

**В.Г. Майданник**, академік НАМН України, д.м.н., професор, заведуючий кафедрою педіатрії № 4  
Національного медичного університету ім. А.А. Богомольця, г. Київ

# Роль Toll-подобних рецепторов в патогенезе патології почек

**Патология почек очень часто наблюдается в детском возрасте. К таковым следует отнести бактериальные инфекции, постинфекционный гломерулонефрит, тубулоинтерстициальный нефрит, IgA-нефропатию, волчаночный гломерулонефрит и др. В то же время патогенез этих заболеваний, несмотря на успехи медицинской науки, до конца не изучен.**

Известно, что иммунологическая защита против различных патогенов осуществляется в результате скоординированной работы врожденной (неспецифической) и адаптивной (специфической) систем иммунитета, взаимодействие которых обеспечивает эффективное протекание иммунного ответа. Активация врожденного иммунитета является первым и обязательным этапом развития адаптивного иммунитета. Эффекторные механизмы врожденного иммунитета изучены достаточно хорошо, тогда как первые этапы взаимодействия с патогенами и активация воспаления стали понятными лишь в последние годы в результате открытия молекулярных структур распознавания различных типов микроорганизмов.

Открытие Toll-подобных рецепторов стало одной из ярких страниц в современной иммунологии и вызвало огромный интерес к их изучению, что связано с важнейшей ролью этих рецепторов в формировании врожденного и приобретенного иммунитета.

В 1985 г. Nusslein-Volhard и соавт., анализируя нарушения процессов эмбриогенеза у *Drosophila melanogaster*, наблюдали личинку с недоразвитой вентральной частью туловища. Ген, вызвавший мутацию дорсово-вентральной полярности, получил название Toll (от нем. «безумный», «удивительный», «поразительный»). Спустя десятилетие было установлено, что дрозофилы, имеющие мутацию toll-гена, были высокочувствительны к грибковым инфекциям, на основании чего сделан вывод, что Toll-рецептор принимает участие в запуске иммунного ответа у взрослых дрозофил. При последующих исследованиях был обнаружен первый гомолог toll-рецептора дрозофилы у млекопитающих, который получил название Toll-подобный рецептор (Toll-like receptors – TLR). Первым был открыт TLR4, затем последовало открытие и других TLR у млекопитающих и у человека. После этого важного открытия у млекопитающих было идентифицировано еще 13 TLR. TLR 1-9 экспрессируются и у мышей, и у человека. TLR10 экспрессируется только у человека, а TLR11 – только у мышей.

Поэтому обобщение результатов исследований о структуре и основных функциях TLR, их экспрессии в почках, а также роли некоторых из этих TLR в активации ответа врожденного иммунитета в связи с патологией почек, в частности с бактериальной инфекцией, обусловленной уропатогенным штаммами *Escherichia coli* (UPEC), является актуальной проблемой.

## Структура TLR

TLR представляют собой интегрированные трансмембранные гликопротеины 1 типа. Они, как и рецепторы к интерлейкину-1 (IL-1RS), имеют поверхностный (ранее именуемый внеклеточный) домен, ответственный за связывание лиганда. Он представлен N-концевой областью аминокислотной последовательности из 19-25 повторяющихся участков, обогащенных лейцином (LRR) (рис. 1). Далее следует переходный участок, отвечающий за прикрепление рецептора к клеточной мембране, обогащенный цистеином. Внутренняя дистальная (цитоплазматическая) часть рецептора представлена Toll/IL1-рецептором (TIR) – доменом, получившим свое название из-за одинакового строения этого участка у TLR и у рецепторов цитокинов семейства IL-1. При этом домен TIR рекрутирует адапторные сигнальные молекулы.

Домен TIR характеризуется наличием трех высоко гомологичных регионов (известных как боксы 1, 2 и 3). Однако, несмотря на схожесть в цитоплазматических доменах этих молекул, их внеклеточные области существенно отличаются: TLR имеет tandemные повторы, богатые лейцином (известные как LRR), тогда как IL-1RS имеет три иммуноглобулинподобные домена (рис. 1).

В зависимости от локализации TLR в клетке выделяют рецепторы, расположенные на цитоплазматической мемbrane (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 и TLR10) и на мембранах внутриклеточных органелл (TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9) – лизосом, эндосом, аппарата Гольджи (рис. 2). Лигандами рецепторов, локализованных на цитоплазматической мембране, являются поверхностные структуры микроорганизмов – липопротеин, липополисахариды, флагеллин, зиомозан. Рецепторы, локализованные на мембранах внутриклеточных органелл, распознают молекулы ядерных структур микроорганизмов, но могут быть активированы и поврежденными молекулярными структурами собственного организма.

В состоянии покоя неактивированные TLR находятся на мемbrane клеток в мономерном состоянии, а при активации TLR образуют димеры. Например, гетеродимер TLR1 и TLR2 улавливает трехмерные липопептиды бактерий. TLR2 может также образовывать гетеродимер с TLR6, и этот димер также распознает липопептиды бактерий.

