

# Особенности иммунного ответа на свои и чужие антигены

*А.В. Печерский<sup>1</sup>, В.И. Печерский,*

*О.В. Печерская<sup>1</sup>, В.Ф. Семиглазов<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Северо-Западный Государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия. <sup>2</sup>НИИ онкологии им. профессора Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия.*

*электронный адрес: a\_pechersky@mail.ru*

## Резюме

Неспособность врождённого, а затем и приобретённого иммунитета обеспечить элиминацию чужих антигенов и их носителей приводит к дополнительной стимуляции Т-хелперами-17 (Th17) реакций врождённого иммунитета. Избыточность стимуляции Т-хелперами-17 (Th17) может приводить к развитию аутоиммунных заболеваний. Аутоиммунные заболевания также могут вызваться избыточным образованием продуктов катаболизма нуклеиновых кислот (мононуклеотидами пуринового ряда и их метаболитами). Опухолевые клетки, утрачивающие пептидные копии тканеспецифичных антигенов МНС I класса (аналоги HLA), напротив, оказываются недоступны для элиминации приобретённым иммунитетом.

**Keywords:** тканеспецифичные антигены, нуклеарные антигены, плюрипотентные стволовые клетки, регенерация, десенсибилизация, рак, противоопухолевая иммунотерапия.

## Введение

В норме чужие антигены инициируют иммунный ответ, направленный на элиминацию их и их носителей, а свои антигены групп крови, тканеспецифичные антигены, пептидные копии тканеспецифичных аутоантигенов, связанные с димерами МНС I класса (аналоги HLA), и нуклеарные антигены, напротив, защищены от иммунного ответа [1, 2]. Если

ответ врождённого, а затем и приобретённого иммунитета не приводит к элиминации чужих антигенов и их носителей, то начинается дополнительная стимуляция Т-хелперами-17 (Th17) реакций врождённого иммунитета. Избыточность такой стимуляции может привести к аутоиммунным заболеваниям. При злокачественных опухолевых заболеваниях, напротив, развивается несостоятельность иммунного ответа (из-за утраты опухолевыми клетками экспрессии пептидных копий тканеспецифичных антигенов, связанных с димерами МНС I класса / аналогами HLA) [1, 2].

### **Особенности Иммунного Ответа на Чужие Антигены**

Антигены вирусов, грибов, бактерий и паразитов (простейших и гельминтов) вызывают у человека первично ответ врождённого иммунитета (макрофагов, компонентов системы комплемента, агглютининов и других факторов), а затем вторично - ответ приобретённого иммунитета (с образованием высокоспецифичных антител или цитотоксических Т-клеток). Ответ приобретённого иммунитета определяется Т-хелперами 0 (Th0) после получения прошедших процессинг пептидных копий антигенов от антиген-представляющих клеток [1, 2].

В зависимости от выбранного иммунного ответа Th0 дифференцируются в Th1 или в Th2 [1, 2], а при необходимости дополнительного стимулирования реакций врождённого иммунитета - в Th17. Будучи представителями приобретённого иммунитета Th17 не только стимулируют интенсивность реакций врождённого иммунитета, но и регулируют взаимодействие врождённого иммунитета и приобретенного иммунитета. Th17 усиливают ответ приобретённого иммунитета через стимуляцию антиген-представляющих клеток или подавляют ответ приобретённого иммунитета через продукцию IL-10 и другими способами. Регуляторами клеточного иммунитета, определяющими направленную миграцию цитотоксических Т-клеток [1, 2] являются Th1a, а стволовых

клеток - Th1b [3, 4, 5, 6]. Регуляторами гуморального иммунитета, определяющими дифференцировку В-клеток в плазматические клетки, образующие высокоаффинные антитела IgG, IgA и IgE, являются Th2 [1, 2].

Ввиду того, что приобретённый иммунитет не способен реагировать на антигены всех вирусов, грибов, бактерий и паразитов, с которыми контактирует макроорганизм (его кожа, слизистые его лёгких, желудочно-кишечного тракта, мочеполовых органов), то защиту от их проникновения и генерализации обеспечивает преимущественно врождённый иммунитет [1, 7]. Дополнительная стимуляция Т-хелперами-17 (Th17) реакций врождённого иммунитета (которая может привести к гиперчувствительности IV типа) развивается при безуспешности элиминации внеклеточных бактериальных и грибковых инфекций врождённым иммунитетом и вторично - приобретённым иммунитетом при участии Th1 или Th2. Дифференцировка Th0 в Th17 происходит, например, при существенном увеличении антигенной нагрузки при поступлении через кожу, слизистые лёгких, кишечника или мочеполовых органов множественных антигенов, содержание которых в отдельности недостаточно для инициации ответа приобретённого иммунитета. Также участие Th17 требуется для усиления ответа врождённого иммунитета на Т-независимые антигены, распознаваемые специфическими рецепторами (липополисахаридными рецепторами и другими) клеток врождённого иммунитета (моноцитов / макрофагов, дендритных клеток, В-клеток), а также эндотелиальных и других клеток, участвующих в запуске воспалительной реакции [1, 2]. Примером Т-независимых антигенов является эндотоксин грам-отрицательных бактерий, представленный липополисахаридами, которые из-за отсутствия белковой части в своей молекуле не подвергаются процессингу антиген-представляющими клетками, не образуют пептидных копий, презентуемых молекулами МНС II типа, и, соответственно, не иницируют ответ приобретённого иммунитета. Ввиду отсутствия ответа приобретённого иммунитета на Т-независимые антигены для элиминации Т-независимых антигенов и их носителей Th0

дифференцируются преимущественно в Th17, стимулирующие реакции врождённого иммунитета. Так, лизис некоторых грам-отрицательных, имеющих липидный бислой, бактерий осуществляется комплементом, образуемым макрофагами, и катионными белками, образуемыми макрофагами и гранулоцитами [2].

При избыточном или длительном поступлении в кровоток антигенов и при неспособности макрофагов фагоцитировать образовавшиеся после их связывания с антителами иммунные комплексы также возникает потребность в дополнительной стимуляции макрофагов Т-хелперами-17 (Th17). Без своевременного и адекватного с участием комплемента фагоцитирования макрофагами иммунных комплексов иммунные комплексы способны вызвать патологические иммунные реакции гиперчувствительности III типа [2]. Прикрепляясь к эндотелию сосудов почек и других органов, иммунные комплексы вызывают повреждение их тканей (как это происходит при новой коронавирусной инфекции - 2019-nCoV [7]). Неспособность врождённого иммунитета и вторично - приобретённого иммунитета при участии Th2 обеспечить элиминацию антигенов и их носителей может привести к продукции активированными В-клетками IgE (к развитию гиперчувствительности I типа).

Перекрёстные антигены вирусов, грибов, бактерий и паразитов, имеющие сходство с тканеспецифичными и нуклеарными антигенами, а также с антигенами групп крови, способны инициировать иммунный ответ, направленный не только против них самих (как носителей чужеродных антигенов), но против клеток и тканей человека [1, 2]. Аутоноклеопротеины и нуклеопротеины других эукариотов не распознаются иммунной системой человека как чужие антигены в отличие от нуклеопротеинов бактерий и вирусов [8]. Поэтому образование антинуклеарных антител при аутоиммунных заболеваниях обусловлено ответом иммунной системы человека на перекрёстные антигены нуклеопротеинов бактерий и вирусов

(подобно ответу на перекрёстные бактериальные антигены, имеющие сходство с тканеспецифичными антигенами), а не на нуклеопротеины собственных клеток.

Избыточный ответ приобретённого иммунитета (включая избыточную стимуляцию Т-хелперами-17 (Th17) реакций врождённого иммунитета), а также иммунный ответ на перекрёстные антигены могут привести к аутоиммунным заболеваниям. Сходство антигенов бактерий с тканеспецифичными антигенами определённых тканей может приводить к аутоиммунному поражению соответствующих отдельных тканей и органов (кишечника при болезни Крона, мочевого пузыря при интерстициальном цистите и другие примеры).

Подобно дифференцировке Th0 в Th1 и Th2 [1, 2] дифференцировка Th0 в Th17 начинается после взаимодействия Th0 с антиген-представляющими клетками. Антиген-представляющие клетки (дендритные клетки, макрофаги и В-клетки) поглощают антигены и осуществляют их процессинг, экспрессируя пептидные копии антигенов вместе с молекулами МНС II класса для представления Th0 [1, 2]. Дифференцировка Th0 в Th17 регулируется IL-1 $\beta$ , IL-6, трансформирующим фактором роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ), IL-21, IL-23. Иницируют дифференцировку Th0 в Th17 цитокины: IL-1 $\beta$ , IL-6 и TGF $\beta$ . Стимулирует дифференцировку Th0 в Th17 - IL-21. Функциональную активность дифференцированных Th17 поддерживает IL-23, продуцируемый дендритными клетками и макрофагами [9].

