УДК 619: 615. 37: 636.2.053

ИНТЕРФЕРОН: ЕГО СТРУКТУРА, ОРГАНИЗАЦИЯ И РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ИММУНИТЕТА У ЖИВОТНЫХ (ОБЗОРНАЯ ИНФОРМАЦИЯ)

И.В. Чуенко[1], П.А. Красочко[2]

[1] – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь;
[2] – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
им. С.Н. Вышелесского»,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 06.06.2011 г.)

Аннотация. *Представлены современные сведения о системе интерферона, о его типах. Приведены данные о рецепторах интерферонов и рассмотрен вопрос о биологической роли интерферона в условиях инфекции. Показана биологическая активность и приведена классификация интерферона. Указано, что интерфероны, помимо основного их противовирусного действия, оказывают модулирующее действие практически на все составляющие иммунной защиты: фагоцитоз, антителообразование, цитотоксическое действие и т.д., а также являются регуляторами гемопоэза, процессов роста и онкогенеза.*

Summary. *Modern data on interferon system, on its types are presented. The data about receptors interferon is cited and the question on a biological role of interferon in the conditions of an infection is considered. Biological activity is shown and interferon classification is resulted. It is specified that interferons, besides their basic antiviral action, have modulating an effect practically on all components of immune protection: phagocytosis. antibody formation, cytotoxic action etc., and also are regulators hematopoiesis. processes of growth and oncogenesis.*

Состояние иммунитета и неспецифических факторов защиты определяет развитие и течение инфекционных и неинфекционных заболеваний. Инфекционное заболевание – это итог взаимодействия микро- и макроорганизмов с участием специфических и неспецифических факторов резистентности последнего. Врожденная неспецифическая иммунная защита представляет собой эволюционно более раннюю форму резистентности, служащую предшественником иммунных (специфических) реакций. Факторы неспецифической резистентности, участвующие в распознавании чужеродных агентов инфекционной природы, циркулируют в крови или быстро продуцируются в течение нескольких минут или часов после инфицирования. Их образование генетически детерминировано и передается по наследству. Таким образом,

неспецифические факторы защиты имеются в организме уже к моменту рождения и способны реализовать функцию резистентности.

Неспецифическая резистентность обеспечивается физическими, химическими и иммунобиологическими механизмами. Основой физических и химических возможностей защиты являются анатомические (кожа, слизистые оболочки) и житкостные барьеры (молочная кислота и жирные кислоты, содержащиеся в поте и секрете сальных желез; лизоцим слюны и слезной жидкости, соляная кислота желудка, пероксидаза молока). Строение, свойства и секреторные функции анатомических и жидкостных барьеров не позволяют микробам попасть во внутреннюю среду организма либо уничтожая их, либо подавляя их рост и жизнедеятельность.

Иммунобиологические факторы принято делить на клеточные (макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, естественные киллеры и другие клеточные элементы) и гуморальные (система комплемента, кинины, интерфероны, лизоцим, ферменты).

Воздействие патогенной и условно-патогенной микрофлоры вирусного и бактериального происхождения приводит к снижению устойчивости организма, снижению продуктивности, угнетению иммунитета и поражению обменных процессов у животных. Последствия этого – высокая заболеваемость и смертность животных.

Ведущую роль в противоинфекционной защите принадлежит системе интерферона как универсальной неспецифической защите. [3, 5].

В этой связи целью настоящего исследования явилось обобщение литературных данных об интерфероне, его структуре, свойствах, роли в реализации иммунитета у животных.

С момента открытия в 1970-х гг. интерлейкинов обнаружено более сотни различных цитокинов. Вместе с открытием факторов роста было идентифицировано несколько экстраклеточных сигнальных белков, взаимодействующих с рецепторами на поверхности иммуноцитов. Они были названы иммуноцитами. После того как стало известно, что они взаимодействуют также с рядом клеток, не относящиеся к иммунной системе, их название сократилось до цитокинов. Это небольшие белки с молекулярной массой от 8 до 80 кДа, продуцируемые рядом клеток (Т-лимфоцитами, макрофагами, В-лимфоцитами, фибробластами и др.). Цитокины могут быть разделены на несколько групп: гемоэтины, интерфероны, факторы некроза опухоли, члены суперсемейства иммуноглобулинов и хемокины. Основная биологическая функция цитокинов – регуляция иммунного ответа на всех этапах его развития, где они играют центральную роль.

