

І.С. Хріпков
А.А. Голікова

Дніпровський державний медичний університет
Дніпро, Україна

Надійшла: 09.05.2022

Прийнята: 14.06.2022

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.22-30>

УДК 611.018:[37.091.32+37.091.322] – 611.43.

РЕЦЕПТОРНІ МЕХАНІЗМИ ЛЕГЕНЕВОГО ЕПІТЕЛІЮ ПРИ ВЗАЄМОДІЇ З ПАТОГЕНАМИ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

Khripkov I.S.  , **Golikova A.A.** **Receptor mechanisms of interaction of pulmonary epithelium with pathogens of various genesis.**

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. The respiratory system is one of the gates through which pathogens of viral or bacterial genesis enter the body. The primary contact of the pathogen with the epithelial cells of the mucous, due to interaction with the receptors of the cell, determines the direction of the body's reaction associated with the formation of an inflammatory reaction, or with the penetration of the pathogen into the cells and the use of the body's resources for its own replication and distribution in the body. The interaction of epithelial cells of the respiratory system in respiratory viral infections plays a leading role in ensuring antiviral reactions from the human body. This happens with the help of two main receptors: Toll - like and ACE2. Epithelial cells, lining the respiratory tract from the nasal cavity to the respiratory part of the lungs, respond to viral infections by producing cytokines and chemokines, which can interact with immunocompetent cells and directly with viruses. With the contact interaction of viral pathogens with the pulmonary epithelium, two multidirectional cellular receptor systems are activated, which simultaneously carry out the processes of incorporation of the virus into the target cell and activate the processes of innate and adaptive immunity, manifested at the local and systemic levels and aimed at neutralizing the viral factor and eliminating damaged cells.

Key words: histology, Toll - like receptors, ACE2 receptors, epithelium of conducting airway, alveolar epithelium.

Citation:

Khripkov IS, Golikova AA. [Receptor mechanisms of interaction of pulmonary epithelium with pathogens of various genesis]. *Morphologia*. 2022;16(2):22-30. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.2.22-30>

 **Khripkov I.S.** 0000-0003-0378-8414

 **histoexpert@gmail.com**

© **Dnipro State Medical University, «Morphologia»**

Дихальна система є однією з воріт, через які до організму потрапляють патогени вірусного або бактеріального походження. Первинний контакт патогена з клітинами епітелія слизових оболонок, обумовлений взаємодією з рецепторами клітини, визначає напрямок реакції організму, пов'язаний з формуванням обмежувального запального процесу, або з проникненням патогену до клітин і використанням ресурсів організму для власної реплікації та розповсюдження.

Взаємодія епітеліальних клітин дихальної системи під час респіраторних вірусних інфекцій відіграє провідну роль для забезпечення протівірусних реакцій з боку організму людини. Здійснюється це за допомогою двох основних рецепторів: Toll – подібні та ACE2.

Клітини повітряносних шляхів й альвеолярного епітелію – мішені для різноманітних вірусних інфекцій, наприклад, риновірусів, вірусів

грипу, коронавірусів та пневмовірусів.

Епітеліальні клітини, що охоплюють дихальні шляхи від носової порожнини до альвеолярних відділів, реагують на вірусні інфекції шляхом вироблення цитокінів та хемокінів, які взаємодіють з імунними клітинами та безпосередньо з вірусами.

Метою нашого дослідження було вивчення та аналіз інформації щодо локалізації, механізмів індукції рецепторів клітин легеневого епітелію та їх участі в процесах взаємодії патогенів з клітинами-мішенями та реалізації захисних реакцій вродженого імунітету.

Вроджений імунітет – це перша лінія оборони імунної системи, яка розвивається в перші години контакту з патогеном. Швидкість відповіді реалізується за рахунок залучення вже існуючих стереотипних механізмів розпізнавання конкретних молекулярних структур патогенів.

Саме розпізнавання молекулярних структур мікробного походження є ключовим компонентом імунної відповіді, що ініціює запалення [1]. Ця відповідь опосередкована рецепторами особливої родини, що розпізнають найбільш загальні молекулярні патерни (PAMP - Pathogen Associated Molecular Patterns) мікроорганізмів (вірусів, бактерій, паразитів і т.д.) і дістали назву PRR (Pattern Recognition Receptors)[2]. PRR генетично стабільні і не схильні до перебудови в процесі онтогенезу. Функціонально їх можна розділити на дві групи: ендоцитозні та сигнальні. Ендоцитозні PRR (маннозні рецептори і scavenger -рецептори) забезпечують процеси фагоцитозу з подальшою доставкою патогена всередину фагосоми до лізосом, забезпечуючи початок адаптивної імунної відповіді. Серед сигнальних PRR найбільше значення мають три родини: TOLL - подібні (TLR), NOD - подібні (NLR) і RIG – подібні рецептори (RLR). Останні дві родини включають по 2 представники PRR (NOD - 1 і - 2; RIG - 1 і MDA - 5), що локалізовані внутрішньоклітинно і формують «аларм-механізм» попадання бактерійного (NLR) або вірусного (RLR) патогенів всередину клітини або при його «витоку» з фаголізосоми [3]. У свавців і людини описані 15 TLR, які розташовані на мембрані, в ендосомах або в цитоплазмі клітин, що здійснюють першу лінію захисту від патогенів.

