

Государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего профессионального образования

«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ

МЕДИЦИНСКИЙ

УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»

МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАФЕДРА ИММУНОЛОГИИ

2 ЦИКЛ - КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

ЗАНЯТИЕ № 9

ИММУНИТЕТ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК

фронтальный опрос -вопросы

1. Что такое компартменты иммунной системы?
2. Каковы особенности строения и функционирования барьерных тканей организма?
3. Что такое MALT, GALT, BALT, NALT ?
4. Какие клетки участвующих в реализации механизмов мукозального иммунитета?
5. Что такое микробиота?
6. Какие Вам известны типы взаимоотношений между макроорганизмом и микроорганизмами?
7. Каковы, на Ваш взгляд, особенности функционирования мукозальной иммунной системы по сравнению с центральными механизмами защиты?
8. Каков биологический смысл феномена хоминга?
9. Какие пути вакцинации вам известны?
0. Каков способ образования и какова роль секреторного иммуноглобулина класса А в защите слизистых оболочек?

Рассматриваемые вопросы:

- ▶ Основные компартменты иммунной системы.
- ▶ Циркуляция лимфоцитов: рецепторы хомминга и адресины, пути вакцинации.
- ▶ Особенности функционирования иммунной системы слизистых оболочек.
- ▶ Микробиота и иммунитет.
- ▶ Нормальная микрофлора и механизмы создания иммунологической толерантности.
- ▶ Акцептивный иммунитет и защита от патогенов.

Компартменты иммунной системы

- ▶ Иммунная система расположена повсеместно в организме и решает основную задачу – поддержание антигенного постоянства макроорганизма на протяжении всей его жизни.
- ▶ В составе иммунной системы выделяют ряд различных анатомических компартментов, каждый из которых специально адаптирован для осуществления иммунного ответа на конкретные антигены, наиболее часто встречающиеся в данном компартменте.
- ▶ Общими компартментами, в которых развивается иммунный ответ на проникающие в ткани организма или в кровь антигены, является система лимфатических узлов и селезенка.
- ▶ Другим не менее важными компартментом является иммунная система, ассоциированная со слизистыми оболочками (MALT), в которой развивается иммунный ответ на большое число антигенов, преимущественно проникающих в организма через эти барьерные ткани.

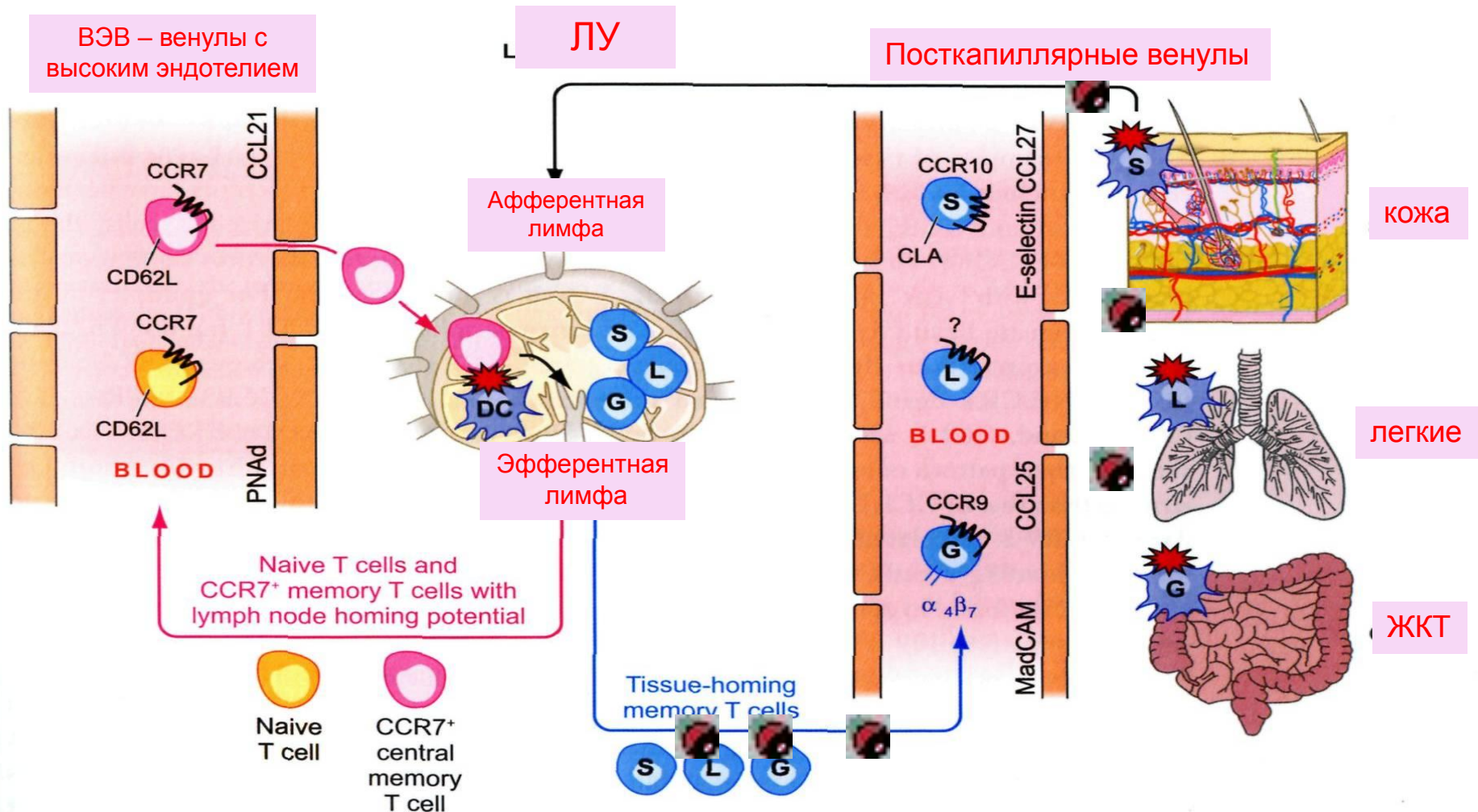
Компартменты иммунной системы

- ▶ Третьим – не менее важным компартментом - является иммунная система, ассоциированная с кожей (SALT, skin associated lymphoid tissue), отвечающая на антигены, проникающие через эту барьерную ткань.
- ▶ Четвертым компартментом иммунной системы являются полости тела –перитонеальная и плевральная.
- ▶ Механизмы иммунной защиты во всех перечисленных компартментах имеют как общие закономерности, так и отличительные особенности.
- ▶ В каждом компартменте развиваются иммунные ответы, которые осуществляются лимфоцитами, рециркулирующими именно в эти компартменты с помощью механизма взаимодействия молекул хоминга на лимфоцитах и адресинов конкретной ткани.

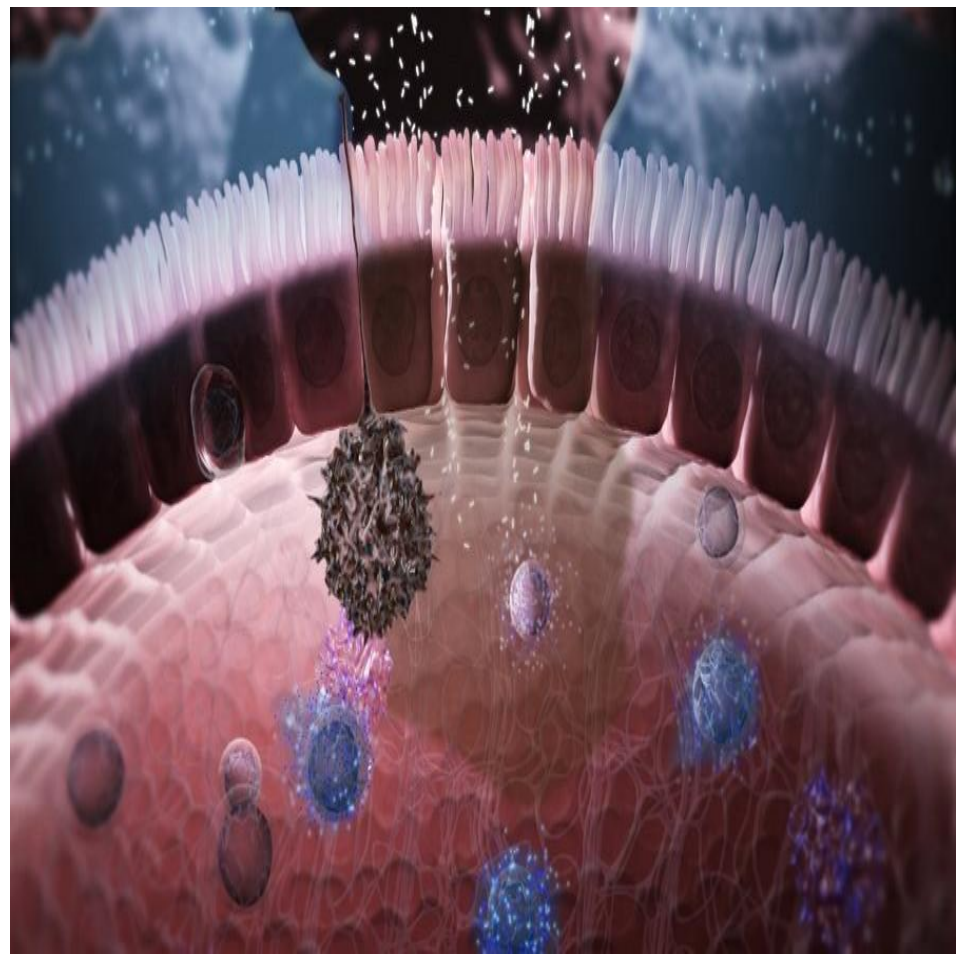
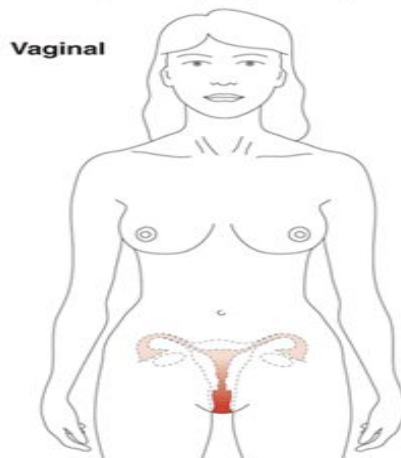
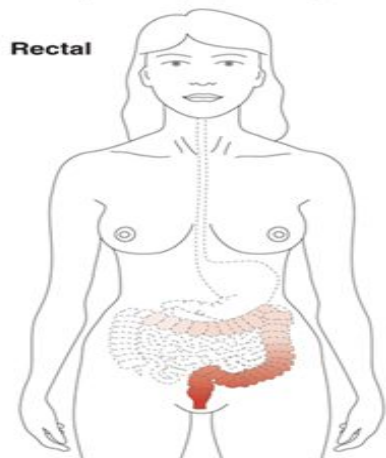
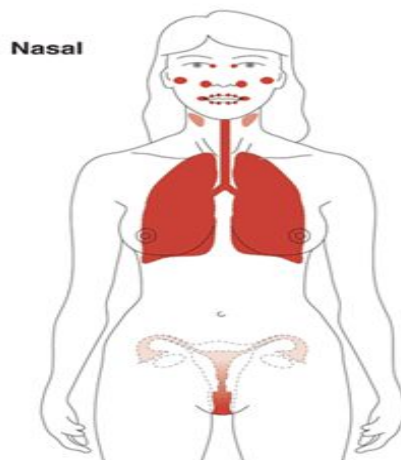
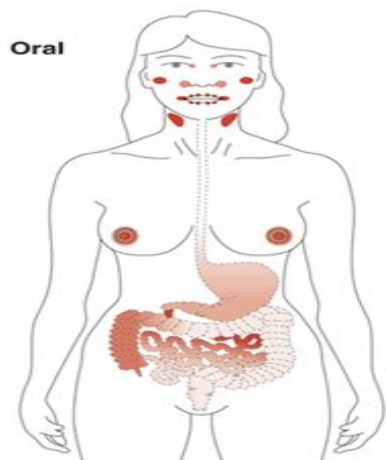
Компартменты иммунной системы и феномен хоминга лимфоцитов

- ▶ Градиент хемокинов и экспрессия хемокиновых рецепторов – важный механизм передвижения клеток в различные компартменты иммунной системы.
- ▶ Отмена экспрессии рецепторов хемокинов – важный этап в создании резидентных популяций клеток.
- ▶ Феномен хоминга: лимфоциты всегда возвращаются в те компартменты, где они были активированы антигеном, с помощью экспрессии рецепторов хоминга, которые связываются с лигандами, называемыми адресинами.
- ▶ Адресины являются специфическими молекулами для каждого компартмента.
- ▶ Экспрессия на поверхности лимфоцитов молекул хоминга - специфических адгезивных молекул, позволяет им рециркулировать предпочтительно обратно в ткани, в которых они были впервые активированы:
 - ▶ молекулы CCR7, L-селектин, CXCR+, CCR-5, $\alpha 4\beta 7$ /CCR9 обеспечивают хоминг в кишку;
 - ▶ взаимодействие молекул CLA/CCR4(где CLA - кожный лимфоцитарный антиген) – обеспечивает хоминг в кожу.

