

41. Ritchlin C.T., Haas-Smith S.A., Li P. et al. Mechanisms of TNF- and RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone resorption in psoriatic arthritis. *J. Clinical Investigation*. 2003, 6: 821-831.
42. Scheres N., Laine M.L., de Vries T.J. et al. Gingival and periodontal ligament fibroblasts differ in their inflammatory response to viable *Porphyromonas gingivalis*. *J. Periodontal Research*. 2010, 2: 262-270.
43. Tang Y., Sun F., Li X. et al. *Porphyromonas endodontalis* lipopolysaccharides induce RANKL by mouse osteoblast in a way different from that of *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J. Endodontics*. 2011, 12: 1653-1658.
44. Tew J.G., El Shikh M.E., El Sayed R.M. et al. Dendritic cells, antibodies reactive with oxLDL, and inflammation. *J. Dental Research*. 2012, 1: 8-16.
45. Trevani A.S., Chorny A., Salamone G. et al. Bacterial DNA activates human neutrophils by a CpG-independent pathway. *Eur. J. Immunology*. 2003, 11: 3164-3174.
46. Yarilina A., Xu K., Chen J. et al. TNF activates calcium-nuclear factor of activated T cells (NFAT) c1 signaling pathways in human macrophages. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2011, 4: 1573-1578.
47. Yoshihiro A., Mastro S., Michiko N. et al. Role of b-defensins in oral epithelial health and disease. *Med. Mol. Morphol.* 2007, 40: 179-184.
48. Zadeh H.H., Kreutzer D.L. Evidence for involvement of superantigens in human periodontal diseases: skewed expression of T cell receptor variable regions by gingival T cells. *Oral Microbiological Immunology*. 1996, 11 (2): 88-95.
49. Zhang W., Swearingen E.B., Rigney J. et al. *Porphyromonas gingivalis* invades osteoblasts and inhibits bone formation. *Microb. Infection*. 2010, 11: 838-845.
50. Zhang W., Rigney T., Tribble G. Integrin alpha5 beta1- fimbriae binding and actin rearrangement are essential for *Porphyromonas gingivalis* invasion of osteoblasts and subsequent activation of the JNK pathway. *BMC Microbiology*. 2013, 1: 13-15.

*Поступила 10.05.15*

Контактная информация: Свитич Оксана Анатольевна,  
105064, Москва, М. Казенный пер., 5а, р.т. (495)674-55-01

© И.Б.СЕМЕНОВА, 2016

*И.Б.Семенова*

## **РОЛЬ ПУРИНЭРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ**

НИИ вакцин и сывороток им.И.И.Мечникова, Москва

Пуриновые рецепторы располагаются на иммунных и соматических клетках организма животных и человека. Суммация сигналов с пуриновых и TOLL-подобных рецепторов происходит на уровне формирования инфламасомы и приводит к суммации первого и второго сигналов врожденного иммунитета. Первый сигнал — с PAMPs (pathogen associated molecular patterns), второй — с DAMPs (danger associated molecular patterns). Аденозинтрифосфат (АТФ) является наиболее изученным DAMP. АТФ соединяется с пуриновыми рецепторами, к которым относятся P2 (лучше всего описаны P2X7 рецепторы), что приводит к открытию каналов этих рецепторов и прохождению АТФ внутрь клетки. Параллельно наблюдают выход  $K^+$  из клетки и вход  $Ca^{2+}$  и  $Na^+$  в клетку, что ассоциируется с активацией иммунокомпетентной клетки. Источником экстраклеточного АТФ служат погибающие путем некроза или апоптоза поврежденные клетки, а также активированные иммунные клетки. В эффекторах врожденного иммунитета суммируются сигналы с P2 и TOLL-подобных рецепторов, а активация P2 рецепторов в лимфоцитах вносит вклад в активацию клеток, опосредованную T-клеточным рецептором. Негативной стороной активации пуриновых рецепторов является стимулирующее влияние на пролиферацию и метастазирование опухолевых клеток. Практическим выходом знаний о функционировании пуриновых рецепторов для клинической иммунологии является применение агонистов и антагонистов пуриновых рецепторов, а также объяснение действия иммуномодуляторов с позиции запуска  $K^+/Na^+$ -насоса, приводящего к длительной активации иммунокомпетентных клеток.

Ключевые слова: пуриnergические рецепторы, нуклеотиды, некроз, апоптоз, сигналы опасности, коррекция вторичных иммунодефицитов

*I.B.Semenova*

## ROLE OF PURINERGIC RECEPTORS IN IMMUNE RESPONSE

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Purine receptors are located on immune and somatic cells of animal and human organisms. Summation of signals from purine and TOLL-like receptors takes place on the level of inflammation formation and results in summation of the first and second signals of innate immunity. The first signal — from PAMPs (pathogen associated molecular patterns), the second — from DAMPs (danger associated molecular patterns). Adenosine triphosphate (ATP) is the most studied DAMP. ATP connects with purine receptors, which include P2 (P2X7 receptors are the best described), that results in opening of channels of these receptors and transit of ATP into the cell. In parallel exit of  $K^+$  from cells and entrance of  $Ca^{2+}$  and  $Na^+$  into the cells is observed, that is associated with activation of the immune competent cell. Damaged cells dying via necrosis or apoptosis are the source of extracellular ATP, as well as activated immunocytes. Signals from P2 and TOLL-like receptors are summarized in effectors of immune response, and activation of P2 receptors in lymphocytes makes a contribution into activation of cells, mediated by T-cell receptor. Negative side of purine receptor activation is a stimulating effect on proliferation and metastasis of malignant cells. The practical output of knowledge on functioning of purine receptors for clinical immunology is the application of agonists and antagonists of purine receptors, as well as explanation of effect of immune modulators from the position of launch of  $K^+/Na^+$ -pump, resulting in prolonged activation of immune competent cells.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2016, No. 2, P. 107—119

Key words: purinergic receptors, nucleotides, necrosis, apoptosis, danger signals, secondary immune deficiency correction

Пуриnergические рецепторы экспрессируются на клетках организма, включая иммунокомпетентные клетки, и осуществляют связывание с нуклеотидами и нуклеозидами. Нуклеотиды образуются при гибели поврежденных клеток путем апоптоза, некроза или при выполнении клетками организма их функций (например, активация и цитотоксическая функция Т-лимфоцитов).

В 2010 году Н.Б.Серебряной опубликован обзор преимущественно англоязычной литературы, в котором приводятся данные о роли нуклеотидов в регуляции иммунного ответа [3]. Автор подробно разбирает функции различных иммунокомпетентных клеток, развивающихся после соединения пуриnergических рецепторов с нуклеотидами, описывая особенности активации разных иммунных клеток (моноциты/ макрофаги, дендритные клетки, гранулоциты, естественные киллеры, Т- и В-лимфоциты), приводит данные о иммуномодулирующем действии нуклеотидов на иммунные клетки. Проанализированные в обзоре статьи позволяют сделать несколько основных выводов. Активация пуриnergических рецепторов приводит либо к запуску специфических функций клеток иммунной системы (хемотаксису клеток иммунной системы, выполнению их иммунной функции и апоптозу), либо к супрессии их функции. Направленность этих событий зависит в основном от дозы лигандов этих рецепторов, которыми являются нуклеотиды. Высокие концентрации последних, как правило, стимулируют иммунный ответ хозяина, а низкие подавляют. Кроме того, следует отметить, что механизмы функционирования разных популяций иммунных клеток при запуске сигналов с пуриnergических рецепторов имеют свои особенности.

