

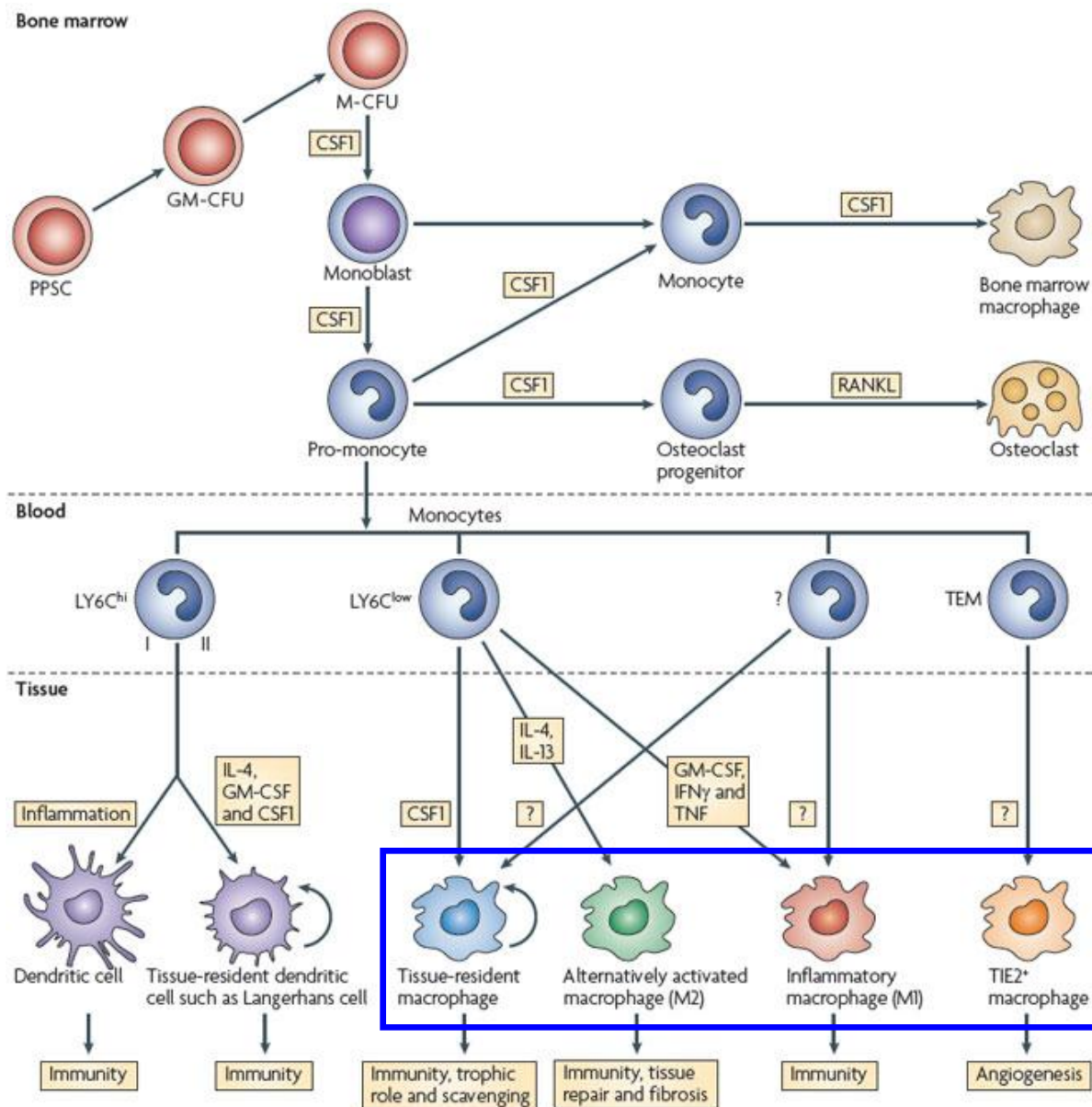
Тема: *Клітинні чинники вродженого імунітету.*

- 1. Конститутивні клітинні реакції вродженого імунітету.**
- 2. Індуктивні клітинні реакції вродженого імунітету.**
- 3. Ефекторні функції клітин вродженого імунітету.**

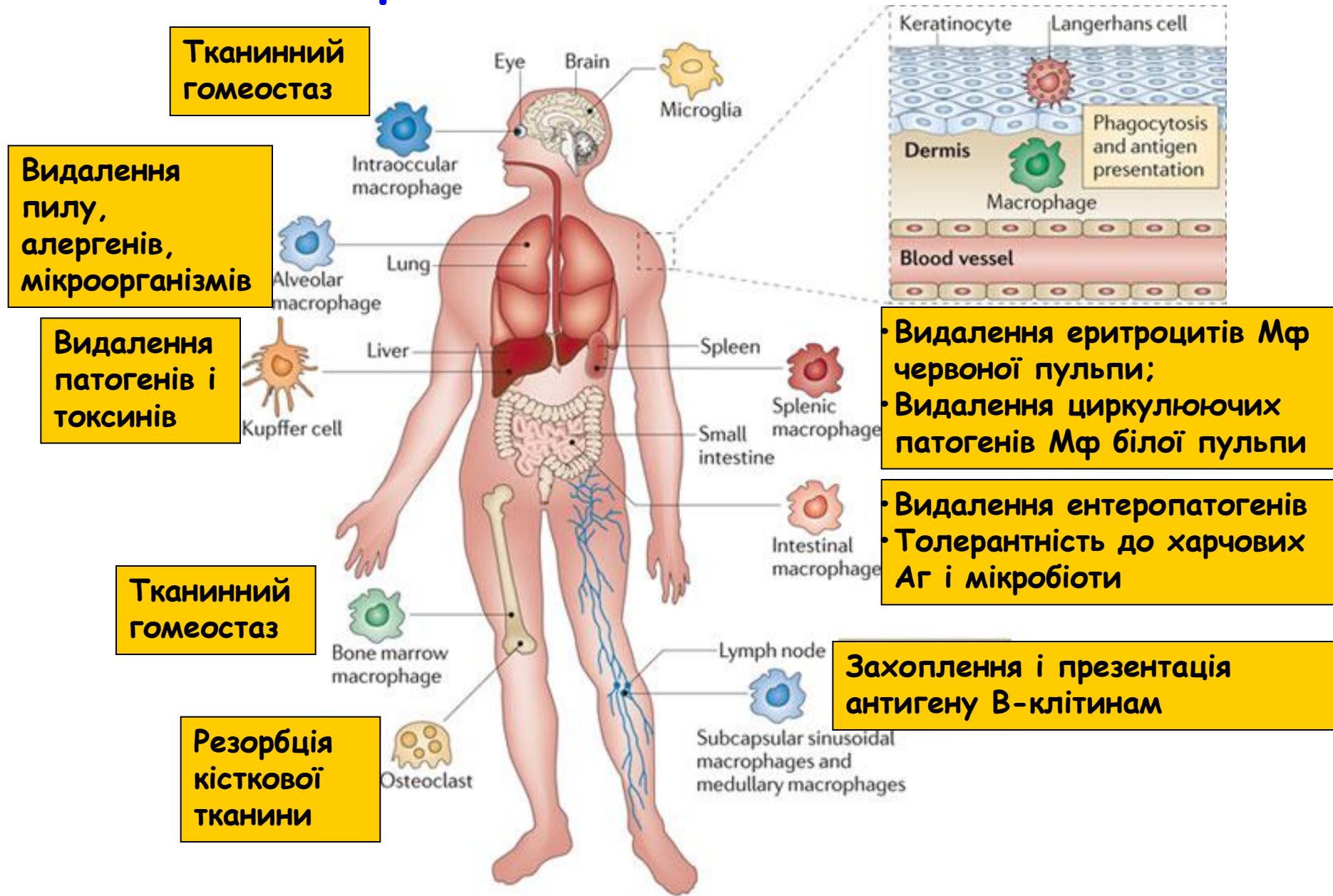
Конститутивна клітинна
реакція вродженого
імунітету: фагоцитоз

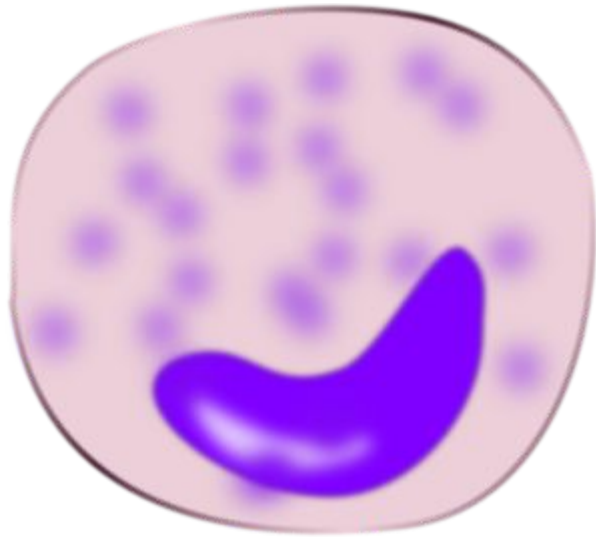
**Диференціювання,
фенотипово-
функціональна
характеристика
фагоцитів**

Диференціювання мононуклеарних фагоцитів: макрофаги



Макрофаги є резидентними клітинами практично всіх тканин





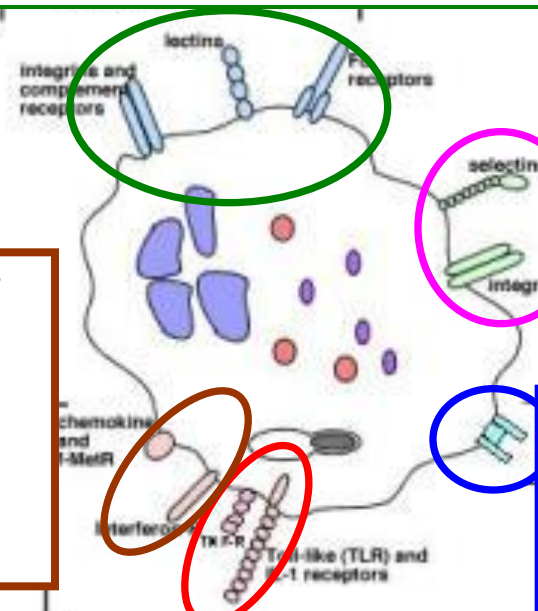
**Моноцити -
короткоживучі клітини.
Період їх перебування у
циркулюючій крові
складає ~24 год**



**Тканинні макрофаги
- довгоживучі клітини.
Період їх перебування у
тканині може складати
~60 діб**

Рецептори моноцитів/макрофагів можна поділити на кілька основних груп

Рецептори, що активують фагоцитоз: лектинові, рецептори комплементу, Fc-рецептори, рецептори очищення (scavenger-рецептори)



Активаційні рецептори: цитокінові, хемокінові

Рецептори, що активують адгезію: селектини, інтегрини

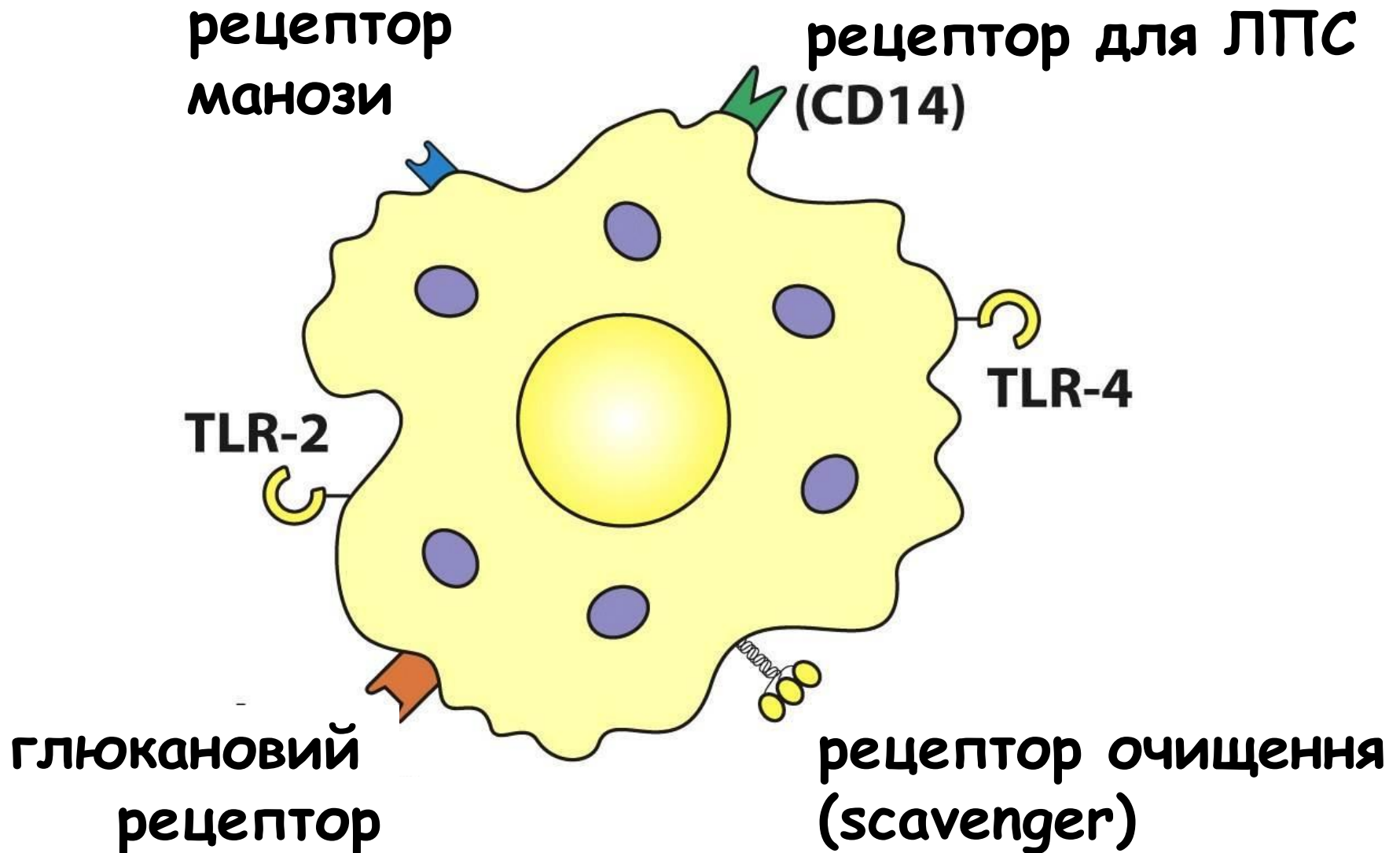
Рецептори, що беруть участь у презентації Аг ефекторним клітинам адаптивного імунітету: МНС II

Рецептори, що сигналізують про присутність патогенів: CD14, TLRs, NLRs, RLR

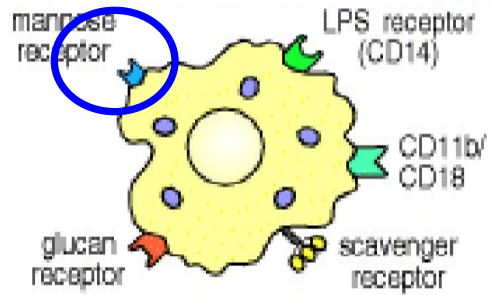
Порівняльна характеристика рецепторів клітин вродженого і адаптивного імунітету

Характеристика рецепторів	Вроджений імунітет	Адаптивний імунітет
Специфічність кодується в геномі	так	ні
Експресуються всіма клітинами певної популяції (типу)	так	ні
Запускають негайну відповідь	так	ні
Розпізнають широкий спектр патогенів	так	ні
Кодуються генними сегментами	ні	так
Потребують рекомбінації генів	ні	так
Властиві одному клону клітин	ні	так
Розпізнають велике різноманіття молекулярних структур	ні	так

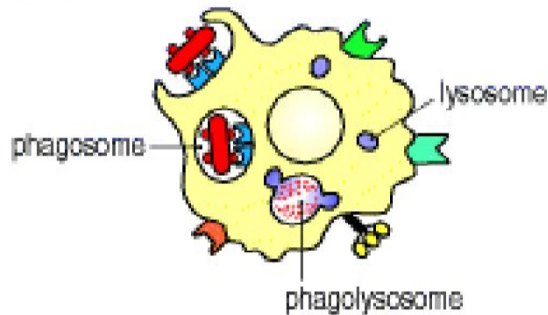
Макрофаги експресують рецептори для багатьох патернів патогенів (ТТРР)



The macrophage expresses receptors for many bacterial constituents



Macrophages engulf and digest bacteria to which they bind

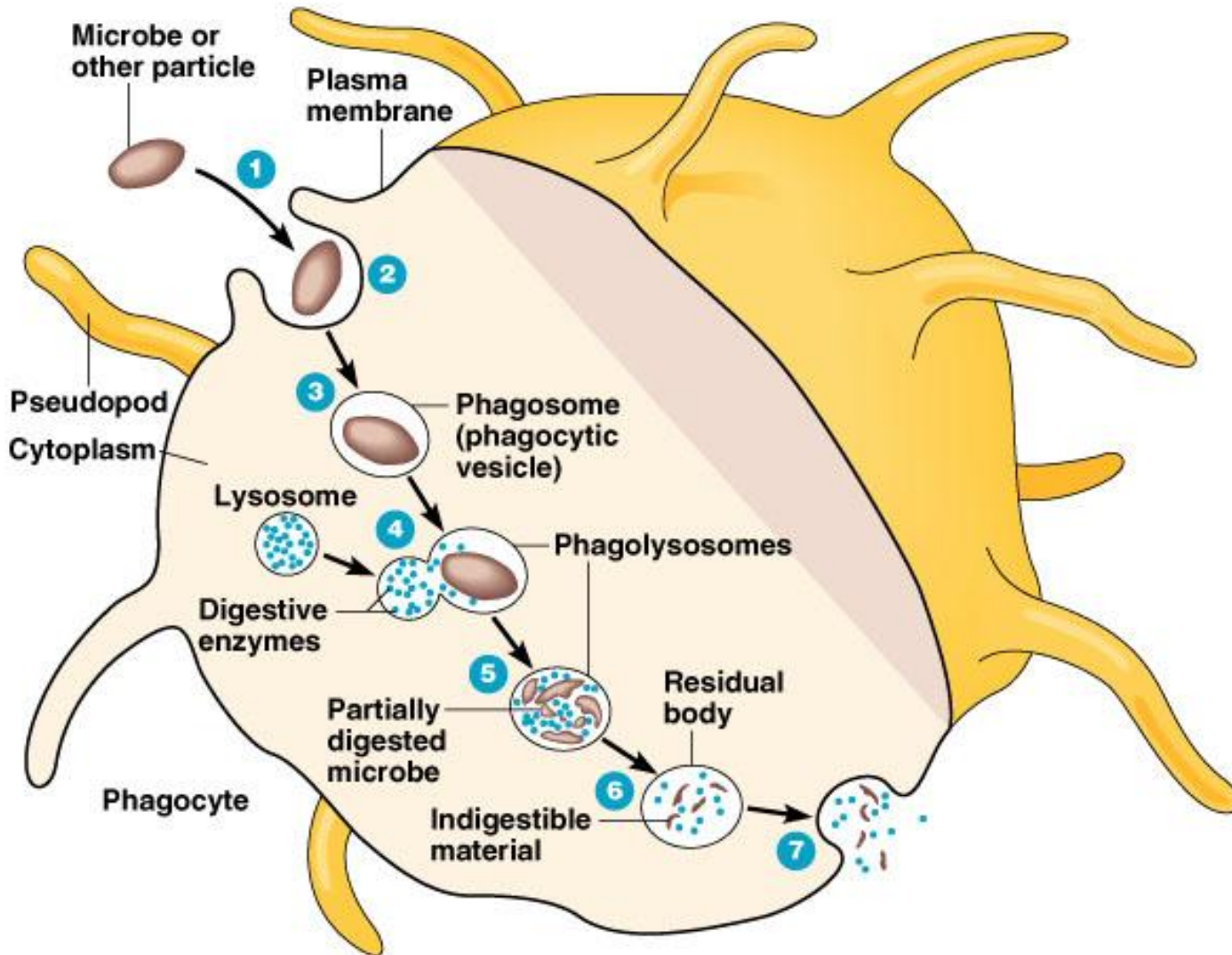


Прикладом ТРР є лектиновий рецептор для залишків манози

Взаємодія лектинового рецептора із залишками манози на поверхні патогену активує фагоцитоз з наступним ферментативним руйнуванням патогену

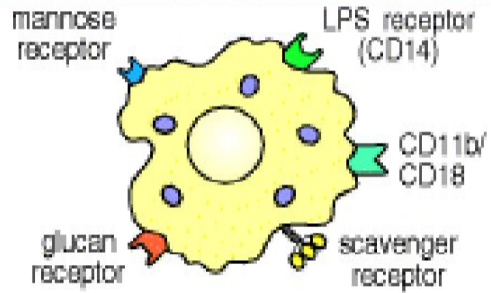
Конститутивна клітинна реакція вродженого імунітету: фагоцитоз макрофагів