Миграция Т-клеток памяти в кожу, легкие и кишечник :
 Т-клетки памяти сохраняют экспрессию молекул хоминга,
 соответствующих месту, где они возникли

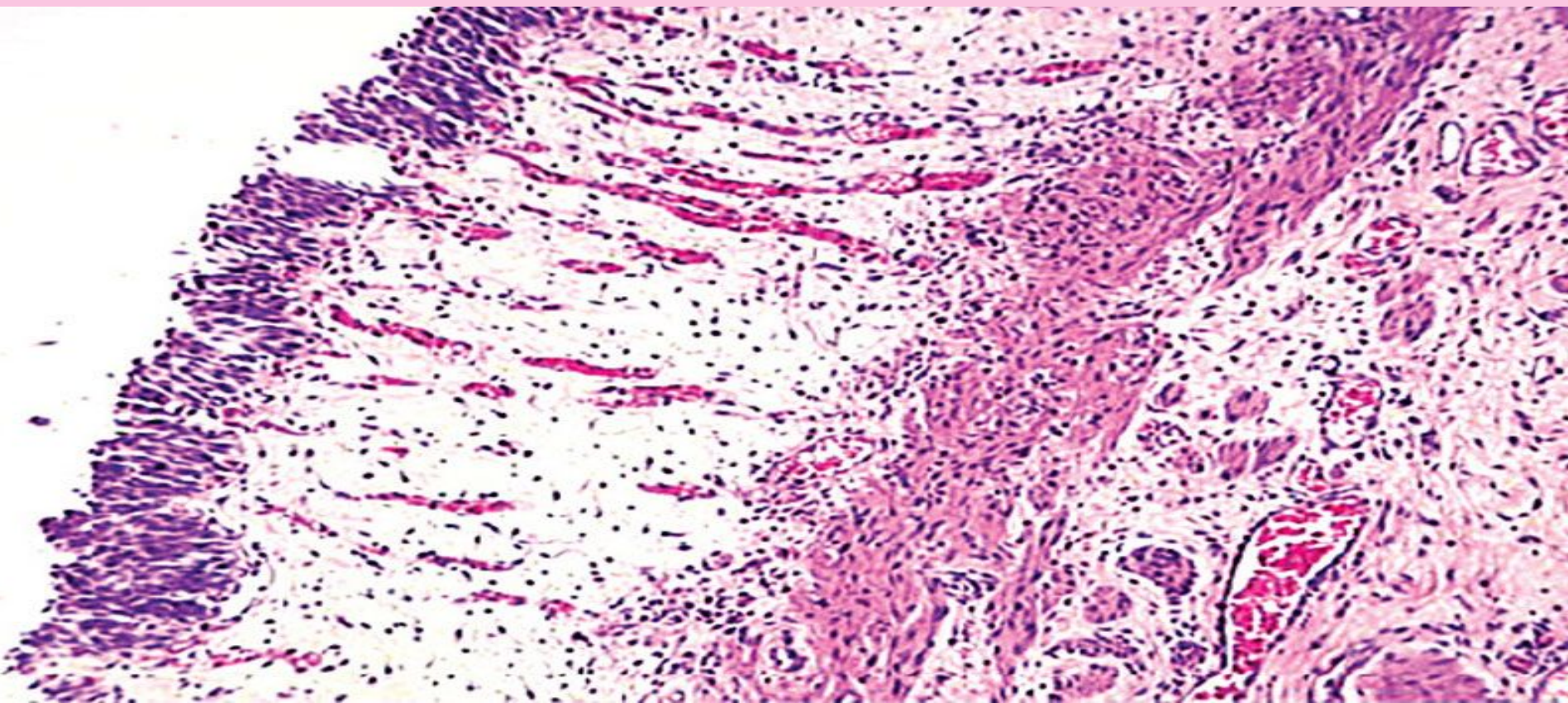


Пути вакцинации с учетом феномена хоминга лимфоцитов



Пример концепции компартиментализации иммунной системы

Иммунная система слизистых оболочек



Иммунная система слизистых

- ▶ Основана на лимфоидной ткани, связанной со слизистыми оболочками (MALT), включающей лимфоидные ткани кишечника (GALT), бронхов (BALT) и носоглотки (NALT), а также молочной, слюнных, слезных желез и мочеполовых органов.
- ▶ Лучше всего изучена система GALT, которая представлена организованными лимфоидными образованиями, включающими Пейеровы бляшки, аппендикс, мезентериальные лимфоузлы и солитарные лимфоузлы.
- ▶ Пейеровы бляшки содержат зародышевые центры, представленные преимущественно В-клетками, превращающимися в плазматические клетки, продуцирующие IgA, и зоны, содержащие преимущественно Т-клетки.

- ▶ В отличие от других компартментов слизистые оболочки являются излюбленным местом входа инфекционных агентов в организм.

Это связано с их морфологическими особенностями:

слизистые оболочки являются тонкими и проницаемыми барьерами, поскольку они осуществляют такие физиологические функции, как:

- ▶ газообмен (легкие),
- ▶ абсорбция пищи (кишка),
- ▶ сенсорные функции (глаза, нос, рот, глотка),
- ▶ репродуктивные функции (половая

Особенности слизистых оболочек

- ▶ Слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) постоянно подвергается воздействию антигенов пищи. Перед иммунной системой, ассоциированной с ЖКТ, стоят сложные задачи:
 - ▶ не развивать иммунные ответы на пищевые антигены,
 - ▶ распознавать и элиминировать патогенные бактерии, проникающие в ЖКТ.
- ▶ Все слизистые оболочки имеют симбиотические отношения с бактериями-комменсалами.
- ▶ Задача иммунной системы, ассоциированной со слизистыми: не развивать иммунный ответ на бактерии, которые приносят пользу макроорганизму, несмотря на то, что эти бактерии являются носителями генетически чужеродной информации.

И.И.Мечников

▶ «Обильная и разнообразная микрофлора кишечника такой же орган, как печень и сердце. Она требует тщательной и подробной разработки, так как в ней могут существовать полезные, вредные и безразличные бактерии»

▶ И.И Мечников

▶ 1907 год

В 1907 г. И.И. Мечников писал о том, что многочисленные ассоциации микробов, населяющих кишечник человека, в значительной мере определяют его **духовное и физическое здоровье**. И. И. Мечников доказал, что кожа и слизистые человека покрыты в виде перчатки биопленкой, состоящей из сотен видов микробов.

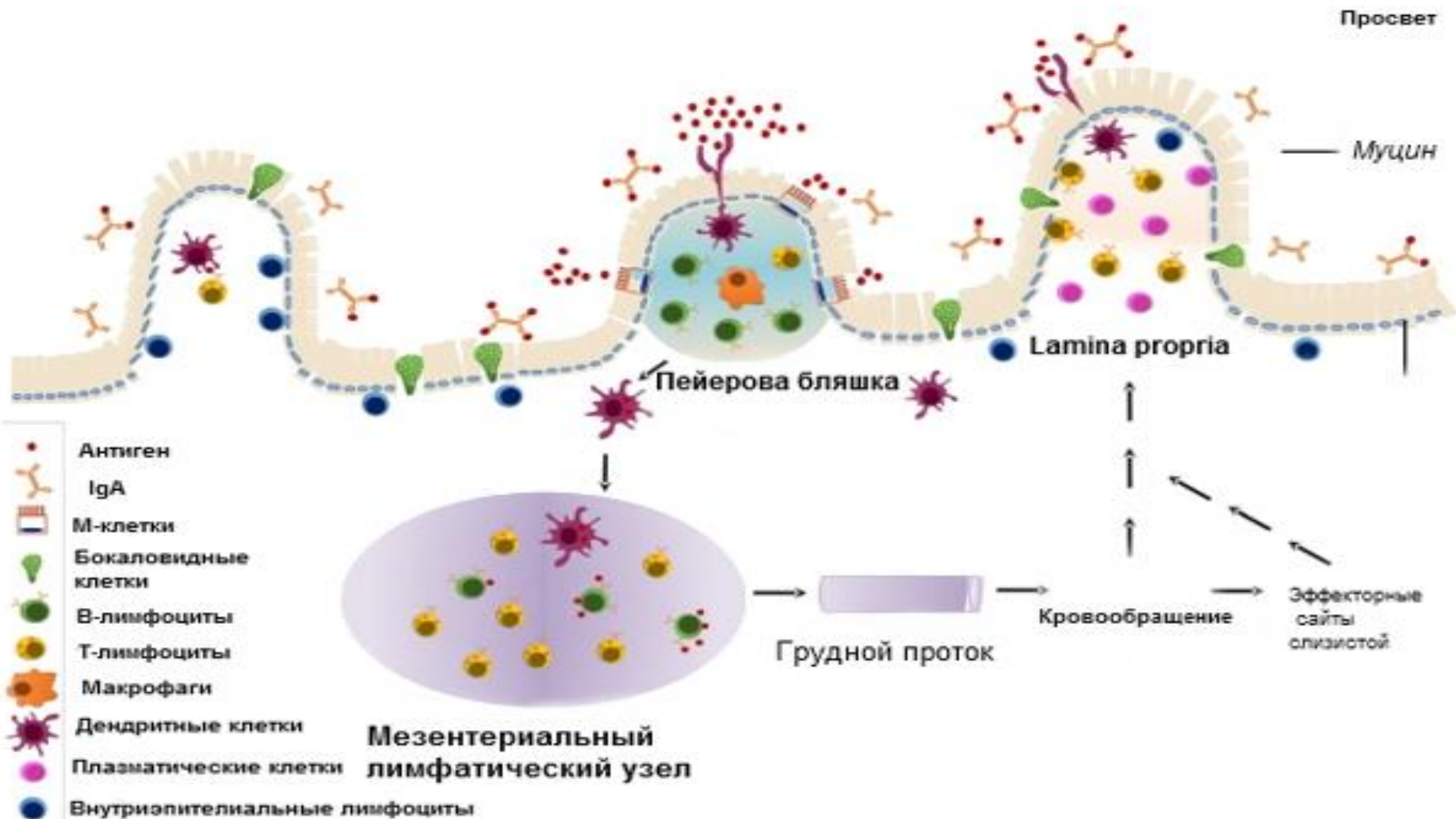
Иммунная система, ассоциированная со слизистой ЖКТ

Иммунная система, ассоциированная со слизистой желудочно-кишечного тракта, называется

GALT –gut-associated lymphoid tissue:

- ▶ Окологлоточное кольцо.
- ▶ Пейеровы бляшки в тонкой кишке.
 - ▶ Аппендикс.
- ▶ Единичные фолликулы в толстой кишке.

ЖКТ: Пейеровы бляшки



Специализированные М – клетки (Microfold cells)

- ▶ М-клетки формируют «поверхностный слой иммунной системы», ассоциированной со слизистой в пределах Пейеровой бляшки.
- ▶ М-клетки расположены в эпителиальной выстилке кишечника.
- ▶ Число М-клеток намного меньше, чем энтероцитов.
- ▶ М-клетки не способны к синтезу слизи, имеют тонкий поверхностный гликокаликс, это позволяет им прямо контактировать с антигенами в просвете кишки.
- ▶ М-клетки способны к эндоцитозу и фагоцитозу антигенов из просвета кишки.
- ▶ После эндоцитоза/фагоцитоза антигенный материал в специальных везикулах транспортируется к базальной поверхности М – клетки.
- ▶ Этот процесс называется **ТРАНСЦИТОЗ**.

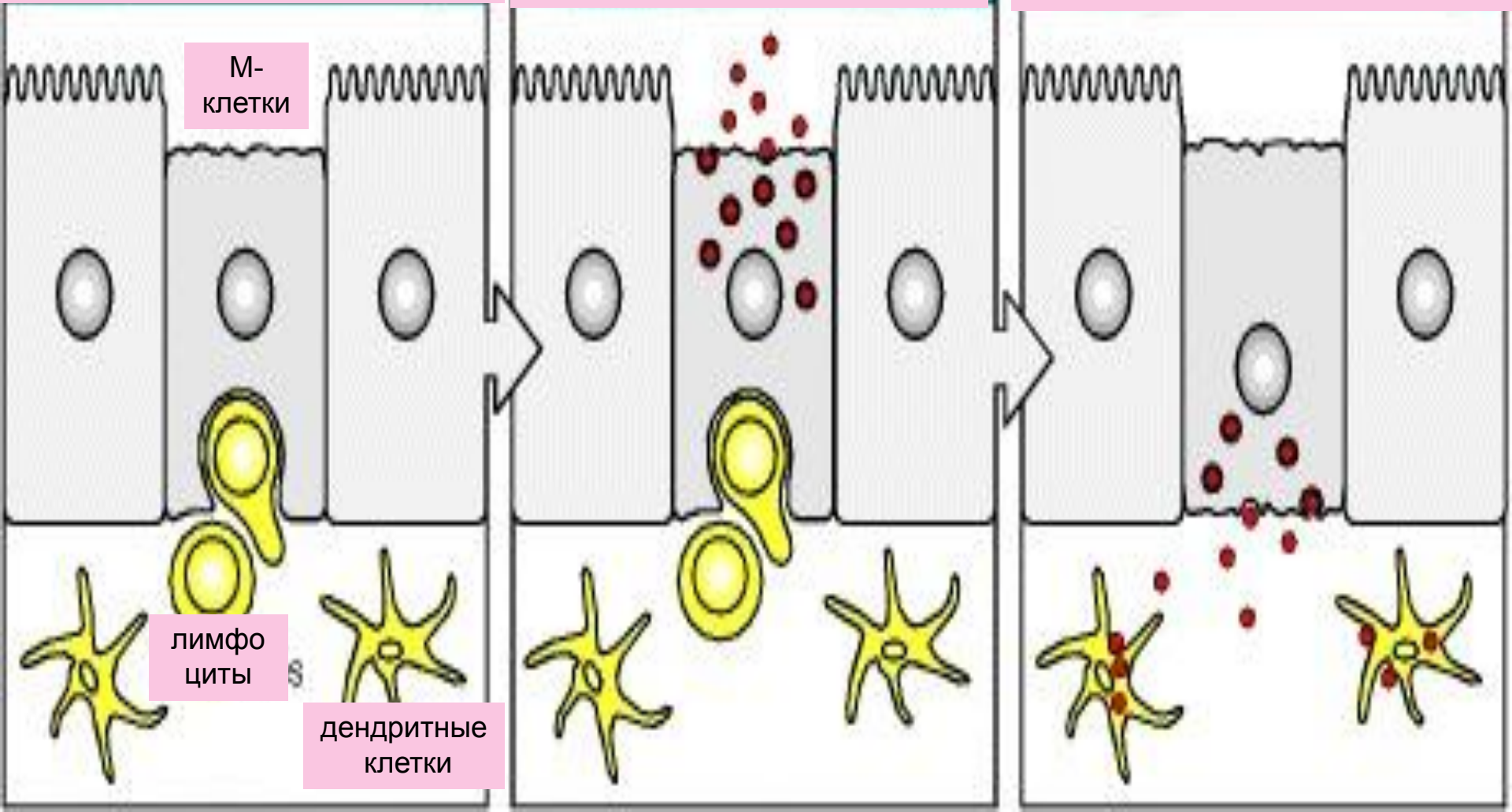
Специализированные М – клетки (Microfold cells)

- ▶ Трансцитоз антигена в везикулах к базальной поверхности М-клетки заканчивается экзоцитозом антигенного материала из М-клетки в подслизистом слое.
- ▶ В пределах Пейеровой бляшки у базальной поверхности всех М-клеток присутствуют лимфоциты и антигенпрезентирующие клетки (АПК).
- ▶ Антигенпрезентирующие дендритные клетки эндоцитируют антиген, освобождаемый из М-клеток.
- ▶ Дендритные клетки осуществляют процессинг антигена, захваченного из просвета кишки М-клетками, после этого презентуют антигенные фрагменты в молекулах МНС лимфоцитам.

