные агглютинины — возможно, главные факторы, влияющие на размножение и выживание в этих насекомых простейших-паразитов, поглощаемых с кровью. У некоторых мух цеце, в частности, ингибирование агглютинина средней кишки D-глюкозамином значительно ускоряет их инфицирование Trypanosoma brucei и T.rhodesiense. Важную роль может играть и профенолоксидаза; в слюнных железах самок мухи цеце Glossina morsitans morsitans, уровень ПФО у которых гораздо выше, чем у самцов, присутствует намного меньше зрелых форм Т. Ь. rhodesiense. Установлено также, что индуцибель-ные антибактериальные пептиды, присутствующие в крови мошек Simulium, убивают личинок паразитических нематод. Многое еще предстоит изучить в этой новой и увлекательной области исследований, в том числе способы преодоления паразитами защитных иммунных реакций в организме переносчиков.

Защитные реакции у беспозвоночных регулирует набор цитокинов, частью сходных с интерлейкинами позвоночных

Обнаруженные у беспозвоночных цитокин-по-добные молекулы, возможно, взаимосвязанно регулируют защитные реакции, подобно тому как это происходит у позвоночных. Присутствие родственных цитокинам молекул уже у простейших указывает на то, что они имеются у всех представителей животного царства. Например, феромон простейших, Ег-1, структурно и функционально сходен с интерлейкином 2. Кроме того, у кольчатых червей, иглокожих и оболочников недавно были выделены соединения, обладающие ИЛ-Йб-, ИЛ-Йв- и ФНО -подобной активностью. Первые две активности определяли с помощью тест-системы для позвоночных, причем эти активности ингибировала поликлональная антисыворотка к ИЛ-1 позвоночных. Цитокин ИЛ-1 беспозвоночных стимулирует агрегацию, фагоцитарную активность и пролиферацию клеток «крови» этих животных. ФНО-подобную активность у беспозвоночных выявляли по цитотокси-ческому действию на линию клеток L929; этот метод также обычно используется для определения ФНО позвоночных.

У беспозвоночных найдены и другие соединения, обладающие цитокин-подобной активностью. Это, например, фактор, снижающий число плазмоцитов, активатор лейкоцитов и различные стимуляторы инкапсулирования и фагоцитоза у насекомых. Фактор, продуцируемый лейкоцитами иглокожих, оказывает митогенное действие на лимфоциты млекопитающих и индуцирует скопление белых кровяных клеток у морских звезд. Кроме того, у оболочников обнаружен провоспалительный цитокин, влияющий на продукцию антител, фагоцитоз и клеточно-опосредованную цитотоксичность у позвоночных, а также на фагоцитарную активность лейкоцитов у креветок. Предстоит дальнейшее изучение этих молекул. Наконец, следует упомянуть и о том, что в иммунореактивности клеток крови беспозвоночных, как установлено, участвуют эйкозаноиды и опиатные пептиды.

Многие беспозвоночные обладают способностью к отторжению алло- и ксеногенных трансплантатов

Для иммунитета позвоночных характерна усиленная и высокоспецифическая реакция на повторное воздействие антигена. Ее осуществление зависит от лимфоцитов и главного комплекса гистосовместимости. Степень специфичности и запоминание антигена у беспозвоночных были изучены в опытах по трансплантации и имплантации с определением цитоток-сичности. Из-за жесткости наружного скелета или мягкости наружных покровов беспозвоночным трудно производить пересадку тканей. Нелегко и решить, произошло ли отторжение. Несмотря на эти трудности, удалось установить, что у большинства беспозвоночных происходит разрушение ксенотрансплантатов, а губки, кишечнополостные, аннелиды, насекомые, иглокожие и оболочники обладают и способностью распознавания аллогенного материала. Кажущееся отсутствие отторжения аллогенной ткани у моллюсков связано, вероятно, с техническими трудностями пересадки. Однако не у всех групп беспозвоночных, способных отторгать аллотрансплантаты, эти реакции характеризуются специфичностью и памятью; обычно специфичность их крайне невысока, а память недолговременна. Значительные расхождения результатов трансплантации могут быть связаны с тем. что некоторые исследователи не учитывали зависимость процесса отторжения от температуры.