TLR здатні розпізнавати широкий спектр PAMP практично усіх відомих груп мікроорганізмів. Лігандами TLR, локалізованими на цитоплазматичній мембрані, є поверхневі структури мікроорганізмів. Рецептори, локалізовані в мембранах внутрішньоклітинних органел, розпізнають молекули ядерних структур мікроорганізмів, але можуть бути активовані і пошкодженими молекулярними структурами власного організму. Структурно TLR є трансмембранними білками першого типу, що мають лейцин-збогачені повтори (LRR), і містять, в ектодомені, трансмембранний та цитозольні домени. Ектодомен взаємодіє з мікробними патернами, тоді як цитозольний домен активує сигнальні шляхи в цитоплазмі клітини. Залежно від локалізації TLR в клітині виділяють рецептори, розташовані на цитоплазматичній мембрані (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10 і TLR11) та в мембранах внутрішньоклітинних органел (TLR3, TLR7, TLR8 і TLR9), - лізосом, ендосом, апарату Гольджі. Розпізнавання ліганда TLR здійснюється ектодоменом, який містить LRR, що складається з 19-25 копій [4]. Внутрішньоклітинний (цитозольний) домен відповідає за утворення гомо- і гетеродимерів між TLR, тобто з аналогічними білками або білками інших TLR рецепторів.

Цитозольний TIR домен гомологічний подібному в IL - 1 рецепторі, званому Toll/IL -1-рецептор (TIR)[5]. Внутрішньоклітинний домен відповідає також за взаємодію з адаптерами, TIR,

і містять, домени, що призводить до активації TLR -сигнальних шляхів, які здатні індукувати асептичне запалення через розпізнавання продуктів деградації клітин або позаклітинного матриксу. Ендогенні ліганди PRR по аналогії з PAMP дістали назву DAMP (від англ. damage - associated molecular pattern). До DAMP відносять декілька десятків молекул : білки теплового шоку (HSP60, 70, 22, gp96), родину протеїнів S100, білок групи високої мобільності бокс 1 (high mobility group box - 1 - HMGB1), модифіковані ліпопротеїни низької щільності, пуринові метаболіти, компоненти позаклітинного матриксу (гіалурон, біглікан, екстрадомен А фібронектину, сурфактантний білок А, гепарансульфат), фібриноген, фрагменти ДНК і мРНК, β-дефензин [6]. Біологічне значення активації механізмів природженого імунітету ендогенними чинниками полягає в тому, що імунна система адекватно реагує на сигнали імунної небезпеки. Це забезпечує своєчасне виведення з організму модифікованих ендогенних молекул і підтримку антигенного гомеостазу. Гіперактивація TLR при дії ендогенних лігандів може призводити до розвитку надмірної запальної відповіді, що супроводжується ушкодженням тканин, що може бути одним з основних механізмів иммунопатогенеза різних захворювань [7]. TLR експресуються на більшості клітин організму свавців, проте, для індукції і розвитку як природженої, так і адаптивної імунної відповіді мають значення TLR, експресовані на клітинах природженої імунної системи : моноцити/макрофаги, дендритні клітини, нейтрофіли, огрядні клітини, НК -клетки, клітини епітелію слизових оболонок, а також клітини ендотелію кровоносних судин. При цьому одна клітина може експресувати різні по специфічності PRR, що дозволяє їй відповідати на різні типи патогенів.

Активація неспецифічного імунітету розпочинається з розпізнавання патогена рецепторним комплексом, який складається з декількох молекул. Основним компонентом рецепторного комплексу є TLR і мембранна рецепторна молекула CD14 [8].

Рецептор CD14 не має внутрішньоклітинних доменів, необхідних для здійснення трансдукції. Роль CD14 полягає у формуванні високоафінного рецепторного комплексу разом з TLR після зв'язування з патогеном. CD14 зв'язує також компоненти клітинної стінки грампозитивних бактерій (пептидоглікани і липотейхоєву кислоту) і сприяє їх розпізнаванню TLR [13]. CD14 існує в двох формах - розчинній і мембранозв'язаній. Взаємодія з розчинною формою CD14 комплексу патогена забезпечує його зв'язування і передачу ліпопротеїнам високої щільності плазми крові, забезпечуючи елімінацію патогена з організму. Взаємодія з мембранозв'язаною формою CD14 комплексу патогена каталізує зв'язу-

вання патогена з білком MD - 2 [9]. У подальшому каскаді подій комплекс патоген/MD - 2 взаємодіє з TLR, викликаючи його димеризацію і передачу імпульсу внутрішньоклітинному домену рецептора.

Асоційований з цитоплазматичною мембраною клітини комплекс патоген/TLR/MD - 2, взаємодіє через TIR -домен TLR з адаптерним білком MyD88, що викликає активацію чинника транскрипції NF -κB. Активація NF -κB запускає експресію генів цитокінів, NO -синтази і генів інших молекул, що асоціюються із запаленням. В результаті відбувається активація усіх основних клітинних функцій, пов'язаних з фагоцитозом і презентацією антигенів, синтезом NO і вільних форм кисню, синтезом низькомолекулярних медіаторів запалення і групи прозапальних цитокінів. Також відбувається активація генів цитокінів, стимулюючих диференціювання Т-лімфоцитів хелперів I типу - IL - 12, IL - 23, IL - 27. Це є початковим етапом розвитку реакції специфічного імунітету, пов'язаних з розпізнаванням антигенних структур мікроорганізмів [8]. Зв'язування ліганда с TLR ініціює сигнальну трансдукцію, що бере початок від цитоплазматичних TIR -доменів TLR. Сигнал від TIR домена через адаптерні білки MyD88, TIRAP, TRIF передається на відповідні кінази (IKK, TBK, MAPK, p38 та ін.), які диференціально активують ядерні чинники транскрипції (NF - κB, CREB і IRF та ін.), відповідальні за експресію різних прозапальних і антибактеріальних білків [10].