М-клетки расположены между энтероцитами, находятся в контакте с субэпителиальными лимфоцитами и ДК

М-клетки захватывают антигены из просвета ЖКТ с помощью эндоцитоза

М-клетки осуществляют трансцитоз антигена, антиген захватывается дендритной клеткой



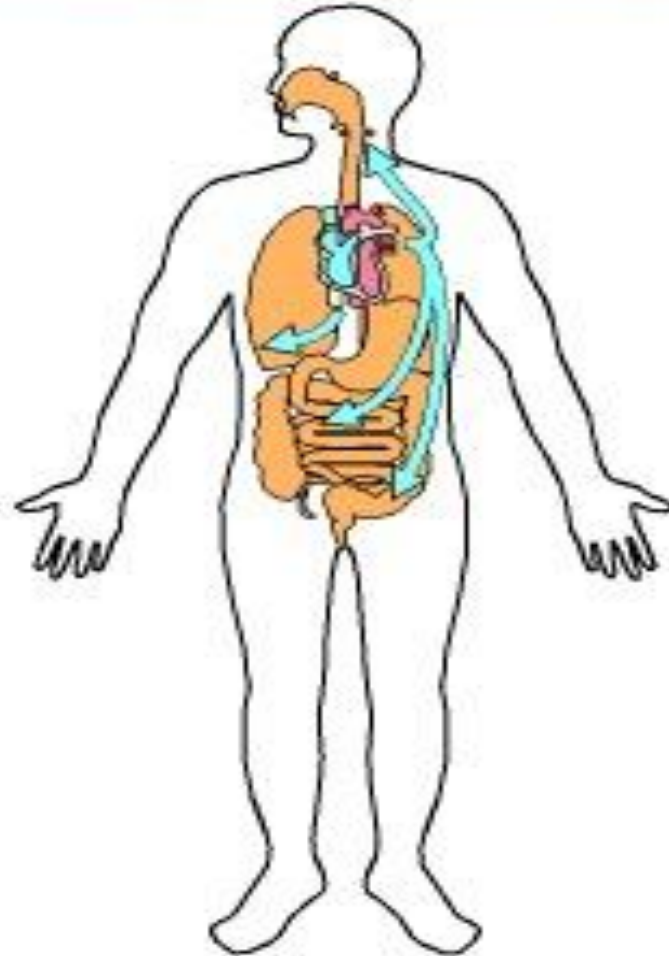
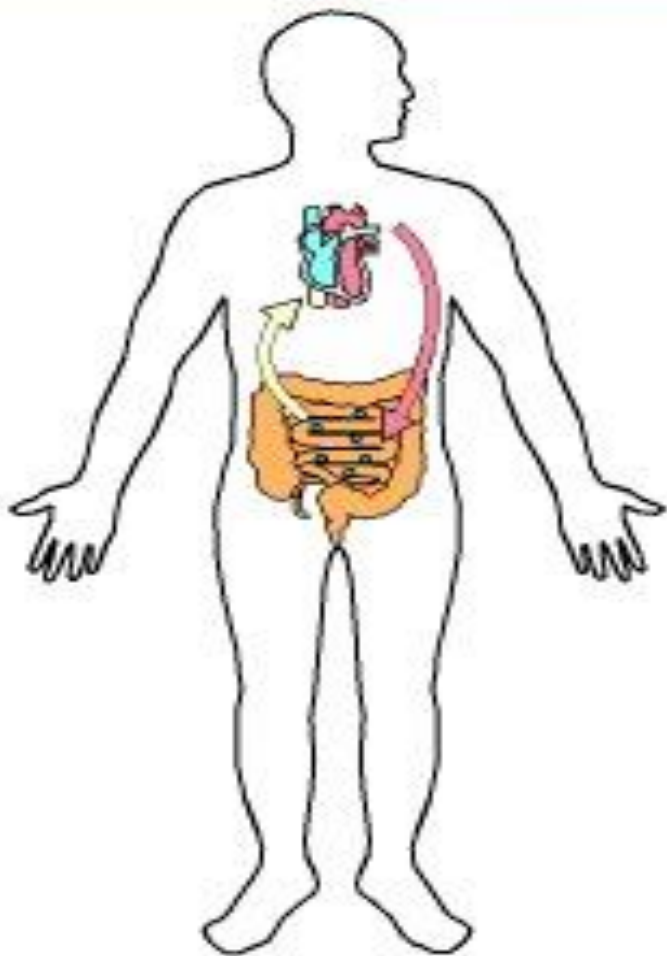
В MALT присутствуют лимфоциты разных ТИПОВ

- ▶ Кроме лимфоцитов, сфокусированных в Пейеровых бляшках, небольшое число лимфоцитов и плазматических клеток могут мигрировать через lamina propria стенки кишки.
 - ▶ История жизни этих клеток :
- ▶ В качестве наивных лимфоцитов они из центральных органов – костного мозга и тимуса - мигрируют в индуктивные органы и ткани.

Лимфоциты с током лимфы
через
лимфатические узлы
возвращаются в кровь

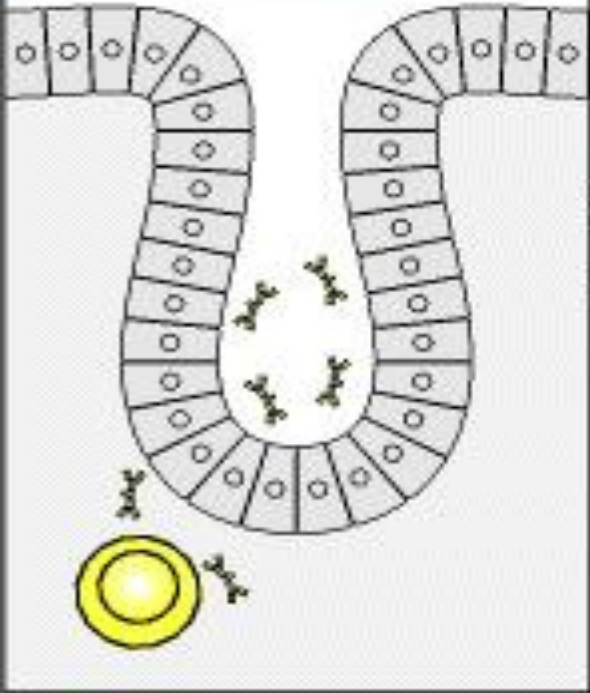
Наивные лимфоциты
входят в слизистые
из периферической
крови

Эффекторный лимфоциты заселяют MALT
ЖКТ, уrogenитального тракта, бронхолегочной
системы, аденоидов, тонзилл

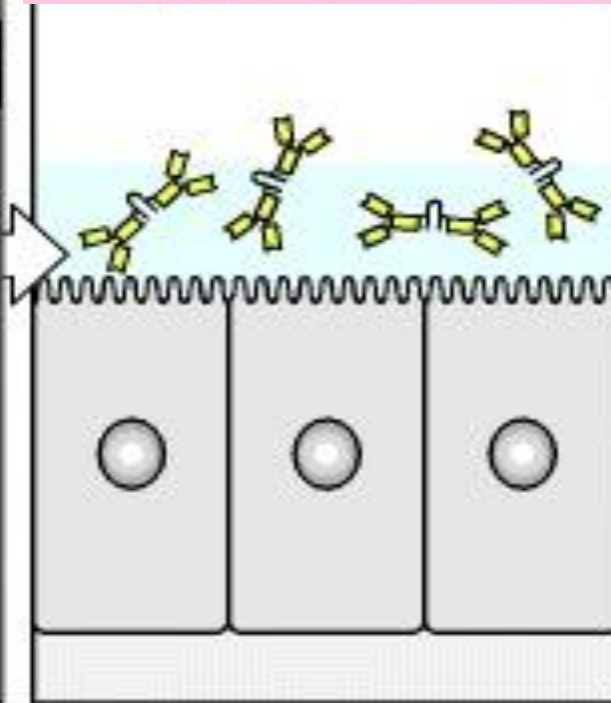


Антигены патогенных микроорганизмов
переносятся в MALT

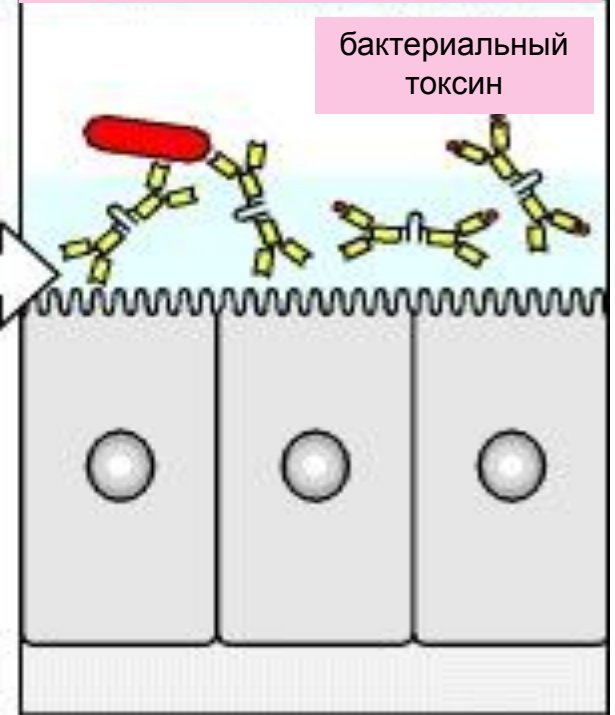
IgA
транспортируется в
просвет кишки
через эпителий



Секреторный IgA
связывается
со слоем слизи,
покрывающей
эпителий ЖКТ



Секреторный IgA
нейтрализует
патогены и их
ТОКСИНЫ



Секреторный иммуноглобулин А – роль в защите слизистых оболочек

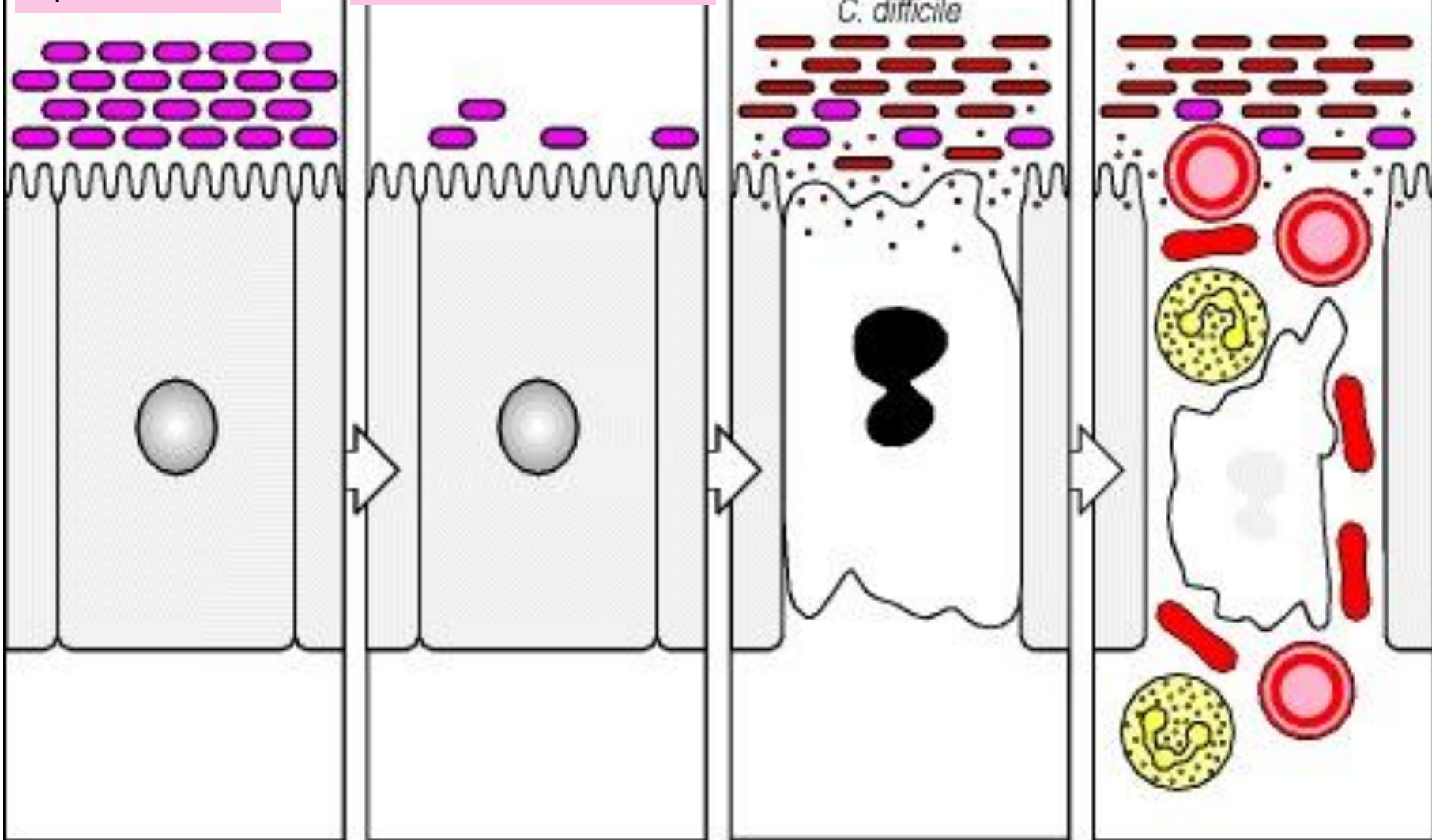
В толстой кишке
существует
большое число
колоний
комменсалов

Антибиотики
убивают
большинство
комменсалов

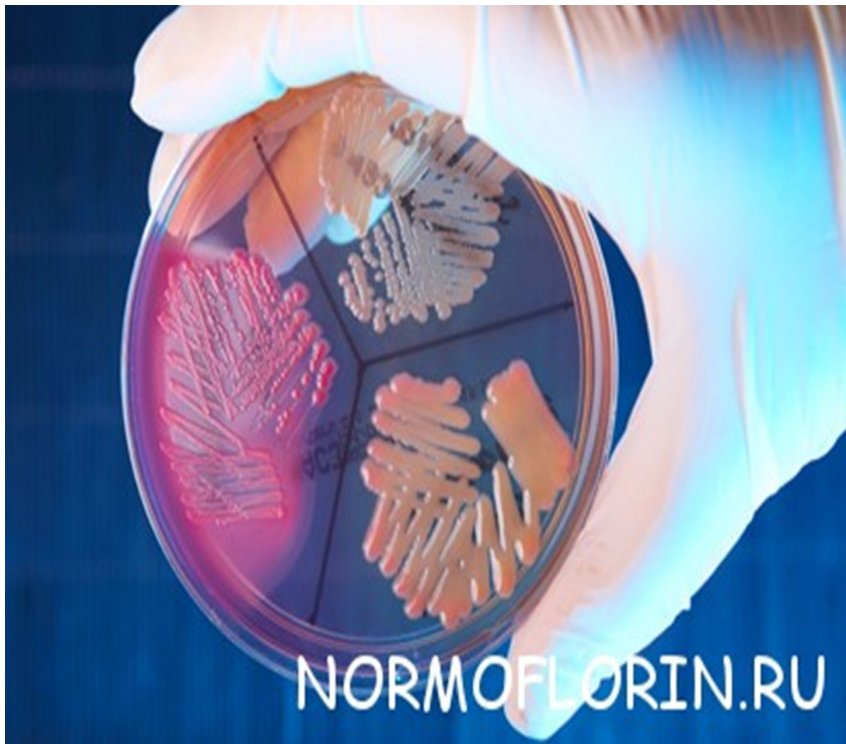
Начинают
размножаться
патогены,
и их токсины
повреждают слизистую
кишки

Нейтрофилы и
эритроциты
входят в просвет кишки
между поврежденными
эпителиальными клетками

Просвет кишки



Микробиота нормофлора



- ▶ Микробиота – эволюционно сложившееся сообщество разнообразных микроорганизмов, населяющих открытые полости организма человека, определяющее – биохимическое, метаболическое и иммунологическое равновесие макроорганизма
- ▶ (Т. Rosebury «Microorganisms Indigenous to Man», N.Y., 1962).