Наличие аллогенного распознавания у колониальных беспозвоночных, таких как губки, кишечнополостные и оболочники, неудивительно, так как целостности колоний постоянно угрожает разрастание соседних колоний. Эксперименты с личинками колониальных оболочников показали, что аллогенное распознавание и оплодотворение контролирует один генный локус с множественными аллелями. Таким образом, имеется определенное сходство между системой, существующей у оболочников, и генами гистосовместимости у млекопитающих.

Следует еще раз подчеркнуть, что, несмотря на лишь ограниченные специфичность и память, характерные для распознавания алло- и ксено-генных трансплантатов у беспозвоночных, их иммунная система функционирует эффективно и успешно. Так или иначе, внедрение патогенных микроорганизмов и паразитов вызывает у беспозвоночных быстрый иммунный ответ, что и обеспечивает громадное разнообразие и изобилие этих животных.

У беспозвоночных имеются молекулы -предшественники МНС и молекулы с иммуноглобулин-подобными доменами

Аллогенное распознавание, обнаруженное у многих беспозвоночных, указывает на возможное присутствие у них молекул — предшествен- I ников главного комплекса гистосовместимости I. Поскольку иммуноглобулинами эти животные не обладают, можно предполагать, что система МНС сформировалась раньше и незави- i симо от системы иммуноглобулинов у позвоноч- I ных. Иными словами, у примитивных позвоноч- 1 ных при сохранении системы МНС отдельно и 1 независимо развивалась система иммуноглобу- ш линов, обеспечивающая более тонкое распозна- J вание посредством циркулирующих антител и I специфичных рецепторов клеточной поверхно- 1 сти. В ходе дальнейшей эволюции позвоночных ■ происходила, по-видимому, возрастающая интеграция МНС и системы иммуноглобулинов, что j обеспечило высокий уровень регуляции, необхо- 1 димый для взаимодействия антигенпрезентиру- I ющих клеток и лимфоцитов. Это предста- " вление, однако, остается гипотетическим; нет ни структурных, ни функциональных доказательств I экспрессии клетками беспозвоночных гликопро-теинов МНС или димерных рецепторов для алло- й антигенов. Кроме того, у беспозвоночных может, отсутствовать реакция смешанной культуры лейкоцитов, которая у позвоночных служит функциональным маркером МНС. Поэтому возникло другое предположение: некоторые исследователи считают, что молекулы МНС позвоночных произошли от белков теплового шока.

В то же время обнаружены Р2-микроглобу-лин-подобные молекулы у земляных червей, ракообразных и насекомых, что подтверждает возможность существования антигенов — предшественников МНС у беспозвоночных. в2-МЗкспррп-булин позвоночных кодируется геном, не сцепленным с МНС, но ассоциирован с молекулами МНС класса I и принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов. Таким образом, молекулы МНС могут быть потомками одной и той же, содержащей один домен и сходной с р2-иммуног-лобулином молекулы, многочисленные разновидности-производные которой возникли в результате перестроек и дупликаций генов и давления отбора.

Наконец, существует целая группа обнаруженных у беспозвоночных молекул, таких как Thy-1, амальгам, фасциклин II, нейроглиан и гемолин, также принадлежащих к суперсемейству иммуноглобулинов; предполагается, что эти молекулы появились в процессе эволюции для опосредования межклеточных взаимодействий и потенциально могут обеспечивать распознавание иммунной системой «не-своего». Этот уровень эволюции, по-видимому, достигнут у насекомых, обладающих гемолином.

ИММУНИТЕТ У ПОЗВОНОЧНЫХ

По сравнению с огромным разнообразием форм беспозвоночных организация позвоночных по общему плану довольно единообразна и все они принадлежат к одному типу хордовых. Хотя эволюционное древо позвоночных имеет многочисленные уровни и ветви, в том числе бесчелюстных, хрящевых рыб. костных рыб. амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих, основные клеточные и молекулярные компоненты врожденного иммунитета у всех современных челюстноро-тых удивительно консервативны. Однако усложнению строения тела соответствует возрастание специализации лимфоидной ткани и функций лимфоцитов, а также увеличение разнообразия классов иммуноглобулинов. Самой сложной по структуре и функциям иммунной системой обладают млекопитающие.