В этом сообщении мы акцентируем внимание на двух сигналах активации врожденного иммунитета (ВИ): первый сигнал с PRRs (pattern recognition receptors, образраспознаю-

щие рецепторы) и второй — с пуриnergических рецепторов (прежде всего после соединения с лигандом АТФ); на роли пуриnergических рецепторов в инициации адаптивного иммунитета и активации иммунной системы в целом, на роли этих рецепторов в затухании иммунного ответа, механизмах проведения сигнала с пуриновых рецепторов, перспективе применения в практической медицине знаний об этих рецепторах, а также на основных результатах, опубликованных за последние 4 года по данной теме. Данные о функционировании пуриnergических рецепторов позволили нам сделать предположение о механизме действия иммуноотропных лекарственных средств и о совершенствовании диагностики иммунодефицитных состояний и подходов в назначении повторных курсов иммуномодуляторов.

Несмотря на то, что пуриnergические рецепторы располагаются практически на всех клетках организма человека и млекопитающих, наиболее подробно экспрессия и функция пуриновых рецепторов описана в работе с клетками иммунной системы и клетками глии [42, 48, 51]. Соединение пуриnergических рецепторов с их лигандами приводит к инициации функций клеток. После активации этих рецепторов на иммунокомпетентных клетках на фоне активации рецепторов ВИ и адаптивного иммунитета формируется иммунный ответ [7].

**Пуриnergические рецепторы как лиганды DAMP.** Для реализации ВИ сегодня считается необходимым запуск двух сигналов: первый — с TLRs, второй — с пуриnergических рецепторов. Наиболее детально суммация этих двух сигналов изучена при секреторной функции макрофагов. Возможно, что и при фагоцитозе и представлении антигена требуются сигналы с P2-рецепторов и других рецепторов врожденного иммунитета. Клетки врожденного иммунитета распознают PAMPs — патоген-ассоциированные молекулярные образы, которые несут в своем составе микроорганизмы. Но для реализации иммунного ответа необходимы также DAMPs — сигналы опасности [30, 40]. DAMPs отсутствуют в экстраклеточном окружении здорового организма, в то же время, DAMPs быстро высвобождаются, прежде всего, после повреждения клеток и их гибели путем некроза или апоптоза. К наиболее хорошо изученным DAMPs относят, прежде всего, нуклеотиды — аденозинтрифосфат (АТФ), аденозиндифосфат (АДФ), аденозинмонофосфат (АМФ) и нуклеозид — аденозин. Клетки макроорганизма экспрессируют рецепторы для экстраклеточных нуклеотидов и нуклеозидов, которые называются пуриnergическими рецепторами и делятся на два подтипа — P2 рецепторы (для АТФ, АДФ, АМФ) и аденозиновые рецепторы. Классификация этих рецепторов появилась уже в 1994 — 1998 годах [16, 41]. P2 рецепторы делятся также на три группы: ионотропные — P2X, метаболитропные — P2Y и P2Z рецепторы. К P2X относятся следующие рецепторы: P2X1, P2X2, P2X3, P2X4, P2X5, P2X6, P2X7, к P2Y — P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11, P2Y12, P2Y13, P2Y14. P2X рецепторы представляют собой открытые для лигандов (чаще всего АТФ) ионные каналы, которые формируют третичные структуры. В группу аденозиновых рецепторов (AP) входят A1, A2A, A2B и A3 рецепторы. Аденозиновые рецепторы обозначают также как P1 рецепторы. Подробнее всего описаны P2X7 рецепторы. Разные нуклеотиды соединяются с разными или одним и тем же рецептором. Концентрация сигналов опасности (АТФ) в поврежденных тканях, например, подверженных воспалению, достаточна для активации P2 рецепторов.

Второй сигнал (с пуриnergических рецепторов) приводит к открытию P2-каналов и проникновению АТФ внутрь клетки. После этого происходит выход  $K^+$  из клетки и вход  $Ca^{2+}$  и  $Na^+$  в клетку. Оба эти процесса участвуют в активации иммунокомпетентных клеток. В результате проведения сигнала с TLRs формируется про-формы ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-18. Переход этих молекул в активные формы — ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-18, в основном в макрофагах, опосредуется сигналом с P2 рецепторов. После соединения нуклеотидов с пуриновыми рецепторами наблюдают также презентацию антигена дендритными клетками (ДК) Т-лимфоцитам, дифференцировку CD4 $^+$  клеток в Th1, Th2, Th17, Treg, созревание цитотоксических лимфоцитов. Внутриклеточные механизмы перечисленных процессов наиболее полно описаны для перехода про-ИЛ-1 $\beta$  и про-ИЛ-18 в активные формы [11].

Распознавание чужеродных микроорганизмов такими рецепторами ВИ, как TLRs, недостаточно для того, чтобы запустить иммунный ответ и воспаление. Для этого требуется

еще распознавание сигнала опасности. Распознавание АТФ, белка теплового шока и других сигналов опасности даже важнее, чем детекция чужеродного антигена, что было показано в экспериментах по асептическому воспалению [42].

Имеются данные, согласно которым стимуляция P2 рецептора с помощью АТФ не приводит к высвобождению некоторых изученных провоспалительных цитокинов эффекторами ВИ. Giquel T. et al. исследовали вовлечение пуриnergических рецепторов и NOD-подобных рецепторов в секрецию цитокинов макрофагами. Установлено, что в ответ на стимуляцию P2X7 и NLR-инфламасом с помощью АТФ происходит секреция ИЛ-1 $\beta$ , но не ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-6 [20]. Другими авторами также установлено, что стимуляция АТФ пуриnergических рецепторов вызывает секрецию не всех воспалительных медиаторов. Shieh C.H. et al. продемонстрировали, что антагонисты P2X7 рецепторов блокируют высвобождение ИЛ-6 и CCL2, но не индуцированное VzАТФ освобождение ФНО- $\alpha$  в клетках микроглии [48]. Авторы предположили, что P2X7-зависимая продукция цитокинов в микроглии реализуется различно. Bulanova E. et al. продемонстрировали способность АТФ соединяться с P2X1 и P2X3 рецепторами на тучных клетках и вызывать экспрессию ИЛ-4, ИЛ-6, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ , RANTES и MIP-2 на уровне mРНК [7]. Возможно, данный эффект связан с активацией разных пуриновых рецепторов или с другой модельной системой (тучные клетки, а не глия).