Цитокины действуют через активацию специфических рецепторов. Воздействие цитокинов на клетки осуществляется аутокринно (на саму продуцирующую их клетку) или паракринно (на вблизи расположенные клетки). Образование и высвобождение их является кратковременным и жестоко регулируется. В целом это большая группа биологически активных веществ обеспечивает координацию самых разнообразных процессов, таких как пролиферация и дифференцировка предшественников функционально активных иммунокомпетентных клеток, хемотаксис, регуляция экспрессии антигенов, синтеза иммуноглобулинов, индукция цитотоксичности у макрофагов, формирование очага воспаления и т.д. Среди цитокинов ведущая роль принадлежит интерферонам [1].

Еще задолго до открытия интерферонов вирусологи столкнулись с феноменом интерференции (взаимное подавление) вирусов, и лишь в 1957году, удалось выявить неизвестный ранее белок, ответственный за это явление и названный интерфероном [2].

Интерферон был открыт учеными А. Айзексом и Б. Линдеманом. Авторы выявили очень интересное явление. Заражение клеток крови вирусом приводит к выделению ими белка, который обладает противовирусной активностью. Интерес к этому феномену был огромный, и за сравнительно короткий срок ученые различных специальностей открыли многие свойства, которыми обладает интерферон [4,6,7].

В период с 1957 по 1967 гг. были изучены общие закономерности формирования интерферона и определен диапазон его противовирусной активности. Было доказано, что этот важнейший защитный белок в филогенезе является приобретением позвоночных (от рыб до человека включительно) и образуется в ответ либо на вирусную инфекцию, либо на введение в организм ряда препаратов, названных индукторами интерферона. Затем были расшифрованы молекулярно-биологические основы продукции и действия интерферона, разработаны методы его очистки и концентрации, открыты другие не противовирусные эффекты интерферона. Установлены различные типы интерферона. В последние 20 лет были разработаны основы биотехнологического производства различных препаратов интерферона и начато его использование для профилактики и лечения вирусных заболеваний человека и животных.

Первоначальное внимание к интерферону, как своеобразному биологическому феномену, объясняющему механизм интерференции вирусов, в настоящее время переросло в стойкий и всевозрастающий интерес, связанный с универсальным спектром их противовирусной активности [2].

Интерфероны – это комплекс генетически детерминизированных, индуцибельных, биологически активных белков, синтезируемых ядросодержащими клетками в процессе защитной реакции на агенты (индукторы), несущие на себе признаки генетически чужеродной информации. [3].

В зависимости от типа клеток-продуцентов все интерфероны можно разделить на:

1. Альфа-интерферон- (ИНФ-α) продуцируется клетками моноцитарно-макрофагальной системы, лимфобластами, фибробластами и рядом других клеток в ответ на воздействие вирусов, нуклеиновых кислот, глюкокортикоидных гормонов и некоторых низкомолекулярных веществ.

Классическими индукторами ИНФ-α служат вирусы. Вирусы животных являются традиционными индукторами интерферона. Установлена интерфероиндуцирующая активность многих вирусов, играющих важную роль в инфекционной патологии животных.

ИНФ-α синтезируется в ответ на индукцию как В-клеточными митогенами, например липополисахаридом, так и Т-клеточными, в частности фитогемагглютинином (ФГА). Высокоактивными индукторами ИНФ-α являются микроорганизмы, в частности бактерии.

Особый интерес представляют данные об интерфероиндуцирующей активности возбудителей инфекционных заболеваний крупного рогатого скота, причиняющих значительный экономический ущерб животноводству, в частности, вирусов инфекционного ринотрахеита (ИРТ КРС) и вирусной диареи-болезни слизистых крупного рогатого скота (ВД-БС КРС).

