

36. Ring G.H., Lakkis F.G. T lymphocyte-derived cytokines in experimental glomerulonephritis: testing the Th1/Th2 hypothesis // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 1998. – V. 13, N 5. – P. 1101-1103.

37. Murray J.S. How the MHC select Th1/Th2 immunity // *Immunol. Today.* – 1998. – V. 19, N 4. – P. 157-163.

38. Сепиашвили Р.И. Функциональная система иммунного гомеостаза // *Аллергология и иммунология.* – 2003. – Т. 4, № 2. – С. 5-14.

39. Stanciu L.A., Lau L.C.K., Cho S-H. et al. Th1- and Th2-type cytokines are released by human CD8+ T cells in culture with IL-4 // *The Immunologist.* – 1998. – Suppl. 1. – P. 53.

40. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследований уровней цитокинов в клинической практике // *Цитокины и воспаление.* – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 20-33.

MODERN NOTIONS ABOUT SYSTEM OF CYTOKINES

Ye.V. Nikitin, T.V. Chaban, S.K. Servetsky

SUMMARY. The general characteristics of system of cytokines is presented. Modern diagnostical methods of their determination in biological liquids are described. It is of great prognostical importance for objective notion about condition of immune system of a patient, activity of various types of immunocompetent cells, severity of inflammatory process and its transferring into chronic form.

Key words: system of cytokines, immunity, diagnostics.

© Шевченко Л.Ю., 2007
УДК 615.281.8

Л.Ю. Шевченко

ІНТЕРФЕРОН-СИСТЕМА. МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Висвітлено історичний розвиток уявлень про інтерферон (ІФН)-систему, її клінічне значення, загальну характеристику інтерферонів і механізм інтерферогенезу. Виділено противірусні, антимікробні, антипроліферативні (антитуморогенні), імуномодульвальні та радіопротективні ефекти ІФН-системи.

Призначення високоактивних ІФН-препаратів, які виступають як потужні імунодулятори, вимагає зваженого підходу, і в цьому аспекті фундаментальні знання про ІФН-систему є нагальною необхідністю для значного кола клініцистів.

Ключові слова: інтерферон-система, імунітет, інтерферогенез.

Погляд в історію. Медицина знає немало випадків, коли фундаментальному вивченню того чи іншого явища передувало втілення в практику. Мабуть найяскравішим прикладом може бути розробка Луї Пастером (1885) антирабічної вакцини та її успішне впровадження в той час, коли про віруси як абсолютно відмінний від інших мікробів клас паразитів нічого не було відомо.

Інтерференція вірусів була відкрита вже на початку становлення вірусології у 20-30-х роках ХХ сторіччя, коли почалась інтенсивна розробка способів виділення, культивування та ідентифікації вірусів і створення експериментальних моделей вірусних інфекцій. Перші повідомлення про інтерференцію вірусів у людини і тварин належать Hoskins (1935), Magrassi (1935), у рослин – Thung (1931), Salaman (1933), а у бактерій – Luria (1942).

На той час у найбільш загальному вигляді суть інтерференції уявлялась як неможливість репродукції вірусу в системі, в якій попередньо відбувалась репродукція іншого вірусу.

Нам не вдалось точно встановити, кому саме належить авторство терміну «інтерференція» – здається, вперше його застосували Findlay, MacCallum (1937). Існує два дещо відмінних варіанти перекладу поняття – від латинського префікса *inter* – поміж та *ferens* – той, що несе, або *ferio* – б'ю, вражаю. Крім того, вважається, що він був запозичений з фізики – за аналогією з інтер-

ОГЛЯДИ ТА ЛЕКЦІЇ

ференцією хвиль. Зрештою, з англійської *interferense* – це перешкода, втручання.