**Роль пуриnergических рецепторов во врожденном и адаптивном иммунитете.** Анализ данных об участии P2 рецепторов во врожденном и адаптивном иммунитете еще раз приводит к заключению о взаимосвязи и единстве этих двух механизмов иммунного ответа. P2 рецепторы относятся к новым рецепторам ВИ, хотя они принимают участие и в реализации функций приобретенного иммунитета [38, 53]. Нуклеотиды являются универсальными внеклеточными мессенджерами иммунного ответа [12]. Для нормальной функции иммунокомпетентных клеток (не только эффекторов ВИ, но и лимфоцитов) необходим приток Ca<sup>2+</sup> внутрь клетки и выход АТФ во внеклеточное пространство, что, в свою очередь, стимулирует вход Ca<sup>2+</sup> и выход АТФ. В иммунных клетках суммируются сигналы с «не своего» (TLRs, TCRs) и «поврежденного своего» (P2 рецепторы). В литературе более подробно описаны эти процессы для ВИ, хотя роль TCRs и P2 рецепторов для активации адаптивного иммунитета находится в процессе обсуждения. Активация иммунокомпетентных клеток под действием пуриновых рецепторов описана для ведущих популяций иммуноцитов: дендритных клеток, макрофагов, T- $\alpha\beta$ , T- $\gamma\delta$  [3, 35, 42, 51]. P2 рецепторы на иммунокомпетентных клетках соединяются с нуклеотидами, присутствующими в экстраклеточном окружении. Это приводит к секреции макрофагами провоспалительных цитокинов, фагоцитозу, презентации антигена дендритными клетками, пролиферации T-лимфоцитов, хемотаксису, высвобождению цитокинов лимфоцитами и к цитотоксичности. У АТФ имеются качества, которые делают ее идеальным DAMP, возможно, много лучше, чем другие молекулы с аналогичной функцией. Прежде всего, направленный наружу трансмембранный градиент создает возможность быстро генерировать внеклеточный сигнал, который следует даже за небольшим повреждением клеток. Во-вторых, АТФ хорошо растворяется в воде экстраклеточного пространства благодаря своим зарядам. В-третьих, АТФ связывается с большим спектром рецепторов, что обеспечивает сигналинг с уникальной пластичностью. В-четвертых, сигнал от АТФ может быстро обрываться экто-АТФазами, таким образом, выполняя основные требования молекулы-«менеджера», т.е. быстрой инактивации, когда сигнал больше не нужен [42].

Долгое время не существовало подходящих методов для определения концентрации АТФ во внеклеточном пространстве [42]. Группой Rayah A. et al. был применен электрофорез для установления высвобождения АТФ или аденозина. В неповрежденных тканях содержание АТФ близко к нулю. В зоне воспаления или в микроокружении опухоли концентрация АТФ достигает сотен микромолей. ДК оригинально отвечают на градиент нуклеотидов. Только незрелые ДК способны к движению по направлению к большей концентрации нуклеотидов, в то время как зрелые ДК, несмотря на то, что они экспрессируют P2 рецепторы на том же уровне, что и незрелые ДК, полностью не способны к хемотаксису [28]. Это наводит на мысль о том, что после того, как ДК захватили антиген и мигрировали в лимфоузлы, они более не нуждаются в том, чтобы оставаться чувствительными к сигналу опасности. Зрелые ДК должны потерять нуклеотид-зависимую хе-

моатрагивную активность, чтобы мигрировать из богатых АТФ зон воспаления в лимфоузлы. Хорошо известно, что после захвата антигена в ДК начинается комплексный процесс дифференциации, который ведет к созреванию и формированию способности презентировать антиген лимфоцитам, что запускает иммунный ответ. ДК направляют CD4<sup>+</sup> лимфоциты к дифференцировке в Th1, Th2, Th17, Treg, что зависит от типа и количества высвобождающихся цитокинов и экспрессии костимулирующих молекул. Такой процесс строго контролируется микроокружением в зоне воспаления и концентрацией АТФ. Показано также, что инкубация ДК в присутствии микромолярных концентраций АТФ запускает созревание ДК по направлению Th2-фенотипа, а аутокринное высвобождение АТФ модулирует дифференциацию Treg клеток [45].

Богатое АТФ микроокружение иммунных клеток воздействует на такие ключевые иммунные процессы как фагоцитоз, слияние фагосом и лизосом, высвобождение цитотоксических медиаторов. Достаточно давно было показано, что высокий уровень экстраклеточного АТФ ингибировал фагоцитоз мышинных макрофагов [50]. В другой работе [23] продемонстрирован эффект ингибиции поглощения частиц макрофагами человека при воздействии на них АТФ. Этот процесс оказался P2X7-зависимым. С другой стороны, УДФ (урединдифосфат), воздействуя на P2Y6 рецептор, является сильным агентом, воздействующим на фагоцитоз в микроглии [31]. Экстраклеточный АТФ обладает угнетающим воздействием на фагоцитоз, т.к. АТФ-опосредованная стимуляция P2X7 рецепторов является сильным индуктором слияния фагосом с лизосомами с последующей гибелью микроорганизмов [45]. Кроме переваривания микробов, содержащихся в лизосомах, АТФ вызывает высвобождение реактивных форм кислорода (ROS) из митохондрий и активацию NADPH-оксидазы в макрофагах. Противоречивые данные о модуляции фагоцитоза наводят на мысль о том, что при соединении с P2 рецепторами сначала этот процесс активируется, а потом наблюдают супрессию. Модулирующее воздействие (усиление, угнетение) АТФ на организм хозяина зависит от дозы нуклеотида и от стадии активации иммунных клеток. Возможно, с этим связана и описанная супрессия фагоцитоза.

АТФ является необходимым сигналом для активации Т-лимфоцитов и продукции ими ИЛ-2 после соединения TCR с антигеном. На уровне P2 рецепторов происходит связь ВИ и адаптивного иммунитета. Так, стимуляция TCR на Т-лимфоцитах способствует высвобождению АТФ, который стимулирует P2X7 рецепторы на клеточной поверхности, что приводит к входу Ca<sup>2+</sup> в клетку, активации NFAT и синтезу ИЛ-2 [56]. Очень важно отметить, что продолжается накопление фактов, согласно которым P2X7 рецепторы участвуют в дифференцировке CD4<sup>+</sup> лимфоцитов. Этот процесс носит множественный характер, и многое в нем остается неизученным. С одной стороны, P2X7 экспрессируются на Treg клетках, а с другой, стимуляция P2X7 ингибирует ответ Treg лимфоцитов и направляет их дифференцировку по Th17 пути [45]. Роль P2X7 показана также для дифференцировки макрофагов, когда этот рецептор модулирует слияние клеток и формирование гигантских клеток и гранулем. Цитотоксический эффект, зависимый от P2X7-активации, впервые был описан для мышинных лимфоцитов [13]. Считалось, что этот процесс осуществляет Т-клеточную цитотоксичность. Но данная гипотеза никогда не получала экспериментального подтверждения, и до настоящего времени остается неясным вопрос о физиологическом значении клеточной смерти, осуществляемой путем связывания P2X7 рецепторов АТФ. Следует отметить, что, несмотря на то, что P2X2 и P2X4 рецепторы вовлекаются в цитотоксический процесс, P2X7 экспрессия необходима для поддержания опосредованной АТФ цитотоксичности, что продемонстрировано на всех исследованных клеточных моделях [42].

Опыты, проведенные с опухолевыми клетками, привели к предположению, что связь ВИ и адаптивного иммунитета осуществляется на уровне NLRP3 инфламасом. Противораковая терапия была неэффективна против опухолей в организмах, в которых не экспрессировались P2X7, NLR3, Casp1 [19].

Регуляция формирования инфламасом различается в макрофагах и дендритных клетках. He Y. et al. установили, что ДК могут синтезировать зрелый ИЛ-1 $\beta$  в ответ на стимуляцию их лигандами в отсутствие стимуляции АТФ [26].

Таким образом пуриnergические рецепторы играют неотъемлемую роль в активации как ВИ, так и приобретенного иммунитета. В случае ВИ внутри иммунокомпетентной

клетки происходит суммация сигналов с TLRs и P2 рецепторов. Для запуска адаптивного иммунитета также необходимы сигналы с пуриnergических рецепторов и активация TCR и BCR. Последнее положение требует дальнейшего изучения.