Активація того або іншого чинника визначається типом TLR, від якого передається сигнал. Так, практично усі TLR (TLR2 і його корецептори - TLR1 і TLR6, а також TLR4 - 9, TLR10 - 13), зв'язуючись зі своїми лігандами, здатні активувати NF - κB. Трансдукція сигналу через TLR3, 4, 7-9 призводить до активації іншого сімейства прозапальних чинників транскрипції - IRF [17]. Сигнали, що передаються через TLR3 або TLR4, ведуть до активації IRF3, який регулює експресію IFN -β і вважається принциповим компонентом противірусного імунітету [12]. Передача сигналів за допомогою TLR7 - 9 веде до активації IRF5 і IRF7 і експресії IFN -α [13], що відіграє важливу роль в противірусному захисті. Сигналізація через TLR2 або TLR5 не веде до активації чинників сімейства IRF [5]. TLR9 взаємодіє з ДНК вірусів і бактерій [неметильована, містить повтори CpG]. TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 розташовані в ендосомах, що ізолює рецептори від вірогідної активації ендогенними нуклеїновими кислотами. Після зв'язування ліганда рецептори TLR утворюють гомодимери або гетеродимери [14], і запускають сигнальний каскад до ядра клітини через так звані MyD88 - залежний і MyD88 -незалежний шляхи. MyD88 це цитоплазматичний адаптерний білок, що бере участь в

передачі сигналу усіх TLR, окрім TLR3. TLR1 - 2 і TLR5 - 13 діють тільки через MyD88 - залежний шлях. TLR, що використовують цей шлях, можуть активувати чинник транскрипції AP-1 [15] через MAPK сигнальний шлях [14], а також чинники транскрипції NF - κB [16] чи IRF5 [17] через відповідні кінази. В той же час, TLR4 може реалізувати свій сигнал як через MyD88 - залежний, так і MyD88 - незалежний шлях. MyD88 - залежний шлях в TLR4 -трансдукції забезпечується взаємодією MyD88 з адаптерним білком TIRAP для ініціації сигнального каскаду, що призводить до активації ядерного чинника NF - κB і активації MAPK сигнального шляху [16]. Розрізняють такі MAPK шляхи як ERK - CREB, JNK - AP1 і p38 шляхи. В цілому, низхідний каскад сигнальної трансдукції, викликаний активацією TLR, завершується експресією безлічі генів, що кодують цитокіни, хемокини і інші молекули, що асоціюються із запаленням.

TLR - сигнальний шлях контролюється за допомогою безлічі механізмів зворотного зв'язку, оскільки тривала активація PAMP має небажані для організму в цілому наслідки [17]. Зокрема, MyD88 - незалежний сигнальний шлях контролюється іншими адаптерними білками (TICAM - 1 TICAM - 2, TRIF, TRAM). Вони активують чинник транскрипції IRF3 і подальший синтез IFN -β і хемокина RANTES [14].

Війчасті клітини епітелія носової порожнини високочутливі до реплікації вірусів. Вони мають вродженні імунні сенсори (TLR7, RIG-I) та ефекторні молекули (інтерферони I і III типів) [19], хемокини (CXCL-9, 10, 11 і CCL5) експресуються інфікованими епітеліальними клітинами носової порожнини [20].

У клітинах AT2 людини коронавірус HKU1 індукуює експресію IFN типу III, CXCL10 і CCL5 [21]. Високопатогенні коронавіруси для людського організму, MERS-CoV і SARS-CoV, індукують знижену або уповільнену експресію цитокінів в лінії епітеліальних клітин легенів, що, як вважають, пов'язано з уникненням розпізнавання вродженими рецепторами. В інфікованій клітині RSV-інфекція індукуює секрецію хемокинів, включаючи IL-6, CCL5, CXCL8 та CXCL10 [22].

Рідини, що секретуються клітинами дихальних шляхів містять резидентні протимікробні сполуки (катіони дефензину, лізоцим). Також ними експресуються рецептори для виявлення патогенів. Передача сигналів може бути активована непошкодженими вірусами, бактеріями та їх компонентами, що виділяються та контактують з поверхневими та/або внутрішньоклітинними рецепторами. За відсутності безпосереднього контакту з епітеліальними клітинами дані компоненти є патоген-асоційованими молекулярними структурами, оскільки вони мають здатність проникати через шари слизу для контакту з рецепторами клітин епітелію дихальних шляхів

[23].

Toll – подібні рецептори представляють собою сімейство білків, які беруть участь у розпізнаванні чужорідних мікроорганізмів [24]. Toll – подібні рецептори є інтегральними мембранними глікопротеїнами. Вони є частиною родини рецепторів IL-1 (IL-1R). У цитоплазматичній ділянці міститься консервативний домен TIR (Toll/IL-1R), а позаклітинна ділянка відрізняється між TLR та IL-1R тим, що вони містять багаті на лейцин повтори (LRR), на відміну від Ig-подібного домену [25]. LRR належить роль визначення цільового ліганда для кожного TLR (рецептора розпізнавання образів). На даний час у людини виявлено 11 типів TLR [26].