Ф клетки и эволюция МНС

Цитотоксические и хелперные Т-лимфоциты млекопитающих, несущие бв-Ф-клеточные рецепторы, распознают большинство чужеродных антигенов только в том случае, если они презентированы в нужной форме собственными полиморфными молекулами МНС. Поэтому филогенез некоторых Т-кле-точных популяций и эволюцию МНС следует рассмотреть вместе.

Функциональные критерии и/или молекулярные и генетические данные доказывают присутствие МНС у всех челюстноротых позвоночных, от хрящевых рыб и выше.

МНС подробно изучен у пойкипотермных позвоночных Xenopus

Недавно проведенные исследования позволили обнаружить гены МНС у хрящевых рыб, чьи предки дивергировали от линии развития других позвоночных более 400 млн. лет назад. Однако наиболее полно гены и белки МНС изучены среди пойкилотермных у шпорцевой лягушки Xenopus laevis.

Классические антигены МНС у Xenopus Белки класса 1а у Xenopus полиморфны и кодируются примерно 20 аллелями. Они присутствуют на поверхности всех зрелых клеток, но в наибольшей степени — на гемопоэтических клетках. б-Цепи этих белков имеют молекулярную массу 40—44 кДа; они образуют 3 домена и нековалентно связаны с Р2-микроглобулином. Белки МНС класса 1 у Xenopus необычны в том отношении, что кодируются одним генным локусом.

Неклассические антигены МНС у Xenopus Среди генов класса I у Xenopus первым было идентифицировано большое семейство мономорфных неклассических МНС-подобных молекул\* Гены, кодирующие эти молекулы, и классические МНС-гены расположены в разных хромосомах. Ген класса lb, по-видимому, кодирует молекулу, гомологичную белок-связывающим участкам белков теплового шока 70. Недавно предложена гипотеза, согласно которой пептид-связывающая область молекул МНС класса I сформировалась в процессе эволюции из предсуществовавших БТШ. Неклассические МНС-подобные белки, ассоциированные с эпителием, обнаружены у всех изученных позвоночных; предполагается, что они могут обладать различными функциями, например распознавать БТШ патогенных организмов или инфицированных/угнетенных собственных клеток и затем презентировать эти консервативные пептиды Т-клеткам с рестриктированными ТкР.

Антигены МНС класса II у Xenopus Молекулы МНС класса II у Xenopus полиморфны и конститутивно экс-прессированы лишь на некоторых зрелых клетках, в том числе на тимоцитах, В- и Т-лимфоии-тах и различных АПК, таких как клетки, сходные с клетками Лангерганса кожного эпидермиса. Белки класса II состоят из кодируемых генами МНС а- и в-цепей; обе цепи представляют собой трансмембранные гликопротеи-ны с молекулярной массой 30-35 кДа. Гены в-цепей молекул МНС класса II у Xenopus кодируют полипептиды, имеющие почти 50% гомологию с в-цепями МНС класса II млекопитающих. При синтезе белки МНС класса II временно связаны с инвариантной цепью. У Xenopus имеются три локуса в-генов МНС класса II.

Экспрессия МНС у Xenopus на каждой стадии жизненного цикла различна

Интересная особенность экспрессии МНС в онтогенезе у Xenopus заключается в том, что до стадии метаморфоза классические молекулы МНС класса I не экспрессируются на поверхности каких-либо клеток. Напротив, молекулы класса II появляются уже на ранней стадии развития головастиков на В-клетках и некоторых эпителиальных клетках, непосредственно контактирующих с внешней средой. Это свидетельствует о том, что экспрессия классических молекул класса I не является необходимой для ранних стадий развития или для функционирования иммунной системы на стадии головастиков. Не исключено, однако, что важную роль в иммунитете головастиков играют неклассические белки класса I. На этой стадии онтогенеза основное значение, возможно, имеет клеточный иммунитет, рестриктирован-ный по молекулам МНС класса II. Более широкое представительство молекул МНС класса II у головастиков по сравнению со зрелыми лягушками указывает на то, что на низших ступенях эволюции, в более примитивной иммунной системе, именно эти молекулы, возможно, несли функцию презентации антигенов.

МНС у других позвоночных

Белки МНС классов I и II и полиморфные гены класса II недавно обнаружены у хрящевых рыб. Среди костистых рыб генами МНС класса I и Р2-микроглобулина обладает, как установлено, радужная форель и генами МНС класса II — карп.

