

Врожденный и приобретенный
иммунитет.
Клеточные и гуморальные
механизмы.

Цикл 1 – иммунология.
Занятие № 2.

Определение врожденного иммунитета.
Свойства врожденного иммунитета.

- Врожденный иммунитет – наследственно закрепленная система защиты многоклеточных организмов от любых патогенных факторов.
- Филогенетически более древний тип иммунного ответа (присутствует у всех видов, начиная с метазойной эры).

МИЕЛОИДНЫЕ КЛЕТКИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

Показатель	Нейтрофил	Эозинофил	Моноцит
Содержание в крови	65-75%	1-3%	5-10%
Пребывание в кровотоке, тканях	Кровь –7-10 час Ткани -3-5 суток	Кровь –7-10 час Ткани -3-5 суток	Кровь - 1-2 суток Ткани - 20-25 суток
Диаметр, мкм	10-15	12-15	12-17
Ядро	Сегментированное (обычно 3)	Сегментированное (обычно 2)	Овальное, бобовидное
Мембранные маркеры	CD13, CD14 TLR 1,2,4-10 FcγRII-III, CR1,3,4 CXCR1-3,7	CD9, CD35 TCR 1,4,7,9,10 FcγII-III, FcεRI,II, C5aR, CCR1-3, 5	CD14, CD64, MHCII TLR 1-10 FcγRI,II,III;CR1,3,4 CCR1-3,5,CX3CR1
Функция	Фагоцитоз, внеклеточный цитолиз	Внеклеточный цитолиз	Фагоцитоз, секреция активных продуктов

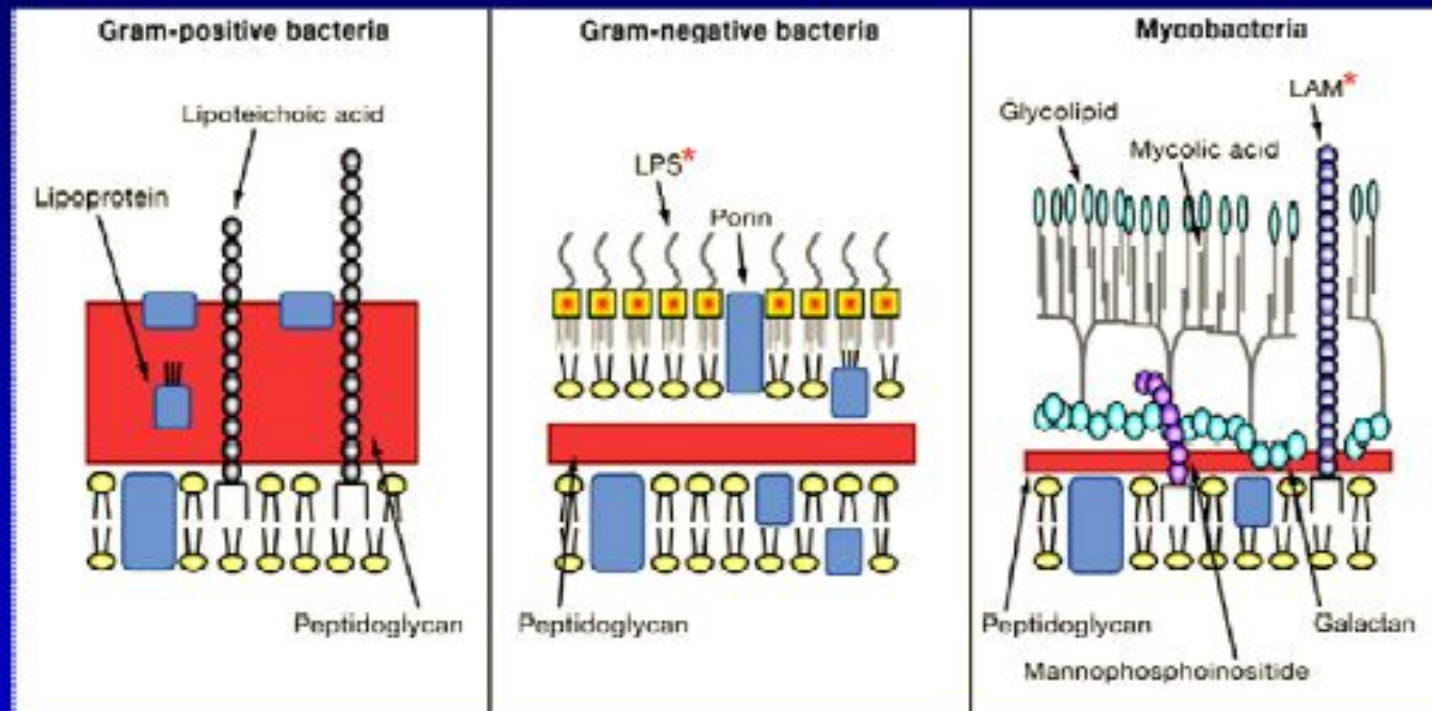
«Врожденное» распознавание: образы «чужого»

Клетки врожденного иммунитета распознают своими рецепторами наиболее консервативные структуры бактериальной стенки, белки, метилированные фрагменты нуклеиновых кислот бактерий.

Важно: все эти структуры отсутствуют у макроорганизма и присутствуют только у бактерий (образ «чужого» или «не-своего»).

«Микробное чужое»:

устройство клеточной стенки различных бактерий



*Липополисахарид

*Липоарабиноманнан

Toll – рецепторы (Toll R): история открытия

В 1985 году при исследовании мутаций у мушки - дрозофилы немецкий ученый Кристиана Нюслайн - Фольхард обнаружила личинок - мутантов с недоразвитой вентральной частью тела. Ее фраза «Das war ja toll!» (Вот это класс!) дала название новым типам рецепторов врожденного иммунитета – Toll – like receptors (TLRs).

«Das war ja toll!»



Christiane Nusslein-Volhard

*Нобелевская премия
по физиологии и медицине
1995 г.*

В настоящее время открыто более 10 генов, кодирующих разные TLRs. Каждый TLR распознает один вид химических структур у разных типов патогенов.

Мухи с мутациями в гене *Toll* погибают от грибковых (но не бактериальных) инфекций



Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA.

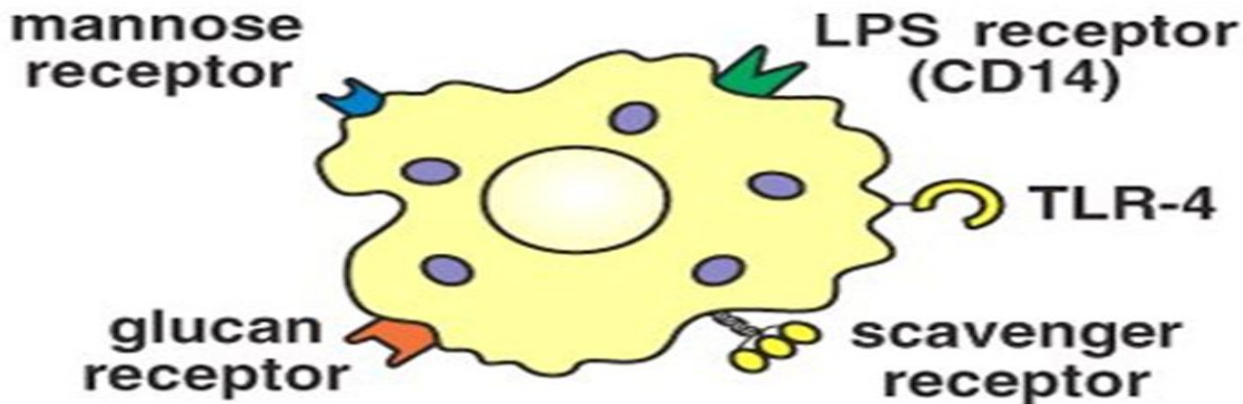
The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 1996, 86(6):973-983.

История открытия TLR 4 типа

В **1997** году Руслан Меджитов и Чарльз Дженуэй из Йельского Университета обнаружили Toll – подобный гомологичный ген у млекопитающих (кодирует рецептор 4 типа - TLR4).

В **1998** году Брюс А. Бетлер открыл, что этот рецептор распознает липополисахариды клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

Нобелевская премия была присуждена Брюсу А. Бетлеру в 2011 году.



Руслан Меджитов - биография



Первооткрыватель человеческих рецепторов врожденного иммунитета, выходец из Узбекистана Руслан Меджитов стал лауреатом премии Вилчека, предназначенной для ученых и деятелей искусства иностранного происхождения, внесших значительный вклад в развитие США.

Р. Меджитов уехал из СССР в 1990 году, а в 1994 поступил в лабораторию Чарльза Дженуэя.

В совместной работе с Дженуэем, опубликованной в 1997 году, Р. Меджитову удалось обнаружить у человека Толл –подобные рецепторы врожденного иммунитета (TLR4).

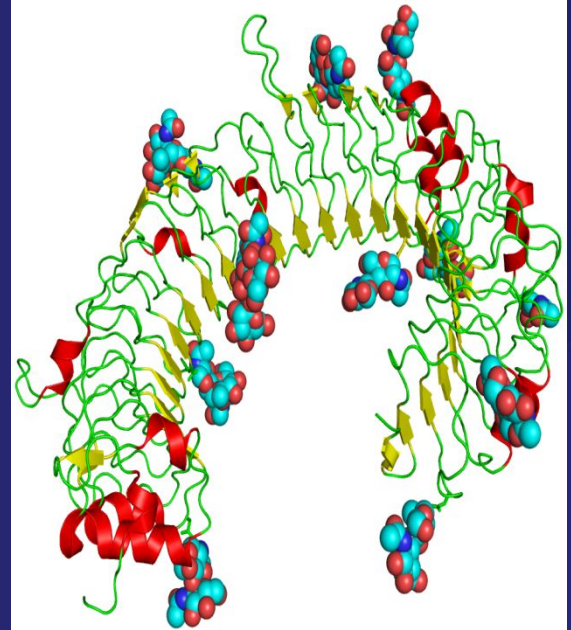
Мембранные рецепторы. - TLR (*Toll-Like Receptor* - Toll-подобный рецептор; т.е. сходный с Toll-рецептором дрозифилы)

Мембранные рецепторы. Эти рецепторы расположены как на наружных, так и на внутренних мембранных структурах клеток - **TLRs** (*Toll-Like Receptors*):

одни из них непосредственно связывают продукты патогенов (рецепторы для маннозы макрофагов, TLR дендритных и других клеток),

другие работают совместно с другими рецепторами: например, CD14 молекула на макрофагах связывает комплексы бактериального липополисахарида (ЛПС), а TLR-4 вступает во взаимодействие с CD14 и передаёт соответствующий сигнал внутрь клетки.

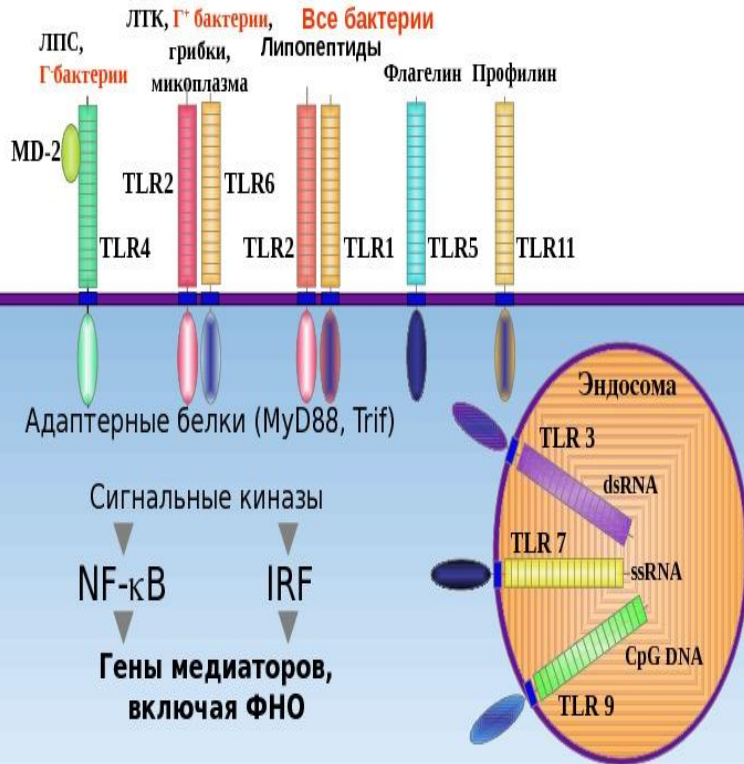
Всего у млекопитающих описано 13 различных вариантов TLR (у человека пока только 10).



Изогнутая структура TLR3 ,богатого остатками лейцина

Примеры Toll - рецепторов врожденного иммунитета, распознающих «шаблоны чужого»

TLR семейство и его лиганды у человека и мыши



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

ПРОВЕДЕНИЕ СИГНАЛОВ С TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Все TLR используют одинаковую принципиальную схему передачи активационного сигнала в ядро.

После связывания с лигандом рецептор привлекает один или несколько **адапторов** (MyD88, TIRAP, TRAM, TRIF), которые обеспечивают передачу сигнала с рецептора на каскад серин-треониновых киназ.

Последние вызывают активацию **факторов транскрипции** NF- κ B (*Nuclear Factor of κ -chain B-lymphocytes*), AP-1 (*Activator Protein 1*), IRF3, IRF5 и IRF7 (*Interferon Regulatory Factor*), которые **транслоцируются в ядро и индуцируют экспрессию генов - мишеней.**

Все адапторы содержат TIR-домен и связываются с TIR-доменами TOLL-подобных рецепторов (*Toll/Interleukin-1 Receptor*, так же как рецептора для ИЛ-1).

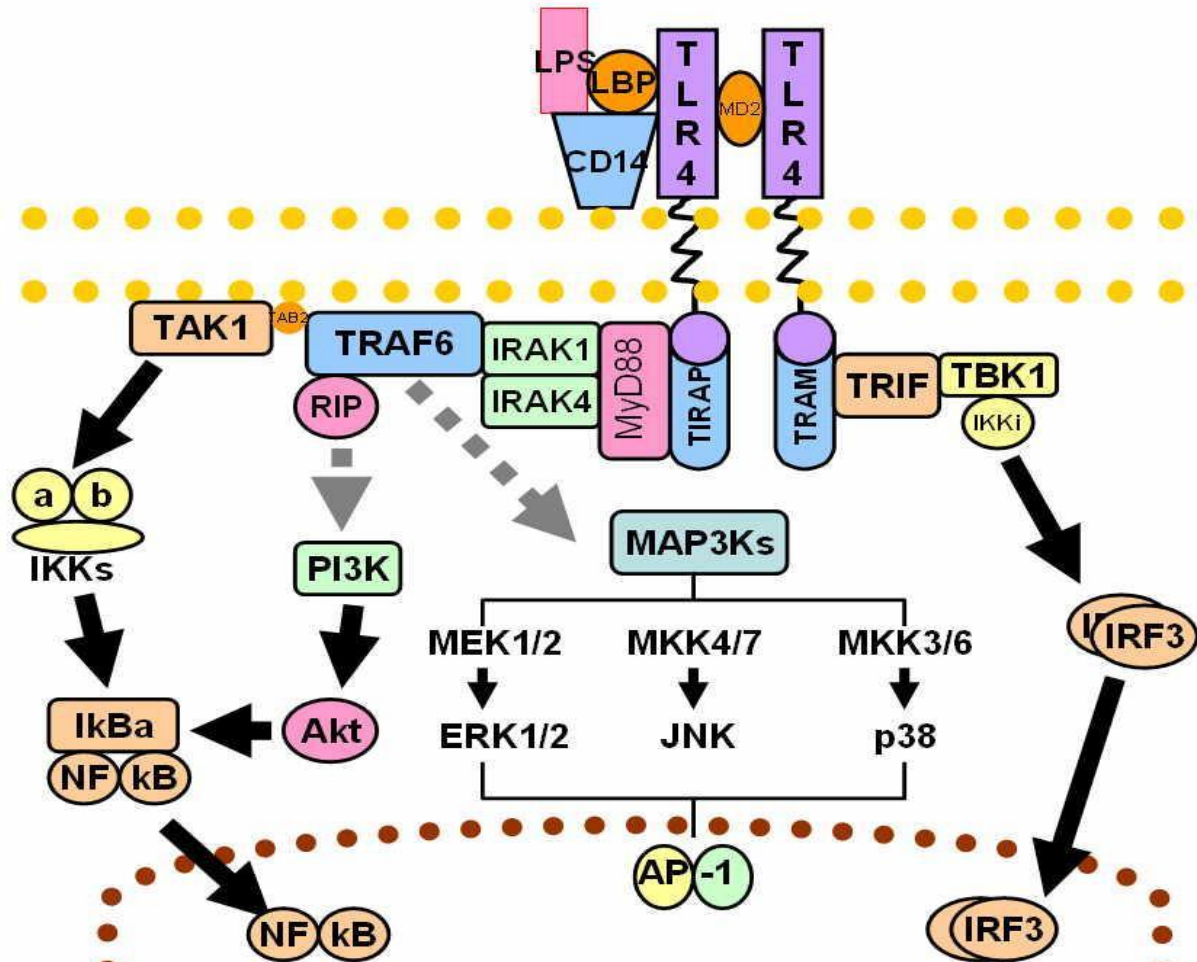
Все известные TOLL-подобные рецепторы, за исключением TLR3, передают сигнал через адаптор MyD88 (MyD88-зависимый путь).

В передаче сигнала с TLR3 адаптор MyD88 не участвует; вместо него используется TRIF (MyD88-независимый путь).

TLR4 использует как MyD88зависимый, так и MyD88-независимый пути передачи сигнала.

Связывание TLR4 с TRIF происходит при помощи дополнительного адаптора TRAM.

Сигналинг с TLR4.



Цитоплазматические рецепторы: NOD-рецепторы (NOD1 и NOD2)

NOD-рецепторы (NOD1 и NOD2)

находятся в цитозоле и состоят из трёх доменов: N-концевого CARD-домена, центрального NOD-домена

(NOD - *Nucleotide*

Oligomerization Domain-домен олигомеризации нуклеотидов) и C-концевого LRR-домена.