## Пути активации TLR

Врожденный иммунитет распознает уловленные микробные или вирусные компоненты, которые известны как патогенассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП), для чего используется ограниченное количество паттернраспознавающих рецепторов (ПРР), представляющих собой первую линию обороны против патогенов. В последние годы было доказано, что именно TLR играют важную роль в распознавании ПАМП и активации врожденного иммунитета. Многочисленные новые сведения о функции TLR были получены в ходе исследований различных линий мышей с дефицитом TLR, выведенных с помощью направленного воздействия на гены.

На рисунке 3 схематически представлены различные адапторные белки и сигнальные процессы, зависящие от TIR, которые ведут к активации нуклеарного фактора транскрипции (NF-κB) и/или интерферон (IFN)-регулирующего фактора (IRF). В запуск сигналов через TLR вовлечены пять адапторных белков.

Распознавание бактериальных и небактериальных лигандов ПАМП специфическими TLR приводит к активации факторов транскрипции, таких как нуклеарный фактор κB (NF-κB), и членов семейства IRF. Связывание лигандов вызывает гомодимеризацию или гетеродимеризацию TLR, а также рекрутинг адапторных молекул.

В настоящее время различают два основных пути активации TLR: MyD88-зависимый путь и MyD88-независимый путь.

**MyD88-зависимый путь.** TLR используют сигнальные пути, на старте которых адапторные молекулы формируют молекулярный комплекс с TIR-доменом TLR, тем самым инициируя запуск сигнального каскада. Все известные TLR, кроме TLR3, взаимодействуют с адапторным белком первичного ответа миелоидной дифференциации 88 (myeloid differentiation protein 88; MyD88), который несет C-концевой TIR-содержащий участок, связывающий гомофильный TIR-домен TLR. TLR2 и TLR4 проявляют коадаптор MyD88-адапторподобный (MAL), который также известен как TIRAP и необходим для активации NF-κB.

Рекрутинг MyD88 облегчает ассоциацию TIR с семейством серин/треонин киназами, ассоциированными с рецептором IL-1 (IL-1 receptor associated kinase – IRAK). Затем фосфорилированные IRAK



В.Г. Майданник

диссоциируют и взаимодействуют с фактором 6, ассоциированным с рецептором TNF (TNF receptor associated factor 6 – TRAF6), что приводит к активации киназы 1 с помощью трансформирующего фактора роста β (TAK-1).

Далее IRAK-1 и TRAF6 диссоциируют из комплекса TIR/MyD88/IRAK-4 и взаимодействуют с мембранассоциированной киназой TAK-1 и вспомогательными белками TAB1 и TAB2. В результате фосфорилированные TAK1 и TAB2 индуцируют диссоциацию IRAK-1 из комплекса с последующей активацией IKK и митогенактивируемыми протеинкиназами (MAPK). В результате последующего убиквитинирования TRAF6 происходит активация ядерного фактора транскрипции NF-κB. В регуляции транскрипционной активности через NF-κB участвует ингибиторный сигнальный белковый комплекс IκB (IKK), формируемый двумя каталитическими субъединицами – киназами IKKα и IKKβ – и одной регуляторной IKKγ. IKK-комплекс индуцирует активацию NF-κB через фосфорилирование ингибитора IκB по остатку серина с последующим расщеплением его в протеасомах. Благодаря этому обеспечивается димеризация и перемещение (транслокация) NF-κB в ядро. Этот путь является классическим сигнальным путем, зависящим от MyD88.

В итоге, связываясь с промоторными участками генов, ядерный фактор NF-κB активирует синтез провоспалительных цитокинов, молекул адгезии, костимулирующих молекул с последующей активацией структур адаптивного иммунитета.

Белок CD14, связанный с гликазилфосфатидилиноситолом, также необходим для активации под воздействием TLR2-TLR6 сигнальных путей, зависящих от MyD88, и сигнального пути, активируемого LPS и проводимого TRIF.

**MyD88-независимый путь.** Известен также механизм MyD88-независимой передачи активационных сигналов от TLR. Его принципиальным отличием является то, что TIR-домен взаимодействует с адапторной молекулой TRIF (TIR domain containing adaptor inducing IFN-β) с последующей активацией внутриклеточного фактора IRF3 (interferon regulatory factor 3), индуцирующего экспрессию генов IFN-α и IFN-β, являющихся важнейшими молекулами для дифференцировки Т-лимфоцитов.