Передача сигналу від TLR буває MyD88-залежною або -незалежною. MyD88-залежна передача сигналів здійснюється через адаптерний білок MyD88 та його TLR-зв'язуючий домен toll-IL-1-рецепторного домену, що містить адаптерний білок (TIRAP) [27]. Усі TLR, окрім TLR3, використовують MyD88-залежну сигналізацію. TIRAP не використовується TLR5, -7, -8 або -9. MyD88-незалежна передача ініціюється TLR3 і TLR4 через молекулу адаптера, пов'язану з TRIF, який поєднує ендцитоз TLR4 з адаптером IFN- β який містить адаптер, що містить домен TIR [28]. Активація TLR і подальша передача сигналів через MyD88 ініціює великий каскад передачі сигналу, який проходить через ряд кіназ і факторів транскрипції, що призводить до фосфорилування I κ B α , білка, що інгібує NF- κ B, і дозволяє NF- κ B активувати експресію прозапальних генів (TNF, IL-1 β , IL-6, CXCL8) [29].

Клітини епітелію дихальних шляхів експресують новий комплекс TLR, розподіл якого і адаптерних білків відіграють важливу роль у їх участі в розпізнаванні патоген-асоційованих молекулярних структур. Найвища експресія спостерігається у TLR 2-6, експресія TLR 7-10 змінюється залежно від типу клітин. Інші дослідження вказують на рівномірний розподіл рецепторів у епітеліальних клітинах. Адаптери MyD88 і CD14 на поверхні клітини не спостерігаються. Знижена поверхнева експресія адаптерів та відносно низький рівень секреції MD2 – це потенційне зниження механізму ендогенної чутливості клітин епітелію дихальної системи [30].

Мікроорганізми можуть індукувати транскрипцію TLR на поверхні клітин. Поширені збудники інфекційних захворювань дихальних шляхів, такі як віруси грипу, риновірус і респіраторно-синцитіальний вірус (РСВ) і бактерії *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* і *Klebsiella pneumoniae*, виявляються на поверхні епітеліальних клітин патоген-асоційованими молекулярними структурами. Іноді, в деяких випадках індукується експресія TLR. TLR3 важливий для виявлення ряду вірусів, і його транскрипція індукується, коли

клітина інфікована [31]. Як потенційний побічний продукт постійного вірусного ураження, ліганди TLR3 дають найсильнішу прозапальну відповідь. Бактеріальна інфекція *K. pneumoniae* викликає індукцію генів, що кодують TLR-2 та -4, сенсорів ліпоротеїну та LPS, двох важливих рецепторів для грамнегативних бактеріальних патогенів [32]. Експресія TLR4 на епітеліальних клітинах дихальних шляхів відіграє вирішальну роль для розвитку алергічної реакції LPS. Взаємодія епітелію з *P. aeruginosa* включає TLR-2, -4 і -5. Джгутики *P. aeruginosa*, розпізнані TLR5, викликають мобілізацію рецептора до поверхні клітини. Джгутики *P. aeruginosa* також взаємодіють з TLR2 і sialoGM1. Для передачі сигналів через sialoGM1 сприяє комплекс ліпідного рафту TLR2 (кавеолін-1) [33].

ACE2, або ангіотензинконвертуючий фермент 2 – фермент, що може бути в двох формах: прикріплений до клітинної мембрани (mACE2) або в розчиненому вигляді (sACE2) [34].

І mACE2, і sACE2 генерують невеликі білки шляхом розрізання більшого білка ангіотензиногену, які далі регулюють функції в клітині, оскільки входять до складу ренін-ангіотензин-альдостеронової системи.

mACE2 необхідний для того, щоб фермент ADAM17 розщеплював свій позаклітинний домен для утворення sACE2.

Розчинний ангіотензинконвертуючий фермент 2 знижує артеріальний тиск шляхом каталізування гідролізу ангіотензину 2 в ангіотензин, який зв'язується з рецепторами MasR, що, у свою чергу, викликає локальну вазодилатацію [35].

mACE2 – це точка входу у клітину для деяких коронавірусних інфекцій. Використовуючи шипоподібний білок SARS-CoV-2 зв'язується з ACE2. Такий контакт призводить до ендцитозу та транслокації вірусу і ферменту ендосом, що локалізовані всередині клітини [36].

Згідно з результатами експерименту, що був проведений на мишах, взаємодія спайкового білка коронавірусу з mACE2 спричиняє різке зниження рівнів mACE2 в клітинах через інтерналізацію та деградацію білка, що може сприяти пошкодженню епітелію дихальних шляхів [37].

ACE2 наявний в епітелії носової порожнини, ротової порожнини, легень. У легнях ACE2 у значній кількості міститься у альвеоцитах 2 типу, які присутні в альвеолах, де відбуваються процеси поглинання кисню та вивільнення вуглекислого газу.

У дослідженнях була оцінена експресія ACE2 у добре диференційованих первинних культурах епітелію дихальної системи. Найбільший сигнал для ACE2 був зафіксований на апікальній поверхні, але не на базолатеральній. Інтенсивність сигналу найвищою виявилась саме у війчастих клітинах, що відобразило колокаліза-

цію з β -тубуліновим маркером війок, що є свідченням того, що ACE2 інтенсивно експресується війчастими клітинами епітелію [38].

