

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКСТРАВАЗАЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ЛИМФАТИЧЕСКИЙ УЗЕЛ: ОТ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСНОВ К КЛОНАЛЬНО-СЕЛЕКЦИОННОЙ ТЕОРИИ

© 2016 г. А.В. Бондарь*, Ю.П. Гумовская*, А.В. Полевщиков* **

*Школа биомедицины Дальневосточного федерального университета, 690950, Владивосток, ул. Суханова, 8;

**Институт экспериментальной медицины, 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

E-mail: alexpol512@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.06.16 г.

Разработана модель процесса экстравазации Т-лимфоцитов в лимфатический узел через вены с высоким эндотелием в ходе иммунного ответа. Особенностью модели является учет гистологической структуры и морфометрических параметров лимфатического узла и его венул, наличия адгезионных молекул на клетках эндотелия, скорости движения Т-лимфоцитов в сопоставлении с основными положениями клонально-селекционной теории иммунного надзора. Показано, что пропускная способность венул лимфатического узла не способна обеспечить прохождение через узел требуемого числа Т-лимфоцитов, необходимого для поддержания иммунного надзора в рамках существующей иммунологической теории. Это позволяет ставить вопрос о пересмотре принятых представлений о механизмах формирования специфичности Т-лимфоцитов и обоснованности клонально-селекционной теории.

Ключевые слова: клонально-селекционная теория иммунитета, лимфатический узел, миграция Т-лимфоцитов, вены с высоким эндотелием, математическое моделирование.

По современным представлениям органы иммунной системы разделяются на центральные (тимус и красный костный мозг, в которых происходит созревание и дифференцировка Т- и В-лимфоцитов соответственно) и периферические (многочисленные лимфатические узлы (ЛУ), селезенка и лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками). Зрелые Т- и В-лимфоциты, вышедшие из центральных органов, включаются в перманентную рециркуляцию между периферическими органами, целью которой является поддержание антигенного гомеостаза и развитие в них иммунного ответа после проникновения антигена во внутреннюю среду организма [1]. Важнейшим базисом теории иммунного ответа является клонально-селекционная теория, по которой в ответ вовлекается не весь пул Т- или В-лимфоцитов, а лишь те из них, распознающие рецепторы которых, сформировавшиеся стохастически в ходе созревания и дифференцировки, комплементарны эпитопам проникшего патогена, что обеспечивает специфичность иммунного ответа [2]. Результаты молекулярно-генетических исследований предсказывают огромную вари-

бельность структуры рецептора Т-лимфоцитов, играющих центральную роль в развитии иммунного ответа. Общее число вариантов рецепторов Т-клеток может составлять 10^{17} – 10^{19} и даже по некоторым оценкам 10^{20} [3,4], что на несколько порядков превосходит общее число клеток в организме человека, оцениваемое в настоящее время в 10^{13} [5]. Следовательно, актуальным остается вопрос как об общем числе лимфоцитов, так и реальном числе Т-клеточных клонов, способных принять участие в развитии иммунного ответа.

Для Т-лимфоцитов предполагается быстрая рециркуляция между вторичными лимфоидными органами, в ходе которой Т-клетка, не встретив специфичную антигенную детерминанту, быстро покидает ЛУ и, выйдя в лимфу через эфферентные лимфатические сосуды, возвращается в кровотока. Тем не менее все лимфоциты (как Т-, так и В-), содержащиеся в ЛУ, полностью сменяются в нем за 70 ч [2]. У человека через каждый лимфатический узел (при среднем размере 0,5–0,8 см) за сутки проходит $0,3 \cdot 10^{11}$, через селезенку – $2,5 \cdot 10^{11}$ Т-лимфоцитов [6]. По другим данным, через отдельно взятый лимфатический узел за 48 ч проходит весь пул Т-лимфоцитов человека [7].

Сокращения: ЛУ – лимфатический узел; ВВЭ – вена с высоким эндотелием.

Важным аспектом этого процесса является экстравазация Т-лимфоцитов из кровотока в ЛУ. Этот процесс происходит только через венулы с высоким эндотелием (ВВЭ), диаметром 10–30 мкм, отличающиеся наличием тонкой стенки, представленной одним слоем кубического эпителия и локализованные исключительно в пределах паракортикальной зоны ЛУ. Однако литературные данные о характеристиках этого процесса содержат определенные внутренние противоречия. Так, даже $0,3 \cdot 10^{11}$ Т-лимфоцитов, проходящих через один ЛУ в течение 24 ч, означает экстравазацию почти 350000 клеток в секунду, что при минимальной длительности трансмиграции одной клетки даже в 1 минуту (без учета этапов роллинга и прочной адгезии) указывает на исключительно высокий уровень проницаемости ВВЭ для Т-лимфоцитов и перманентное нахождение в них очень большого объема клеточного материала [8].