Рецепторы NOD1 и NOD2

распознают мурамилпептиды - вещества, образующиеся после ферментативного гидролиза пептидогликана, входящего в состав клеточной стенки всех бактерий.

NOD1 распознаёт

мурамилпептиды с концевой мезодиаминопимелиновой кислотой (meso-DAP), которые образуются только из пептидогликана

грамотрицательных бактерий.

NOD2 распознаёт

мурамилдипептиды (мурамилдипептид и гликозилированный мурамилдипептид) с концевым D-изоглутамином или D-глутаминовой кислотой, являющиеся результатом

гидролиза пептидогликана **как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий.**

Цитоплазматические рецепторы: RIG-подобные рецепторы (RLR, *RIG-Like Receptors*)

RIG-подобные рецепторы (RLR, *RIG-Like Receptors*):

- RIG-I (*Retinoic acid-Inducible Gene- I*)
- MDA5 (*Melanoma Differentiation-associated Antigen 5*)
- LGP2 (*Laboratory of Genetics and Physiology 2*).

Все три рецептора, кодируемые этими генами, имеют сходную химическую структуру и локализуются в цитозоле.

Рецепторы RIG-I и MDA5 распознают вирусную РНК.

Роль белка LGP2 пока неясна; возможно, он выполняет роль хеликазы, связываясь с двуцепочечной вирусной РНК, модифицирует её, что облегчает последующее распознавание с помощью RIG-I.

RIG-I распознаёт односпиральную РНК с 5-трифосфатом, а также относительно короткие (<2000 пар оснований) двуспиральные РНК.

MDA5 различает длинные (>2000 пар оснований) двуспиральные РНК.

Таких структур в цитоплазме эукариотической клетки нет.

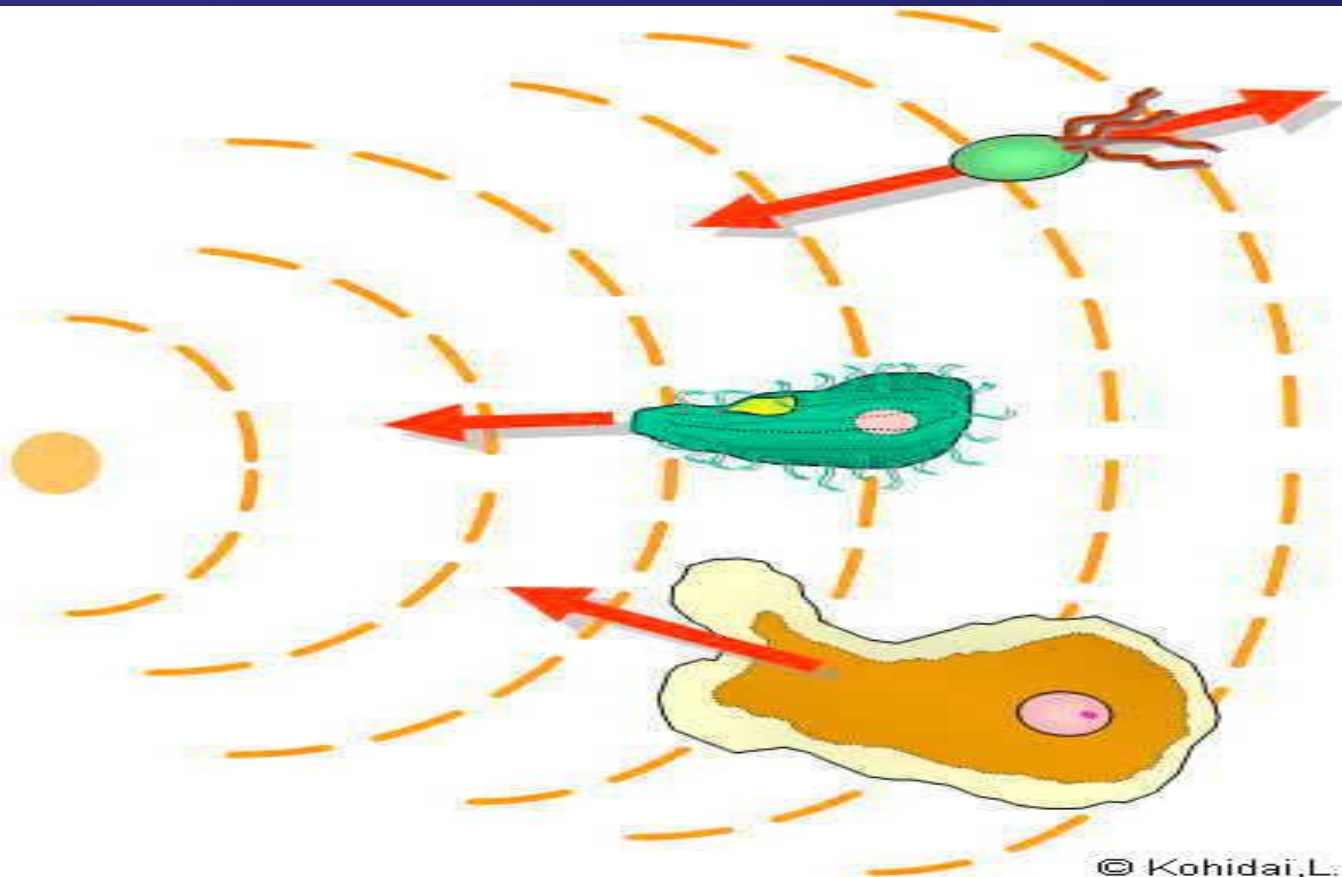
Вклад RIG-I и MDA5 в распознавание конкретных вирусов зависит от того, образуют ли данные микроорганизмы соответствующие формы РНК.

Хемоаттракция

Аттракция - привлечение. Хемоаттракция – привлечение эффекторных клеток в очаг воспаления химическими факторами – хемоаттрактантами.

Основными хемоаттрактантами для фагоцитов являются:
высококонсервативные структуры стенки бактериальных клеток – формил-пептиды (f-Met-Leu-Phe), компоненты системы комплемента, хемокины и цитокины.

Хемотаксис – направленное движение клеток по градиенту хемоаттрактантов



Нейтрофилы

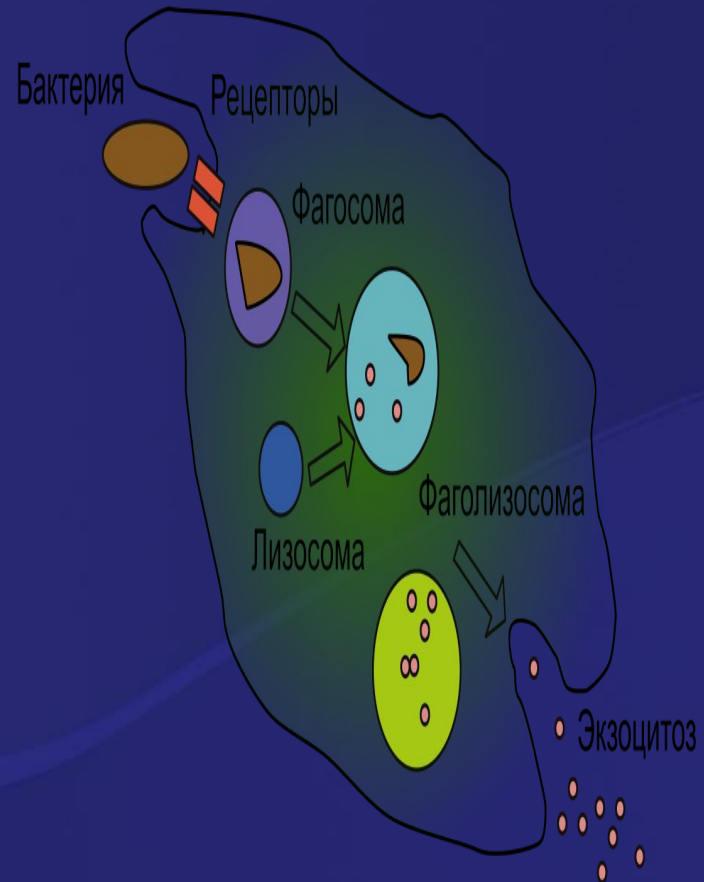
Нейтрофилы составляют значительную часть лейкоцитов периферической крови - 60-70%, или $2,5-7,5 \times 10^9$ в 9 степени клеток в 1 л крови.

Нейтрофилы формируются в костном мозге (миелоидный росток).

Они покидают костный мозг на последней - сегментоядерной стадии или на предпоследней стадии развития - палочкоядерной форме.

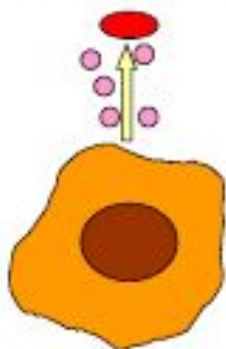
Зрелый нейтрофил циркулирует 8-10 часов в крови и поступает в ткани.

Общая продолжительность жизни нейтрофила - 2-3 суток.



СТАДИИ ФАГОЦИТОЗА

1. Приближение (хемотаксис)



2. Адгезия



3. Активация мембраны



4. Погружение



5. Образование фагосомы



6. Слияние фагосомы с гранулами



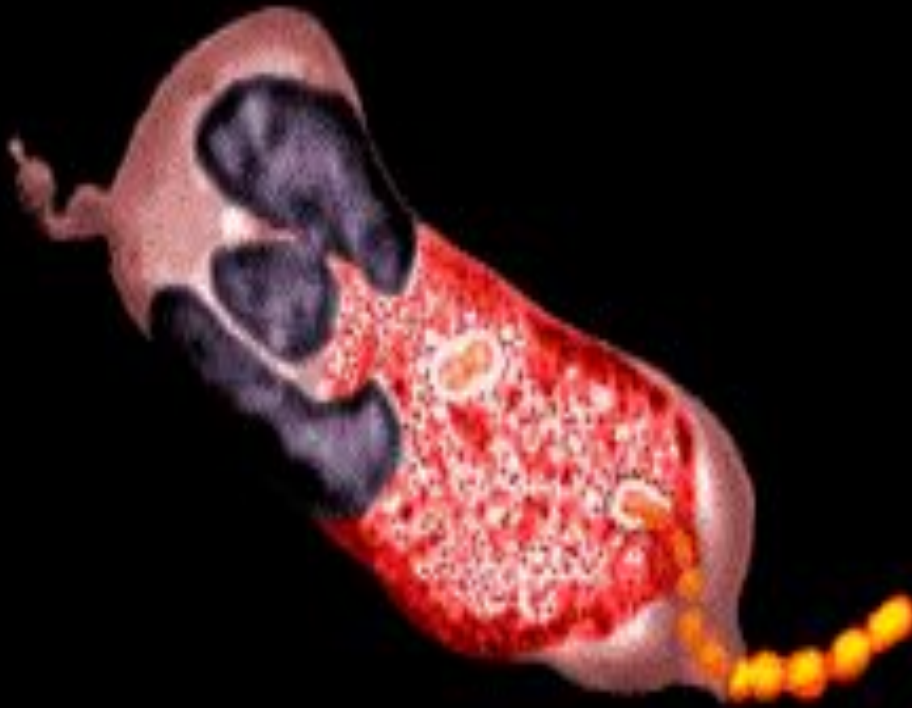
7. Киллинг и переваривание



8. Экзоцитоз

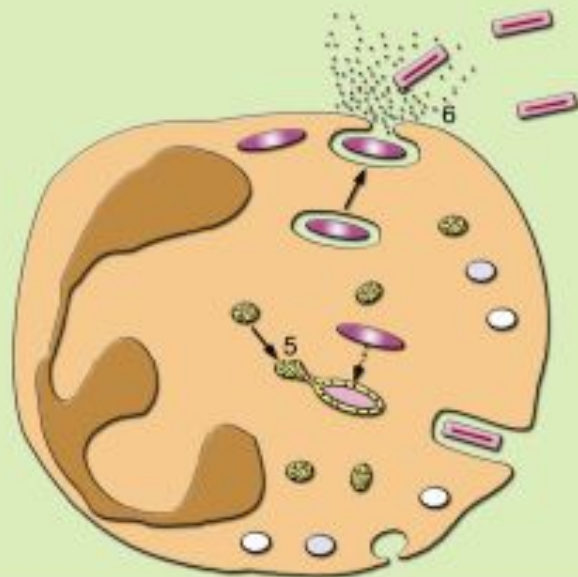


Нейтрофил человека фагоцитирует *Strep. pyogenes*



Нейтрофильные гранулоциты в большинстве своем выполняют в организме роль «мусорщиков» при бактериальных инфекциях и при механическом повреждении тканей – поглощают бактерии и «обломки» поврежденных клеток организма.

а



1

2

3

4

Антимикробные вещества гранул нейтрофилов

Азурофильные гранулы

Миелопероксидаза

Дефензины

Нейтральные протеазы:
эластаза, катепсин G, протеаза 3

Азуроцидин

Белок, повышающий
проницаемость бактерий

Лизоцим

Специфические гранулы

Лактоферрин

Лизоцим

Фосфолипаза A2

Белок, повышающий
проницаемость бактерий

Кателицидин

Липокартин

Белок NGAL

ГРАНУЛЫ НЕЙТРОФИЛОВ:

1. Азурофильные (первичные)
2. Специфические (вторичные)
3. Желатиназные (третичные)
4. Секреторные везикулы

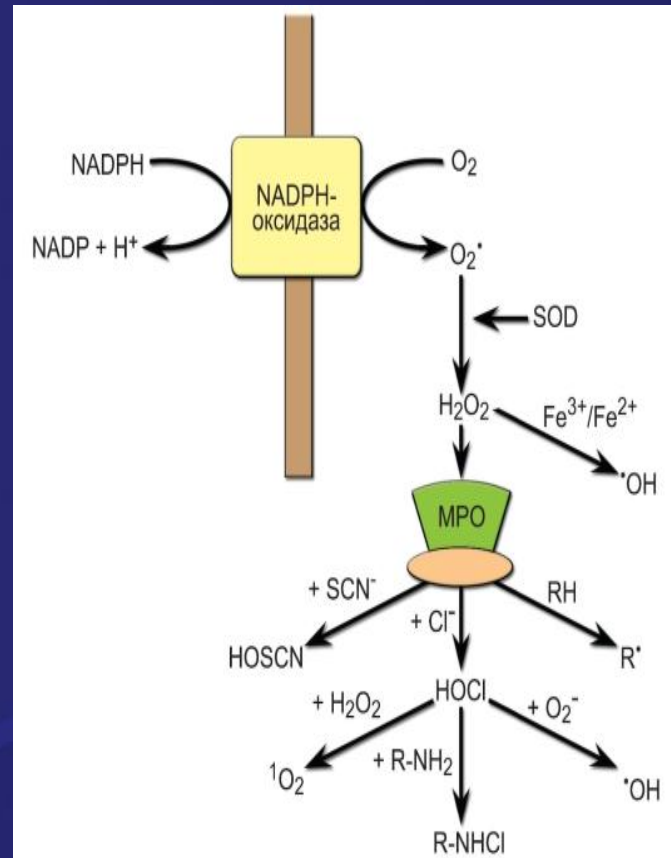
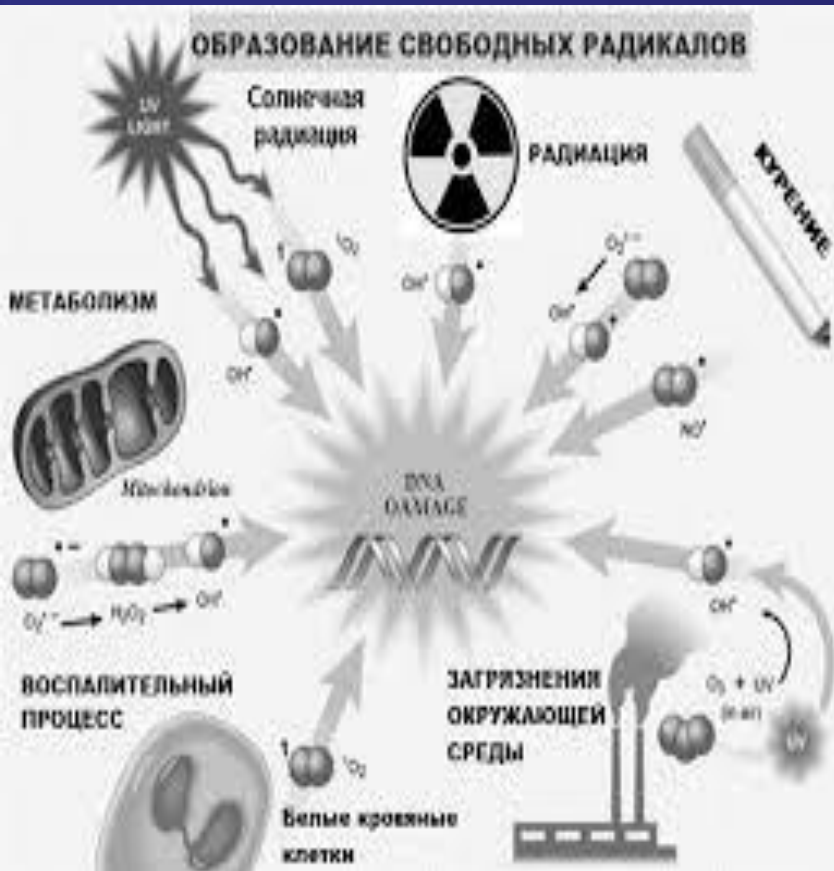
ЭФФЕКТОРНЫЕ СТАДИИ:

5. Формирование фаголизосомы
6. Дегрануляция

б

1. Свободные радикалы кислорода в организме.

2. Образование активных форм кислорода фагоцитами («кислородный взрыв»: роль НАДФ-Н оксидазы, супероксиддисмутазы, миелопероксидазы).