Експресія ACE2 може залежити від стану диференціації епітелію. Недиференційовані епітеліальні клітини мало експресують ACE2, тому вони погано інфікувались SARS-CoV-2. В той час добре диференційовані клітини експресували більшу кількість ACE2, що сприяло кращому прикріпленню та проникненню даного вірусу. Але експресія ACE2 в слабо диференційованому епітелії сприяла проникненню вірусу с псевдотипом білка SARS. Проникнення вірусу с псевдотиповим білком у добре диференційованому епітелії було більш ефективним при контакті вірусних часток з апікальною поверхнею епітеліальних клітин [39].

Рецептори CXCR3 та цитокіни експресуються в клітинах епітелію дихальних шляхів при індукції з боку мікроорганізмів. Це викликає CD4+ Т-клітинного хемотаксис, що, в свою чергу, викликає запалення [40]. CXCR3 цитокіни сприяють антибактеріальній дії проти мікроорганізмів (грамнегативних та грампозитивних) [41].

NOD-подібні рецептори – це білки, які сприймають PAMP у цитозолі. Вони містять домену рекрутингу каспаз. Експресуються в епітелії дихальних шляхів, індукуються бактеріальними подразниками [42].

Інфласома – це сукупність білків (NOD, прокаспаза-1, білок пов'язаний з апоптозом) адаптера. Внаслідок активації цього рецептора виробляються каспази-1 та відбувається загибель клітини шляхом піроптозу. Піроптоз викликає руйнування мембрани та вивільнення IL-1 β та деяких запальних цитокінів [43].

TNF – це протизапальні цитокін, експресія якого викликається інфекціями. У епітеліальних клітинах дихальної системи вони у значній кількості знаходяться на апікальній поверхні [44].

EGFR – рецептори, що відповідають за сигнальну відповідь на інфекційні агенти. Локалізовані на апікальній поверхні епітеліальних клітин дихальних шляхів. Індукують вироблення CXCL8 як відповідь на подразнення, а також збільшення виділення MUC5AC, необхідного для вироблення муцину в дихальній системі [45].

Лектини – це рецептори, що здатні розпізнавати вуглеводи грибів, дріжджів, мікобактерій. Мають домен, який складається з дисульфідних зв'язків між залишками цистеїну. Лектини С-типу можуть розпізнавати β -глікани, що знаходяться на поверхні грибкових, дріжджових та мікобактеріальних інфекційних агентів [46].

β -дефензини – катіонні пептиди, які захищають дихальні шляхи від мікробних організмів. У людини було виділено 6 типів таких дефензинів (5 і 6 типи не експресуються епітелієм дихальної системи) [47].

LL-37 – антимікробні катіонні пептиди. Утворюються клітинами респіраторного епітелію; мають широкий спектр антимікробної дії та підвищують бактеріальний кліренс [48].

CCL20 - білки, що подібні до дефензинів. Експресуються епітеліальними клітинами дихальних шляхів, це процес стимулюється різними бактеріями та пиловими кліщами [49].

COVID-19 – це складне захворювання, клінічні реакції якого варіюються від безсимптомних до важких з катастрофічною дихальною недостатністю та смертю.

У носовій порожнині війчасті клітини є основними клітинами-мішенями для вірусної інфекції SARS-CoV-2, в яких відбувається реплікації та вивільнення вірусів. Інфіковані клітини втрачають війки, що вимикає мукоциліарний кліренс, а в респіраторному відділі легень основним типом клітин-мішеней є пневмоцити типу II [50].

Клітини мішені для SARS-CoV-2 у верхніх дихальних шляхах. Наявність транскриптів вірусного фактора входу ангіотензин-конвертуючого ферменту 2 (ACE2) і трансмембранної серинової протеази -2 (TMPRSS2) у наборах даних для секвенування одноклітинної РНК (scRNAseq) є першим наближенням клітин, які ймовірно є мішенню SARS CoV -2 в межах епітеліальної тканини. ACE2 – це рецептор клітинної поверхні, який розпізнається білком (S) SARS-CoV-2, а TMPRSS2 – сериновою протеазою, яка розщеплює білок S для проникнення вірусу [51].

Епітелій носової порожнини легко інфікується SARS-CoV-2 і вивільняє значну кількість вірусу з апікальної клітинної поверхні. У епітеліальній тканині як війчасті, так і келихоподібні клітини, що секретують слиз, експресують ACE2 і TMPRSS2. Білок 10 ACE2 був знайдений лише на війках та на апікальній війчастій клітинній поверхні. Тропізм і проникнення вірусу, можливо, залежать від додаткових молекул і структур [52]. Інші протеази, наприклад, катепсин В і L і фурин, також можуть бути залучені до інфекції. SARS-CoV-2 прикріплюється до багатих активом мікроворсинок на апікальній поверхні війчастої клітини, а не до самих вій. Важливим буде точніше локалізувати ACE2 і краще визначити функції війчастих клітинних структур. Епітеліальна тканина дихальних шляхів має змінений клітинний склад і містить структурно та функціонально аберантні війчасті клітини при хронічних запальних захворюваннях дихальних шляхів. Експресія ACE2 стимулюється IL-1 β та IFN- β та інгібується IL-13 в епітеліальних клітинах бронхів [53].