Роль микробиоты в развитии иммунной системы и кишечного эпителия у детей

Бактерии участвуют в развитии и поверхностной дифференцировке эпителия, в развитии капиллярной сети ворсинок.

Продукты нормальной микробиоты влияют на созревание иммунной системы ребенка, формирование полноценной GALT.

От продуктов нормальной микрофлоры зависит:

- ▶ размер Пейеровых бляшек и мезентериальных лимфоузлов.
- ▶ Развитие в них зародышевых центров.
- ▶ Интенсивность синтеза иммуноглобулинов.

Микробиота ЖКТ: количественные характеристики

ЖКТ

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) человека заселен огромным количеством микроорганизмов - около 500 различных видов общей массой 1,5-3,0 кг, которые по численности приближаются к количеству клеток человеческого организма.

Ротовая полость

В ротовой полости количество микроорганизмов невелико и составляет от 0 до 10 в 3 степени КОЕ на миллилитр содержимого, быстрое движение пищевых масс и выделение желчи и сока поджелудочной железы ограничивают размножение бактерий в верхних отделах желудочно-кишечного тракта.

В нижних отделах желудочно-кишечного тракта число микроорганизмов значительно больше.

Толстая кишка

В толстой кишке не наблюдается ни быстрого движения пищевых масс, ни выделения сока желчи и поджелудочной железы, поэтому в этом отделе желудочно-кишечного тракта количество бактерий достигает 10 в 13 степени КОЕ на миллилитр.

Распределение видов микроорганизмов в разных отделах желудочно-кишечного тракта

- ▶ В верхнем и среднем отделах тонкой кишки популяция микроорганизмов сравнительно небольшая и включает преимущественно :
 - ▶ грамположительные аэробные бактерии,
 - ▶ небольшое число анаэробных бактерий,
 - ▶ дрожжевые и др. виды
- ▶ В толстой кишке обитает основная масса анаэробных микроорганизмов.
 - ▶ "Главную популяцию" (около 70 %) составляют анаэробные бактерии - бифидобактерии и бактероиды.
 - ▶ В качестве "сопутствующих" выступают лактобациллы, кишечная палочка, энтерококки.

Симбиозы



Симбиоз

Большая часть микрофлоры (микробиоценоза) представляют микроорганизмы, которые сосуществуют с человеком на основе симбиоза (взаимной выгоды):

- ▶ Такие микроорганизмы получают от человека пользу (в виде постоянной температуры и влажности, питательных веществ, защиты от ультрафиолета и так далее).
- ▶ В то же время эти бактерии сами приносят пользу, синтезируя витамины, расщепляя белки, соперничая с болезнетворными микроорганизмами и выживая их со своей территории.

- ▶ Все микроорганизмы участвуют во внутрипросветном пищеварении, в частности, переваривание пищевых волокон (целлюлозы), ферментативном расщеплении белков, углеводов, жиров и в процессе обмена веществ.
- ▶ Основной представитель анаэробной кишечной микрофлоры - бифидобактерии - вырабатывают аминокислоты, белки, витамины В1, В2, В6, В12, викасол, никотиновую и фолиевую кислоты.

Функции микроорганизмов в разных отделах желудочно-кишечного тракта

Один из видов кишечной палочки:

вырабатывает несколько витаминов (тиамин, рибофлавин, пиридоксин, витамины В12, К, никотиновую, фолиевую, пантотеновую кислоты).

- ▶ участвует в обмене холестерина, билирубина, холина, желчных и жирных кислот.
- ▶ влияет на всасывание железа и кальция.



Микроорганизмы в желудочно-кишечном тракте

▶ Продуктами жизнедеятельности молочнокислых бактерий (бифидобактерии, лактобацилл) и бактериоидов являются молочная, уксусная, янтарная, муравьиная кислоты. Это обеспечивает поддержание показателя внутрикишечного pH 4,0-3,8, благодаря этому тормозится размножение болезнетворных и гнилостных бактерий.

Представители нормальной кишечной микрофлоры вырабатывают вещества с антибактериальной активностью :

- ▶ бактериокины
- ▶ короткоцепочечные жирные кислоты
- ▶ лактоферрин
- ▶ ЛИЗОЦИМ.

Микробиота и иммунитет

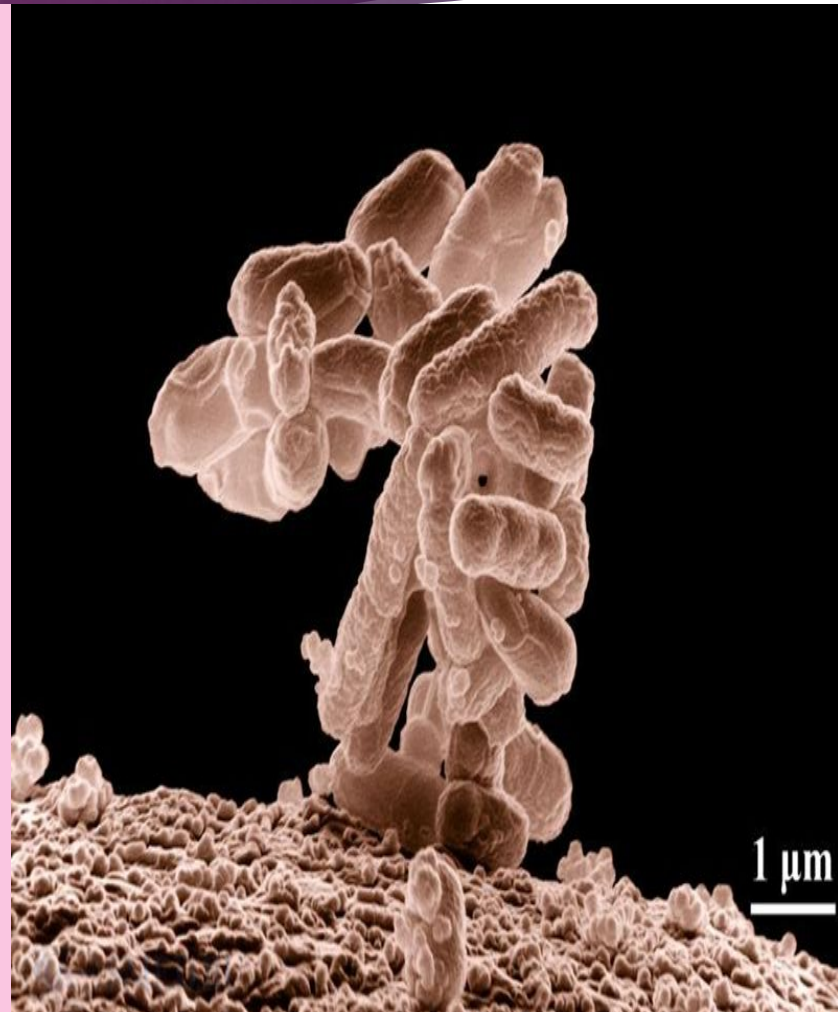
Нормальная микробиота представляет собой большое число чужеродных молекул (антигенов и паттернов), которые способна распознавать иммунная система.

Почему же иммунная система не осуществляет защитные функции в отношении микробиоты и не элиминирует ее?

За 200 миллионов лет совместной коэволюции макроорганизма и микроорганизмов была выработана особая форма иммунного ответа, называемая **пероральной толерантностью** или **акцептивным иммунитетом**.

Избыточный бактериальный рост в кишечнике -причины

При различных состояниях, сопровождающихся нарушением переваривания и всасывания пищи (врожденный дефицит ферментов, панкреатит, глютеновая энтеропатия, энтериты), невсосавшиеся питательные вещества служат питательной средой для избыточного размножения бактерий.



Избыточный бактериальный рост в кишечнике -причины

▶ Применение антибиотиков, кортикостероидов, цитостатиков, особенно у ослабленных и пожилых пациентов, сопровождается изменениями взаимоотношений микрофлоры кишечника и всего организма.

Псевдомембранозный колит

обусловлен избыточным размножением одной из облигатно-анаэробных грамположительных спорообразующих бактерий, обладающей природной устойчивостью к большинству широко применяемых антибиотиков

▶ Избыточное размножение бактерий в тонкой кишке является дополнительным источником воспаления слизистой оболочки, снижающим выработку ферментов (в наибольшей степени - лактазы) и усугубляющим нарушение переваривания пищи и ее всасывания.

▶ Эти изменения обуславливают развитие таких симптомов, как коликообразные боли в околопупочной области, метеоризм и диарея, потеря массы тела.

УПФ - условно-патогенная флора

- ▶ Наряду с полезными бактериями у человека есть «сожители», которые в небольших количествах не приносят существенного вреда, но при определенных условиях становятся болезнетворными.
- ▶ Такую часть микробов называют условно-патогенной микрофлорой.
- ▶ К условно-патогенным микроорганизмам желудочно-кишечного тракта относится практически все семейство Enterobacteriaceae.
- ▶ К ним относятся клебсиелла пневмония, энтеробактеры (аэрогенес и клоацеа), цитробактер фреунди, протеи.
- ▶ Предельно допустимой нормой для семейства энтеробактерий в ЖКТ является показатель в 1000 микробных единиц.

Микроорганизмы ЖКТ



Staphylococcus aureus



Streptococcus pyogenes



Streptococcus pneumoniae



Bacillus cereus



E. coli; Salmonella



Vibrio cholerae



Klebsiella pneumoniae



Bordetella pertussis



Corynebacterium diphtheriae



Helicobacter pylori



Clostridium botulinum



Clostridium tetani

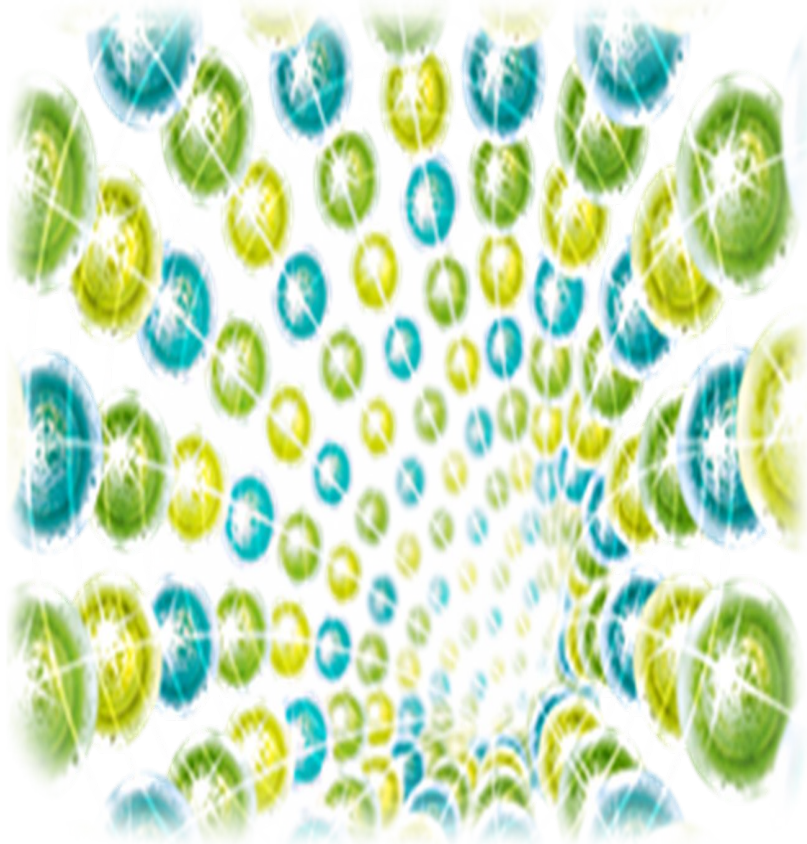
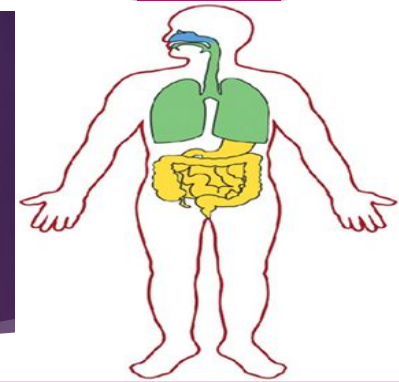


Neisseria meningitidis



Escherichia coli

Человек- «термостат с питательной средой для микроорганизмов» ???



- ▶ Генофонд микрофлоры в организме человека включает более 600 тысяч генов, то в 24 раза превышает генофонд самого человека, насчитывающего 25 000 функционирующих генов.

Все микроорганизмы в ЖКТ- «ЧУЖОЕ» или «СВОЕ»?

- ▶ На всех слизистых оболочках живут бактерии – комменсалы.
- ▶ Иммунная система, ассоциированная со слизистыми оболочками (MALT), постоянно решает вопрос: к каким микроорганизмам нужно поддерживать толерантность, на какие микроорганизмы следует развивать иммунный ответ.
- ▶ Мукозальная иммунная система должна постоянно балансировать – соблюдать равновесие и решать развивать или не развивать иммунный ответ - в зависимости от того:
 - ▶ является ли антиген патогенным или не является;
 - ▶ достигли ли представители УПФ пороговой численности или еще пока не достигли.

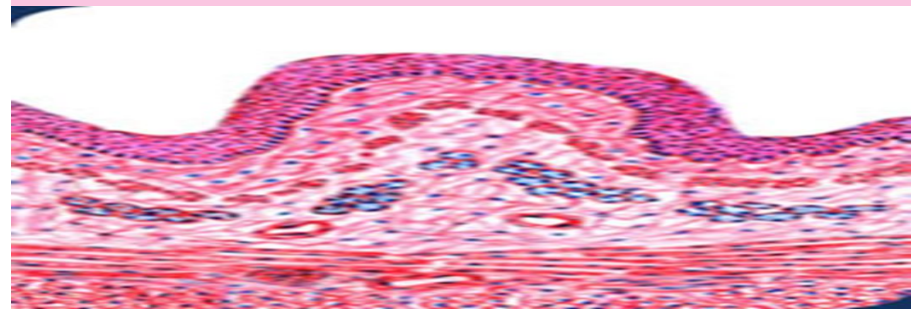
Иммунная система слизистых оболочек решает сложнейшие задачи

Каким образом иммунная система слизистых оболочек может развивать прямо противоположные иммунные ответы в одно и то же время:

Игнорировать ежедневно поступающие в ЖКТ и контактирующие с наружным слоем эпителия антигены (неопасные).