Th17 продуцируют IL-17A, IL-17F, IL-22 и TNF $\alpha$  [9]. IL-17A и IL-17F, связываясь со специфическими рецепторами семейства IL-17R макрофагов, фибробластов, нейтрофилов, эпителиальных, эндотелиальных и других клеток, стимулируют продукцию ими провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ) и хемокинов, а также образование макрофагами / моноцитами оксида азота и других цитотоксических факторов. IL-17, стимулируя продукцию провоспалительных цитокинов макрофагами и другими

клетками, усиливает продукцию эндотелиальными клетками фактора Виллебранда, повышающего адгезию и агрегацию тромбоцитов [2, 9, 10, 11, 12]. Также IL-17A вызывает инкрецию гранулоцитарного и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующих факторов [10] для дополнительного образования иммунокомпетентных и стволовых клеток.

IL-22 связывается с IL-22R1 и IL-10R2 неиммунных клеток (кератиноцитов, эпителиальных клеток лёгких и кишечника, гепатоцитов, фибробластов и других клеток), инициируя ответ врождённого иммунитета на внеклеточные бактериальные и грибковые инфекции. Входя в суперсемейство IL-10 IL-22, в отличие от IL-10, не ингибирует выработку провоспалительных цитокинов макрофагами / моноцитами (поскольку они не имеют рецепторов к IL-22). IL-22 индуцирует синтез белков острой фазы воспаления, провоспалительных цитокинов, хемокинов, вызывает гиперпролиферацию клеток [9].

Th, продуцирующие не только IL-17, но и интерферон- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ), получили название «двойные позитивные T-лимфоциты», или «Th17/Th1-лимфоциты» [9]. Кроме Th17 IL-17 продуцируется также  $\gamma\delta$ T-клетками, цитотоксическими T-клетками, NK-клетками, а также макрофагами, тучными клетками и нейтрофилами [13]. Данные примеры свидетельствуют о том, что кроме трёх известных субпопуляций Th (Th1, Th2 и Th17) имеются другие субпопуляции Th, выполняющие объединённые функции, а также имеются иные, отличные от Th, клетки, принимающие участие в регуляции иммунного ответа. Дифференцировка Th0 и других клеток, привлекаемых для регуляции иммунного ответа, сопровождается ранжированием их генов [1, 2] с оставлением частей ДНК (аналогичных экзонам матричной РНК [14]), обеспечивающих выполнение ими объединённых и дублирующих функций.

При псориазе мигрирующие в дерму и эпидермис Th17 избыточно образуют IL-17A и IL-22. IL-17A индуцирует образование макрофагами и другими клетками провоспалительных цитокинов и хемокинов,

привлекающих дополнительные макрофаги, а IL-22 вызывает усиленную пролиферацию кератиноцитов. Продукция макрофагами и дендритными клетками цитокинов, стимулирующих дифференцировку Th0 в Th17 при псориазе, псориатическом артрите и анкилозирующем спондилите, инициируются стрептококковыми и другими антигенами, поступающими при нарушении барьерной функции кожи [1, 2, 9, 15], и другими путями. Образовавшиеся антитела к N-ацетилглюкозамину стрептококков группы А способны взаимодействовать с эпитопом цитокератина эпителиальных клеток из-за их антигенного сходства [2], поскольку цитоскелет всех клеток эукариот имеет гомологи белков цитоскелета их филогенетических предшественников – прокариот. Антигены поглощаются (подвергаются интернализации) антиген-представляющими дендритными клетками (в коже представленными клетками Лангерганса) и моноцитами / макрофагами, осуществляющими процессинг антигенов и образование провоспалительных цитокинов. Затем антиген-представляющие клетки, мигрируя в региональные лимфатические узлы, взаимодействуют с Th0, которые в свою очередь, дифференцируясь в Th1, активизируют цитотоксические Т-клетки и макрофаги, поражающие кожу и образующие гранулёмы. При недостаточности ответа врождённого иммунитета и вторично – приобретённого иммунитета для элиминации антигенов и их носителей Th0 дифференцируются в Th17 для дополнительной стимуляции реакций врождённого иммунитета. При псориазе макрофаги, Th1, Т-клетки памяти, цитотоксические Т-клетки, а затем Th17 и дополнительно привлечённые макрофаги мигрируют в дерму, а затем в эпидермис, вызывая повышенную пролиферацию кератиноцитов и ангиогенез. IL-17A, образуемый Т-хелперами-17 (Th17) также стимулирует дифференцировку остеокластов и образование ими IL-6 и TNF $\alpha$  [16], участвующих в развитии воспаления и деструкции суставов. Соответственно, псориаз у части больных сопровождается псориатическим артритом.

Гиперпролиферация кератиноцитов приводит к сокращению клеточного цикла кератиноцитов и к нарушению их дифференцировки. Повышенная пролиферация кератиноцитов сопровождается интенсивным ангиогенезом, а также массивной инфильтрацией кожи макрофагами, Th1, Th17, цитотоксическими Т-клетками. Макрофаги и цитотоксические Т-клетки, продолжая инкретировать провоспалительные цитокины ( $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$ ,  $\text{IL-6}$ ), усиливают воспаление [17]. Хроническая стимуляция цитокинами приводит к трансформации макрофагов / моноцитов в гигантские эпителиоидные клетки. Ядро гранулёмы, состоящее из макрофагов и эпителиоидных клеток, окружено лимфоцитами. Возможен некроз и вызванный пролиферацией фибробластов фиброз [2].

Обратное развитие псориатических бляшек при назначении моноклональных антител к  $\text{IL-17A}$ , образуемых Т-хелперами-17 (Th17) [12], свидетельствует о ведущем участии в патогенезе псориаза Th17, дополнительно стимулирующих реакции врождённого иммунитета. К сожалению, применяемая при псориазе анти-Т-клеточная и антицитокиновая терапия позволяет добиться лишь ремиссии, но не излечения заболевания, поскольку направлена на уменьшение выраженности, а не на прекращение или на переформатирование патологического иммунного ответа. Десенсибилизация открывает новые возможности в лечении аутоиммунных заболеваний, и в частности псориаза, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита. По сравнению с генно-инженерной терапией, направленной на блокирование действия отдельных факторов патологического иммунного ответа (посредством применения моноклональных антител - ингибиторов  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IL-17A}$  и других цитокинов), десенсибилизация способна переформатировать сам патологический иммунный ответ.

Для прекращения патологического иммунного ответа врождённого иммунитета (в том числе для снижения активности макрофагов), а также для

десенсибилизации с переструктурированием вторично-сформированного ответа приобретённого иммунитета (в данном случае для снижения активности Th17) необходима элиминация вызвавших патологический иммунный ответ антигенов, прекращение их дальнейшего поступления в организм / их контакт с организмом. В противном случае антигены, вызвавшие патологический иммунный ответ, будут продолжать инициировать реакции врождённого и вторично - приобретённого иммунитета.

При псориазе, псориатическом артрите, анкилозирующем спондилите необходимо исключить контакт вызвавших патологический иммунный ответ антигенов с кожей и со слизистыми пациентами. При наличии стрептококковых заболеваний кожи, миндалин и других тканей и органов, паразитарных заболеваний, вызванных гельминтами и / или простейшими, дисбактериоза кишечника, заболеваний, передающихся половым путём, вызванных *Chlamydia trachomatis* и другими инфекциями, а также при поступлении сенсibilизирующих антигенов с пищей пациентам показано проведение соответствующей антибактериальной, противогрибковой, противопаразитарной терапии, плазмафереза (для удаления антигенов, поддерживающих жизнеспособность клеток иммунологической памяти), ультрафиолетового облучения крови, разрушающего антитела, а также необходима нормализация микрофлоры кишечника и исключение вызывающих сенсibilизацию антигенов из пищевого рациона [6].

Обладающие высокой иммуногенностью пищевые антигены, сходные с антигенами групп крови (AB0, фенотипов Rh, Kell), при их несовпадении с антигенами пациентов активируют компоненты альтернативного пути системы комплемента, а также связываются с агглютинидами AB0 (IgM), активируя компоненты классического пути системы комплемента. В результате стимулируется активность макрофагов и вторично формируется ответ приобретённого иммунитета. Употребление продуктов растительного и

животного происхождения, имеющих наименьшую частоту встречаемости антигенов, комплементарных агглютинином пациентам, на основании таблицы доктора В.И. Печерского [6] позволяет уменьшить антигенную нагрузку на организм пациентов и риск развития патологического иммунного ответа. Полностью исключить из пищевого рациона продукты, антигены которых комплементарны агглютинином пациентам, можно посредством проведения экспресс-реакций преципитации с антигенами продуктов и агглютинином слюны или сыворотки крови пациентов. Учитывая высокое содержание антигенов групп крови на эритроцитах, из пищевого рациона необходимо исключить продукты, содержащие кровь животных. Данные меры позволят предотвратить риск инициации ответа врождённого иммунитета и вторично - приобретённого иммунитета с дифференцировкой Th0 в Th1 / Th2 и/или в Th17. Для связывания экзогенных пищевых антигенов агглютинином (IgM), содержащимися в высоком титре в слюне, следует тщательно пережёвывать пищу [6].