Аксолотли, для которых характерны относительно слабые Т-клеточные реакции на аллоан-тигены. обладают а- и в-цепями молекул МНС класса II с ограниченным полиморфизмом. Эти земноводные экспрессируют также кодируемые МНС эритроцитарные антигены, сходные с б-ue-пями класса I и с полиморфными молекулами класса IV. присутствующими на ядерных эритроцитах курицы. Они могут присутствовать также у Xenopus. б-Цепи класса I и гетероди мерные молекулы класса II найдены и у различных пресмыкающихся.

У различных позвоночных фенотипически и функционально идентифицированы Т-клетки

У птиц найдены бв- и гд-ФкС в комплексе с коре-цепторными молекулами CD3, CD4 и CD8. В настоящее время появляются данные о наличии некоторых из этих рецепторов или составляющих их цепей у рыб и амфибий. Например, гены из тимоцитов и спленоцитов мексиканского аксолотля обнаруживают значительную гомологию с генами в-цепей ТкР пгиц и млекопитающих. На поверхности тимоцитов и лимфоидных клеток опухоли тимуса у Xenopus присутствует белок 55 кДа, сходный по аминокислотной последовательности с д-цепью ТкР. С помощью полученных в настоящее время моноклональных антител анти-Xenopus обнаруживаются маркеры, возможно соответствующие CD5 и CD8. У радужной форели недавно выявлены генные сегменты, кодирующие в-цепи ТкР, однако получить монокло-нальные антитела, специфичные по отношению к Т-клеткам рыб, пока не удалось. У хрящевых рыб найдены четыре различных типа генов Т-клеточных рецепторов. Клеточная и молекулярная основа реакции СКЛ, наблюдающейся у ми-ксин, пока не расшифрована.

Важнейшее значение для иммунных реакций у пойкилотермных животных имеет температура. У сома низкая температура тормозит пролиферацию Т- клеток. Эти эффекты обусловлены низким содержанием некоторых ненасыщенных жирных кислот в Т-клетках рыб и связанной с этим текучестью мембран. Поэтому корм с высоким содержанием соответствующих жирных кислот может способствовать лучшей адаптации рыб к низкой температуре. Олеиновая кислота снимает также наблюдаемую при низких температурах супрессию реакций Т-клеток млекопитающих in vitro.

Эволюция В-клеток и иммуноглобулинов

Тяжелые и легкие цепи иммуноглобулинов имеются у различных позвоночных

Обнаруженные у миксин белки, ранее считавшиеся антителами, в настоящее время идентифицированы как белки комплемента СЗ—С5. Пока у круглоротых не удалось выявить молекул, принадлежащих к суперсемейству иммуноглобулинов.

Все челюстноротые позвоночные вырабатывают антитела к широкому кругу антигенов. Однако антитела, вырабатываемые пойкилотермными позвоночными, характеризуются низкой аффинностью и слабой иммунологической памятью по сравнению с антителами у гомойотермных позвоночных. Структура антител эволюционно консервативна; у всех животных эти белки состоят из мультидоменных тяжелых и легких полипептидных иммуноглобулиновых цепей, которые могут экспрессироваться на поверхности

В-клеток, играя роль рецепторов, или секретиро-ваться активированными В-клетками в кровь.

У всех челюстноротых позвоночных присутст^ вует полимерный IgM, а у рыб антитела принадлежат в основном к этому классу. Каждая тяжелая м-цепь состоит из четырех констант-\* ных и одного вариабельного доменов; тяжелые и легкие цепи связаны дисульфидными мостиками. Семейство м-цепей обнаруживает в филоге-, незе значительное разнообразие; например, между м-цепями сома и мыши имеется лишь 24% гомология по аминокислотной последовательности.

У некоторых хрящевых рыб, таких как скаты и' акулы, обнаружены низкомолекулярные антитела без м-цепей, но эволюционная связь IgR с другими изотипами З-цепей остается неясной. У амфибий, рептилий и птиц имеется состоящий из четырех константных доменов изо-тип тяжелых цепей, получивший обозначение [gY. Предположительно он является предшественником IgG и IgE млекопитающих, с которыми имеет структурное и функциональное сходство. У аксолотля IgY может быть и секреторным иммуноглобулином, так как в кишечнике он связан с молекулами, сходными с секреторными. Интересно, что несмотря на отсутствие у рыб IgE, костистые рыбы демонстрируют реакции гиперчувствительности I типа; возможно, у них имеются связанные с тканями гомоцитотропные антитела. У Xenopus изотип IgX, продукция которого в отличие от IgY является тимус-независимой, может быть эквивалентом секреторного IgA млекопитающих, поскольку этот изотип присутствует в основном в кишечнике. Изотип IgA, возможно, впервые появляется у птиц.