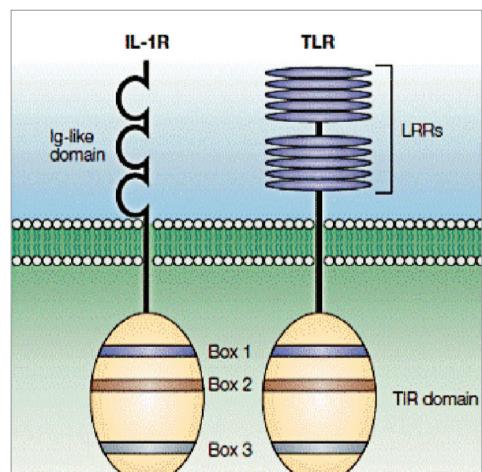


Рис. 1. Структура Toll-подобного рецептора

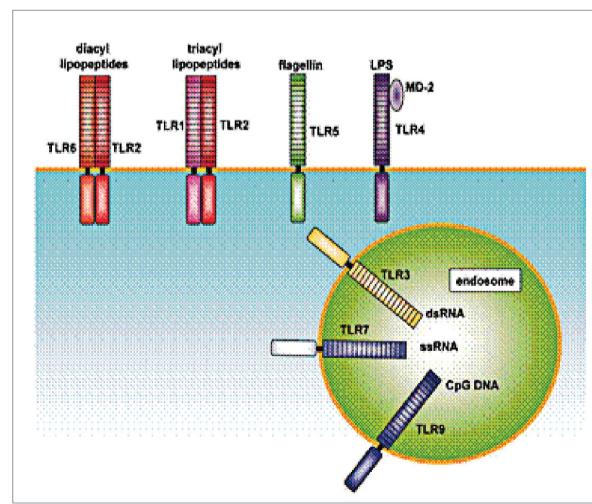


Рис. 2. Локализация TLR в клетке

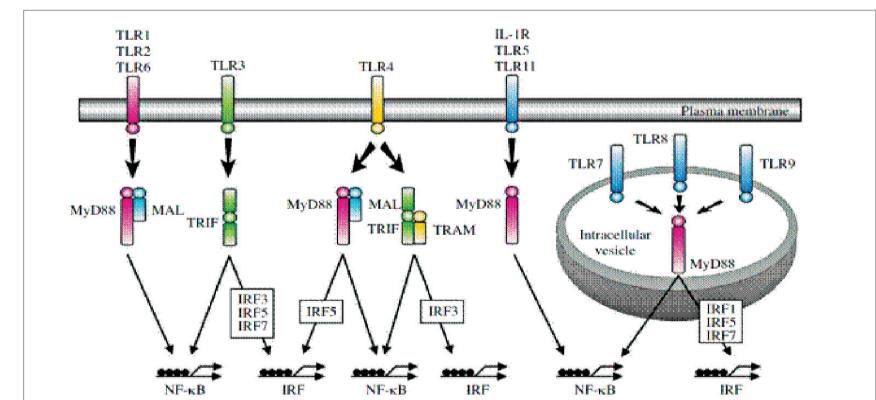


Рис. 3. Схематическое изображение адапторных молекул, ассоциированных с TIR-доменом TLR

IL-1R – рецептор интерлейкина 1; MyD88 – адапторный белок первичного ответа миелоидной дифференциации 88; MAL-0 MyD88-адапторподобный; TRIF – MyD88 и Toll-IL-1-рецептор [TIR]-доменсодержащий адапториндукцирующий IFN-β (TRIF); TRAM – адапторная молекула, связанная с TRIF.

При определенных условиях TLR3 и TLR4 могут активировать сигнальный путь NF-кВ, не зависящий от MyD88 (рис. 3), что приводит к индукции генов, индуцируемых IFN, и способствует созреванию клеток.

При запуске сигнального пути через TLR3, осуществляемом вирусной двухцепочечной РНК, TRIF связывается с рецептором и индуцирует экспрессию IFN типа I через TRIF-IKK $\epsilon$ . Кроме того, активация TLR агонистом обеспечивает фосфорилирование тирозина с вовлечением фосфатидилинозитол-3-киназы с активацией Akt и фосфорилированием IRF-3. TLR3 также стимулирует экспрессию провоспалительных цитокинов, вовлекая сигнальные молекулы в активацию NF- $\beta$ B после взаимодействия TRIF с рецептором.

Механизмы индукции IFN типа I при ответе, реализуемом через разные типы TLR, различаются на уровне адапторных молекул. Конвергенция сигнальных путей осуществляется на этапе активации киназы TLR или общего активатора сигнальных путей NF-кВ, митогенактивируемой протеинкиназы p38 и JNK-киназы.

TLR4 индуцирует два различных сигнальных пути, один из них контролирует адапторные белки TIRAP и MyD88, вовлекаемые в выработку провоспалительных цитокинов, другой – адапторы TRAM и TRIF, через которые запускается продуция IFN. TLR4 – единственный из экспрессируемых на клеточной поверхности членов семейства TLR способен индуцировать IFN типа I.

При активации с участием адаптора TRAM TLR4 связывает дополнительный адаптор TRIF. TLR4 использует адапторы TRIF и TRAM для инициации поздней фазы активации NF-кВ, а также для индукции экспрессии генов IFN- $\beta$  и других IFN-индукционных генов через фактор транскрипции IRF-3. TRAM, подобно TIRAP, выступает в роли связующего звена для соединения TRIF с TLR4. TLR4 последовательно активирует MyD88/ TIRAP- и TRAM-зависимые сигнальные каскады. Изначально адапторы MyD88 и TIRAP воспринимают сигнал от TLR4, экспрессированного на клеточной поверхности, а затем претерпевший эндоцитоз TLR4 взаимодействует с TRAM в ранних эндосомах.

#### Основные функции TLR

TLR2 распознает широкий круг микробных продуктов, таких как липопротеины из грамотрицательных бактерий, микоплазмы и спирохеты, пептидогликаны и липотехновая кислота из грамположительных бактерий, гликоинозитолфосфолипиды из

*Typhlosoma cruzi*, зимозан из грибков или порнины (табл.). Кроме того, TLR2 распознает нетипичные LPS из *Leptospira interrogans* и *Porphryomonas gingivalis*, но не улавливает те, что вырабатывают *E. coli* или *Salmonella* spp., являющиеся лигандами для TLR4. В почках TLR2, экспрессированный в проксимальных клетках канальцев почек, распознает наружные белки мембранны *Leptospira*, что приводит к активации NF-кВ, и MAPK. Но известно, что существует также и дифференцированное распознавание очищенного липида A *Leptospira* TLR.