**Пути высвобождения АТФ из клеток во внеклеточное пространство.** Внутриклеточный АТФ переходит во внеклеточное пространство через паннексисовые и коннексисовые каналы. Есть данные, согласно которым высвобождение АТФ может осуществляться и через P2-каналы, а также через Ca<sup>2+</sup>-каналы и даже через TLRs [42, 51]. Источником экстраклеточного АТФ являются не только погибающие путем некроза или апоптоза клетки при инфекции, воспалении или другом повреждении, а также нормально функционирующие клетки иммунной системы [21, 24]. В работе Ren H. et al. приводятся данные, согласно которым АТФ может высвобождаться через TLR-ассоциированный сигналинг у мышей, инфицированных *Escherichia coli*, и в макрофагах, обработанных ЛПС или Pam3CSK4. Авторы полагают, что главную роль в высвобождении АТФ играет экзоцитоз, т.к. этот процесс (высвобождение АТФ) полностью блокируется N-этилмалеимидом, но не карбенксолоном, флуфенамиковой кислотой или пробенесидом [43]. Функцию пуриновых рецепторов нельзя рассматривать без связи с паннексисовыми и коннексисовыми каналами [51]. Saez P.J. et al. подробно изучили экспрессию и функционирование этих каналов на антиген-представляющих клетках. Экспрессирующиеся на поверхности клетки P2 рецепторы могут вступать во взаимодействие с паннексисовыми каналами. Так, после активации P2X7 рецепторов с помощью экстраклеточного АТФ открываются паннексисовые каналы. АТФ может освобождаться из иммунокомпетентных клеток также через TLRs. Так, Ren H. et al. в 2014 году показали это в работе с мышами, зараженными *E.coli*, и с макрофагами, обработанными ЛПС и Pam3CSK4 [43].

Гипертонический стресс наряду с механическим стрессом может приводить к высвобождению АТФ из поврежденных клеток во внеклеточную среду [33].

**Супрессия иммунного ответа посредством активации пуриnergических рецепторов.** Нуклеотиды запускают иммунные реакции, а продукты их метаболизма останавливают этот процесс. После высвобождения АТФ во внеклеточное пространство происходит его деградация до АДФ, АМФ и аденозина. Катализаторами такого превращения являются эндонуклеазы CD39 и CD73 — ферменты, поддерживающие гомеостаз. Экспрессируются CD39 и CD73 на поверхности FoxP3+ Treg клеток [34, 47]. Аденозин, образующийся из АТФ путем воздействия на АТФ этими ферментами, осуществляет противовоспалительный эффект Treg. Romio M. et al. [44] показали, что аденозин, который образуется при реакции CD73-энзима с нуклеотидами, соединяется с A2A рецепторами и угнетает NFκB активацию в T-эффекторных лимфоцитах, что, в свою очередь, уменьшает продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов [44]. Активация A2A рецептора на Treg запускает экспансию этих клеток, тем самым осуществляя регуляцию иммунного ответа [14]. У человека 90% FoxP3+ клеток экспрессируют CD39, а экспрессия CD73 минимальная [34]. Qiu F. и Dahl G. продемонстрировали, что клетки, коэкспрессирующие паннексисовые каналы и P2Y или P2X7 рецепторы в присутствии высокого уровня АТФ, только временно активируют паннексисовые каналы. АТФ запускает отрицательную обратную связь и инактивирует паннексисовые каналы. Этот механизм осуществляет другой путь иммунорегуляции, угнетая иммунный ответ и защищая от повреждения ткани при продолжительном воспалении. Парадоксально, но было установлено, что как агонисты, так и антагонисты пуриновых рецепторов были ингибиторами паннексисовых каналов в данном исследовании [40].

Завершение иммунного ответа, по-видимому, может осуществляться и посредством апоптоза T-лимфоцитов. Shoji K.F. et al. установили связь между P2X7 рецепторами и паннексисовыми каналами. Экстраклеточный АТФ высвобождается через паннексисовые каналы и соединяется с P2X7 рецепторами, что приводит к смерти CD4 и CD8 клеток. [49].

Интересные и противоречивые данные получены отечественными специалистами, согласно которым стимуляция культуры моноцитов аденозином приводила к накоплению в надосадке про- и противовоспалительных цитокинов [2]. Учитывая, что на моноцитах имеются рецепторы в ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-1β, нельзя прогнозировать биологический эффект цитокинов вне культуры клеток.

Активация P2X7 рецептора не всегда приводит к усилению иммунного ответа. Иногда угнетение отдельных клеточных популяций вызывает стимуляцию функции иммунной системы в целом. Парadoxально, но факт, что иммуносупрессия может быть индуцирована через активацию классического провоспалительного рецептора P2X7. Этот феномен описан Morandini A.C. et al. [37]. Авторы показали, что мыши с дефицитом CD39 (эктоАДФ/-АТФазы) были защищены против ConA-индуцированного гепатонекроза, потому что были не способны к деградации АТФ. У этих животных наблюдали аккумуляцию нуклеотида до уровня, достаточного, чтобы запустить P2X7-зависимый апоптоз НКТ-клеток — главного эффектора ConA-индуцированного повреждения печени. Стимуляция высвобождения некоторых медиаторов иммунного ответа может приводить к супрессии иммунного ответа на уровне макроорганизма. АТФ может также угнетать иммунный ответ путем увеличения содержания тромбоспондина и индолеминовой 2, 3 диоксигеназы — факторов, ингибирующих клеточную пролиферацию и способствующих высвобождению TGF- $\beta$  [37].

Активация пуриновых рецепторов приводит к стимуляции функции иммунной системы в целом. После соединения АТФ с P2X7 рецепторов на поверхности Treg клеток происходит ингибция функции этих клеток [45]. Schenk U. et al. показали, что синтез АТФ, который усиливался под действием провоспалительного цитокина ИЛ-6, и сигнал с P2X7 рецепторов в Treg запускали конверсию этих клеток в ИЛ-17 продуцирующие Th17. Применение антагонистов P2X7 рецепторов приводило к превращению CD4+ наивных T-клеток в Treg вследствие стимуляции T-клеточного рецептора [45].

**Продукция цитокинов и модуляция их секреции и секреции хемокинов при соединении нуклеотидов с P2 рецепторами.** Антагонисты P2X7 рецепторов предотвращают созревание и секрецию ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-18, которые были вызваны разными стимулами. Блокада рецепторной активности не влияла на продукцию ИЛ-1 $\beta$  моноцитами, несущими мутантную инфламасому, которая не требовала экзогенного АТФ для активации [39]. Другими авторами [9] установлено, что, напротив, блокада P2X7 рецепторов супрессирует индуцированное HNP-1 (пептидом нейтрофилов) освобождение зрелого ИЛ-1 $\beta$ . В мутантных инфламасомах со сниженной активностью каспазы-1 освобождение ИЛ-1 $\beta$  было незначительно повреждено. Секреция некоторых других цитокиновых молекул (например, для ИЛ-12) была ингибирована экстраклеточным АТФ [32]. Направленность этих эффектов зависела от дозы нуклеотида и от субтипа рецептора. В низких концентрациях АТФ обладал преимущественно иммуносупрессивной, толерогенной активностью, воздействуя при этом на P2Y1 и/или P2Y11 рецепторы. В высоких дозах эффект был в основном провоспалительным, что, весьма вероятно, обусловлено соединением АТФ с P2X7 рецепторами. Кроме того, низкие дозы АТФ преимущественно активировали иммуносупрессивные или толерогенные пути, в то время как высокие дозы запускали провоспалительные механизмы. АТФ обладал сильным модулирующим воздействием на хемокины, вызывая высвобождение CCL22 и угнетая ЛПС-индуцированную секрецию CXCL10 и CCL5. Эффект модуляции продукции цитокинов и хемокинов, с одной стороны, уменьшал дифференцировку Th1, а с другой — запускал Th2-дифференцировку.

