

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кафедра иммунологии

Врожденный и приобретенный
иммунитет.
Клеточные и гуморальные
механизмы.

Практические занятия.
Занятие № 2.

Контроль исходного уровня знаний: фронтальный опрос

1. **Наиболее важные вехи развития иммунологии.**
2. **Современные определение иммунологии.**
3. **Основные термины в иммунологии.**
4. **Общее представление об эволюции иммунной системы в филогенезе.**
5. **Структура иммунной системы человека.**
6. **Центральные органы иммунной системы.**
7. **Периферические органы иммунной системы.**
8. **Основные различия в этапах дифференцировки клеток в центральных и периферических органах иммунной системы.**
9. **Понятие о врожденном и приобретенном иммунитете.**
10. **Основные свойства иммунной системы человека.**

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

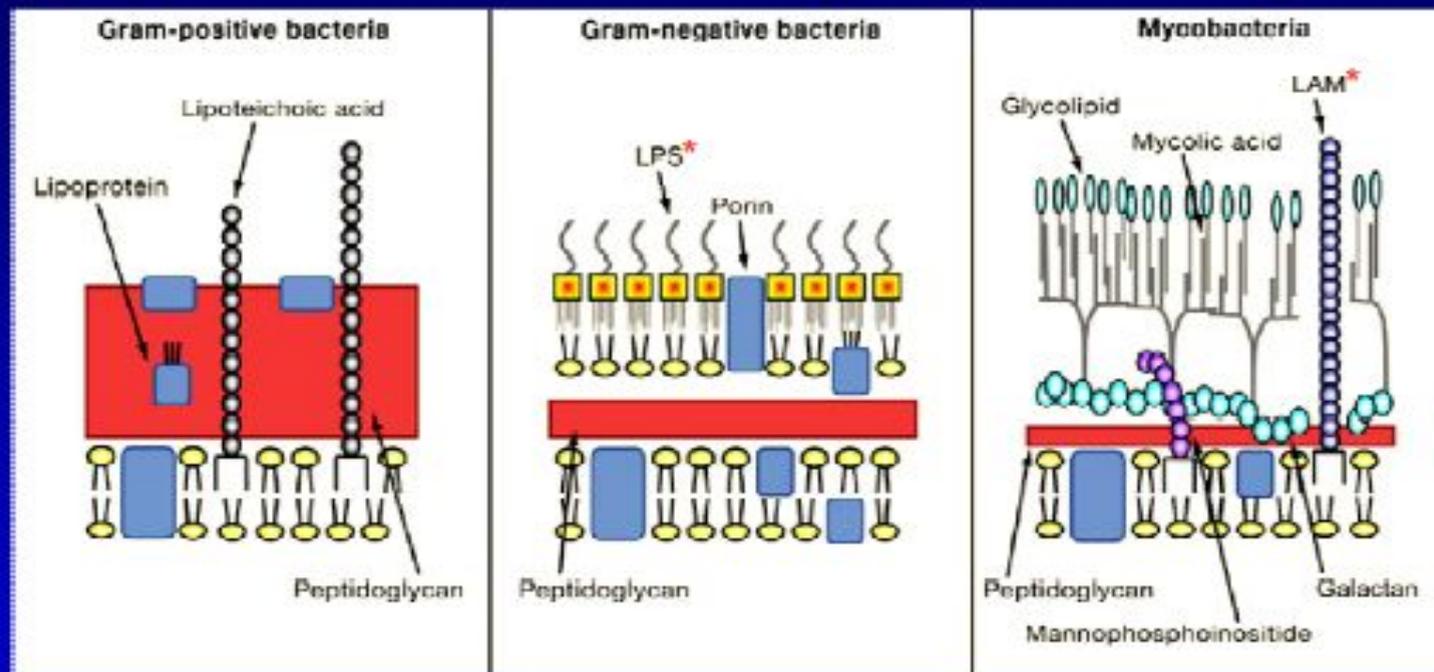
«Врожденное» распознавание: образы «чужого»

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



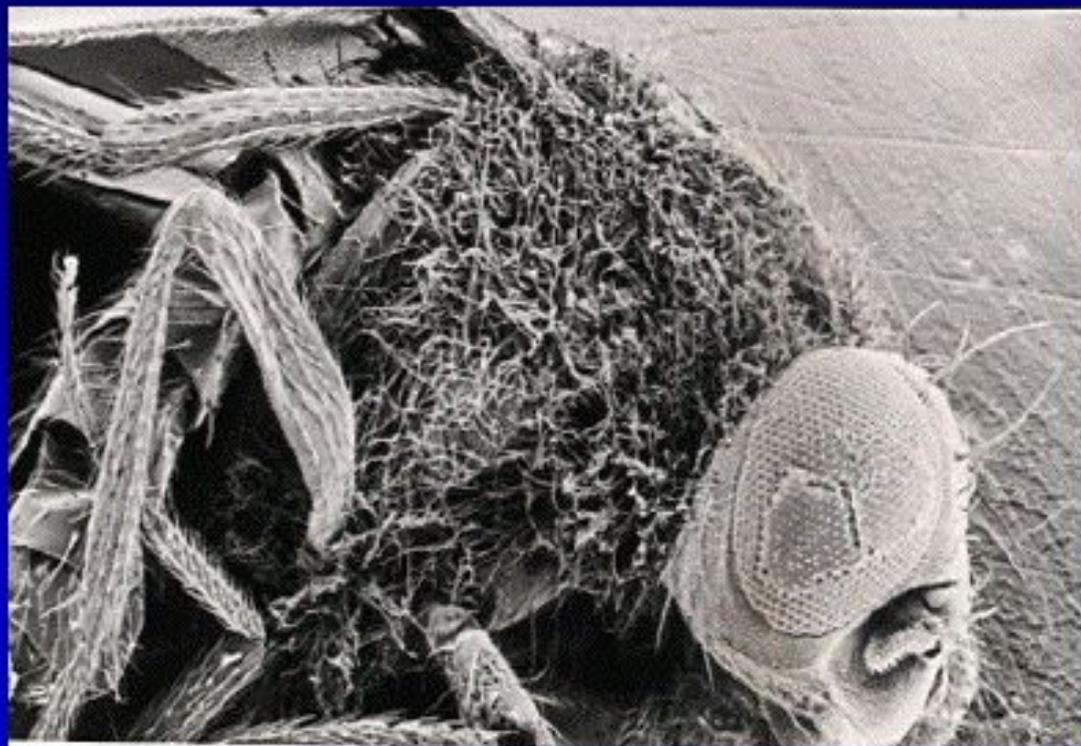
*Липополисахарид

*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**).

