

УДК: 616.2-002.018:612.013

Маслянюк Р.П., доктор біологічних наук, професор,
Левківський Д.М., кандидат ветеринарних наук, доцент ©
*Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького*

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ ІНТЕРФЕРОНУ У НЕОНАТАЛЬНИХ ТВАРИН

У статті представлено сучасні уявлення про морфофункціональні особливості системи інтерферону. Детально описано механізм дії інтерферонів, питання взаємозв'язку між імунною системою та системою інтерферонів.

Представлено сучасні дані про роль і функціонування системи інтерферонів в організмі тварин у ранньому віці, проаналізовано результати досліджень інтерферонів у телят і ягнят з гострим захворюваннями органів дихання та шлунково-кишкової патології.

Ключові слова: тварини, система інтерферону, імунна система, хвороби телят, ягнят.

Проблема профілактики та лікування новонароджених тварин з різними патологіями респіраторного та шлунково-кишкового тракту постійно знаходиться в сфері уваги ветеринарної медицини. Щорічно в Україні та в інших країнах захворюваність неонатальних тварин складає не менше 40%, значна частина їх гине. Високий рівень захворювань тварин пов'язаний з виключно легкістю розповсюдження інфекції в ранньому віці через низький імунний статус їх організму. Особливо небезпечними для неонатальних тварин є гострі захворювання вірусного походження.

Складності проблеми профілактики та лікування неонатальних тварин спонукали дослідників до всебічного вивчення як самих вірусів, так і систем противірусного захисту, в першу чергу, системи інтерферону.

Протягом останніх років досягнуто значних успіхів у розумінні молекулярних механізмів противірусної дії інтерферонів (ІФН), а також механізмів протидії інтерферонового захисту організму самих вірусів [9].

Відомо, що система ІФН завжди знаходилась в центрі уваги дослідників її унікальної здатності пригнічувати репродукцію вірусів в імунокомпетентних клітинах без негативного впливу на метаболізм. Відомо також, що противірусна активність ІФН не пов'язана з безпосередньою дією на віріон, що є наслідком змін обмінних процесів на клітинному рівні. Так, за дії ІФН в клітині синтезуються ферменти, що пригнічують утворення вірусних білків і розщеплюючи вірусні РНК [7].

Згідно сучасних даних систем ІФН функціонує в організмі тварин і людини як інтегральна частина імунної системи.

На сьогодні відкрито та достатньо повно вивчено понад 20 ІФН, різних за структурою та біологічними властивостями, що об'єднані в два типи: вірус-індукований I-типу (ІФН- α та β) та імунний II-типу (ІФН- γ).

Основна функція ІФН I-типу – індукція антивірусного стану клітин. Утворення α - і β -ІФН індукується вірусами, бактеріальними ліпополісахаридами, двоспиральною РНК та їх аналогами.

Для реалізації повного протівірусного ефекту ІФН I-типу потрібен достатній синтез α - і β -ІФН. В експериментах та тваринах встановлено, що в результаті селективної руйнації єдиного гена, що кодує синтез ІФН- β , підвищується чутливість до вірусних захворювань, оскільки ізоформи ІФН- α не здатні компенсувати цю втрату ІФН- β [12].

Слід відзначити, що синтезувати ІФН I-типу в різній мірі здатні всі клітини організму, хоча найбільш виражена здатність в імунокомпетентних клітин (в основному у макрофагів та В-лімфоцитів). Така універсальність синтезу ІФН зумовлена тим, що будь-яка клітина може бути заражена вірусом і повинна мати систему розпізнавання та елімінації чужорідного чинника.

ІФН- α характеризується високою дифузійною здатністю. Це, очевидно, пов'язано з необхідністю вільної циркуляції та захисту організму, окремих органів, які віддалені від місць вторгнення вірусу, в тому числі й тих, що наділені природними захисними бар'єрами, такі як гематоенцефалічний бар'єр тощо [8].

Основними продуцентами ІФН- β є клітини фібробластичного та епітеліального типу. Він діє локально для запобігання розповсюдженню вірусу із місць його проникнення та реплікації. Внаслідок низької дифузійної здатності в інфікованій клітині (тканині) нагромаджується надзвичайно висока концентрація ІФН- β [7, 8].

Важливою функцією ІФН II-типу є модуляція імунної системи, зокрема відповіді на чужорідні антигени. Основними продуцентами ІФН- γ є Т-лімфоцити, особливо Т-гелпери (CD4⁺ Т-клітини). Процес синтезу ІФН- γ залежить від присутності допоміжних клітин, зокрема моноцитів і макрофагів. Крім Т-лімфоцитів синтез ІФН- γ може відбуватися в дендритних клітинах, В-лімфоцитах, натуральних кілерах [11]. Протівірусна активність ІФН II-типу значно нижча, ніж в α - і β -інтерферонів.