Доказано, что TLR2/TLR1 являются преобладающим рецептором в клетках человеческого организма, а TLR2 и TLR4 способствуют клеточной активации в макрофагах мышей. TLR2 также распознает различные эндогенные лиганды, в том числе Hsp70, который повышающее регулируется после ишемического/реперфузионного (I/R) повреждения и, возможно, играет определенную роль при активации TLR2 в ишемических тканях.

TLR2 взаимодействует с высокомолекулярными рецепторами TLR1 и TLR6, чтобы различать разные микробные компоненты. Например, TLR1 и TLR2 сигнализируют растворимым факторам, которые выпускает *Neisseria meningitidis*. TLR1 также имеет большое значение для распознавания трехацильных липопептидов. Любопытно, что TLR2, который повышающее регулируется при почечном I/R повреждении, играет ключевую роль в индуцировании воспалительного ответа и повреждения клеток.

У мышей с нехваткой TLR2 отмечается существенно более слабый воспалительный ответ, меньшая инфильтрация лейкоцитами, а следовательно, более слабое повреждение клеток канальцев почек, чем у их родичей дикого типа при I/R повреждении. Более того, установлено, что *in vivo* инъекция TLR2-анти-мРНК также эффективно защищает от нарушения функции почек в результате I/R. Shigeoka и соавт. показали, что индуцирование воспалительного ответа, который проводится с помощью TLR2, происходит по сигнальным путям TRIF, которые могут зависеть от MyD88. Но точный механизм активации TLR2 при I/R повреждении остается невыясненным.

TLR3 распознает одноклеточную РНК (онРНК) и двухнитевую РНК (днРНК), которые вырабатывают многие вирусы при репликации. Экспрессия человеческого TLR3 в клетках, не реагирующих на днРНК, позволяет последней активировать NF-кВ [22]. TLR3 отличается от других TLR тем, что не имеет пролинового остатка, который сохраняется в прочих TLR.

Этот остаток соответствует пролиновому остатку, который мутирует в гене tlr4 у мыши с нехваткой LPS (которые обозначаются также как мыши *Lps<sup>d</sup>*) C3H/HeJ. Эти мыши не реагируют на LPS и не могут выводить грамотрицательные бактерии, образующие колонии в нижних мочевых путях и почках.

Установлено, что у человека TLR3 преимущественно экспрессируется в зрелых дендритных клетках. Также доказано, что мРНК TLR3 экспрессируется в почках человека. Более того, выяснило, что TLR3 также экспрессируется в мезангимальных клетках почек, наряду с антигенпредставляющими (APC) клетками инфильтрата, на экспериментальной мышиной модели системной красной волчанки (SLE). Высказывается предположение, что TLR3 участвует потому, что, как известно, днРНК активирует цитокины дендритных клеток – интерфероны I типа, которые ассоциируются с SLE. Установлено, что вирусная днРНК усиливает вызванный волчанкой нефрит у мышей MRLlpr/lpr, у которых спонтанно развивается иммунокомплексный гломерулонефрит.

TLR4 – это основной рецептор LPS из грамотрицательных бактерий. С начала 1980-х гг. известно, что некоторые мыши, например C3H/HeJ, очень чувствительны к инфекции мочевых путей и не могут вывести бактерии из организма. Через 10 лет в ходе 2 исследований были идентифицированы точечная мутация в гене tlr4 у мыши C3H/HeJ с нехваткой LPS и нулевая мутация в гене tlr4 у гиперчувствительных к LPS мышей C57BL10/ScCr. У мышей с нехваткой TLR4, выведенных с помощью адресного разрушения гена tlr4, проявляется такой же гиперчувствительный к LPS фенотип, что подтверждает, что TLR4 – это рецептор LPS. Мутации TLR4, связанные с пониженной реакцией на LPS, также были идентифицированы у человека.

Для распознавания LPS рецептором TLR4 необходимо наличие еще двух молекул – CD14 и MD-2. Считается, что CD14 взаимодействует с TLR4 в сигнализировании LPS, а MD-2 ассоциируется с внеклеточным доменом TLR4 и усиливает вызванную LPS клеточную активацию. Белок RIP105, который экспрессируется преимущественно на поверхности В-клеток, также участвует в распознавании LPS. Все вместе результаты этих исследований говорят о том, что TLR4 образует большой комплекс с несколькими ассоциированными белками для эффективной активации клеток, вызываемой LPS.