Клітини мішені для SARS-CoV-2 у нижніх дихальних шляхах. Клітини, які експресують ACE2 і TMPRSS2 в нижніх дихальних шляхах, є війчасті та келихоподібні, слизопродукуючі клітини. Келихоподібні клітини присутні лише в невеликій кількості в малих бронхах у людей.

Подібно до носової порожнини, війчасті клітини – це основний тип клітин-мішеней [54]. У патологічних зразках миготливі та секреторні епітеліальні клітини виявляються інфікованими, але базальні клітини-попередники залишаються збереженими. Це підтверджується моделлю культури первинних бронхіальних епітеліальних клітин, де війчасті клітини є основними клітинами, інфікованими на ранніх термінах, а потім інфекція поширюється на секреторні клітини.

Клітини мішені для SARS-CoV-2 в легневих альвеолах. Альвеолярні клітини типу II виробляють поверхнево-активну речовину (сурфактант) в легенях, яка використовується для створення низького поверхневого натягіння на межі «повітря-рідина» на альвеолярній поверхні. Низьке поверхнєве натягіння помітно полегшує роботу дихання і поліпшує газообмін. Поверхнево-активна речовина також містить SP-A і SP-D, які є полівалентними лектинами, та виконують захисні функції. SP-D має вирішальне значення для захисту хазяїна від інфекцій грипу А. Існують певні докази того, що SP-D також може захищати від коронавірусних інфекцій [54]. Група клітин альвеолярного епітелію типу II піддається самовідновленню під час фізіологічної та репаративної регенерації, а також служить клітинами-попередниками для клітин альвеолярного епітелію типу I. Отже, пошкодження клітин типу II може значно перешкоджати механізмам відновлення епітелію, як показано у мишей, інфікованих грипом A/PR8/1934 (H1N1) [55]. Тісні з'єднання між клітинами альвеолярного епітелію утворюють основний бар'єр для потоку рідини з мікроциркуляторного русла та інтерстицію в альвеолярний простір. Клітини типу II і типу I активно транспортують рідину з альвеолярної субфази в інтерстицій, за допомогою базолатеральної Na/K АТФази. Згідно з дослідженнями

збудники SARS-CoV-1 та грипу, клітини альвеолярного типу II можуть також ініціювати вроджену відповідь господаря після вірусних інфекцій і виділяти інтерферони та хемокіни типу I та III. Ці клітини є одними з перших, хто реагує на респіраторні віруси в газообмінній частині легнів. Крім того, клітини альвеолярного типу II людини експресують ізотип людського лейкоцитарного антигену DR (HLA-DR), CD80 і CD86, які необхідні для презентації антигену Т-клітинам і, таким чином, вважають, що вони служать антигенпрезентуючими клітинами під час вірусної інфекції ініціюють реакції Т-клітин, але менш ефективні, ніж дендритні клітини [56].

Підсумок

Аналіз представленої наукової інформації дозволяє зробити висновок, що під час контактної взаємодії патогенів вірусної природи з легневим епітелієм відбувається активація двох різнонаправлених клітинних рецепторних систем, що одночасно реалізують процеси інкорпорації вірусу до клітини-мішені та активацію процесів вродженого та адаптивного імунітету, що проявляють себе на місцевому та системному рівнях та направлені на нейтралізацію вірусного чинника та елімінацію пошкоджених клітин.

Перспективи подальших розробок

Вивчення механізмів зворотнього зв'язку TLR – сигнального шляху в клітинах епітелію повітряноносних шляхів та альвеолярному епітелію дозволить розробити засоби направленої впливу з метою обмеження запальної реакції та попередження «цитокінового шторму» при коронавірусній інфекції.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела References

1. Janeway CA, Medzhitov R. Introduction: the role of innate immunity in the adaptive immune response. *Semin Immunol.* 1998;10(5):349-3.
2. Medzhitov R, Janeway C. Innate Immunity. *N. Engl. J. Med.* 2000;343(5):338-44.
3. Yoneyama M, Fujita T. Function of RIG-I-like receptors in antiviral innate immunity. *J. Biol. Chem.* 2007;282(21):15315-8.
4. Jin MS, Lee JO. Structures of the toll-like receptor family and its ligand complexes. *Immunity.* 2008;29(2):182-91.
5. O'Neill LAJ, Dinarello CA. The IL-1 receptor/toll-like receptor superfamily: crucial receptors for inflammation and host defense. *Immunol Today.* 2000;21(5):206-9.
6. Lukić IK, Jelusić-Dražić , Kovacić N, Grcević D. Damage-associated molecular patterns – emerging targets for biologic therapy of childhood arthritides. *Inflamm. Allergy Drug Targets.* 2009;8(2):139-45.
7. Kovalchuk LV, Svitich OA, Gankovskaya LV, Mironshichenkova AM, Gankovsky VA. [The role of Toll-like receptors in the pathogenesis of human infectious diseases]. *Kursk Scientific and Practical Bulletin. Man and his health.* 2012;2:147. Russian.
8. Simbirtsev AS, Gromova AYU. [Functional polymorphism of regulatory cytokine genes]. *Cytokines and inflammation.* 2005;4(1):310-318. Russian.
9. Abaturov AE, Volosovets AP, Yulish EI. [The role of Toll-like receptors in the recognition of

pathogen-associated molecular structures of infectious pathogens and the development of inflammation. Part 1. The TLR family]. *Child health*. 2012;5:116-21. Russian.

10. Scheblyakov DV, Logunov DYu, Tukhvatulin AI, et al. [Toll-like receptors (TLRs) and their significance in tumor progression]. *Acta naturae*. 2010;3(6):28-37. Russian.