Взаємодія ІФН з клітиною здійснюється лише за допомогою специфічного рецептора, який знаходиться на цитоплазматичній мембрані. Позаклітинна його ділянка містить розпізнавальний домен, внутрішньоклітинна ділянка містить понад 500 амінокислотних залишків і здійснює передачу сигналу контрольними елементами, які генетично детерміновані [12].

Для реалізації біологічної дії ІФН I-типу використовують одні і ті ж клітинні рецептори, які володіють високим афінитетом до специфічних молекул. Число рецепторів на клітині коливається в широкому діапазоні (від сотень до десятків тисяч). Максимальна кількість рецепторів виявлена на клітинах плаценти.

Реалізація основних ефектів ІФН безпосередньо залежить від рецепторної активності. В експериментах на мишах окремих ліній з дефектом рецепторів α - і β -інтерферону було виявлено неоднакову чутливість до

інфекцій. Так, при селективному руйнуванні рецепторів ІФН- γ тварини демонстрували високу чутливість до бактеріальних антигенів при збереженні стійкості до вірусів і навпаки, при руйнуванні рецепторів ІФН- α/β тварини зберігали стійкість до бактеріальних інфекцій і мали підвищену чутливість до вірусів [29].

Після взаємодії з рецептором відбувається цілий каскад реакцій, які проявляються на молекулярному, клітинному та системному рівнях. Усю їх сукупність умовно можна розділити на противірусний, антипроліферативний та імуномодельючий ефекти.

ІФН був відкритий як фактор, який характеризується вираженою противірусною дією, пригнічення вірусної репродукції спостерігається при концентрації ІФН 3×10^{-14} М [7. 12], що може бути співставленим з активністю феромонів.

Таким чином, ІФН входить до складу першої «лінії оборони» проти вірусів, яка діє до того, поки імунні механізми повністю задіяними. ІФН не володіє специфічністю у відношенні до вірусів, а діють, пригнічуючи репродукцію вірусів, хоча останні характеризуються неоднаковою чутливістю до цього фактору захисту.

Що стосується основних етапів розвитку антивірусного захисту, то їх можна представити наступним чином. Зв'язування ІФН з рецепторами призводить до активізації факторів транскрипції, зокрема таких, як інтерферон-реагуючі фактори (ІРФ) та фактори сигнальної трансдукції та активації транскрипції – STAT (Signal transducer and activator of transcription). В результаті активації ІФН- γ , фактор транскрипції STAT – і α (gamma-активуючий фактор GAF) переміщується в ядро клітини та взаємодіє з гама-активуючою послідовністю ДНК (DAS), що призводить до активації транскрипції ІФН- γ з індукцибельних генів. При взаємодії α/β інтерферонів з рецептором відбувається активація інтерферон-регулюючих факторів, які, зв'язуючись з факторами транскрипції STST, переміщуються в ядро клітини, де утворюють комплекс-інтерферон-стимулюючий генний фактор 3 (ISGF 3), який активує транскрипцію генів-мішеней [7. 12].

В клітині за дії ІФН активуються ІФН-залежні гени, на яких основними є гени 2', 5'-оліго-аденілатсинтетази, протеїнкінази, фактори ініціації синтезу білка (eIF2), антигенів головного комплексу гістосумісності (гени МНС I класу, один із генів МНС II класу), гени 2-мікроглобуліну та деяких генів Т-лімфоцитів [31]. Для всіх цих генів характерна гомологічна послідовність 28 нуклеотидів з мінливими початковими 5'-послідовностями. Збільшення вмісту ІФН-залежних білків у цитоплазмі відбувається за рахунок збільшення швидкості транскрипції [15].

В даний час питання про механізми дії ІФН і, тим більше, ініціації інтерфероногенезу, залишається відкритим. У загальних рисах стає зрозумілим, що ІФН пригнічує трансляцію вірусних білків на рівні транскрипції. Але досі залишається неоднозначність між розумінням біологічної суті інтерфероногенезу та застосуванням ІФН-терапії, що не сприяє раціональному використанню цих високоактивних препаратів, і тому мета цієї роботи –

висвітлення сучасних уявлень про інтерферогенез та механізм дії ІФН на організм тварин в нормі та патології.

Перш за все слід підкреслити, що природа гомеостазу тварин і людини полягає в збереженні біологічної повноцінності протягом життя. Першою системою гомеостазу в процесі еволюції.