Цитокины, образуемые Th1 (INF- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\beta$ ), подавляют активность Th2, а цитокины, образуемые Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13), подавляют активность Th1, направляя этим ответ приобретённого иммунитета на презентованные антигены по клеточному или по гуморальному пути. Th0 могут менять направление своей дифференцировки, переключая клеточный иммунный ответ на гуморальный (дифференцируясь в Th2, подавляющие активность Th1) и наоборот – переключать гуморальный иммунный ответ на клеточный (дифференцируясь в Th1, подавляющие активность Th2) [1, 2]. Th1 и Th2 являются не только антагонистами по отношению друг к другу, но и подавляют активность Th17 через образование INF- $\gamma$  (Т-хелперами-1/Th1) и IL-4 (Т-хелперами-2/Th2). В свою очередь Th17, образуя IL-22, ингибируют выработку IL-4 Т-хелперами-2/Th2 [9]. Перенаправление дифференцировки Th0 в Th1b, регулирующие регенерацию, позволяет переключить патологический иммунный ответ на инициацию регенерации с образованием тканеспецифичных рецепторов у стволовых клеток [3, 4, 5, 6]. Так могут

быть переформатированы патологический гуморальный или клеточный приобретённый иммунный ответ, патологическое усиление Т-хелперами-17/Th17 ответа врождённого иммунитета и патологический ответ врождённого иммунитета на аутоантигены.

Подавлению иммунного ответа, регулируемого Th1a, Th2 и Th17, способствуют Т-супрессоры, образующие трансформирующий фактор роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) и другие цитокины [1, 2]. TGF- $\beta$ , являющийся критически-важным цитокином для дифференцировки Th0 в Th17, в низких дозах индуцирует образование Th17, а в высоких дозах - ингибирует образование Th17. В присутствии TGF- $\beta$  некоторые популяции Th17 экспрессируют противовоспалительный цитокин IL-10, ограничивающий избыточную активность Th17 [9, 18]. Выключение гена TGF- $\beta$  приводит к развитию фатального генерализованного аутоиммунного воспалительного процесса [1].

Препараты, содержащие ксеногенные тканеспецифичные антигены, имеющие сходство с аутоантигенами поражаемых при аутоиммунных заболеваниях тканей, способны переключать обусловленную микробными антигенами дифференцировку Th0 в Th1a, Th2, Th17 на дифференцировку в Th1b, регулирующие образование тканеспецифичных антигенов у стволовых клеток, мигрирующих в соответствующие ткани для их регенерации. Поэтому для десенсибилизации при аутоиммунных заболеваниях могут быть использованы ксеногенные препараты с тканеспецифичными антигенами поражаемых тканей [3, 4, 5, 6]. При псориазе ксеногенные препараты с тканеспецифичными антигенами кожи и сосудов (поражаемых при данном заболевании) можно рекомендовать для приёма внутрь. При псориатическом артрите и анкилозирующем спондилите ксеногенные препараты с тканеспецифичными антигенами хрящей суставов и сосудов также можно рекомендовать для приёма внутрь. Местное нанесение на кожу данных препаратов нецелесообразно, поскольку они могут восприниматься, как хемоаттрактанты и этим усиливать патологически повышенную

макрофагальную реакцию. При псориазе местно может быть назначена физиотерапия – прогревание с постепенным увеличением температуры в виде ванночек с отваром цветков ромашки, обладающих выраженным противовоспалительным действием [7].

## **Участие Нуклеотидов и их Метаболитов в Инициации Иммунного Ответа**

Иммунный ответ может быть инициирован не только антигенами, но и пуриновыми нуклеотидами и их метаболитами, которые вместе с пуринэргическими рецепторами являются одними из самых древних медиаторов и рецепторов, появившихся на ранних этапах эволюции. Пуринэргические рецепторы, представленные несколькими семействами, являются наиболее многочисленной группой рецепторов среди всех живых организмов [19, 20]. Под воздействием внеклеточной АТФ наблюдается высвобождение кальция из внутриклеточных депо, пролиферация бактерий и клеток морских водорослей, а также CD34<sup>+</sup>-клеток периферической крови и костного мозга [21]. Выделение обладающих регуляторными функциями нуклеотидов и нуклеозидов во внешнюю среду происходит в норме (например, АТФ) и при патологии - при повреждении физическими, химическими, биологическими факторами, приводящими к гибели клеток (некрозу или апоптозу - программируемой клеточной смерти). Нуклеопротеины, оказавшиеся во внеклеточной среде, распадаются преимущественно за счёт гидролиза до мононуклеотидов и их производных [14]. Мононуклеотиды и их производные, имеющие пуриновые азотистые основания – аденин и гуанин (в том числе АТФ и аденозин - продукт внеклеточного гидролиза АТФ), способны связываться со специфичными пуринэргическими рецепторами, участвующими в регуляции пролиферации, апоптоза, инкреции цитокинов и других жизненно-важных процессов. Наиболее значимыми из пуринэргических рецепторов являются: P2X (связывающиеся с АТФ), P2Y (связывающиеся с АТФ, АДФ, УТФ, УДФ и с

их метаболитами) и P1 (связывающиеся с аденозином, образующимся при гидролизе АТФ) [22].

Ответ иммунных клеток на нуклеотиды и их метаболиты зависит от их концентрации. В высоких концентрациях внеклеточная АТФ, связываясь с P2X7 пуриnergическими рецепторами макрофагов, дендритных, эпителиальных и других клеток, индуцирует продукцию ими провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ ), свободных радикалов кислорода и азота, хемокинов, дополнительно привлекающих макрофаги и дендритные клетки. Этим высокие концентрации внеклеточной АТФ индуцируют дифференцировку Th0 в Th1 [23]. Высокие концентрации внеклеточной АТФ стимулируют не только формирование T-хелперами-1a/Th1a тканеспецифических рецепторов у цитотоксических T-клеток для уничтожения поражённых вирусами, злокачественных и других изменённых клеток, но и формирование T-хелперами-1b/Th1b тканеспецифических рецепторов у стволовых клеток для замещения ими погибших клеток [3, 4, 5, 6].

В низких концентрациях АТФ, связываясь с P2Y рецепторами, напротив, увеличивает продукцию противовоспалительного цитокина IL-10 и уменьшает продукцию макрофагами, дендритными и другими клетками провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$  и других), угнетает их способность инициировать дифференцировку Th0 в Th1. Аденозин в низких концентрациях, действуя через рецепторы P1, также ингибирует образование провоспалительных цитокинов и увеличивает образование противовоспалительного цитокина IL-10 [24].

Активация аденозиновых рецепторов P1A1 стимулирует дифференцировку и функционирование остеокластов, а активация аденозиновых рецепторов P1A2 подавляет функционирование остеокластов [25].

Пуринэргические рецепторы могут связываться не только с аденозином, но и с другими продуктами распада пуриновых нуклеозидов: инозином, гипоксантином, ксантином [26]. Развитие аутоиммунных воспалительных реакций в ответ на повышение содержания в крови человека мочевой кислоты (на гиперурикемию) при подагре косвенно свидетельствует о способности мочевой кислоты связываться с пуриновыми рецепторами макрофагов / моноцитов, дендритных, эпителиальных и других клеток с инициацией образования ими провоспалительных цитокинов.

Стимуляция P2Y<sub>1</sub>-рецепторов (by) АДФ повышает уровень ионов кальция, поступающих из внутриклеточных депо, и вызывает агрегацию тромбоцитов, а стимуляция P2Y<sub>12</sub>-рецепторов (by) АДФ способствует формированию правильной структуры тромба [27].

Внеклеточные пурины повышают пролиферацию фибробластов, связываясь с их пуринэргическими рецепторами. Соответственно повышение содержания пуринов, включая аденозин, при гибели клеток и при воспалении способствует развитию фиброза [28].

Увеличение гибели клеток у людей старше 35 лет [3, 4, 5, 6, 29, 30] приводит к гиперурикемии, которая стимулирует образование провоспалительных цитокинов макрофагами, дендритными, эпителиальными и другими клетками, повышает риск развития подагры, лимфомы, лейкоза и других заболеваний [31]. Увеличение гибели клеток с повышением во внеклеточном пространстве нуклеотидов и их метаболитов наблюдается также при воспалительных (в том числе аутоиммунных) заболеваниях. Повышенный уровень АДФ и аденозина наблюдается в дыхательных путях больных хронической обструктивной болезнью лёгких [32]. У больных псориазом внеклеточная ДНК распадающихся кератиноцитов, стимулирующая пуринэргические рецепторы макрофагов, дендритных клеток и образование ими провоспалительных цитокинов, является дополнительным фактором, поддерживающим воспаление [33].