Целью работы было создание математической модели процесса экстравазации Т-лимфоцитов в лимфатический узел через венулы с высоким эндотелием с учетом числа клонов Т-лимфоцитов, длины участка ВВЭ и числа клеток эпителия, составляющих его, скорости движения Т-лимфоцитов, локализации адгезионных молекул на клетках ВВЭ, а также времени процесса.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ И МЕТОДЫ

Для построения упрощенной модели ЛУ был выбран сфероид, форма которого в должной мере приближена к бобовидной форме узла. На основании гистологических данных в ЛУ выделяют три зоны: корковое вещество, заполненное преимущественно В-клеточными фолликулами, паракортикальную зону, заполненную преимущественно Т-клетками и содержащую ВВЭ, а также мозговое вещество, выполняющее трофическую функцию и по современным представлениям не участвующее в иммунных реакциях. В ходе построения модели был введен коэффициент $K_{пз}$, отражающий отношение площади паракортикальной зоны ЛУ к общей площади среза ЛУ. Другим параметром стал коэффициент $K_{ВВЭ}$, равный отношению длины участка ВВЭ к общей длине венулы в ЛУ. Общий перечень независимых и оцениваемых переменных математической модели приведен в таблице. В ходе различных этапов моделирования использовали поперечное и продольное сечение ВВЭ (рис. 1 и 2). На поперечном сечении оценивали значение максимальной ми-

грационной способности ВВЭ по всей ее длине (рис. 1а).

Исходя из входных данных поставленной задачи, а именно: коэффициентов $K_{пз}$ и $K_{ВВЭ}$, геометрических размеров ЛУ, были рассчитаны площади поперечного сечения лимфатического узла $S_{лу}$:

$$S_{лу} = \pi R'_{лу} R_{лу}. \quad (1)$$

Подставив в уравнение (1) коэффициент $K_{пз}$, можно получить площадь входящей в него паракортикальной зоны $S_{пз}$:

$$S_{пз} = k_{пз} S_{лу}. \quad (2)$$

Для дальнейшего расчета выражена площадь единичного поперечного среза ВВЭ:

$$S_{ВВЭ} = \pi R_{ВВЭ}^2. \quad (3)$$

Для максимального заполнения всего объема паракортикальной зоны ЛУ произведен расчет средней длины ВВЭ, проходящей через всю паракортикальную зону:

$$d = R_{лу} \sqrt{k_{пз}}, \quad (4)$$

$$d_{ср} = \frac{1}{d} \int_0^d \sqrt{d^2 - d'^2} dd'. \quad (5)$$

Подставив выражение (4) в (5) и умножив на выражение (3), можно получить выражение, определяющее площадь активной поверхности ВВЭ средней длины:

$$S_{ВВЭ} = \pi \frac{R_{ВВЭ}^2}{R_{лу} \sqrt{k_{пз}}} \int_0^{R_{лу} \sqrt{k_{пз}}} \sqrt{(R_{лу} \sqrt{k_{пз}})^2 - d'^2} dd'. \quad (6)$$

Для характеристики количества возможностей выхода клетки из сосуда в единичном случайном срезе сосуда N было введено понятие теоретических тарелок миграции N_T – поперечных сечений ВВЭ, расположенных между клетками ВВЭ, между которыми происходит миграция Т-лимфоцитов. Уравнение учитывает соотношение размеров Т-лимфоцитов и клетки ВВЭ, на которой может располагаться маркер, и геометрические размеры ЛУ:

$$N_T = \frac{(k_{пз} \pi^2 R'_{лу} R_{лу}) / S_{ВВЭ} d_{ср} k_{ВВЭ} d_{ср,пз} R_{ВВЭ}}{R_T}. \quad (7)$$

Принимая во внимание литературные данные о диаметре ВВЭ от 10 до 30 мкм [9], можно предположить, что в просвете сосуда без изменения формы располагается одна клетка