В результаті активації групи генів, локалізованих у 21-й хромосомі, формується більше 20 нових специфічних білків, які сприяють виникненню стійкості до вірусів, але відсутні в клітинах, які не піддаються дії ІФН. Найбільш повно вивчена роль таких білків, як ендорибонуклеаза, РНК-залежна протейніназа, РНК-специфічна аденозиндезамінокіназа та ін. [10. 14. 15].

ІФН також активує фосфодіестеразу, яка розщеплює частину транспортної РНК і, таким чином, запобігає продовженню пептидних ланцюгів. Активація ІФН-залежної ферментної системи 2', 5'-OAS R Nase I4 є основним механізмом противірусної дії ІФН [16].

За останні роки вивчена роль Мх-специфічного клітинного білку в противірусному захисті інтерферонів. Цей білок має вплив на РНК- і ДНК-вмісні віруси, пригнічуючи транскрипцію вірусного геному РНК-вмісного вірусу та трансляцію ДНК-вмісних вірусів [14].

Відкрито та достатньо вивчено інші механізми противірусної дії ІФН. Серед них – пригнічення процесу метилування синтезованих мРНК, що обить неможливим їх участь в синтезі білку, активації фосфодіестерази, що призводить до пригнічення участі тРНК у збірці білкового поліпептиду на рибосомах. Проте, ці механізми захисту ефективні лише у відношенні обмеженого числа вірусів. Тільки поєднання всіх цих механізмів забезпечує надійність противірусного захисту [8].

Ще однією функцією системи ІФН є регуляція імунної відповіді, а також поділ, диференціація та апоптоз клітин.

Між інтерференовою та імунною системами існують тісні прямі та зворотні зв'язки. Останнім часом визначені також основні різниці у спрямованості дії цих систем. Якщо головною функцією імунної системи є контроль білкової постійності багатоклітинної популяції організму, то системі ІФН належить провідна роль у нагляді за генетичною (нуклеотидною) постійністю.

ІФН можуть діяти на імунну систему різними шляхами, змінюючи експресію мембранних рецепторів та антигенів МНС різних класів, продукцію та секрецію внутрішньоклітинних білків, функціональну активність імунокомпетентних клітин, кількісний та якісний склад цитокінів [11].

Модуляція експресії білків МНС є важливим аспектом імунобіологічної дії ІФН, оскільки через ці поверхневі структури здійснюються міжклітинні взаємодії в процесі імунної відповіді. Так, біологічна активність ІФН- α та ІФН- β здійснюється лише в результаті посилення експресії антигенів I-класу МНС, а ІФН- γ – при посиленні експресії антигенів II-класу МНС, що має важливе значення для контролю імунної відповіді. Відомо, що Т-гелпери (CD4⁺) клітини розпізнають екзогенні антигени за участі HLA (Human leukocyte antigens) DR на поверхні антиген-презентуючих клітин людини. В свою чергу, активовані Т-

лімфоцити CD4⁺ субпопуляції декретують ІЛ-1, ІЛ-2, ФНО, ІФН- γ , які посилюють експресію антигенів цього класу на макрофагах [12].

Важливою властивістю ІФН в імунологічному нагляді є їх здатність активувати дозрівання цитолітичних Т-лімфоцитів і натуральних кілерів (NK)клітин. Однією з функцій NK-клітин є знищення вільно циркулюючих віріонів, які знаходяться в біологічних рідинах, а також знищення всіх клітин, які містять ці віріони.

ІФН- γ є потужним спеціалізованим індуктором диференціації моноцитів в ефекторні клітини, індукуючи експресію більше 100 різних генів у геномі макрофагів [9].

Таким чином, на ранніх стадіях гострих респіраторних та шлунково-кишкових захворювань в неонатальних дітей і тварин різних видів активуються переважно механізми противірусного захисту, зумовлені ІФН- α і β , в цей же час, як ІФН- γ забезпечує більш пізній контроль над інфекційним процесом, відіграючи роль в неспецифічному захисті організму, стимулюючи цитолітичну активність NK-клітин, фагоцитарну активність макрофагів [5. 14. 16].

Негативним фактором регуляції ІФН в клітині є специфічний інгібітор різних інтерферонів. Він виявляється на невисокому рівні у 50-60% людей і тварин. Інгібітор ІФН був виділений та очищений у мишей і визначений як поліпептид з молекулярною масою 8-10 кДа [12].

В клінічній практиці стан системи ІФН оцінюється за рівнем його в сироватці крові та за здатністю клітин продукувати *in vitro* після дії різних індукторів (вірусів, мутагенів) [1. 10].