Етапи видалення патогенів шляхом фагоцитозу

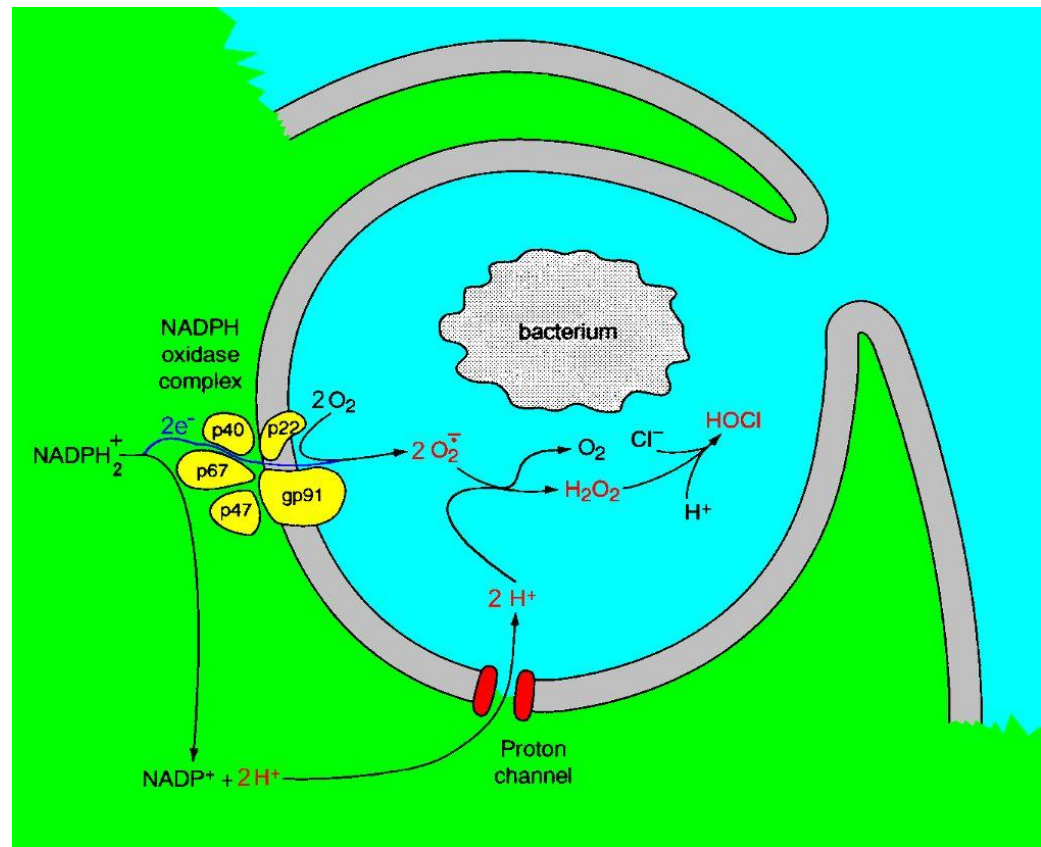
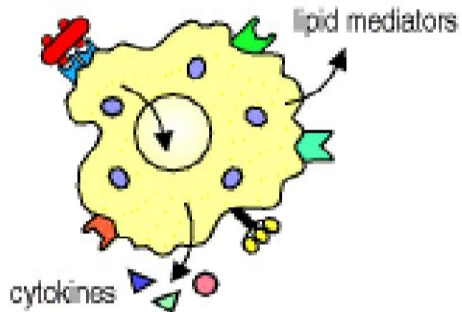


- 1 взаємодія ПАМП з ПРР
- 2 активація ендоцитозу
- 3 утворення фагосоми
- 4 утворення фаголізосоми
- 5 ферментативна деградація
- 6 утворення залишкових тілець
- 7 екзоцитоз дебрису

The macrophage expresses receptors for many bacterial constituents

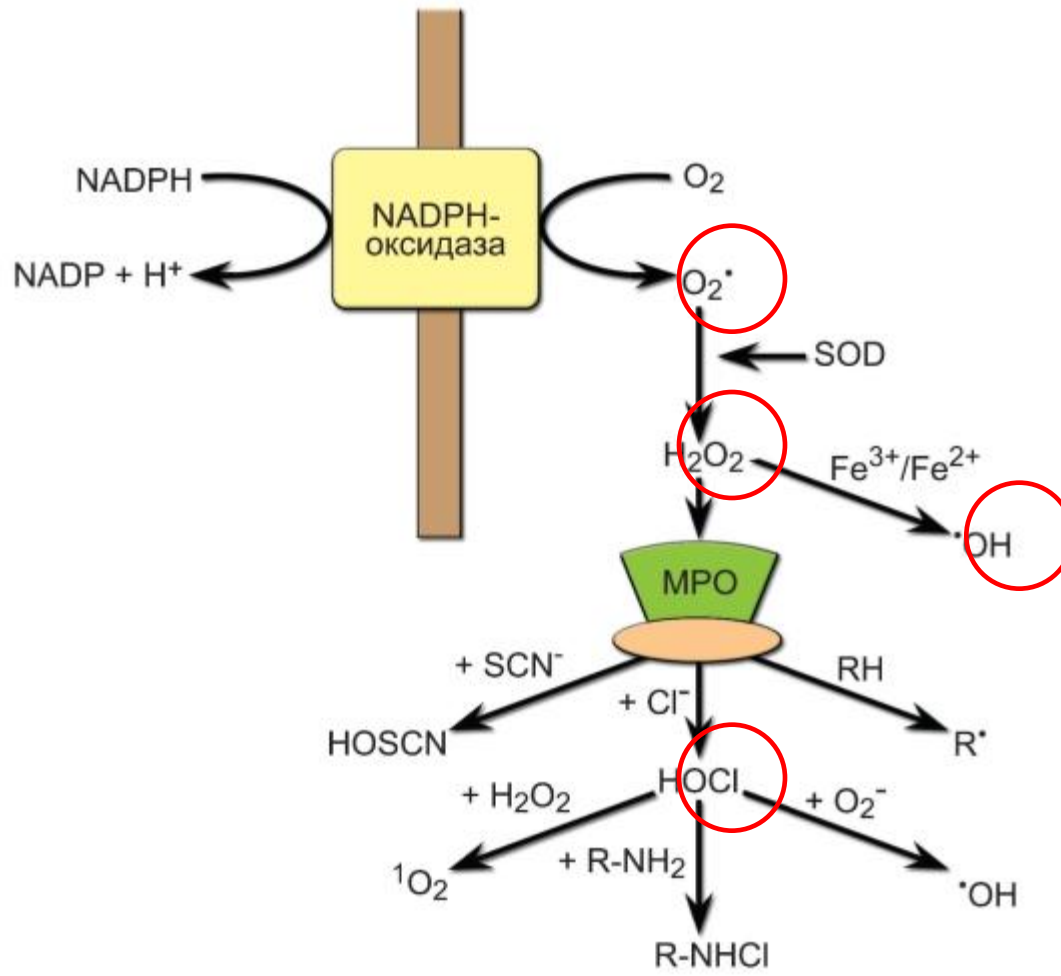


Bacteria binding to macrophage receptors initiate the release of cytokines and small lipid mediators of inflammation



Активация фагоцитозу макрофагів супроводжується синтезом (і секрецією) ними токсичних для патогенів низькомолекулярних біологічно активних речовин та медіаторів запалення

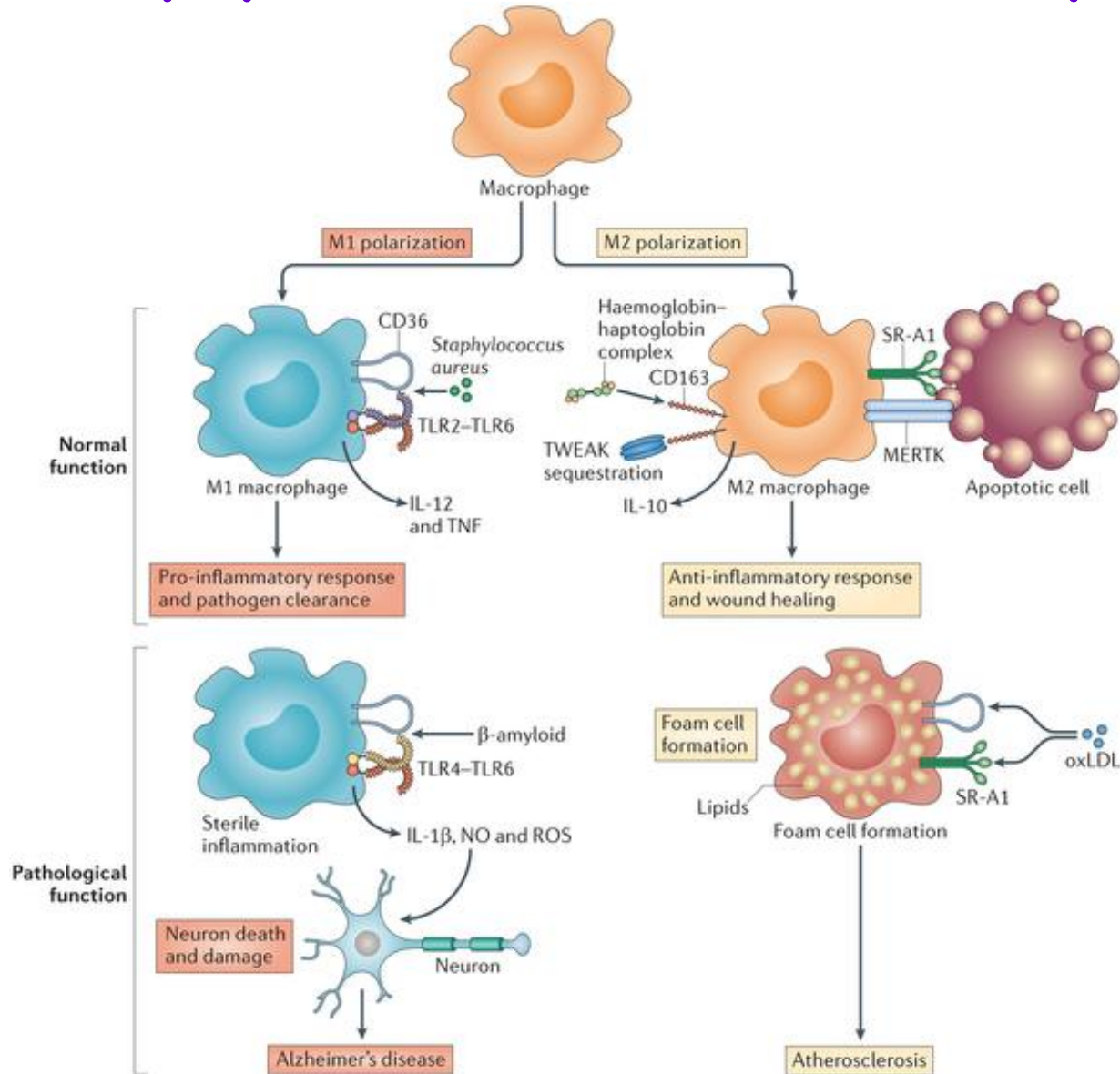
Прикладом таких речовин є активні форми кисню, котрі утворюються в результаті метаболічного циклу під назвою “респіраторний вибух” (киснезалежна деградація патогену у фаголізосомі)

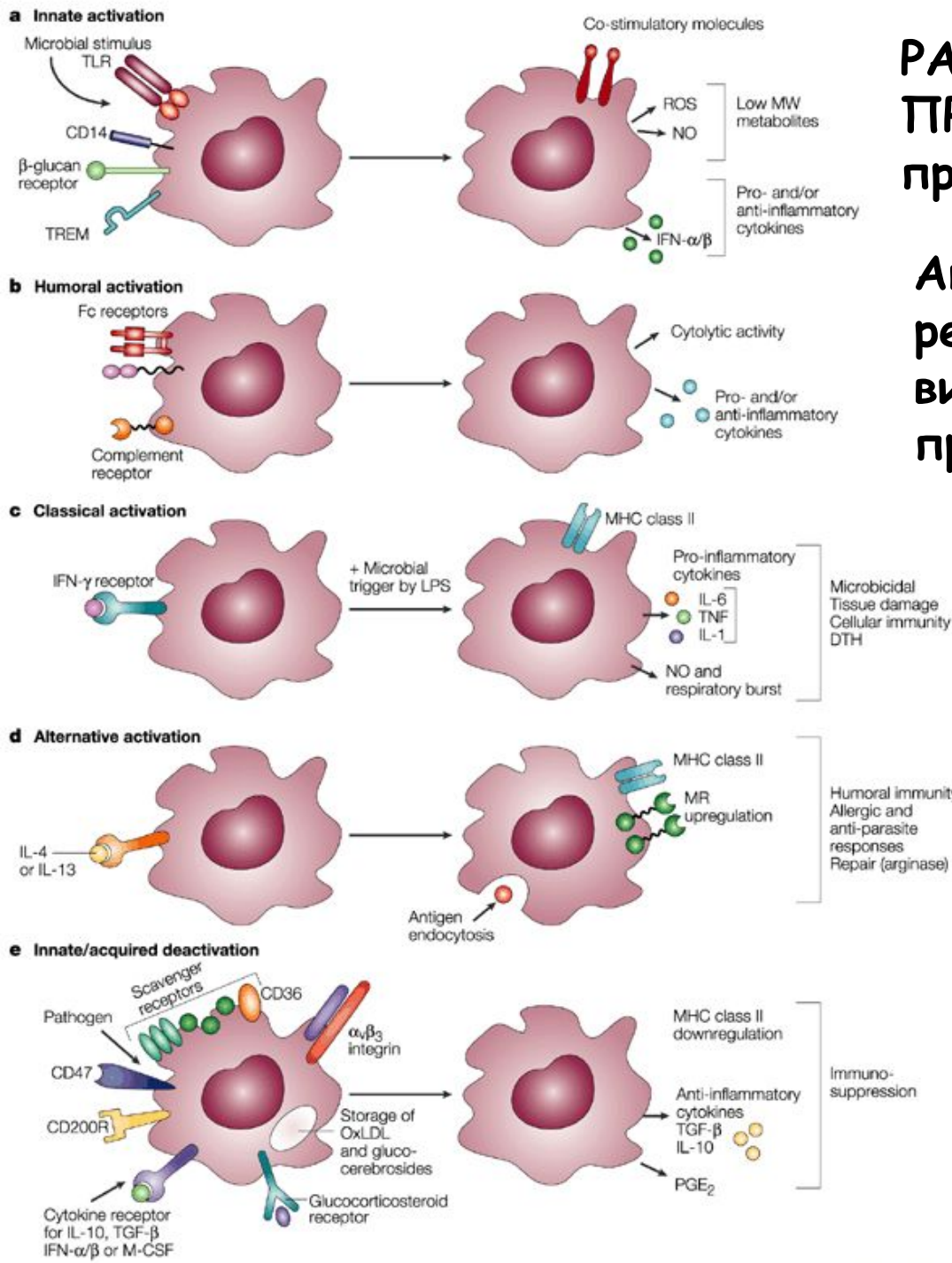


Перелік біологічно активних речовин, виділення яких активується при лігуванні ТТРР макрофагів

Назва групи речовин	ПРИКЛАДИ
Ацидифікатори (іони)	pH 3,5 - 4, бактерицидна /бактеріостатична дія
Активні форми кисню	Супероксид O_2^- , пероксид водню H_2O_2 , синглетний кисень 1O_2 , гідроксильний радикал OH^\cdot , гіпохлорид OCl
Активні форми нітрогену	NO
Антимікробні пептиди	Дефензини, катіонні білки
Ферменти	Лізоцим, кислі гідролази
Конкуренти	Лактоферин (зв'язує Fe), кателіцидини, В12-зв'язувальний білок тощо

Стрямованість метаболізму макрофагів залежить від природи активаційних стимулів





РАМРs (DAMPs) розпізнаються ТРР. Це викликає продукцію прозапальних медіаторів (M1)

Активація Fc-рецепторів та рецепторів комплекменту викликає продукцію прозапальних медіаторів (M1)

Прозапальні цитокіни спричиняють M1 поляризацію макрофагів

Протизапальні цитокіни спричиняють M2 поляризацію макрофагів

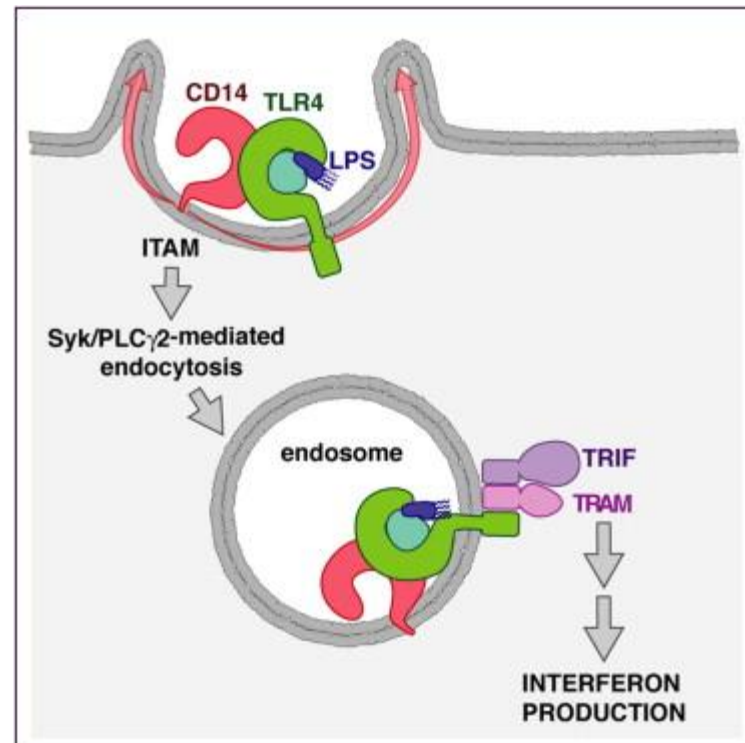
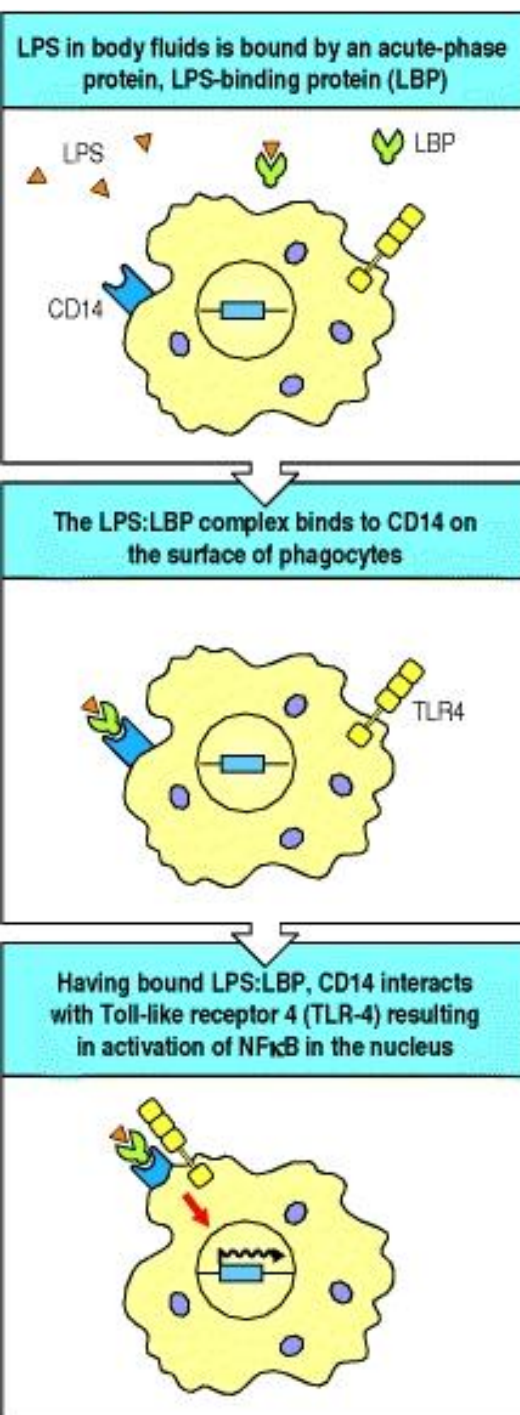
Комплекс інгібіторних подразників спричиняє поляризацію макрофагів до регуляторного фенотипу

Clusters of Differentiation

(designation), CD – номенклатура диференційних антигенів лейкоцитів людини. Застосовується для ідентифікації і дослідження мембранних білків лейкоцитів. CD-антигени (або CD-маркери) – це білки, які виконують функції рецепторів/лігандів у міжклітинних взаємодіях і є компонентами сигнальних каскадів лейкоцита або можуть бути молекулами адгезії тощо. Система CD використовується для популяційної і субпопуляційної характеристики лейкоцитів та їх функціонального стану шляхом імунофенотипування. **Наприклад: CD3-CD16+CD56+ - фенотип NK-клітин.**

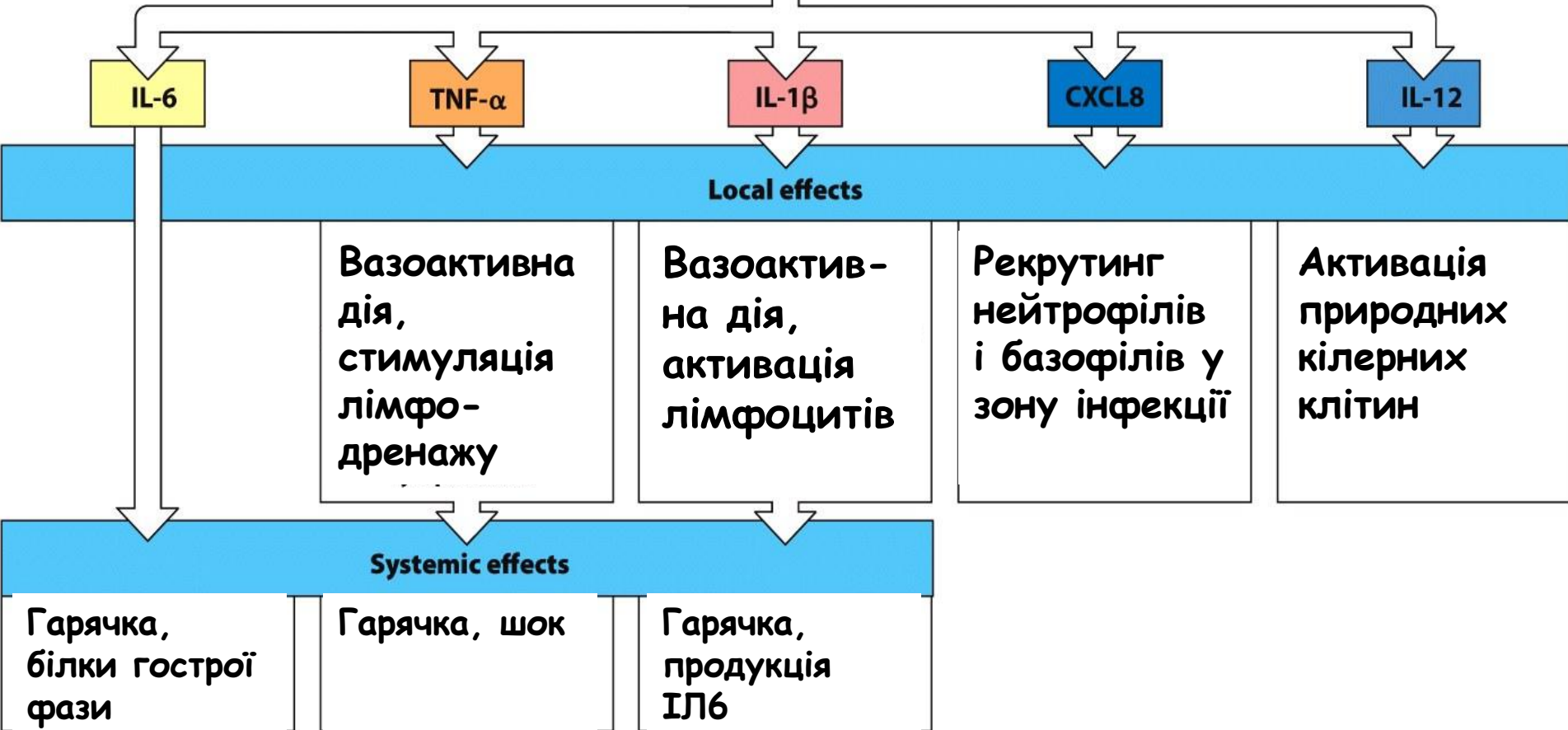
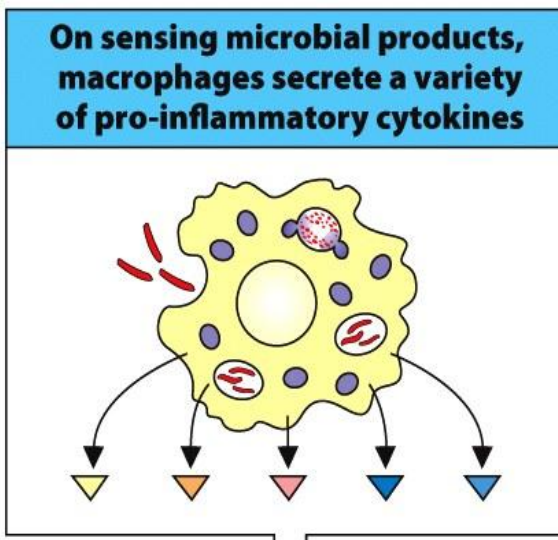
Зважаючи на функціональну пластичність макрофагів, виділяють кілька груп їх фенотипових маркерів, залежно від метаболічної поляризації цих клітин. Пан-моноцитарними маркерами вважаються **CD14CD11b**, пан-макрофагальним маркером є **CD68**. Загальними маркерами класично поляризованих моноцитів/макрофагів (M1) є **CD80^{high} CD86^{high}**. Загальними маркерами альтернативної поляризації моноцитів/макрофагів є **CD163, CD206**.