У большинства микроорганизмов, растений, рыб и амфибий содержится полный набор уриколитических ферментов, позволяющих осуществить метаболизм пуринов до мочевины. У человека и у приматов отсутствуют ферменты расщепления мочевой кислоты, которая остаётся основным конечным продуктом распада пуриновых оснований [34] (только катаболизм белков завершается образованием мочевины [14]). Содержание мочевой кислоты в плазме крови определяется скоростью её поступления и выведения. Мочевая кислота выводится преимущественно почками (две трети экскреции) и через желудочно-кишечный тракт (треть экскреции). Пурины, поступающие с пищей, составляют только 30% выводимой мочевой кислоты. Назначение не содержащей пуринов диеты позволяет уменьшить содержание мочевой кислоты в плазме крови только на 15-20% [35]. Основной причиной повышения мочевой кислоты в плазме крови является нарастающее с возрастом увеличение гибели клеток. После 35 лет у людей на 1% в год происходит сокращение численности пула плюрипотентных стволовых клеток [3, 4, 5, 6, 29, 30, 36]. Из-за недостаточного пополнения стволовыми клетками погибшие старые клетки не возмещаются адекватным количеством низкодифференцированных клеток-предшественников, что делает невозможным завершение процесса регенерации [3, 4, 5, 6]. В ответ во всех тканях пропорционально возрасту возрастает образование клеточных ростовых факторов, стимулирующих деление оставшихся клеток-предшественников. Дополнительно к этому повышение образования клеточных ростовых факторов и эндокринных активаторов деления клеток (инсулина, гормона роста и других гормонов) у людей старше 35 лет происходит в ответ на снижение с возрастом продукции половых гормонов и обусловленное этим нарушение деления и дифференцировки клеток, несущих рецепторы половых гормонов [3, 4, 5, 6, 29]. Повышение митогенной активности вызывает ответ иммунной системы, клетки которой, выделяя цитотоксические факторы (свободные радикалы и другие), вызывают множественную гибель старых и интенсивно пролиферирующих

клеток для предупреждения злокачественной трансформации последних. Также повышается гибель клеток по механизму апоптоза из-за повышения уровней глюкокортикоидных гормонов, обусловленного, в том числе, снижением продукции половых гормонов с возрастом [30]. Повышенная гибель клеток у людей старше 35 лет приводит к увеличению содержания во внеклеточном пространстве нуклеотидов и их метаболитов, включая мочевую кислоту, и закономерно – к повышению риска развития подагры. Увеличение продолжительности жизни привело к увеличению доли людей старших возрастных групп, имеющих повышенный уровень мочевой кислоты. К настоящему времени повышенный уровень мочевой кислоты выявляется у трети населения планеты [37].

При лечении подагры у людей старше 35-40 лет кроме ограничения поступления пуринов с пищей необходимо устранить главную причину данного заболевания - уменьшить поступление нуклеотидов и их метаболитов во внеклеточное пространство, снизив повышенную гибель клеток. Восстановление пула плюрипотентных стволовых клеток у лиц старше 35-40 лет позволяет восстановить пополнение ими численности клеток-предшественников для последующего адекватного замещения погибших старых клеток, сопутствующего снижению компенсаторно повышенных клеточных ростовых факторов и уменьшения ответа иммунной системы (уничтожающей старые и интенсивно-делящиеся клетки с целью предупреждения злокачественной трансформации последних) [3, 4, 5, 6]. Таким образом, восстановление численности пула плюрипотентных стволовых клеток позволяет остановить нарастание связанных с возрастом патологических процессов, приводящих, в том числе, к повышению гибели клеток и сопутствующему увеличению поступления во внеклеточную среду нуклеотидов и их метаболитов (включая мочевую кислоту).

Формирование химеризма через трансфузию аллогенных плюрипотентных стволовых клеток в составе моноклеарной фракции

периферической крови, заготовленной от молодых доноров 18-23 лет, имеющих одинаковые с реципиентами группы крови (ABO, фенотип Rh, Kell) и пол, с последующим развитием иммунологической толерантности (патент РФ № 2350340) позволяет безопасно восстановить пул плюрипотентных стволовых клеток у людей старше 35-40 лет [3, 4, 5, 6]. Восстановление пула плюрипотентных стволовых клеток у мужчин позволяет также восстановить количество клеток Лейдига яичек и образование ими тестостерона в физиологическом импульсном режиме, а у женщин в предменопаузальный период – нормализовать образование эстрадиола гранулёзными клетками фолликулов яичников, необходимого для смены фолликулиновой фазы на лютеиновую фазу менструального цикла [38].

Снижение образования митогенных факторов и последующее уменьшение выраженности ответа иммунной системы на повышение митогенной активности, приводящего к избыточной гибели клеток, может быть достигнуто при проведении адекватной заместительной терапии половыми гормонами - тестостероном у мужчин и тиболоном у женщин [38, 39].

Для аутолиза гранулём и отложений солей мочевой кислоты в суставах при подагрическом артрите местно могут применяться хемоаттрактанты (спиртовая вытяжка прополиса и другие), привлекающие макрофаги, несущие протеолитические ферменты [3, 5, 6, 40].

### **Восстановление Регенерации Тканей у Онкологических Больных после Лучевой Терапии и Химиотерапии**

Участие антиген-представляющих клеток (дендритных клеток и макрофагов) в процессинге и в представлении Th0 тканеспецифичных антигенов погибших клеток для формирования (by) образовавшимися Т-хелперами-1b/Th1b тканеспецифичных рецепторов у стволовых клеток (пополняющих состав клеток-предшественников) может быть использовано

для улучшения регенерации тканей у онкологических пациентов, перенёсших лучевую терапию и / или химиотерапию. Данная закономерность может быть использована в комплексном лечении лучевых свищей, циститов, проктитов и других осложнений лучевой терапии. При отсутствии рецидива онкологических заболеваний для привлечения антиген-представляющих клеток местно могут использоваться хемоаттрактанты (масляная вытяжка прополиса / свечи с прополисом, аулотромбоцитарная взвесь, вводимая в окружающие свищ ткани и другие). Хемоаттрактанты нельзя применять при наличии опухоли, поскольку они могут способствовать направлению миграции стволовых клеток на пополнение клеточного состава опухоли с прогрессирующим ростом последней [3, 5, 6, 40, 41].

Восстановление численности пула плюрипотентных стволовых клеток у онкологических пациентов для нормализации регенерации тканей, снижения повышенных (из-за нарушения регенерации) уровней клеточных ростовых факторов и снижения риска рецидива онкологических заболеваний можно получить посредством трансфузии аллогенных донорских плюрипотентных стволовых клеток в составе мононуклеарной фракции периферической крови, заготовленной от молодых доноров 18-23 лет одного пола и групп крови с реципиентами [3, 4, 5, 6]. Временно увеличить пул плюрипотентных стволовых клеток для восстановления регенерации у онкологических больных при лечении лучевых свищей и других осложнений лучевой терапии и химиотерапии можно посредством назначения препаратов, содержащих гранулоцитарные колониестимулирующие факторы.

Назначение гиалуроновой кислоты может улучшить миграцию стволовых клеток через внеклеточный матрикс и этим стимулировать регенерацию [36, 40].

**Формирование Иммунного Ответа на Изменённые Опухолями и Вирусами Свои Антигены**

Обратное развитие опухолей после их инфицирования через кожный разрез (вероятно, грам-положительной кожной микрофлорой, в том числе стрептококками) эмпирически выявили в Древнем Египте. Аналогичным эмпирическим способом доктор Уильям Коули выявил регрессию опухолей после их инфицирования стрептококками группы А. Первоначально доктор Коули использовал живые бактерии, а затем стал использовать убитые бактерии (как более безопасные), названные «токсинами Коули». В последующем доктор Олд для иммунотерапии опухолей предложил использовать противотуберкулёзную живую вакцину БЦЖ (BCG), которая до настоящего времени применяется при лечении рака мочевого пузыря и других опухолей. Врач-иммунолог В.И. Печерский в 70 гг. XX века изготавливал из части удалённых опухолевых тканей противоопухолевые вакцины и успешно применял их, вводя вакцины тем же пациентам внутрикожно для взаимодействия с антиген-представляющими моноцитами / макрофагами и дендритными клетками с целью профилактики рецидива заболевания.

При онкологических и вирусных заболеваниях формируется преимущественно клеточный иммунный ответ с активацией Т-хелперами-1/Th1 цитотоксических Т-клеток, имеющих тканеспецифичные рецепторы к изменённым опухолями и вирусами антигенам собственных клеток. В меньшей степени при онкологических и вирусных заболеваниях формируется гуморальный иммунный ответ с активацией Т-хелперами-2/Th2 В-клеток, образующих антитела к опухолевым антигенам и антигенам вирусов [1, 2, 7].

В процессе эволюции после появления приобретённого иммунитета тканеспецифичные антигены живых неповреждённых клеток оказались скрыты для распознавания как филогенетически более древним врождённым иммунитетом (не имеющим узкой специфичности), так и появившимся приобретённым иммунитетом. Доступными для распознавания только

приобретённым иммунитетом у живых неповреждённых клеток стали пептидные копии тканеспецифичных антигенов и димеры МНС I класса (способные связываться со специфичными рецепторами Т- и В- клеток) [1, 2, б]. Экспрессии пептидных копий тканеспецифичных антигенов МНС I класса (аналогов HLA) не оказалось только у живых стволовых клеток и у подобных им живых опухолевых клеток [1, 2]. При этом у живых опухолевых клеток подобно другим живым клеткам сами тканеспецифичные антигены остаются скрытыми от распознавания врождённым и приобретённым иммунитетом. Из-за прекращения экспрессии пептидных копий тканеспецифичных антигенов МНС I класса (аналогов HLA) и недоступности для распознавания тканеспецифичных антигенов ослабевает надзор иммунной системы за живыми опухолевыми клетками. Примером тканеспецифичных антигенов эпителиальных клеток являются антигены их клеточной стенки и цитокератина. У погибших клеток и клеток, инфицированных внутриклеточными инфекциями (вирусами, микобактериями туберкулёза и другими) тканеспецифичные антигены, напротив, становятся доступны для распознавания врождённым и приобретённым иммунитетом (инициируя противоопухолевый и противовирусный иммунный ответ).