Накопичені результати вивчення інтерференції за попередній десяток років дозволили Issaacs, Lindenmann (1957) встановити, що клітини, інфіковані вірусом грипу, починають виробляти та виділяти у міжклітинний простір особливий білок, який заважає репродукції вірусів. Швидко було встановлено, що цей білок має сувору видоспецифічність – діє тільки в межах одного виду або в культурах клітин одного видового походження і, в той же час, має широкий спектр противірусної дії. Невдовзі були встановлені характеристики інтерферуючих білків, які отримали назву інтерферони (ІФН), відпрацьовані методи їх одержання, очистки й концентрації. Виявилось, що інтерферони відзначаються високою біологічною активністю. Відразу почала втілюватись ідея їх застосування для профілактики та лікування. Це дозволило вже у 60-70-х роках застосувати лейкоцитарний інтерферон людини як противірусний препарат. Наприкінці сторіччя було налагоджено виробництво інтерферонів на основі методів «генної інженерії», де продуцентом інтерферонів виступали не лейкоцитарні культури, а бактерії або дріжджі. З'явилась можливість застосовувати високоактивні препарати, доступні для широкого загалу хворих.

В історичному аспекті ми наштовхуємось на паралелі з етапами розвитку імунології, яка з чисто прикладного застосування у бактеріології та інфектології переросла у загальномедичну галузь пізнання. Закономірно, що першими на феномен інтерференції вийшли вірусологи і, відповідно, перші впровадження в практику належать вірусологам та інфекціоністам – адже репродукція вірусів є найяскравішою і майже ідеальною природною моделлю цього явища. В сучасних умовах вивчення інтерференції вийшло далеко за межі вірусології, стало предметом вивчення біологів і медиків багатьох спеціальностей.

Проте питання про механізм дії інтерферонів і, тим більше, ініціації інтерферогенезу залишалося відкритим. У загальних рисах було зрозуміло, що ІФН якимось чином пригнічують трансляцію вірусних білків і ймовірно блокують репродукцію вірусів на рівні транскрипції. Слід підкреслити, що досі залишається досить значним розрив між розумінням біологічної суті інтерферогенезу і застосуванням ІФН-терапії – це аж ніяк не сприяє раціональному використанню цих високоактивних препаратів і тому мета нашого викладу – висвіт-

лити сучасні уявлення про інтеферогенез і механізм дії ІФН.

Загальні положення. Природа гомеостазу полягає у збереженні біологічної константності протягом життя і розмноження будь якого організму. Першою системою гомеостазу в процесі еволюції став генетичний код, який і започаткував біологічну еру на Землі. Проте, коли у прокариотів геном досяг розміру 10,6 кД, його величина стала на заваді правильності зчитування матричного синтезу ДНК – якщо вважати, що помилки відбуваються 1 раз на 10,4 кД нуклеотидного ланцюга ДНК. В еукариотів геном виріс до 10,9 кД і створилась розділена, але взаємозалежна система – ядро (хромосоми) – рибосоми. Логічно, що складна система контролю за синтезом матричних ДНК не розвинулась для клітинних РНК, розмір яких не перевищує 10,4 кД, тобто критичної довжини, коли помилки зчитування незворотні. Матричний синтез дозволив вирішити проблему спадковості і в той же час не припинив дорогу мутаціям як головному фактору еволюції. Попри інші мутагенні (еволюційні) фактори – наприклад симбіоз, хімічні та радіаційні впливи – чільне місце, як це показали дослідження останніх десятиріч, безперечно належить вірусам як найбільш універсальному засобу переносу та ампліфікації генів в інший геном. Адже у бактерій геном майже на 30 % складається із мозаїки генів вірусного походження, а у хребетних вважається, що майже половина геному – це гени вірусного походження і модифіковані гетерогенні гени. У хребетних і вищих хребетних (ссавців) процес еволюції за своїми результатами виявився найуспішнішим, що, в свою чергу, вимагало створення досконалих систем гомеостазу, чого не спостерігається у безхребетних.

Найяскравішим і доволі добре вивченим феноменом є імунна система (ІС). Оскільки мутації генів реалізуються зміною кодованих ними білків, то й функцією імунної системи є підтримання білкового гомеостазу. Не дивно, що вивчення патогенезу інфекційних хвороб і опірності до них після перенесеної інфекції стали відправним пунктом і наріжним каменем у вивченні системи імунітету – адже патогенні мікроби обов'язково через свої білки-антигени викликають імунні реакції. Пізніше прийшло розуміння патогенезу аутоімунних захворювань, алергічних станів і онкогенезу як процесів, тісно пов'язаних з імунною недостатністю.

Проте до компетенції імунної системи не може входити підтримання постійності геному і контро-

лю за передачею генетичної інформації за класичною схемою один ген – один білок, адже її дія обмежується кінцевим результатом – елімінацією клітин зі зміненою мембраною чи нейтралізацією мікробів і вільних білків (ендо- й екзотоксинів, дериватів зруйнованих тканин тощо).