Розпізнавання патерн-розпізнавальними рецепторами ПАМР спричиняє активацію сигнальних шляхів. Кінцевим компонентом багатьох шляхів є транскрипційний фактор NFκB, активація якого започатковує індуктивні клітинні реакції вродженого імунітету



Індуктивні клітинні реакції вродженого імунітету

Індуктивні клітинні реакції вродженого імунітету: **продукція активованими макрофагами цитокінів і хемокінів**



Цитокіни – низькомолекулярні (~30кДа) інформаційні молекули білкової природи, які регулюють міжклітинні та міжсистемні взаємодії (виживаність, проліферацію, диференціювання клітин, активацію/гальмування метаболічних циклів), ініціюючи внутрішньоклітинні сигнальні каскади.

Принципи класифікації цитокінів

Прозапальні цитокіни:

IL1, IL6, IL8, IL12,
IL18, TNF α , IFN- γ , MIF

Протизапальні цитокіни:

IL4, IL10, IL13,
IFN- α , TGF β

Ростові фактори:

G-CSF, GM-CSF,
M-CSF,
IL3, IL5, IL7, TGF β ,
VEGF, EGF, FGF, ILGF

Регуляторні цитокіни:

IL1, IL2, IL4, IL5,
IL6,
IL12, IL-15, IFN- γ

Хемокіни:

IL-8,
MCP-1,2,3,
eotaxin

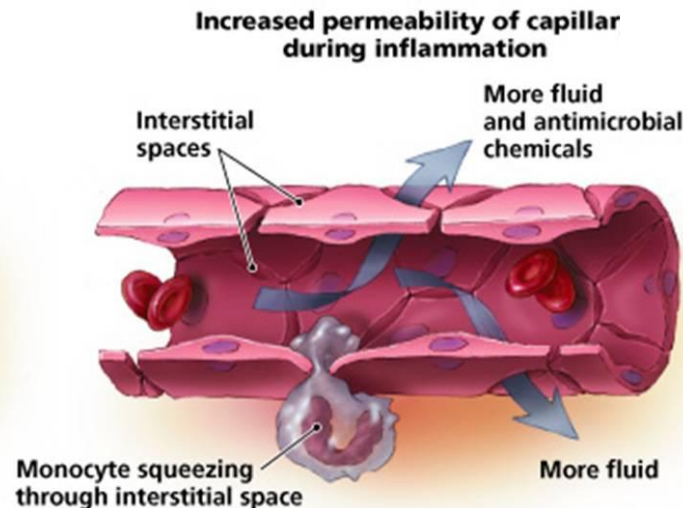
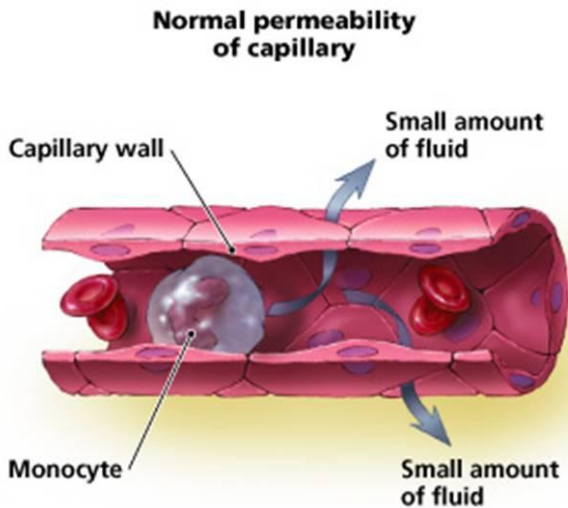
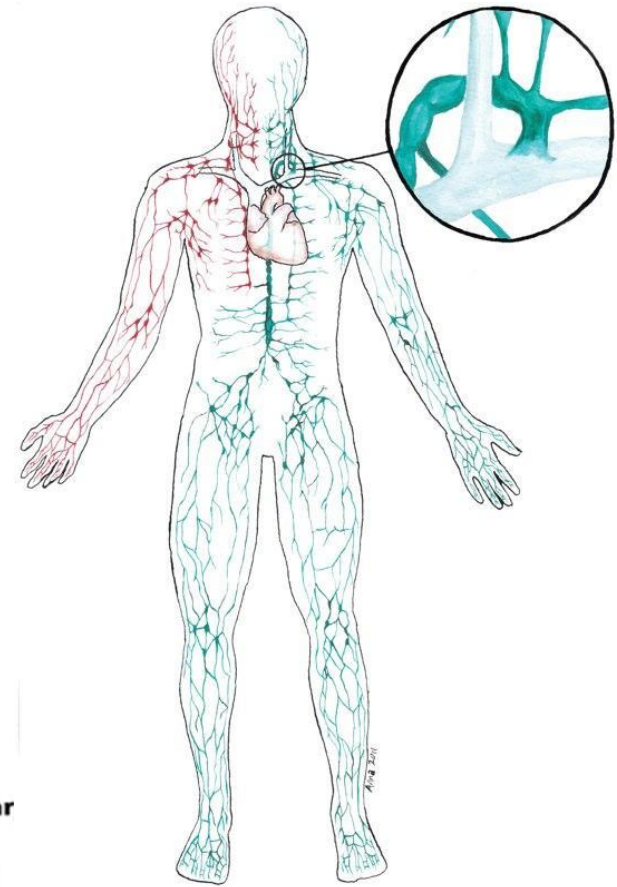
Регулятори гуморальної імунної відповіді, Th2 профіль:

IL1, IL4, IL5, IL6, IL10, IL13

Регулятори клітинної імунної відповіді, Th1 профіль:

IL2, IL12, IFN- γ , IL6, IL8

Цитокіни здатні чинити вазоактивну дію (збільшувати швидкість кровотоку, викликати розширення судин, активувати експресію молекул адгезії ендотеліоцитами), а також прискорювати швидкість лімфообігу

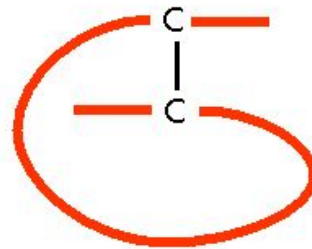


**Хемокіни - родина
низькомолекулярних (8-10 кДа)
цитокінів, котрі викликають
хемотаксис чутливих до них клітин**

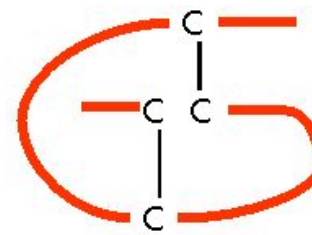


**Залежно від
кількості і
розташування N-
кінцевих цистеїнів
хемокіни
поділяються на 4
підродини: C, CC,
CXC і CX₃C**

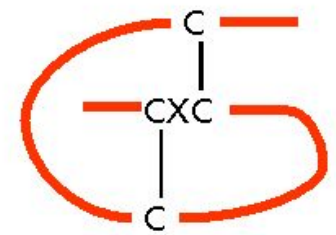
Structure of chemokine classes



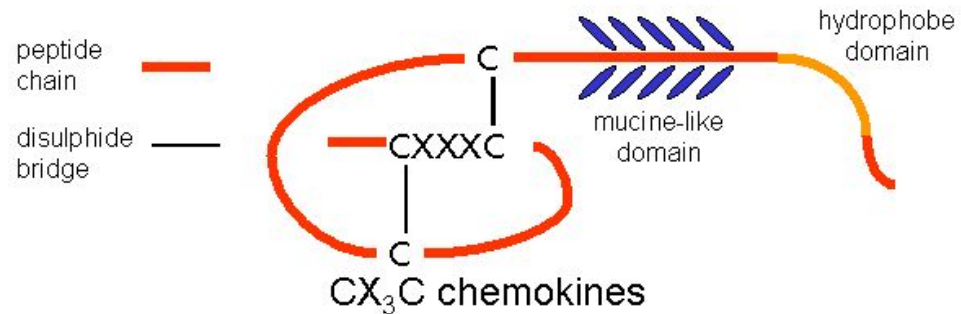
C chemokines



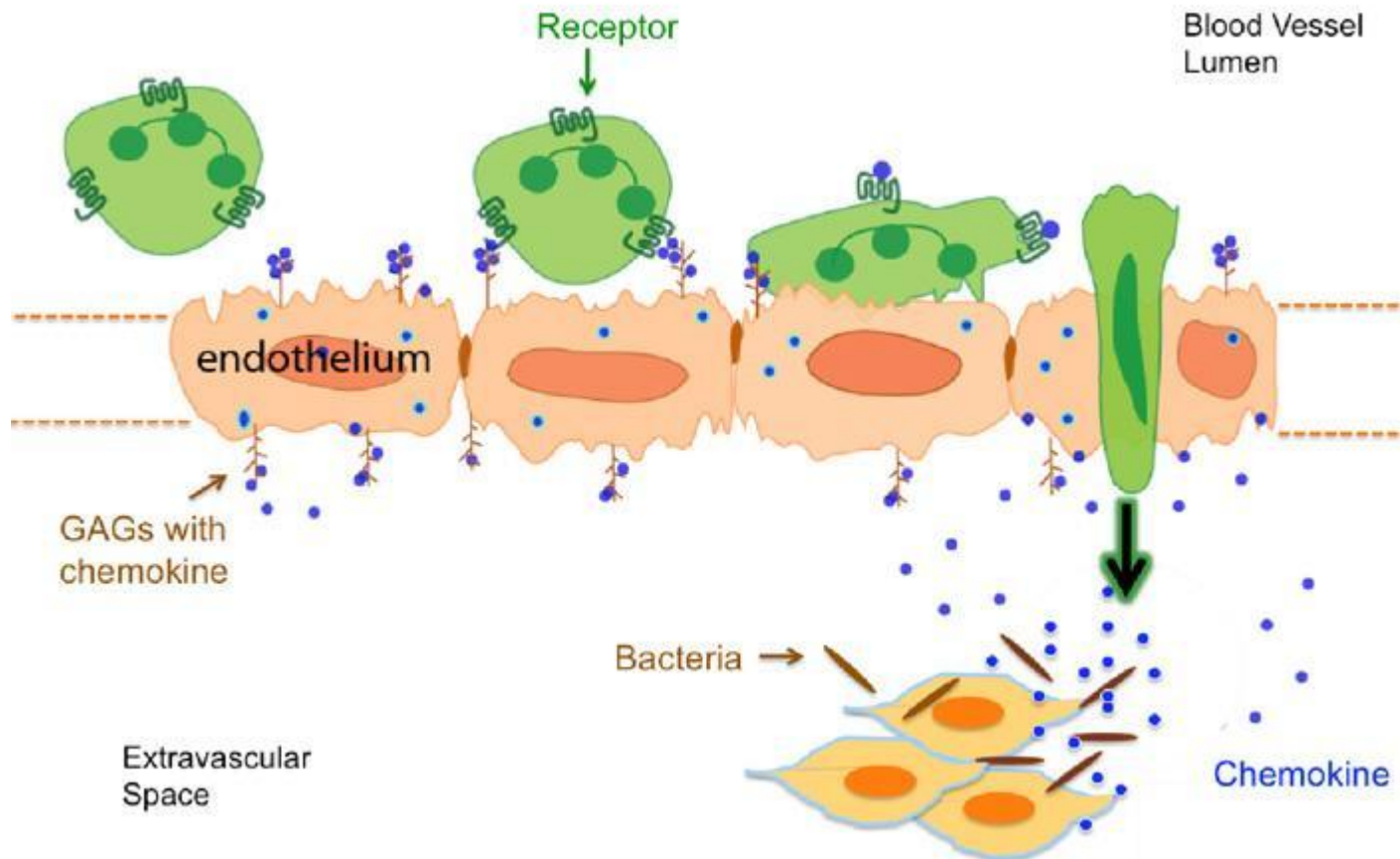
CC chemokines



CXC chemokines



Хемокіни утворюють комплекси з молекулами позаклітинного матриксу і зв'язуються зі специфічними рецепторами на поверхні лейкоцитів різних популяцій, спричиняючи їх хемотактичний рух за градієнтом концентрації

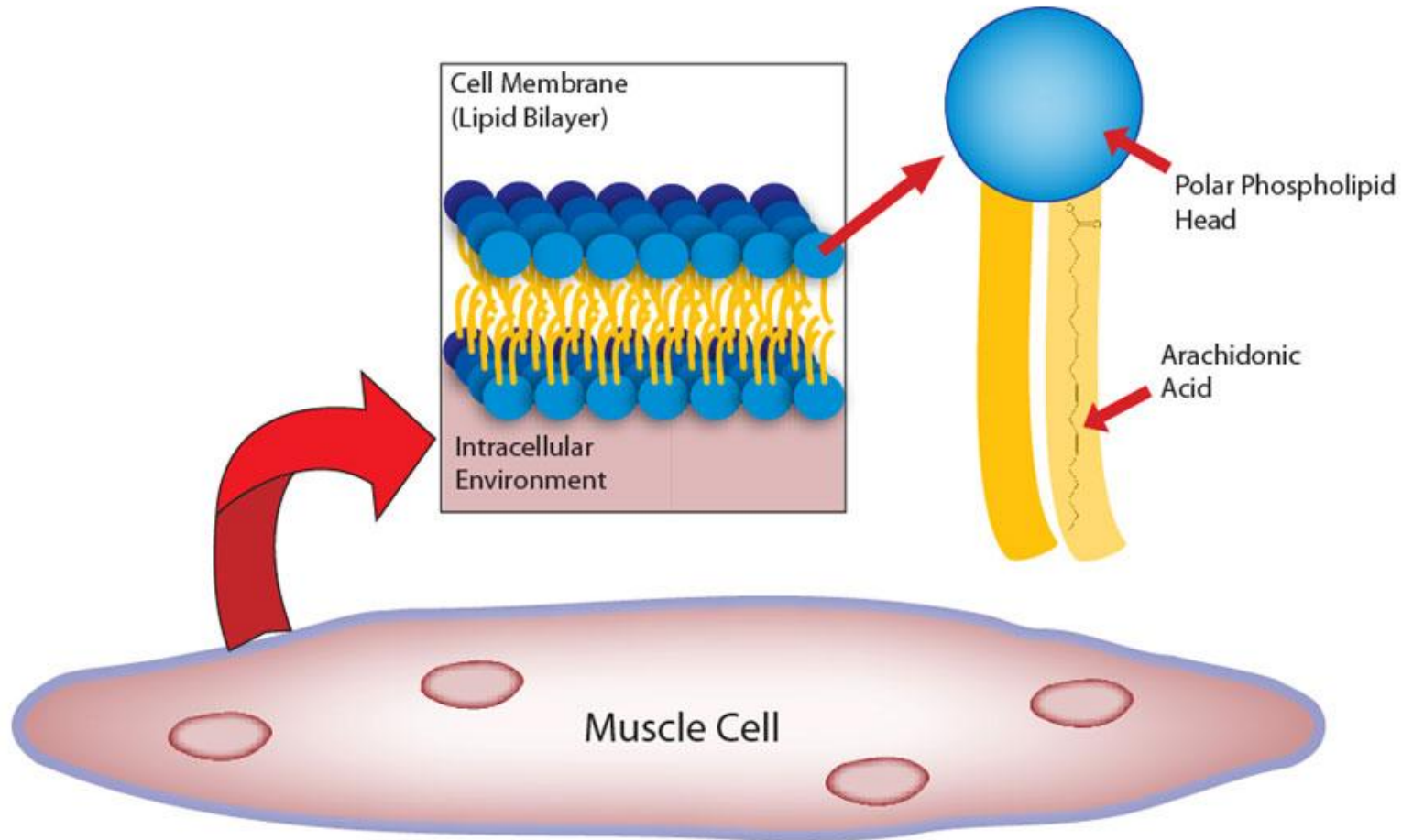


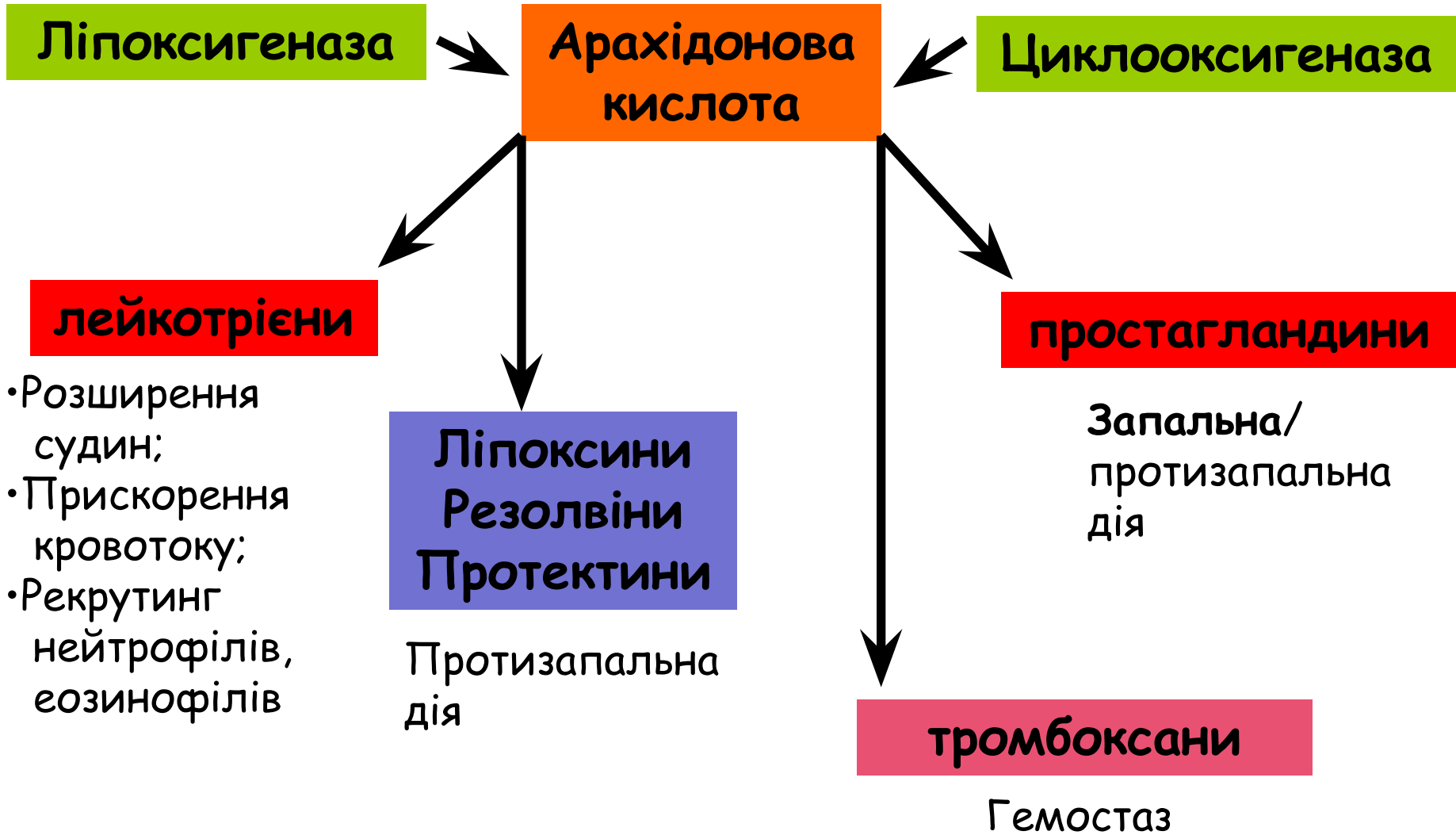
Активация метаболізму арахідонової кислоти