TLR4 распознает и другие лиганды, показанные на рисунке 3. Один из них таксон – продукт тиса тихоокеанского (*Taxus brevifolia*), который обладает мощным противораковым действием, – также вызывает мощный воспалительный процесс, проводимый TLR4-MD-2. Кроме того, показано, что белки теплового шока Hsp60 и Hsp70 активируют сигнальные пути NF-кВ и MAP-киназы, проводимые TLR4. TLR4 распознает и Hsp70, чья чрезмерная экспрессия происходит в ишемических клетках канальцев почек. Однако роль Hsp в активации TLR остается спорной из-за возможного загрязнения чистого Hsp под воздействием LPS. Недавнее исследование, в ходе которого было установлено, что TLR4, как и TLR2, играет активную роль в инициировании воспалительного ответа, а также апоптоза клеток канальцев почек, показало также, что Hsp70 не активируется в почках мышей после I/R-повреждения.

Такие компоненты внеклеточного матрикса, как фибронектин, гиалуроновая кислота или гепарансульфат, выпускаются при повреждении клетки и также активируют TLR4 и TLR2. Внеклеточный домен А фибронектина, растворимый гепарансульфат, олигосахарида гиалуроновой кислоты и  $\beta$ -дефензин 2, как доказано, тоже активируют TLR4. Следует отметить, что эти эндогенные лиганды TLR4 активируют иммунные клетки только в высоких

концентрациях, в отличие от активации клеток, вызванной низкими концентрациями LPS. Более того, нельзя исключить вероятность того, что эти лиганды, возможно, были загрязнены LPS.

TLR5 распознает мономерный флагеллин, первичный белковый компонент жгутика, т.е. очень сложной структуры, которая выдается из наружной мембранны грамотрицательных бактерий. Бактерии используют жгутики для перемещения в жидкой среде. Кроме того, жгутики важны для прикрепления бактерий к клеткам хозяина, и было установлено, что эти жгутики способствуют вирулентности патогенных бактерий.

Флагеллин вызывает белковый иммунный ответ в клетках как млекопитающих, так и растений. Но некоторые бактерии, например *Helicobacter pylori* и *Bartonella bacilliformis*, имеют модифицированный флагеллин, который не вызывает провоспалительной реакции.

TLR5 активно экспрессируется в эпителиальных клетках интерстиция. Задействование рецептора TLR5 бактериальным флагеллином вызывает активацию клеток, что ведет к выработке IL-8 и воспалительного белка макрофагов ЗА. Флагеллин, как было показано, является основным детерминантом проводимой *Salmonella* активации провоспалительных сигналов NF-кВ.

TLR5, расположенный в базолатеральной мемbrane эпителиальных клеток интерстиция, также может различать симбиотические и патогенные бактериальные штаммы с флагеллином. Патогенные бактерии со жгутиками, располагающиеся базолатерально, вызывают воспалительный ответ посредством сигналов, проводимых рецептором TLR5. In vivo воздействие флагеллина на пораженную дектраном сульфата, а не на незадействованную толстую кишку усиливает воспаление толстой кишки, а значит, флагеллин играет важную роль в развитии и прогрессировании колита. Однако полярность экспрессии TLR5 остается спорной, поскольку имеются сообщения об апикальной экспрессии TLR5 в культивируемых клетках HT29, подобных кишечным, и в кишечнике мыши. Полиморфизм стоп-кодона в лигандсвязывающем домене TLR5, действующий как отрицательная доминанта, ассоциируется с повышенной чувствительностью к бактериям *Legionella pneumophila* со жгутиками, которые вызывают пневмонию у человека.

Высказывается предположение, что TLR5 играет важную роль в проведении ответа врожденного иммунитета в эпителиальных клетках легких. TLR5 распознает инфекцию *Pseudomonas aeruginosa* в эпителиальных клетках дыхательных путей. В недавнем исследовании было выявлено, что TLR5 вызывает воспалительный ответ врожденного иммунитета в мочевом пузыре и почках, инфицированных *E. coli*, что косвенно указывает на то, что TLR5 экспрессируется в эпителиальных клетках почек. Но экспрессия мРНК TLR5 обнаружена в первичных культурах – клетках почечных корковых канальцев у мышей, и нельзя исключить вероятность того, что экспрессия TLR5 ограничивается только некоторыми специализированными клетками канальцев почек.

TLR7, TLR8 и TLR9. TLR7 и TLR8 высоко гомологичны с TLR9. Они экспрессируются в эндоплазматическом ретикулуме и во внутриклеточных эндосомных органеллах. TLR7, TLR8 и TLR9 распознают нуклеиновые кислоты. TLR7 и TLR8 могут распознавать вирусную онРНК вирусов и бактерий и синтетические имидазохинолины, которые, как известно, обладают мощными противовирусными и противораковыми свойствами. Синтетический нуклеозидный аналог R488 также является лигандом TLR7 и TLR8. TLR7 и TLR8 не обнаружены в эпителиальных клетках почек. TLR9 распознает неметилированные

Продолжение на стр. 16.