Для другого цитокина, принимающего участие, прежде всего, в инициации ВИ, ИФН- $\beta$  суммация сигналов с TLRs происходит на уровне промотера ИФН- $\beta$ , т.е. не на молекулярном, как у ИЛ-1 $\beta$ , а на генетическом уровне. Стимуляция агонистами этих рецепторов значительно усиливала ЛПС-индуцированную экспрессию ИФН- $\beta$  в макрофагах. Усиление было супрессировано в макрофагах, которые не экспрессировали P2X7 рецептор или если МАРК MEK1/2 путь был ингибирован [17].

Gicquel T. et al. в результате работы с агонистами и антагонистами P2X7 рецепторами сделали предположение о том, что эти рецепторы не вовлекаются в продукцию ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-6 в макрофагах моноцитарного происхождения, обработанных низкими концентрациями ЛПС [20].

В современной литературе имеются данные о регуляторном воздействии цитокинов на P2 рецепторы. Так, при иммуновоспалительном заболевании неизвестного происхождения, которое носит название болезни Бесета, увеличена экспрессия и усилена функция P2X7 рецепторов по сравнению с контрольной группой здоровых лиц. Авторы [8] связы-

вают этот факт с модулирующим действием ФНО- $\alpha$  на P2X7 рецептор, потому что анти-ФНО- $\alpha$  соединения эффективны для лечения этой болезни.

Nasko G. et al. описали не зависящую от ИЛ-10 модуляцию (супрессию) продукции цитокинов ИЛ-12 и ФНО- $\alpha$  при воздействии на макрофаги разных аналогов АТФ и ЛПС [25]. По данным других авторов [32] внеклеточный АТФ служит важным регулятором, который приводит к затуханию продукции ИЛ-12 дендритными клетками и предотвращает слишком сильный и повреждающий иммунный ответ.

**Суммация сигналов с пуриновых и не пуриновых рецепторов ВИ.** Проведенный нами анализ экспериментальных и теоретических статей, опубликованных за последнее десятилетие, не выявил прямого взаимодействия АТФ с TLRs, NodLikeRs, Rig-likeRs или взаимодействия PAMPs с пуриновыми рецепторами. Имеются данные о влиянии PAMPs (ЛПС и липотейхоевой кислоты) на активацию P2X7 рецепторов и модуляцию их функции с помощью этих структур [27]. Суммация сигналов PAMPs и DAMPs (прежде всего АТФ) происходит внутри иммунокомпетентной клетки хозяина и является каспаза-1 зависимым процессом. Это продемонстрировано как в опытах по активации врожденного иммунитета, так и при изучении клеточной смерти. Так, пирозитоз (каспаза-1 зависимая клеточная смерть), ассоциированный с провоспалительными цитокинами, индуцированный двумя сигналами, был ингибирован с помощью ингибитора каспазы-1. Это соединение ингибировало ЛПС- и АТФ-индуцированное освобождение ИЛ-1 $\beta$ . Опыты проводили на клеточной линии мышинных макрофаг-подобных клеток J774. Секреция ИЛ-1 $\beta$  на этой модели была стимулирована как ЛПС, так и АТФ. Взятые отдельно эти PAMP и DAMP не стимулировали выработку ИЛ-1 $\beta$ . Ранее Ferrari D. et al. описали суммацию сигналов с TLRs и пуриновых рецепторов в дендритных клетках. Стимуляция клеток такими лигандами как ЛПС и АТФ приводит к высвобождению ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ . Авторы рассматривают пуринорецепторы как новый путь модуляции функции дендритных клеток [15].

Стоит остановиться на результатах, полученных Gulinelli S. et al. Исследователи получили данные, согласно которым для формирования про-ИЛ-18 в макрофагах не требуется их предварительной обработки ЛПС, т.к. этот процитокин уже присутствует в непримированных макрофагах и его концентрация не уменьшается при инкубации с ЛПС-связывающим антибиотиком полимиксином В или с ингибитором TLR-4 — CLI-095. После соединения P2X-рецепторов на поверхности макрофагов происходит образование микровезикул, содержащих ИЛ-18, которые сливаются с поверхности этих иммунокомпетентных клеток [24].

Таким образом, соединение пуриnergических рецепторов с их лигандами приводит к секреции цитокинов (прежде всего ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-18), а также разнонаправленно влияет на продукцию некоторых других цитокиновых и хемокиновых молекул. На наш взгляд, модулирующий эффект АТФ реализуется на уровне продукции цитокинов и хемокинов.

**Механизмы действия пуриnergических рецепторов.** Описаны механизмы функционирования пуриновых рецепторов. Так, известно, что внеклеточный АТФ обладает способностью формировать поры в клеточной мембране после соединения с P2X7 комплексом и вызывать проникновение нуклеотида в клетки. Два немышечных миозина, ассоциированных с P2X7 рецептором — NMMHC-IIA и миозин Va, были обнаружены на TNP-1 и HEK-299 клетках соответственно [22]. Активация этих рецепторов с помощью АТФ вызывает диссоциацию P2X7 с немышечного миозина в обеих клеточных линиях. Описанная диссоциация может требоваться для преобразования P2X7 канала в поры. Анализируя функционирование P2 рецепторов, можно сделать предположение о том, что эти структуры действуют и как каналы, и как рецепторы. Соединение A438079 — антагонист P2X7 рецептора усиливает АТФ-индуцированное высвобождение ФНО- $\alpha$ , а антагонист канала — SKF96365 — ингибирует этот процесс [29].

В ходе анализа вышеописанных процессов возникает вопрос: почему для формирования инфламасомы необходимо прохождение АТФ через P2 рецепторы, а накопленный внутри клетки АТФ не стимулирует этот процесс? Нами сделано предположение о том, что кроме входа внутрь клетки, этот нуклеотид взаимодействует с P2 рецепторами и проводит сигнал с P2 рецепторов каким-то еще не установленным образом. Таким образом, P2 рецепторы, по-видимому, функционируют и как каналы, и как классические рецепторы. Высказанное нами предположение подтверждается успешным применением агонистов P2 рецепторов,

так как если бы эти рецепторы только бы осуществляли проникновение АТФ внутрь клетки, агонисты, отличные от АТФ, не передавали бы сигнал с таким же эффектом, и нуклеотиды. Опубликована статья [Stolz M. et al., 2015], в которой приводятся данные о потоках  $K^+$  из клетки и  $Na^+$  и  $Ca^{2+}$  в клетку через P2X7 рецепторы после их активации экстраклеточным АТФ. В связи с этим, активацию иммунокомпетентных клеток после соединения АТФ с P2X7 рецепторами можно предположительно объяснить также и воздействием на клетку этих катионов. Хотя физиологическая роль повышения внутриклеточного  $Ca^{2+}$  общепризнана, биофизику кальциевого потока трудно объяснить в основном из-за того, что традиционные методы измерения  $Ca^{2+}$  проницаемости сложно применить к функционированию P2X7 рецепторов [Liang X. et al., 2015].

Функционирование пуриnergических рецепторов находится под генетическим контролем. Гены P2X7 рецептора имеют много полиморфных вариантов и изоформ, что усиливает или ослабляет функцию этих рецепторов [53].