Для многих пойкилотермных характерно и разнообразие легких цепей. Два антигенно различных типа легких цепей, один из которых сходен с к-цепью, обнаружены у Xenopus и два — у сома, черепахи и аллигатора. У акул имеются как к-, так и л-цепи; это свидетельствует, что дивергенция предковых легких цепей произошла до этапа хрящевых рыб.

Усатая акула-нянька, как недавно установлено, обладает ранее неизвестной молекулой им-муноглобулинового суперсемейства, которая, возможно, эволюционно предшествовала появлению иммуноглобулинов и ТкР. Эта молекула состоит из одного вариабельного и пяти константных доменов и присутствует в сыворотке в виде димера. Кодирует НАР генный локус, который подвергается перестройке и соматическому мутированию. В настоящее время у хрящевых рыб выявлен новый класс химерных антител; это позволяет усомниться в том, что первичным изотипом lg является IgM.

У низших позвоночных обнаружены четыре типа организации генов иммуноглобулинов

Активные исследования локуса иммуноглобули-новых генов у пойкилотермных позвоночных с помощью технологии рекомбинантной ДНК позволили в последние годы обнаружить четыре типа его организации.

Амфибии и костистые рыбы У этих животных ло-кус IgH организован по тому же типу, что и у млекопитающих. У Xenopus, например, имеется 80—100 сегментов Vh, 15 — Dh и 9 — Jh. Обнаружены как структурные области, так и области, определяющие комплемен-тарность. Константные области каждой цепи у Xenopus кодируются четырьмя экзонами Сн. Легкие цепи кодируются двумя разными хромосомами, каждая с сегментами Vl, Jl и Cl. У костистых рыб гены легких цепей иммуноглобулинов обнаруживают «мультикластерную» организацию, типичным примером которой служит их организация у акул.

В процессе созревания В-клеток у Xenopus, как и у млекопитающих, происходят множественные перестройки иммуноглобулиновых генов: существует и аллельное исключение, приводящее к появлению моноспецифичных В-лим-фоцитов. У Xenopus найдены активированные ре-комбиназой гены, но разнообразие антител при этом весьма незначительно; у взрослых особей имеется всего примерно 5-105 различных молекул антител. Ограниченное созревание аффинности после активации В-клеток у Xenopus, по-видимому, не связано с отсутствием соматического мутирования иммуноглобулиновых генов. Скорее это можно связать с неэффективной селекцией мутантов из-за отсутствия в лимфоид-ных органах холоднокровных соответствующих центров размножения. Лимфоузлы с центрами размножения найдены лишь у птиц и млекопитающих. Хотя у головастиков Xenopus имеются те же три изотипа lg, какие присутствуют у зрелых особей, репертуар антител у тех и других различен. На репертуар lg у зрелых особей влияют генные перестройки, происходящие при новой волне созревания В-клеток после метаморфоза. Третья гипервариабельная область у зрелых особей приобретает дополнительное разнообразие вследствие случайного добавления Н-концевых остатков, тогда как у головастиков этого не происходит.

Возникновение разнообразия антител у птиц В данном случае оно связано с иным типом организации иммуноглобулиновых генов и происходит в характерном только для птиц месте — в расположенной у клоаки фабрициевой сумке. В локусе легких цепей у курицы имеется один V-ген, который вначале перестраивается и соединяется с одним комплексом J—С. Ло-кус IgH содержит также область множественных

D-генов. Перестройка происходит в течение лишь ограниченного периода раннего развития, когда стволовые клетки колонизируют фабрици-еву сумку; в отличие от этого у мыши и человека перестройка иммуноглобулиновых генов в пре-„ В-клетках происходит в течение всей жизни организма. Затем сегменты перестроенных иммуноглобулиновых генов заме-») щаются у курицы нуклеотидными последовательностями из псевдогенов, примыкающих к един-i ственному V-гену. Генные конверсии происходят с высокой частотой в течение всего срока пролиферации В-клеток в сумке.