**Таблица. Информация об основных экзогенных и эндогенных лигандах, которые распознаются рецепторами TLR**

TLR	Лиганды	Экспрессия TLR в клетках канальцев почек
TLR1	Трехацильные липопептиды	Культтивируемые RTEC*
TLR2	Липопротеины/липопептиды, пептидогликан, липотехновая кислота, гликолипиды, порнины, зимозан, типичный LPS ( <i>Leptospira interrogans</i> ), белки теплового шока	Обкладочные клетки капсулы Буомена, PCT, TD, CD
TLR3	ДнРНК (вirus)	Мезангимальные клетки CD
TLR4	LPS (грамотрицательные бактерии), паклитаксел, гибридный белок, оболочечные белки, белки теплового шока, фибронектин, гиалуроновая кислота, гепарансульфат, фибронген, $\beta$ -дефензин 2	Обкладочные клетки капсулы Буомена, PCT, TAL, DT, CD
TLR5	Флагеллин	
TLR6	Двухацильные липопептиды, липотехновая кислота, зимозан	Культтивируемые RTECs*
TLR7	Имидазохинолин, локсорибин ОнРНК	Не экспрессируется
TLR8	Имидазохинолин, локсорибин, ОнРНК (вирусы, бактерии)	Не экспрессируется
TLR9	CPG-ДНК (бактерии), ОнРНК (вирусы, бактерии)	Не экспрессируется
TLR11	Профилинподобный белок ( <i>Toxoplasma gondii</i> )	RTEC*

PT – проксимальный каналец; TAL – толстый восходящий каналец; DT – дистальный каналец; CD – собирательный проток; RTEC – эпителиальные клетки канальцев почек.

\*Специфическая экспрессия клеток канальцев не определялась.

**В.Г. Майданник**, академік НАМН України, д.м.н., професор, заведуючий кафедрою патології № 4 Національного медичного університета ім. А.А. Богомольца, г. Київ

## Роль Toll-подобних рецепторів в патогенезі патології почок

Продовження. Начало на стр. 14.

2-деоксирибо-(цитидин-фосфат-гуанін) (CpG) мотиви, які обнаружуються в ДНК вірусів та бактерій, але не в ДНК еукаріотів. CpG ДНК стимулює проліферацию В-клеток та секрецію провоспалительних цитокінів, які необхідні для ліквідації атакуючих патогенів. Наприклад, CpG ДНК захищає мишів від інфекцій, вызываемих внутріклеточними патогенами, такими як *Leishmania major* та *Listeria monocytogenes*. TLR9 експресується в В-клетках, деревовидних клетках та моноцитах/макрофагах та локалізується в ендоплазматичному ретикулумі покоячихся клеток. Он активується після переміщення з ендоплазматичного ретикулума в ендосітоозну CpG ДНК в лізосомах. TLR9 також експресується в епітеліальних клетках, в тому числі клетках желудка та кишечника. В клетках кишечника ДНК з патогенних штаммів *Salmonella* та *E. coli* стимулює експресію мРНК TLR9. Lee та співт. доказали, що при добавленні до апікальної або базолатеральної стороні клеток, виражені на фільтрах, TLR9 активується поляризовані епітеліальні клетки кишечника по-разному. Інші автори показали, що апікальна експресія TLR9 сигналізує деградацію IкВα та супуттвуючу активацію NF-кВ, в то ж часе як апікальна експресія TLR9 обмежує воспалітельні відповіді TLR9 після післядущої стимулізації TLR9 під впливом механізма, при якому убіквитінірований IкВα акумулюється в цитоплазмі та тем самим препятствує активації NF-кВ. Що касається почок, то в культивируемых клетках почечних канальців мРНК TLR9 не виявлена. Но це не може повноту виключити вероятність того, що TLR9 обмежується не-которими специалізованими епітеліальними клетками канальців. Считається також, що TLR9 учається в патогенезі SLE, активуючи В-клетки та стимулюючи виробку цитокінів. Участь TLR7 та роль TLR9 в прогресуванні SLE розглядалася в недавніх роботах.

TLR11 експресується у мишів, але не у людей. TLR11 распознає профілін-подобний белок *Toxoplasma gondii*. Профілін відноситься до групи малых актин-связывающих белков, які грають обмежену роль в полімеризації актина, следовательно, TLR11 у мишів, можливо, учається в переносі паразитів. TLR11 викликає передачу сигналу, який веде до активації NF-кВ та AP-1 в клетках HEK 293, експресується CD14-TLR11.

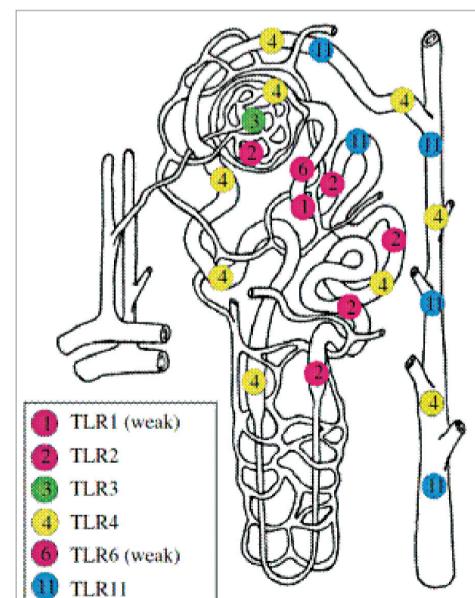


Рис. 4. Експресія TLR в клетках канальців почок

Однако його точну функцію ще тільки предстоїть вяснити. Любопитно, що TLR11, як установлено, учається також в распознаванні уропатогенних *E. coli* у мишів. TLR11 експресується преимущественно в епітеліальних клетках мочевого пузыря та почок. Але до настоящого часу не проводилися дослідження колонізації з використанням специфіческих маркерів клеток почечних канальців.