Взаємодія PRR з ПАМТ, а також дія цитокінів викликає активацію метаболізму арахідонової кислоти – основного субстрату для утворення ейкозаноїдів (окиснені похідні 20-членних вищих жирних кислот):

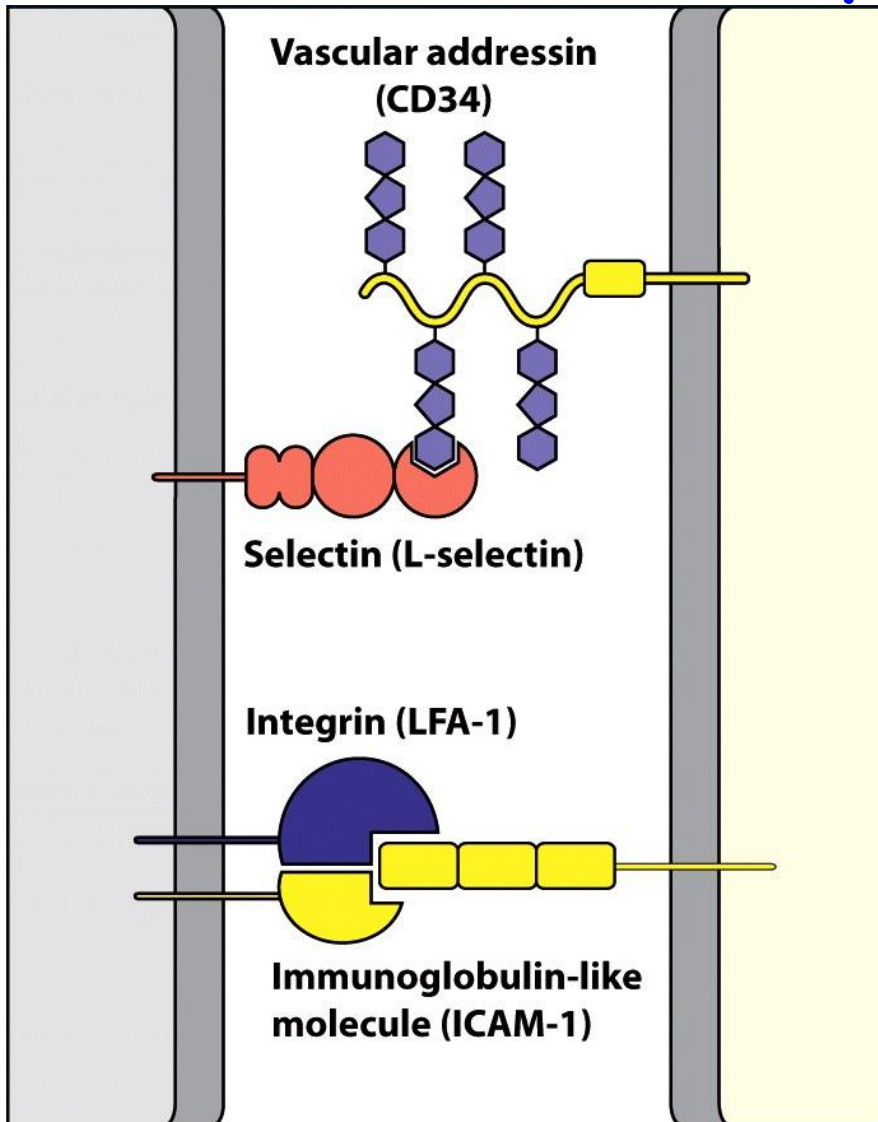
- **Простагландини** – синтезуються практично усіма клітинами організму, утворюються в результаті окиснення арахідонової кислоти циклооксигеназами;
- **Лейкотрієни** – синтезуються лейкоцитами, утворюються в результаті окиснення арахідонової кислоти 5-ліпоксигеназою;
- **Тромбоксани** – синтезуються тромбоцитами, лейкоцитами та ін. клітинами, утворюються з PGH₂ в результаті дії фермента тромбоксансинтази.

У незбудженій клітині арахідонова кислота (АК) прихована у біліпідному шарі ЦТМ, рівень вільної АК дуже низький - це механізм регуляції синтезу ейкозаноїдів. Її метаболізм активується лише за умов дії зовнішнього/внутрішнього стимулу, який спричиняє активацію фосфоліпази А2 і втвільнення АК.





Посилення експресії молекул адгезії – індуктивна реакція вродженого клітинного імунітету

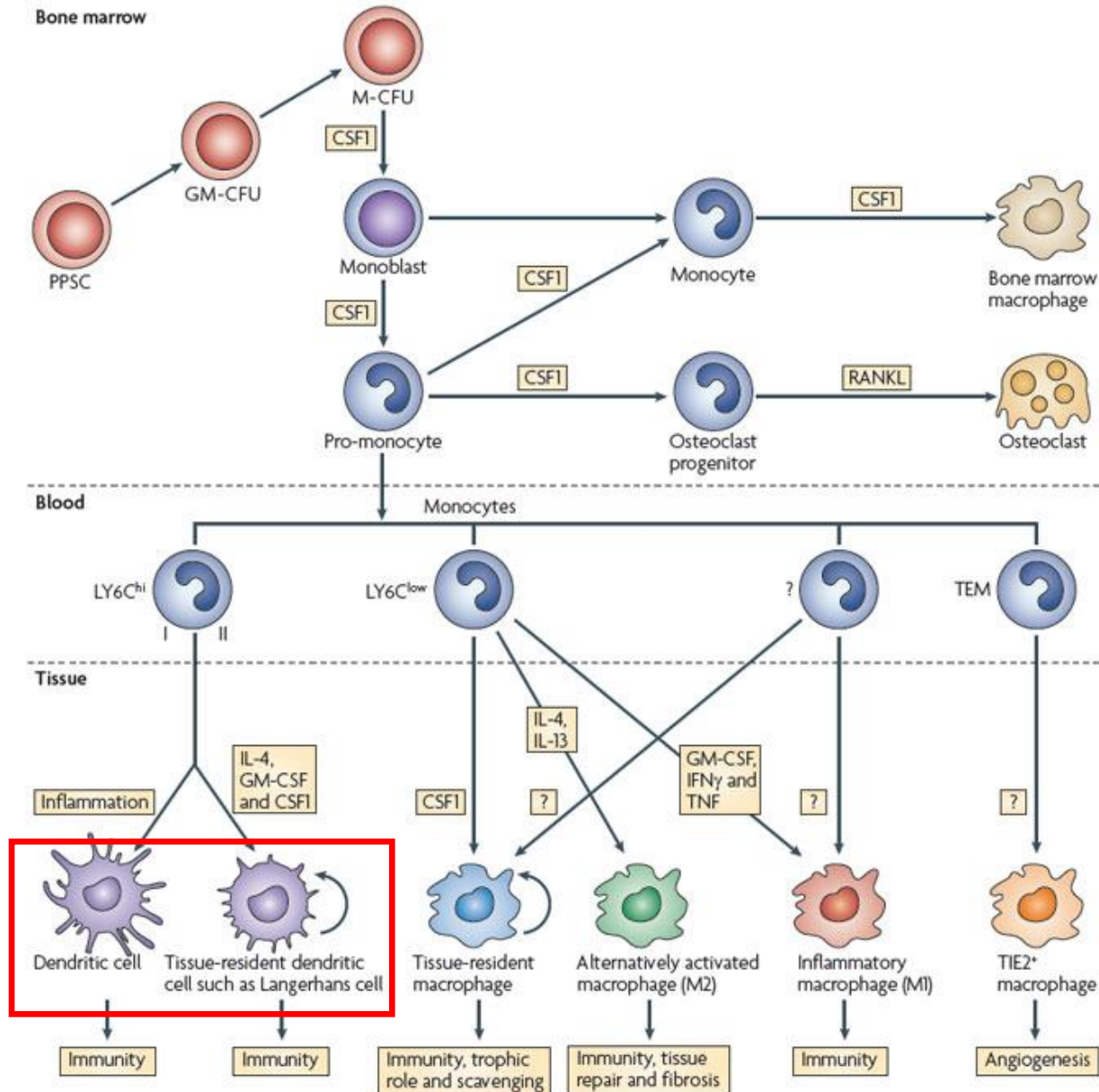


Молекули адгезії – мембранні білки клітин, котрі забезпечують міжклітинні взаємодії та взаємодію клітини з позаклітинним матриксом.

Описано 5 основних родин молекул адгезії:

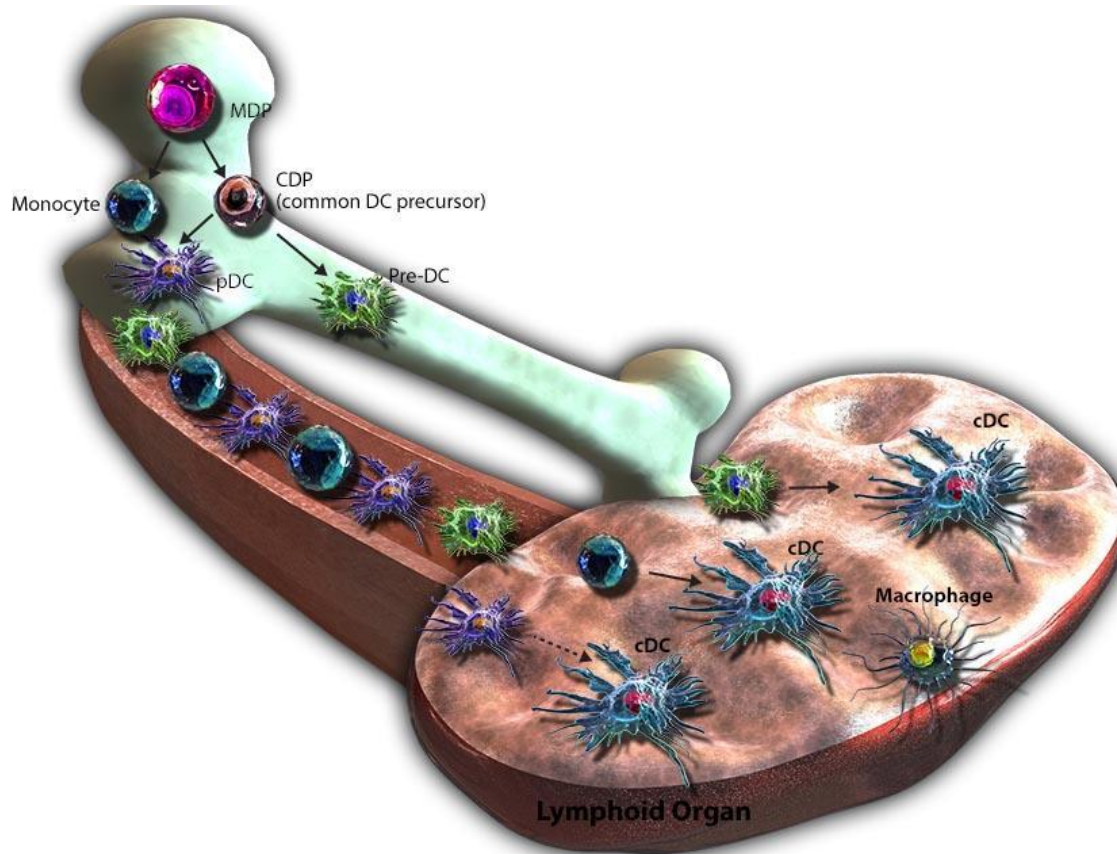
1. Муцини (CD34);
2. Селектини (L-селектин);
3. Інтегрини (LFA-1);
4. Імуноглобулін-подібні молекули (ICAM-1);
5. Кадгерини.

Диференціювання мононуклеарних фагоцитів: дендритні клітини

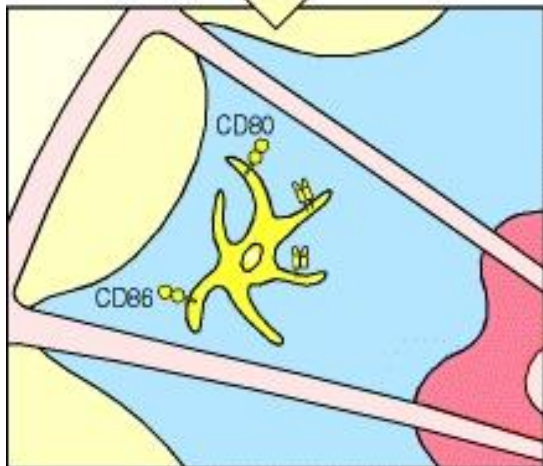
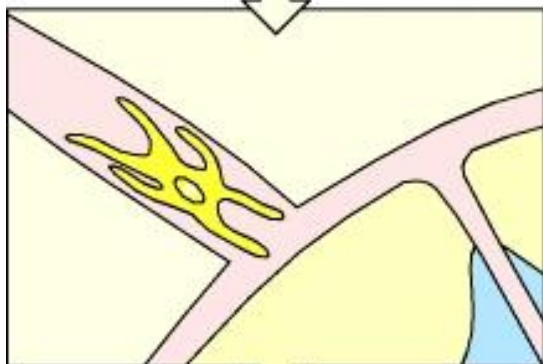
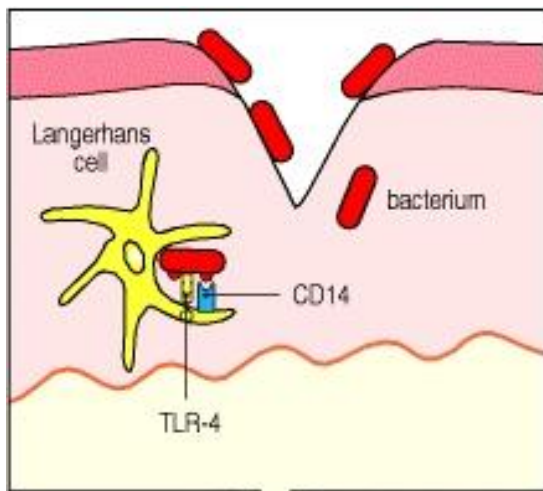


**Мієлоїдні vs
плазмоцитоїдні
дендритні клітини**

Плазмоцитоїдні ДК (пДК) завершують диференціювання у кістковому мозку і циркулюють у крові, складаючи 0,4% усіх мононуклеарних лейкоцитів



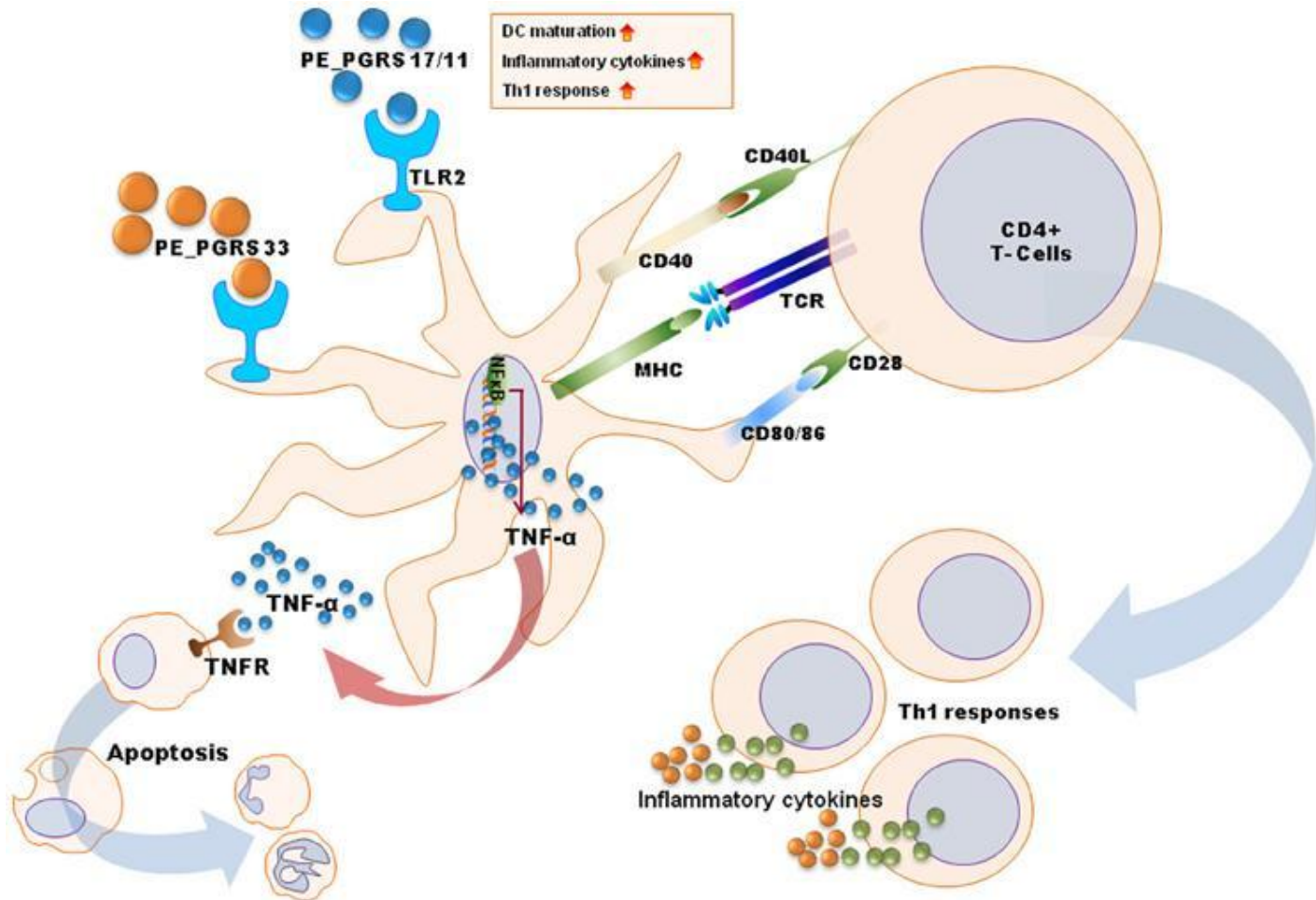
пДК експресують внутрішньоклітинні TLRs і є продуцентами інтерферонів першого типу. Фенотиповими маркерами пДК є CD123, CD303, CD304 та низький рівень експресії CD11c

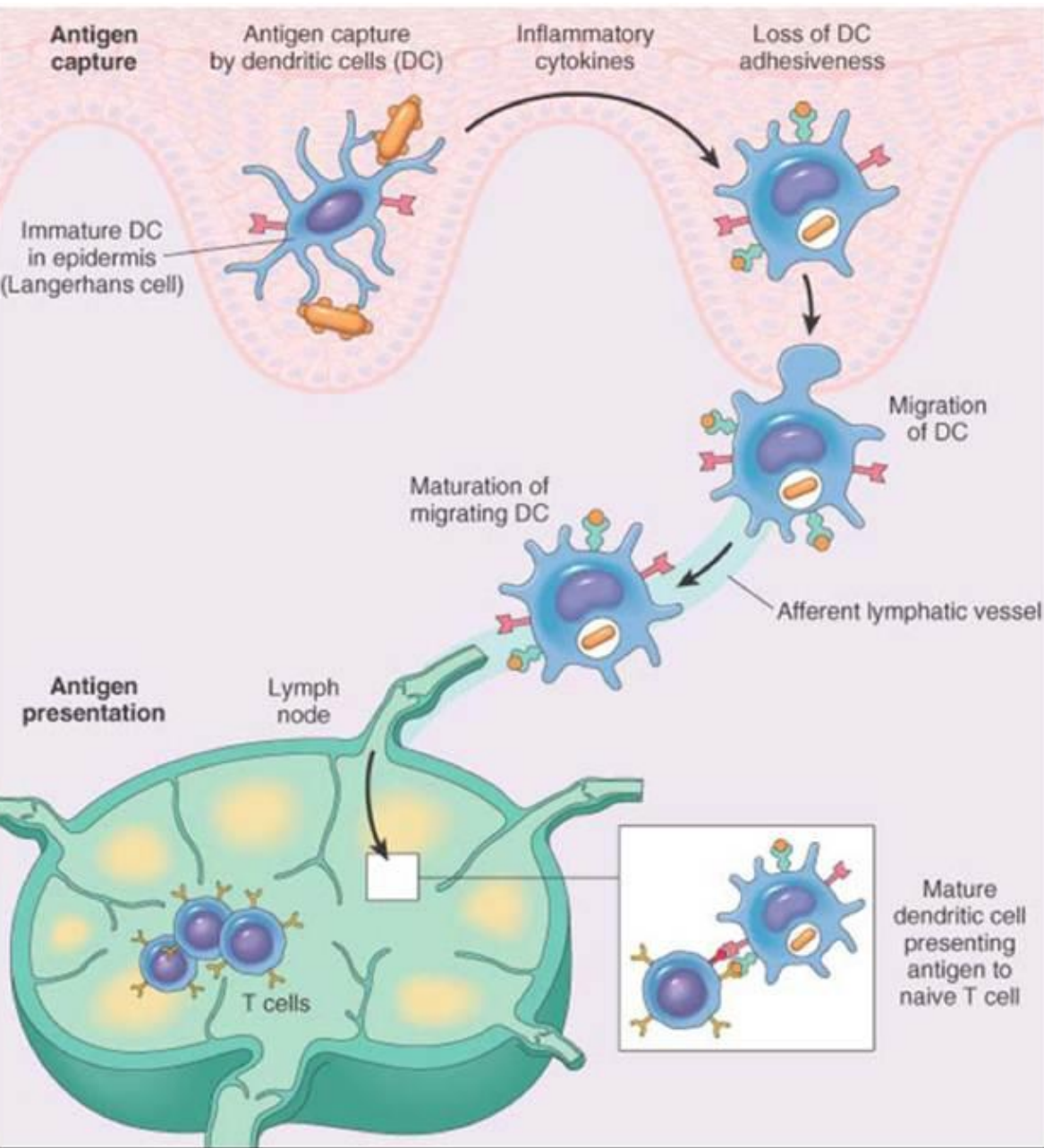


Циркуючі моноцити-попередники мієлоїдних дендритних клітин (мДК) мігрують з кров'ю і оселяються у тканинах організму, диференціюються на резидентні дендритні клітини і виконують функції клітин-вартівих.