На даний час достатньо повно вивчено закономірності продукції ІФН у людей і тварин різного віку. Відмічено, що на ранніх стадіях розвитку здатність лейкоцитів продукувати ІФН- α і ІФН- γ нижча, ніж у дорослих. У новонароджених в крові циркулює значна кількість «раннього» ІФН. Він відрізняється від ІФН дорослих менш вираженими антивірусними властивостями, що визначає підвищену їх чутливість до вірусних інфекцій шлунково-кишкового та респіраторних трактів. У новонароджених захисні функції проти вірусів виконує переважно ІФН- γ , хоча синтез його знижений [8]. Встановлено, що в ранньому віці знижена продукція лейкоцитарного ІФН- α та ІФН- γ [15], функціонування системи ІФН порушуються в умовах стресів, при недостатності живлення, гіповітамінозах, мікроелементозах тощо [3. 4]. В ряді досліджень, в основному на дітях та дрібних лабораторних тваринах, відмічено різке зниження інтерферонового статусу при різних захворюваннях [1. 5].

Таким чином, застосування ІФН або їх індукторів у лікуванні людини чи тварин з різними патологіями свідчить про можливість виникнення побічних ускладнень. Тому призначення ІФН препаратів в якості імуномодуляторів повинні базуватися на фундаментальних знаннях про систему цієї важливої ланки імунної системи людини і тварин.

Література

1. Бохонько А. И. Инструкция интерферонообразования: интерферон как возможный репрессор / А. И. Бохонько // Вопросы вирусологии. – 1988. – №6. – С.745-747.

2. Ершов Ф. И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств)/Ф. И. Ершов//М.-2005.-368 с.
3. Ершов Ф. И. Ранние цитокиновые реакции при вирусных инфекциях/Ф. И. Ершов, А. Н. Наровлянский, М. В. Мезенцева//Цитокины и воспаление.-2004.Т.3., №1.-С.3-6.
4. Кетлинский С. А. Цитокины/С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев//М.-Фомант.-2008.-552с.
5. Корнеев Я. Я. Интерферон – пара гормон или про гормон/Я. Я. Корнеев, Ф. И. Ершов//Вопросы вирусологии.-1987.-№6.-С.753-756.
6. Кузнецов В. П. Интерфероны как средство иммуномодуляции/В. П. Кузнецов//Иммунология.-1987.-№4.-С.30-34.
7. Соколова Т. М. Активность ферментов системы интерферона при вирусных заболеваниях/Т. М. Соколова//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1991.-т.111.-С.315-316.
8. Сорокин А. М. Иммуномодулирующая активность отечественных природных перпаратов интерферон-альфа/А. М. Сорокин//Иммунология.-1991.-№4.-С.17-20.
9. Чекнев С. В. Взаимодействие интерферона в регуляции активности естественных киллеров/С. В. Чекнев// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1992.-т.113.-С.179-182.
10. Biron С.А. Interferons α and β Immuneregulators/t. New Look/С. А. Biron//Immunity.-2001.-v.14.-P.661-664.
11. Desloges N. Role of the proteinkinase PKR in the inhibition of varicella-zoster virus replication by beta-interferon and gamma-interferon/N. Desloges, M. Rahaus, M. H. Wolff//J. Gen. Viral.-2005.-v.86.-P.1-6.
12. Ellis T. N. Interferon- γ activation of polymorphonuclear neutrophil function/T. N. Ellis, B. L. Beaman//J.Immunol.-2004.-v.112.-P.2-12.
13. Kolumam G. A. Type I interferons act directly on CD8T-lymphocytes to allow clonal expansion and memory formation in response to viral infection/G. A. Kolumam, S. Thomas//J. Exp. Med.-2005.-v.202.-P.637-650.
14. Samuel C. E. Antiviral actions of interferons/C. E. Samuel//Clin. Microbiol. Rev.-2001.-v.14.-P.778-809.
15. Shtrichman R. The role of gamma-interferon in antivacterial immunity/R. Shtrichman, C. E. Samuel//Curr. Opin. Microbiol.-2001.-v4.-P.251-259.
16. Uddin S. Mechanisms of type-I interferon signal transduction/S. Uddin, L. S. Plataniias//J. Biochem. Mol. Biol.-2004.-v.37.-P.635-641.

Summary

FUNCTION OF SYSTEM OF INTERFERON IN NEONATAL ANIMALS

Contemporary views of structure and functions of interferon system are expounded in the article. Mechanism of effect of interferon system is described in details. Issues of connection between immune and interferon system are elucidated.

Contemporary data about features of function of interferon system in neonatal animals and children are presented. Results of research of interferon status in animal with repeated diseases of respiratory and gastro-duodenal pathology.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010