Список независимых и зависимых (оцениваемых) переменных математической модели

Переменная	Биофизический смысл	Диапазон значений	Ед. измерения
Независимые переменные			
$R'_{лу}; R_{лу}$	Радиусы эллипсоидного ЛУ	$5 \cdot 10^{-3}; 8 \cdot 10^{-3}$	м
$k_{пз}$	Отношение площади паракортикальной зоны ЛУ к общей площади среза ЛУ	0,01–0,6	
$k_{ВВЭ}$	Отношение длины участка ВВЭ к общей длине вены в ЛУ	$\approx 0,2–0,3$	
$R_{ВВЭ}$			
R_T, D_T	Радиус, диаметр Т-лимфоцита	$(10–12) \cdot 10^{-6}$	м
$V_{Ткл}$	Скорость перемещения Т-лимфоцита в сосуде	$5 \cdot 10^{-6}$	м/с
$R_э$	Радиус эндотелиальной клетки	$5 \cdot 10^{-6}$	м
t	Время		с
Зависимые переменные			
$S_{лу}$	Площадь поперечного среза ЛУ		м ²
$S_{пз}$	Площадь паракортикальной зоны на срезе ЛУ		м ²
d	Максимальная длина ВВЭ		м
$d_{ср}$	Среднее значение длины ВВЭ		м
d'	Возможная величина длины ВВЭ		м
$d_{ср.пз}$	Среднее значение диаметра паракортикальной зоны ЛУ		м
$S_{ВВЭср}$	Среднее значение активной площади ВВЭ		м ²
$D_{ВВЭ}$	Внутренний диаметр ВВЭ		м
N_T	Количество теоретических тарелок миграции		кл/сут
$N_{сут}$	Пропускная способность ВВЭ в сутки		
$N_{ВВЭ}$	Теоретически возможное количество ВВЭ в ЛУ		
k_n	Количество клеток эндотелия на пути Т-лимфоцита при движении по ВВЭ		
P_m	Вероятность миграции Т-лимфоцита		
k	Количество возможных появлений маркера по пути Т-клетки		
λ	Среднее количество событий на исследуемом участке ВВЭ		
M	Математическое ожидание события, средняя ожидаемая вероятность, которое произойдет на k_n клетках		
y	Расстояние от начала пути Т-лимфоцита до маркера/расстояние между маркерами		м
$P_{зт.н.}$	Вероятность формирования затора в первой половине ВВЭ		
$P_{зт.к.}$	Вероятность формирования затора во второй половине ВВЭ		
$P_{зт}$	Вероятность образования затора сосуда		
$P_{просв}$	Вероятность перекрытия просвета сосуда		
z	Отношение размеров клетки ВВЭ и Т-лимфоцита		
$E_{кл}$	Количество мигрирующих Т-лимфоцитов по отношению к выбранному отрезку времени (количеству секунд)		кл/с
$N_{проб}$	Количество клеток ВВЭ, по которым Т-лимфоцит проходит в процессе роллинга		
ϕ	Коэффициент, описывающий количество одновременно находящихся в просвете ВВЭ Т-лимфоцитов		

(рис. 16). Однако в случае прочной адгезии или трансмиграции одного Т-лимфоцита перемещение через участок другой Т-клетки может быть сопряжено с изменением формы обеих

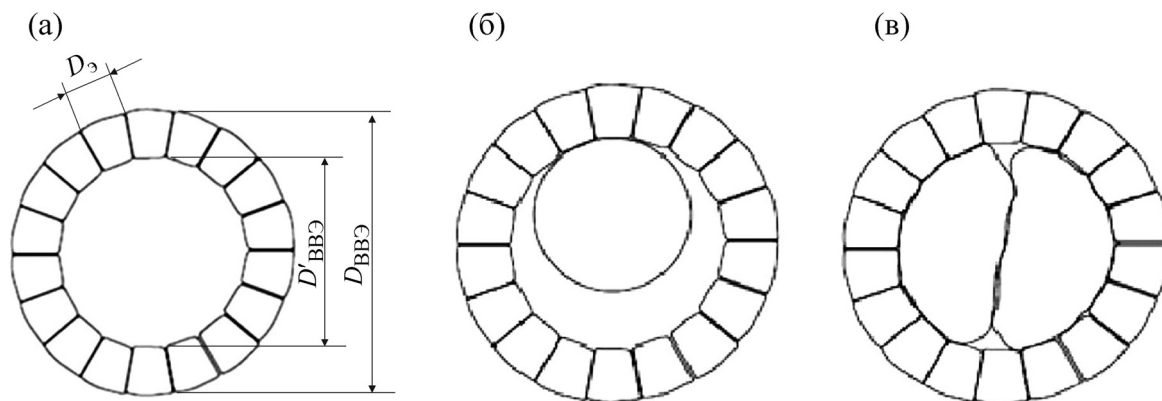


Рис. 1. Поперечное сечение ВВЭ: (а) – поперечное сечение ВВЭ с обозначением размеров, где $D_э$ – диаметр клетки эндотелия, $D_{ВВЭ}$ – диаметр ВВЭ, $D'_{ВВЭ}$ – диаметр просвета ВВЭ, (б) – расположение одной клетки в просвете ВВЭ, (в) – взаимное расположение двух клеток в просвете ВВЭ.

клеток (рис. 1в), что, принимая во внимание высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение Т-лимфоцитов, не выглядит очевидным.