Третий тип организации генных покусов 1д обнаружен у хрящевых рыб В этом случае тяжелая и легкие цепи иммуноглобулинов! кодируются многочисленными мелкими отдельными кластерами, включающими все V-, J- и С-гены. Каждый кластер иммуноглобулиновых генов по последовательности ДНК отличается от других. Эти последовательности имеют гаметную конфигурацию. Антитела акул обладают, по-видимому, чрезвычайно разнообразным репертуаром связывающих специфичностей, но, поскольку разнообразие закодировано в гаметной ДНК, а не обусловлено соматическими механизмами, между особями различия в иммуноглобулинах отсутствуют. Таким образом, формирование разнообразия иммуноглобулинов за счет перестройки соматических генов характерно не для всех позвоночных. У хрящевых рыб присутствует большое количество врожденных антител против разнообразных антигенов; эти антитела аналогичны полиспецифичным IgM-антителам млекопитающих, которые в онтогенезе секретируются В-клетками CD5+. Неизвестно, может ли имеющаяся у акул кластерная организация субъединиц иммуноглобулиновых генов обусловливать клональную рестрикцию В-клеток. Однако уровень специфических антител у них может возрастать и без общего повышения содержания lg в сыворотке, что указывает на существование кло-нальной селекции.

Предварительные данные говорят о том, что у целокантов — эволюционных «реликтов», найденных в живом состоянии в Индийском океане, может присутствовать новый локус IgH.

Клетки системы врожденного иммунитета

У большинства позвоночных присутствуют нормальные клетки-киллеры

У млекопитающих З К представлены популяцией больших гранулярных лимфоцитов, отличающихся от Т- и В-клеток. В отличие от Тц они способны спонтанно лизировать трансформированные клетки, не экспрессирующие антигены МНС. НК-подобные лимфоидные клетки обнаружены и у некоторых низших позвоночных, включая птиц, рептилий, амфибий и костистых рыб. Более того, неспецифические цитотоксические клетки недавно выявлены даже у протохордовых; они оказались способными уничтожать опухолевые клетки млекопитающих. Установлено, что макрофаги как хрящевых, так и костных рыб обладают спонтанной цитотоксичностью, и доказано существование у акул антителозависимых клеточных цито-токсических реакций.

Моноклональные антитела против НК-по-добных клеток сома модулируют цитотоксиче-ское действие З К рыб и человека в отношении линий трансформированных клеток человека. Это свидетельствует об эволюционной консервативности соответствующих рецепторов к антигенам. У курицы обнаружены клетки, цитотокси-ческий эффект которых не рестриктирован по МНС; возможно, они представляют собой З К. Эти клетки сходны с НК млекопитающих тем, что содержат в цитоплазме CD3. не имеют на поверхности комплекса ТкР—CD3 и часто экспрес-сируют CD8. Такие особенности указывают на близкое родство НК- и Т-клеток. Однако и у млекопитающих и у птиц НК имеют внетимусное происхождение.

Фагоцитарная активность у рыб

Проблема устойчивости рыб к болезням имеет особое значение для рыбного хозяйства. В связи с этим подробно изучаются факторы, способные усиливать фагоцитарную активность у рыб. Для их поиска важна разработка методов длительного культивирования лейкоцитов рыб, например сома и карпа, in vitro. Повышения активности фагоцитов рыб по отношению к бактериальным антигенам можно легко добиться путем введения убитых клеток патогенных микробов и их продуктов. Для повышения связанного с фагоцитами иммунитета у рыб применяются и в-глюканы; они оказались хорошими адъювантами для вакцин, хотя механизм их действия еще не выяснен. Ци-токины, например продуцируемый Т-клетками рыб «гамма-интерферон» и ФНОа человека, си-нергично усиливают дыхательную активность макрофагов радужной форели, приводя к продукции токсичных для бактерий метаболитов кислорода. Активацию макрофагов рыб может блокировать ФЦСв млекопитающих. У рыб обнаружены хемокин-подобные факторы, способные влиять на подвижность макрофагов. Поскольку при искусственном разведении рыб может возникать проблема иммуносупрессии, вызванной стрессом, представляет интерес недавно описанная способность иммуноактивного пептида FK-565 блокировать такую супрессию.