Активація мДК чужорідною субстанцією викликає їх морфо-функціональні зміни і активує міграцію по аферентних лімфатичних судинах до дренуючого організованого лімфоїдного утвору (наприклад, лімфовузла), де відбувається презентація чужорідного матеріалу Т- і В-лімфоцитам й ініціювання адаптивної імунної відповіді.

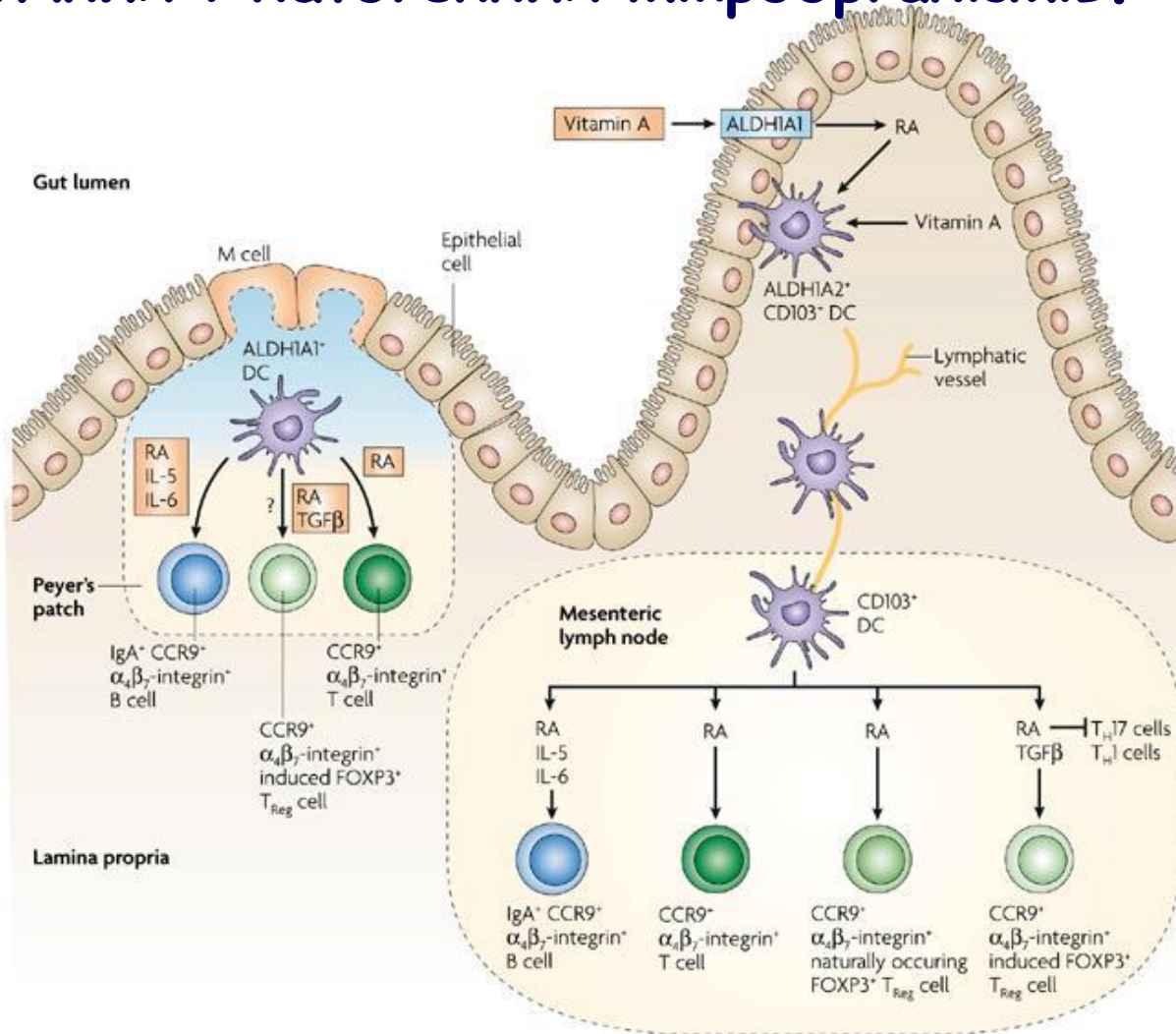
МДК активують адаптивну імунну відповідь Th1-типу (прозапальну)



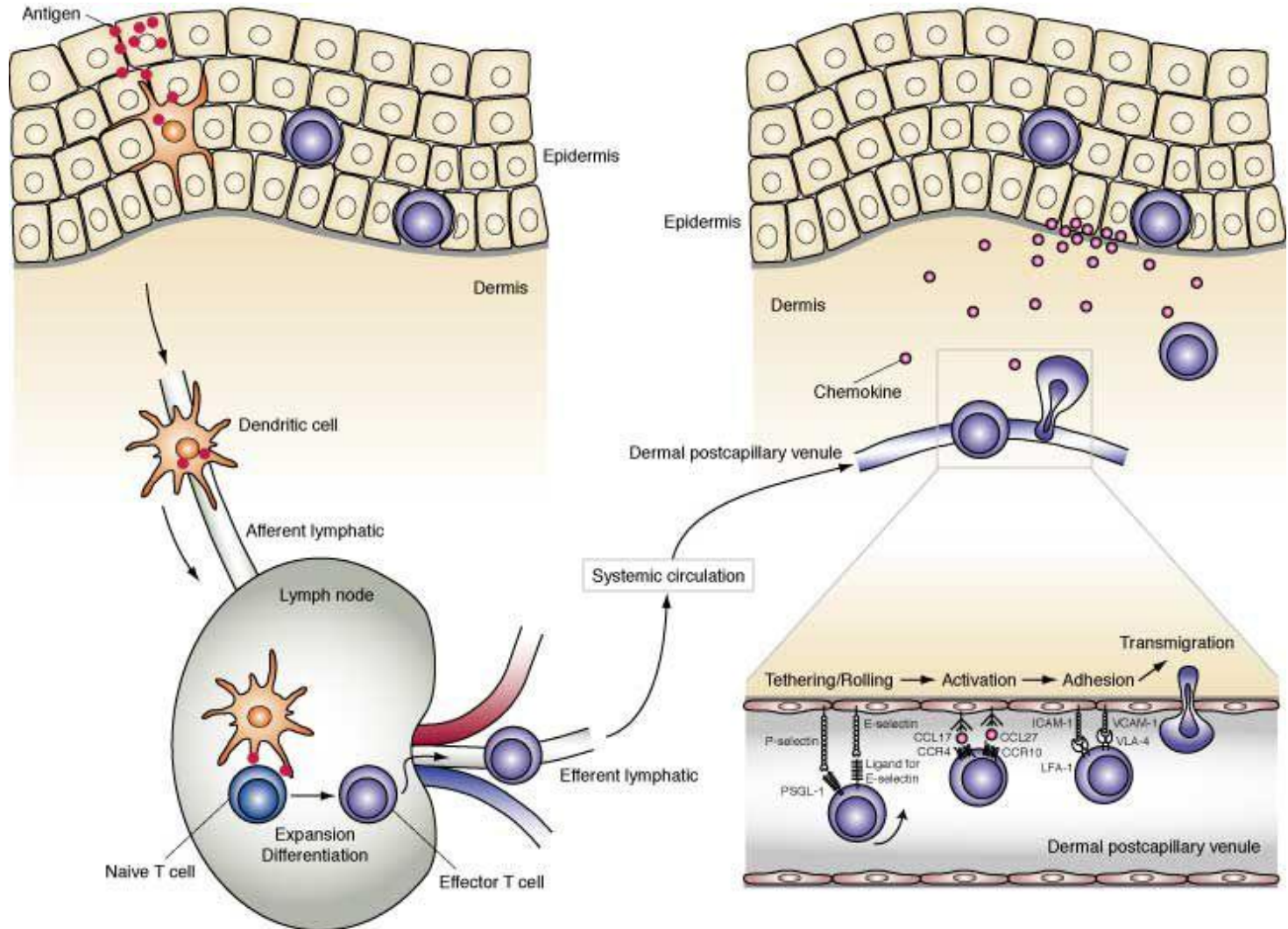


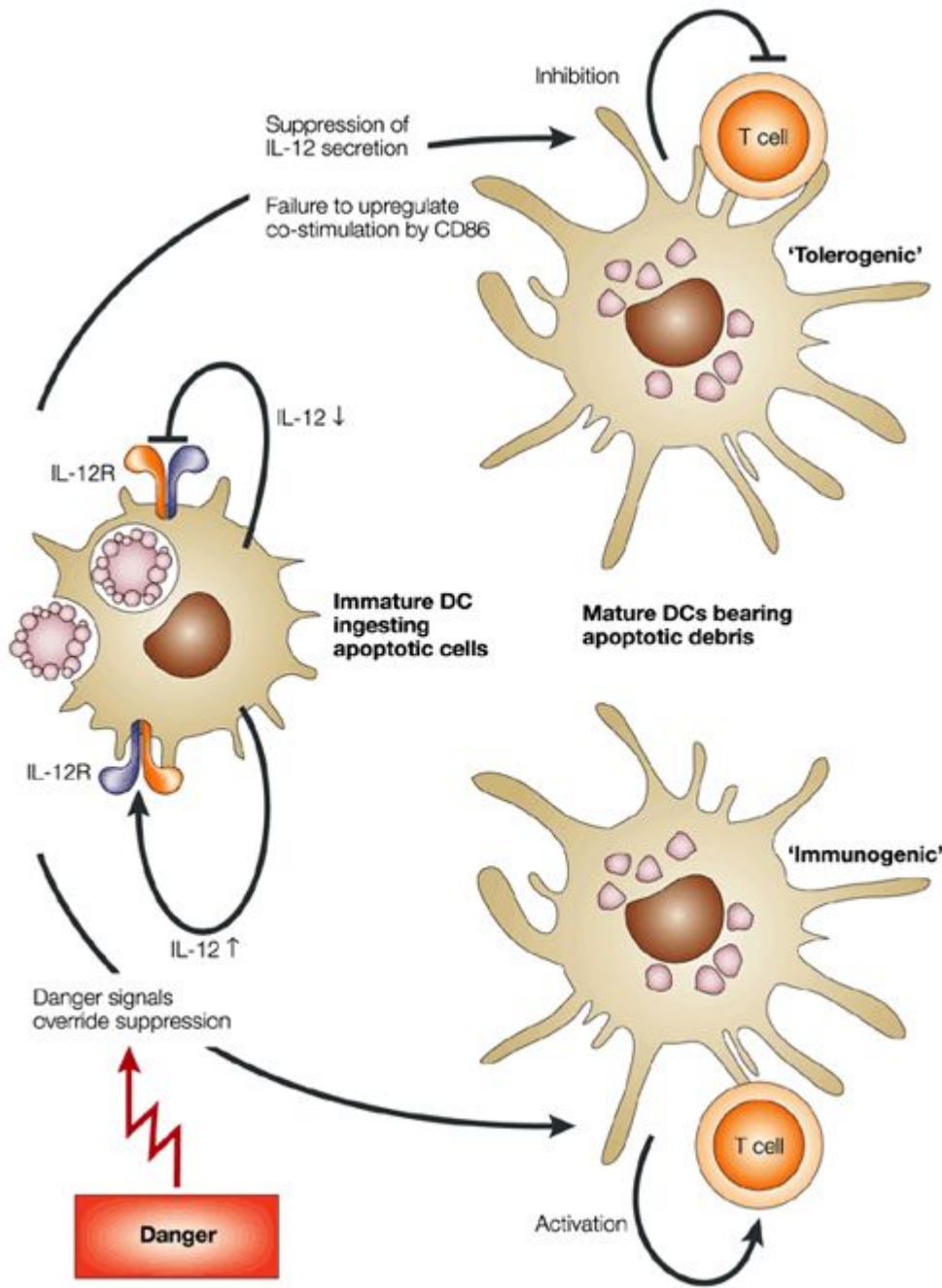
Морфо-функціональні зміни активованих мДК полягають у скороченні дендритів, втраті інвазивності і фагоцитарної активності, активації міграції і посиленні експресії коstimуляторних молекул. Основним фенотиповим маркером мДК є CD11c

Особливістю функціонування ДК компартментів, колонізованих симбіотичною мікробіотою полягає у наявності механізмів диверсифікації у розпізнаванні симбіотичних і патогенних мікроорганізмів.

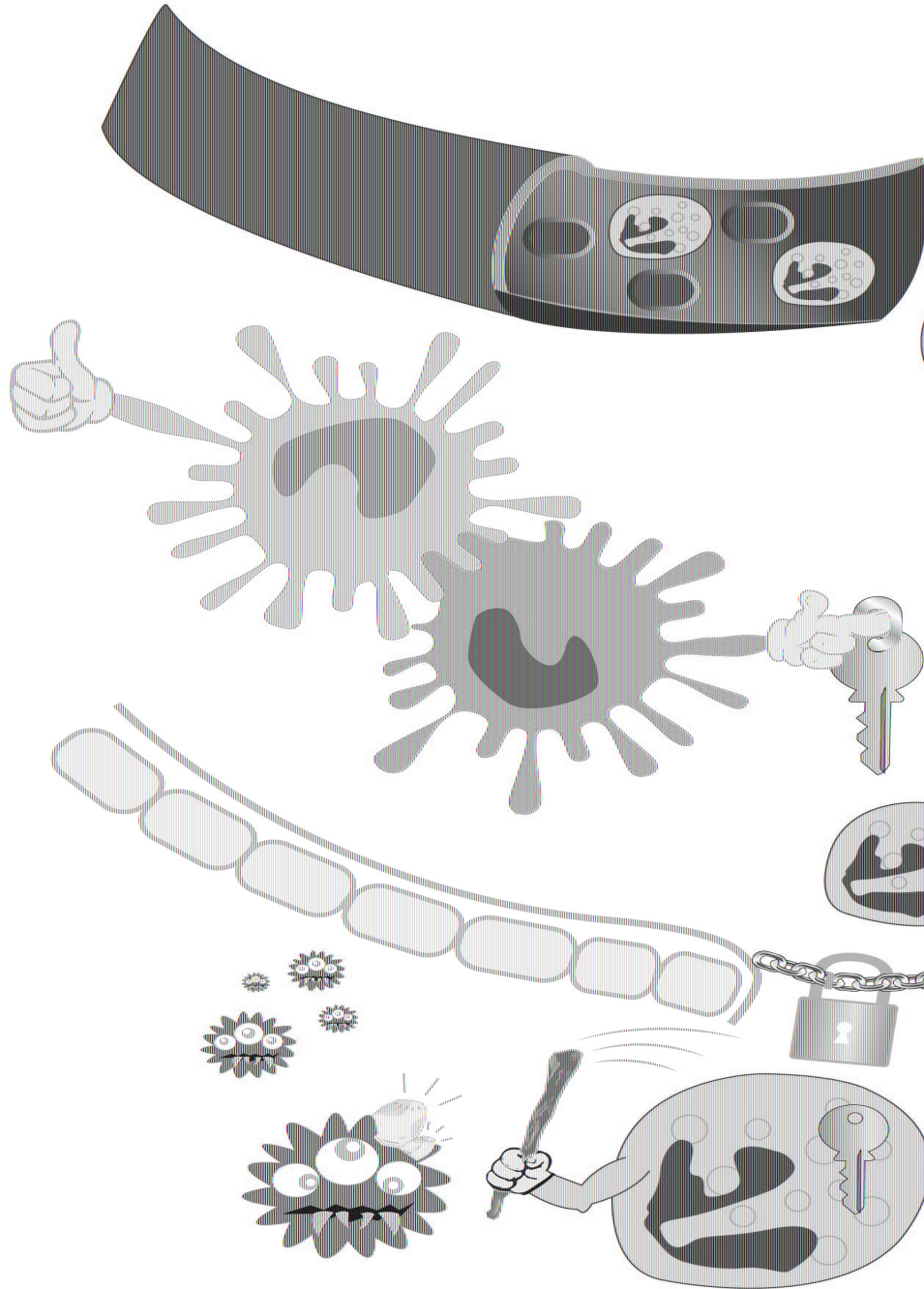


Активовані ДК Т-лімфоцити мігрують у зону проникнення чужорідної субстанції або зону стерильного запального процесу, де реалізують ефекторні реакції адаптивного імунітету.



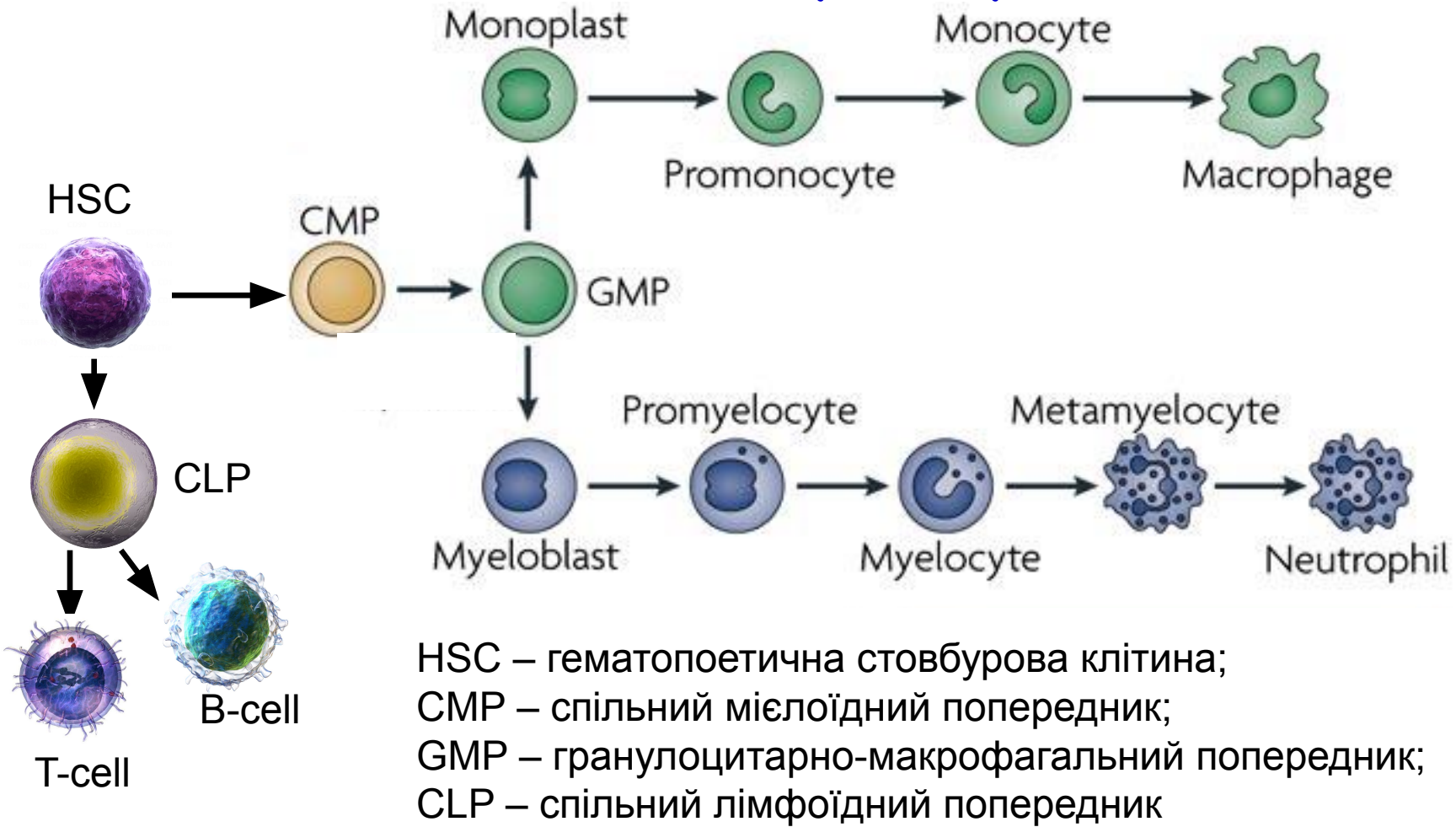


Функціональне дозрівання ДК залежить від природи активаційних стимулів



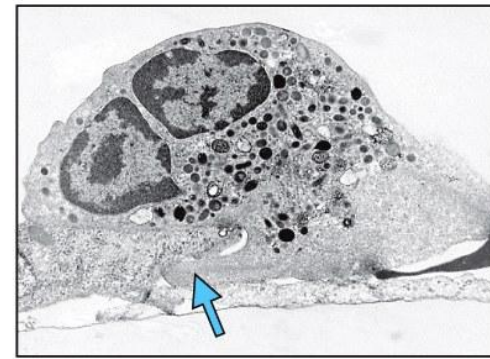
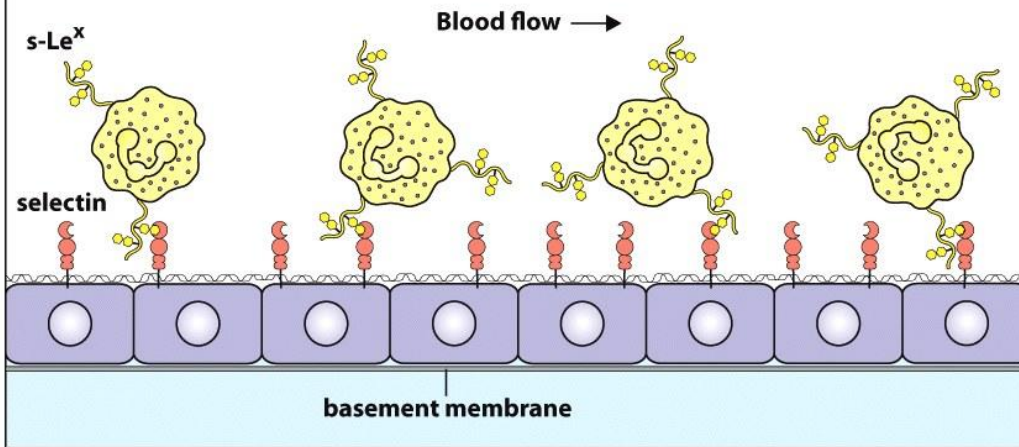
До індукованих реакцій вродженого імунітету належить рекрутинг і активація нейтрофілів (поліморфноядерних нейтрофільних гранулоцитів) короткоживучих фагоцитів, котрі циркулюють у крові (складають 95% усіх циркулюючих гранулоцитів) і відсутні у тканинах.