Установлено, что достаточно сильным индуктором интерферона является вирус ИРТ КРС. В условиях in vitro продукцию интерферона вызывают различные штаммы этого вируса. Их индуцирующая способность во многом зависит от используемых клеточных систем.

2. Бета-интерферон - (ИНФ-β) представляет собой гликопротеин массой 20 кДа, состоящий из 166 аминокислот. Индукторами ИНФ-β служат все вещества, относящиеся к классу двуспиральных ДНК как природного (выделенные из вирусов, бактерий и дрожжей), так и синтетического происхождения (полирибонуклеиды). ИНФ-β способны индуцировать растительные полифенолы.

Основными продуцентами ИНФ-β являются клетки фибробластного и эпителиоидного типа, которые отвечают синтезом ИФН в ответ на все индукторы ИНФ-β. Помимо вышеупомянутых, в продукции ИНФ-β могут принимать участие и клетки иммунной системы.

Лейкоциты периферической крови в ответ на митогенную стимуляцию также способны синтезировать ИНФ-β. Установлено, что способностью синтезировать ИНФ-β обладают В- и Т-лимфобластоидные линии клеток в ответ на воздействие вирусных индукторов.

3. Гамма-интерферон (ИНФ-γ) является димером, субъединицы которого состоят из 146 аминокислот. Он синтезируется в виде белка-предшественника, состоящего из 166 аминокислот, включающего сигнальную последовательность из 23 аминокислот.

Основными продуцентами ИНФ-γ являются Т-лимфоциты (Т-хелперы 1-го типа). Прогресс синтеза зависит от присутствия вспомогательных клеток, в основном моноцитов и макрофагов. Последние не вырабатывают ИНФ-γ непосредственно сами, но в их присутствии синтез этого лимфокина резко усиливается. Также, помимо Т-лимфоцитов, возможными продуцентами ИНФ-γ могу быть В-лимфоциты в присутствии вспомогательных клеток. Показана роль дендритных клеток в качестве вспомогательных при синтезе ИНФ-γ тонзилоцитами.

Возможно, зависимость синтеза ИНФ-γ от присутствия в культурах вспомогательных клеток объясняется способностью последних секретировать ИЛ-1, который, как известно, принимает непосредственное участие в регуляции синтеза ИНФ-γ.

Основными индукторами ИНФ-γ являются: Т-клеточные митогены (лектины, оксиданты, антилимфоцитарные сыворотки, фрагменты иммуноглобулинов антилимфоцитарных сывороток); специфические антигены и аллоантигены, участвующие в процессе распознавания клеток; большинство микроорганизмов; многие иммуномодуляторы; соли тяжелых металлов.

Следует отметить, что хотя в крови здоровых доноров интерферон не находят или находят в небольших количествах, это не означает, что в физиологических условиях интерферон не продуцируется в организме. Скорее это означает, что концентрации интерферона в крови в нормальных условиях зачастую ниже границ, доступных современным методикам его определения. Тем не менее этого количества интерферона может быть вполне достаточно для проявления его биологического действия. [1, 2, 9].

Функционирование системы интерферонов носит характер своеобразной цепной реакции, которая развивается в ответ на самые различные сигналы тревоги, будь то начинающая инфекция, другие формы патологии, стрессы и т.д.

Первым звеном этой цепной реакции является – индукция, то есть «включение» системы индукторами. В результате чего происходит де-

репрессирование генов интерферонов, транскрибируются их информационные РНК, которые затем транслируются на рибосомах.

Второе звено – синтез собственно интерферонов α,γ,β – типов.

Третье звено – защита вновь образованными интерферонами окружающих клеток путем подавления трансляции чужеродных РНК или разрушения их с помощью эндогенных нуклеаз.

Последнее звено в этой цепочке – эффекты интерферонов (всего их описано более 100), из которых главными считают следующие:

Противовирусная активность, которая имеет этиотропный характер, так как связана с подавлением трансляции вирусных РНК в клетках (общий механизм, характерный для размножения практически всех вирусов).