**Взаимодействие сигналов соматических и иммунных клеток в свете воздействия АТФ на пуриnergические рецепторы.** Появляются работы, в которых описано взаимодействие сигналов соматических и иммунокомпетентных клеток и их совместная роль в иммунных процессах и защите организма от различных инфекций. Yao Y. et al. была описана способность интерстициальных эпителиальных клеток мыши вызывать формирование резидентных толерогенных дендритных клеток и ИФН- $\beta$  (+) и ИЛ-17 (+) Т-клеток памяти под влиянием сигнала с АТФ, который модулировал хемокиновый ответ на TLR5-лигандассоциированный ответ и развитие колита в присутствии флагелина. В этой работе было сделано предположение о том, что супернатанты из интерстициальных эпителиальных клеток, стимулированные флагелином +АТФ, стимулировали экспрессию CD80 на дендритных клетках костномозгового происхождения и продукцию ими цитокинов, характерную для Th1/Th17-поляризации [55].

**Практическое значение использования знаний о функционировании пуриnergических рецепторов.** Описанные закономерности действия сигналов при активации P2 рецепторов открывает четыре прикладных направления в практической медицине. Во-первых, использование агонистов P2 рецепторов; во-вторых — антагонистов, в-третьих, совершенствование использования иммуностропных лекарственных средств, а также применение нуклеотидов в качестве иммунорегуляторов.

Использование агонистов пуриnergических рецепторов рассматривают, прежде всего, в качестве адъювантов для существующих или создающихся вакцин, а антагонистов — как противовоспалительных средств в комплексной терапии опухолей и в дальнейшем, возможно, и при лечении аллергических и аутоиммунных заболеваний [5, 12, 21, 25, 36]. Так, поводом для использования агонистов P2 рецепторов в качестве адъюванта послужил ряд исследований, включая такие, как определение повышенной экспрессии следующих маркеров: I-A, CD80, CD86 и ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-12p40 при угнетении экспрессии ИЛ-10 на антигенпредставляющих клетках (клетки Лангерганса) [21].

Нарушение проведения сигнала с P2X7 рецепторов на разных уровнях может оказаться перспективным направлением для лечения аллергического контактного дерматита, т.к. сенсибилизация к контактными аллергенами требует активации ВИ эндогенными сигналами опасности [52].

Наиболее подробно роль пуриновых рецепторов и паннексиновых каналов на уровне целого организма описана при воспалении, ишемическом инсульте, атеросклерозе, ВИЧ-инфекции, аутоиммунных заболеваниях [42, 51]

Среди всех эффектов, развивающихся при активации P2 рецепторов, больше всего выражено провоспалительное действие. Осуществляют это действие, прежде всего, P2Y2 и P2X7 рецепторы. P2Y2 отвечают за привлечение нейтрофилов, дендритных клеток, эозинофилов и макрофагов в области воспаления и могут также участвовать в освобождении провоспалительных факторов, таких как ИЛ-33 или MCP-1 /CCL2. Среди P2 рецепторов привлекают особое внимание P2X7, т.к. их участие в воспалении является наиболее выраженным и хорошо изученным. P2X7 отличаются от других P2X рецепторов своими C-окончаниями, которые примерно на 200 аминокислот длиннее, чем у других P2X структур. Кратковременная активация P2X7 рецепторов экстраклеточным АТФ в его тетраанионной форме — АТФ4 — открывает катион-специфические ионные каналы. Длительное

связывание P2X7 запускает формирование неселективных пор, через которые могут проходить молекулы до 900 Да. В зависимости от типа клеток P2X7-стимуляция запускает открытие неселективных пор, которые осуществляют захват катионов и анионов. Формирование неселективных пор зависит от цитоплазматического С-концевого домена P2X7 рецепторов. Длительная активация P2X7 приводит к свертыванию мембраны и клеточной смерти путем лизиса/некроза или апоптоза в зависимости от типа клеток [10].

Связывание пуриnergических рецепторов с их антагонистами считается перспективным направлением противовоспалительной терапии. При этом не происходит преобразования про-ИЛ-1 $\beta$  в ИЛ-1 $\beta$  и про-ИЛ-18 в ИЛ-18. Таким образом, на фоне соединения TLRs с лигандами микроорганизмов не развивается воспалительный процесс [51]. Другими авторами подтверждено, что знания о проведении сигналов с пуриновых рецепторов могут послужить новыми терапевтическими возможностями для лечения воспалительных заболеваний [6].

Выявлено и негативное воздействие АТФ на организм. Xie R. et al. установили, что активация P2Y2 рецептора в клетках человеческой гепатокарциномы запускает пролиферацию и миграцию этих клеток [54]. Авторы обсуждают использование антагонистов P2Y2 рецептора у больных. Другим коллективом исследователей [18] показана возможность применения ингибитора P2Y12 рецептора для угнетения адгезии опухолевых клеток и метастазирования меланомы V16-F10.

Зиганшин А.У и др. в своем обзоре приводят данные о терапевтическом действии раствора АТФ у больных раком легких. Внутривенное введение такого раствора уменьшает потерю массы тела, нормализует сниженные концентрации альбумина крови, снижает смертность и повышает качество жизни больных [1]. Механизмом лечебного действия является апоптоз клеток опухоли, развивающийся после открытия неселективных пор в мембранах клеток. В этом же обзоре обсуждается действие АДФ в качестве агониста, а АТФ — как антагониста P2Y12 рецептора. Возможно, и на P2Y2 АТФ воздействует как антагонист.

В работе, посвященной протективному действию препарата ферровир при остром экспериментальном аллергическом энцефаломиелите (модель рассеянного склероза на крысах и мышах), Серебряная Н.Б. и др. [4] показали эффективность этого препарата и обсуждают возможность иммуномодулирующего действия нуклеотидов, входящих в его состав. Авторы предполагают, что молекулы ДНК в составе ферровира способны проникать внутрь клетки макроорганизма и метаболизироваться до нуклеозидов (прежде всего АТФ и АДФ.) Выходя из клеток во внеклеточное пространство нуклеотиды связываются с пуриновыми рецепторами на клетках иммунной и нервной систем и модулируют иммунный ответ. Модуляция, по мнению авторов, приводит к высвобождению противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и ингибции продукции провоспалительных цитокинов, а также к угнетению синтеза цитокинов Th1 (ИЛ-2, ФНО-, ИФН-), Th2 (ИЛ-4, ИЛ-5) и хемокина MCP-1.

При нормальной функции иммунокомпетентных клеток происходит выход АТФ из клетки во внеклеточную среду и соединение его с P2 рецепторами, что, в свою очередь, запускает выход K<sup>+</sup> из клетки и вход Ca<sup>2+</sup> и Na<sup>+</sup> внутрь клетки. Наблюдаемые после активации P2 рецепторов проникновение Ca<sup>2+</sup> и Na<sup>+</sup> внутрь клетки и выход K<sup>+</sup> из клетки позволили нам сделать предположение, согласно которому многократное применение иммунотропных препаратов (а эти лекарственные средства вводятся многократно курсами) запускает K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> насос, что обеспечивает длительную активацию иммунцитов и стабильную ремиссию иммунодефицитных состояний после курса иммуномодулятора. После затухания функционирования K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> насоса, по-видимому, происходит угнетение иммунного ответа и наступает рецидив иммунодефицита. Определение активного состояния K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> насоса, вероятно, позволит осуществлять лабораторную диагностику начала формирования обострения синдрома вторичного иммунодефицита и осуществлять назначение иммуномодуляторов до клинического проявления рецидива иммунологической недостаточности.