При внутриклеточной локализации инфекционных возбудителей (вирусов, микобактерий и других) формируется приобретённый клеточный иммунитет к изменённым своим антигенам поражённых клеток (в отличие от внеклеточной локализации инфекционных агентов – бактерий, инициирующих формирование приобретённого гуморального иммунитета к антигенам самих возбудителей) [1]. Соответственно, для повышения иммуногенности опухолевых клеток с формированием приобретённого клеточного противоопухолевого иммунитета опухолевые клетки необходимо инфицировать тропными к ним вирусами (например, аденовирусами, используемыми в качестве векторов для создания живых вакцин, которые обладают тропностью ко многим тканям и не блокируют транспорт молекул МНС I класса на поверхность клеток, или вирусами, полученными

посредством генной инженерии, с тропностью к специфическим антигенам определённых типов опухолевых клеток). Для обеспечения инфицирования преимущественно опухолевых тканей вирусы, обладающие тропностью ко многим типам клеток (например, используемые в качестве векторов для создания живых вакцин), необходимо наносить на поверхность опухолей, вводить в ткани опухолей (вместе с синтетической матрицей, обеспечивающей длительное высвобождение вирусов) или вводить внутрь опухолей эндоваскулярно.

При проведении противоопухолевой иммунотерапии для повышения иммуногенности опухолевых клеток и для их последующего распознавания иммунной системой после инфильтративного или эндоваскулярного введения в ткани опухолей вирусов, или абсорбирования вирусов на поверхности опухолевых клеток (после репликации достаточного количества вирусов и изменения ими антигенов клеток) для усиления противоопухолевого ответа приобретённого клеточного иммунитета можно вызвать гибель части опухолевых клеток. С этой целью внутрь опухолей (строго в пределах опухолей) в зависимости от их размеров можно ввести 1-2 мл 10% раствора кальция хлорида или провести очаговую (focal) противоопухолевую терапию с использованием сфокусированного ультразвука, фотодинамической терапии или других методов. Раствор 10% кальция хлорида не токсичен при поступлении в кровь, при введении в ткани опухолей вызывает очаговый некроз. Очаговый некроз тканей опухолей (предварительно заражённых тропными вирусами) необходимо осуществлять с сохранением кровоснабжения и лимфооттока поражённых опухолями тканей и органов для поступления в них из циркулирующей крови антиген-представляющих клеток и миграции из них в региональные лимфоузлы тех же антиген-представляющих клеток после поглощения ими опухолевых антигенов. Данная методология иммунотерапии может быть использована, как при хирургически удалённых опухолях (с последующим культивированием опухолевых клеток с тропными вирусами и с их

разрушением для приготовления противоопухолевых вакцин), так и при не удалённых опухолях (с введением в их ткани тропных вирусов и с последующим некрозом части их тканей). При приготовлении противоопухолевых вакцин из части удалённых опухолевых тканей изменённые тканеспецифичные антигены необходимо оставить в составе фрагментов клеточной стенки и цитокератина погибших опухолевых клеток (для формирования ответа приобретённого клеточного иммунитета), а изменённые нуклеарные антигены - в составе нуклеопротеинов (для сохранения их иммуногенности с формированием ответа приобретённого гуморального иммунитета - для образования антинуклеарных антител к изменённым опухолевым нуклеарным антигенам). Этого можно добиться, разрушая опухолевые клетки, например, осмотически, через погружение их в гипотонический раствор, или другими способами.

Дополнительно изменённые вирусами тканеспецифичные и нуклеарные антигены погибших опухолевых клеток в составе противоопухолевых вакцин будут поглощаться антигенпредставляющими клетками и представляться ими (to) Th0. В ответ на дополнительно изменённые вирусами тканеспецифичные антигены погибших опухолевых клеток Th0 будут дифференцироваться в Th1a, формирующие соответствующие тканеспецифичные рецепторы у цитотоксических Т-клеток. В ответ на опухолевые нуклеарные антигены Th0 будут дифференцироваться в Th2, формирующие специфичные рецепторы у В-клеток, превращающиеся в образующие антитела плазматические клетки. Этим сочетанный - клеточный и гуморальный приобретённый противоопухолевый иммунный ответ к различным опухолевым антигенам будет направляться на элиминацию злокачественных клеток.

Поскольку опухолевые клетки несут множество изменённых антигенов, то для каждого из них будут формироваться отдельные клоны Th1a или Th2. Соответственно к одним и тем же опухолевым клеткам, но к разным их

антигенам будет формироваться комплексный противоопухолевый иммунный ответ (клеточный преимущественно к тканеспецифичным антигенам и гуморальный преимущественно к нуклеарным антигенам).

Для формирования противоопухолевого иммунного ответа противоопухолевые вакцины, содержащие изменённые тканеспецифичные антигены клеточных мембран и цитокератина, а также изменённые нуклеарные антигены погибших опухолевых клеток, следует вводить внутрикожно, внутрь слизистых или в интерстициальные пространства для поглощения их антигенов находящимися там антиген-представляющими клетками (моноцитами / макрофагами и дендритными клетками). В отличие от тканеспецифичных антигенов живых опухолевых клеток, защищённых от распознавания иммунной системой, тканеспецифичные антигены инфицированных вирусами и погибших опухолевых клеток доступны для распознавания врождённым и приобретённым иммунитетом. При внутрикожном введении (предпочтительном из-за своей простоты и большей безопасности) дополнительно изменённые вирусами тканеспецифичные и нуклеарные антигены погибших опухолевых клеток будут поглощаться антиген-представляющими клетками дермы и эпидермиса (моноцитами / макрофагами и дендритными клетками - клетками Лангерганса), осуществляющими процессинг и представление пептидных копий данных антигенов, связанных с молекулами МНС II класса (аналогов HLA). Мигрируя из эпидермиса по лимфатическим сосудам в паракортикальную Т-зависимую область региональных лимфоузлов, моноциты / макрофаги, дендритные клетки (включая клетки Лангерганса) будут представлять опухолевые антигены (to) Th0, которые, дифференцируясь в Th1a, будут формировать рецепторы к изменённым опухолевым тканеспецифичным антигенам у цитотоксических Т-клеток, или, дифференцируясь в Th2, будут формировать рецепторы к изменённым опухолевым нуклеарным антигенам у В-клеток. Даже при формировании менее желательного гуморального иммунного ответа на тканеспецифичные антигены поверхности опухолевых

клеток вторично с привлечением комплемента будут активироваться эффекторные клетки, несущие Fc и C3 рецепторы, как это происходит при гиперчувствительности II типа (при повреждении клеток-мишеней антителами к антигенам клеточной поверхности – IgM и / или IgG при участии комплемента и различных эффекторных клеток [2]). Время формирования приобретённого противоопухолевого иммунного будет определяться длительностью процессинга антигенов антигенпредставляющими клетками, дифференцировкой Th0 в Th1a / Th2 и формированием тканеспецифичных рецепторов у цитотоксических Т-клеток / специфических рецепторов у В-клеток. По данным И. Ройта и соавторов у человека период сенсibilизации продолжается 10-14 суток [2].

При применении препаратов тканеспецифичных и нуклеарных опухолевых антигенов в составе противоопухолевых вакцин необходимо учитывать, что реакция иммунной системы зависит от количества антигенов, наносимых на единицу площади, а не от общей дозы препарата или общей площади, на которую наносится антиген [1, 2]. Доза тканеспецифичных и нуклеарных опухолевых антигенов должна быть достаточной для инициации дифференцировки Th0 в Th1a (образующих тканеспецифичные рецепторы у цитотоксических Т-клеток) или в Th2 (образующих специфичные рецепторы у В-клеток).

Представленная концепция противоопухолевой терапии подтверждается экспериментальным примером. Под наблюдением по поводу опухоли правой паховой области находилась собака О., овчарка, женского пола, 12-ти лет. При биопсии была выявлена фибролипома. Опухоль быстро увеличивалась, стала плотной, бугристой, размер опухоли достиг 10 x 12 x 9 см. Животному один раз в месяц внутрь опухоли (строго в пределах опухоли) вводилось 1,5 мл 10% р-ра кальция хлорида. Всего было проведено три инъекции. К концу третьего месяца размер опухоли уменьшился более чем в три раза до размеров 3 x 3 x 2 см, консистенция опухоли стала

мягкоэластичной. Повторное гистологическое исследование также выявило фибролипому.