11. Liu Q, Ding JL. The molecular mechanisms of TLR-signaling cooperation in cytokine regulation. *Immunol Cell Biol*. 2016;94(6):538-42.

12. Perales-Linares R, Navas-Martin S. Toll-like receptor 3 in viral pathogenesis: friend or foe? *Immunology*. 2013;140(2):153-67.

13. O'Neill LA, Bowie AG. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(5):353-64.

14. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int. Immunol*. 2005;17:1-14.

15. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat. Immunol*. Nature Publishing Group. 2010;11(5):373-84.

16. Zhang FX, Kirschning CJ, Mancinelli R, et al. Bacterial lipopolysaccharide activates nuclear factor- κ B through interleukin-1 signaling mediators in cultured human dermal endothelial cells and mononuclear phagocytes. *J. Biol. Chem*. 1999;274(12):7611-4.

17. Lehnardt S. Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: the role of microglia in Toll-like receptor-mediated neuronal injury. *Glia*. 2010;58(3):253-63.

18. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int. Rev. Immunol*. 2011;30:16-34.

19. Tan KS, Ong HH, Yan Y, Liu J, Li C, Ong YK, et al. In vitro model of fully differentiated human nasal epithelial cells infected with rhinovirus reveals epithelium-initiated immune responses. *J Infect Dis*. 2018;217:906-15.

20. Yan Y, Tan KS, Li C, Tran T, Chao SS, Sugrue RJ, et al. Human nasal epithelial cells derived from multiple subjects exhibit differential responses to H3N2 influenza virus infection in vitro. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(1):276-81.

21. Dominguez SR, Travanty EA, Qian Z, Mason RJ. Human coronavirus HKU1 infection of primary human type II alveolar epithelial cells: cytopathic effects and innate immune response. *PLoS One*. 2013;8(7):e70129.

22. Lau SK, Lau CC, Chan KH, Li CP, Chen H, Jin DY, et al. Delayed induction of proinflammatory cytokines and suppression of innate antiviral response by the novel Middle East respiratory syndrome coronavirus: implications for pathogenesis and treatment. *J Gen Virol*. 2013;94:2679-90.

23. Yoshikawa T, Hill TE, Yoshikawa N, Popov VL, Galindo CL, Garner HR, Peters CJ, Tseng CT. Dynamic innate immune responses of human

bronchial epithelial cells to severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection. *PLoS ONE*. 2010;5(1):e8729.

24. Anderson KV, Jurgens G, Nusslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the Toll gene product. *Cell*. 1985;42:779-789.

25. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010;140:805-820.

26. Takeuchi O, Kawai T, Muhlradt PF, Morr M, Radolf JD, Zychlinsky A, Takeda K, Akira S. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int Immunol*. 2001;13:933-940.

27. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Kopp E, Stadlen A, Chen C, Ghosh S, Janeway CA Jr. MyD88 is an adaptor protein in the hToll/IL-1 receptor family signaling pathways. *Mol Cell*. 1998;2:253-258.

28. Hornig T, Barton GM, Flavell RA, Medzhitov R. The adaptor molecule TIRAP provides signaling specificity for Toll-like receptors. *Nature*. 2002;420:329-333.

29. Adachi O, Kawai T, Takeda K, Matsumoto M, Tsutsui H, Sakagami M, Nakanishi K, Akira S. Targeted disruption of the MyD88 gene results in loss of IL-1- and IL-18-mediated function. *Immunity*. 1998;9:143-150.

30. Jia HP, Kline JN, Penisten A, Apicella MA, Gioannini TL, Weiss J, McCray PB, Jr. Endotoxin responsiveness of human airway epithelia is limited by low expression of MD-2. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004;287:L428-L437.

31. Wang Q, Nagarkar DR, Bowman ER, Schneider D, Gosangi B, Lei J, Zhao Y, McHenry CL, Burgens RV, Miller DJ, et al. Role of double-stranded RNA pattern recognition receptors in rhinovirus-induced airway epithelial cell responses. *J Immunol*. 2009;183:6989-6997.

32. Regueiro V, Moranta D, Campos MA, Margareto J, Garmendia J, Bengoechea JA. *Klebsiella pneumoniae* increases the levels of Toll-like receptors 2 and 4 in human airway epithelial cells. *Infect Immun*. 2009;77:714-24.

33. Adamo R, Sokol S, Soong G, Gomez MI, Prince A. *Pseudomonas aeruginosa* flagella activate airway epithelial cells through asialoGM1 and toll-like receptor 2 as well as toll-like receptor 5. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2004;30:627-34.

34. Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Molecular Systems Biology*. 2020;16(7):e9610.

35. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circulation Research*. 2000;87(5):E1-E9.

36. Wang H, Yang P, Liu K, Guo F, Zhang Y, Zhang G, Jiang C. SARS coronavirus entry into host

cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway. *Cell Research*. 2008;18(2):290–301.

37. Imai Y, Kuba K, Penninger JM. The discovery of angiotensin-converting enzyme 2 and its role in acute lung injury in mice. *Experimental Physiology*. 2008;93(5):543–548.

38. Look DC, Walter MJ, Williamson MR, Pang L, You Y, Sreshta JN, Johnson JE, Zander DS, Brody SL. Effects of paramyxoviral infection on airway epithelial cell Foxj1 expression, ciliogenesis, and mucociliary function. *Am. J. Pathol*. 2001;159:2055–2069.