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.



Christiane Nusslein-Volhard

*Нобелевская премия
по физиологии и медицине
1995 г.*

История открытия

- 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 2011 года.

Toll –рецепторы у дрозофилы и человека

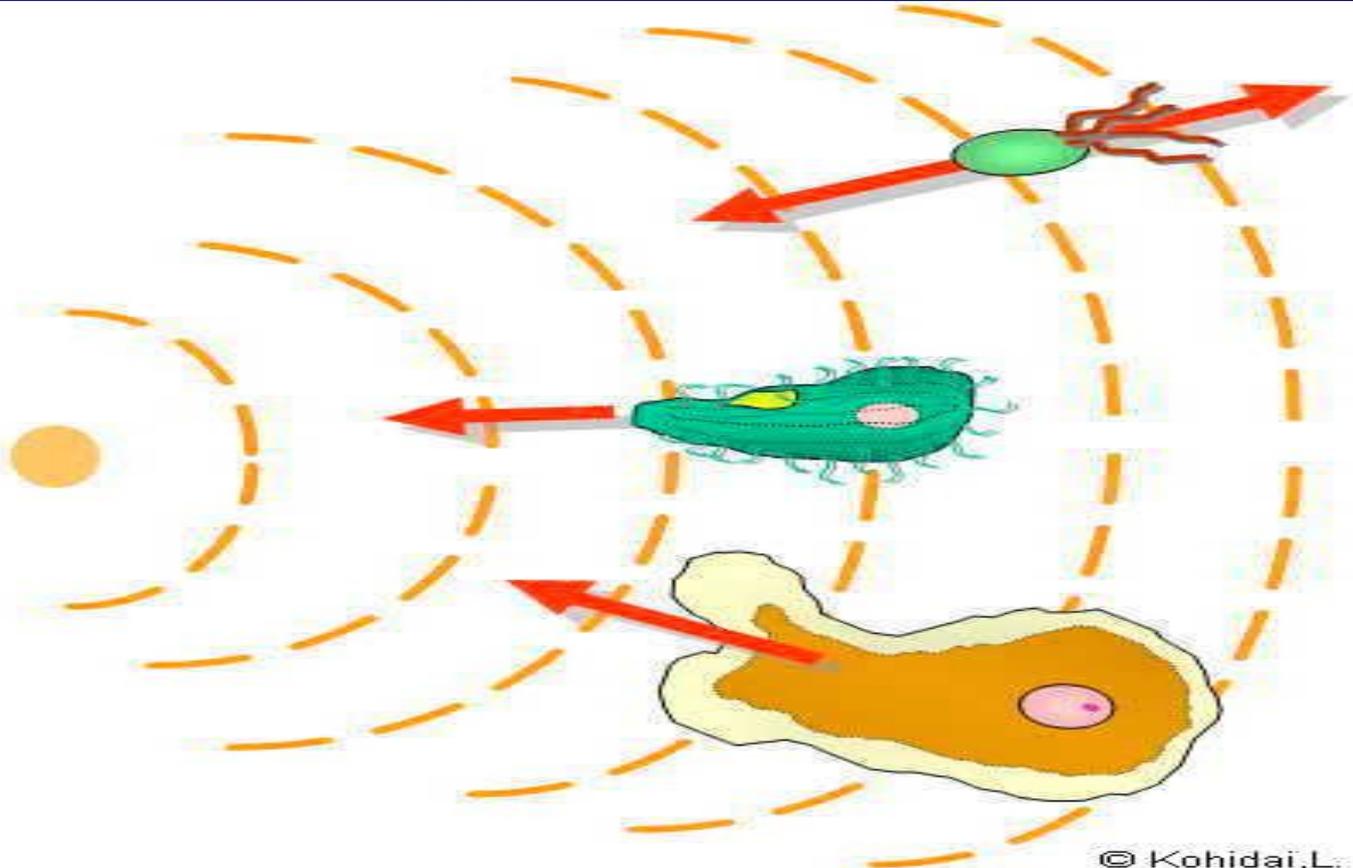
- В настоящее время открыто более 10 генов, кодирующих разные TLRs.
- Каждый TLR распознает один вид химических структур у разных типов патогенов.

Хемоаттракция

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

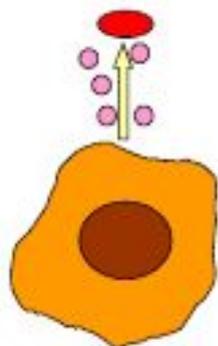
Основными хемоаттрактантами для фагоцитов являются:
высококонсервативные структуры стенки бактериальных клеток – формил-пептиды (f-Met-Leu-Phe), компоненты системы комплемента, хемокины и цитокины.

Хемотаксис – направленное движение клеток по градиенту хемоаттрактантов



СТАДИИ ФАГОЦИТОЗА

1. Приближение (хемотаксис)