Необходимость своевременного развития сильного воспалительного ответа против потенциально опасных микроорганизмов.

- ▶ Необходимость процессов тонкой регуляции воспаления с целью недопущения повреждения тканей ЖКТ.
- ▶ Необходимость поддержания тканевого гомеостаза для успешного осуществления физиологических механизмов в слизистых.



Акцептивный иммунитет и иммунитет слизистых к патогенам

Акцептивный иммунитет: форма иммунитета, обеспечивающая симбиозные взаимоотношения микроорганизмов и организма-хозяина. Толерантность к симбиотическому виду «чужого»:

- ▶ Распознавание своего и чужого.
- ▶ Не элиминация, а сосуществование с чужеродными микроорганизмами - комменсалами.

Иммунитет слизистых оболочек:

- ▶ Распознавание патогенов и элиминация их.
- ▶ Развитие воспаления.
- ▶ Иммунорегуляция с целью исключения разрушения собственных тканей.
- ▶ Поддержание гомеостаза слизистых оболочек.

Сложные задачи, решаемые в MALT

Патогены	Комменсалы	Регулярно проникающие в ЖКТ пищевые антигены
Редкое попадание в ЖКТ	Постоянное попадание в ЖКТ и пребывание в организме	Регулярное попадание в ЖКТ
Механизмы врожденного и адаптивного иммунитета	Механизмы врожденного и адаптивного иммунитета	Иммунологическая толерантность
ВОСПАЛЕНИЕ	ИММУННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ	ОТСУТСТВИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА

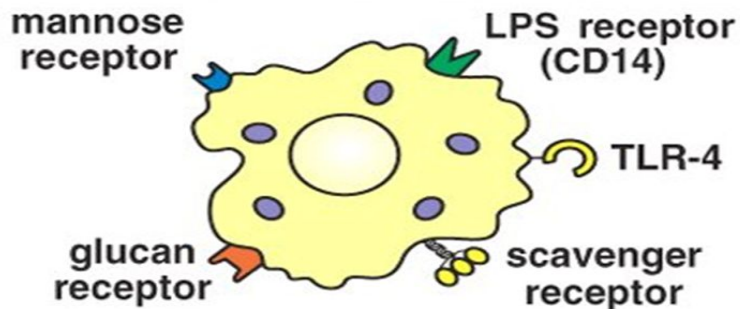
Задачи акцептивного иммунитета:

- ▶ Изоляция бактерий и создание специализированных условий для их обитания, формирование органов и систем (клетки, органы, ткани).
- ▶ Создание и постоянное поддержание иммунологической толерантности к антигенам нормальной микробиоты.
- ▶ Учет и контроль проживающих микроорганизмов.
- ▶ Сохранение и передача полезных бактерий своему потомству.



Акцептивный иммунитет: врожденный и адаптивный

- ▶ При встрече с любым микроорганизмом будет происходить активация фагоцитов,
- ▶ фагоцитоз, активация, реализация провоспалительного потенциала, развитие воспаления.
- ▶ Каким образом осуществляются симбионтные взаимоотношения на уровне врожденного иммунитета?



Рецепторы	Лиганды
TLR-2	Пептидогликаны Грам+ бактерий
TLR-3	Вирусная двухспиральная ДНК
TLR-4	ЛПС
TLR-5	Флагеллин жгутиковых бактерий
TLR-9	Бактериальная неметилованная ДНК
NOD	Мурамилдипептиды

Взаимодействие MAMPs (молекул симбиотических бактерий) – PRR (патогенраспознающих рецепторов) в слизистых

Основные MAMPs:

- ▶ ЛПС симбионтных бактерий
- ▶ пептидогликаны симбионтных бактерий

Для функционирования мукозного барьера наиболее важны PRR:

- ▶ TLR
- ▶ NOD - подобные рецепторы.

Активация TLR и NOD- подобных рецепторов вызывает продукцию:

- ▶ слизи (синтез муцина) – среда обитания
 - ▶ АБП (дефенсинов – антибиотических пептидов),
 - ▶ sIgA
- ▶ противовоспалительных цитокинов

Парадоксальная роль антибиотических пептидов (АПБ) в акцептивном иммунитете – промикробные свойства

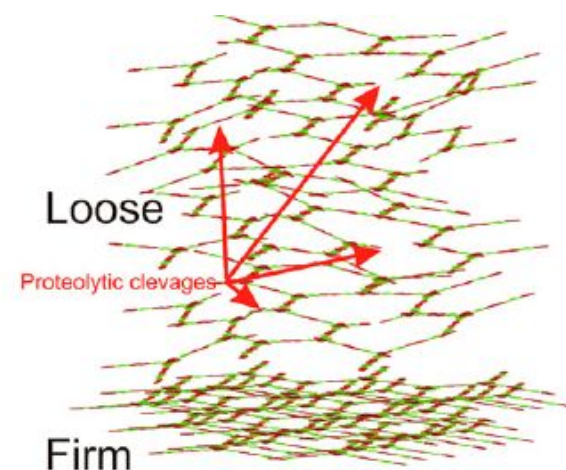
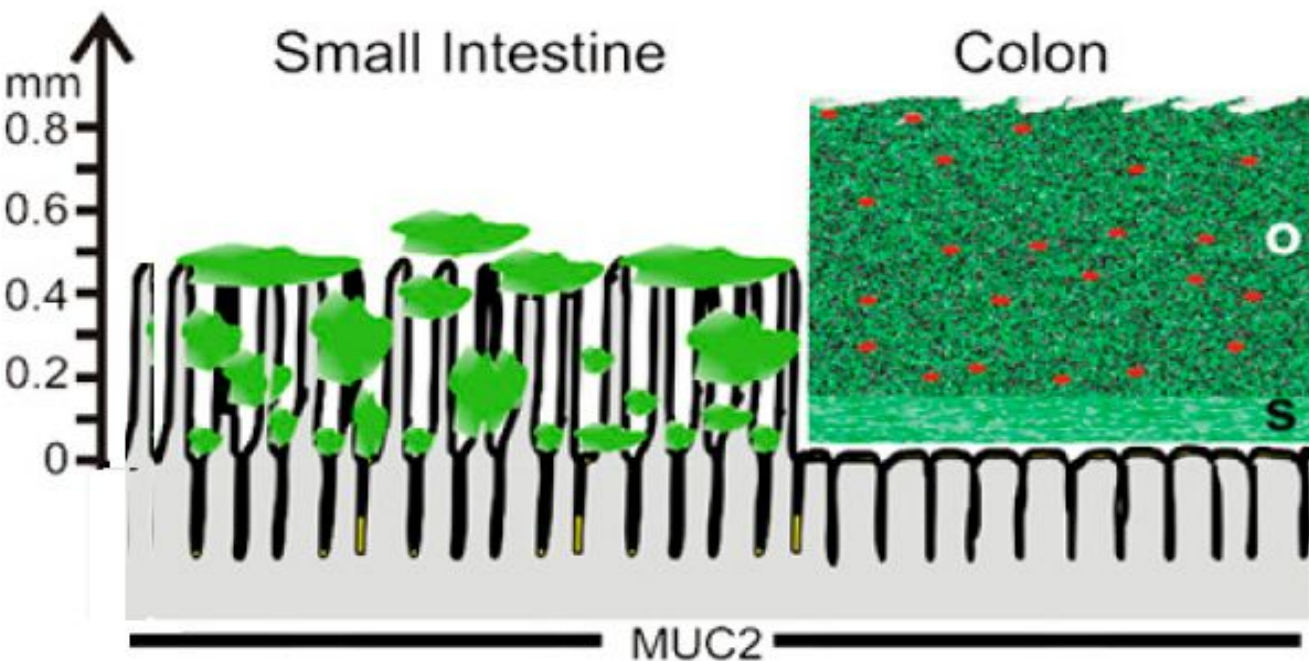
АПБ оказывают:

- ▶ Короткодистантный антибактериальный эффект, биохимический барьер в пределах узкой зоны вдоль эпителия; предохраняют эпителий и **препятствуют транслокации бактерий; не работают в биопленках.**
- ▶ Игрют важную роль в регуляции состава микробиоты (Schroeder et al., 2011).
- ▶ Выполняют промикробные функции: ростстимулирующая активность в низких дозах (хемоаттрактантный эффект).

- ▶ Продукция слизи и антибактериальных пептидов клетками эпителия находится под контролем врожденного и адаптивного иммунитета:
- ▶ ИЛ-9, ИЛ-13 – продукция слизи;
- ▶ ИЛ-17, ИЛ-22 – продукция АБП.

Продукция слизи бокаловидными клетками и формирование биопленки (Johansson et al., 2011)

Зеленый цвет – гельобразующие муцины бокаловидных клеток; красный цвет - бактерии

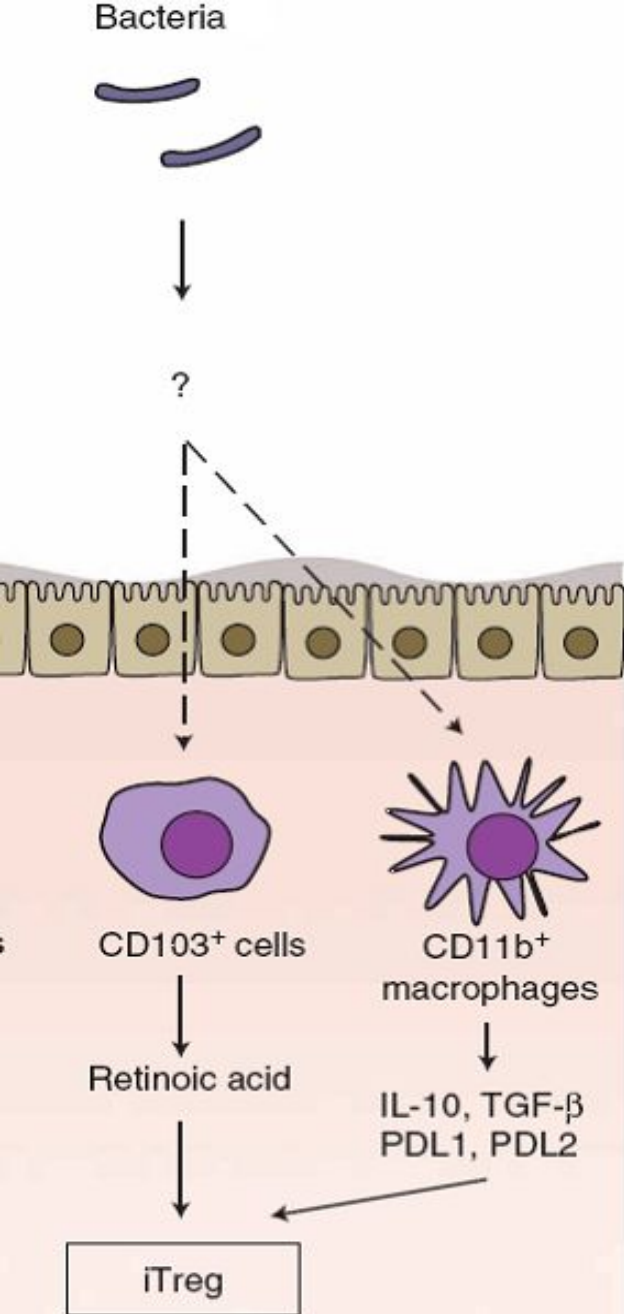


В тонкой кишке один прерывистый слой; секретируется в криптах и движется вверх между ворсинками; ворсинки не всегда покрыты; важны АБП – биохимический барьер

Два слоя слизи в толстой кишке: внутренний плотный слоистый, плотно прилежит к эпителию – без бактерий; наружный рыхлый (с бактериями), образуется в результате протеолиза. Наиболее выражена биопленка в слепой кишке (аппендиксе), снижается по направлению к ректум.

Сигналы от патогенов или от комменсалов определяют разные типы реагирования мукозального иммунитета

- ▶ Сигналы от нормальной микрофлоры:
- ▶ МAMPs вызывают синтез противовоспалительных цитокинов (TGF β).
- ▶ Нормальная микробиота – нет повреждения.
- ▶ Нормальная микробиота – иммунологическая толерантность.
- ▶ Патогенные микроорганизмы, их токсины – вызывают повреждение эпителия слизистых.
- ▶ PAMPs+DAMPs вызывают синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов.
- ▶ Иммунный ответ.
- ▶ Элиминация патогенов.
- ▶ Формирование клеток памяти.



Нормальная микрофлора вызывает образование толерогенных дендритных клеток и макрофагов (Honda, Takeda, 2009)

- ▶ Макрофаги CD11b^{high} экспрессируют противовоспалительные цитокины- IL-10, TGF-β
- ▶ В lamina propria содержится много ДК CD103+.
- ▶ Они экспрессируют фермент retinal dehydrogenase.
- ▶ Способны запасать и продуцировать большие количества ретиноевой кислоты, метаболита витамина А

Для индукции толерогенных дендритных клеток в тонкой кишке важны:

- частицы MUC2, взаимодействующие с PRR и Fc-рецепторами (Shan et al., 2013)
- молекулы внутриклеточного сигналинга TRAF6 (Han et al., 2013)

РОЛЬ трансформирующего ростового фактора (TGF β)— доминирующего цитокина в слизистой кишке

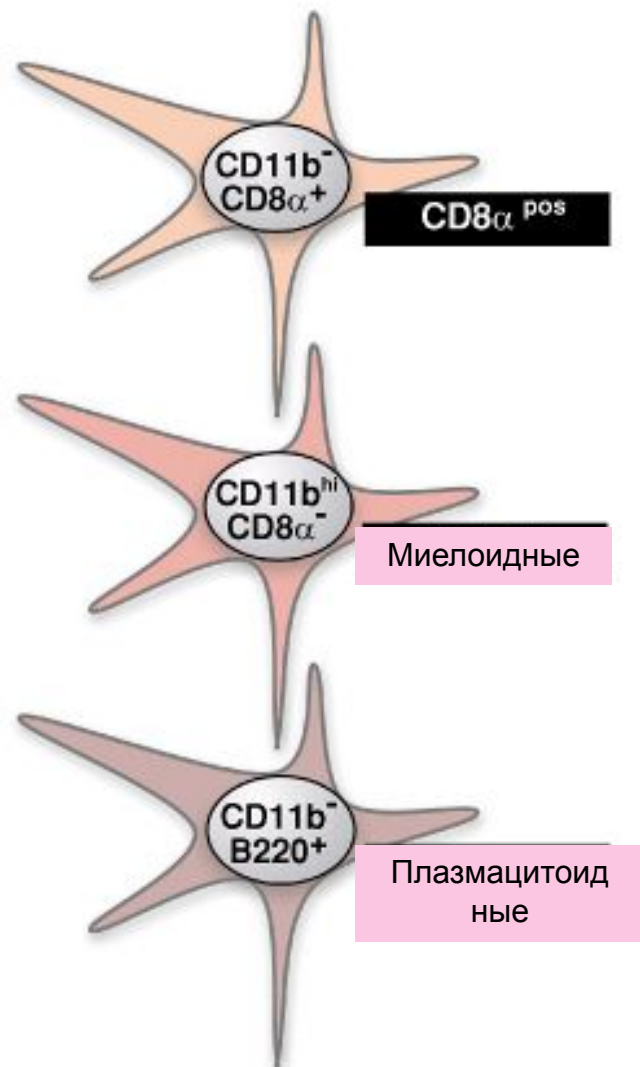
Совокупность факторов нормальной микрофлоры и клеток врожденного иммунитета слизистой кишечника создает микроокружение, богатое TGF β , который является преобладающим регуляторным цитокином.