Нейтрофіли диференціюють зі спільного з макрофагами гранулоцитарно-макрофагального попередника у кістковому мозку.

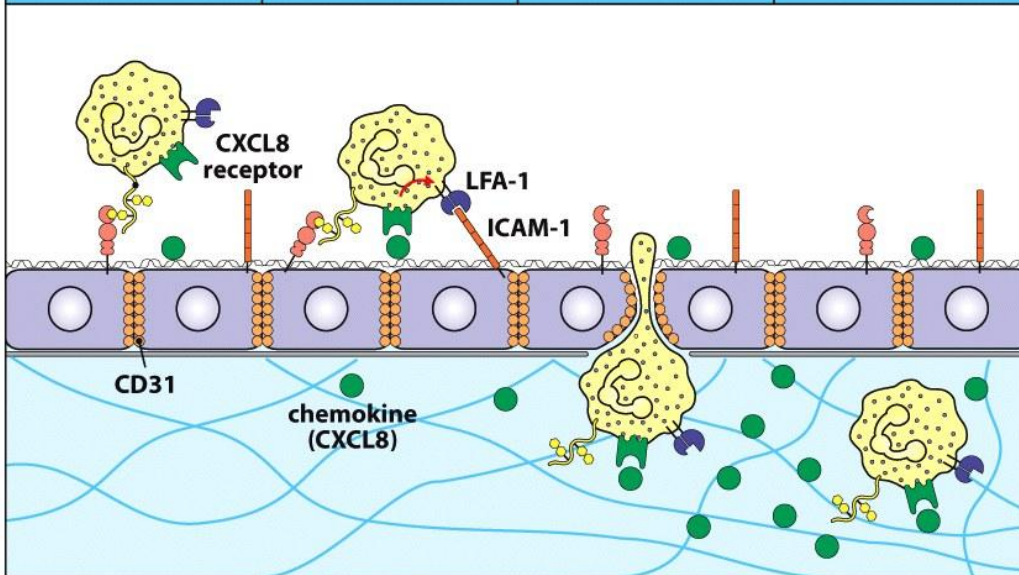


Основні фенотипові маркери нейтрофілів - $CD16^{bright}/CD45^{dim}$

Selectin-mediated adhesion is weak, and allows the neutrophil to roll along the vascular endothelial surface

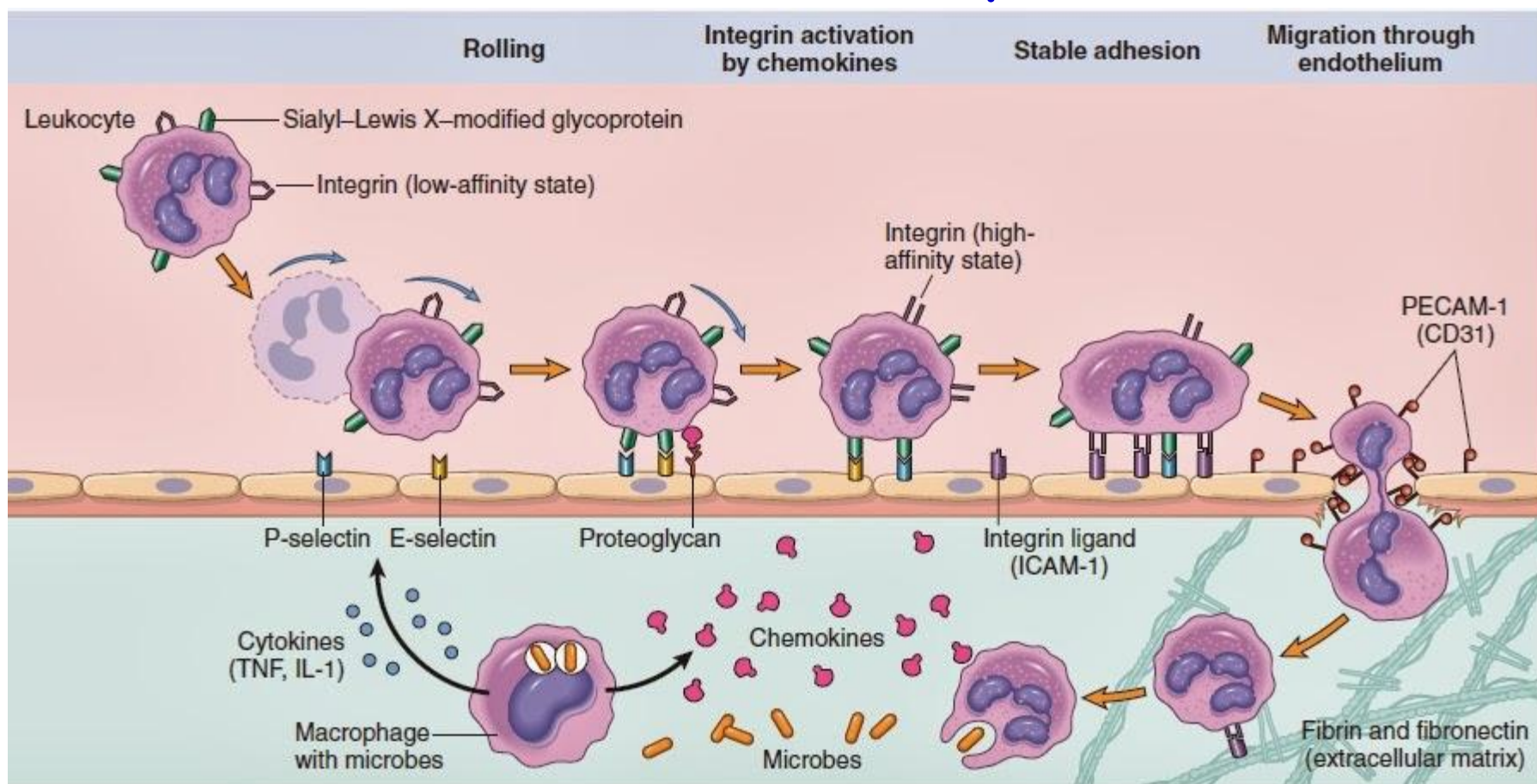


Rolling adhesion	Tight binding	Diapedesis	Migration
------------------	---------------	------------	-----------

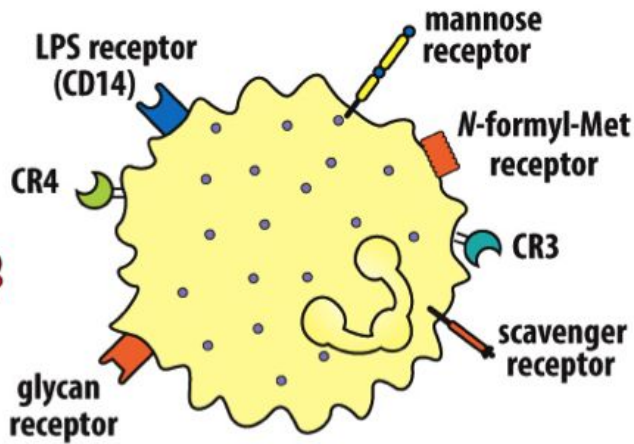


Рекрутинг нейтрофілів у зону інфекції забезпечується хемокінами (ІЛ-8) та цитокінами (котрі активують експресію молекул адгезії), продукованими активованими макрофагами.

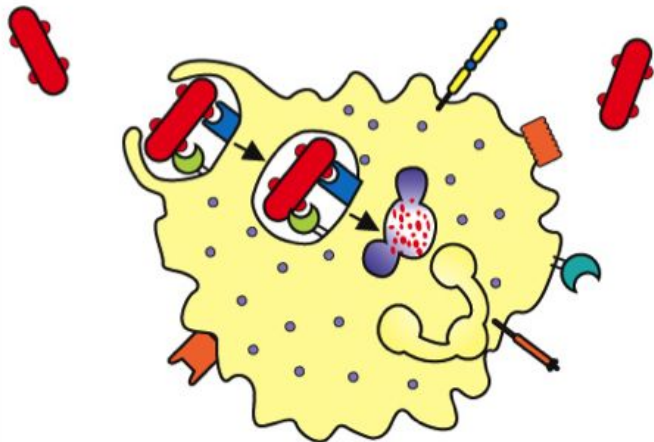
Послідовність рекрутингу нейтрофілів: експозиція на мембрані ендотеліоцитів Р-селектинів (кілька хв. після дії TNF α), експресія Е-селектинів (кілька год. потому) → ролінг; експозиція молекул адгезії (ICAM-1) та їх взаємодія з інтегринами нейтрофілів → стабільна адгезія; взаємодія з PECAM → екстравазація.



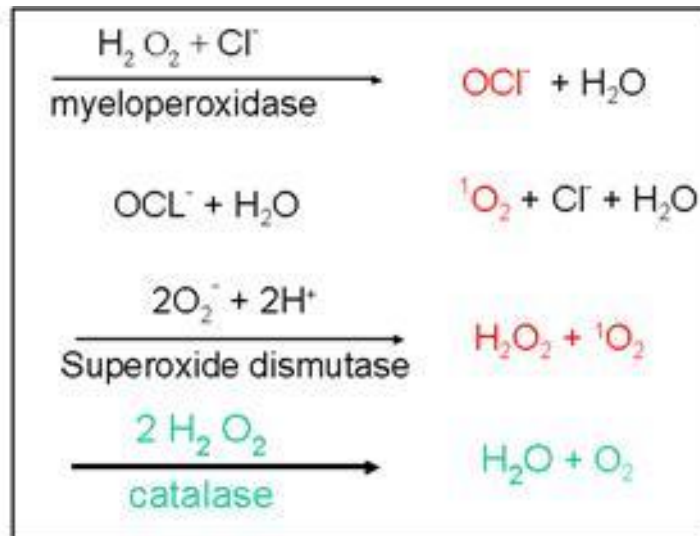
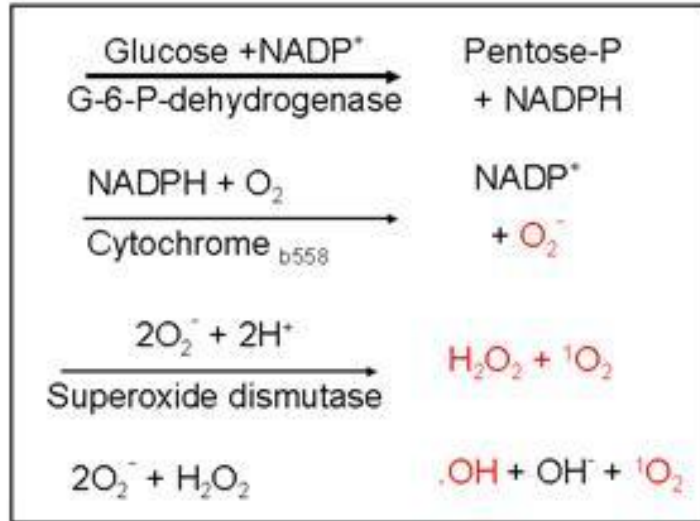
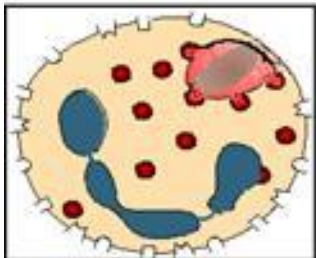
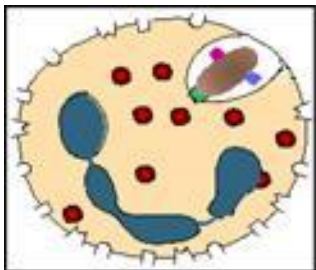
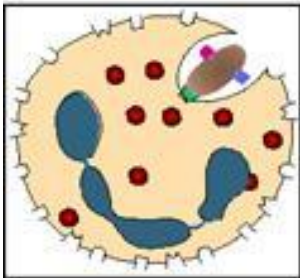
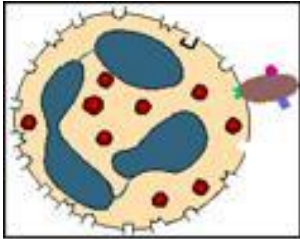
Neutrophils express receptors for many bacterial and fungal constituents



Neutrophils bind bacteria, engulf them, and destroy them with the toxic contents of the neutrophil granules



Нейтрофіли експресують широкий спектр ТРР, здатні до ендцитозу інфекційних чинників з наступною їх деградацією у фаголізосомі, яка формується злиттям фагосоми з цитоплазматичними гранулами нейтрофілів, котрі містять бактерицидні речовини.



Нейтрофілам, як і макрофагам, властива продукція реактивних форм кисню

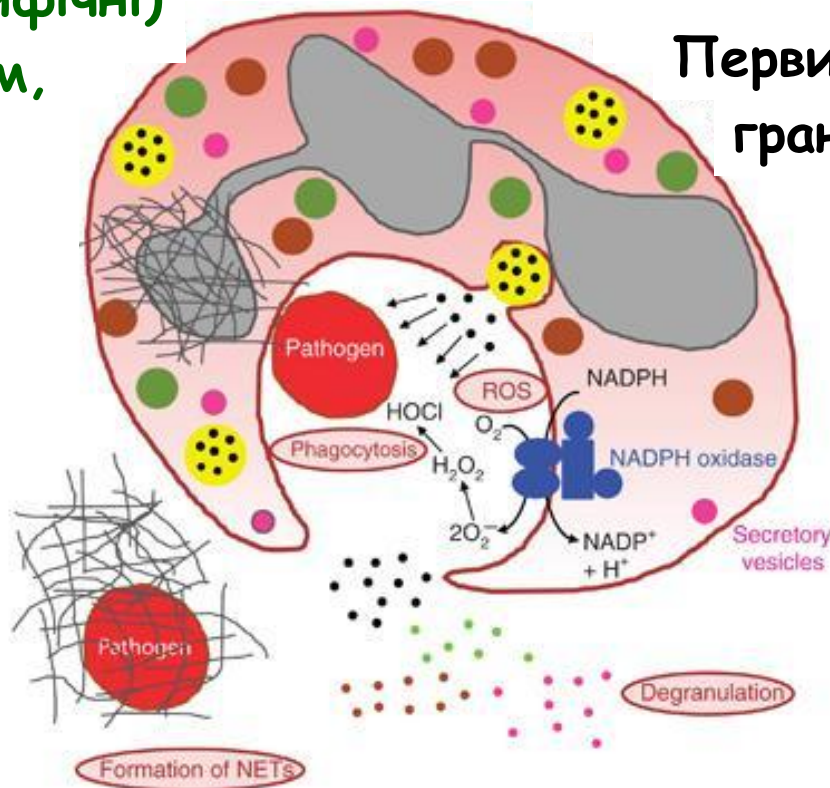
У відповідь на лігацію ПРР нейтрофіли вивільнюють вміст секреторних везикул і гранул (екзоцитоз) у наступній послідовності: везикули → третинні гранули вторинні гранули → первинні гранули.

Третинні (желатиназні) гранули: желатиназа, ММР-9 тощо.

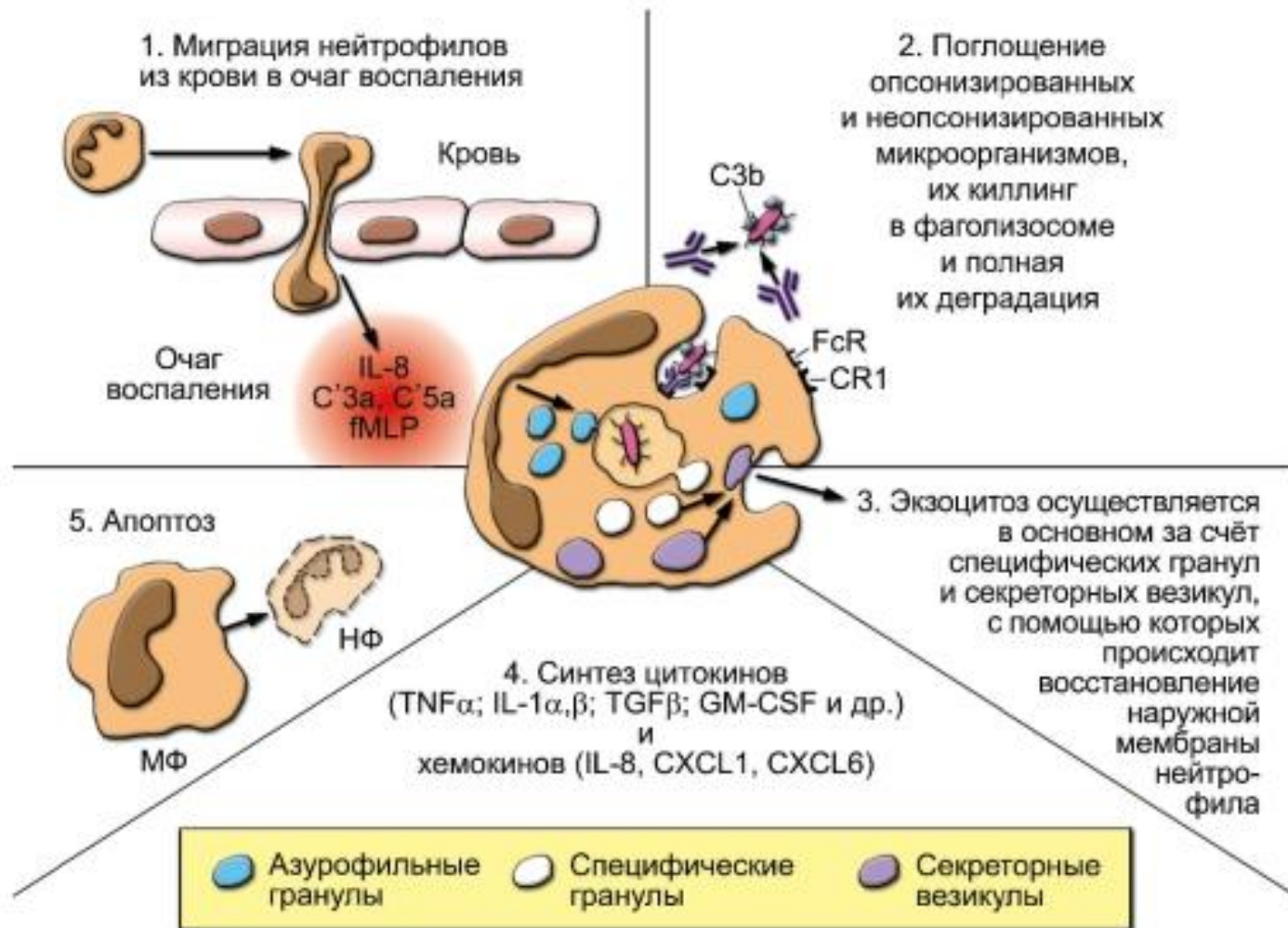
Вторинні (специфічні) гранули: лізоцим, колагеназа, лактоферин тощо.

Первинні (азурофільні) гранули :

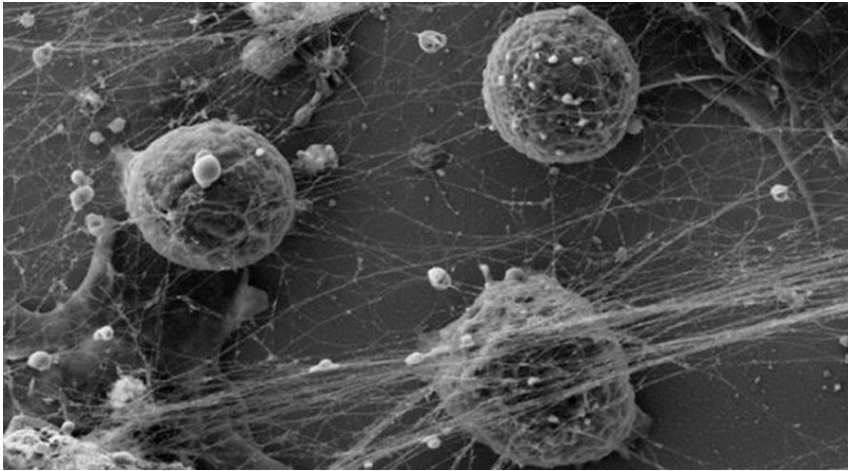
мілопероксидаза, еластаза, катепсин G тощо.