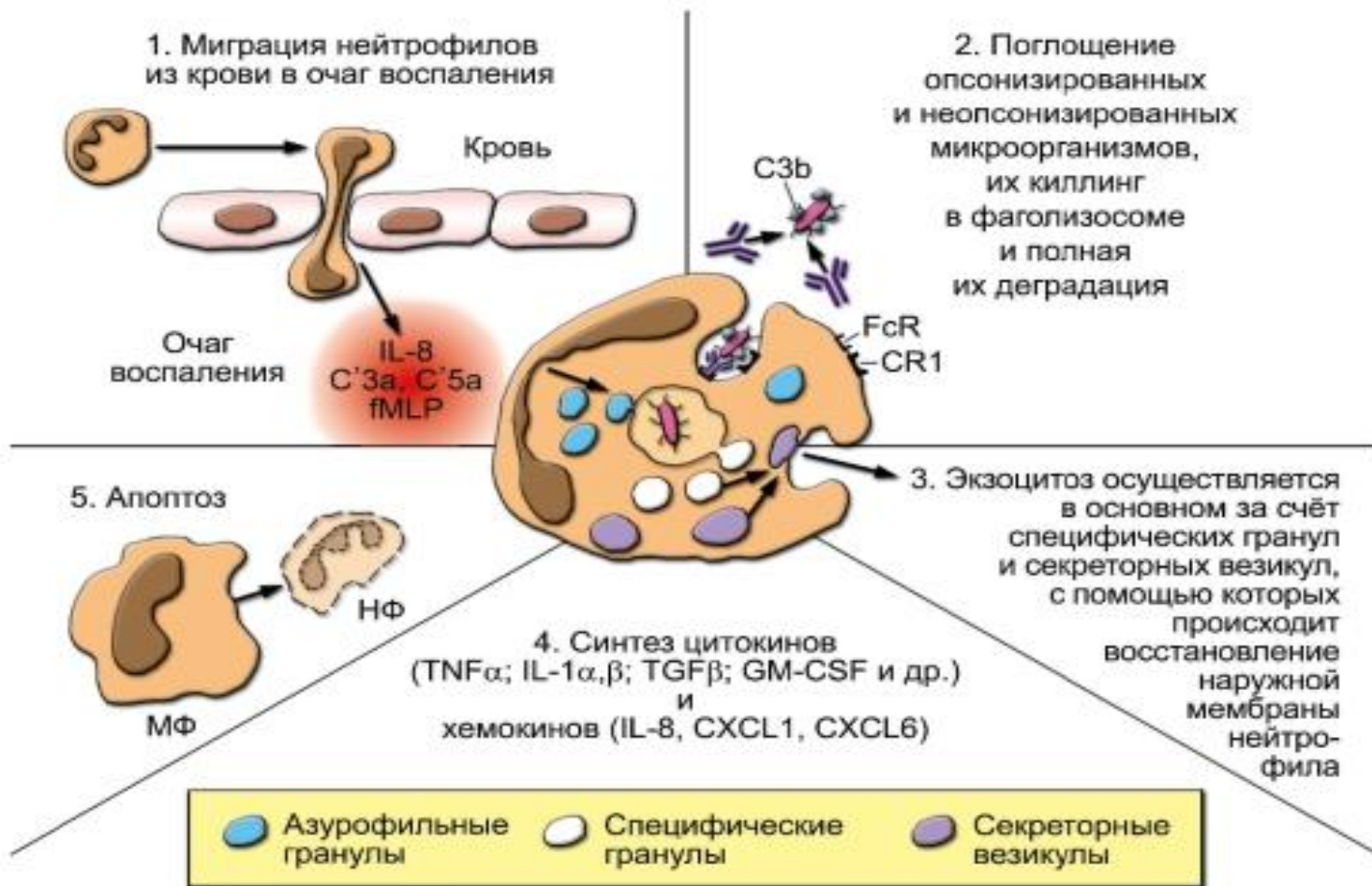
Основные процессы, в которых принимают участие нейтрофилы: миграция, поглощение, дегрануляция, внутриклеточный киллинг, деградация, экзоцитоз и апоптоз

Активация нейтрофилов происходит с помощью хемокинов, цитокинов, некоторых компонентов системы комплемента и микробных веществ, в частности, формиловых белков клеточной стенки бактерий.

Активация нейтрофила сопровождается его дегрануляцией, образованием активных форм кислорода и синтезом цитокинов и хемокинов.

Апоптоз нейтрофилов и их фагоцитоз макрофагами - важная часть воспаления, так как своевременное удаление из организма активированных нейтрофилов препятствует разрушающему действию их ферментов и оксидантов на окружающие ткани организма.

Основные процессы, происходящие в нейтрофилах (НФ) при их активации и фагоцитозе



Эозинофилы

Как и нейтрофил, эозинофил образуется в костном мозгу из клетки – предшественницы (миелоидный росток).

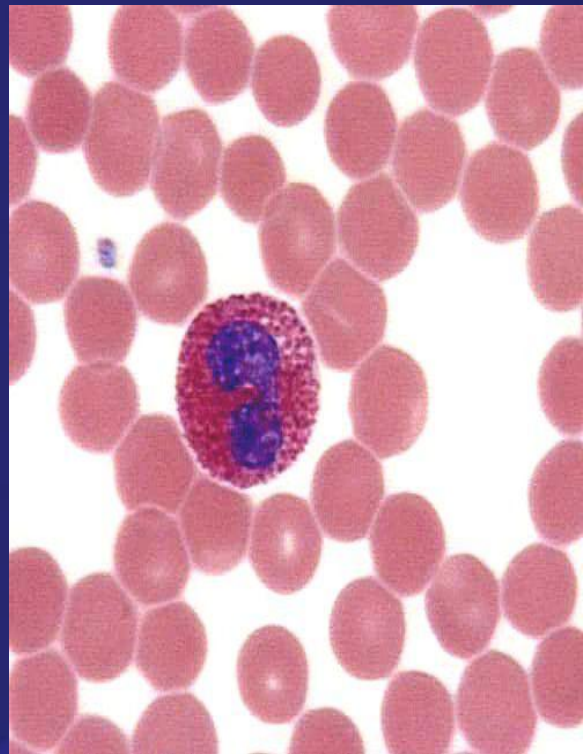
В процессе созревания проходит те же стадии, что и нейтрофил, однако в гранулах эозинофила содержатся другие вещества- ферменты, фосфолипиды и белки.

После полного созревания эозинофилы живут несколько дней в костном мозгу, затем выходят в кровь, где циркулируют 3 – 8 часов.

Из крови эозинофилы перемещаются в ткани, контактирующие с внешней средой – слизистые оболочки дыхательных путей, мочеполового тракта и кишечника.

В общей сложности эозинофил живет 8 – 15 суток.

В норме соотношение числа эозинофилов кровь: ткани составляет 1: 100 (в крови в норме должно быть менее 5% эозинофилов)



Пауль Эрлих 1879 год.

Открытие эозинофильных
клеток

ГРАНУЛЫ ЭОЗИНОФИЛОВ И ИХ СОДЕРЖИМОЕ

Первичные гранулы

Белок Шарко-
Лейдена:
лизофосфолипаза

Вторичные гранулы

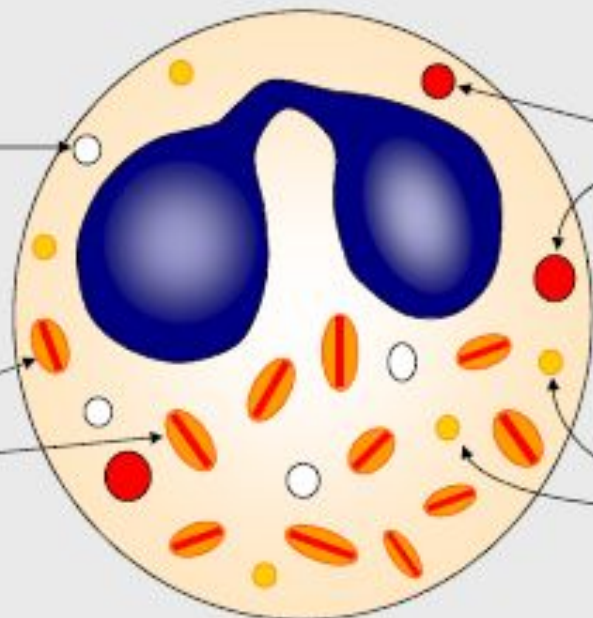
Основной белок
(MBP)
Нейротоксин (EDN)
Катионный белок
(ECP)
Пероксидаза (EPO)
Цитокины

Липидные тельца

Циклооксигеназа 5
Липоксигеназа
LTC₄-синтаза
Арахидоновая кислота

Малые гранулы

Арилсульфатаза B
Кислая фосфатаза

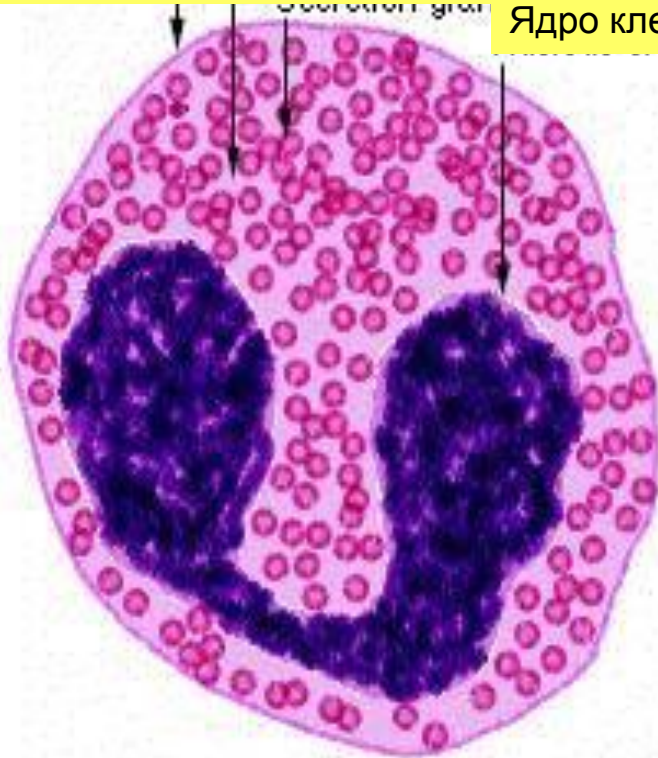


Эозинофилы

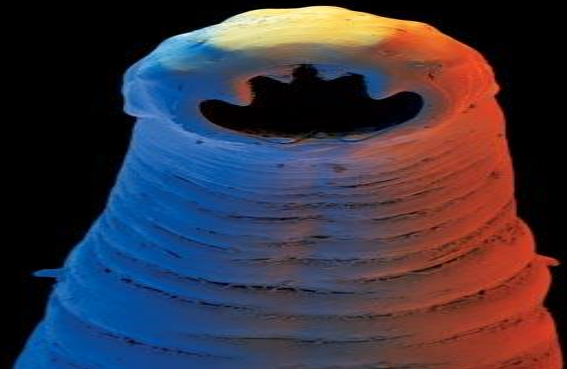
Мембрана

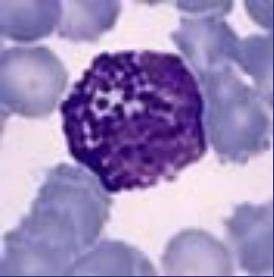
Цитоплазма Гранулы

Ядро клетки

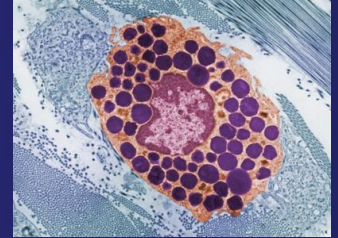


Эозинофилы чаще всего участвуют в борьбе с внеклеточными паразитарными инфекциями и аллергенами.





Базофилы и тучные клетки(ТК)

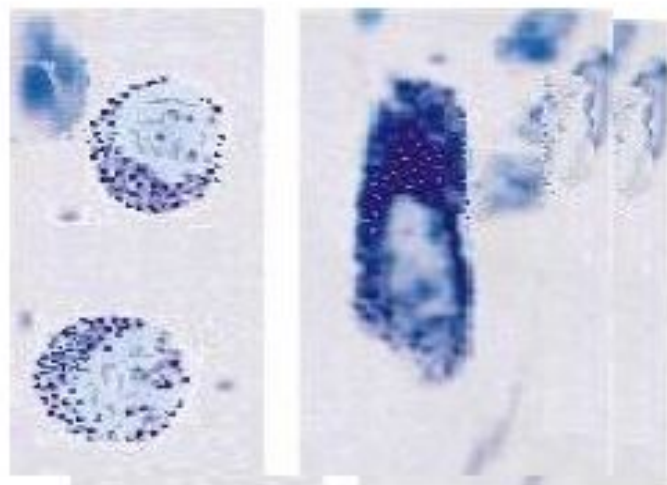
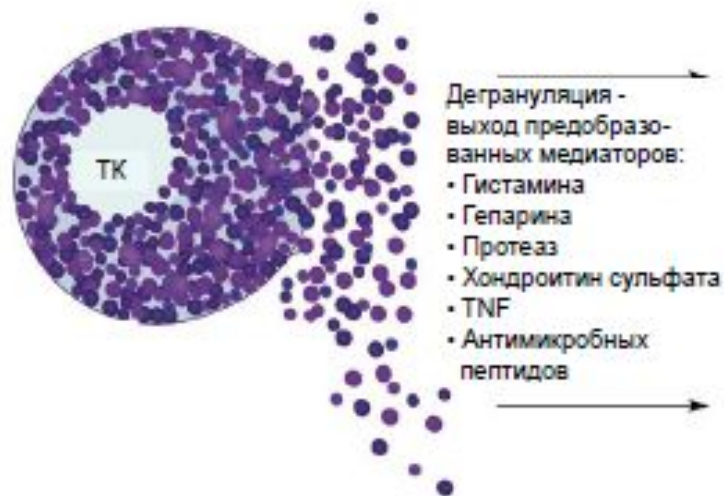


Тучные клетки при активации способны освобождать в окружающее пространство ферменты, цитокины, хемокины, протеогликаны, простагландины, лейкотриены и др.

Некоторые вещества –хранятся в гранулах ТК (преформированные) и изливаются в ответ на стимуляцию ТК, другие медиаторы –быстро синтезируются *de novo* вслед за активацией ТК.

Благодаря своей способности выбрасывать сразу большое количество медиаторов , тучные клетки играют ведущую роль в реакциях врожденного иммунного ответа, а также во время эффекторной фазы адаптивного иммунного ответа и при ГНТ (гиперчувствительности немедленного типа).

ГРАНУЛЫ БАЗОФИЛОВ И ТУЧНЫХ КЛЕТОК



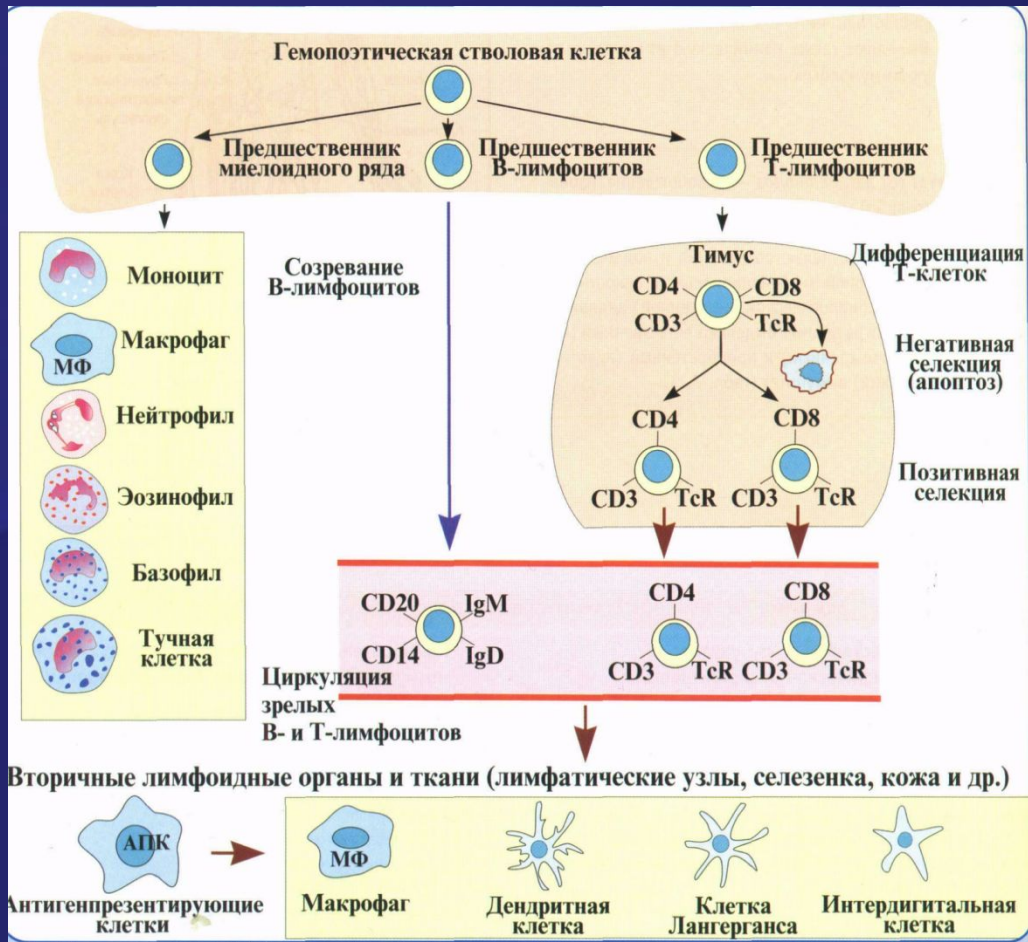
Базофилы крови (слева) и тканевая тучная клетка (справа).
Оба вида клеток содержат большое количество базофильных гранул. Тучная клетка имеет большие (20 мкм) по сравнению с базофилами (10-14 мкм) размеры.