2. Адгезия



3. Активация мембраны



4. Погружение



5. Образование фagosомы



6. Слияние фagosомы с гранулами



7. Киллинг и переваривание



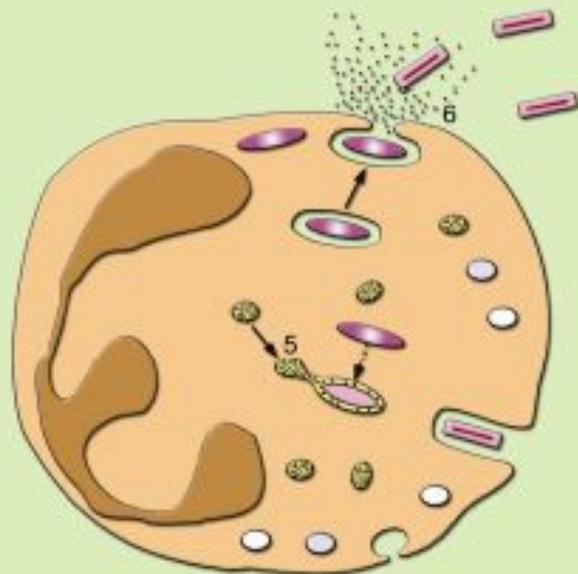
8. Экзоцитоз



Нейтрофил человека фагоцитирует
Strep pyogenes



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

ГРАНУЛЫ ЭОЗИНОФИЛОВ И ИХ СОДЕРЖИМОЕ

Первичные гранулы

Белок Шарко-
Лейдена:
лизофосфолипаза

Вторичные гранулы

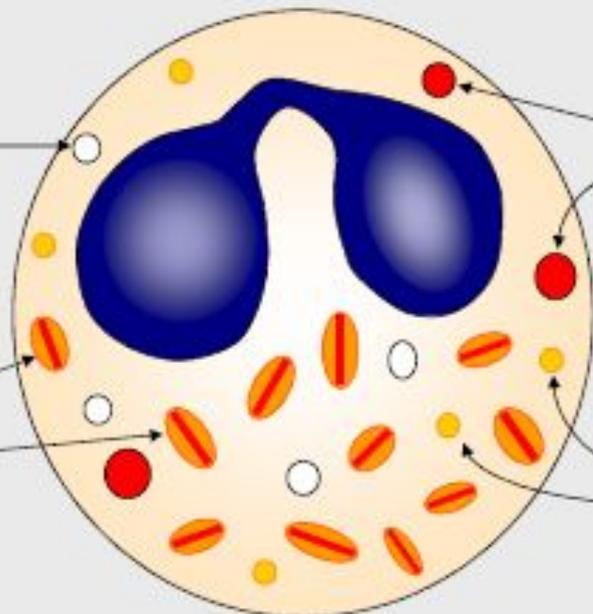
Основной белок
(MBP)
Нейротоксин (EDN)
Катионный белок
(ECP)
Пероксидаза (EPO)
Цитокины

Липидные тельца

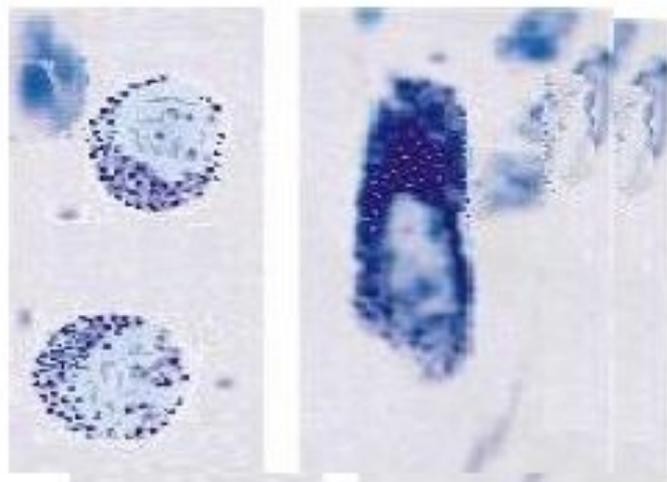
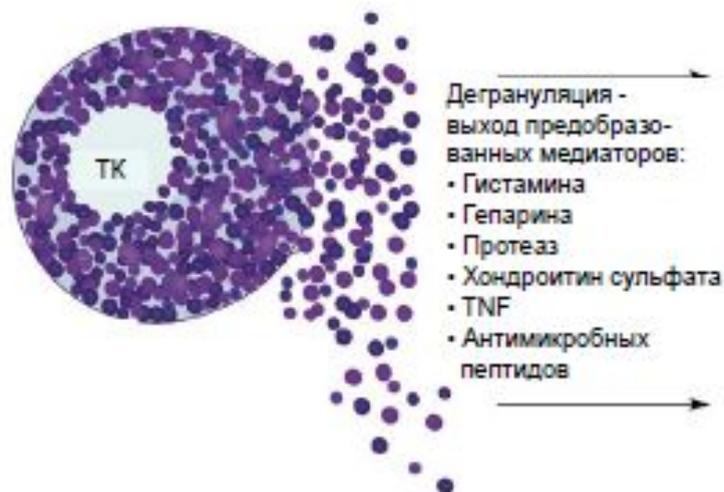
Циклооксигеназа 5
Липоксигеназа
LTC₄-синтаза
Арахидоновая кислота