Тем не менее суточная пропускная способность через единичную ВВЭ может быть описана следующей формулой:

$$N_{\text{сут}} = \sum_{t=0}^t \frac{(D_{ВВЭ} R_э)^2}{R_T^2} t V_{\text{Ткл}}. \quad (8)$$

В результате анализа уравнений (6)–(8) была получена система уравнений, которая предусматривает варьирование $K_{пз}$ от 0,05 до 0,6, отношение длины ВВЭ к общей длине вены ($K_{ВВЭ}$) – от 0,1 до 0,3 и вариацию радиуса сфероидного лимфатического узла $R_{\text{лу}} > 0$, $R'_{\text{лу}} > 0$.

$$\left\{ \begin{aligned} S_{ВВЭ} &= \pi \frac{R_{ВВЭ}^2}{R_{\text{лу}} \sqrt{k_{пз}}} \int_0^{R_{\text{лу}} \sqrt{k_{пз}}} \sqrt{(R_{\text{лу}} \sqrt{k_{пз}})^2 - d'^2} dd', \\ N_T &= \frac{(k_{пз} \pi^2 R'_{\text{лу}} R_{\text{лу}}) / S_{ВВЭ} k_{ВВЭ} d_{\text{ср.пз}} R_{ВВЭ}}{R_T}, \\ N_{\text{сут}} &= \sum_{t=0}^t \frac{(D_{ВВЭ} - R_э)^2}{R_T^2} t V_{\text{Ткл}}, \end{aligned} \right. \quad (9)$$

$$\begin{aligned} 0,005 &< k_{пз} < 0,6, \\ 0,1 &< k_{ВВЭ} < 0,3, \\ R_{\text{лу}} &> 0, \\ R'_{\text{лу}} &> 0. \end{aligned}$$

Другим важным аспектом моделирования экстравазации Т-лимфоцитов в лимфатический узел является наличие соответствующих адге-

зионных молекул и хемокинов на поверхности клеток ВВЭ, определяющих участок прочной адгезии и последующей трансмиграции Т-лимфоцитов. К числу таких молекул относятся GlyCAM-1, MadCAM-1, CD34, ICAM-1 и хемокин CCL-21 [10]. Роль молекул адгезии удобнее анализировать на продольном срезе ВВЭ. Для упрощения модели все адгезионные молекулы обозначим как «маркер» (рис. 2). Пусть Т-лимфоцит катится по стенке ВВЭ с равномерной скоростью.

Тогда за некое время клетка контактирует с n клеток эндотелия, преодолевая расстояние от клетки k_1 до клетки k_n , равное $H_{ВВЭ}$ (рис. 2а). Половину пути, пройденного Т-клеткой, обозначим как K . Предположим, что расположение маркеров на клетках ВВЭ является несовместным и равномерным событием с вероятностью P , равной $1/n$, вероятность встречи с которым рассчитывается по теореме Пуассона в связи с большим количеством событий и их малой вероятностью:

$$P(v_{n=k}) \approx \frac{\lambda^k}{k!} e^{-\lambda}, \quad (10)$$

где $\lambda = nP$.

Математическое ожидание будет выражаться формулой $Mk_n = \lambda$.

Схематично распределение маркеров по поверхности эндотелия представлено на рис. 2б. Исходя из теоремы Пуассона, выражение (10) приобретает экспоненциальное распределение:

$$f(y) = \begin{cases} 0, & y = 0 \\ \mu e^{-\mu x}, & y \geq 0, \end{cases} \quad (11)$$

где $\mu = \lambda$.

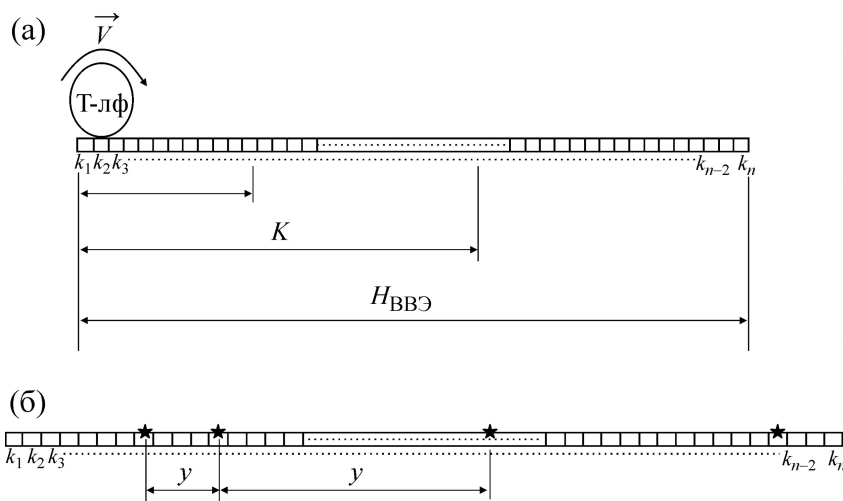


Рис. 2. Расположение адгезионных молекул на поверхности ВВЭ: (а) – схематичное расположение маркера на поверхности ВВЭ с вариантами расстояния y между ними, (б) – процесс поиска маркера Т-лимфоцита в ВВЭ. «Звездой» обозначены маркеры (адгезионные молекулы).