Унитарная теория (А. А. Максимов, 1909 г.) - все форменные элементы крови развиваются из единого предшественника - стволовой клетки



Александр Александрович
Максимов (1874 –1928)
1903-1922 годы -
Профессор Императорской
ВМА и Петроградского
университета;
1922-1928 годы -
профессор Чикагского
университета

Современные данные



Макрофаги – потомки моноцитов крови

Моноциты, макрофаги, нейтрофилы происходят от клеток –предшественников миелоидного ряда в костном мозге.

После созревания выходят из костного мозга в периферическую кровь.

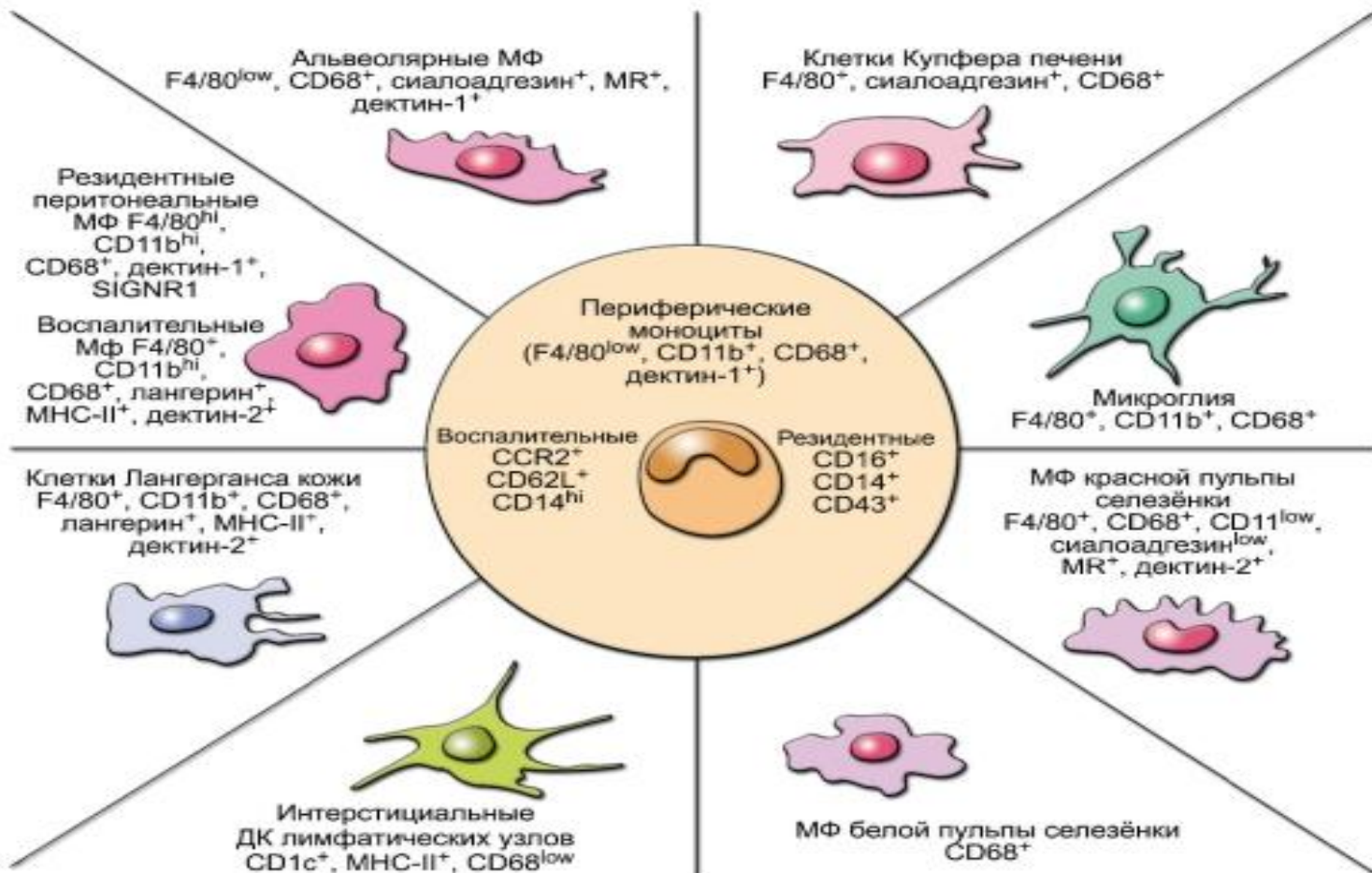
Моноциты, мигрировавшие в ткани, становятся резидентными макрофагами.

В зависимости от того, в какой орган мигрировали моноциты, они могут превращаться в тканевые макрофаги, например:

- Купферовы клетки печени.
- Синусовые макрофаги селезенки.
- Мезангиальные фагоциты почки.
- Оседлые и рециркулирующие макрофаги лимфоузлов.
- Микроглия в центральной нервной системе.
- Макрофаги полостей тела.
- Интерстициальные макрофаги.
- Альвеолярные макрофаги.

Гетерогенность клеток, происходящих от моноцитов.

Тканевые макрофаги (МФ) и дендритные клетки (ДК) происходят от моноцитов (МН) периферической крови



Макрофаг x 5000

Макрофаги во всех органах и тканях способны к :

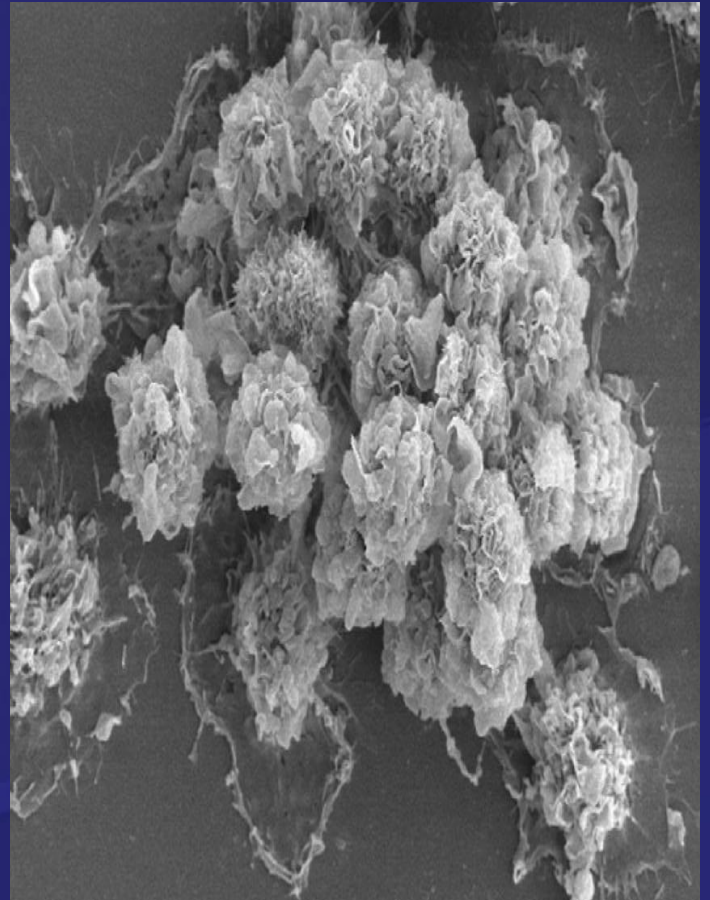
- антигенной презентации (они являются профессиональными антигенпредставляющими клетками-АПК);
- к синтезу цитокинов;
- к запуску воспаления;
- к активации процессов репарации и ремоделирования поврежденных тканей путем освобождения металлопротеиназ и факторов, активирующих фибробласты.



Дендритная клетка x 5000

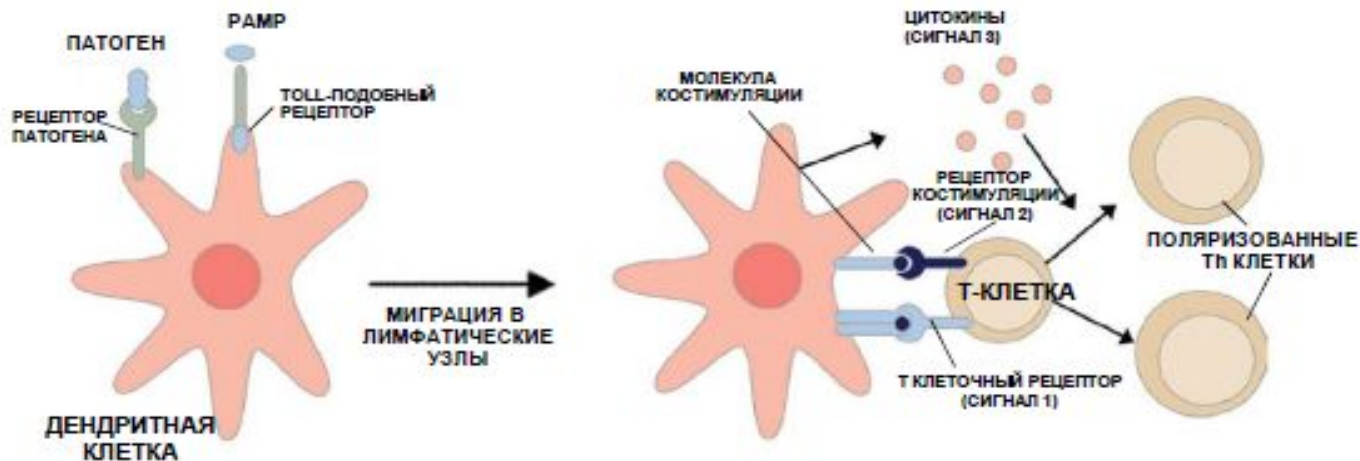
**Дендритные клетки- самые
важные
антигенпрезентирующие
клетки (АПК),**

так как они расположены повсеместно; после контакта с антигеном транспортируют его в ближайшие лимфатические узлы ; синтезируют хемокины, привлекающие в ЛУ наивные лимфоциты; способны предоставлять им антигенные пептиды как в молекулах МНС I, так и в молекулах МНС II; синтезируют цитокины, определяющие тип адаптивного иммунного ответа (клеточный или гуморальный) – в зависимости от типа патогена (внутриклеточный или внеклеточный).



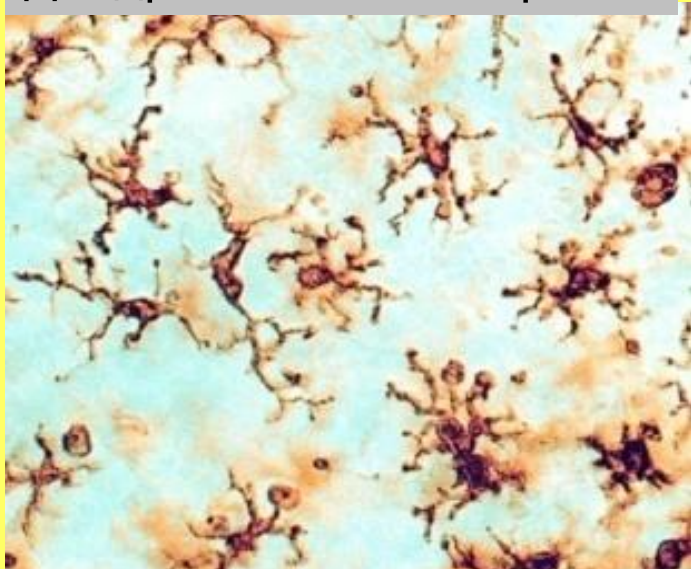
Ключевой игрок в активации иммунного ответа на патоген: дендритная клетка.

Приносит сигнал с периферии – в лимфатический узел

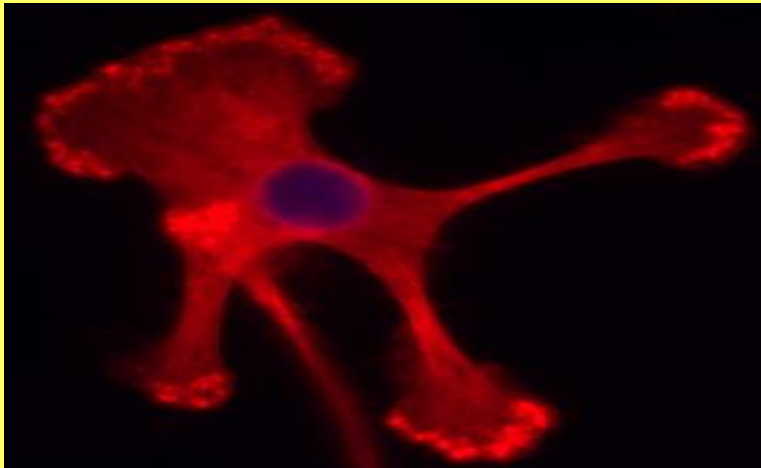
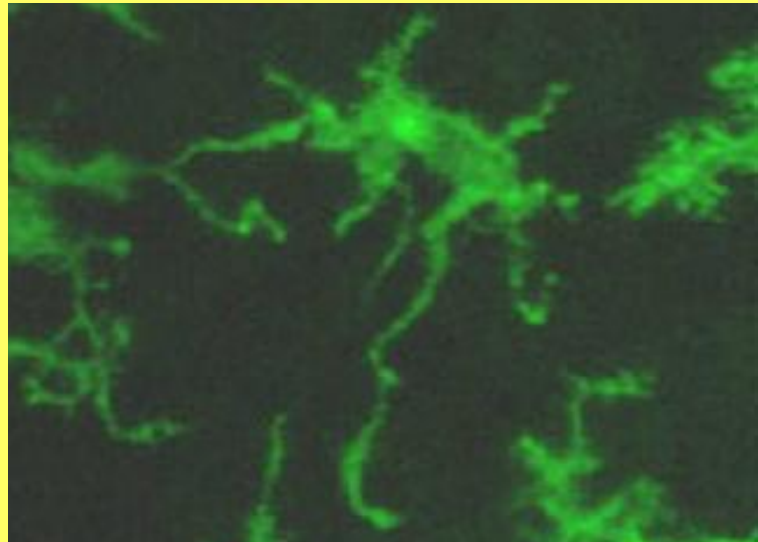


Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med.* 1973, 137:1142-1162.

Дендритные клетки трахеи



Клетки Лангерганса (кожа)



In-vitro –
полученные
дендритные клетки
из моноцитов

Естественные киллеры (NK) –клетки врожденного иммунитета

- Большие гранулярные лимфоциты («нулевые клетки», «не Т, не В-клетки»).
- Т- клеточный рецептор отсутствует.
- Распознают «чужое» по отсутствию «своего» –(отсутствие «своего» в данном случае - недостаточная плотность экспрессии на поверхности клеток-мишеней молекул МНС I класса) путем сложной системы ингибирующих и активирующих сигналов.
- Популяция не клонируется.
- Мишени естественных киллеров – вирустрасформированные и малигнизированные клетки, не экспрессирующие достаточное число молекул МНС I класса.
- Пик активности естественных киллеров приходится на 3-й день после начала инфекции, тогда как для цитотоксических Т-лимфоцитов он наступает на 7-й день.
- Убивают мишени естественные киллеры почти мгновенно («поцелуй смерти»).

Естественные киллеры (НК)

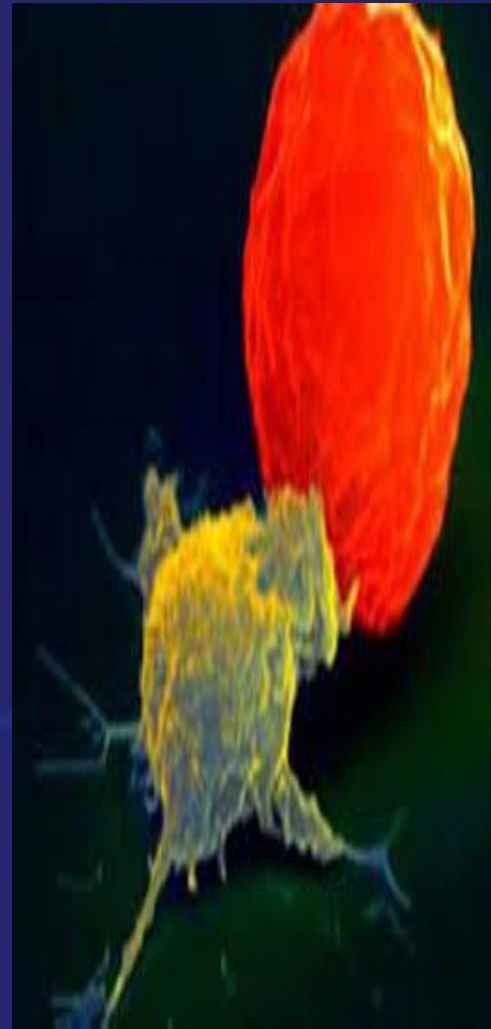
Число НК в крови - 5-15%; в лимфоузлах и селезенке 2.5-5% (от всех мононуклеаров).

В отличие от других лимфоцитов, про-НК-клетки из костного мозга попадают в кровотоки и перемещаются во вторичные лимфоидные органы (минуя стадию «обучения» в тимусе).

В лимфатических узлах про-НК-клетки входят в парафолликулярное пространство, где происходит их дальнейшее созревание.

Для созревания этих клеток необходимо наличие в микроокружении интерлейкина 15 (ИЛ-15), который синтезируется некоторыми видами дендритных клеток.

Срок жизни естественных киллеров – 7-10 суток.