Малые гранулы

Арилсульфатаза B
Кислая фосфатаза



ГРАНУЛЫ БАЗОФИЛОВ И ТУЧНЫХ КЛЕТОК

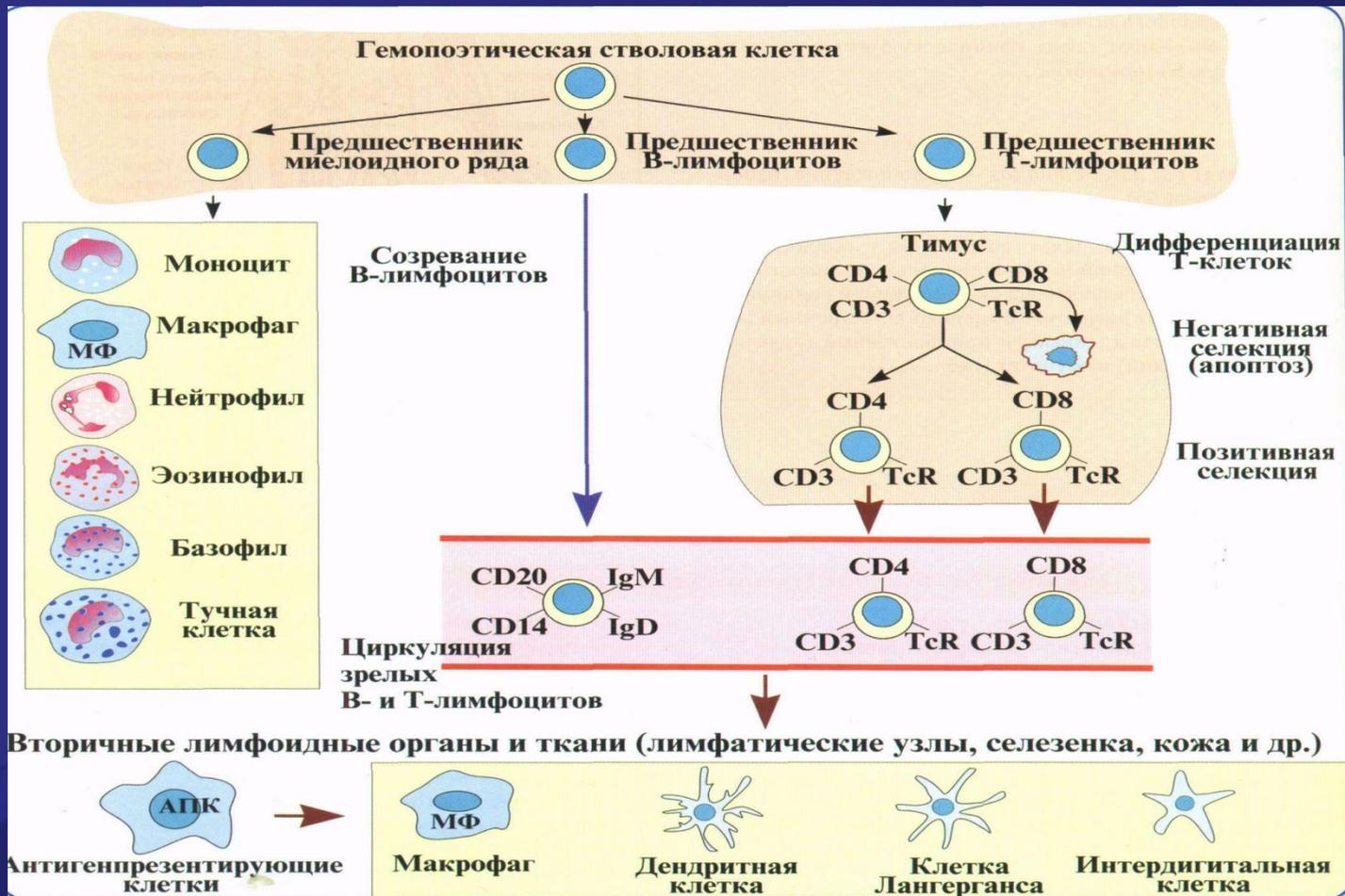


Базофилы крови (слева) и тканевая тучная клетка (справа).
Оба вида клеток содержат большое количество базофильных гранул. Тучная клетка имеет большие (20 мкм) по сравнению с базофилами (10-14 мкм) размеры.

Происхождение фагоцитов

- 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.

Развитие клеток



Макрофаги – потомки моноцитов крови

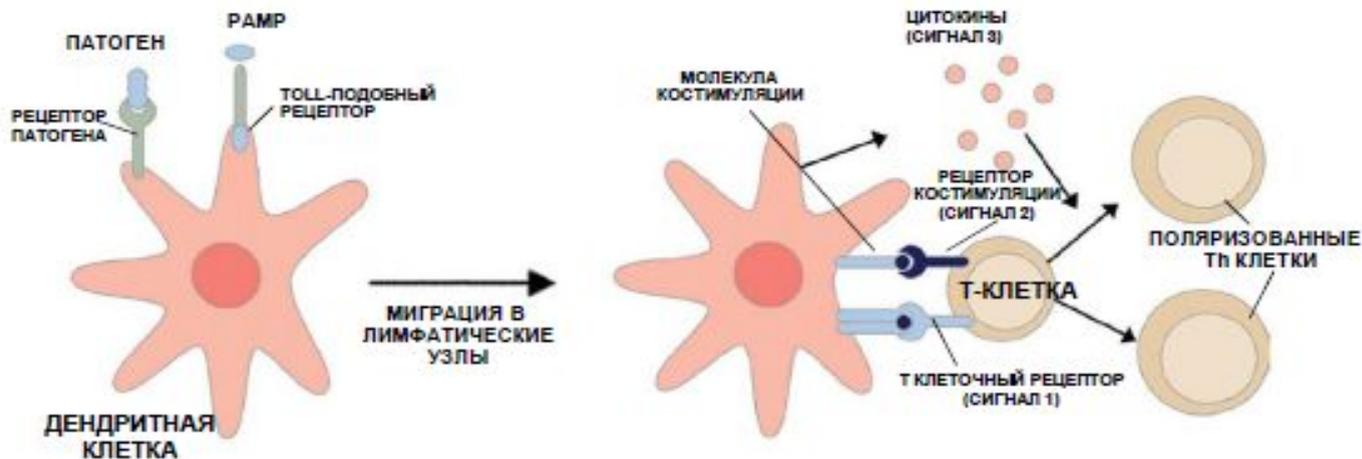
- В зависимости от того, в какой орган мигрировали моноциты, они могут превращаться в тканевые макрофаги, например:
- Купферовы клетки печени.
- Синусовые макрофаги селезенки.
- Мезангиальные фагоциты почки.
- Оседлые и рециркулирующие макрофаги лимфоузлов.
- Микроглия в центральной нервной системе.
- Макрофаги полостей тела.
- Интерстициальные макрофаги.
- Альвеолярные макрофаги.

Макрофаг x 5000



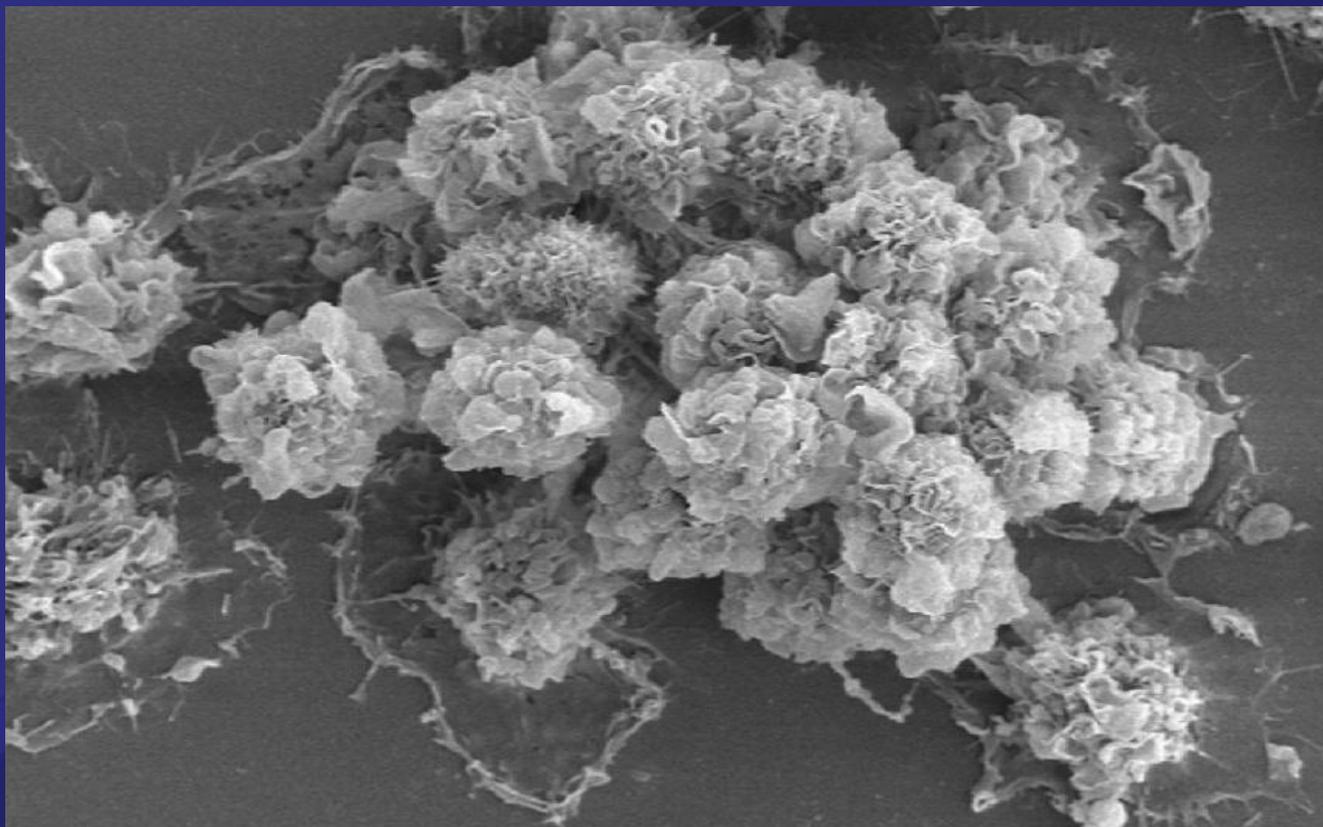
Ключевой игрок в активации иммунного ответа на патоген: дендритная клетка.