Иммуномодулирующие (точнее иммунокорректирующее) эффекты – интерфероны выступают как плеотропные цитокины (медиаторы иммунитета) и, выполняя множество функций, могут использоваться в терапии вторичных иммунодефицитов – спутников множества инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Антитумурагенный эффект, связанный с подавлением интерферонами деления клеток, особенно быстро размножающихся (опухолевых).

Радиопротективный эффект **относится к числу наименее изученных и, по-видимому, имеет в основе направленную иммунокорекцию [2].**

Противовирусное действие:

Установлено, что наиболее чувствительными к интерферону являются вирусы, имеющие внешнюю оболочку и содержащие липиды (миксовирусы, того-, рабдо-, вирбовирусы и др.). Аденовирусы, пикорновирусы, лишенные внешней оболочки, более устойчивы к действию интерферона.

Установлена высокая чувствительность к интерферону крупного рогатого скота у вирусов инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи, респираторно-сентициального вируса, аденовируса, вируса парагриппа.

Система интерферонов является универсальной неспецифической защитой. Данная система является обязательным компонентом иммунного ответа на инфекцию и во многом определяет исход и характер течения заболевания. Система интерферона включает несколько составляющих: сами интерфероны, гены, кодирующие как их синтез, так их рецепторов, специфические клеточные рецепторы, ферменты, активизирующиеся при взаимодействии интерферонов с последними.

Интерфероны формируют защитный барьер на пути патогенов (вирусы, бактерии, хламидии, микоплазмы, патогенные грибы, онкогены) намного раньше специфических реакций иммунитета, часто уже впервые часы после инфицирования, стимулируя клеточную резистентность и делая клетку непригодной для размножения вирусов. В отличие от антител, способных нейтрализовать лишь определенный вирус, интерфероны активно подавляют репродукцию большинства известных вирусов. Противовирусная активность интерферона реализуется через подавление проникновения вирусной частицы в клетку, ингибицию синтеза матричной РНК и трансляции вирусных белков, а также через блокирование процессов сборки вирусной частицы и ее выхода из инфицированной клетки. В результате связывания молекул интерферона со специфическими интерфероновыми рецепторами на поверхности клеток происходит активация группы генов.

В клетке под действием интерферона активируются так называемые интерферонно-зависимые гены. Главными из них являются гены 2',5'-олиго-аденилатсинтетазы, протеинкиназы фактора инициации синтеза белка (eiF2) , антигенов главного комплекса гистосовместимости, гены β2-микроглобулина и некоторых антигенов Т-лимфоцитов.

Наиболее изученным интерферонно-зависимым ферментом является 2',5'-олиго (А)синтетаза, которая активируется под действием всех трех видов ИФН. Она катализирует синтез ряда коротких моно-, ди-, три- и тетраполиаденилатов на основе АТФ. Их отличительной особенностью является образование необычной 2',5'-фосфодиэфирной связи. Активность этого фермента проявляется только в присутствии двуспиральной РНК (дсРНК), состоящей не менее чем из 30 нуклеотидов. 2',5'-олиго-аденилаты выполняют функцию мощного активатора клеточных эндонуклеаз, в частности РНКазы L. Активация РНКазы предотвращает считывание чужеродной генетической информации, так как эффективно разрушает моноспирали вновь синтезируемой РНК (но не способна расщеплять дсРНК). Активация интерферонно-зависимой ферментной системы 2',5'-олиго(А)синтетаза-РНКаза L является основным механизмом противовирусного действия интерферона.

Другим механизмом, причем совершенно независимым, является активация протеинкиназы одного из факторов инициации синтеза белка eiF2, которая осуществляется также только в присутствии дсРНК. Фосфорилирование eiF2 с участием АТФ полностью останавливает синтез нового белка и, в частности, белков вириона. Сочетание этих двух механизмов обеспечивает надежность противовирусной защиты.