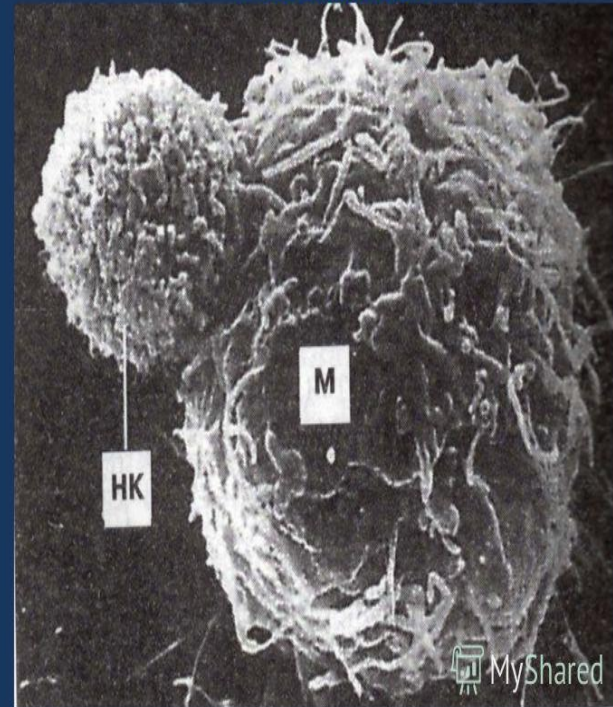


Естественные киллеры (NK)

Естественные киллеры играют ключевую роль в тех случаях, когда необходимо убить инфицированные или опухолетрансформированные клетки, которые не экспрессируют молекулы MHC I класса.

В таких случаях цитотоксические Т лимфоциты не могут выполнять свои функции, поскольку корецептор CD 8 цитотоксического Т лимфоцита распознает молекулу MHC I, а Т рецептор распознает антигенный пептид, упакованный в молекулу MHC I.

Взаимодействие натурального киллера и клетки-мишени



Рецепторы естественных киллеров: для лизиса клетки-мишени недостаточно одной только отсутствия подавляющего сигнала, необходимо также наличие активирующего сигнала

Ингибирующие рецепторы:

Несколько типов KIR (англ. Killer immunoglobulin-like receptor), распознающие классические молекулы MHC класса Ia (HLA-A, HLA-B и HLA-C);

Гетеродимерный рецептор CD94 / NKG2A, взаимодействует с неклассическими молекулами MHC класса Ib (HLA-E).

Ингибиторные сигналы, поступающие от этих рецепторов после их взаимодействия с молекулами главного комплекса гистосовместимости способны подавлять любой активирующий сигнал.

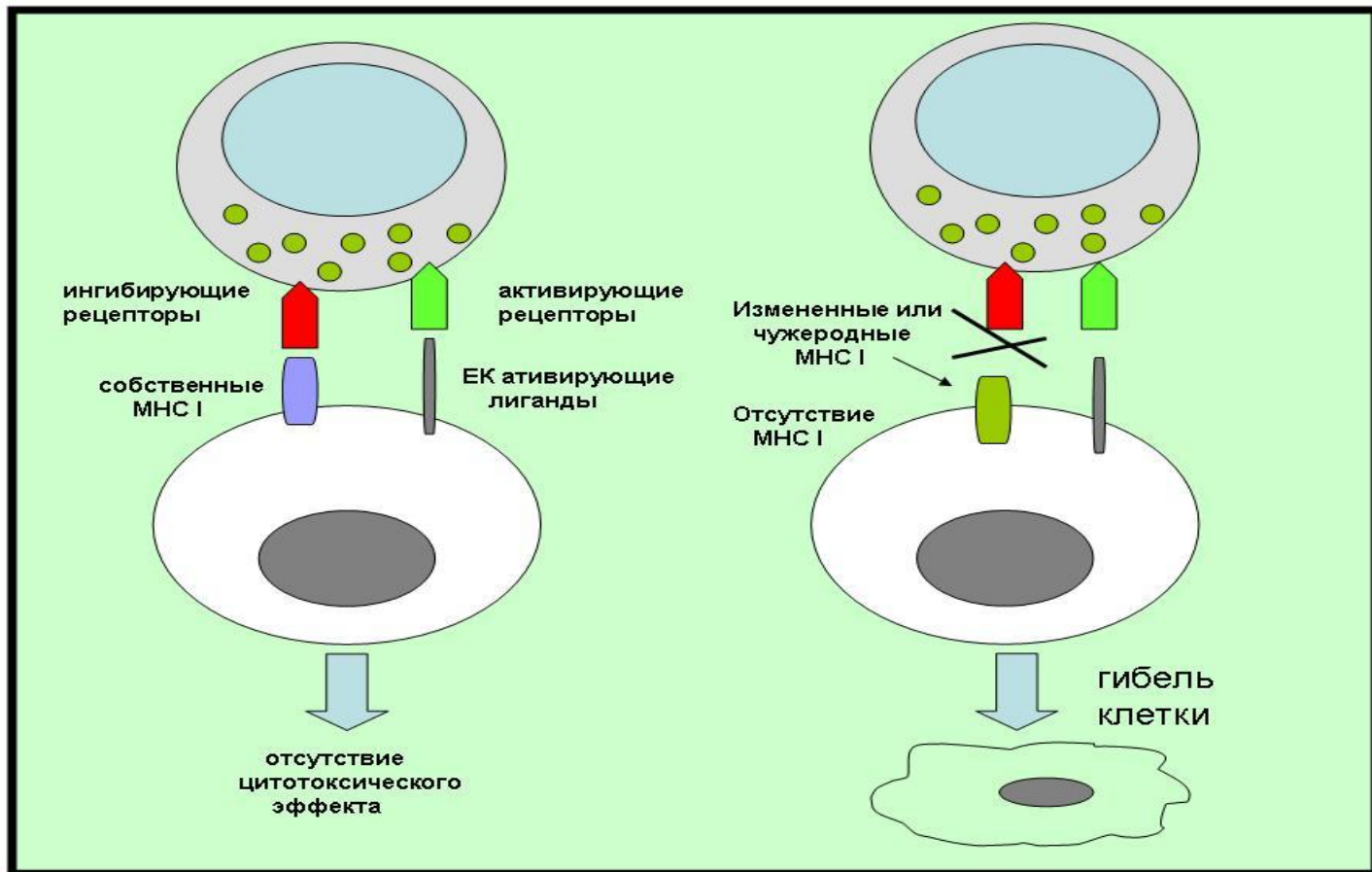
Активирующие рецепторы:

- NKG2D
- NCR
- нектин и нектин-образные R
- NKp80 и некоторые другие.

Например, NKG2D распознает по крайней мере шесть различных лигандов (три из них является трансмембранными белками (MICA, MICB и ULBP-4), еще три — гилкофосфатидилинозитол (например ULPB-4).

Эти лиганды отсутствуют на поверхности нормальных клеток организма, они появляются в случае генотоксического или клеточного стресса, возникающего, например, при заражении вирусом или злокачественном перерождении.

Цитотоксическое действие естественных киллеров зависит от динамического равновесия между ингибиторными и активирующими рецепторами



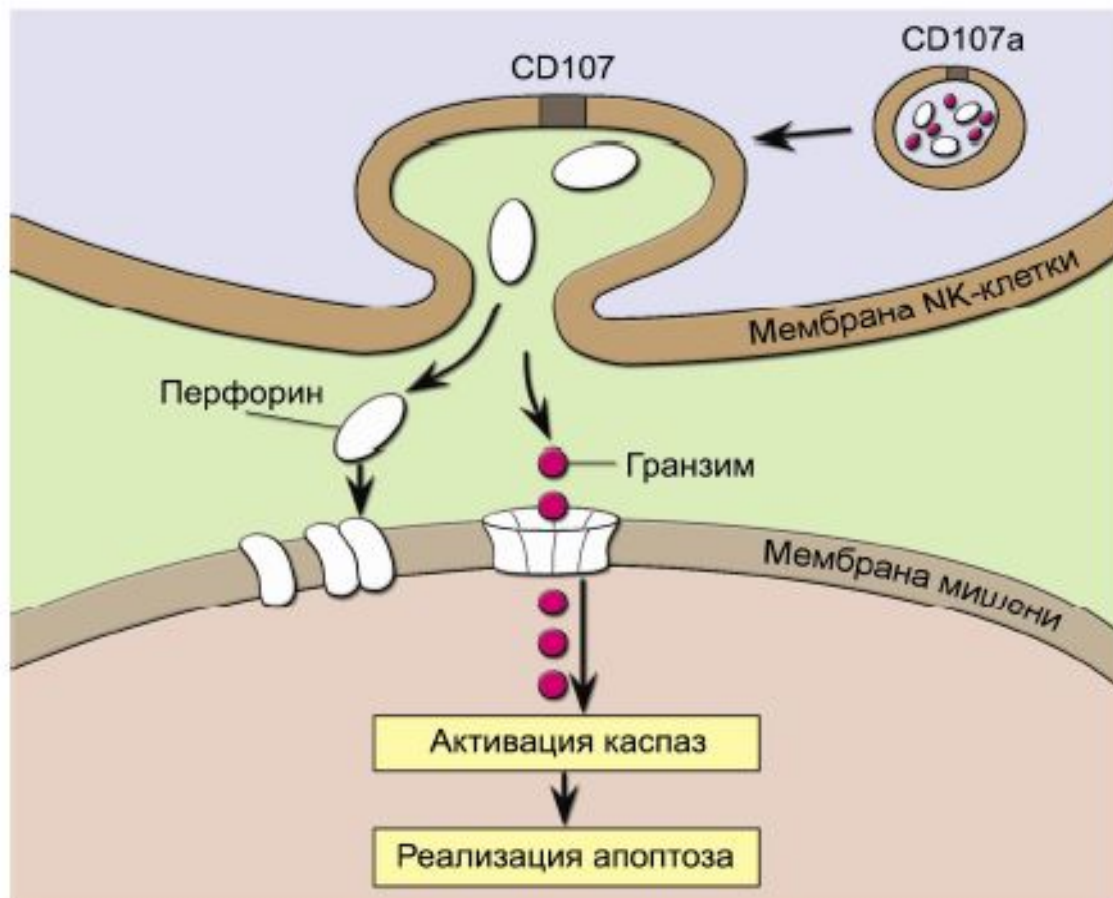
Механизмы цитотоксичности НК-клеток

1. Большинство НК-клеток имеют своей поверхностный белок FasL, который при активации присоединяется к рецептору смерти Fas на поверхности клетки-мишени и таким образом активирует в ней апоптоз.

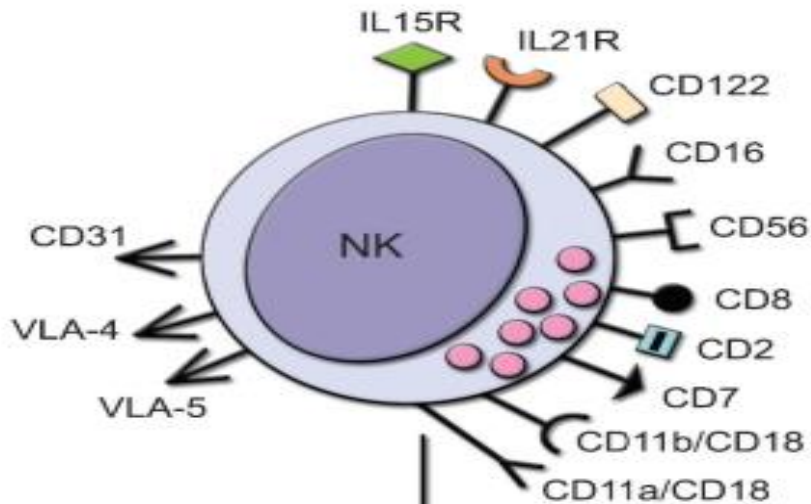


2. Естественные киллеры содержат гранулы, заполненные белками - перфорины и гранзимами, при активации натурального киллера происходит его дегрануляция.
 - 2 а. Перфорины встраиваются в мембрану мишени и образуют каналы, это само по себе может вызвать осмотическое лизис клетки.
 - 2 б. Через эти каналы в цитоплазму клетки могут попадать протеазы - гранзимы, которые запускают каскад реакций активации апоптоза клетки –мишени.

ПЕРЕНОС В КЛЕТКУ-МИШЕНЬ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ



Общая характеристика и свойства НК-клеток. Рецепторы для ИЛ-15 и ИЛ-21 (IL15R и IL21R)



Функции



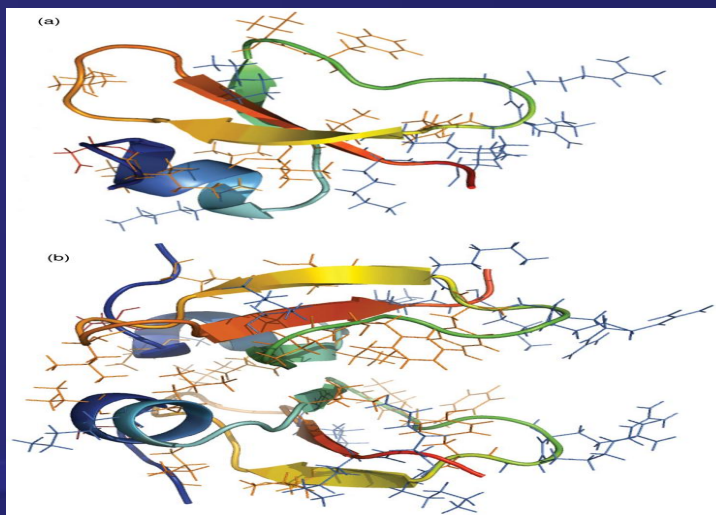
Гуморальные факторы врожденного иммунитета - **дефенсины**

Дефензины (от англ. Defens
защита) - катионные пептиды,
активные в отношении
бактерий, грибов и многих
оболочечных и безоболочечных
вирусов.

Состоят из **18-45** аминокислот, в
том числе 6-8
цистеиновых эволюционно
консервативных остатков.

Дефензины, синтезируемые
нейтрофилами, и другими
лейкоцитами, эпителиальными
клетками, присоединяются к
клеточной мембране
микроорганизма и углубляются
в неё, формируя порообразные
разрывы («дырки»), после чего
гибель клеток –мишеней
происходит по законам осмоса.

Дефензины способны уничтожать
самые разнообразные микробы,
включая *Staphylococcus aureus*,
Pseudomonas aeruginosa, *E. Coli*,
а также обладающий оболочкой
вирус простого герпеса.



Мономер(а) и димер(б) дефензина человека

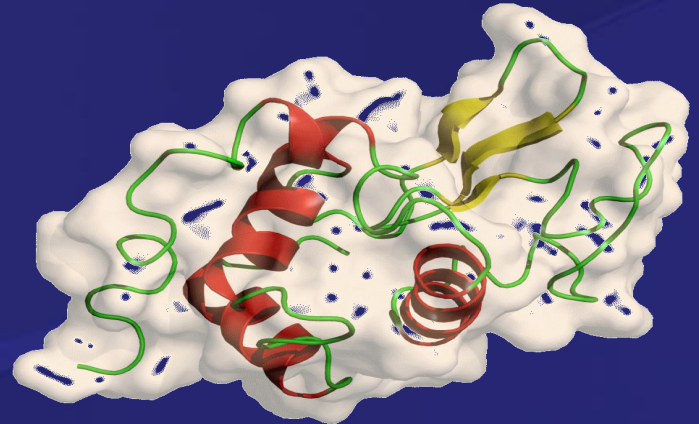
Гуморальные факторы врожденного иммунитета – **ЛИЗОЦИМ**

Лизоцим (мурамидаза) — фермент, обладающий специфической способностью вызывать растворение некоторых микроорганизмов.

У человека лизоцим обнаружен в слезах, мокроте, слюне, кровяной сыворотке и плазме, в женском молоке, в слизистой оболочке носа, селезенке, печени, костном мозге, хряще, сальнике, лейкоцитах, сердце, в экстрактах кишечника и поджелудочной железы и др.

Грамположительные микробы чувствительны к лизоциму, грамотрицательные — резистентны.

Ферментативное расщепление ригидного муреинового слоя бактериальной клеточной стенки сопровождается выделением мураминовой, диаминопимелиновой, глютаминовой и аспарагиновой кислот, глюкозамина, аланина, серина и лизина.



Трехмерная структура лизоцима

Гуморальные факторы врожденного иммунитета – белки острой фазы

Осторофазовые белки – большая группа белков сыворотки крови, массой от 12 до 340 KDa, объединяются по общему признаку – быстрое и существенное повышение концентрации при бактериальной, вирусной, паразитарной инфекции, физической или химической травме, токсической или аутоиммунной реакции, злокачественных новообразованиях.

Синтез: гепатоциты, моноциты, нейтрофилы, лимфоциты.

Функции: повышение устойчивости клеток к окислению, в ограничении повреждения тканей, в подавлении скорости размножения бактерий.

В развитии острофазового ответа участвуют иммунная, центральная нервная, эндокринная, сердечно-сосудистая системы организма.

Представители:

«позитивные БОФ» (концентрация повышается):

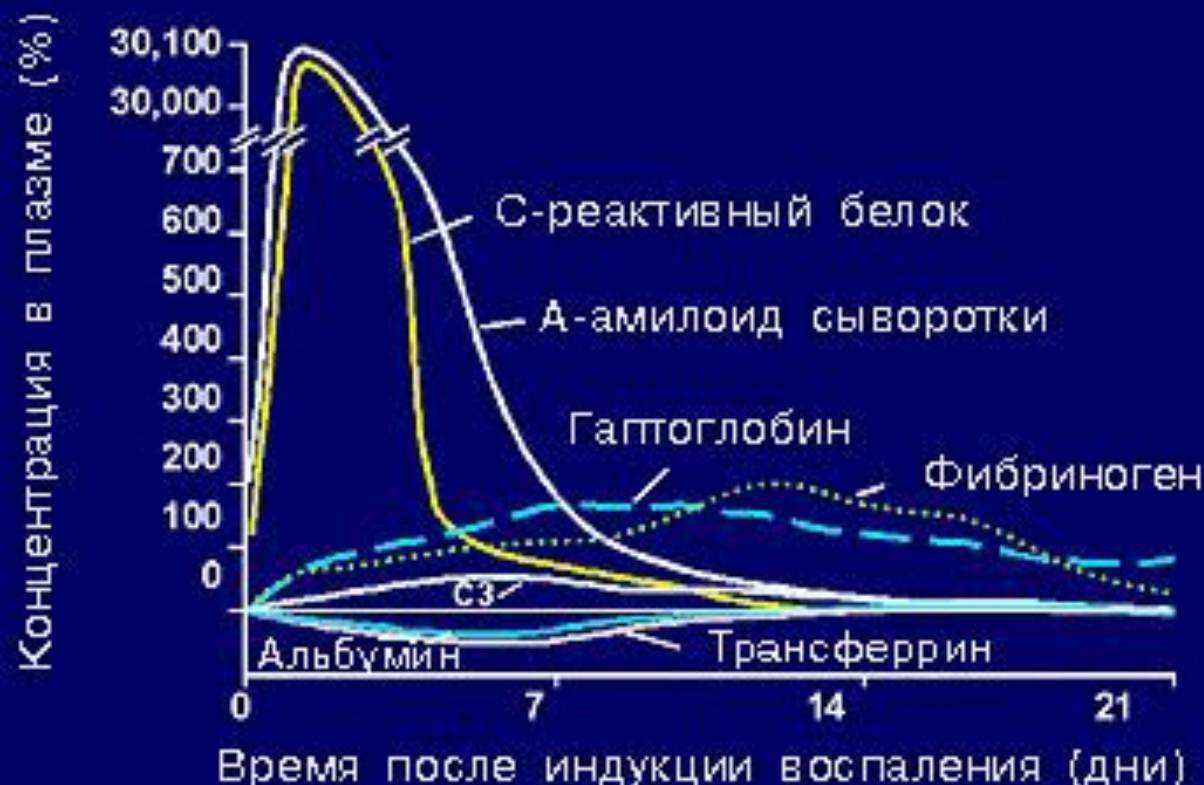
С-реактивный белок (СРБ), сывороточный амилоид Р (САР), гаптоглобин, α 2 макроглобулин, церулоплазмин, α 1 – антитрипсин, компоненты комплемента.