Приносит сигнал с периферии – в лимфатический узел

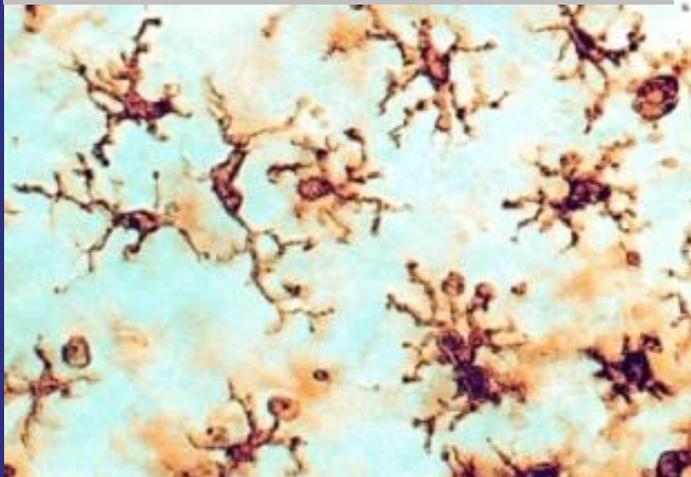


Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. J Exp Med. 1973, 137:1142-1162.

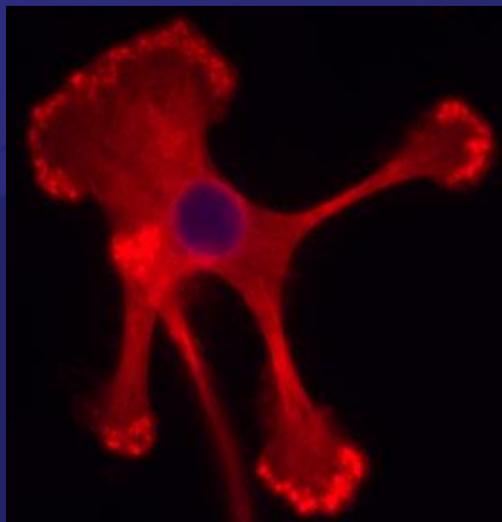
Дендритная клетка x 5000



Дендритные клетки трахеи



Клетки Лангерганса



In-vitro -ПОЛУЧЕННЫЕ
ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ
ИЗ МОНОЦИТОВ

Естественные киллеры (НК)

- Большие гранулярные лимфоциты («нулевые клетки», «не Т, не В-клетки»).
- Т- клеточный рецептор отсутствует. В тимусе не «обучаются».
- Распознают «чужое» по отсутствию «своего» —(плотность экспрессии на поверхности клеток-мишеней) молекул МНС.
- Популяция не клонируется.
- Мишени —вируstransформированные и малигнизированные клетки.

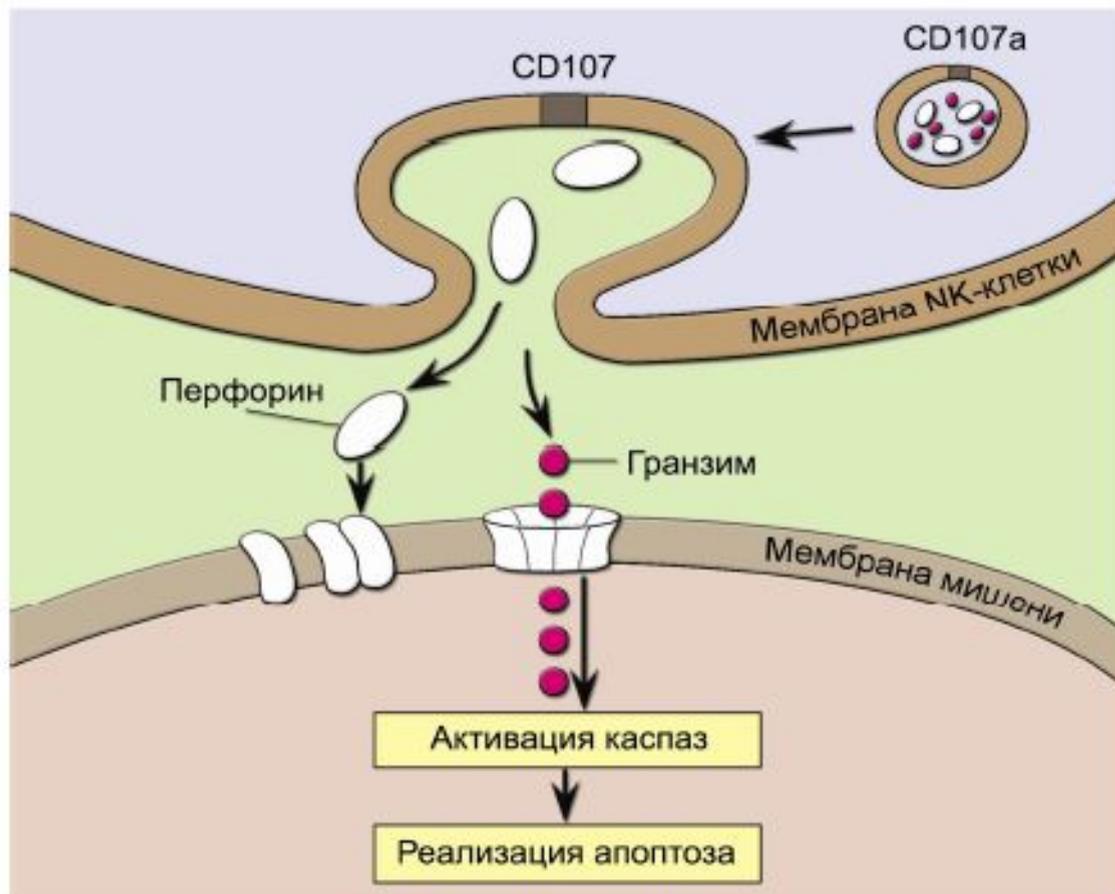
Естественные киллеры (НК)