Этот процесс сопровождается формированием более 20 новых внутриклеточных белков, способствующих возникновению резистент-

ности к вирусам и которые отсутствуют в клетках, не подвергшихся возникновению интерферона. Основные из этих белков – ферменты, олигоаденилатсинтетаза и протеинкиназа.

Как олигоаденилатсинтетаза, так и протеинкиназа могут ингибировать синтез вирусных белков при наличии дсРНК. Олигоаденилатсинтетаза способствует накоплению в клетке олигомеров адениловой кислоты, активизирующих латентную клеточную эндорибонуклеазу, которая расщепляет как клеточную, так и вирусную РНК. Интерферон также активизирует фосфодиэстеразу, которая расщепляет часть тРНК и таким образом предупреждает удлинение пептидных цепей.

Таким образом, под воздействием интерферона в клетке синтезируется два фермента, один из которых тормозит синтез вирусных белков, другой расщепляет образуемые вирусные РНК. В результате этого новые вирусные частицы либо вообще не формируются, либо их число уменьшается в десять или сто раз. Имеются и другие механизмы противовирусного действия интерферона:

- подавление метилирования синтезированных мРНК, что исключает их участие в синтезе белка;
- активация фосфодиэстеразы, приводящая к подавлению участия тРНК в сборке белкового полипептида на рибосомах;
- специфическое подавление трансляции вирусных тРНК без влияния на синтез белков;
- подавление сборки вирионов и почкования вируссодержащих частиц.

Описанные выше 4 реакции проявляются в отношении ограниченного числа вирусов. Для их проявления не требуется присутствия дсРНК. [4, 2, 3]

В целом основными особенностями противоинфекционного воздействий интерферона являются:

Универсальность (интерферон активен против большинства ДНК- и РНК-содержащих вирусов);

Выраженная тканевая специфичность;

Выраженное последствие (после удаления интерферона в обработанных клетках сохраняется способность подавлять размножение вирусов);

Внутриклеточная активность с дистанционным характером действия (интерферон действует на вирусы лишь в процессе их размножения, через цитоплазмотическую мембрану клетки, а не непосредственно на геном);

Нечувствительность к антителам против вирусов, их индуцирующих.[3, 6].

Иммуномодулирующее действие интерферона реализуется через усиление экспрессии поверхностных антигенов главного комплекса гистосовместимости I и II классов, повышает эффективность иммунного распознавания измененных клеток; рекрутирование эффекторных клеток путем модулирования процессов их дифференцировки, созревания и пролиферации; активации эффекторных клеток; становления гуморального иммунитета, экспрессию IgG-FcR; более того, интерферон является незаменимым фактором дифференцировки В-клеток. Показано, что интерферон резко усиливает эффекторные функции макрофагов, их антимикробную и противоопухолевую активность за счет повышения продукции супероксидных и нитрооксидных радикалов. Кроме того, усиление иммунного фагоцитоза и антиопосредованной цитотоксичности макрофагов под влиянием интерферона связано с усилением экспрессии Fc-рецепторов IgG. Очевидно, что участие системы интерферона в поддержании гомеостаза обусловлено антигенами, подключающими эту систему к активной функциональной деятельности [8, 7].

Следовательно, высвобождение интерферона является не только маркером активации макрофагов, лимфоцитов и других клеток, но и определяет контрольно-регуляторные межклеточные взаимодействия в связи со значительными изменениями адгезивных свойств мембран клеток и экспрессии рецепторов для медиаторов, что существенно для механизмов формирования патологического процесса, его течения и исхода.

С иммунобиологической точки зрения препараты интерферона должны рассматриваться прежде всего как иммуномодуляторы, влияющие на процессы дифференцировки и функциональную активность эффекторных клеток иммунной системы (Т-лимфоцитов, макрофагов/моноцитов). Под действием интерферона повышается эффективность иммунного распознавания антигена и усиливается фагоцитарная и цитолитическая функции, направленные на элиминацию возбудителя и/или антигенно измененных клеток [7].