### Локалізація TLR в епітеліальних клетках канальців почок

Епітеліальні клетки канальців почок у мишів експресуєть мРНК TLR1, TLR2, TLR3, TLR4 та TLR6. Експресія мРНК полімін TLR зафіксирована в почках людини, але експресія TLR в епітеліальних клетках канальців почок не відрізняється від експресії в циркулюючих иммунних клетках. На рисунку 4 обобщена інформація про внутріпочечне розширення TLR, експресується в клетках канальців почок.

Хотя установлено, що епітеліальні клетки почечних канальців експресуєть TLR1, її точне розташування в клетках канальців неизвестно.

TLR3 експресується в міелоїдних дендритичних клетках. Крім того, обнаружено її експресію в почках мишів та людини. Експресія TLR3 в мезангіальних клетках почок та иммунних клетках, які проникають в почки, також була виявлена на експериментальній моделі SLE у мишів. Аналіз експресії мРНК TLR3 в образах почечної біопсії людини показав, що цей рецептор експресується в почечній мезангії та клетках собирального протока.

TLR2 та TLR4 активно експресується в клетках костного мозку, а також в різних не-епітеліальних клетках, в тому числі в ендотеліальних клетках, клетках гладкої мышці та епітеліальних клетках кишечника. Експресія мРНК TLR2 була переважно обнаружена в ході *in situ* гибридизації в проксимальних та дистальних канальцях. С помічкою іммунофлюоресцентних аналізів почок кріс та мишів було обнаружено белок TLR2 в проксимальних канальцях, клетках толстого восходящего канальца та дистальных канальцях. Експресія TLR2 є також в гломерулярних клетках, можливо, в мезангіальних клетках та капсуль Бумена. Інтересно, що TLR2 локалізується в базолатеральних мембронах незатронутых клеток почечних канальців, але залишається переважно в цитоплазмі клеток ішеміческих канальців.

Точне розширення TLR4 в епітеліальних клетках все ще залишається спорним. Показано, що TLR4 експресується на рівні як мРНК, так і белков в клетках почечних канальців у мишів, кріс та людини. *In situ* гибридизація виявила наявність мРНК TLR4 в проксимальних канальцях, толстом восходящем канальце та дистальних канальцях, а також в капсуль Бумена. TLR4 активно експресується на поверхні макрофагів, також відомо, що цей рецептор локалізується всередині целого ряду епітеліальних та не-епітеліальних клеток. Культивуемые клетки кишечної слизи експресуєть TLR4 переважно в комплексі Гольджі. Локалізація TLR4 в почечних канальцях по-прежньому залишається предметом спорів. TLR4 була ідентифікована в щеточній каемці клеток проксимальних канальців у кріс. Використовуючи іммунну сыворотку проти мышиного TLR4, Chasson та співт. показали, що TLR4 локалізується переважно в цитоплазмі незатронутых клеток почечних

канальців та переважно експресується в клетках толстого восходящего канальца та собирального протока. Более того, іммуногістохімічний аналіз почок мишів дикого типу через 2 дні після інфіксації UPEC показав, що TLR4 локалізується разом з поглощеними UPEC переважно в цитоплазмі клеток собирального протока. В ході недавнього дослідження також було установлено, що TLR4 локалізується в комплексі Гольджі, а також локалізується з маркером CTR433 комплекса Гольджі та з p58K. Поэтому необхідні подальші дослідження, які мають прояснити аспекти локалізації цих TLR в стимулюючих та не-стимулюючих клетках почечного епітелія.

Експресія мРНК TLR5 в епітеліальних клетках канальців у мишів не обнаружена. Поскольку було установлено, що миші з недваткою TLR5 також більше підвержені ретроградній інфекції UPEC, то експресію TLR5 в клетках почечних канальців немає можливості.

*In situ* гибридизація показала, що TLR11 експресується в клетках канальців почок. Однак якісь-либо іммуногістохімічні аналізи для дослідження внутріпочечного розширення белка TLR11 не проводилися.

### TLR та патологія почок

Інфекції мочової системи (ІМС), в тому числі бессимптомна бактеріурія, цистіт та піелонефрит, відносяться до найпоширеніших інфекційних захворювань та є важливою причиною захворюваності та смертності у людей. Более того, острій чи хронічний піелонефрит може привести до тяжелого пошкодження почок, яке переходить в термінальну стадію почечної недостатності.

Крім того, ІМС є самим поширенішим формою бактеріальної інфекції у пацієнтів після пересадки почок. Відомо, що послетрансплантаційні ІМС виникають з-за впливу патогенів в результаті хірургічних процедур (т.е. використання уретральних та уретральних стент-катетерів) та довготривалого лікування імунодепрессантами. Недавно було показано, що острій піелонефрит, можливо, є незалежним фактором ризику, який асоціюється з довготривалою функцією пересаженої почки, та значить, що внутріпочечна інфекція, яка сприяє сморщуванню почок, може мати розрушальний ефект для підтримання довготривалої функції пересаженої почки.