В заключении изложенного материала следует отметить, что знания о функционировании пуриnergических рецепторов вносят вклад в теоретическую иммунологию, а также имеют прикладное значение.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е., Бернсток Дж. P-2 рецепторы: теоретические предпосылки клинического воздействия. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2002, 134 (10): 365-370.
2. Невская К.В., Огородова Л.М., Юрьева К.С., Иванюк Е.Э., Иккерт О.П., Салтыкова И.В., Сазонов А.Э. Особенности цитокинового профиля моноцитов при стимуляции аденозиновых рецепторов *in vitro*. Цитокины и воспаление. 2014, 13 (1): 67-70.
3. Серебряная Н.Б. Нуклеотиды как регуляторы иммунного ответа. Иммунология. 2010, 5: 273-281.
4. Серебряная Н.Б., Карпенко М.Н., Житнухин Ю.Л., Бисага Г.Н., Абдурасулова И.Н. Исследование протективного действия препарата ферровир при остром экспериментальном аллергическом энцефаломиелите. Цитокины и воспаление. 2010, 9 (1): 33-38.
5. Bartlett R., Stokes L., Sluyter R. The P2X7 receptor channel: recent developments and the use of P2X7 antagonists in models of disease. *Pharmacol Rev.* 2014. Jul; 66 (3): 638-675.
6. Bours M.J., Dagnelie P.C., Giuliani A.L. et al. P2 receptors and extracellular ATP: a novel homeostatic pathway in inflammation. *Front Biosci.* 2011, Jun; 1 (3): 1443-1456.
7. Bulanova E., Budagian V., Orinska Z. et al. Bulfone-Paus SATP induces P2X7 receptor-independent cytokine expression through P2X1 and P2X3 receptors in murine mast cells. *J. Leukoc. Biol.* 2009, Apr; 85 (4): 692-702.
8. Castrichini M., Lazzzerini P.E., Gamberucci A. et al. The purinergic P2x7 receptor is expressed on monocytes in Behçet's disease and is modulated by TNF- $\alpha$ . *Eur. J. Immunol.* 2014, Jan; 44 (1): 227-238.
9. Chen Q., Jin Y., Zhang K. et al. Alarmin HNP-1 promotes pyroptosis and IL-1 $\beta$  release through different roles of NLRP3 inflammasome via P2X7 in LPS-primed macrophages. *Innate Immun.* 2014, Apr; 20 (3): 290-300.
10. Cisneros-Mejorado A., Pérez-Samartín A., Gottlieb M., Matute C. ATP signaling in brain: release, excitotoxicity and potential therapeutic targets. *Cell Mol. Neurobiol.* 2015, Jan; 35 (1): 1-6.
11. Coutinho-Silva R., Corrêa G., Sater A.A., Ojcius D.M. The P2X(7) receptor and intracellular pathogens: a continuing struggle. *Purinergic Signal.* 2009, Jun; 5 (2): 197-204.
12. Di Virgilio F., Boeynaems J.M., Robson S.C. Extracellular nucleotides as negative modulators of immunity. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2009, Aug; 9 (4): 507-513.
13. Di Virgilio F., Bronte V., Collavo D., Zanovello P. Responses of mouse lymphocytes to extracellular adenosine 5'-triphosphate (ATP). Lymphocytes with cytotoxic activity are resistant to the permeabilizing effects of ATP. *J. Immunol.* 1989, Sep; 143 (6): 1955-1960.
14. Dwyer K.M., Hanidziar D., Putheti P. et al. Expression of CD39 by human peripheral blood CD4+CD25+ T cells denotes a regulatory memory phenotype. *Am. J. Transplant.* 2010, Nov; 10 (11): 2410-2420.
15. Ferrari D., La Sala A., Chiozzi P. et al. The P2 purinergic receptors of human dendritic cells: identification and coupling to cytokine release. *FASEB J.* 2000, Dec; 14 (15): 2466-2476.
16. Fredholm B.B., Abbracchio M.P., Burnstock G. et al. Nomenclature and classification of purinoceptors. *Pharmacol. Rev.* 1994, Jun; 46 (2): 143-156.
17. Gavala M.L., Liu Y.P., Lenertz L.Y. et al. Nucleotide receptor P2RX7 stimulation enhances LPS-induced interferon- $\beta$  production in murine macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 2013, Oct; 94 (4): 759-768.
18. Gebremeskel S., LeVatte T., Liwski R.S. et al. The reversible P2Y12 inhibitor ticagrelor inhibits metastasis and improves survival in mouse models of cancer. *Int. J. Cancer.* 2015, Jan; 136 (1): 234-240.
19. Ghiringhelli F., Apetoh L., Tesniere A. et al. Activation of the NLRP3 inflammasome in dendritic cells induces IL-1 $\beta$ -dependent adaptive immunity against tumors. *Nat. Med.* 2009, Oct; 15 (10): 1170-1178.
20. Gicquel T., Victoni T., Fautrel A. et al. Involvement of purinergic receptors and NOD-like receptor-family protein 3-inflammasome pathway in the adenosine triphosphate-induced cytokine release from macrophages. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2014, Apr; 41 (4): 279-286.
21. Granstein R.D., Ding W., Huang J. et al. Augmentation of cutaneous immune responses by ATP gamma S: purinergic agonists define a novel class of immunologic adjuvants. *J. Immunol.* 2005, Jun 15; 174 (12): 7725-7731.
22. Gu B.J., Rathsam C., Stokes L. et al. Extracellular ATP dissociates nonmuscle myosin from P2X(7) complex: this dissociation regulates P2X (7) pore formation. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2009, Aug; 297 (2): 430-439.