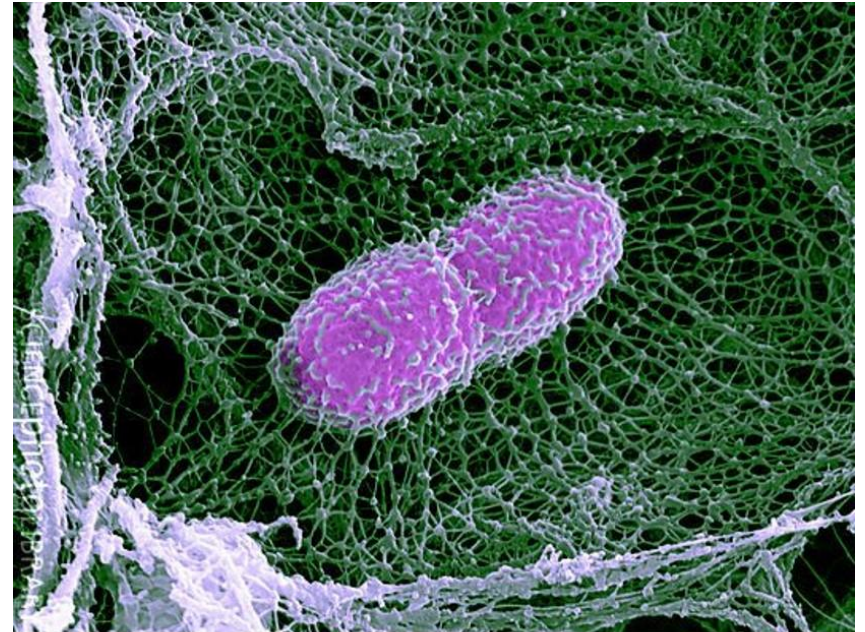
Послідовність реалізації функціональної активності нейтрофілів



Однією з форм антибактеріальної дії нейтрофілів є нетоз – клітинна загибель у супроводі екструзії (викиду) внутрішньоклітинного вмісту у формі сітки, до складу якої входять ДНК і гістони, антибактеріальні білки і пептиди, ферменти і реактивні сполуки кисню.

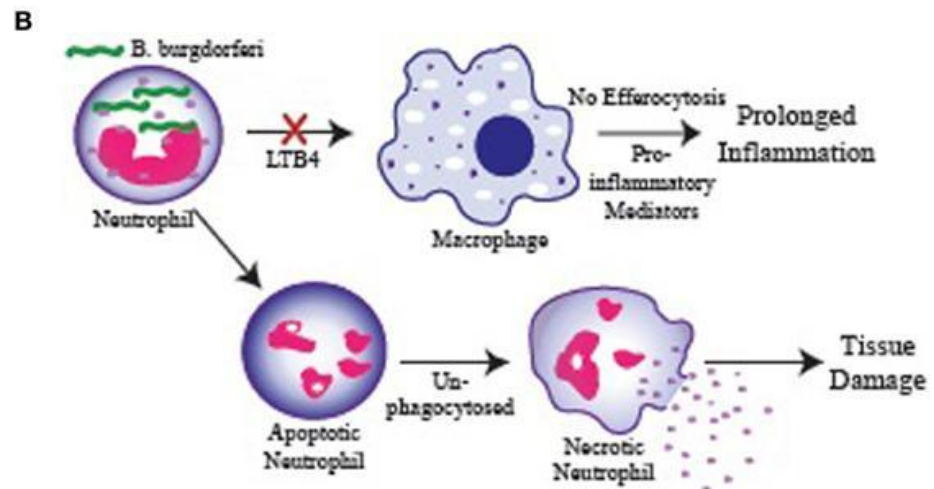
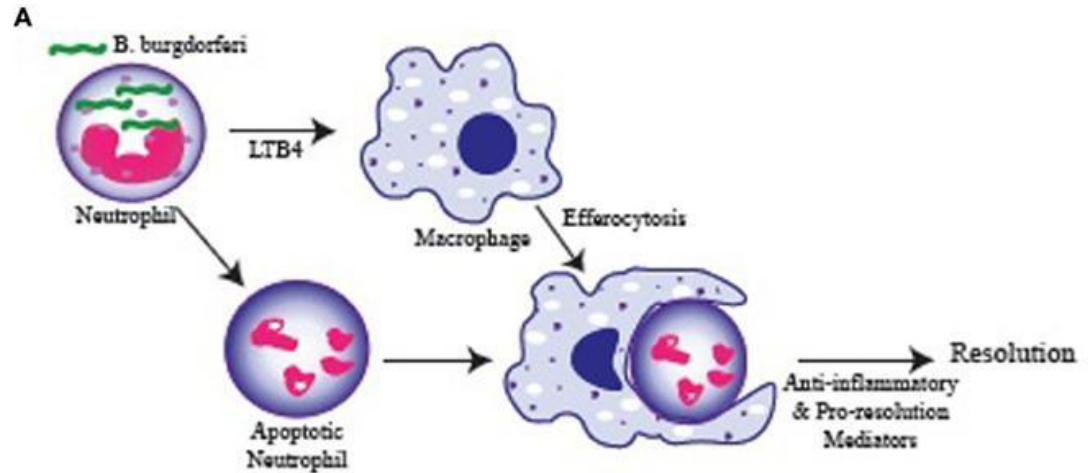


НЕТОЗ

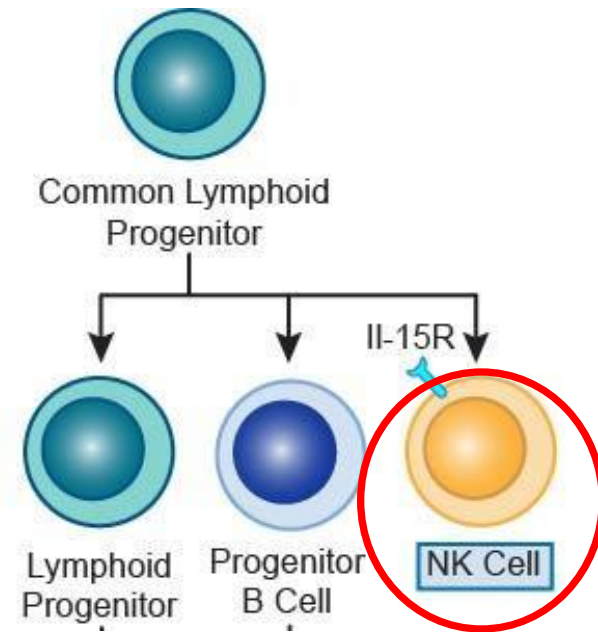
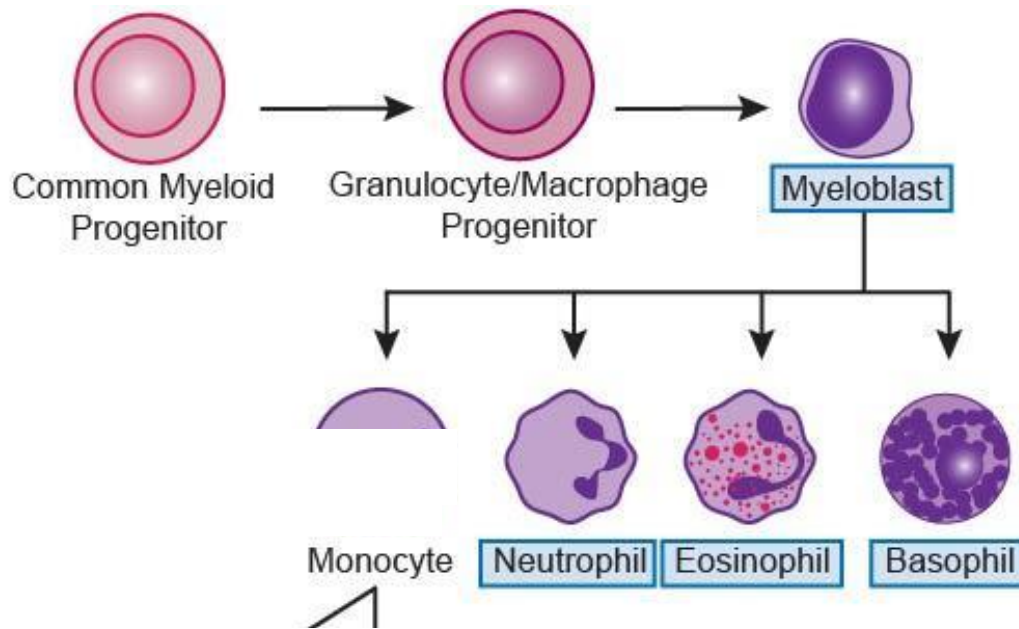


Klebsiella pneumoniae in NET

Нейтрофіл, який вичерпав свої функції, швидко гине (апоптоз, нетоз, некроз). Апоптичні нейтрофіли швидко утилізуються макрофагами шляхом ефероцитозу. Загиблі нейтрофіли є одним з компонентів гною при гнійничкових інфекційних процесах.



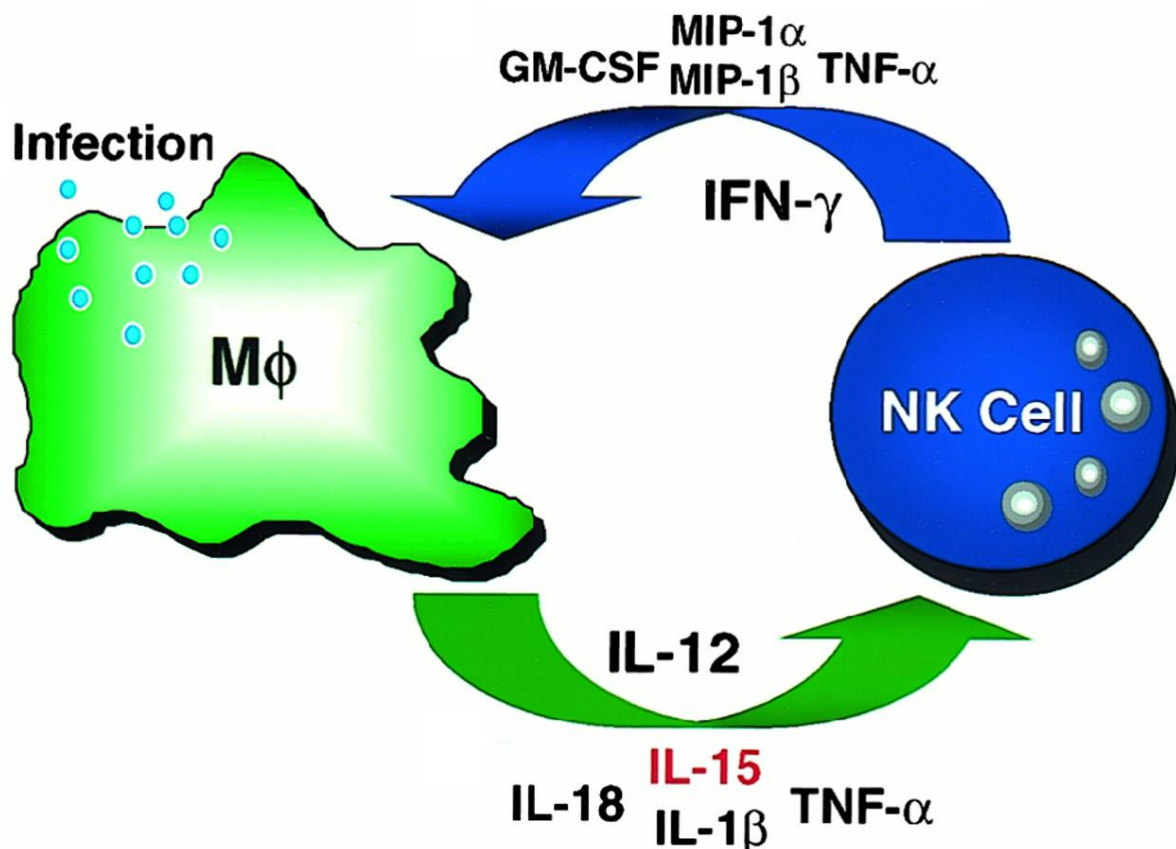
Активация природных килерных клеток - индуктивная клеточная реакция врожденного иммунитета



Природні килерні клітини походять з лімфоїдного попередника у кістковому мозку, спільного для всіх лімфоїдних клітин



Залучення природних кілерних клітин в індуктивні клітинні реакції вродженого (природного) імунітету опосередковується інтерферонами першого типу (α і β), а також $\text{TNF}\alpha$, ІЛ-12 та ІЛ-15, які продукуються активованими макрофагами.



НК-клітини, у свою чергу, продукують IFN- γ та інші цитокіни, які стимулюють лізосомальну активність і продукцію цитокінів макрофагами.

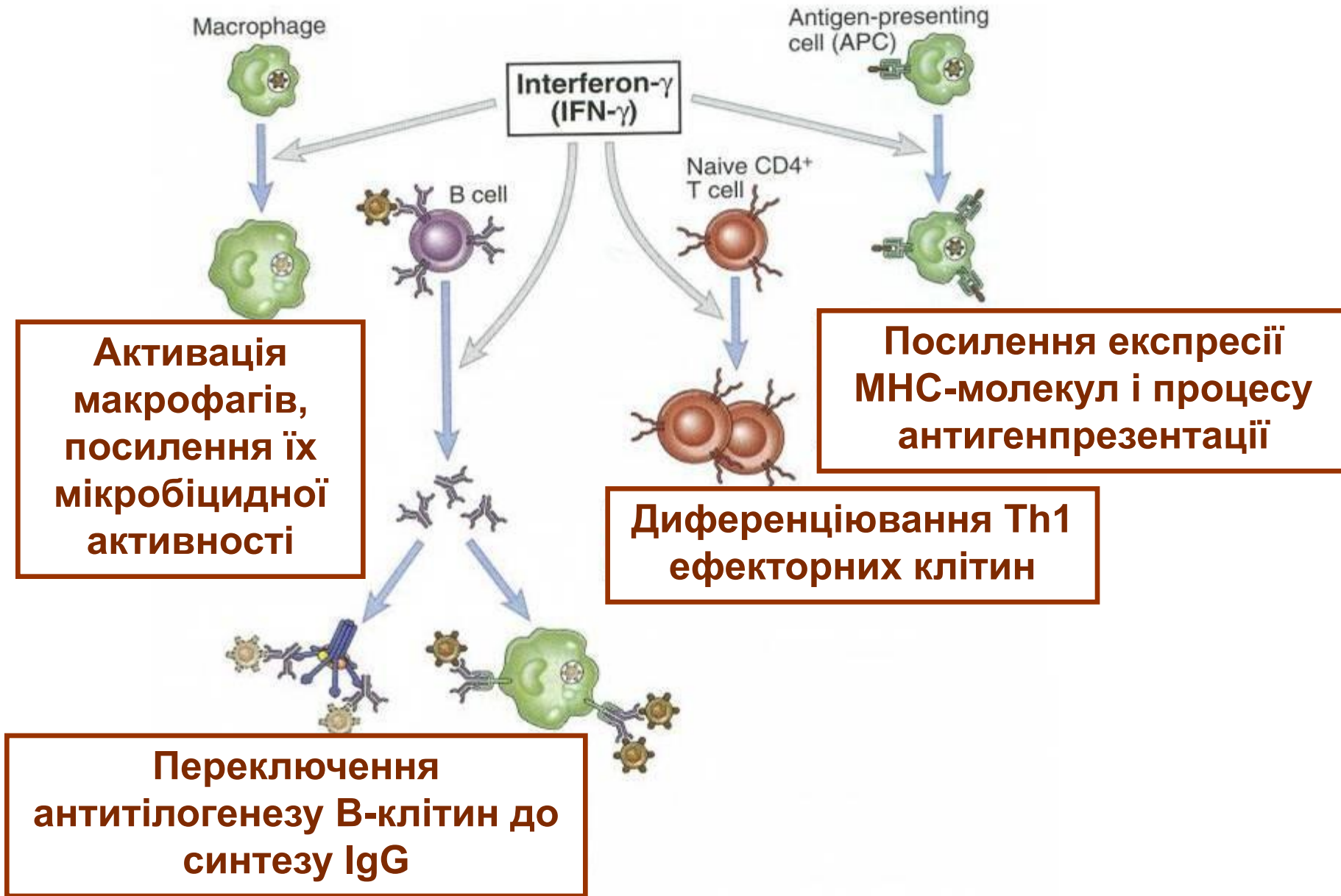
IFN- γ єдиний інтерферон II типу.

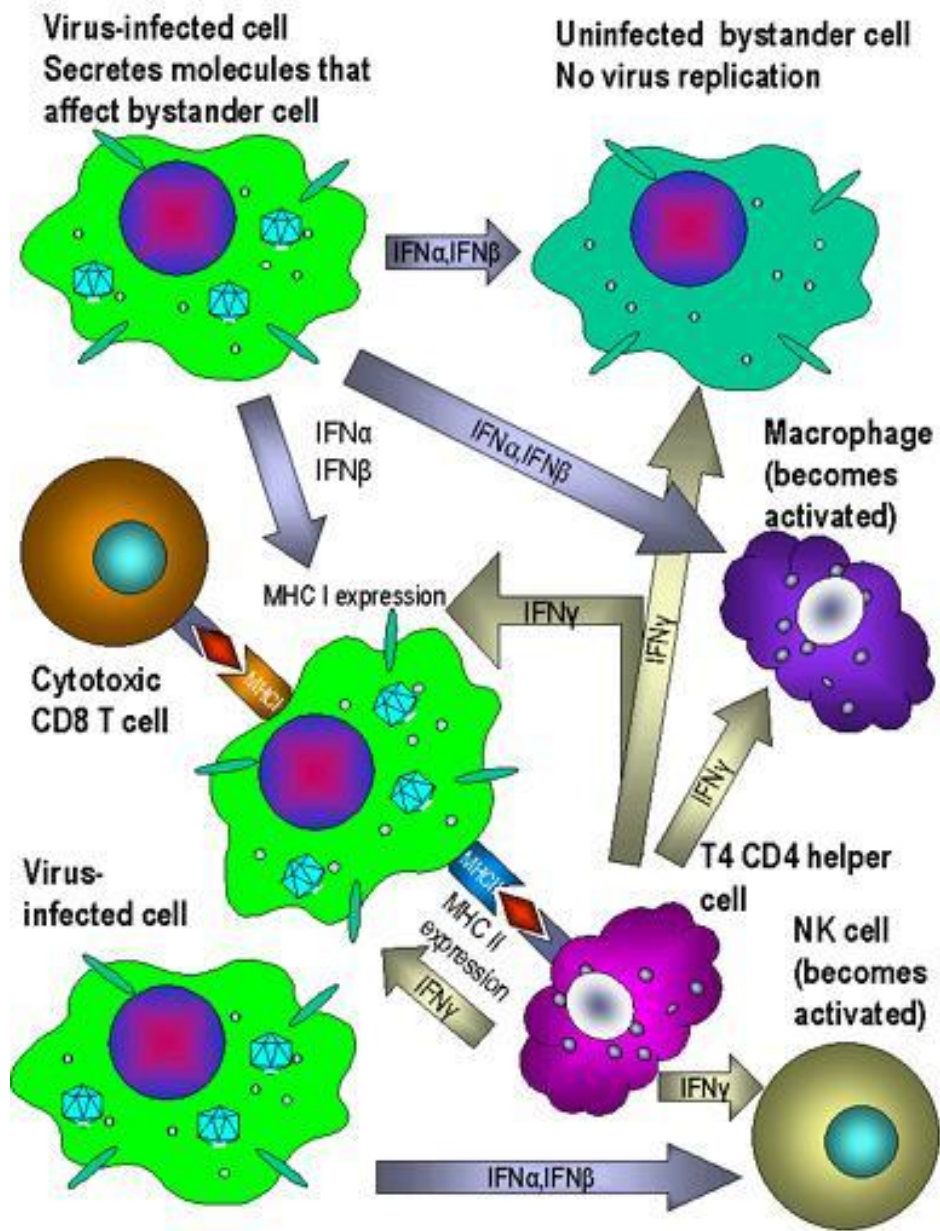
Основними продуцентами є НК-клітини, CD4+Th1 та CD8+цитотоксичні Т-лімфоцити.

Володіє широким спектром біологічних ефектів:

- Активує ендотеліоцити;
- Чинить слабку противірусну дію;
- Гальмує клітинну проліферацію;
- Гальмує процеси гемопоезу;
- Опосередковано стимулює апоптоз;
- Стимулює диференціювання клітин;
- Стимулює експресію молекул гістосумісності;
- Чинить імуномодуляторну дію.