- Число НК в крови - 5-15%; в лимфоузлах и селезенке 2.5-5% (от всех мононуклеаров).
- Срок жизни – 7-10 суток (IL-15).

В гранулах содержат перфорины, которые полимеризуются в мембране клетки –мишени, образуя отверстия, а также

- гранзимы – протеолитические ферменты, которые входят в клетку - мишень через отверстия в наружной мембране, образованные с помощью перфоринов.

ПЕРЕНОС В КЛЕТКУ-МИШЕНЬ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ



Гуморальные факторы врожденного иммунитета

- Дефензины способны уничтожать самые разнообразные микробы, включая *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. Coli*, а также обладающий оболочкой вирус простого герпеса.
- Другие катионные белки макрофагов и нейтрофилов – катепсины - также обладают антибиотической активностью в отношении грамотрицательных бактерий.

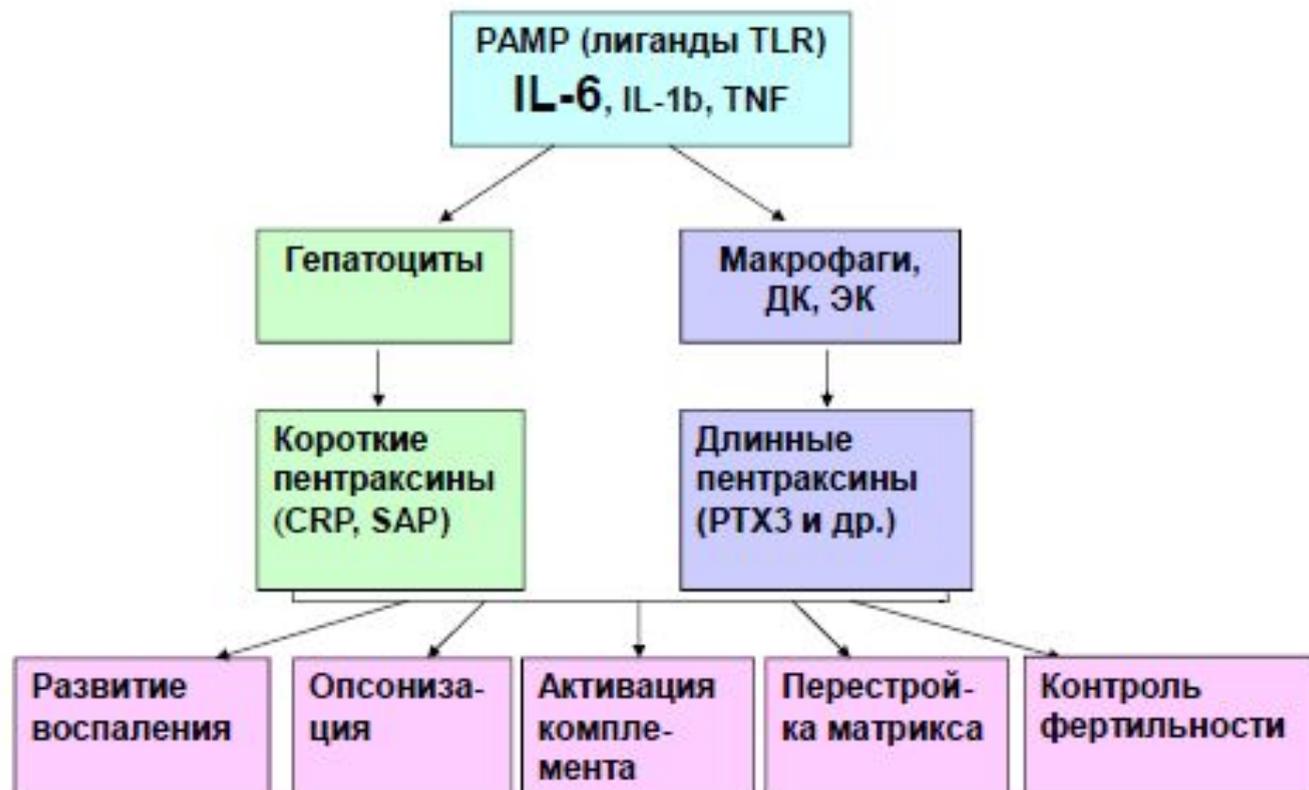
Гуморальные факторы врожденного иммунитета: лизоцим

- Лизоцим – мурамилдипептаза.
- Некоторые Грам - положительные бактерии могут погибать под действием лизоцима.
- Лизоцим разрушает легкодоступный пептидогликановый слой клеточной стенки таких бактерий.

Гуморальные факторы врожденного иммунитета: белки острой фазы

- Названы вследствие того, что их концентрации быстро нарастают в крови во время развития воспаления и инфекционного процесса
- С - реактивный белок (СРБ) – способен связываться с С-белком пневмококков, обеспечивает их опсонизацию и ускоряет поглощение фагоцитами.

КЛЕТОЧНОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ФУНКЦИИ ПЕНТРАКСИНОВ



Гуморальные факторы врожденного иммунитета: цитокины

- Активируют фагоцитоз и другие проявления врожденного иммунитета.
- Регулируют местные и системные проявления воспалительных реакций (интерлейкин-1 бета- $IL-1\beta$, фактор некроза опухолей - альфа- $TNF-\alpha$, интерлейкин-6 - $IL-6$).