TLR2 та TLR4 активно експресується в клетках костного мозку, а також в різних не-епітеліальних клетках, в тому числі в ендотеліальних клетках, клетках гладкої мышці та епітеліальних клетках кишечника. Експресія мРНК TLR2 була переважно обнаружена в ході *in situ* гибридизації в проксимальних та дистальних канальцях. С помічкою іммунофлюоресцентних аналізів почок кріс та мишів було обнаружено белок TLR2 в проксимальних канальцях, клетках толстого восходящего канальца та дистальных канальцях. Експресія TLR2 є також в гломерулярних клетках, можливо, в мезангіальних клетках та капсуль Бумена. Інтересно, що TLR2 локалізується в базолатеральних мембронах незатронутых клеток почечних канальців, але залишається переважно в цитоплазмі клеток ішеміческих канальців.

Точне розширення TLR4 в епітеліальних клетках все ще залишається спорним. Показано, що TLR4 експресується на рівні як мРНК, так і белков в клетках почечних канальців у мишів, кріс та людини. *In situ* гибридизація виявила наявність мРНК TLR4 в проксимальних канальцях, толстом восходящем канальце та дистальних канальцях, а також в капсуль Бумена. TLR4 активно експресується на поверхні макрофагів, також відомо, що цей рецептор локалізується всередині целого ряду епітеліальних та не-епітеліальних клеток. Культивуемые клетки кишечної слизи експресуєть TLR4 переважно в комплексі Гольджі. Локалізація TLR4 в почечних канальцях по-прежньому залишається предметом спорів. TLR4 була ідентифікована в щеточній каемці клеток проксимальних канальців у кріс. Використовуючи іммунну сыворотку проти мышиного TLR4, Chasson та співт. показали, що TLR4 локалізується переважно в цитоплазмі незатронутых клеток почечних

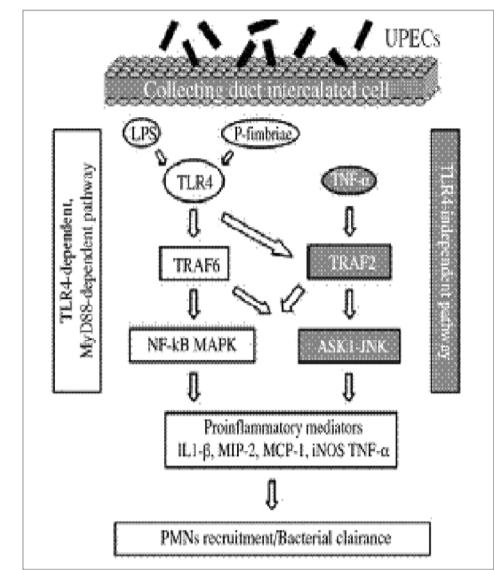


Рис. 5. Сигнальні пути, активовані UPEC в клетках среднього слоя собирального протока почок

ASK1 – кіназа 1, регулююча сигнал апоптозу; IC – інтеркаліруюча клетка; LPS – ліппополісахарид; MAPK – протеїнкіназа, активується мітогеном; MCP-1 – макроцитарний хемоатрактантний белок 1; MIP-2 – воспалітний белок макрофагов 2; PMN – полімоноядерні нейтрофілі; TLR4 – Toll-подобний рецептор 4; TRAF2 – фактор 2, асоціюється з рецептором TNF; TRAF6 – фактор 6, асоціюється з рецептором TNF; TRIF – комплексний сигнальний путь, активується UPEC в клетках среднього слоя собирального протока почок.

Сигнальні пути, активовані UPEC в клетках собирального протока, досліджені в первинних культурах клеток среднього слоя собирального протока, які були взяты из почек LPS-восприимчивих мишів C3H/HeOuJ, експресується TLR4, з почек LPS-дефективних мишів C3H/HeJ та у мишів з недваткою MyD88 або TRIF. Аналіз сигнальних путей показав, що UPEC стимулюють експресію провоспалительних медіаторів в клетках среднього слоя собирального протока почок. TLR4-незалежний путь TLR4 виникає в результаті активації фактора 2, асоційованого з рецептором TNF (TRAF2) та сигнального пути кінази 1, регулюючої сигнал апоптозу (ASK1)-JNK. На рисунку 5 обобщена інформація про різні сигнальні пути, активовані UPEC в клетках среднього слоя собирального протока почок.

Значення різних типів TLR показано в розвитку багатьох інших захворювань почок. В частности, установлена патогенетична роль TLR4 при острому пошкодженні почок, обумовленому LPS, а також в розвитку системного воспалення при гломерулонефриті. Крім того, в експериментальних та клініческих дослідженнях було показано, що в розвитку багатьох захворювань почок («полупнії») важливе значення мають TLR2 та TLR3, таємно, як при іммунокомплексному гломерулонефриті установлена роль TLR3, TLR7 та TLR9.

### Заключення

Таким образом, некоторые из идентифицированных TLR экспрессируются в почках, а также в эпителиальных клетках клубочков и канальцев почек. Вместе с иммунными клетками в системе общего кровообращения эпителиальные клетки канальцев играют ключевую роль в распознавании ПАМП и активации сигнальных путей, что приводит к выработке цитокинов/хемокинов для привлечения полиморфнодифференцированных клеток к очагу воспаления и эффективного клиренса бактерий. Необходимы дополнительные исследования, чтобы можно было определить механизмы участия TLR в развитии различных заболеваний почек.

Список литературы находится в редакции.