39. Brody SL, Yan XH, Wuerffel MK, Song SK, Shapiro SD. Ciliogenesis and left-right axis defects in forkhead factor HNF4-null mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 2000;23:45–51.

40. Escotte S, Al Alam D, Le Naour R, Puchelle E, Guenounou M, Gangloff SC. T cell chemotaxis and chemokine release after *Staphylococcus aureus* interaction with polarized airway epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006;34:348–354.

41. Egesten A, Eliasson M, Johansson HM, Olin AI, Morgelin M, Mueller A, Pease JE, Frick IM, Bjorck L. The CXC chemokine MIG/CXCL9 is important in innate immunity against *Streptococcus pyogenes*. *J Infect Dis*. 2007;195:684–693.

42. Mayer AK, Muehmer M, Mages J, Guenzinus K, Hess C, Heeg K, Bals R, Lang R, Dalpke AH. Differential recognition of TLR-dependent microbial ligands in human bronchial epithelial cells. *J Immunol*. 2007;178:3134–3142.

43. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7:99–109.

44. Nakane A, Minagawa T, Kato K. Endogenous tumor necrosis factor (cachectin) is essential to host resistance against *Listeria monocytogenes* infection. *Infect Immun*. 1988;56:2563–2569.

45. Subauste MC, Proud D. Effects of tumor necrosis factor- α , epidermal growth factor and transforming growth factor- α on interleukin-8 production by, and human rhinovirus replication in, bronchial epithelial cells. *Int Immunopharmacol*. 2001;1:1229–1234.

46. Drickamer K. Two distinct classes of carbohydrate-recognition domains in animal lectins. *J Biol Chem*. 1988;263:9557–9560.

47. Jones DE, Bevins CL. Defensin-6 mRNA in human Paneth cells: implications for antimicrobial peptides in host defense of the human bowel. *FEBS Lett*. 1993;315:187–192.

48. Bals R, Weiner DJ, Meegalla RL, Wilson JM. Transfer of a cathelicidin peptide antibiotic gene restores bacterial killing in a cystic fibrosis xenograft model. *J Clin Invest*. 1999;103:1113–1117.

49. Sim SH, Liu Y, Wang D, Novem V, Sivalingam SP, Thong TW, Ooi EE, Tan G. Innate immune responses of pulmonary epithelial cells to *Burkholderia pseudomallei* infection. *PLoS ONE*. 2009;4:e7308.

50. Ravindra NG, Alfajaro MM, Gasque V, et al. Single-Cell longitudinal analysis of SARS-CoV-2 infection in human airway epithelium identifies target cells, alterations in gene expression, and cell state changes. *PLoS Biol*. 2021;19:e3001143.

51. Sungnak W, Huang N, Bécavin C, et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med*. 2020;26:681–7.

52. Pinto AL, Rai RK, Brown JC, et al. Ultrastructural insight into SARS-CoV-2 attachment, entry and budding in human airway epithelium. *bioRxiv*. 2021;13(1):1609.

53. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, et al. SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. *Cell*. 2020;182:429–46.

54. Hartshorn KL, Crouch EC, White MR, et al. Evidence for a protective role of pulmonary surfactant protein D (SP-D) against influenza A viruses. *J Clin Invest* 1994;94:311–9.

55. Yee M, Domm W, Gelein R, et al. Alternative progenitor lineages regenerate the adult lung depleted of alveolar epithelial type 2 cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2017;56:453–64.

56. Toulmin S, Bhadiadra C, Paris A, et al. Type II alveolar cells with constitutive expression of MHCII and limited antigen presentation capacity contribute to improved respiratory viral disease outcomes. *bioRxiv*. 2021; 12(1):3993.

Хрпков І.С., Голікова А.А. Рецепторні механізми взаємодії легеневого епітелію з патогенами різного генезу.

РЕФЕРАТ. Дихальна система є одними з воріт через які до організму потрапляють патогени вірусного або бактеріального походження. Первинний контакт патогена з клітинами епітелія слизових оболонок, обумовлений взаємодією з рецепторами клітини, визначає напрямок реакції організму, пов'язаний з формуванням обмежувального запального процесу, або з проникненням патогену до клітин і використанням ресурсів організму для власної реплікації та розповсюдження. Взаємодія епітеліальних клітин дихальної системи під час респіраторних вірусних інфекцій відіграє провідну роль для забезпечення протівірусних реакцій з боку організму людини. Здійснюється це за допомогою двох основних рецепторів: Toll – подібні та ACE2. Епітеліальні клітини, що охоплюють дихальні шляхи від носової порожнини до альвеолярних відділів, реагують на вірусні інфекції шляхом вироблення цитокінів та хемокинів, які взаємодіють з імунними клітинами та безпосередньо з вірусами. При контактній взаємодії патогенів вірусної

природи з легневим епітелієм відбувається активація двох різнонаправлених клітинних рецепторних систем, що одночасно реалізують процеси інкорпорації вірусу до клітини-мішені та активацію процесів вродженого та адаптивного імунітету, що проявляють себе на місцевому та системному рівнях та направлені на нейтралізацію вірусного чинника та елімінацію пошкоджених клітин.

Ключові слова: гістологія, Toll – подібні рецептори, ACE2 рецептори, епітелій повітряносних шляхів, респіраторний епітелій легень.