Отже, в процесі еволюції необхідним було створення ефективної системи ліквідації порушень у передачі генетичної інформації на рівні транскрипції і трансляції. Такі ефекти, поза сумнівом, належать ІФН.

Для подальшого викладу слід зупинитись на деяких дефініціях. Інтерферони (ІФН), за сучасними уявленнями, розглядаються як сигнальні білки, що блокують транскрипцію-трансляцію внаслідок ініціації їх синтезу в клітинах, де відбувся збій у передачі генетичної інформації. Ця система багатокomпонентна і її контроль охоплює увесь процес.

Багатопланові та інтенсивні дослідження інтерференції останніх десятиріч дозволили перейти від уявлення про ІФН як інгібіторів репродукції вірусів до формулювання теоретичних положень про «систему інтерферону» (Ф.И. Ершов, 1996). На нашу думку, така назва-термін є не дуже вдалою стилістично, хоч і правильна за суттю. По-перше, вживання «інтерферон» в однині применшує значення і складність явища, по-друге, ключовим є не «система», а «інтерферон», а в такому порядку втрачається інформаційне навантаження. Нами пропонується застосування назви «інтерферон-система» (ІФН-система), яка, через уникнення прикметникової форми (за аналогією – імунна система), дозволяє надати цьому словосполученню універсального звучання – *interferon system* (англ.).

Тривають дискусії відносно специфічності інтерферон-системи. Виходячи з аналогій із імунною системою – один антиген – відповідний імунноглобулін або Т-лімфоцит (незалежно від їх походження – гомогенні чи гетерогенні) нейтралізують антигени, ІФН-система не є специфічною, адже вона не розрізняє, що саме спричинило збій транскрипції-трансляції. Якщо ж поглянути з іншого боку, то специфічність ІФН-системи полягає у чіткому розрізненні притаманній цій клітині транскрипції-трансляції і ліквідації порушень цього процесу незалежно від причини, яка його викликала. Таким чином, можна стверджувати, що специфічність ІФН-системи, будучи принципово відмінною від специфічності імунної системи, все ж є найважливішою її особливістю. З цього випливає й інший аргумент щодо специфічності – за біологічними ефектами можлива тільки видо-

ва ІФН-резистентність – адже ІФН-система за своїм механізмом дії здатна контролювати синтез тільки власних нуклеїнових кислот і, як наслідок, синтез власних білків.

Якщо розглядати специфічний захист як одне ціле, то напрошується висновок про невіддільність ІС та ІФН-системи – їх поділ виглядає дещо штучним. Зрозуміло, що мета експериментальних досліджень якомога чистіше відстежити певні деталі, тоді як резистентність – це обов'язково спільний ефект. Існує багато експериментальних і клінічних підтверджень цього погляду. Наприклад, деякі ІФН чітко працюють як лімфокіни, крім того, саме імуніцити є потужними продуцентами ІФН – тобто їх активація може виступати і як додатковий фактор інтерфероногенезу. Отже, цілком обґрунтованим здається об'єднання цих систем в єдину систему специфічної реактивності-резистентності (ІРР), які, попри різниці в механізмі дії, мають схожий кінцевий ефект.

Клінічні аспекти. Вже на початках вивчення явища інтерференції було встановлено, що віруси значно відрізняються за ступенем інтерфероногенності і репродукція внесеного в систему наступного вірусу також може супроводжуватись значними коливаннями – від повної неможливості репродукції до утворення повноцінних віріонів. Навіть деякі штами вірусу в межах одного виду відрізняються за цими двома параметрами і комбінація – інтерферуючий вірус і блокований вірус зовсім не передбачувана. Очевидно, що інтерфероногенні властивості вірусів не є абсолютними – це лежить в основі їх біологічної природи та патогенних можливостей. Патогенез вірусних інфекцій є прямим свідченням інтерфероногенних та імунних реакцій. Умовно вірусні інфекції за цими параметрами можна поділити на три групи.

Перша – це інфекції з ефективним інтерфероногенезом. Збудники – РНК-вмісні віруси (грип, інші ГРВІ, кір, епідемічний паротит, гепатит А, поліомієліт та інші ентеровірусні інфекції). Особливості патогенезу свідчать, що блокування ІФН репродукції вірусів є швидким та ефективним, передуює імунній відповіді.