В различных воспалительных процессах у млекопитающих, как правило, принимают участие лейкотриены и другие липидные медиаторы. К настоящему времени установлено, что эйкозанои-ды синтезируются и у рыб и выполняют у них важную функцию в воспалительных реакциях. Например, лейкотриен В4 усиливает миграцию лейкоцитов радужной форели; эйкозаноиды влияют и на пролиферацию Т-клеток этих рыб. На синтез эйкозаноидов у рыб может влиять содержание липидов в корме, и важно оптимально подбирать его при разработке методик вакцинации; этот вопрос активно изучается в настоящее время.

Не специфичные к антигенам молекулы

У позвоночных хорошо развиты классический и альтернативный пути активации комплемента

Бесчелюстные обладают антителонезависимыми комплемент-подобными белками. У миксин они гомологичны компонентам СЗ, С4 и С5 комплемента млекопитающих и действуют как опсони-ны; на фагоцитарных лейкоцитах обнаружен специфичный к ним рецептор. У представителей всех других классов позвоночных имеются как классический, так и альтернативный механизмы активации комплемента.

У карпа обнаружены компоненты комплемента CI—С9, а также факторы В и D. Установлена значительная гомология генов СЗ у Xenopus и млекопитающих. У бесхвостых амфибий охарактеризованы также компоненты комплемента Clq, С4, С5, лизирующий мембрану комплекса фактор В. Компоненты комплемента рыб и ам-, что и соответствующие белки млекопитающих. Разумеется, температурный диапазон для активности комплемента у пойкилотермных животных значительно шире; она сохраняется и при 4 °С. В то же время и теп-, ловая инактивация может происходить при более низкой температуре. У Xenopus, например, активность комплемента полностью исчезает через 40 мин инкубации при 45 °С. Для определения антител зрелых амфибий по гемолизу in vitro можно использовать комплемент морской евин-, ки. Для большинства же рыб, а также головастиков подходит комплемент только от тех же или о4 близких видов.

У низших позвоночных имеются цитокины, функционально сходные с цитокинами млекопитающих

Изучение цитокинов и особенно их рецепторов у низших позвоночных существенно отстает от ус-1 пешных молекулярных исследований в области эволюции иммуноглобулинов, ТкР и МНС. Однако биологическими методами установлено, что определенные группы цитокинов присутствуют jl многих классов позвоночных. К таким цитоки-нам относятся интерлейкины, интерфероны, фактор некроза опухолей, колониестимулирующие факторы и хемокины.

Например, из супернатантов культур стимулированных Т-лимфоцитов костных рыб, хвостатых и бесхвостых амфибий, змей и курицы выделены факторы роста Т-клеток, стимулирующие пролиферацию Т-лимфобластов in vitro. Очищенный ФРТк Xenopus представляет собой белок с молекулярной массой 16 кДа, обладающий биохимическим и функциональным сходством с ИЛ-2 млекопитающих. Ген этого «ИЛ-2» и его рецепторы пока неизвестны.

«ИЛ-2-подобная» активность обнаружена в макрофагах костных рыб, амфибий и птиц. У пойкилотермных позвоночных найдены и «интерферон-подобные» факторы, активирующие макрофаги и обладающие антивирусной активностью. Недавно был секвенирован интерферон камбалы, который, однако, мало напоминает какие-либо другие интерфероны. Отсутствие гомологии и может быть причиной того, что с помощью олигонуклеотидных зондов не всегда удается идентифицировать гены цитокинов у пойкилотермных животных. Это, однако, удалось в отношении фактора роста фибробластов амфибий, TGFp и ИЛ-2 камбалы. Имеющиеся данные о том, что активацию макрофагов радужной форели под действием ЦЗПв человека блокирует их преинкубация с антителами к рецептору ФНО человека, указывают на эволюционный консерватизм рецепторов к ФНО.

Антимикробные пептиды

Важную функцию в иммунной системе позвоночных выполняют антимикробные пептиды, структурно сходные с описанными выше антимикробными пептидами беспозвоночных. Так, в кишечнике свиней обнаружены цекропины, а в фагоцитах и некоторых клетках кишечника млекопитающих — дефензины, влияющие на рост микробов. Гранулярные железы кожи и кишечника Xenopus секретируют пептиды другого семейства, получившие название магайнинов. Они обладают биоцидной активностью широкого спектра — против грамотрицательных и грампо-ложительных бактерий, грибов и простейших. Кроме того, они оказывают цитотоксическое действие и на клетки различных злокачественных опухолей человека. В настоящее время уже получены искусственно синтезированные магай-нины и рассматривается возможность их использования в качестве лекарственных средств. Еще одним кандидатом на применение в качестве лечебного средства является скваламин — стероид из акул, обладающий обшей антибиотической активностью.