Введение тропных вирусов в ткани опухоли (вместе с синтетической матрицей, обеспечивающей их постепенное высвобождение), введение тропных вирусов внутрь опухолей эндоваскулярно или абсорбирование тропных вирусов на поверхности опухолей с последующим (после начала репликации вируса) введением 10% кальция хлорида внутрь опухолей (строго в пределах опухолей) или применением сфокусированного ультразвука, фотодинамической терапии и других методов очаговой (focal) терапии способно привести (через формирование ответа приобретённого иммунитета на тканеспецифичные и нуклеарные антигены погибших опухолевых клеток) к регрессу не только доброкачественных, но и злокачественных опухолей.

Для повышения иммуногенности опухолевых клеток с формированием к ним ответа приобретённого клеточного иммунитета дополнительно внутрь опухолей можно вводить (или абсорбировать на их поверхности вместе с синтетической матрицей) перекрёстные антигены стрептококков группы А, сходные с тканеспецифичными антигенами цитокератина эпителиальных клеток. Введённые в ткани опухолей или абсорбированные на поверхности их клеток перекрёстные антигены стрептококков группы А способны в качестве хемоаттрактантов привлекать к опухолевым клеткам антигенпредставляющие клетки (оказывая адьювантный эффект), а в качестве антигенов, сходных с тканеспецифичными антигенами раковых клеток, и самими тканеспецифичными опухолевыми антигенами, способны инициировать дифференцировку Th0 в Th1a (формирующие у цитотоксических Т-клеток рецепторы к изменённым тканеспецифичным антигенам цитокератина и к другим опухолевым тканеспецифичным антигенам, включая мембранные). Неоптимальный выбор активации Th1 или Th2 приводит к неэффективности иммунного ответа. Использование

перекрёстных антигенов стрептококков группы А вместе с синтетической матрицей для внутриопухолевого введения или нанесения на поверхность опухоли способно минимизировать поступление стрептококковых антигенов в кровь для предотвращения формирования к ним приобретённого гуморального иммунитета, подавляющего формирование приобретённого клеточного иммунитета (необходимого для поражения опухолевых клеток), а также для предотвращения развития аутоиммунных заболеваний.

Местная противоопухолевая иммунотерапия выгодно отличается от блокирования иммунных контрольных точек (immune checkpoint blockade therapy), поскольку формирует иммунный ответ только к антигенам имеющейся опухоли, не вызывая аутоиммунного поражения здоровых тканей с развитием аутоиммунных осложнений. В отличие от живых противоопухолевых вирусных вакцин, полученных методами генной инженерии, обладающих тропностью к антигенам определённых видов опухолей, противоопухолевая иммунотерапия с использованием аутовакцин способна формировать иммунный ответ ко всем изменённым тканеспецифичным и нуклеарным антигенам опухолей пациентов. Местное (внутриклеточное) применение вирусов для повышения иммуногенности опухолевых клеток эффективнее использования с той же целью живой противотуберкулёзной вакцины БЦЖ, поскольку микобактерии туберкулёза, попадая внутрь клеток (в данном случае внутрь опухолевых клеток), оказываются внутри цитоплазматических везикул, снижающих иммуногенность поражённых клеток, препятствующих их взаимодействию с антиген-представляющими клетками и последующему формированию приобретённого клеточного иммунитета с активизацией цитотоксических Т-клеток (необходимых для уничтожения опухолевых клеток).

Создание естественного взаимодействия антиген-представляющих клеток (моноцитов / макрофагов и дендритных клеток) с опухолевыми антигенами при внутрикожном введении противоопухолевых вакцин

существенно проще применяемого культивирования дендритных клеток и моноцитов / макрофагов пациентов с опухолевыми антигенами “in vitro”, ошибочно названное «активизацией Т-клеток». Сенсibilизация Th0 происходит “in vivo” в иммунных структурах после их контакта с пептидными копиями антигенов, доставленными антиген-представляющими клетками, осуществляющими процессинг антигенов, а не при прямом контакте Th0 с антигенами; только после этого образующиеся Th1 формируют тканеспецифичные рецепторы у цитотоксических Т-клеток [1, 2].

Элиминация злокачественных клеток, в том числе посредством проведения противоопухолевой иммунотерапии, недостаточна, поскольку не устраняет причин, которые изначально привели к злокачественному росту. Злокачественную трансформацию клеток у людей старше 35-40 лет вызывают компенсаторные реакции макроорганизма, направленные на повышение митогенной стимуляции в ответ на возрастное нарушение обновления тканей и гормональный дисбаланс. Замещение погибших старых клеток меньшим числом клеток-предшественников приводит к компенсаторной аутокринной и паракринной стимуляции деления клеток клеточными ростовыми факторами для завершения регенерации тканей. Снижение численности пула плюрипотентных стволовых клеток у людей старше 35 лет с интенсивностью 1% в год и прогрессирующее нарушение регенерации приводит к нарастанию с возрастом компенсаторной митогенной стимуляции во всех тканях, обрекая людей на развитие злокачественных опухолевых заболеваний [3, 4, 5, 6]. Аналогичным образом снижение продукции тестостерона у мужчин старше 35 лет, происходящее с интенсивностью 1% в год (из-за нарушения обновления / регенерации тканей яичек), сопровождающееся нарушением физиологического импульсного режима инкреции тестостерона, нарушает деление и дифференцировку тестостерон-зависимых клеток, включая клетки предстательной железы. В ответ на уменьшение продукции тестостерона в дополнение к нарушению регенерации развиваются компенсаторно-приспособительные реакции,

направленные на повышение митогенной стимуляции: повышается образование клеточных ростовых факторов (bFGF и других) и эндокринных факторов (дигидротестостерона, эстрадиола, инсулина, СТГ и других), стимулирующих деление клеток. Данные изменения приводят к развитию доброкачественной гиперплазии и рака предстательной железы [29, 30, 42]. Моделью изменений, происходящих при возрастном снижении продукции тестостерона у мужчин, является андрогенная блокада, назначаемая пациентам с раком предстательной железы [29, 30, 42].

В процессе дифференцировки низкодифференцированные базальные андроген-независимые клетки эпителия предстательной железы становятся дифференцированными главными андроген-зависимыми секреторными клетками. При андрогенной блокаде низкодифференцированные независимые от андрогена клетки рака предстательной железы и нормальные низкодифференцированные независимые от андрогена эпителиальные клетки предстательной железы не могут продолжить развитие в дифференцированные андроген-зависимые клетки. Несмотря на атрофию высокодифференцированных клеток первичной раковой опухоли предстательной железы андрогенная блокада, усугубляющая последствия возрастного снижения продукции тестостерона - усиливающая митогенную стимуляцию, приводит к прогрессии низкодифференцированных независимых от андрогена клеток предстательной железы (при гетерогенности опухоли), а также к развитию новой опухоли из нормальных низкодифференцированных независимых от андрогена эпителиальных клеток. Таким образом, стойкий к гормональной терапии независимый от андрогена рак предстательной железы индуцируется андрогенной блокадой [29, 42]. Проведение адекватной гормон-заместительной терапии с индивидуальным подбором дозы препарата тестостерона в соответствии с его снижением с возрастом (с сохранением продукции тестостерона в физиологическом импульсном режиме клетками Лейдига) позволяет снизить компенсаторно повышенные уровни клеточных ростовых факторов, дигидротестостерона, эстрадиола, инсулина,

соматотропного гормона и других митогенных факторов [29, 30, 39, 43], стимулирующих пролиферацию, в том числе эпителия предстательной железы. Соответственно, назначение адекватной возрастному снижению тестостерона тестостерон-заместительной терапии между курсами андрогенной блокады и при активном наблюдении у пациентов с раком предстательной железы может существенно улучшить результаты проводимого лечения, уменьшив риск развития гормон-резистентной формы рака предстательной железы и риск прогрессии заболевания [29, 39, 42].

Клеточная терапия и тестостерон-заместительная терапия могут использоваться для профилактики опухолей, включая опухоли предстательной железы у мужчин старше 35 лет, и для реабилитации после проведённой противоопухолевой терапии. У женщин методология лечения и профилактики гормон-зависимых опухолей матки и молочных желёз аналогичны таковым у мужчин, отличаясь от них зеркальностью используемых методов лечения [38]. Таким образом, для уменьшения риска прогрессии, метастазирования и рецидива онкологических заболеваний элиминацию злокачественных клеток необходимо дополнить восстановлением пула плюрипотентных стволовых клеток и регенерации, а также коррекцией развивающегося с возрастом гормонального дисбаланса [3, 4, 5, 29, 30] (в том числе адекватным возмещением недостатка половых гормонов у людей старше 35 лет – тестостероном у мужчин и тиболоном у женщин [38, 39]).

Дифференцировка клеток сопровождается ранжированием генов – удалением некодирующих участков ДНК, образующих факультативный гетерохроматин (способный при определённых условиях вновь стать эухроматином с транскрипционно-активной ДНК) [1]. В отличие от процесса дифференцировки, сопровождающегося изменением генома при ранжировании генов, ответ клеток на отдельные внеклеточные сигналы (цитокины, гормоны и другие) сопровождается функциональными изменениями. Факторы транскрипции (гормональные рецепторы и другие)

после взаимодействия с лигандами через ДНК-связывающий домен связываются с соответствующими им участками ДНК, инициируя или подавляя экспрессию соответствующих генов [14]. Белки факторов транскрипции, устанавливая нековалентные связи с соответствующими им множественными («мозаичными») участками ДНК (сайтами связывания), образующими в своей совокупности гены, ответственные за проявление определённых признаков или функций, формируют третичную структуру ДНК (меняющуюся при последующих взаимодействиях с другими факторами транскрипции). Благодаря постоянно меняющейся третичной структуре ДНК факторы транскрипции получают возможность связываться с любыми по удалённости «мозаичными» участками ДНК, представляющими совместно ген или гены. В этом заключается биологический смысл образования третичной структуры ДНК.