До другої групи можна віднести інфекції, спричинені, передусім, ДНК-вмісними вірусами, для яких характерною рисою є здатність до персистенції, хронізації, загострень у випадках стресових ситуацій або спричиненої іншими факторами недостатності ІС та ІФН-системи (герпес, аденовірусна інфекція, цитомегаловірусна інфекція, гепатит В тощо).

ОГЛЯДИ ТА ЛЕКЦІЇ

Третя група – це інфекції з високою летальністю, тяжким і непрогнозованим перебігом, спричинені найчастіше арбовірусами або близькими до них за вірусологічними параметрами збудниками (арбовірусні геморагічні гарячки та енцефаліти, сказ). Крім того, до цієї групи можна віднести ВІЛ-інфекцію та гепатит С.

Якщо для збудників першої групи характерна виражена цитопатогенна дія (ЦПД), то представники другої відзначаються найчастіше відсутністю ЦПД внаслідок репродукції вірусу, а елімінація інфікованих клітин в основному відбувається через активацію клітинних імунних реакцій (Т-лімфоцити). У третій групі швидкоплинність інфекцій із руйнуванням життєво важливих органів і систем, яка супроводжується бурхливою ЦПД, не дає можливості, як правило, до створення специфічної резистентності – ці реакції просто запізнюються. Є й інша причина – незворотність процесу внаслідок недостатності функції ІС та ІФН-системи, пов'язаної власне з біологічною сутністю вірусу.

Ми не претендуємо на всеохоплюючу класифікацію вірусних інфекцій за ознакою ефективності ІФН-системи – адже клінічний досвід вказує на принципову неможливість такого підходу. Проте, викладені в цих коротких тезах патогенетичні відмінності вірусних інфекцій свідчать тільки на користь головного – ІФН-система – це система контролю передачі генетичної інформації і блокування порушень цього процесу. Факт існування онкозахворювань і летальних вірусних інфекцій тільки свідчить, що можливості ІФН-системи, її ефективність не можна абсолютизувати, так само як й ІС.

Встановлено, що ІФН-система функціонує за чіткою схемою – етапами (індукція – продукція – ефекти), які й будуть розглянуті нижче.

Механізм інтерферогенезу. Відомо біля тридцяти генів ІФН у людини, тільки біля 15 з них мають самостійне значення. Вважається, що гени ІФН локалізуються в 13-й хромосомі (ІФН- α), 9-й (ІФН- β) і 12-й (ІФН- γ), проте найімовірніше, головна локалізація ІФН – саме 9-а хромосома.

Щодо механізму інтеферогенезу – існує більше теоретичних припущень, ніж встановлених фактів.

В останнє десятиріччя в циклі робіт Fire, Mello (Нобелівська премія за 2006 р.) показано, що невідповідна двониткова РНК є пусковим фактором супресії гену у гомологічно-залежний спосіб. Цей процес отримав назву РНК-інтерференції.

Відкриття, що клітини мають спеціальний механізм супресії гомологічних генів шляхом відсте-

жування та деградування двониткової РНК, значно розширило знання про управління генами. Важливо, що механізм РНК-інтерференції спрацьовує як у випадку екзогенної, так і ендогенної двониткової РНК, не властивих цій клітині. Показово, що механізм РНК-інтерференції найчіткіше проявляється у випадках інфікування РНК-вмісними вірусами.

У загальних рисах суть механізму полягає в тому, що мРНК (*messenger RNA*) має не тільки інформаційну (ДНК>РНК>-білок), але й контролюючу функцію. Якщо на рибосомі знаходиться не гомологічна РНК, то спостерігається тригерний ефект – відбувається деградація РНК з негомологічною послідовністю нуклеотидів, а мРНК розпадається на так звані мікро-РНК, які блокують гени.

Як не парадоксально, але цілком ймовірно припустити, що цей механізм повинен ініціювати експресію ІФН-генів, адже важко уявити їх супресію в час ініціації РНК-інтерференції. Логічно припустити, що саме мікро-РНК, крім блокування інших генів, активують саме ІФН-гени – обидва процеси не можуть бути не пов'язаними один з одним.