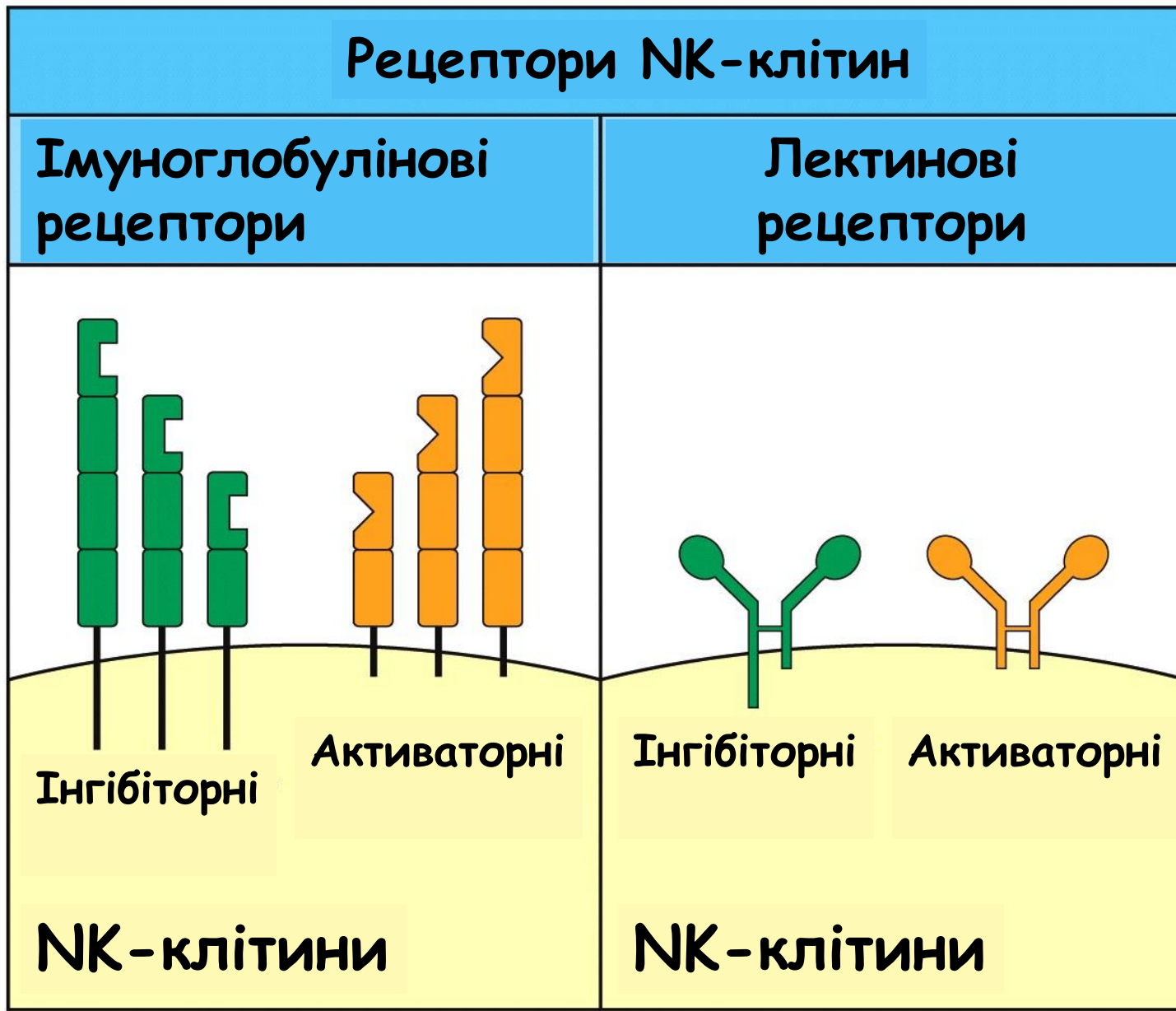
Імуномодуляторна дія IFN- γ





У процесі імунної відповіді інтерферони різних класів перебувають у тісній взаємодії

**NK-клітини експресують два типи рецепторів:
активаторні та інгібиторні, які належать до двох родин**

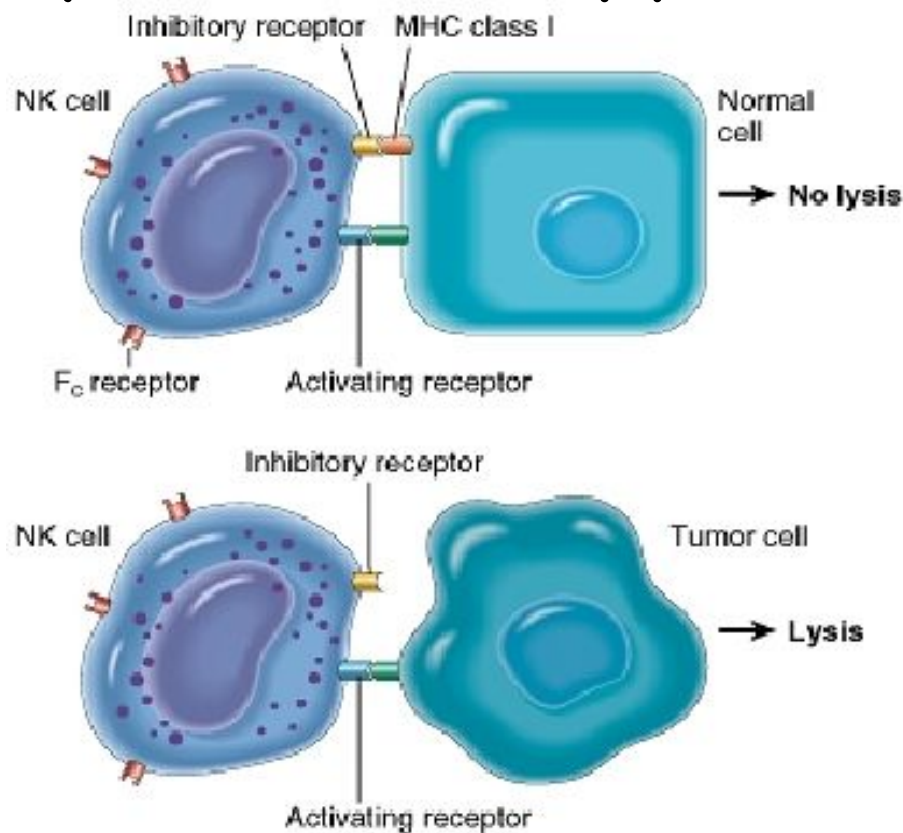


Існує дві теорії активації цитотоксичної активності NK-клітин: "missing self" та "induced self".

Згідно першої теорії, інгібіторні рецептори NK-клітин розпізнають MHC I молекули власних клітин, що викликає гальмування сигналіngu від активаторних рецепторів. Порушення гальмування активаторних рецепторів спричиняє цитотоксичну дію NK-клітин.

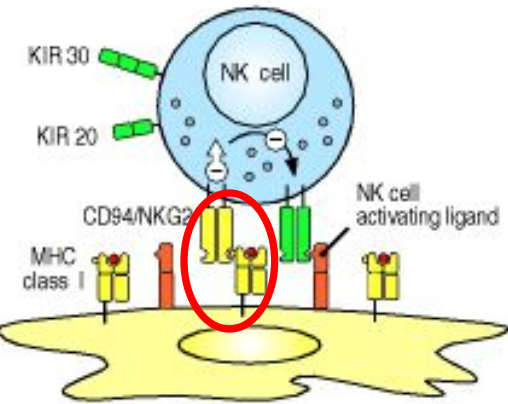
Згідно другої теорії, активацію цитотоксичності NK-клітин викликає експресія власними клітинами певних аутоантигенів, спричинена стресовим впливом.

Імуноглобулінові рецептори NK-клітин людини належать до родини KIR (Killer Immunoglobulin-like Receptors) і розпізнають MHC I молекули. Існують активаторні та інгібиторні форми цих рецепторів, які розпізнають різні MHC I молекули, залежно від ступеню їх поліморфності.

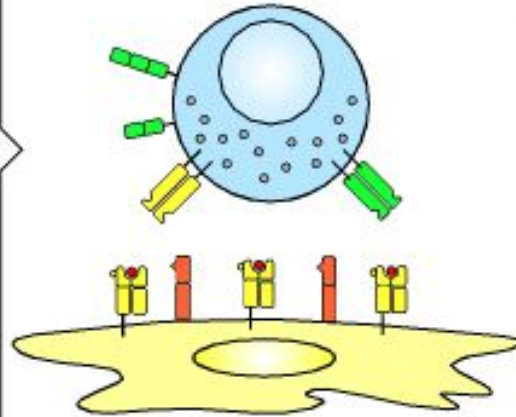


Ілюстрація теорії "missing self" на прикладі відсутності експресії лігандів інгібиторних KIR-рецепторів (злоякісна трансформація)

MHC class I on normal cells is recognized by killer inhibitory receptors (KIRs) or by lectinlike CD94: NKG2 heterodimers on NK cells, which inhibit signals from activating receptors

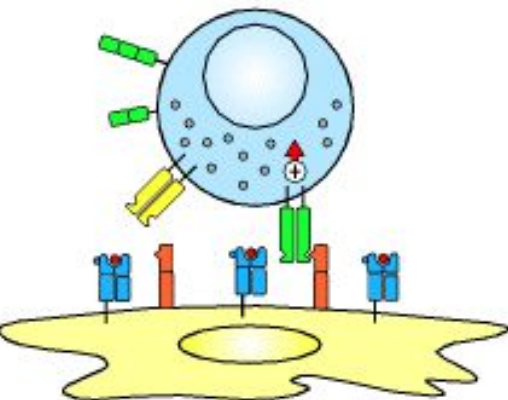


NK cell does not kill the normal cell

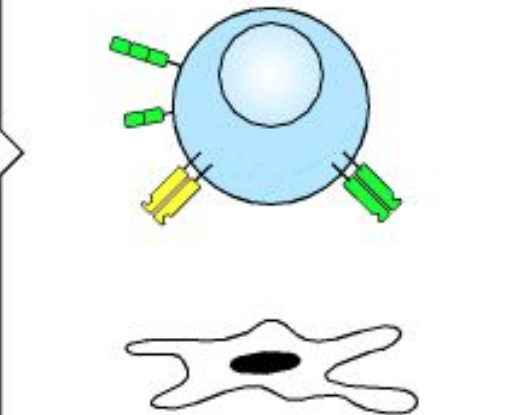


Лектинові рецептори належать до двох основних груп: CD94-NKG2 гетеродимерні рецептори та NKG2D.

'Altered' or absent MHC class I cannot stimulate a negative signal. NK cell is triggered by signals from activating receptors

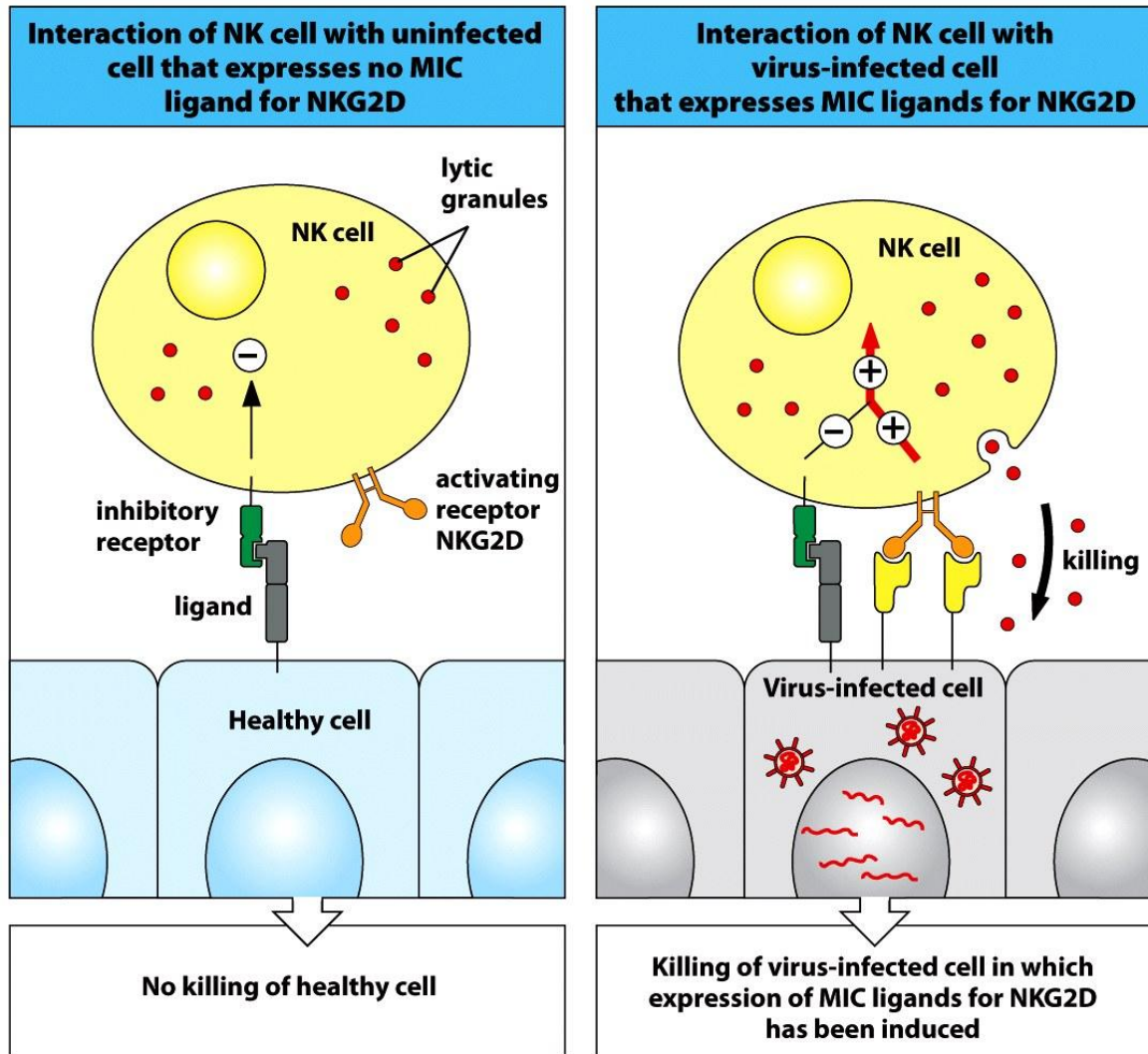


Activated NK cell releases granule contents, inducing apoptosis in target cell



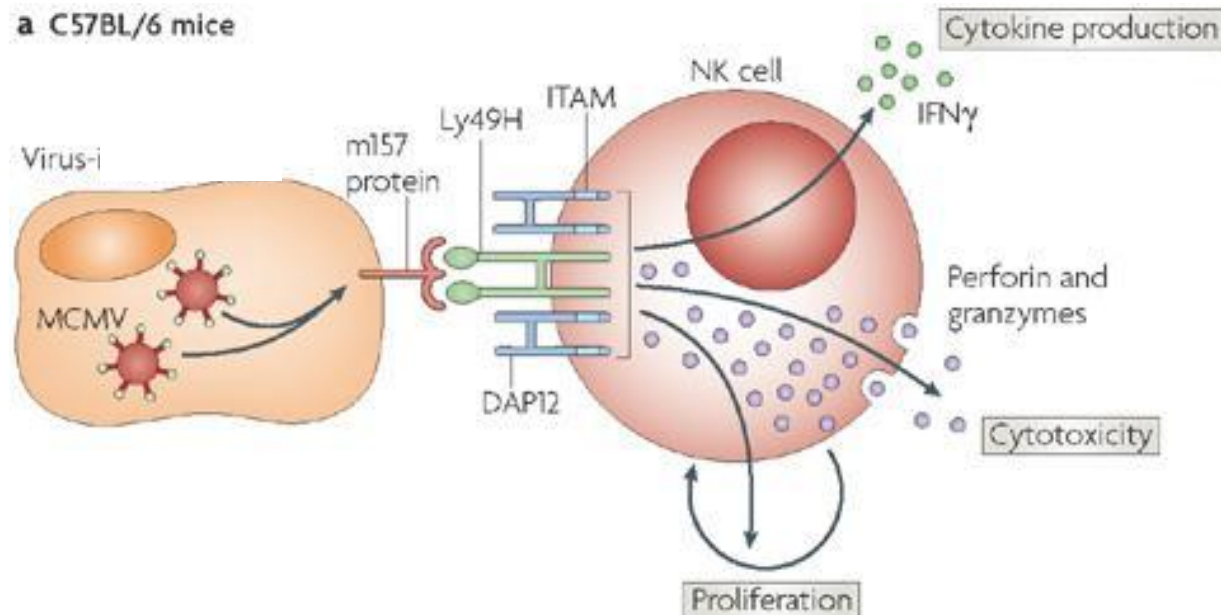
CD94-NKG2 розпізнають некласичні MHC I-молекули і переважно виконують інгібіторну функцію.

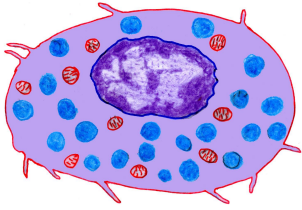
NKG2D розпізнають МНС I-подібні молекули, котрі мають назву "індуковані аутоантигени" і експресуються нормальними клітинами на дуже низькому рівні, а вірус-інфікованими, злоякісно трансформованими, старіючими і стресованими клітинами - на рівні, достатньому для активації НК-клітин.



Ілюстрація теорії "induced self" на прикладі NKG2D-рецепторів

Зв'язування активаційних рецепторів ініціює механізм цитотоксичної дії НК-клітин, в основі якого лежить дегрануляція з вивільненням перфоринів і гранзимів

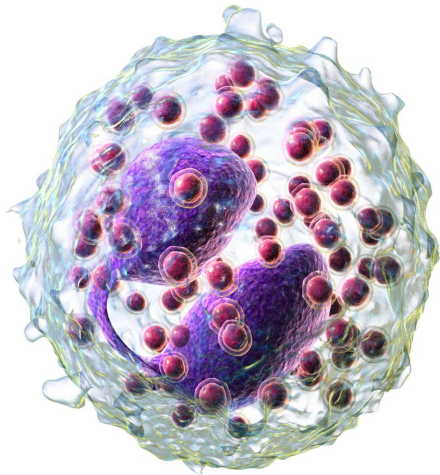




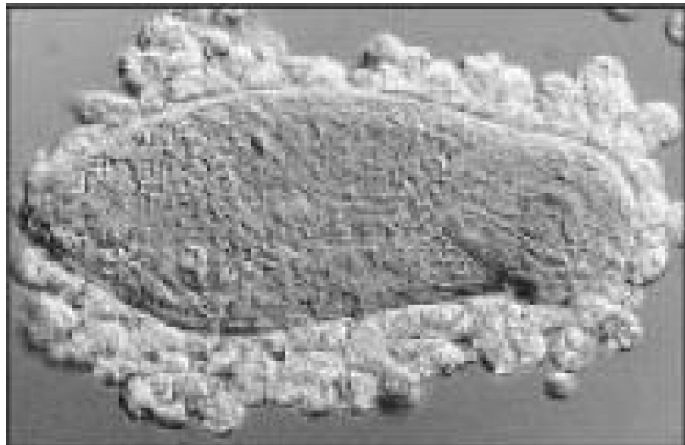
Тучні клітини (мастоцити) диференціюють з мієлоїдного попередника кісткового мозку. Локалізуються вздовж невеликих кровоносних судин. Активовані мастоцити дегранулюються і вивільнюють вазоактивні медіатори (гістамін, кініни), цитокіни (TNF α) і ейкозаноїди. Відіграють ключову роль в алергічних реакціях реакінового типу.

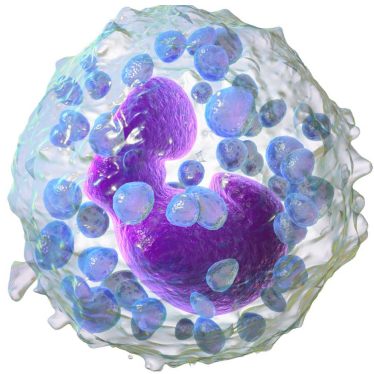
! Здатні до метаболічної поляризації, подібно до макрофагів і нейтрофілів:

- мастоцити **прозапальної спрямованості** експресують гістамін, більше триптазу і менше хімазу, прозапальні цитокіни (залучені у запальні захворювання);
- мастоцити **протизапальної спрямованості** експресують більше хімазу, менше триптазу, протизапальні цитокіни (залучені у прогресування онкологічної патології).

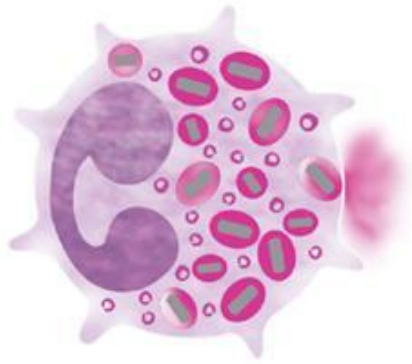


Еозинофіли диференціюють з мієлоїдного попередника кісткового мозку. В основному циркулюючі клітини, але присутні як резидентні лейкоцити у деяких тканинах (тимус, селезінка, репродуктивний тракт тощо). Активовані еозинофіли дегранулюються і вивільнюють вазоактивні медіатори (гістамін), цитокіни (TNF α , ІЛ-4, -5, -6, -8, 13 тощо), ферменти (еластаза) і ейкозаноїди. Відіграють ключову роль в алергічних реакціях реакінового типу та антипаразитарному імунітеті.

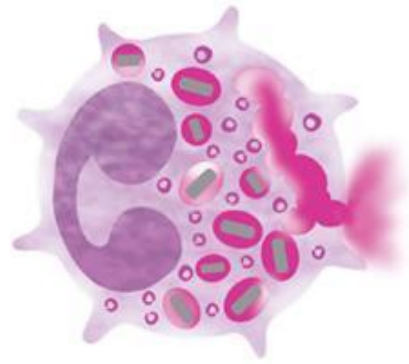




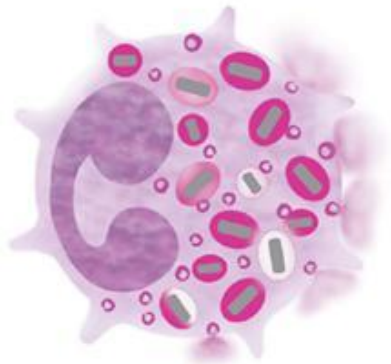
Базофіли диференціюють з мієлоїдного попередника кісткового мозку. В основному циркулюючі клітини. Активовані базофіли дегранулюються (екзоцитоз) і вивільнюють вазоактивні медіатори (гістамін), антикоагулянти (гепарин), протеолітичні ферменти (еластази, лізофосфоліпази тощо) і лейкотрієни. Базофіли є одним з основних джерел інтерлейкіну 4. Відіграють важливу роль в алергічних реакціях реакінового типу та антипаразитарному імунітеті.



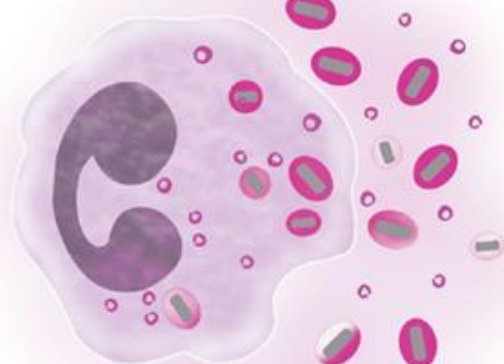
Класичний екзоцитоз



Змішаний екзоцитоз



Везикулярна дегрануляція



Цитоліз

Еозинофіли і базофіли здатні до фагоцитозу, однак, на відміну від макрофагів і нейтрофілів не є професійними фагоцитами. Основний механізм їх дії – дегрануляція, яка може здійснюватися кількома способами.

γδТ-лімфоцити

*присутні переважно у шкірі та слизових оболонках
(інтраепітеліальні лейкоцити).*

Відмітні особливості:

- Експресують неklasичний Т-клітинний рецептор з обмеженою різноманітністю розпізнавального центру;
- Не розпізнають комплекс МНС:пептид, подібно до Т-клітин;
- Розпізнають PAMPs, подібно до класичних ефекторів вродженого імунітету;
- Розпізнають білки теплового шоку, неklasичні МНС-молекули та фосфоліпіди, котрі експресуються стресованими клітинами епітелію;
- Виконують функції ефекторних і регуляторних клітин.