«негативные БОФ» (концентрация снижается) :

альбумин, трансферрин, преальбумин

Белки острой фазы (БОФ) – около 30 белков плазмы крови, участвующих в воспалительном ответе организма на различные повреждения

Изменения концентраций реактантов острой фазы при умеренном воспалении



Пентраксины: СРБ

С-реактивный белок (СРБ) был впервые описан в 1930 г. как белок, который в присутствии ионов кальция связывается с С-капсульным полисахаридом пневмококка.

Структура и функции СРБ

СРБ принадлежит к эволюционно древнему, семейству белков -пентраксинов («пятигранники»).

Этот белок есть уже у членистоногих, которые возникли, по крайней мере, 500 млн лет назад.

СРБ состоит из 5 одинаковых субъединиц, нековалентно связанных между собой – отсюда и название – пентраксины.

Молекулярная масса каждой субъединицы – 21–23 кДа, молекулярная масса в целом около 115 кДа



Уровень С-реактивного белка, определяемый высокочувствительным методом (hsСРБ), отражает вялотекущее воспаление в интиме сосудов и определяет риск развития атеросклероза.

Переход СРБ из пентамерной формы в мономерную приводит к активации эндотелия, к продукции цитокинов, к адгезии нейтрофилов, к развитию атеросклероза

Пентамерный СРБ

Мономерный СРБ

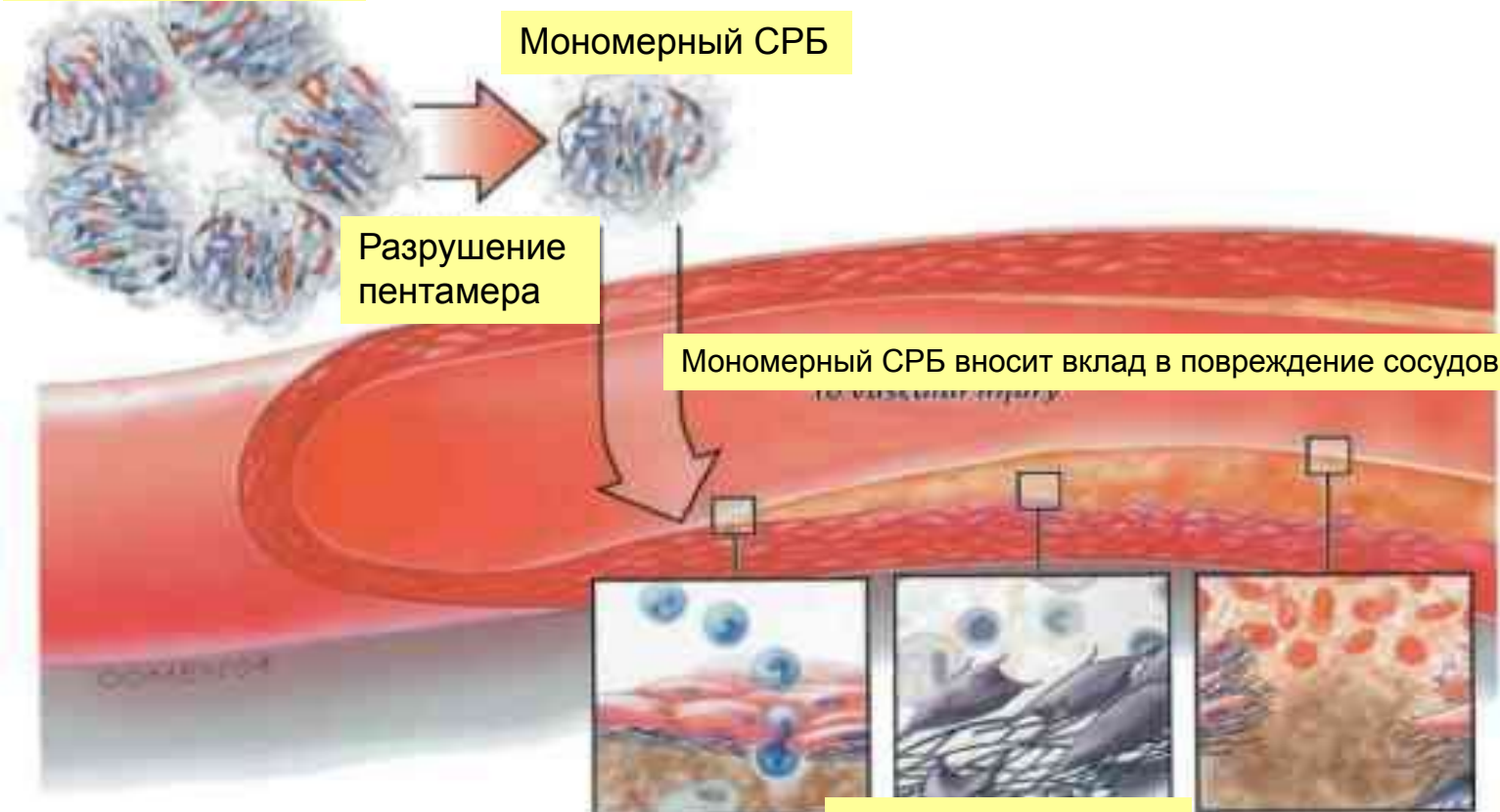
Разрушение пентамера

Мономерный СРБ вносит вклад в повреждение сосудов

Адгезия НФ

Активация эндотелия, синтез цитокинов

Бляшкообразование



Защитные свойства СРБ

**СРБ имеет много свойств,
характерных для
иммуноглобулинов:**

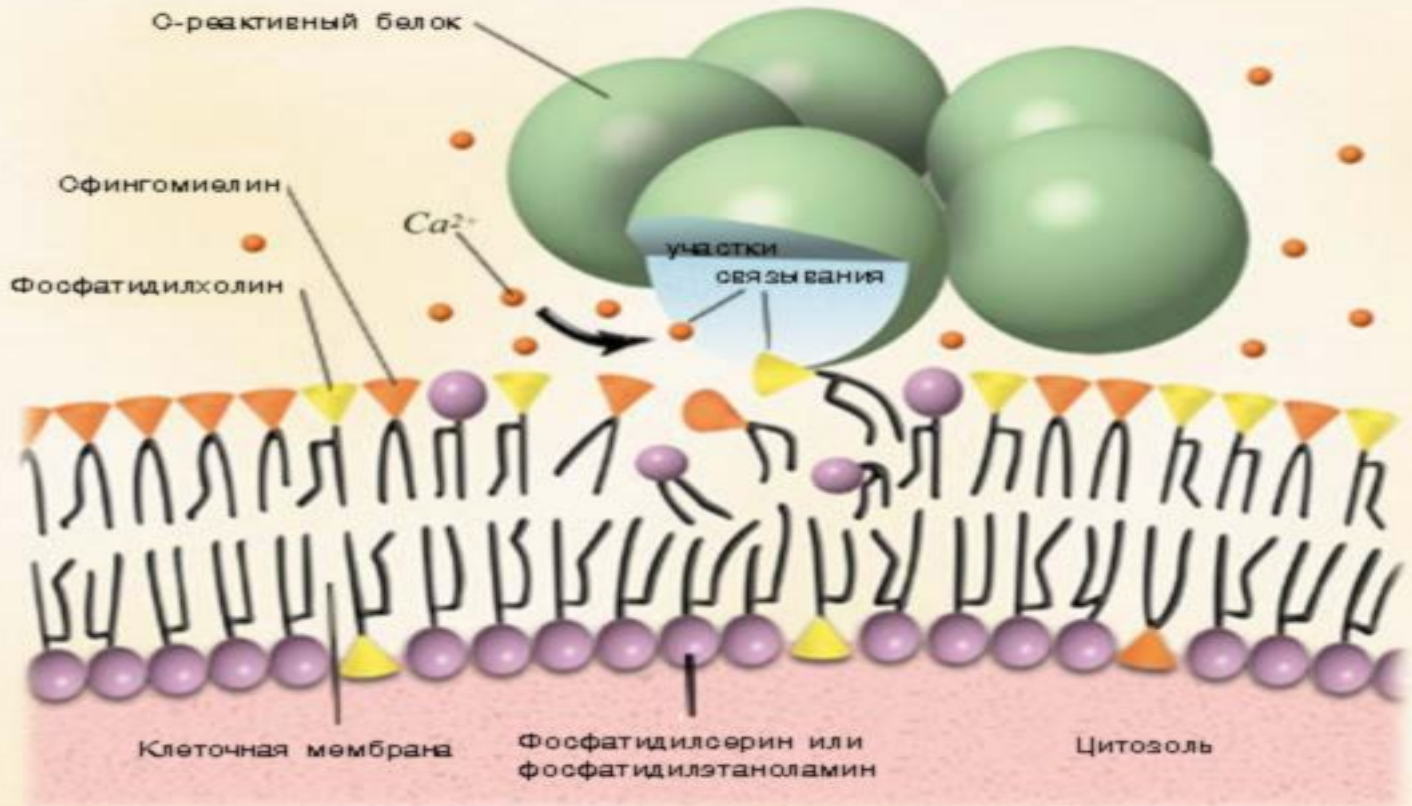
он связывается с бактериальными полисахаридами и гликолипидами, с поврежденными мембранами и с экспонированными ядерными антигенами.

Это, в свою очередь, приводит к связыванию с **C1q** и активации классического каскада комплемента ,

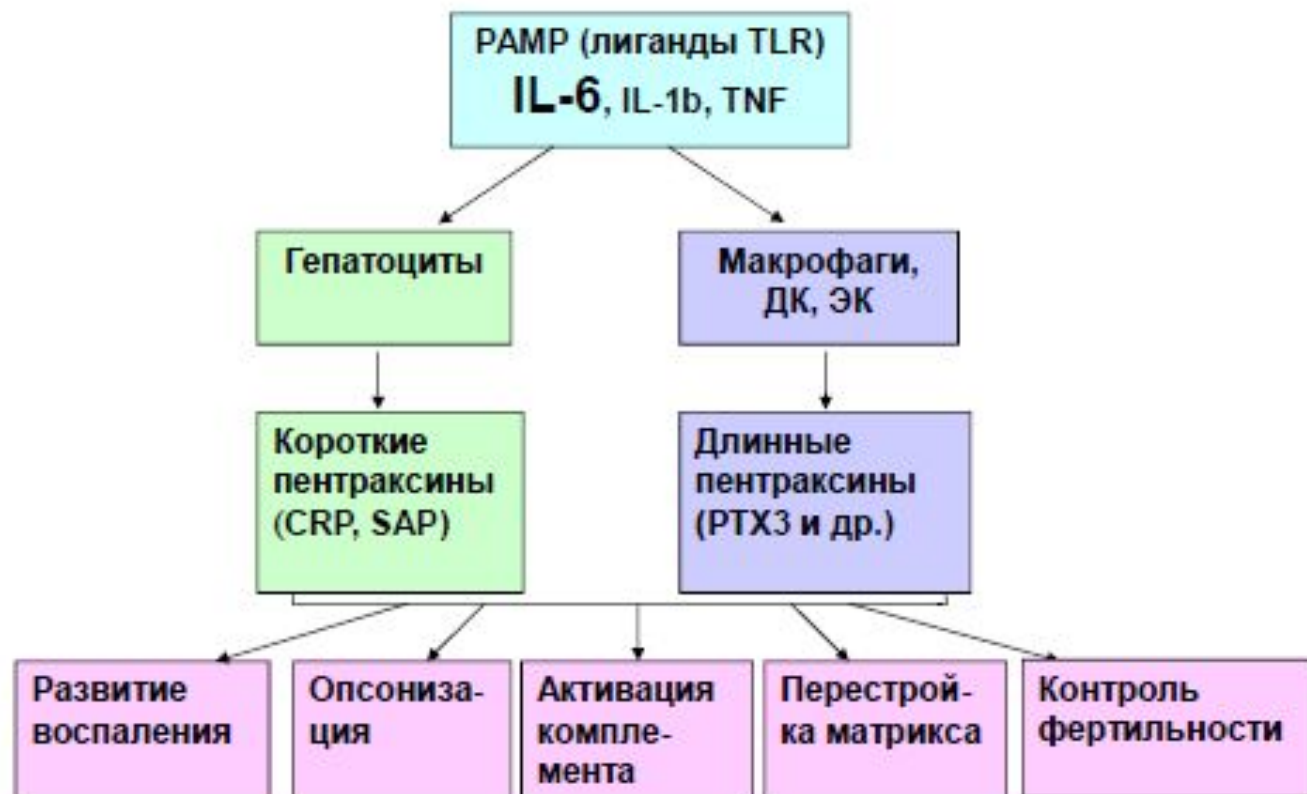
СРБ также связывается с Fc рецепторами и повышает фагоцитоз определенных антигенов и микроорганизмов .



СРБ, связывая фосфорилхолин клеточных стенок ряда бактерий и одноклеточных грибов, опсонизирует их и активирует систему комплемента по классическому пути



КЛЕТОЧНОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ФУНКЦИИ ПЕНТРАКСИНОВ



Гуморальные факторы врожденного иммунитета: цитокины

Цитокины — составная часть молекулярных механизмов как врожденного, так и адаптивного иммунитета.

Цитокины врожденного иммунитета запускают ПРОЦЕСС ВОСПАЛЕНИЯ:

- Активируют экспрессию адгезионных молекул на эндотелии .
- Активируют клетки-эффекторы воспаления.
- Регулируют местные и системные проявления воспалительных реакций.
- Цитокины дендритных клеток , синтезируемые в лимфатических узлах, определяют тип адаптивного иммунного ответа.

Цитокины макрофагов и дендритных клеток

Цитокин	Клетки-продуценты	Клетки-мишени	Действие
IL-1 β	Макрофаги, Кератиноциты	Лимфоциты Эндотелий	Активация
		Гепатоциты	Синтез белков острой фазы
IL-6	Макрофаги, дендритные клетки (ДК)	Лимфоциты В-лимфоциты	Активация
		Гепатоциты	Синтез белков острой фазы
CXCL8 (IL-8)	Макрофаги, дендритные клетки (ДК)	Фагоциты	Хемоаттрактант для нейтрофилов

Цитокины макрофагов и дендритных клеток

Цитокин	Клетки-продуценты	Клетки-мишени	Действие
IL-12	Макрофаги, дендритные клетки (ДК)	НК –клетки (синтез ими INF- γ), наивные Т-лимфоциты (Th 0)	Поляризация ответа по Th1 пути, потенция воспаления, секреция Th1 цитокинов (INF- γ)
TNF- α	Макрофаги, дендритные клетки (ДК)	Эндотелий	Повышение адгезии и проницаемости

Гуморальные факторы врожденного иммунитета - интерфероны 1 типа –противовирусная активность

Клетки врожденного иммунитета, пораженные вирусом, синтезируют белки с противовирусной активностью - **«доиммунные интерфероны или интерфероны 1 типа»** :

Интерферон α - лейкоцитарный интерферон, кодируемый у человека семейством генов (примерно 20), расположенных в 9 хромосоме.

Интерферон β - фибробластный интерферон, кодируемый единственным геном, расположенным также в 9 хромосоме.

Активированные натуральные киллеры NK-могут в небольших количествах синтезировать «иммунный интерферон»- **интерферон – гамма.**

Роль цитокинов дендритных клеток (ДК) в запуске адаптивного иммунного ответа (этот материал будет рассмотрен подробнее далее)

Th – Т-лимфоциты-хелперы, могут быть разных типов, синтезируют разные наборы цитокинов, опосредуют в организме разные типы адаптивного иммунного ответа, все происходят из Tho- наивного Т-хелпера, который под влиянием цитокинов ДК могут превращаться в:

- **Th1 - клетки:** Tho под влиянием ИЛ-12, синтезируемого дендритными клетками и макрофагами, превращается в Th1 типа.
- **Th2-клетки:** дифференцируются из Tho под действием ИЛ-4, который может синтезироваться ДК, а также тучными клетками, базофилами в ответ на проникновение аллергенов.

- **Th17 :** дифференцируются из Th0 под действием ИЛ-1 и ИЛ-23.
- **CD4 Tfh-клетки (T-follicular helper) –развиваются из Th0 и** выполняют функцию помощи В-лимфоцитам, являются одной из наиболее многочисленных и важных субпопуляций эффекторных Т-клеток во вторичных лимфоидных тканях, **Tfh-лимфоциты** вырабатывают «хелперный» цитокин ИЛ-21, стимулирующий развитие В-клеток в антителопродуценты (плазматические клетки).

СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА –основная система гуморальных факторов врожденного иммунитета

Термин «комплемент» ввёл Пауль Эрлих в конце 1890-х годов. Комплемент – сложный белковый комплекс сыворотки крови.

Система комплемента состоит из 30 белков (компонентов, или фракций, системы комплемента).

Активируется система комплемента за счет каскадного процесса: продукт предыдущей реакции исполняет роль катализатора последующей реакции.

При активации комплемента у первых пяти компонентов происходит расщепление фракции на крупные и мелкие фрагменты.

Основные свойства:

- Результатом активации системы комплемента является комплекс мембранной атаки , вызывающий лизис клеток-мишеней.
- Способствует фагоцитозу (опсонизация).
- Служит источником дополнительных провоспалительных факторов (C5a, C3a).

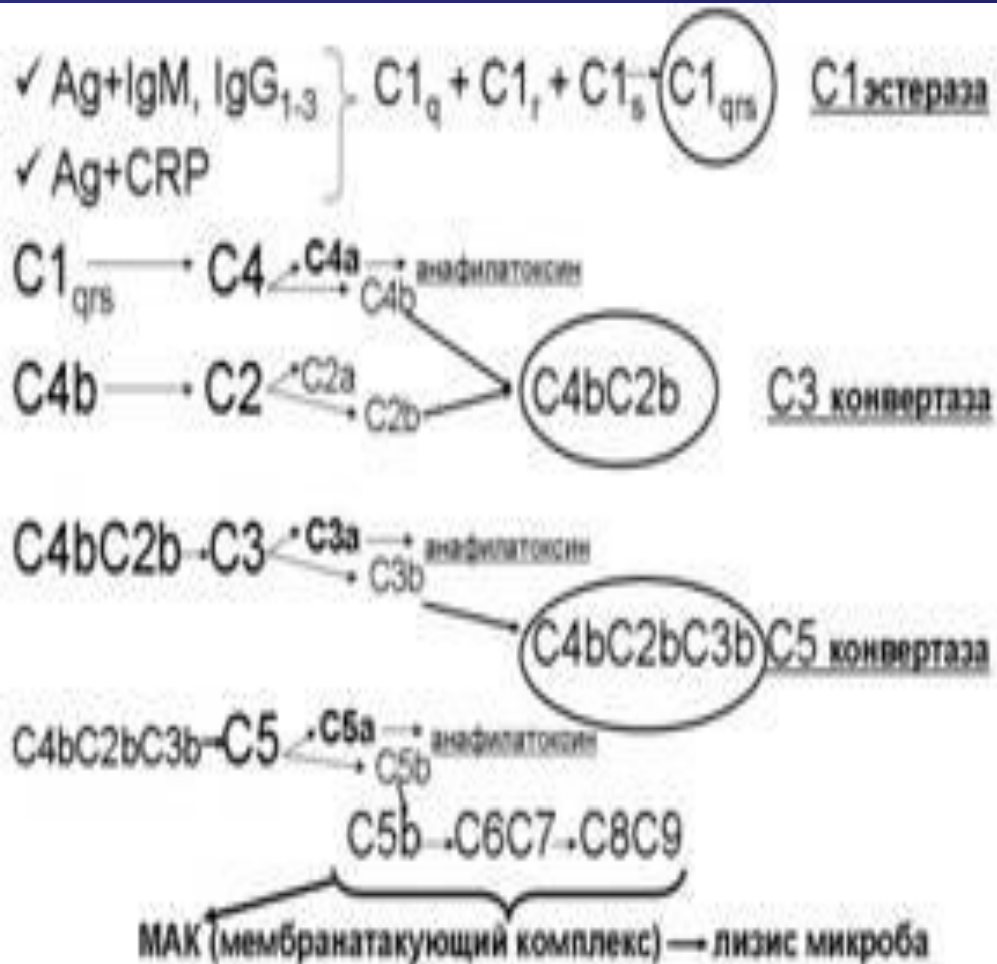
Классический путь активации СК

- Последовательность открытия компонентов системы комплемента не соответствует очередности их вступления в реакцию активации.
- Порядок вступления в реакцию белков: C1q, C1r, C1s, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9 (мембраноатакующий комплекс - МАС).
- «Маленькие» фрагменты - C4a, C2b, C3a, C5a (усиливают воспаление, привлекают в очаг клетки-эффекторы – нейтрофилы, эозинофилы и др.)
- «Крупные фрагменты» - C4b, C2a, C3b, C5b постепенно приближаясь к поверхности клетки –мишени, способствуют в конечном итоге формированию комплекса мембранной атаки, который делает **ионнеселективные отверстия** в мембране клетки -мишени, с последующим разрушением мишени по закону осмоса.

Активация комплемента по классическому пути

Активацию комплемента по классическому пути запускает **иммунный комплекс**:

комплекс антигена с иммуноглобулином (класса **G** – первых трех одноклассов – или класса **M**). Место антитела может «занять» **CRP** – С-реактивный белок – такой комплекс также активирует комплемент по классическому пути.



Каскад активации системы комплемента по классическому пути

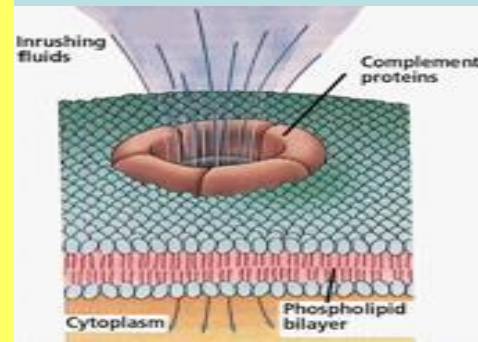
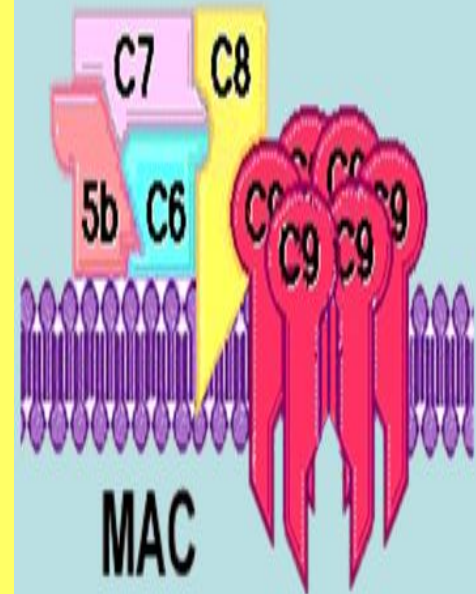
- а. Сначала активируется **фракция C1**: она собирается из трех субфракций (**C1q, C1r, C1s**) и превращается в фермент C1-эстеразу (**C1qrs**).
- б. C1-эстераза расщепляет фракцию **C4**.
- в. Активная фракция C4b ковалентно связывается с поверхностью микробных клеток (но не с собственными эукариотическими клетками макроорганизма) с здесь присоединяет к себе фракцию **C2**.
- г. Фракция **C2** в комплексе с фракцией **C4b** расщепляется **C1-эстеразой** с образованием активной фракции **C2b**.
- д. **Активные фракции C4b и C2b объединяются в один комплекс – C4bC2b**, обладающий ферментативной активностью. Это так называемая **C3-конвертаза классического пути**.
- е. **C3-конвертаза расщепляет фракцию C3**, нарабатываясь большие количества активной фракции **C3b**.
- ж. Активная фракция C3b присоединяется к комплексу C4bC2b и превращает его в **C5-конвертазу (C4bC2bC3b)**.

MAC – мембраноатакующий комплекс

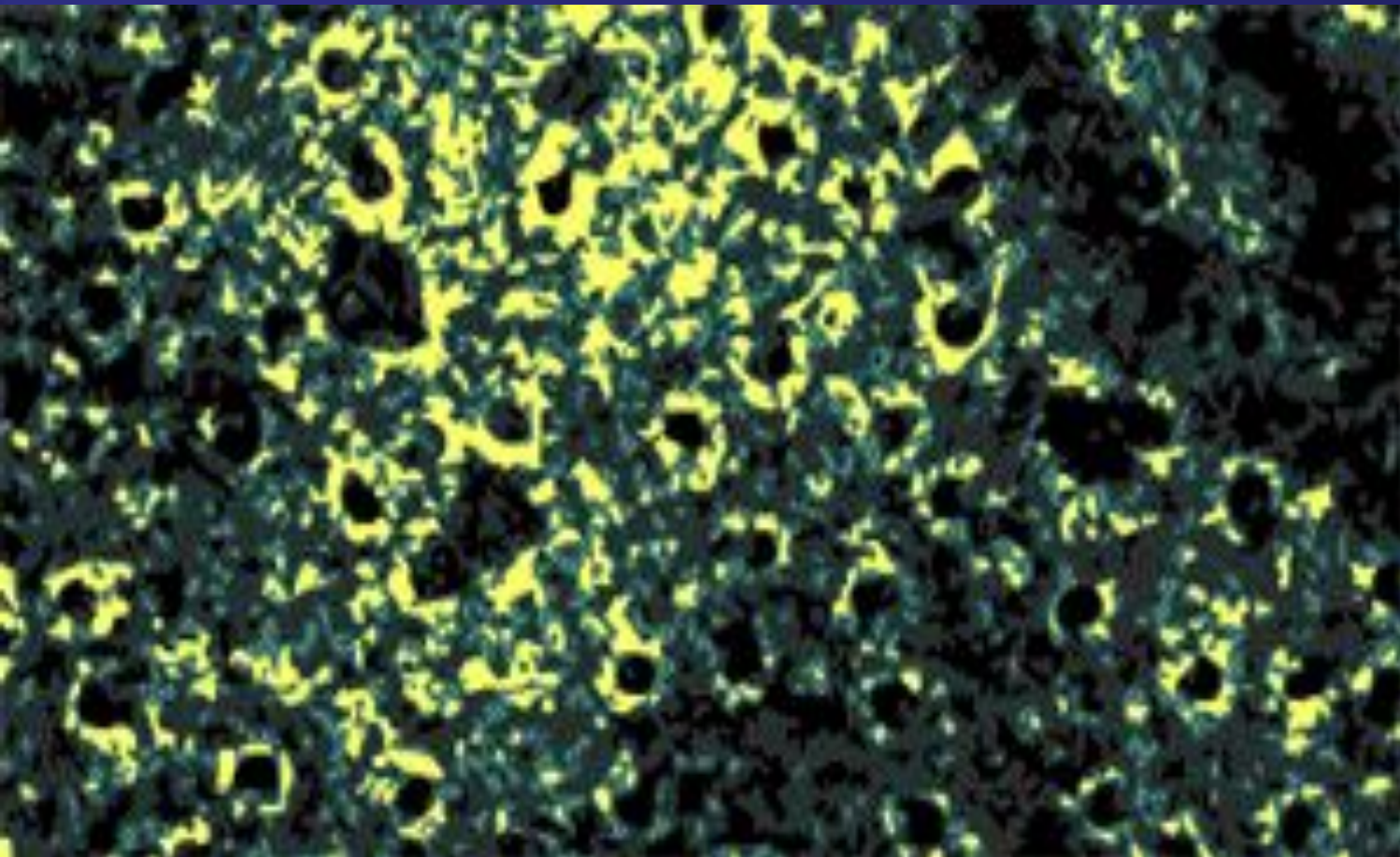
- з. **C5-конвертаза** расщепляет фракцию **C5**.
- и. Появившаяся в результате этого активная фракция **C5b** присоединяет фракцию **C6**.
- к. Комплекс **C5bC6** присоединяет фракцию **C7**.
- л. Комплекс **C5bC6C7** встраивается в фосфолипидный бислой мембраны микробной клетки.
- м. К этому комплексу присоединяется белок **C8**.
- н. Будучи вместе со всем комплексом в фосфолипидный бислой мембраны микробной клетки, **белок C8 катализирует полимеризацию 10 – 16 молекул белка C9**. Данный полимер формирует в мембране микробной клетки неспадающую пору диаметром около 10 нм, что приводит к лизису клетки- мишени (так как на ее поверхности образуется множество таких пор – «активация» одной молекулы **C3-конвертазы** приводит к появлению около 1000 пор).

Комплекс C5bC6C7C8C9, образующийся в результате активации комплемента, называется мембраноатакующим комплексом (MAC).

В клетку по законам осмоса «хлещет» внеклеточная жидкость. **Клетка-мишень разрывается.**



Поверхность клетки – мишени, атакованная МАС



Пути активации системы комплемента

Классический путь-филогенетически более новый (так как появился только у животных с адаптивным иммунитетом, у которых есть иммуноглобулины классов М и G).

Филогенетически более древние пути активации системы комплемента - альтернативный и лектиновый.

Все 3 пути активации системы комплемента «сходятся» на C5 компоненте; конечные этапы-идентичны-формирование MAC-мембраноатакующего комплекса.

Классический путь

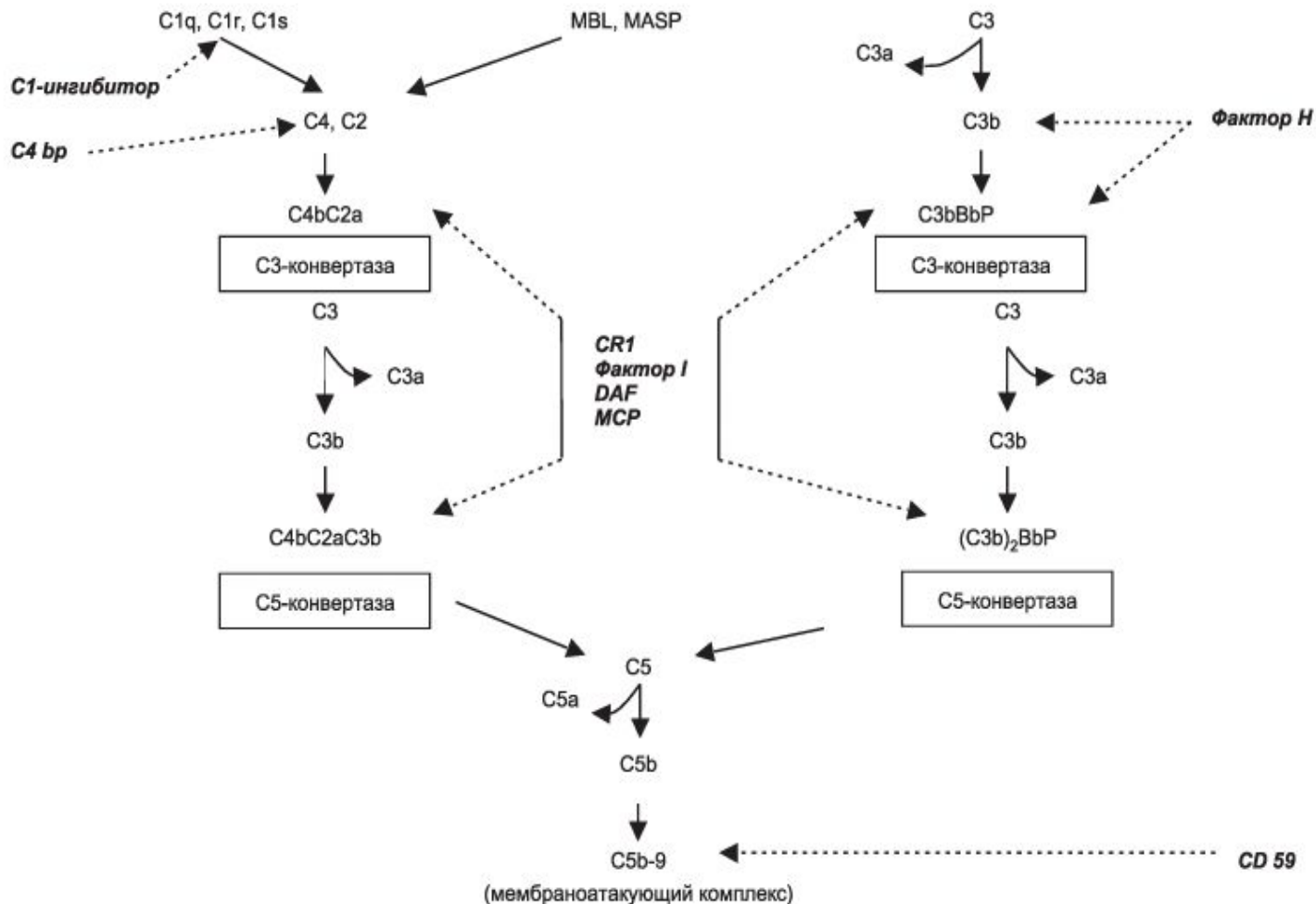
IgM, IgG,
иммунные комплексы

Лектиновый путь

маннозосодержащие Гр «-»
бактерии, микобактерии, грибы

Альтернативный путь

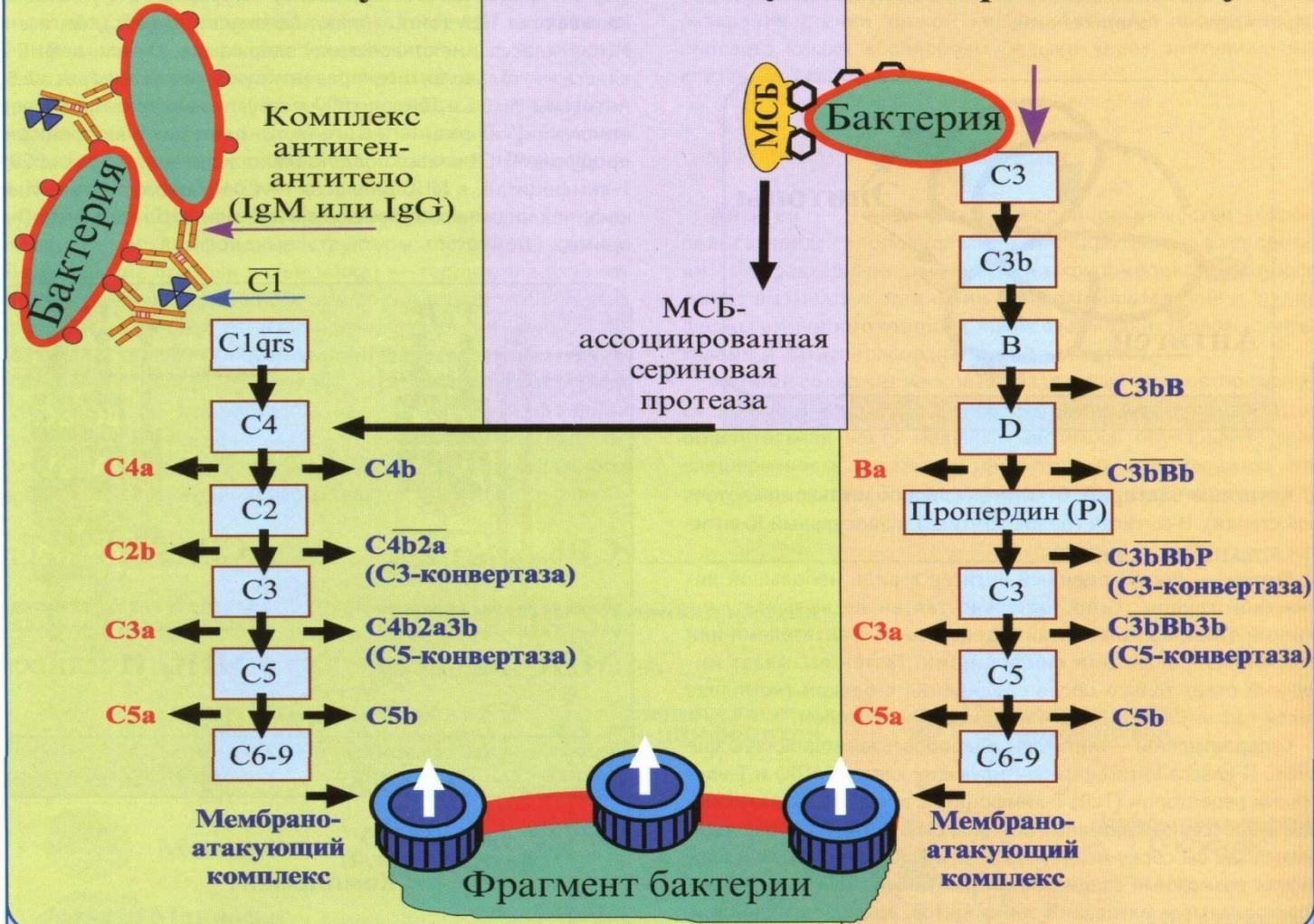
Гр «+», Гр «-» бактерии, бактериальные
токсины, липополисахариды