23. Gu B.J., Saunders B.M., Jursik C., Wiley J.S. The P2X7-nonmuscle myosin membrane complex regulates phagocytosis of nonopsonized particles and bacteria by a pathway attenuated by extracellular ATP. *Blood*. 2010, Feb 25; 115 (8): 1621-1631.
24. Gulinelli S., Salaro E., Vuerich M. et al. IL-18 associates to microvesicles shed from human macrophages by a LPS/TLR-4 independent mechanism in response to P2X receptor stimulation. *Eur. J. Immunol.* 2012, Dec; 42 (12): 3334-3345.
25. Haskó G., Kuhel D.G., Salzman A.L., Szabó C. ATP suppression of interleukin-12 and tumour necrosis factor- $\alpha$  release from macrophages. *Br. J. Pharmacol.* 2000, Mar; 129 (5): 909-914.
26. He Y., Franchi L., Núñez G. TLR agonists stimulate Nlrp3-dependent IL-1 $\beta$  production independently of the purinergic P2X7 receptor in dendritic cells and in vivo. *J. Immunol.* 2013, Jan 1; 190 (1): 334-339.
27. Hu Z., Murakami T., Suzuki K. et al. Antimicrobial cathelicidin peptide LL-37 inhibits the LPS/ATP-induced pyroptosis of macrophages by dual mechanism. *PLoS One*. 2014, Jan 16; 9 (1): e85765.
28. Idzko M., Dichmann S., Ferrari D. et al. Norgauer J. Nucleotides induce chemotaxis and actin polymerization in immature but not mature human dendritic cells via activation of pertussis toxin-sensitive P2y receptors. *Blood*. 2002, Aug 1; 100 (3): 925-932.
29. Ikeda M., Tsuno S., Sugiyama T. et al. Ca(2+) spiking activity caused by the activation of store-operated Ca(2+) channels mediates TNF- $\alpha$  release from microglial cells under chronic purinergic stimulation. *Biochim. Biophys. Acta*. 2013, Dec; 1833 (12): 2573-2585.
30. Janeway C.A., Jr. How the immune system protects the host from infection. *Microbes Infect.* 2001, Nov; 3 (13): 1167-1171.
31. Koizumi S., Shigemoto-Mogami Y., Nasu-Tada K. et al. UDP acting at P2Y6 receptors is a mediator of microglial phagocytosis. *Nature*. 2007, Apr 26; 446 (7139): 1091-1095.
32. la Sala A., Ferrari D., Corinti S. et al. Extracellular ATP induces a distorted maturation of dendritic cells and inhibits their capacity to initiate Th1 responses. *J. Immunol.* 2001, Feb 1; 166 (3): 1611-1617.
33. Loomis W.H., Namiki S., Ostrom R.S. et al. Hypertonic stress increases T cell interleukin-2 expression through a mechanism that involves ATP release, P2 receptor, and p38 MAPK activation. *J. Biol. Chem.* 2003, Feb 14; 278 (7): 4590-4596.
34. Mandapathil M., Lang S., Gorelik E., Whiteside T.L. Isolation of functional human regulatory T cells (Treg) from the peripheral blood based on the CD39 expression. *J. Immunol. Methods*. 2009, Jul 31; 346 (1-2): 55-63.
35. Manohar M., Hirsh M.I., Chen Y. et al. ATP release and autocrine signaling through P2X4 receptors regulate  $\gamma\delta$  T cell activation. *J. Leukoc. Biol.* 2012, Oct; 92 (4): 787-794.
36. Michel A.D., Ng S.W., Roman S. et al. Mechanism of action of species-selective P2X(7) receptor antagonists. *Br. J. Pharmacol.* 2009, Apr; 156 (8): 1312-1325.
37. Morandini A.C., Savio L.E., Coutinho-Silva R. The role of P2X7 receptor in infectious inflammatory diseases and the influence of ectonucleotidases. *Biomed J.* 2014, Aug; 37 (4): 169-177.
38. Ousingawat J., Wanitchakool P., Kmit A. et al. Anoctamin 6 mediates effects essential for innate immunity downstream of P2X7 receptors in macrophages. *Nat. Commun.* 2015, Feb 5; 6: 6245.
39. Piccini A., Carta S., Tassi S. et al. ATP is released by monocytes stimulated with pathogen-sensing receptor ligands and induces IL-1 $\beta$  and IL-18 secretion in an autocrine way. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008, Jun 10; 105 (23): 8067-8072.
40. Qiu F., Dahl G. A permeant regulating its permeation pore: inhibition of pannexin 1 channels by ATP. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2009, Feb; 296 (2): 250-255.
41. Ralevic V., Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol. Rev.* 1998, Sep; 50 (3): 413-492.
42. Rayah A., Kanellopoulos J.M., Di Virgilio F. P2 receptors and immunity. *Microbes Infect.* 2012, Nov; 14 (14): 1254-1262.
43. Ren H., Teng Y., Tan B. et al. Toll-like receptor-triggered calcium mobilization protects mice against bacterial infection through extracellular ATP release. *Infect. Immun.* 2014, Dec; 82 (12): 5076-5085.
44. Romio M., Reinbeck B., Bongardt S. et al. Extracellular purine metabolism and signaling of CD73-derived adenosine in murine Treg and T<sub>H</sub>17 cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2011, Aug; 301 (2): 530-539.
45. Schenk U., Frascoli M., Proietti M. et al. ATP inhibits the generation and function of regulatory T cells through the activation of purinergic P2X receptors. *Sci. Signal.* 2011, Mar 1; 4 (162): ra12.

46. Schenk U., Westendorf A.M., Radaelli E. et al. Purinergic control of T cell activation by ATP released through pannexin-1 hemichannels. *Sci. Signal.* 2008, Sep. 30; 1 (39): ra6.
47. Schuler P.J., Harasymczuk M., Schilling B. et al. Separation of human CD4+CD39+ T cells by magnetic beads reveals two phenotypically and functionally different subsets. *J. Immunol. Methods.* 2011, Jun 30; 369 (1-2): 59-68.
48. Shieh C.H., Heinrich A., Serchov T. et al. P2X7-dependent, but differentially regulated release of IL-6, CCL2, and TNF- $\alpha$  in cultured mouse microglia. *Glia.* 2014, Apr; 62 (4): 592-607. doi:10.1002/glia.22628. Epub 2014 Jan 28.
49. Shoji K.F., Sáez P.J., Harcha P.A. et al. Pannexin1 channels act downstream of P2X 7 receptors in ATP-induced murine T-cell death. *Channels (Austin).* 2014, 8 (2): 142-156.
50. Sung S.S., Young J.D., Origlio A.M. et al. Extracellular ATP perturbs transmembrane ion fluxes, elevates cytosolic Ca<sup>2+</sup>, and inhibits phagocytosis in mouse macrophages. *J. Immunol.* 2001, Feb 1; 166 (3): 1611-1617.
51. Velasquez S., Eugenin E.A. Role of Pannexin-1 hemichannels and purinergic receptors in the pathogenesis of human diseases. *Front Physiol.* 2014, Mar 14.
52. Weber F.C., Esser P.R., Müller T. et al. Lack of the purinergic receptor P2X (7) results in resistance to contact hypersensitivity. *J. Exp. Med.* 2010, Nov 22; 207 (12): 2609-2619.
53. Wiley J.S., Sluyter R., Gu B.J. et al. The human P2X7 receptor and its role in innate immunity. *Tissue Antigens.* 2011, Nov; 78 (5): 321-332.
54. Xie R., Xu J., Wen G. et al. The P2Y2 nucleotide receptor mediates the proliferation and migration of human hepatocellular carcinoma cells induced by ATP. *J. Biol. Chem.* 2014, Jul 4; 289 (27): 19137-19149.
55. Yao Y., Levings M.K., Steiner T.S. ATP conditions intestinal epithelial cells to an inflammatory state that promotes components of DC maturation. *Eur. J. Immunol.* 2012, Dec; 42 (12): 3310-3321.
56. Yip L., Woehrle T., Corriden R. et al. Autocrine regulation of T-cell activation by ATP release and P2X7 receptors. *FASEB J.* 2009, Jun; 23 (6): 1685-1693.

*Поступила 30.06.15*

Контактная информация: Семенова Ирина Борисовна, д.м.н.,  
105064, Москва, М. Казенный пер., 5а, р.т. (495)917-49-00

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

*И.П.Балмасова, Р.И.Сепиашвили, Е.С.Малова*

## **МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ ВИРУСА ГЕПАТИТА В И ИММУНОПАТОГЕНЕЗ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В**

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова, Российский университет дружбы народов, Москва

Хронический гепатит В относится к категории социально значимых заболеваний в силу своей широкой распространенности во всем мире и высокой частоты неблагоприятных исходов этого заболевания. В основе развития хронической формы гепатита В лежат особенности взаимодействия вируса гепатита В с иммунной системой человека, сопровождающиеся развитием механизмов ускользания возбудителя от иммунологического надзора. В основе указанных механизмов лежат молекулярно-биологические особенности вируса гепатита В, рассмотрение которых входит в содержание данного обзора. При этом в основу характеристики взаимодействия вирусных белков с клетками иммунной системы положены стадии иммунопатогенеза данного заболевания, выделение которых принято в современной зарубежной литературе.

Журн. микробиол., 2016, № 2, С. 119—126

Ключевые слова: вирус гепатита В (ВГВ), репликация ВГВ, хронический гепатит В, иммунопатогенез, субпопуляции Т-лимфоцитов