Синтезируют TGF β :

- ▶ клетки эпителия,
- ▶ CD11b⁺ макрофаги,
- ▶ $\gamma\delta$ T кл, T regs.

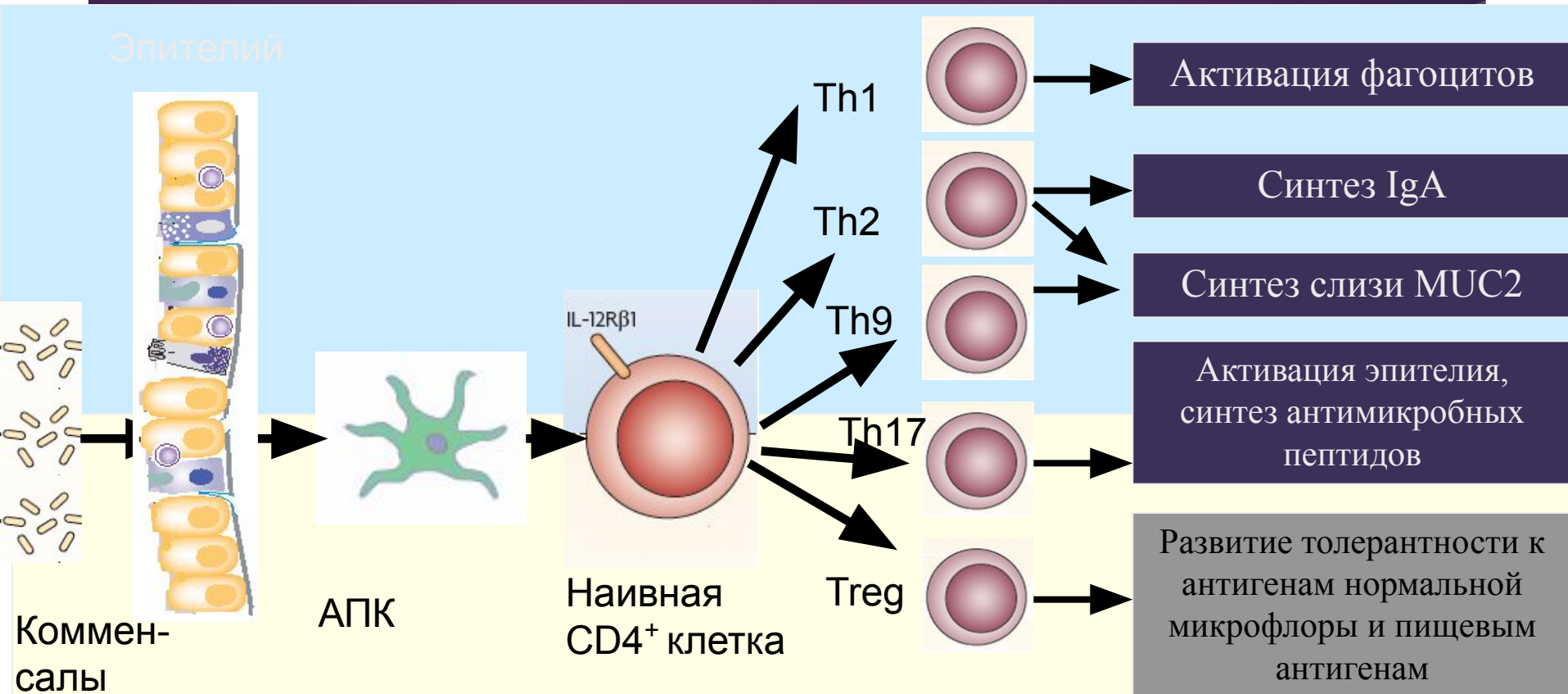
- ▶ TGF β способствует дифференцировке Tregs и созданию толерантности к антигенам нормальной микрофлоры и пищевым антигенам.
- ▶ Способствуют переключению синтеза антител на IgA, усиливает трансцитоз IgA (путем усиления экспрессии pIgR).
- ▶ Стабилизирует параметры проницаемости кишечного эпителия.
- ▶ Подавляет экспрессию TLR на клетках кишечного эпителия.
- ▶ Ограничивает воспалительные реакции при развитии инфекции.
- ▶ Универсальный медиатор акцептивного иммунитета.

Разные дендритные клетки синтезируют разные цитокины в ответ на микробную стимуляцию



CD11b ⁻ миелоидные ДК	Пейеровы бляшки Lamina propria	IL-10	Th2 iTregs
CD8 ⁺ лимфоидные ДК	Пейеровы бляшки	IL-12	Th1
DN ДК	Пейеровы бляшки Подслизистый слой	IL-12	Th1
CD103 ⁺ ДК	Lamina propria	RA	iTregs

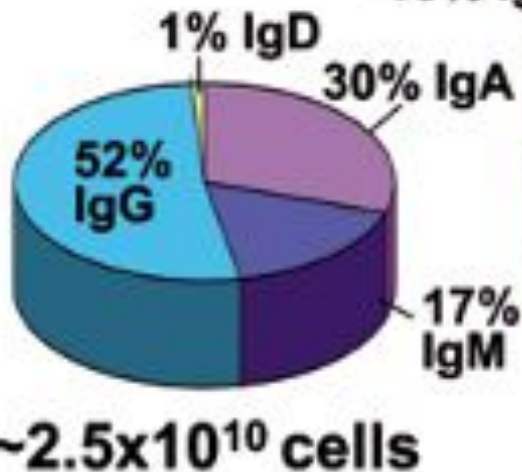
Особенности акцептивного иммунного ответа



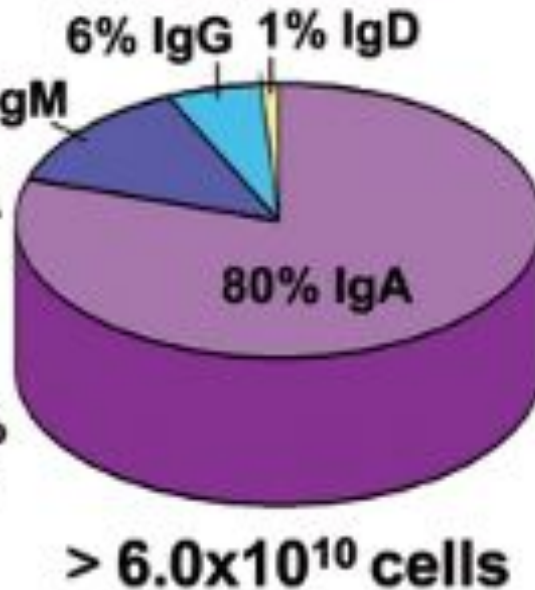
Комменсалы постоянно взаимодействуют с ДК, ДК активируются и продуцируют цитокины, создают микроокружение для $CD4^+$ клеток, происходит активация Th1, Th2, Th9, Th17 – иммунный ответ и элиминация патогенов

IgG – преобладающий изотип иммуноглобулинов системного иммунитета; IgA – доминирующий изотип иммуноглобулинов мукозального иммунитета

Системный
иммунитет



Мукозальный
иммунитет



▶ В организме ежедневно синтезируется 8 г иммуноглобулинов, из них:

- 5 г IgA,

- 2,5 г IgG,

- 0,5 г IgM,

+ следовые количества IgD и IgE

▶ Распределение В- лимфоцитов человека по изотипам Ig в системном иммунитете и в слизистых оболочках существенно различается

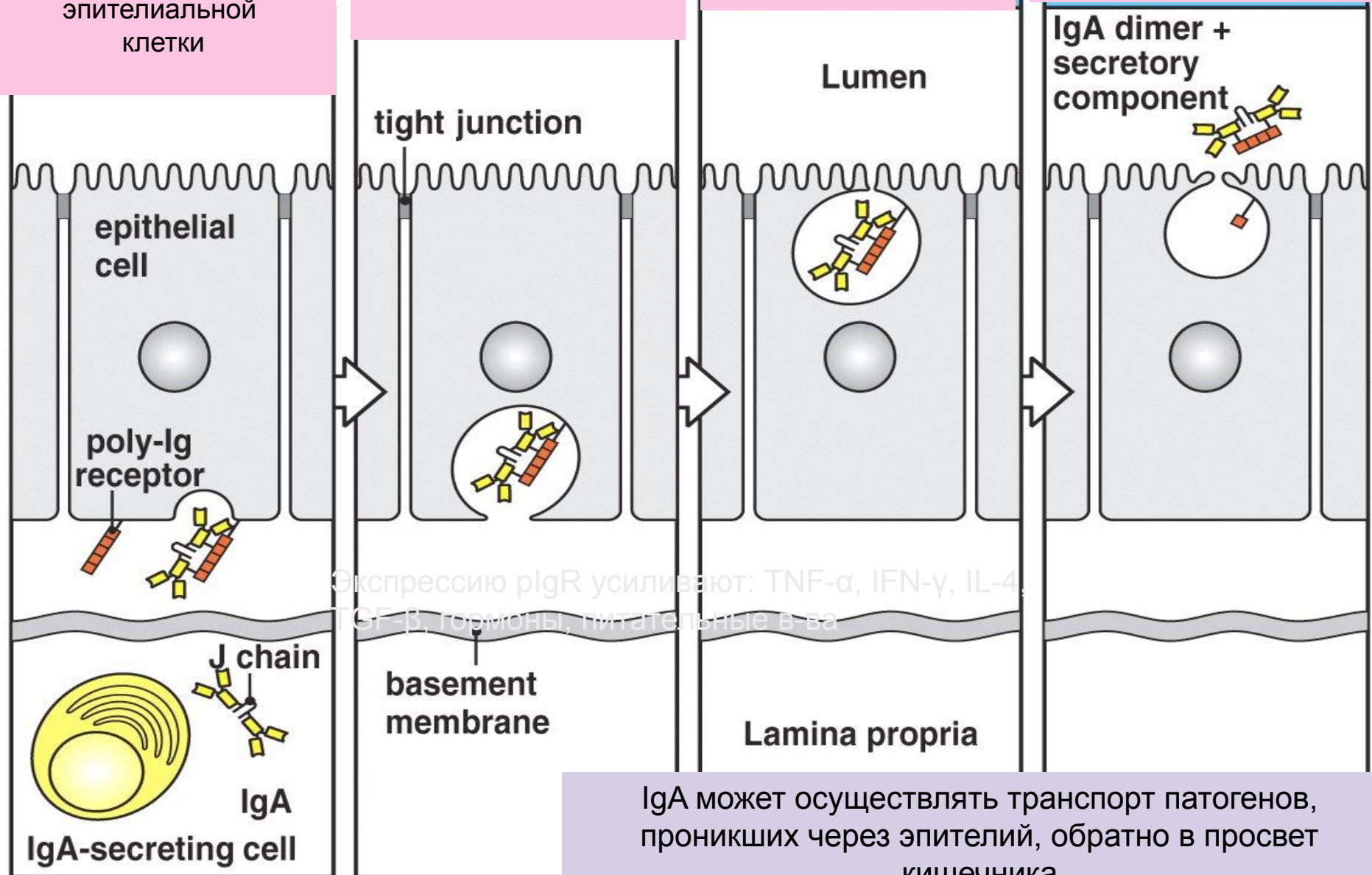
Более 3 г IgA ежедневно транспортируется во внешние секреты

Связывание IgA с рецептором на базолатеральной поверхности эпителиальной клетки

ЭНДОЦИТОЗ

Транспортировка к апикальной поверхности эпителиальной клетки

Освобождение секреторного IgA на апикальной поверхности эпителиальной клетки

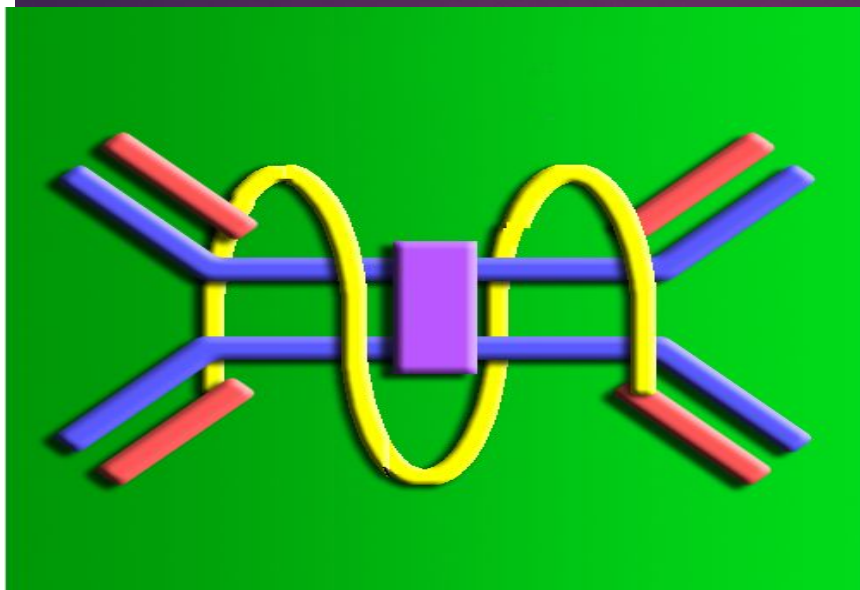


Экспрессию pIgR усиливают: TNF- α , IFN- γ , IL-4, TGF- β , гормоны, питательные вещества

IgA может осуществлять транспорт патогенов, проникших через эпителий, обратно в просвет кишечника

Figure 9-20 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science)

Особенности строения секреторного IgA (sIgA)