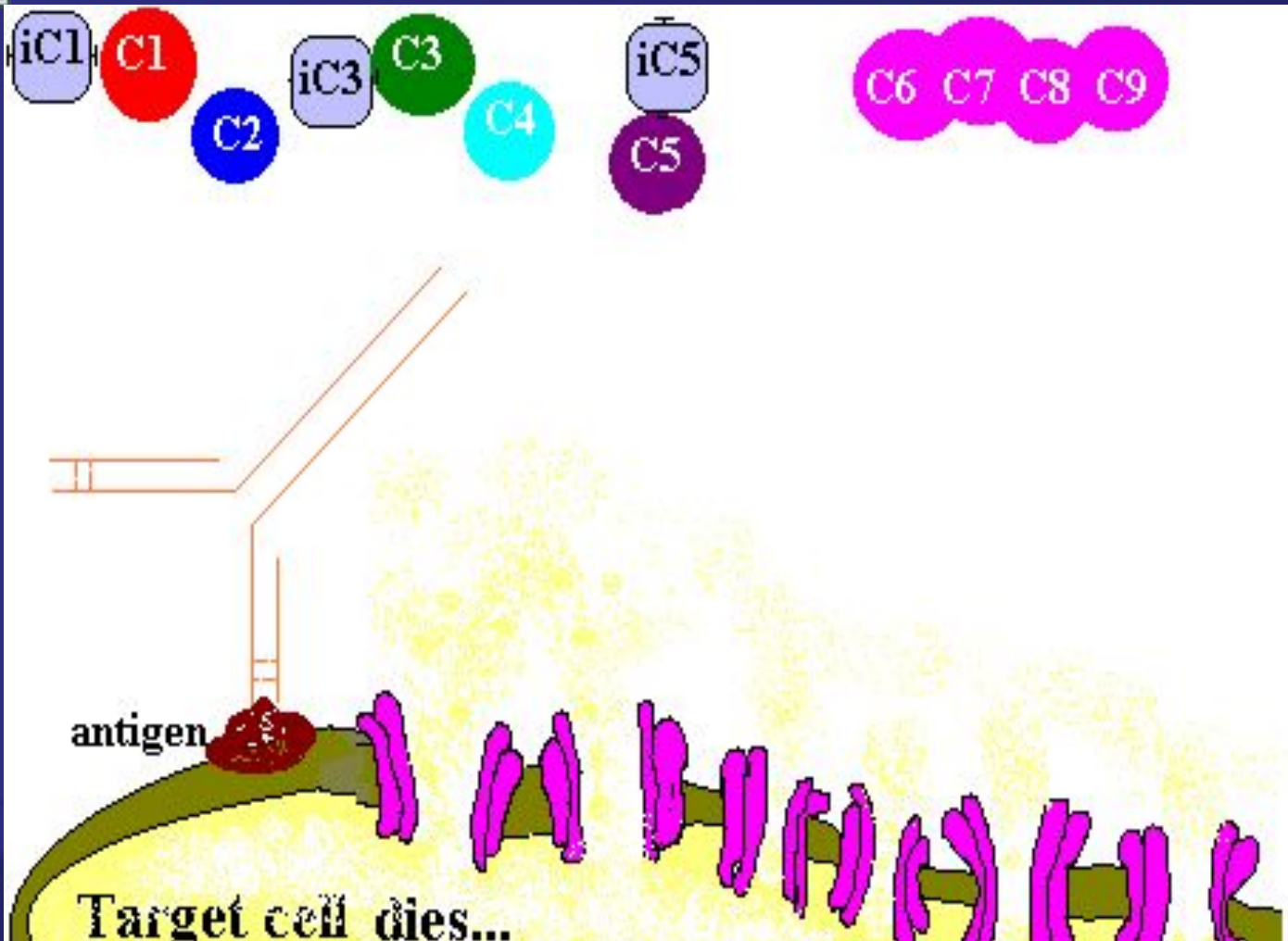


Классический путь

Лектиновый путь

Альтернативный путь





Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

Врожденный

1. Существует в любом организме до начала любой агрессии.
2. Распознавание «чужого» у клеток врожденного иммунитета грубое, «образное». Распознаются общие черты «чужого» ограниченным числом рецепторов.

Адаптивный

1. Развивается только в ответ на агрессию (адаптация на антиген).
2. Распознавание «чужого» лимфоцитами –точное, по принципу 1 антиген - 1 лимфоцит.
Все лимфоциты различаются своими рецепторами (миллиарды «чужого» – миллиарды лимфоцитов).

Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

Врожденный

3. Все клетки врожденного иммунитета **активируются и реагируют на агрессию как единая популяция**, так как у всех клеток врожденного иммунитета примерно одинаковый набор рецепторов, распознающих «образы чужого» –т.е. те консервативные структуры патогенов, которые **ТОЧНО** отсутствуют в организме-хозяине .

Адаптивный

3. Клетки адаптивного иммунитета реагируют на антиген избирательно: активируются; пролиферируют и выполняют свои эффекторные функции только те Т и В лимфоциты, у которых рецептор комплементарен к проникшему в организм антигену (**все остальные** лимфоциты в это время **не активируются** , рециркулируют).

Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

Врожденный

4. Реакции врожденного иммунитета разворачиваются почти мгновенно (и клетки и гуморальные факторы действуют «тупо, но быстро».
- «Тупо» – так как распознают не отдельные молекулы чужого, а паттерны (образы).

Адаптивный

4. Для развития реакций адаптивного иммунитета требуется более продолжительное время (это связано с временем на презентацию антигена, активацию клеток, клональную экспансию).
- Клоны клеток, несущих одинаковые, комплементарные к антигену рецепторы, осуществляют иммунный ответ на этот конкретный антиген.

Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

Врожденный

5. Во врожденном иммунитете **иммунологическая память отсутствует.**

В настоящее время есть лишь предположения о «тренированном врожденном иммунитете».

Адаптивный

5. Повторная встреча с патогенами в приобретенном иммунитете повышает уровень иммунного ответа (**феномен «иммунологической памяти»**) –ответ более быстрый за счет клеток памяти.

Во вторичном гуморальном ответе – вместо иммуноглобулинов М синтезируются иммуноглобулины класса G, имеющие целый ряд преимуществ (меньший размер молекулы - большая диффузионная способность в ткани, более высокий уровень в сыворотке, более длительный срок полужизни, большая аффинность –сила связи с антигеном).

Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

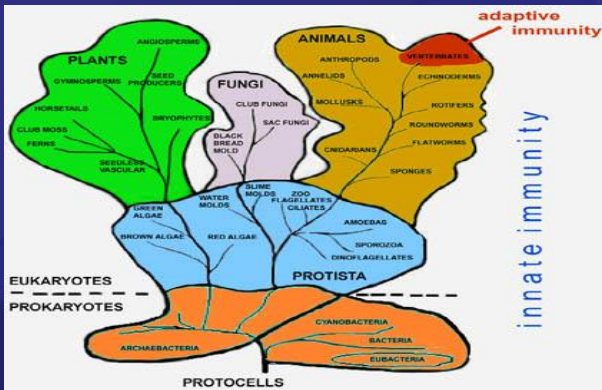
Врожденный

6. Врожденный иммунитет представлен у **всех** видов организмов; он филогенетически более древний.

Адаптивный

6. Адаптивный иммунитет представлен только **начиная с позвоночных животных (с хрящевых рыб), у которых механизмы врожденного и адаптивного иммунитета действуют совместно против агрессивных факторов .**

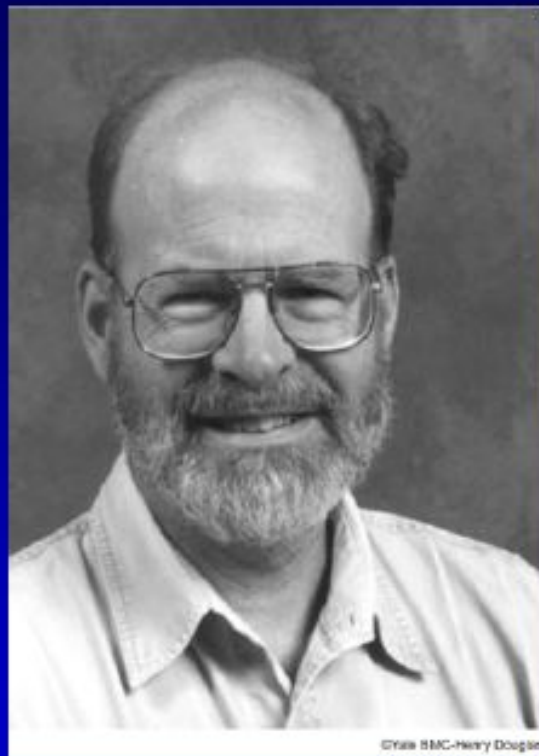
Врожденный иммунитет необходим для запуска адаптивного ответа (презентация антигена) и для его завершения (система комплемента, фагоцитоз, антителозависимая клеточная цитотоксичность и др.).



Дженуэй Чарльз А. – младший: постулаты

Чарльз А. Дженуэй-младший (1943-2003), автор фундаментальных концепций, снискавших ему славу "отца врожденного иммунитета". Изучая вопрос о том, каким образом клетки системы врожденного иммунитета активируют клетки, ответственные за реализацию адаптивного иммунитета - Т- и В-лимфоциты.

В 1989 г. Джейнуэй предсказал, что у клеток, ответственных за механизмы врожденного иммунитета имеются рецепторы, узнающие "паттерн" чужеродного антигена, и сформулировал представление об их роли в распознавании микробных антигенов.



Чарльз Джейнуэй

Janeway CA. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1989; 54, Part 1:1-13.

Дженуэй Чарльз А. – младший: постулаты

1. Врожденный иммунитет защищает все виды живых существ ; адаптивный иммунитет присутствует только у позвоночных.

2. Врожденный иммунитет является главной системой распознавания (сенсором) «чужого» и – одновременно - первой линией защиты от этого «чужого».

Дженуэй Чарльз А. – младший: постулаты

3. Рецепторов, распознающих «чужое» во врожденном иммунитете намного меньше, чем самого «чужого». Поэтому распознавание во врожденном иммунитете – образное: распознаются не отдельные патогены - а их образы (классы; паттерны).

4. Без активации врожденного иммунитета невозможен запуск адаптивного (приобретенного) иммунного ответа – для его запуска необходим сигнал от клеток врожденного иммунитета – так называемый «сигнал 2».

Дженуэй Чарльз А. – младший: постулаты

5. Для запуска эффективного иммунного ответа вместе с антигеном добавляют адъюванты («маленький грязный секрет иммунологов»).

лат. *adjuvans (adjuvantis)* —
помогающий, способствующий

6. Адъювант Фрейнда : Жюль Фрейнд (1890-1960) экспериментально нашел эффективный адъювант – смесь водно-масляной эмульсии и убитых микобактерий.



Описание	суспензия 5 мг <i>M.butyricum</i> в смеси парафина и моноолеата маннита; дополнительно активирует макрофаги и костимулирует Т-клетки.
Внешний вид:	желтая маслянистая жидкость с характерным запахом (присутствует бактериальная суспензия, инактивированная высокой температурой)

Дженуэй Чарльз А. – младший: постулаты

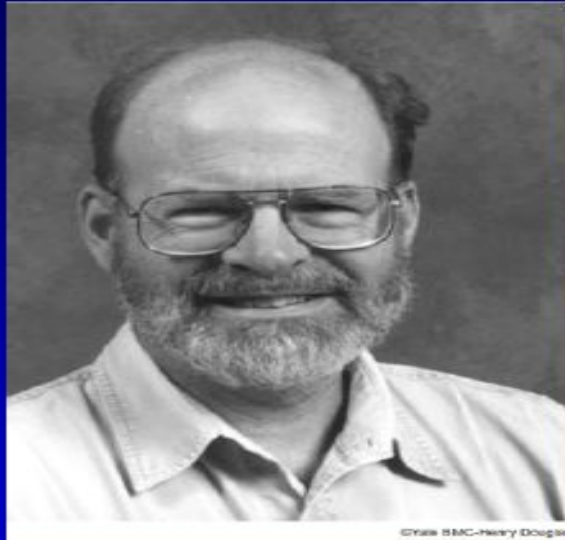
7. Образраспознающие рецепторы клеток врожденного иммунитета узнают образы «чужого» – консервативные структуры микроорганизмов, которые отсутствуют в макроорганизме (сложные углеводы и липопротеины клеточной стенки, метилированные нуклеиновые кислоты).

8. Сигналом 2 клетки врожденного иммунитета сообщают Т и В лимфоцитам информацию о внедрении «чужого» в организм хозяина и о необходимости иммунного ответа.

Дженуэй Чарльз А. – младший: постулаты

8. Сигнал 2 (костимуляция) запускает ответ адаптивного иммунитета.

9. Таким образом «врожденное распознавание чужого» является условием развитию адаптивного иммунного ответа на антиген.



© Steve BMC-Heary Douglas

Чарльз Джейнуэй

Janeway CA. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1989; 54, Part 1:1-13.

Вопросы занятия №2

1. Определение врожденного иммунитета.
2. Свойства врожденного иммунитета.
3. Клетки врожденного иммунитета.
4. Рецепторы клеток врожденного иммунитета.
5. Способы распознавания «чужого» во врожденном иммунитете.
6. Этапы хемотаксиса и фагоцитоза.
7. Активность натуральных киллеров.
8. Гуморальные факторы врожденного иммунитета.
9. Сопоставление характерных особенностей врожденного и адаптивного иммунитета.
10. Сочетанное действие врожденного и адаптивного иммунитета.

Тестовые задания к занятию №2

11. К клеточным факторам врожденного иммунитета не относятся:

- Т лимфоциты
- Натуральные киллеры
- В-лимфоциты
- Макрофаги
- Моноциты

2. К гуморальным факторам врожденного иммунитета не относятся:

- система комплемента
- дефенсины
- лизоцим
- специфические иммуноглобулины класса Е
- лактоферрин

Тестовые задания к занятию №2

3. Распознавание во врожденном иммунитете:

- грубое
- «образное»
- «по отсутствию своего»
- тонкое
- отсутствует

4 . Распознавание в адаптивном иммунитете:

- грубое
- «образное»
- «по отсутствию своего»
- тонкое
- отсутствует

Тестовые задания к занятию №2

5. Во врожденном иммунитете:

- после окончания иммунного ответа остаются клетки памяти
- клетки клонируются
- клетки реагируют как единая популяция (не клонируются)
- механизмы защиты действуют замедленно
- механизмы защиты действуют быстро

6. Toll –подобные рецепторы относятся к:

- Антигенраспознающим рецепторам лимфоцитов
- Рецепторам цитокинов
- Рецепторам гормонов
- Рецепторам нейротрансмиттеров
- Рецепторам врожденного иммунитета

Тестовые задания к занятию № 2

7.К фагоцитирующим клеткам не относятся:

- Макрофаги
- Дендритные клетки
- Нейтрофилы
- Моноциты
- Тромбоциты

8.В активации комплемента по классическому пути участвуют иммуноглобулины классов:

- A
- M
- E
- G
- D

Тестовые задания к занятию № 2

9. Конечным этапом активации системы комплемента является

образование:

- гранзимов
- перфоринов
- опсоинов
- комплекса мембранной атаки
- цитокинов

10. Клетки врожденного иммунитета не участвуют в реакциях:

- воспаления
- цитолиза
- фагоцитоза
- клиренса обломков клеток и бактерий
- синтеза иммуноглобулинов