Ранее введенная точка K будет являться критерием: после ее пересечения Т-клетка останавливается либо в первой части пути, либо во второй части. Тогда вероятность пересечения Т-клеткой точки K можно выразить через следующую функцию:

$$F(y) = \begin{cases} 0, & y < 0 \\ 1 - e^{-\mu x}, & y \geq 0. \end{cases} \quad (12)$$

На основании функции (12) можно определить вероятность прохождения точки K клеткой, т.е. вероятность, что Т-клетка прошла путь от начала роллинга до маркера больший, чем расстояние от начала до середины пути:

$$P_m\{y \geq k\} = 1 - F(y < k) = e^{-\mu x}. \quad (13)$$

Тогда после упрощения выражения и подстановки значений полученная вероятность может быть применена для анализа работоспособности ВВЭ.

Дальнейшим этапом построения модели был расчет теоретически возможного количества ВВЭ в лимфатическом узле, обозначенного $N_{ВВЭ}$. Основным опорным значением анализа является скорость движения Т-лимфоцитов $V_{Ткл}$ и среднее время его прохождения по ВВЭ. Исходя из представленных данных, при постоянной $V_{Ткл}$, равной $5 \cdot 10^{-6}$ м/с, что составляет половину диаметра клетки в секунду, и зная суммарную длину возможных ВВЭ, можно оценить их теоретическое количество.

Однако с учетом переменного диаметра ВВЭ следует рассмотреть вероятность формирования затора, который может возникнуть вследствие

остановки впереди идущей клетки для прочной адгезии или трансмиграции и преградить путь для последующих Т-лимфоцитов.

На основании гистологических данных размер ядра Т-лимфоцитов может варьировать от 5 до 8 мкм, что составляет от 25 до 64% от площади среза Т-лимфоцитов. Принимая во внимание, что деформация ядра минимальна, Т-лимфоцит может изменить свою форму только в пределах цитоплазмы, не занятой ядром. По этой причине свободный обход двух рядом идущих клеток без замедления или вынужденной остановки движения возможен в случае, если треки ядер не пересекаются или пересекаются лишь частично.

Поэтому при составлении модели было принято, что клетка может совершить обгон впереди идущей Т-клетки в случае, если выполняется условие, что их проекции на поперечном срезе сосуда совпадают менее чем на 50%, что можно представить, рассматривая угловые соотношения проекций клеток, как показано на рис. 3а. Если это условие не выполняется, то проекции ядер перекрываются и начинается перекрытие просвета ВВЭ (рис. 3б). В ходе перемещения проекций клеток и расположения их ядер в просвете ВВЭ найдено, что для обгона прикрепившейся для роллинга или трансмиграции клетки необходимы значения угла α , равные 25° . Исходя из этого, можно оценить вероятность перекрытия просвета ВВЭ на поперечном сечении сосуда, получая при этом угол в 90° , при котором будет происходить совпадение треков пути ядер.

Тогда вероятность перекрытия просвета сосуда $P_{просв}$ составляет 25%. Однако события процесса миграции P_m и перекрытия просвета

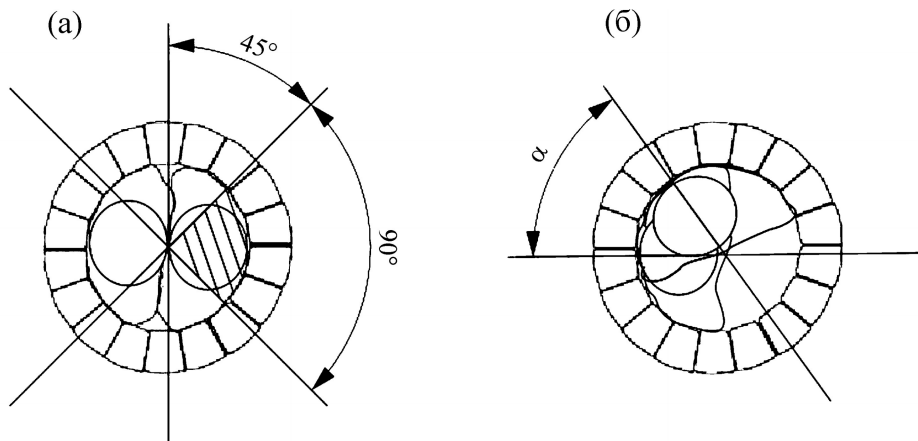


Рис. 3. Взаимное расположение Т-клеток и их ядер в срезе ВВЭ: (а) – в случае отсутствия затора; (б) – в случае перекрытия просвета ВВЭ, где α – угол пересечения проекций ядер Т-лимфоцитов, при этом $\alpha < 90^\circ$.