Характеристика інтерферонів і механізм їх дії. Відомо декілька десятків ІФН, які діляться на три класи – α , β , γ . Питання про множинність ІФН, гени яких знаходяться навіть у різних хромосомах, можна порівняти з класами імуноглобулінів (M, G, A, D, E) – не тотожними, з різними функціями, але однакового походження.

Кожен ген, що кодує мРНК, складається із 494-498 пар нуклеотидів, які детермінують послідовність 165-166 амінокислот, описані й коротші ланцюги – до 155 амінокислот. Отже, ІФН є скоріше не білками, а поліпептидами, що й пояснює їх стійкість та ефективність очистки. У ІФН-? два домени висококонсервативні (з 28 до 80 та з 115 до 150 амінокислоти) – вважається, що саме вони забезпечують зв'язок із клітинним рецептором і є медіаторами ефекту. Схожі елементи спостерігаються у ІФН- β та ІФН- γ . Варіанти послідовностей в інших місцях розглядаються як підтипи ІФН. Особливістю ІФН є відносна низька їх імуногенність.

Секретований внаслідок індукції, ІФН виділяється клітинами-продуцентами і контакт його з віддаленими або близько розташованими чутливими клітинами викликає у них зміну метаболізму, проте які-небудь особливі противірусні сполуки у клітині не утворюються. Отже, за механізмом дії ІФН нагадують пептидні гормони. Генетично детерміновані ІФН-рецептори на мембранах

клітин виступають як найважливіший елемент ІФН-активності.

У загальних рисах дія ІФН полягає в індукції синтезу протеїнкінази, котра фосфорилує один з ініціюючих факторів трансляції. Вибіркове пригнічення трансляції в час репродукції вірусу можна пояснити або більшою чутливістю вірусної трансляції, або просто виключенням трансляції в клітині, до якої приєднався ІФН. Крім того, під впливом ІФН посилюється активність 2-5A-синтетази, яка через синтез 2,5-олігоаденілової кислоти активує нуклеази, що ліквідують не зв'язані з рибосомами вірусні НК.

Важливою частиною ІФН-ефектів є взаємодія із ІС. Встановлено, що ІФН посилюють експресію антигенів головного комплексу гістосумісності, що й активує Т-лімфоцити. Одним з факторів стимуляції В-лімфоцитів Т-клітинами виступає ІФН-β2 (ІЛ-6). В активації макрофагів безпосередню участь бере ІФН-γ. У той же час, ІФН-α здатні продукувати практично всі імуноцити, проте головними вважаються макрофаги. ІФН-β в основному продукується клітинами фібробластного та епітеліоїдного типу і В-лімфоцитами, а утворення ІФН-γ Т-лімфоцитами вимагає присутності допоміжних клітин – моноцитів і макрофагів. Відомо, що ІФН-α і менше ІФН-β відзначаються вираженим противірусним ефектом, тоді як ІФН-γ більше притаманні імуномодулювальні властивості, характерні для лімфокінів.

Підсумовуючи викладене, можна вважати, що головні ефекти ІФН-системи такі:

1) противірусні,

2) антимікробні,

3) антипроліферативні (антитуморогенні),

4) імуномодулювальні,

5) радіопротективні.

Досвід застосування ІФН або їх індукторів у лікуванні різної патології, особливо коли це стосується великих доз і тривалих періодів, свідчить про можливість виникнення значних побічних ефектів та ускладнень. Призначення високоактивних ІФН-препаратів, які виступають як потужні імунодулятори, вимагає зваженого підходу, і в цьому аспекті фундаментальні знання про ІФН-систему є нагальною необхідністю для значного кола клініцистів.

INTERFERON-SYSTEM. MOLECULAR-BIOLOGICAL ASPECTS

L.Yu. Shevchenko

SUMMARY. Historical development of notions about interferon (IFN)-system, its clinical importance, general characteristics of interferons and interferonogenesis mechanism is described. Antivirus, antimicrobial, antiproliferative (antitumorigenic), immunomodulating and radioprotective effects of IFN-system are marked.

Prescription of highly active IFN-preparations as effective immunomodulators requires specific approach and in this aspect fundamental knowledge about IFN-system are immediate necessity for great number of clinicians.

Key words: *interferon-system, immunity, interferonogenesis.*