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

- 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.

Гуморальные факторы врожденного иммунитета: система комплемента

- Комплемент – система белковых факторов (в том числе протеаз), которые активируются последовательно –по принципу каскада.
- Результатом активации системы комплемента является комплекс мембранной атаки , вызывающий лизис клеток-мишеней.
- Способствует фагоцитозу (опсонизация).
- Служит источником дополнительных провоспалительных факторов (C5a, C3a).

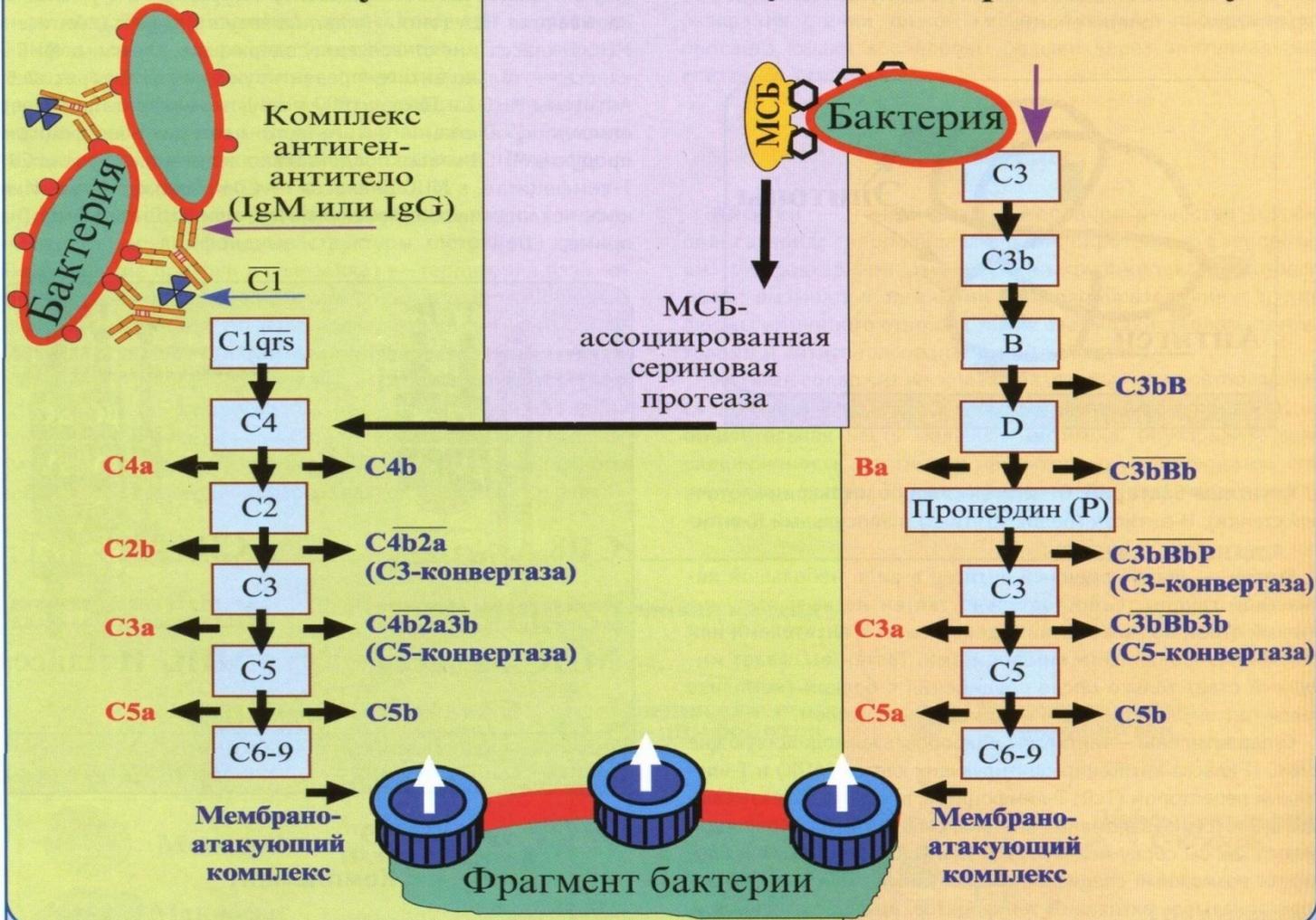
Классический путь активации СК

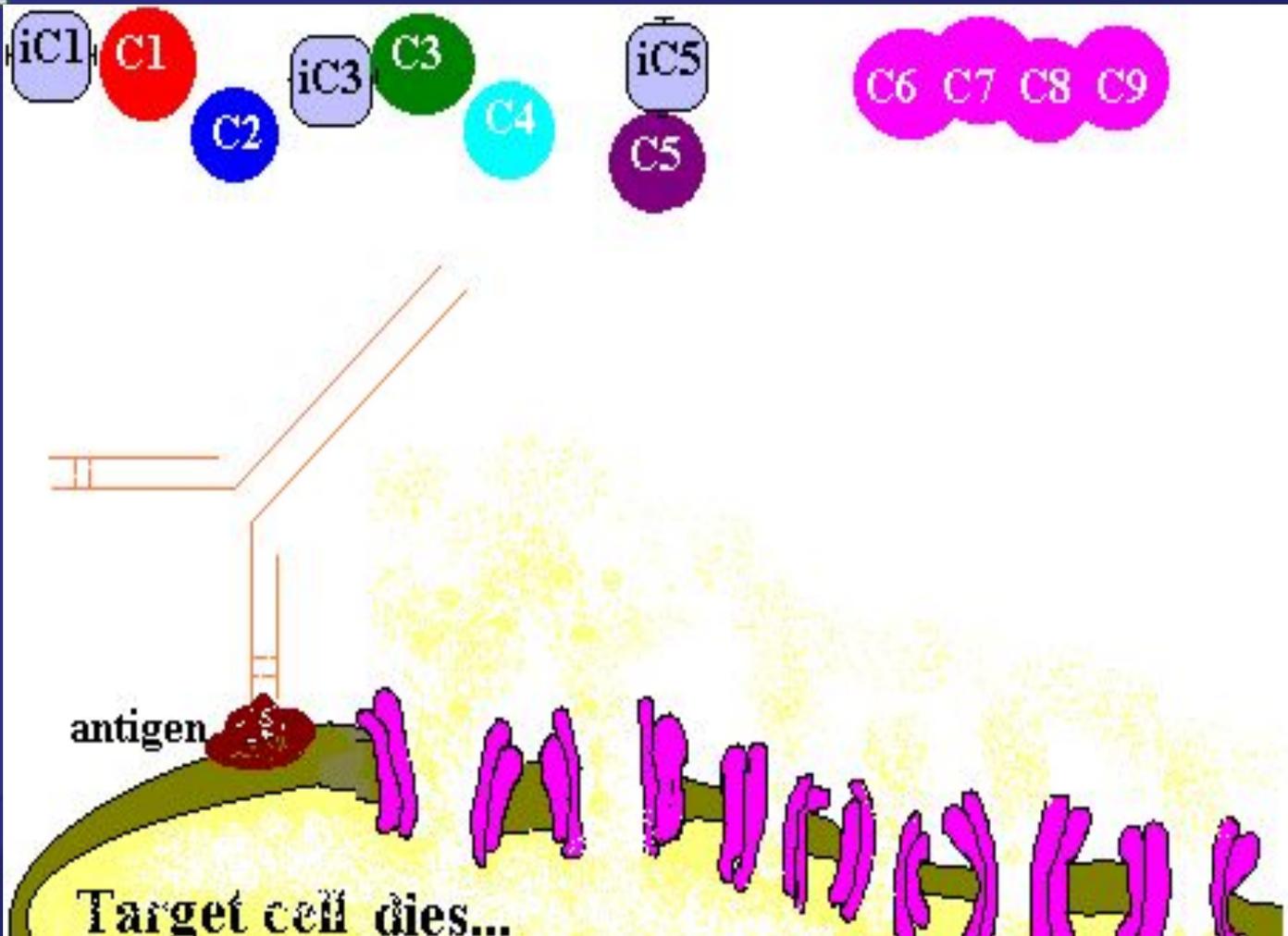