Антипролиферативный эффект:

Способность ИФН тормозить размножение клеток стала известна вскоре после его открытия. К антипролиферативному эффекту оказались чувствительными все клетки как нормальные, так и опухолевые; максимальной чувствительностью обладали быстроразмножающиеся клетки.

Высокочувствительны к антипролиферативному эффекту опухолевые клетки, характеризующиеся непрерывным неуправляемым ростом, поэтому антипролиферативный эффект давал надежду на проти-

воопухолевую активность интерферона. Многие сотни исследователей занялись изучением этой проблемы.

Антипролиферативный эффект проявляется только при взаимодействии интерферона со специфическими рецепторами, с последующим глубоким нарушением синтеза макромолекул. Мутанты клеток, утратившие рецептор, приобретают устойчивость как к противовирусному, так и к антипролиферативному эффектам. Следует учитывать также, что антипролиферативный эффект при невысоких дозах носит цитостатический характер: рост клеток полностью восстанавливается после удаления ИФН, хотя для этого нужно время (по крайней мере, 24 часа) [4].

На основании результатов исследования можно сделать вывод, что интерфероны являются важнейшими факторами неспецифической защиты организма животных. Они подавляют внутриклеточные этапы репродукции вирусов в зараженных клетках и делают невосприимчивыми к вирусам здоровые клетки.

Интерфероны вызывают невосприимчивость к широкому спектру вирусов, составляя защитный барьер против вируса, действующего еще до того, как включаются иммунные механизмы.

В связи с тем, что интерфероны обладают противовирусным действием, не только регулирующим размножение вируса, но также активизирующим макрофаги и лимфоциты, они должны найти широкое применение в ветеринарии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богомолов С.В. Система интерферонов: современные представления о структуре, организации и роли в реализации иммунитета/ С.В.Богомолов // Инфекционные болезни: научно-практический журнал Российского общества инфикционистов. – Москва, 2009.- Т7.-№1.-49-53 с.

2. Глотова Т.И. Противовирусное действие интерферона/ Т.И. Глотова, А.Г. Глотов// Методическое пособие РАСХН. Сиб. Отд-ние ИЭВСиДВ.- Новосибирск, 2005.-24 с.

3. Захарова И.Н. Значение системы интерферонов в формировании иммунного ответа у детей с острыми респираторными вирусными инфекциями/ И.Н.Захарова //Вопросы практической педиатрии.- Москва, 2009.- Т4.- №5- 38-45 с.

4. Кузнецов, В.П. Интерфероны в каскаде цитокинов: исторический и современный аспекты / В.П. Кузнецов // Антибиотики и химиотерапия. -1998.- Т. 43.- № 5. - 28-40 с.

5. Машеро. В. А. http://catalog.belal.by/cgi-bin/irbis64r_01/cgiirbis_64.exe?Z21ID=&I21DBN=BELAL&P21DBN=BELAL&S21STN=1&S21REF=3&S21FMT=fullwebr&C21COM=S&S21CNR=20&S21P01=0&S21P02=0&S21P03=M=&S21STR=Новые экологические подходы к активизации иммунной системы организма животных и птиц / В. А. Машеро, П. П. Красочко // Ученые записки учреждения образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины" / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Учреждение образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины". - Витебск, 2004. - Т.40 ч.1. - 249-250 с.

6. Попов В.Ф. Лекарственные формы интерферонов/ В.Ф. Попов // Справочник врача.- М: Триада-х, 2002.-7-12 с.

7. Романцова М.Г. Интерфероногены: перспективы клинического применения. / М.Г. Романцова// Руководство для врачей.- М.: СПб., 1998. - 38 с.
8. Серебрянная Н.Б. Интерфероны первого типа. Роль интерферона I типа в регуляции иммунной системы / Н.Б. Серебрянная, С.А. Кетлинский // Мед. акад. журн. 2004. — Т.4.- №2.- 3-20 с.
9. Снарская Е.С. Интерферон и его индукторы в терапии базально-клеточного рака кожи/ Е.С. Снарская // Медицинская помощь.- Москва, 2007.-№6.-14-17 с.