Н-цепь

Л-цепь

J-цепь

секреторный
компонент

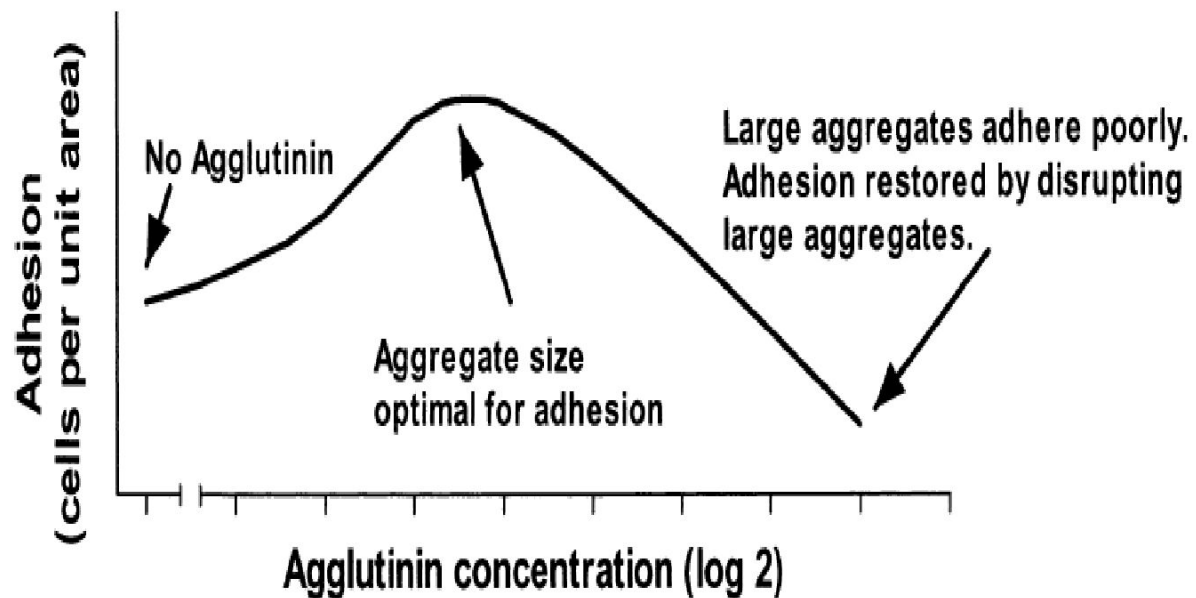
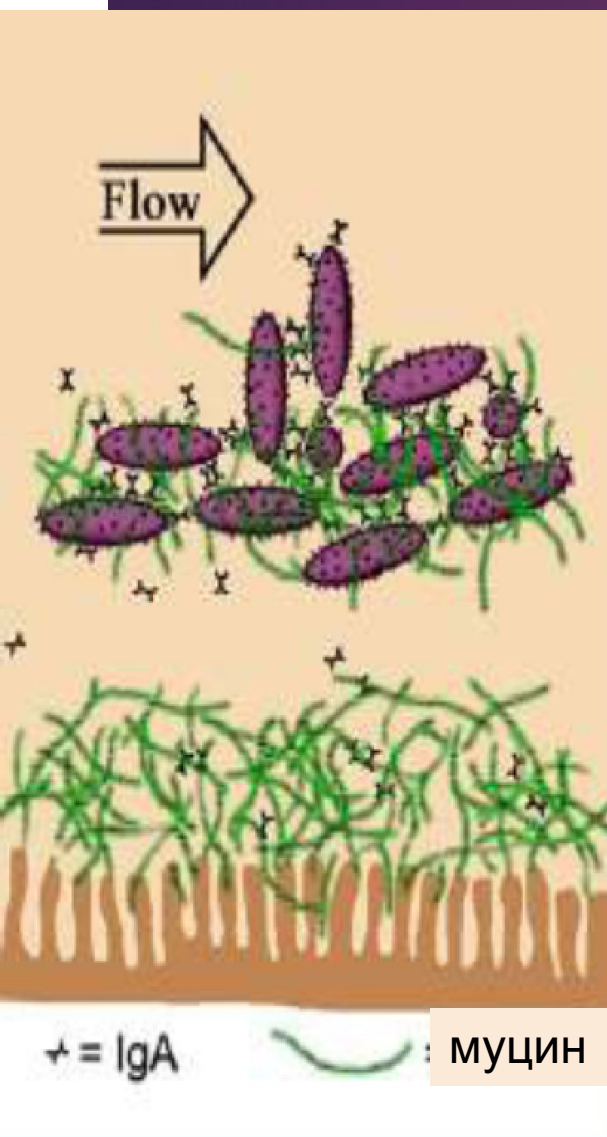
- ▶ Димер или полимер (тетрамер), синтезируется потомками В2 лимфоцитов подслизистого слоя.
- ▶ s IgA резистентен к действию микробных и кишечных протеаз благодаря высокой степени гликозилирования и наличию секреторного компонента.
- ▶ Fc-фрагмент и секреторный компонент (SC) высоко гликозилированы и могут взаимодействовать с разными белками, антигенами.

Роль IgA в формировании биопленки



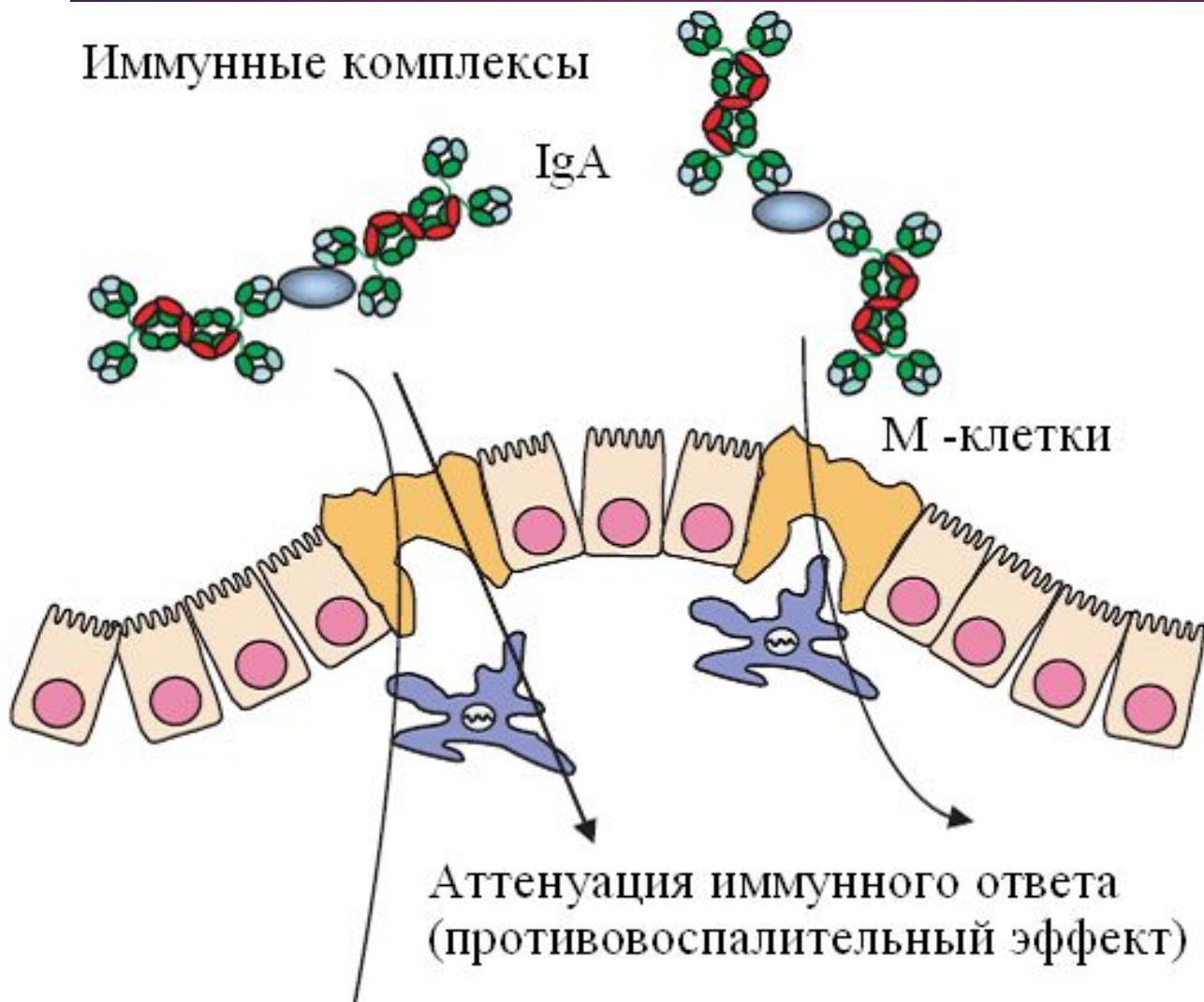
- ▶ IgA связывается с низкомолекулярным компонентом муцина MG2.
- ▶ IgA связывается с компонентами слизи с помощью высоко гликозилированного секреторного компонента через углеводные остатки - показано *in vivo* и *in vitro* для респираторного (Phalipon et al., 2002) и кишечного эпителия (Boullier et al., 2009).
- ▶ Иммунное исключение для выведения патогенов (Phalipon et al., 2002).
- ▶ Иммунное включение – фиксация бактерий в пределах биопленки, не дает им присоединяться к эпителию (Everett et al., 2004) .

Агглютинация бактерий препятствует их адгезии (планктонный рост)



Все бактерии тонкой кишки покрыты IgA.
Эти антитела - полимерные s IgA, не повреждают бактерии.

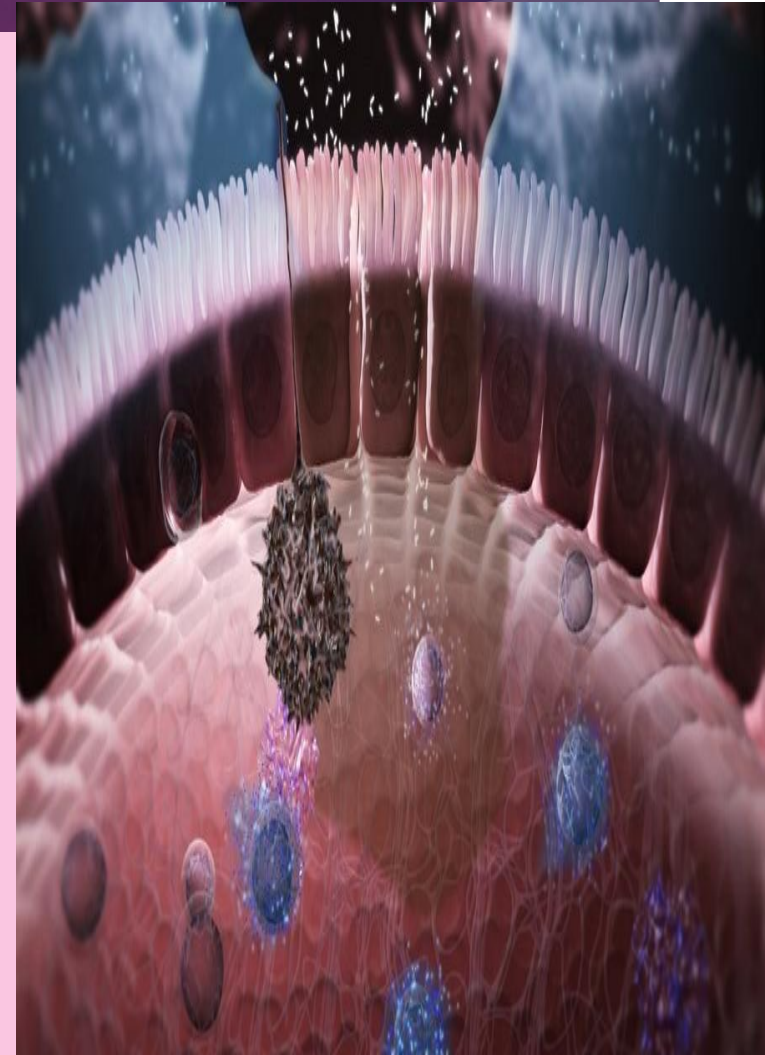
sIgA способствует транспорту бактерий через М-клетки



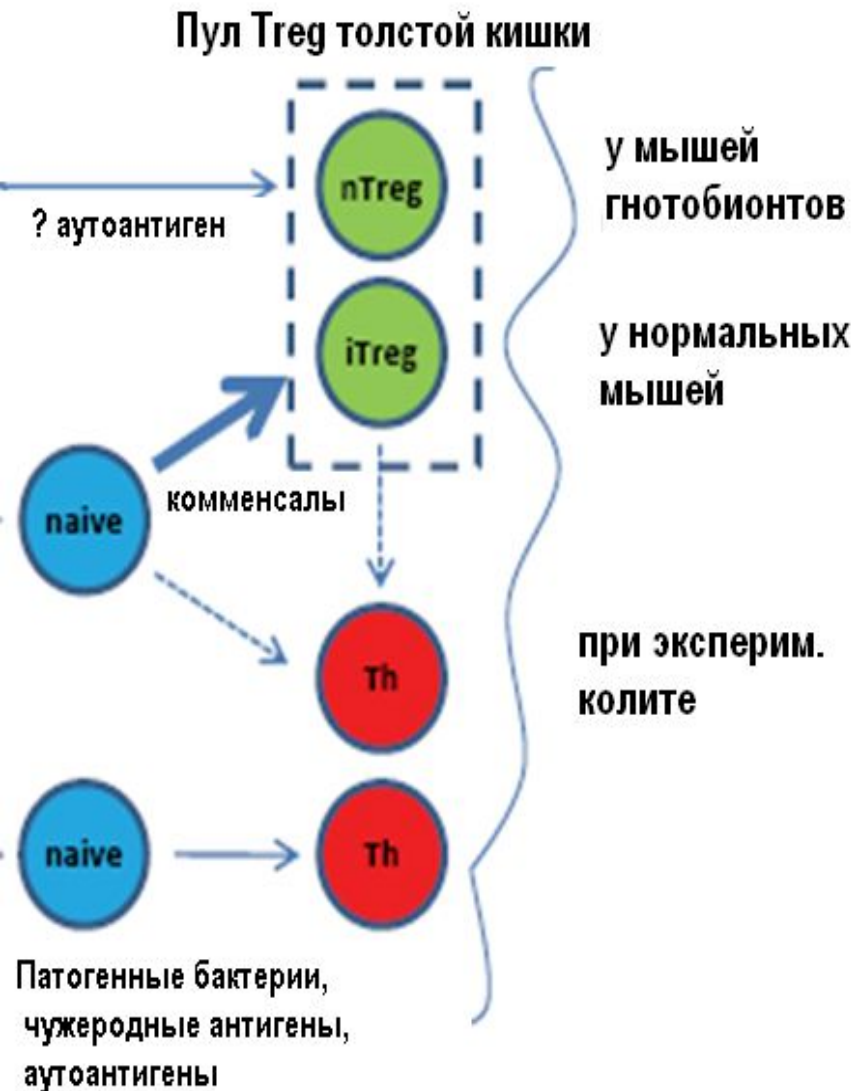
sIgA
прикрепляются к
М-клеткам,
но рецептор пока
не найден
(IgA R)

Роль IgA в симбиотических взаимоотношениях в кишечнике

- ▶ Учет и контроль микроорганизмов, определяет состав и количество бактерий, заселяющих определенный биотоп.
- ▶ Распределение бактерий на два типа обитания: свободного в виде планктона и фиксированного в виде биопленки.
- ▶ Барьерная роль – препятствует транслокации бактерий через эпителий (у детей до 2 месяцев нет достаточного количества IgA, и бактерии находятся в лимфатических узлах; затем вытесняются на поверхность эпителия)



Микробная специфичность Т клеточных рецепторов (TCR) Т-регуляторных клеток (Tregs) (Lathrop s. et al., Nature 2011)



Изучали репертуар специфичности TCR Tregs из толстой кишки.