При длительном действии компенсаторных реакций (например, при повышении митогенной стимуляции в ответ на возрастное нарушение обновления / регенерации тканей) функциональные изменения, обусловленные связыванием факторов транскрипции с соответствующими участками ДНК, дополняются трудно обратимыми генетическими изменениями, аналогичными изменениям, происходящим при дифференцировке клеток (при ранжировании генов). После этого действие сформированных компенсаторных реакций не прекращается при устранении причин, вызвавших их [6]. Например, восстановление пула плюрипотентных стволовых клеток и регенерации не способно восстановить нормальное функционирование рецепторов клеточных ростовых факторов злокачественных клеток (остающихся постоянно активизированными вне зависимости от их связи с лигандами [36]). Из-за трудно обратимых генетических изменений злокачественные клетки подлежат уничтожению. Для предупреждения злокачественной трансформации оставшихся нормальных клеток причины повышения митогенной стимуляции необходимо устранить. Восстановление регенерации и коррекция

гормонального дисбаланса позволяют нормализовать или снизить избыточную митогенную стимуляцию клеточными ростовыми факторами и эндокринными стимуляторами деления клеток (инсулина, гормона роста и других гормонов), приводящую к образованию первичной опухоли, к её метастазированию и рецидиву [3, 4, 5, 29, 30].

Инактивация антиген-представляющих клеток (макрофагов / моноцитов / остеокластов, дендритных клеток) не является оптимальным способом предотвращения метастазирования. Блокирование представления ими (to) Th0 тканеспецифичных антигенов погибших старых клеток способно предотвратить их (Th0) дифференцировку в Th1b, образующих тканеспецифичные рецепторы у стволовых клеток и опухолевых клеток (компенсирующих своим образованием снижение численности пула плюрипотентных стволовых клеток) для их направленной миграции в соответствующие ткани. В отличие от стволовых клеток, обеспечивающих регенерацию тканей после гибели старых клеток или повреждения, опухолевые клетки, мигрируя в ткани, к антигенам которых у них были сформированы Т-хелперами-1b/Th1b тканеспецифичные рецепторы, формируют метастазы [3, 4, 5]. Инактивация антиген-представляющих клеток в дополнение к возрастному снижению пула плюрипотентных стволовых приводит к ещё большему нарушению обновления (регенерации) тканей, вызывая ответное компенсаторное аутокринное и паракринное образование клеточных ростовых факторов (промоторных факторов канцерогенеза, стимулирующих деление клеток), и, соответственно, прогрессирование роста опухолей и увеличение риска их метастазирования (из-за возрастающей нестабильности клеток в составе их тканей [36]). Более того, блокирование пути представления (to) Th0 опухолевых антигенов нарушает формирование противоопухолевого иммунного ответа.

Компенсируя развивающуюся с возрастом недостаточность численности пула плюрипотентных стволовых клеток, опухолевые клетки

приобретают свойства стволовых клеток и повторяют путь их миграции (аналогичный пути рециркуляции лимфоцитов [1]), компенсируя собой незавершённую регенерацию тканей после гибели старых клеток. Подобно лимфоцитам и стволовым клеткам опухолевые клетки из органов мигрируют в лимфатическое русло, затем в кровотоки и оттуда вновь в лимфатическое русло или в другие органы, образуя метастазы [3, 4, 5, 6]. Об интенсивности такой рециркуляции можно судить по 1-2 кратному повторению данной миграции в сутки «наивных» лимфоцитов из органов в лимфатическое русло, в кровотоки и обратно [1]. Учитывая потенциальное микро метастазирование злокачественных опухолей в любой из имеющихся лимфатических узлов проведение вместе с радикальным хирургическим удалением опухолей травматичного расширенного удаления лимфатических узлов, не имеющих убедительных данных опухолевого поражения, малоэффективно. Для элиминации опухолевых клеток, образующих микро метастазы в лимфатических узлах необходимо проводить противоопухолевую иммунотерапию и / или химиотерапию, а применительно к гормон-чувствительным опухолям – гормональную блокаду (андрогенную блокаду / ADT при раке предстательной железы).

Снижению риска метастазирования злокачественных опухолей может способствовать уменьшение повышенной митогенной стимуляции посредством восстановления регенерации и коррекции гормонального дисбаланса [3, 4, 5, 29, 30]. Следствием этого станет уменьшение выраженности реакций иммунной системы, приводящих к множественной гибели активно делящихся и старых клеток (антигены которых через антиген-представляющие клетки направляют миграцию не только стволовых, но и опухолевых клеток к местам их гибели с образованием метастазов).

Смена антигенов вирусных белков (антигенный шифт или дрейф) защищает вирусы от образующихся антител и является одной из причин их персистенции в организме хозяина (например, вируса иммунодефицита

человека), а также усложняет создание вакцин против них. Гуморальный иммунитет к таким вирусным инфекциям сохраняется лишь до появления нового сероварианта вируса [2]. Для преодоления антигенной изменчивости вирусов представляется перспективным создание вакцин, инициирующих формирование не только гуморального, но и клеточного иммунитета. Такие вакцины могут быть приготовлены из фрагментов клеточных стенок, цитоскелета и нуклеарных антигенов своих клеток или чужих клеток, инфицированных «in vivo» или культивированных «in vitro» с данными вирусами, а затем разрушенных, например, осмотически в гипотоническом растворе или другим способом, прошедшие обеззараживание с сохранением своих антигенных свойств. При внутрикожном введении таких вакцин будут образовываться сенсibilизированные Th1a / Th2, а затем - цитотоксические Т-клетки/В-клетки, имеющие тканеспецифичные/нуклеоспецифичные рецепторы к изменённым аутоантигенам поражённых вирусами клеток (постоянным в отличие от меняющихся поверхностных антигенов вирусов). При заражении вирусом кори в организме образуются цитотоксические Т-клетки, распознающие и лизирующие инфицированные вирусом клетки, экспрессирующие молекулы МНС II класса (Th, моноциты / макрофаги и дендритные клетки с изменёнными вирусом пептидными копиями антигенов МНС I класса) [2]. Данные клетки не совсем точно были названы цитотоксическими Т-клетками CD4<sup>+</sup>, поскольку они являются не Th (CD4<sup>+</sup>), а цитотоксическими Т-клетками (CD8<sup>+</sup>), сенсibilизированными к изменённым вирусом кори пептидным копиям антигенов МНС I класса Th и другим клеткам, экспрессирующим молекулы МНС II класса. Соответственно, могут быть образованы цитотоксические Т-клетки, распознающие и лизирующие Th, моноциты / макрофаги и дендритные клетки, инфицированные вирусом иммунодефицита человека и экспрессирующие изменённые им пептидные копии антигенов МНС I класса. Вакцина для создания приобретённого клеточного и гуморального иммунитета против вируса иммунодефицита человека может быть приготовлена из прошедших обеззараживание

фрагментов клеточных стенок, цитоскелета и ядер своих клеток или чужих клеток мононуклеарной фракции периферической крови (полученной на сепараторе) больного ВИЧ / СПИД или культивированных «in vitro» с вирусом иммунодефицита человека 1 и 2 типов. Вакцину необходимо вводить внутрикожно для поглощения и процессинга её антигенов антигенпредставляющими клетками (моноцитами / макрофагами и дендритными клетками) вместе с адьювантом (бактериальным: пирогеналом, продигиозаном и другими или антигенами чужих клеток, культивированных с ВИЧ). Данная вакцина может применяться, как для профилактики заражения вирусом иммунодефицита человека, так и для лечения больных, инфицированных ВИЧ в латентный период и при развитии синдрома приобретённого иммунодефицита (СПИДа). При СПИДе вакцину целесообразно применять на фоне минимальной вирусной нагрузки, и, соответственно, при минимальном инфицировании моноцитов / макрофагов и лимфоцитов (после курса антиретровирусной терапии). Причиной отсутствия формирования приобретённого клеточного иммунитета у пациентов с ВИЧ при гибели заражённых вирусом иммунодефицита человека Th и моноцитов / макрофагов, вероятно, является недостаточное количество изменённых вирусом тканеспецифичных антигенов в единице объёма крови (поскольку сенсibilизация зависит от концентрации антигена на единицу площади / объёма [2]), а также поражение вирусом моноцитов / макрофагов и лимфоцитов.