являются совместными, поэтому конечная вероятность образования затора $P_{зт}$ во время миграции равна произведению этих вероятностей. Тогда вероятность формирования затора в первой половине ВВЭ $P_{зт.н.}$ и в ее второй половине $P_{зт.к.}$ можно выразить через следующие уравнения:

$$P_{зт.н.} = P_{просв} \bar{P}_M \tag{14}$$

$$P_{зт.к.} = P_{просв} P_M \tag{15}$$

Но, в свою очередь, вероятности (14) и (15) являются несовместными, поэтому, согласно теореме несовместных событий, вероятность их возникновения будет высчитываться по формулам

$$P_{зт} = P_{зт.н.} + P_{зт.к.} \tag{16}$$

$$P_{зт} = P_{просв} (P_M + \bar{P}_M), \tag{17}$$

где $P_M + \bar{P}_M = 1$.

Таким образом, при упрощении уравнения (17) при данных условиях получаем выражение

$$P_{зт} = P_{просв} \tag{18}$$

или $P_{зт} = 0,25$.

Для оценки вероятности экстравазации Т-лимфоцитов необходимо ввести коэффициент z , характеризующий отношение размеров клетки ВВЭ и Т-лимфоцита:

$$z = \frac{R_T}{R_3} \tag{19}$$

Согласно полученному значению вероятности шанс образования затора в ВВЭ равен 25%. Если применить данное условие к общему количеству ВВЭ, то при наличии в кровотоке только Т-лимфоцитов активно функционирующими являются 75% сосудов.

Таким образом, систему уравнений (4) можно преобразовать, указав значения пропускной способности одного сосуда в новых условиях (13) и (18), (19), для последующих расчетов выразив уравнение через переменные индекса паракортикальной зоны и скорости кровотока:

$$E_{кл} = \frac{P_{зт} \frac{\phi}{z R_3} \frac{1}{V_T} \frac{1}{R_{лу} \sqrt{k_{пз}}} \int_0^{R_{лу} \sqrt{k_{пз}}} \sqrt{R_{лу} \sqrt{k_{пз}} - d'} dd' \frac{S_{лу} k_{пз}}{\pi \left(\frac{D_{ВВЭ}}{2} \right)^2}}{N_{проб}} \tag{20}$$

Итогом проведенной работы стала модель, построенная с применением соотношений площадей анатомических структур лимфатического узла в программной среде Mathcad 14.0, по-

зволяющая проводить анализ работы ЛУ за определенный промежуток времени, в зависимости от ряда переменных параметров, таких как размеры и вариация сферовидной формы

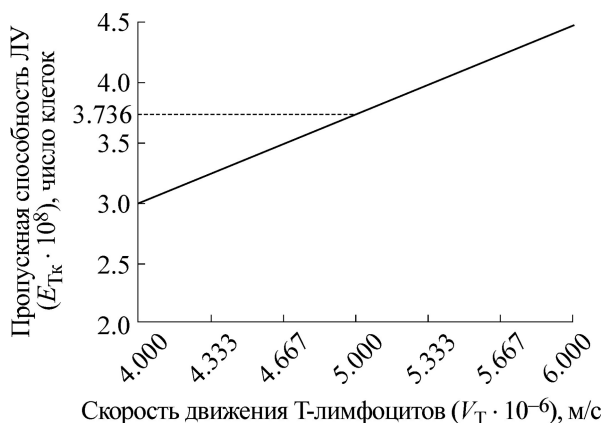


Рис. 4. Зависимость числа проходящих через лимфатический узел за 24 ч Т-лимфоцитов от скорости их движения в ВВЭ. По оси абсцисс – скорость движения Т-лимфоцитов, м/с; по оси ординат – число прошедших Т-лимфоцитов.