ЛИМФОМИЕЛОИДНЫЕ ТКАНИ У НИЗШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ

Анатомической основой для взаимодействия им-муноцитов с антигеном служит лимфомиелоид-ная система, где происходит образование и где хранятся лимфоциты, гранулоциты и другие клетки крови. м омиелоидные ткани рыб

Миксины лишены как тимуса, так и селезенки. Лимфоциты у этих представителей круглоротых развиваются в лимфоидной ткани в области жаберных щелей или в кишечнике. У других круглоротых, миног, имеется примитивная селезенка и ткань, подобная костному мозгу.

У челюстноротых рыб отсутствуют лимфоид-ный ряддифференцировки клеток костного мозга, лимфоузлы и лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником ЛТК. Однако у них хорошо развит тимус и селезенка, диффузная ЛТК и лимфомиелоидная ткань в почках и печени. Важная особенность лимфомие-лоидной ткани рыб заключается в том, что в печени «примитивных» форм присутствует множество мелано-макрофагальных центров. В этих центрах аккумулируются пигменты, такие как гемосидерин, цероид, меланин и в особо большом количестве липофусцин. Накопление пигментов в «макрофагальных агрегатах» рыб отчасти может быть связано с высоким содержанием у рыб ненасыщенных жирных кислот, благодаря которому сохраняется текучесть мембран при низкой температуре; такие липиды особенно подвержены процессам перекисного окисления и образования липофусцина.

Лимфомиелоидные ткани амфибий

Тимус

У взрослых особей Xenopus тимус расположен сзади среднего уха, непосредственно под кожей. Как и у большинства других позвоночных, за исключением костистых рыб, он отделяется от глоточного эпителия уже на очень ранних стадиях развития. Тимус дифференцируется на наружную, корковую и внутреннюю, мозговую зону. Быстро пролифери-рующие лимфоциты корковой зоны особенно чувствительны к радиационному воздействию. Обработка тимуса Xenopus in vitro глюкокортикоидами ускоряет апоптоз его клеток. У Rana повышение уровня кортикостерои-дов in vivo может вызывать атрофию тимуса.

Убедительно доказано, что у пойкилотермных животных, как и у гомойотермных, тимус продуцирует лимфоциты, обладающие функциями Т-клеток. В тимусе амфибий присутствуют также стромальные клетки других типов, включая крупные дендритные клетки, макрофаги, пузырчатые, дегенерирующие клетки и гранулярные клетки. В тимусе рептилий и млекопитающих обнаружены и миоидные клетки, которые могут способствовать циркуляции тканевой жидкости, а также служить источником факторов, стимулирующих макрофаги. Эпителиальные клетки тимуса, на ранних стадиях развития экспрессируюшие антигены МНС класса II, по-видимому, участвуют в «обучении»

Т-клеток. В тимусе лягушек присутствуют комплексы из стромальных клеток и заключенных в них тимоцитов, напоминающие клетки-«няни». Эти комплексы могут представлять собой места «обучения» Т-клеток. В тимусе позвоночных различных видов, в том числе амфибий, найдены и В-клетки, хотя этот орган не служит местом их образования. В тимусе лягушек Rana обнаружены венулы с высоким эндотелием, которые могут способствовать иммиграции клеток.

Селезенка

У всех челюстноротых позвоночных селезенка служит главным периферическим лимфоидным органом. Вместе с «лимфоузлами» и почками она захватывает антиген, удерживает пролиферирую-щие после стимуляции антигеном лимфоциты, а также высвобождает эти клетки и их продукты в кровь. В селезенке Xenopus имеются тимус-зависимые и независимые лимфоидные зоны. Фолликулы белой пульпы содержат множество В-клеток, что обнаруживается при окрашивании этой области моноклональны-ми антителами к иммуноглобулинам. Селезеночные Т-клетки, присутствующие главным образом в краевой зоне, лишены поверхностных иммуноглобулинов, но связывают анти-Т-клеточные моноклональные антитела.