## **Заключение**

Элиминация микробных антигенов вместе с их носителями, вызвавших избыточную макрофагальную реакцию при псориазе, псориатическом артрите и анкилозирующем спондилите, а также проведение десенсибилизации, открывают новые возможности в лечении псориаза, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита и патогенетически-сходных с ними аутоиммунных заболеваний. Снижение гибели собственных

клеток, обусловленное ответом иммунной системы на повышение митогенной активности у людей старше 35-40 лет, позволяет уменьшить интенсивность катаболизма нуклеиновых кислот и обусловленную ими продукцию цитокинов, вызывающих подагру. Обеспечение распознавания тканеспецифичных и нуклеарных антигенов опухолевых клеток антиген-представляющими клетками способно привести к формированию противоопухолевого иммунного ответа. В будущем приготовление и применение противоопухолевых аутовакцин из тканей удалённых опухолей, а также устранение причин (нарушения регенерации и гормонального дисбаланса), которые привели к развитию злокачественных опухолей у людей старше 35-40 лет, следует сделать золотым стандартом лечения злокачественных опухолей, дополняя принятые протоколы их лечения.

### **Список литературы**

- [1] Yarilin AA. Fundamentals of Immunology. *Meditcina (Moscow)*. 1999: 8-600.
- [2] Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. *Mir (Moscow)*. 2000: 1-564.
- [3] Pechersky AV, Pechersky VI, Aseev MV, Droblenkov AV, Semiglazov VF. Several aspects of the regeneration process carried out by means of pluripotent stem cells. *Tsitologiya* 2008; 50(6): 511-520 (submitted July 06, 2007).
- [4] Pechersky AV, Pechersky VI, Smolyaninov AB, Vilyaninov VN, Adylov ShF, Shmelev AYu, Pecherskaya OV, Semiglazov VF. Regeneration and carcinogenesis. *Journal of Stem Cells* 2015; 10(4): 255-270.
- [5] Pechersky AV, Pechersky VI, Aseev MV, Droblenkov AV, Semiglazov VF. Immune system and regeneration. *Journal of Stem Cells* 2016; 11 (2): 69-87.
- [6] Pechersky AV, Pechersky VI, Vilyaninov VN, Pecherskaya OV, Semiglazov VF. Regeneration's role in the development of desensitization and immunological tolerance. *Journal of Stem Cells* 2019; 14(2): 75-102 (submitted July 19, 2019).
- [7] Pechersky AV. Особенности патогенеза и лечения новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV). *COVID19-Preprints.microbe.ru* 2020: 1-12. <https://doi.org/10.21055/preprints-3111746>

- [8] Serebryanaya N. Nucleinic acids as the most impotent class of regulatory biomolecules. *Bulletin of the North-Western State Medical University named after II Mechnikov* 2009; 1(3): 76-84.
- [9] Kologrivova IV, Kologrivova YeN, Suslova TYe. Molecular aspects of the T-helpers type 17 functioning. *Бюллетень сибирской медицины* 2011; 4: 93-99.
- [10] Schulz SM, Kohler G, Holscher C, Iwakura Y, Alber G. IL-17A is produced by Th17,  $\gamma\delta$ T-cells and other CD4-lymphocytes during infection with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and has a mild effect in bacterial clearance. *International Immunology* 2008; 9(9): 1129-1138.
- [11] Yao Z, Fanslow WC, Seldin MF, Rousseau A-M, Painter SL, Comeau MR, Cohen JJ, and Spriggs MK. Herpesvirus Saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity* 1995; 3: 811-821.
- [12] Костарева ОС, Габдулхаков АГ, Коляденко ИА, Гарбер МБ, Тищенко СВ. Интерлейкин-17: функциональные и структурные особенности; использование в качестве терапевтической мишени. *Успехи биологической химии* 2019; 59: 393-418.
- [13] O'Connor W, Zenewicz LA, Flavell RA. The dual nature of Th17 cells: shifting the focus to function. *Nature Immunology* 2010; 11 (6): 471-476.
- [14] Berezov TT, Korovkin BF. Biological Chemistry. *Medicina (Moscow)*. 2004: 1-704.
- [15] Fry L, Baker BS. Triggering psoriasis: the role of infections and medications. *Clinics in Dermatology* 2007; 25 (6): 606-615.
- [16] Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, Tanaka S, Kodama T, Akira S, Iwakura Y, Cua DJ, Takayanagi H. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med* 2006; 203(12): 2673-2682.

- [17] Martin DA, Towne JE, Kricorian G, Klekotka P, Gudjonsson JE, Krueger JG, Russell CR. The emerging role of IL-17 in the pathogenesis of psoriasis: preclinical and clinical findings. *J Invest Dermatol* 2013; 133(1): 17-26.
- [18] Tesmer LA, Lundy K, Sarkar S, Fox DA. Th17 cells in human disease. *Immunological Reviews* 2008; 223: 87-113.
- [19] Kazakova RR, Kamaliev RR, Mustafin IG, Ziganshin AU. The role of p2-receptors on human blood cells. *Казанский медицинский журнал* 2011; 92 (1): 120-123.
- [20] Trams EG. On the evolution of neurochemical transmission. *Differentiation* 1981; 19: 123-133.
- [21] Gargett CE, Cornish JE, Wiley JS. ATP, a partial agonist for the P2Z receptor of human lymphocytes. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 911-917.
- [22] Alexander SPH, Mathie A, Peters JA. Guide to Receptors and Channels (GRAC), 3rd edition *Br J Pharmacol* 2008; 153: 1-209.
- [23] Di Virgilio F, Ferrari D, Idzko M, Panther E, Norgauer J, and La Sala A. Extracellular ATP, P2 receptors, and inflammation. *Drug Dev Res* 2003; 59: 171-174.
- [24] Levy O, Coughlin M, Cronstein BN, Roy RM, Desai A, Wessels MR. The adenosine system selectively inhibits TLR-mediated TNF $\alpha$  production in the human newborn. *J Immunol* 2006; 177: 1956-1966.
- [25] Mediero A, Cronstein BN. Adenosine and bone metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 2013; 24 (6): 290-300.
- [26] Ровда ЮИ, Казакова ЛМ. Пуриноз (нервно артритический диатез) и некоторые заболевания у детей и взрослых (уратная нефропатия, подагра, артериальная гипертензия, ожирение, метаболический синдром, сахарный диабет 2 типа). *Мать и дитя в Кузбассе* 2003; 4: 18-22.
- [27] Gacher C. P2 receptors, platelet function and pharmacological implications. // *Thromb Haemost* 2008; 99: 466-472.

- [28] Karmouty-Quintana H, Xia Y, Blackburn MR. Adenosine signaling during acute and chronic disease states. *Journal of molecular medicine* 2013; 91(2): 173-181.
- [29] Pechersky AV. The influence of partial androgen deficiency in aging men (PADAM) on the development of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *American Research Journal of Urology* 2019; 3(1): 1-16.
- [30] Pechersky AV. Role of partial androgen deficiency of aging men in development of the metabolic syndrome. *American Research Journal of Urology* 2016; 1: 1-13.
- [31] Di Virgilio F. Purines, purinergic receptors, and cancer. *Cancer research* 2012; 72(21): 5441-5447.
- [32] Mortaz E, Folkerts G, Nijkamp FP, Henricks PA. ATP and the pathogenesis of COPD. *European journal of pharmacology* 2010; 638 (1-3): 1-4.
- [33] Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *New England Journal of Medicine* 2009; 361 (5): 496-509.
- [34] Филиппович ЮБ. Основы биохимии, 4-е изд. *Агар*, (Moscow). 1999: 233-234.
- [35] Маршалл ВД. Клиническая биохимия. *Биология (С-Петербург)*. 1999: 301-308.
- [36] Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular biology of the cell. *Mir (Moscow)*. 1994; 2: 176-529, 3: 7-381.
- [37] Burnstock G, Verkhratsky A. Evolutionary origins of the purinergic signalling system. *Acta physiologica* 2009; 195 (4): 415-447.
- [38] Pechersky AV. Influence of violation of regeneration in people over 35-40 years old on decrease in production of sexual hormones. *Journal of Stem Cells* 2016; 11 (2): 99-109.
- [39] Pechersky AV. Features of diagnostics and treatment of partial androgen deficiency of aging men. *Central European Journal of Urology* 2010; 67 (4): 397-404.
- [40] Pechersky AV, Pechersky VI, Shpilnyaya ES, Gaziev AH, Semiglazov VF.

Regeneration and Cicatrization. *Journal of Stem Cells* 2016; 11(2): 89-97.

[41] Pechersky AV. Revisiting Terminology and Characteristics of Stem Cells. *Journal of Stem Cells* 2016; 11 (2): 63-67.

[42] Pechersky AV, Semiglazov VF, Loran OB, Mazurov VI, Karpischenko AI, Nikiforov AM, Kalinina NM, Drygina LB, Davydova NI, Skorobogatykh MG. Changes in the level of cytokines among patients with prostate cancer after orchiectomy. *Terra Medica*, in its special thematic edition “Laboratory Diagnostics” 2003; 2: 26-30.

[43] Pechersky AV, Semiglazov VF, Mazurov VI, Karpishenko AI, Pechersky VI, Zybina NN, Davydova NI, Kravtsov VYu, Proshin SN, Skorobogatikh MG, Loran OB. The influence of partial age-related androgen deficiency on the development of metabolic syndrome. *TERRA MEDICA nova, special edition “Laboratory diagnostics”* 2006; 4: 12-9.