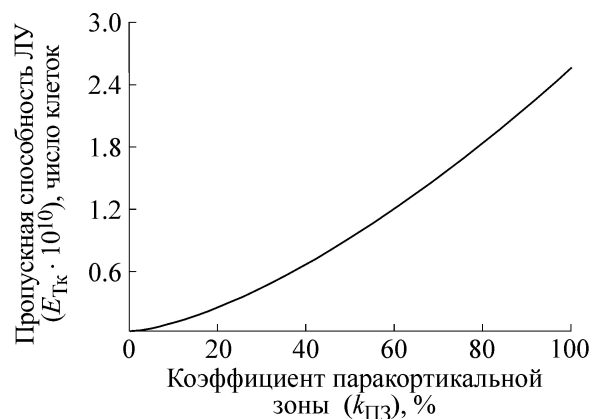


Рис. 5. Зависимость числа проходящих через лимфатический узел за 24 ч Т-лимфоцитов от значения коэффициента $K_{ПЗ}$. По оси абсцисс – значение $K_{ПЗ}$, по оси ординат – число прошедших Т-лимфоцитов.

ЛУ, коэффициентов площади паракортикальной зоны и длины ВВЭ к венозному руслу, а также скорости кровотока.

РЕЗУЛЬТАТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ

На рис. 4 представлены результаты моделирования суточной пропускной способности лимфатического узла в зависимости от скорости движения Т-лимфоцитов. Как видно из приведенных данных, при скорости движения Т-лимфоцитов, равной 5 мкм/с, за 24 ч через один ЛУ может пройти примерно $3,74 \cdot 10^8$ клеток, что уже хорошо соответствует общему числу клеток в организме человека. При этом условиями такой проходимости ЛУ для Т-лимфоцитов являются коэффициент паракортикальной зоны ЛУ, равный 0,6, а участок ВВЭ должен составлять 30% от общей длины вены. Теоретически такие значения обоих коэффициентов ($K_{ПЗ}$ и $K_{ВВЭ}$) возможны, но доля площади паракортикальной зоны к общей площади среза ЛУ в 60% может быть лишь в искусственных условиях, при длительном пребывании организма в стерильных условиях, что приводит к уменьшению размеров первичных и вторичных В-клеточных фолликулов и, следовательно, уменьшению площади коркового вещества лимфатического узла [2]. Следовательно, в реальных условиях площадь паракортикальной зоны меньше, что уменьшает число связанных с ней ВВЭ и общую суточную пропускную способность ЛУ для Т-лимфоцитов.

Тем не менее модель позволяет провести оценку числа Т-лимфоцитов, проходящих через ЛУ при скорости движения 5 мкм/с и различных значениях $K_{ПЗ}$ (рис. 5). Из приведенных на рис. 5

данных видно, что предусмотренное теорией число Т-клеточных клонов, равное $3 \cdot 10^{10}$, не может пройти через один ЛУ даже в случае, если вся поверхность сечения ЛУ представлена одной паракортикальной зоной, т.е. показатель $K_{ПЗ} = 1$. При значении $K_{ПЗ}$, равном 0,6, максимально возможное число Т-лимфоцитов, прошедших через ЛУ, составит около $1,2 \cdot 10^{10}$, при этом объем одной только паракортикальной зоны будет равен 3,14 см³, число ВВЭ при заполнении ими всего пространства паракортикальной зоны составит 875 венул на один узел, а общая длина всех ВВЭ составит более 4 м (на основании формул 6, 8 и 20).

При этом, если в процессе моделирования отталкиваться не от скорости движения Т-лимфоцитов в ВВЭ, а от числа клонов Т-лимфоцитов, которые должны пройти через ЛУ за 24 ч, равного $3 \cdot 10^{10}$ согласно данным [6], то скорость движения клеток в ВВЭ должна составлять около $4 \cdot 10^{-4}$ м/с, т.е. примерно 400 мкм/с (рис. 6). Иными словами, за одну секунду Т-лимфоцит должен преодолевать 35–40 своих диаметров, что делает совершенно невероятным распознавание адгезионных молекул (маркеров) на поверхности клеток ВВЭ и противоречит прямым экспериментальным данным [8].

Тогда максимальная суточная пропускная способность одного ЛУ, имеющего ВВЭ диаметром 30 мкм при общей теоретической длине, при равномерном поступательном движении Т-лимфоцита со скоростью 5 мкм/с без учета их остановки для миграции в ткань по результатам расчетов по формулам (2) и (3) составляет $5,76 \cdot 10^4$ Т-лимфоцитов, что отличается от теоретических предсказаний в 10^7 раз. В этом

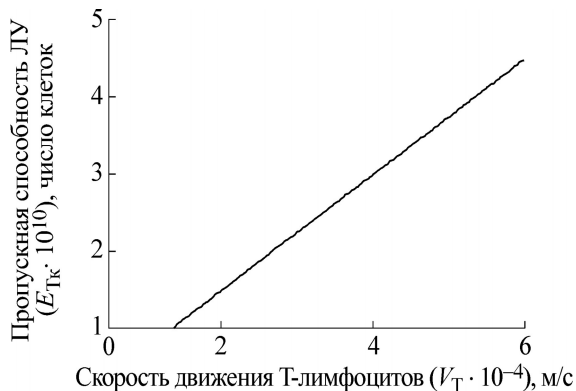


Рис. 6. Оценка скорости движения Т-лимфоцитов в ВВЭ для прохождения через ЛУ теоретического числа Т-клеточных клонов за 24 ч. По оси абсцисс — скорость движения Т-лимфоцитов, м/с; по оси ординат — число прошедших Т-лимфоцитов.