Более половины рецепторов распознавали кишечное содержимое или бактериальные изоляты.

Считают, что это - iTregs.

Индукция происходит в результате взаимодействия со своей микробиотой (эти клетки специфичны в отношении антигенов микроорганизмов).

У безмикробных мышей отмечается нормальное число Treg.

Считают, что это - nTregs, имеющие тимусное происхождение.

Роль Т регуляторных лимфоцитов : тимусных и индуцибельных в поддержании толерантности к нормальной микрофлоре

Тимусные Т-регуляторные клетки создают толерантность к антигенам нормальной микрофлоры (Cebula et al., 2013)

К каждому виду нормальной микробиоты создается и постоянно поддерживается особая форма специфического иммунного ответа с образованием Tregs, Th2 и Th17.

Тимусные Т-регуляторные клетки специфичны к чужеродным антигенам.

Рецепторы (TCR) тимусных Т регуляторных лимфоцитов – специфичны к антигенам микробиоты.

nTregs (тимусные) составляют большинство Tregs кишечной ткани и их репертуар зависит от состава микробиоты.

iTregs поддерживают толерантность к АГ нормальной микрофлоре и пищевым антигенам (Josefowicz et al., 2012)

- ▶ Блокада образования iTregs у мышей вызывает:
- ▶ Нарушение толерантности к антигенам нормальной микробиоты и пищи.
- ▶ Развитие аллергического воспаления в гастроинтестинальном тракте и легких (усиление продукции Th2 цитокинов, повышение уровней IgE в сыворотке крови).
- ▶ Изменения состава нормобиоты : в норме соотношение Firmicutes/bacteroides=2,6 ;
- ▶ У мышей с дефицитом iTregs, это соотношение =1,5.

Роль иммунной системы в сохранении микробиоты и передаче потомству

- ▶ Организм ребенка стерилен до рождения (в норме)
- ▶ Микробиота матери передается при родах
- ▶ После родов заселение ребёнка микрофлорой продолжается благодаря контакту со средой и кормлению грудью.
- ▶ Передача симбионтов через молоко: 10^5 - 10^7 бактерий ежедневно
- ▶ Микробиома молока – самостоятельный биоценоз (Cabrera-Rubio et al., 2012)
- ▶ Есть значительная разница между микрофлорой детей, вскармливаемых грудью, по сравнению с детьми на искусственном вскармливании (Azad, et al. 2013; Guaraldi & Salvatori 2012).
- ▶ Полезные бактерии напрямую доставляются с грудным молоком в кишечник ребёнка, а олигосахариды из грудного молока поддерживают рост этих бактерий.
- ▶ Разница в кишечной микрофлоре у детей-искусственников может обосновать риски для здоровья, связанные с кормлением смесью.
- ▶ Колики новорожденных могут быть связаны с высоким уровнем протобактерий в кишечнике ребёнка

Влияние внешних факторов на кишечную микрофлору у детей



Молоко программирует создание кишечного микробиоценоза и развитие иммунной системы ребенка (Chirico et al., 2008)

Иммунные клетки матери:

Число клеток - до 1 млн в мл, с молоком поступает
8-80 млн. клеток ежедневно,

- ▶ Макрофаги - 85%,
- ▶ Лимфоциты 10%,
 - ▶ Нейтрофилы
- ▶ Натуральные киллеры
- ▶ Т клетки и В клетки памяти
- ▶ Плазматические клетки.

Иммуноглобулин IgA: до 1 г/л.

А также:

Цитокины, гормоны, ростовые факторы, ферменты,
муцины, пребиотики (олигосахариды, bifidus factor),
лактоферрин, белки переносчики и т.д.



Эффекторные механизмы протективного иммунитета

Эффекторные механизмы акцептивного иммунитета

Фагоциты реализуют свой провоспалительный потенциал (синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов)

Толерогенные дендритные клетки и макрофаги

Поляризация гуморального ответа :

В лимфоциты, превращаются в плазматические клетки и синтезируют **IgM, IgG₁, IgG₃**, впоследствии - опсонизация микроорганизмов, их фагоцитоз; активация системы комплемента (комплекс мембранной атаки, разрушение патогенов)

Поляризация гуморального ответа :

В лимфоциты, превращаются в плазматические клетки и синтезируют
– **IgA**, далее - транцитоз IgA через эпителий, образование секреторного иммуноглобулина класса А, защита слизистых от патогенов.

Th2, Th9 – активация тучных клеток, эозинофилов (защита от гельминтов)

Th2, Th9 – пролиферация бокаловидных клеток, синтез слизи

Th17 – привлечение нейтрофилов

Th17 – пролиферация и дифференцировка эпителия, освобождение нейтрофилами дефенсинов

Th 1(вирусы, внутриклеточные патогены)

iTregs

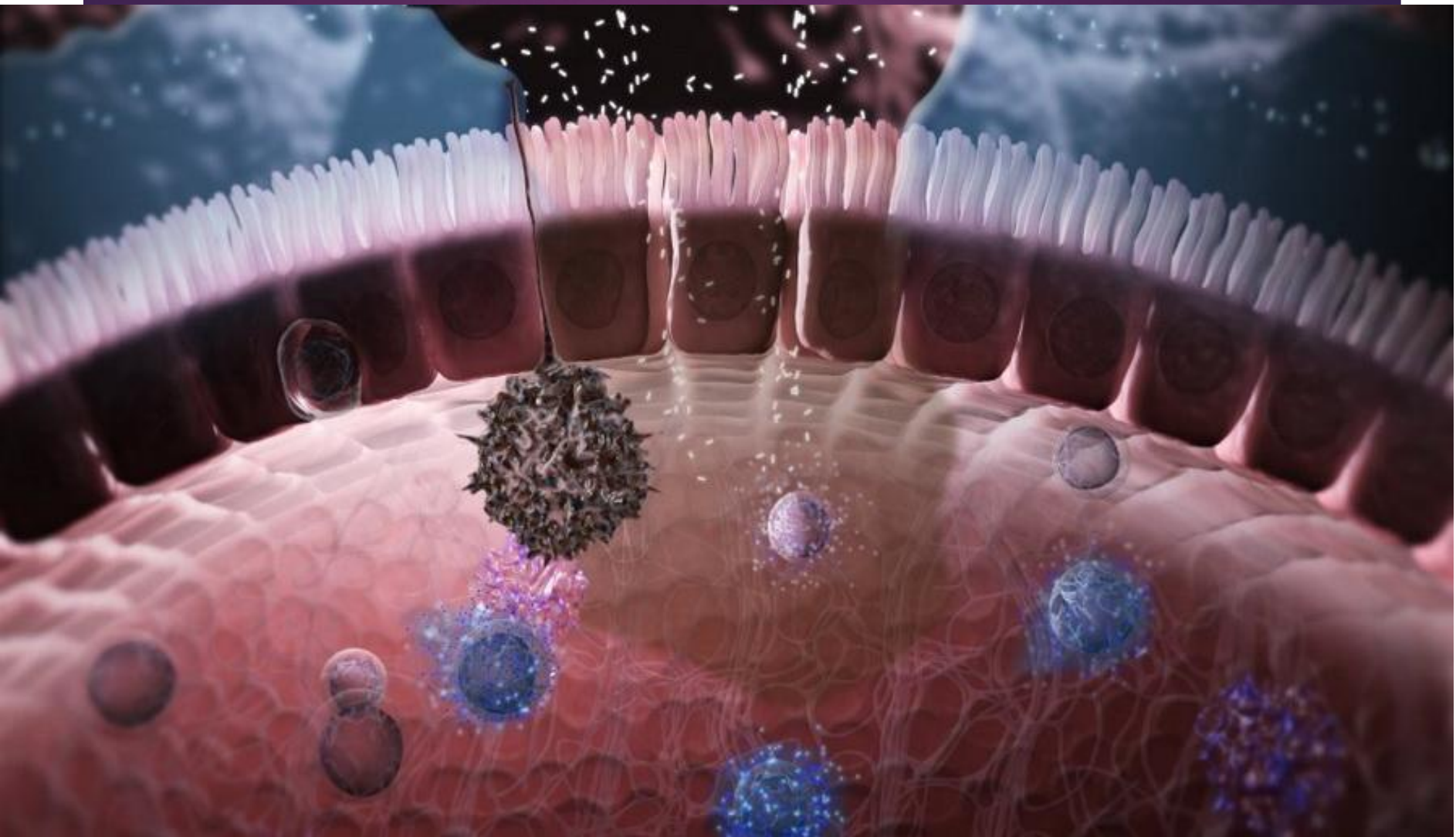
Основные цитокины - **IL-1,6,12, TNF α , INF γ**

Основные цитокины - **IL-10, TGF β**

Агрессия, уничтожение, повреждение

Мирное сосуществование, сохранение нормальной микрофлоры, симбиоз

Вопросы к занятию №9



ВОПРОСЫ

1. Дайте определение иммунологическим компартментам.
2. Какие виды компартментов иммунной системы вам известны?
3. Дайте определение понятию MALT.
4. Опишите строение и функционирование Пейеровой бляшки. Какую роль играют М-клетки?
5. Каковы этапы синтеза , особенности строения и основные функции секреторного иммуноглобулина класса А?
6. Что такое мукозальный иммунитет?
7. Каковы механизмы создания иммунологической толерантности к нормальной микрофлоре?
8. Какова роль трансформирующего ростового фактора (TGF β) в мукозальном иммунитете?
9. Опишите основные механизмы, задействованные при защите слизистых оболочек от патогенов.

Тестовые вопросы

Какой из перечисленных терминов не относится к MALT?

- ▶ GALT
- ▶ BALT
- ▶ NALT
- ▶ SALT
- ▶ MALT урогенитального тракта

Хоминг лимфоцитов осуществляется благодаря взаимодействию:

- ▶ Молекул CD 28 и молекул семейства B7
- ▶ Fas-Fas L
- ▶ Высокоаффинных IL 2R с IL-2
- ▶ Специфических адгезионных молекул с адресинами
- ▶ Высокоаффинных Fcε R с IgE

Тестовые вопросы

Какие образования не входят в систему GALT?

- ▶ Пейеровы бляшки
- ▶ Мезентериальные лимфатические узлы
- ▶ SALT
- ▶ Солитарные лимфоузлы
- ▶ Аппендикс

M-клетки не способны:

- ▶ Напрямую контактировать с антигенами в просвете кишки
- ▶ К секреции слизи
- ▶ К эндоцитозу
- ▶ К трансцитозу
- ▶ К экзоцитозу

Тестовые вопросы

К задачам акцептивного иммунитета не относится:

- ▶ Распознавание своего и чужого.
- ▶ Элиминация комменсалов.
- ▶ Создание и постоянное поддержание иммунологической толерантности к антигенам нормальной микрофлоры.
- ▶ Учет и контроль проживающих микроорганизмов.
- ▶ Сохранение и передача полезных бактерий своему потомству.

К задачам иммунитета слизистых оболочек не относится:

- ▶ Распознавание и элиминация патогенов.
- ▶ Элиминация комменсалов.
- ▶ Развитие воспаления.
- ▶ Иммунорегуляция с целью исключения разрушения собственных тканей
- ▶ Поддержание гомеостаза слизистых оболочек.

Тестовые вопросы

Взаимодействие MAMPs (молекул симбиотических бактерий) и PRR (патогенраспознающих рецепторов) в слизистых не приводит к продукции:

- ▶ Слизь (синтез муцина) – среда обитания для комменсалов
- ▶ АБП (дефенсинов – антибиотических пептидов)
- ▶ sIgA
- ▶ Провоспалительных медиаторов
- ▶ Противовоспалительных цитокинов

К свойствам антибактериальных пептидов не относятся:

- ▶ Создание биохимического барьера в пределах узкой зоны вдоль эпителия.
- ▶ Антибактериальные эффекты
- ▶ Препятствие транслокации бактерий в эпителий
- ▶ Разрушение комменсалов в биопленках
- ▶ В низких дозах - стимуляция роста бактерий (хемоаттрактантный эффект).

Тестовые вопросы

Трансформирующий ростовой фактор (TGFβ):

- ▶ Способствует дифференцировке Tregs и созданию толерантности к антигенам нормальной микрофлоры и пищевым антигенам.
- ▶ Способствуют переключению синтеза антител на IgA, усиливает транцитоз IgA (путем усиления экспрессии pIgR).
- ▶ Стабилизирует параметры проницаемости кишечного эпителия.
- ▶ Подавляет экспрессию TLR на клетках кишечного эпителия.
- ▶ Ограничивает воспалительные реакции при развитии инфекции.

Роль секреторного IgA в формировании биопленки не включает:

- ▶ Распределение бактерий на два типа обитания: свободного в виде планктона и фиксированного в виде биопленки.
- ▶ Связывание с компонентами слизи.
- ▶ Иммунное исключение -выведение токсинов и патогенов.
- ▶ Иммунное включение – фиксация бактерий в пределах биопленки.
- ▶ Активация системы комплемента по классическому пути и запуск воспаления

Тетрадь (альбом) Занятие № 9

Дата

Тема занятия: «**Иммунитет слизистых оболочек**»

1. Краткие ответы на развернутые вопросы (1 -10)

Дополнительные задания к занятию № 9:

2. Перечислите компартменты MALT, расшифруйте их названия

3. Нарисуйте схему строения Пейеровой бляшки

4. Нарисуйте схему строения секреторного иммуноглобулина А.

5. . Объясните, в чем заключается сложность задач, решаемых MALT?

Домашнее задание к занятию № 10

- ▶ Повторить основные свойства и особенности функционирования иммунной системы слизистых оболочек.
- ▶ Подготовиться к теме 10 занятия, посвященного изучению патологических состояний при нарушениях иммунной защиты слизистых оболочек; примерам клинических проявлений патологических состояний слизистых оболочек (в том числе – в ротовой полости):
 - ▶ При инфекционных процессах.
 - ▶ При аллергии.
 - ▶ При аутоиммунных процессах.
- ▶ По желанию – подготовка сообщений-презентаций «Иммунопатогенез заболеваний человека, связанных с несостоятельностью защиты слизистых оболочек».