случае каждую секунду в ЛУ через ВВЭ выходит всего один Т-лимфоцит.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ еще раз подтвердил перспективность использования методов математического моделирования для анализа развития иммунных реакций [11]. Результаты серии численных экспериментов указывают на слишком высокий уровень экстравазации Т-лимфоцитов в ЛУ, основанный на ключевых положениях клонально-селекционной теории, не учитывающей анатомических размеров и гистологической организации лимфатического узла. Даже рассчитанное число Т-лимфоцитов, способных выйти в ЛУ через ВВЭ за одну секунду, равное максимально одной Т-клетке, оказывается слишком высоким, поскольку не учитывает нахождения в кровотоке других форменных элементов, что существенно снизит пропускную способность венул с высоким эндотелием. В рамках данного анализа ввиду огромного числа предсказываемых теорий клонов Т-клеток было принято, что каждый клон представлен всего одной Т-клеткой, что не соответствует другим положениям клонально-селекционной теории. Кроме того, также не принято

во внимание, что способностью к миграции в периферические лимфоидные органы через ВВЭ обладают только наивные (неактивированные) Т-лимфоциты, составляющие около 40% общего Т-клеточного пула, поэтому для обеспечения иммунного надзора путем прохождения через каждый лимфатический узел всей совокупности клонов требуется транспорт по ВВЭ еще большего числа Т-лимфоцитов. Проведенные математический анализ и моделирование очередной раз подтверждают уязвимость для критики ключевых положений клонально-селекционной теории и концепции перманентной миграции Т-лимфоцитов через периферические лимфоидные органы, что заставляет вернуться к рассмотрению иных механизмов формирования репертуара рецепторов иммунокомпетентных клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 1326) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-04-05093).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. П. Лозовой, в кн. *Проблемы и перспективы современной иммунологии. Методологический анализ* (Наука, Новосибирск, 1988), сс. 3–14.
2. Ф. Бернет, *Клеточная иммунология* (Мир, М., 1971).
3. М. М. Davis and P. J. Bjorkman, *Nature* **334**, 395 (1988).
4. D. J. Laydon, C. R. M. Bangham, and B. Asquith, *Phil. Trans. R. Soc. B* **370**, 20140291 (2015).
5. E. Bianconi, A. Piovesan, F. Facchin, et al., *Ann. Hum. Biol.* **40** (6), 463 (2013).
6. C. G. Fathman and J. G. Frelinger, *Ann. Rev. Immunol.* **1**, 633 (1983).
7. А. А. Ярилин, *Иммунология* (ГЭОТАР-Медиа, М., 2010).
8. A. Woodfin, M. B. Voisin, M. Beyrau, et al., *Nat Immunol.* **12**, 761 (2011).
9. G. Kraal, A. M. Duijvestijn, and H. H. Hendriks, *Exp Cell Biol.* **55** (1), 1 (1987).
10. J. P. Girard and T. A. Springer, *Immunol. Today* **16** (9), 449 (1995).
11. Г. А. Бочаров, В. А. Черешнев, Т. Б. Лузянина и др., *Технологии живых систем* **6** (7), 4 (2009).

Modelling of T-Lymphocyte Extravasation into the Lymph Node: from Morphological Basics towards Clonal Selection Theory

A.V. Bondar*, J.P. Gumovskaya*, and A.V. Polevshchikov* **

**School of Biomedicine, Far Eastern Federal University, ul. Sukhanova 8, Vladivostok, 690950 Russia*

***Institute of Experimental Medicine, ul. Akademika Pavlova 12, St. Petersburg, 197376 Russia*

We developed a model of T-lymphocyte extravasation into the lymph node through high endothelial venules during an immune response. The model specifically takes into account the histological structure and morphometric parameters of the lymph node and its venules, the presence of adhesion molecules on the endothelial cells, and the rate of T-lymphocyte movement, all this in comparison with the key principles of clonal selection theory of immune surveillance. It was demonstrated that lymph node venules cannot provide trafficking across the node of the required number of T-lymphocytes, which are necessary for sustained immune surveillance according to the current immunological theory. This allows raising the questions of reconsideration of the adopted concepts of T-lymphocyte specificity development and relevance of clonal selection theory.

Key words: clonal selection theory of immunity, lymph node, T-lymphocyte migration, high endothelial venules, mathematical modelling