- Последовательность открытия компонентов системы комплемента не соответствует очередности их вступления в реакцию активации.
- Порядок вступления в реакцию белков: C1q, C1r, C1s, C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9 (мембраноатакующий комплекс)
- «Маленькие» фрагменты - C4a, C2b, C3a, C5a
- «Крупные фрагменты» - C4b, C2a, C3b, C5b

Классический путь

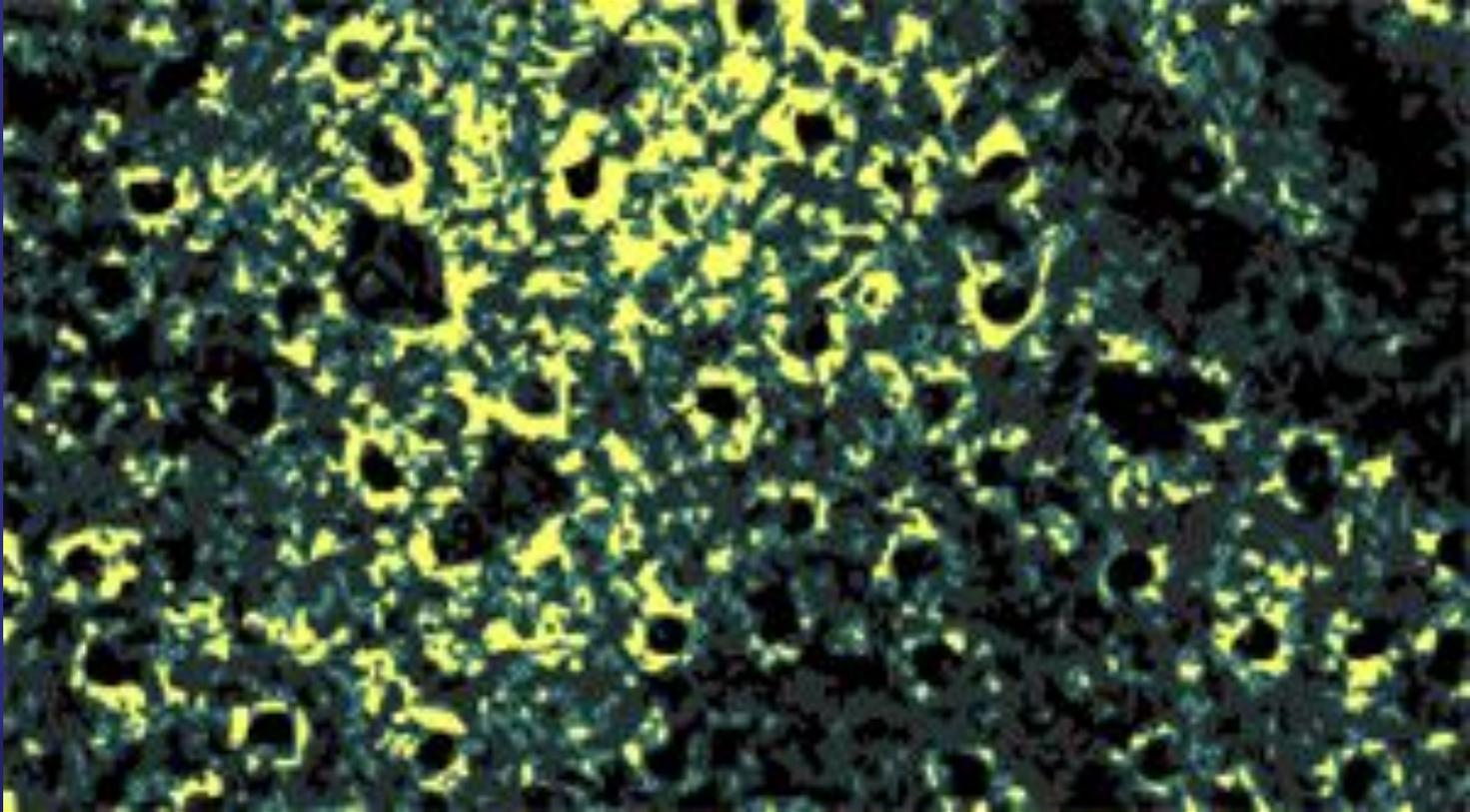
Лектиновый путь

Альтернативный путь





Поверхность клетки - мишени



Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

- Врожденный (естественный) иммунитет существует в любом организме до начала любой агрессии.
- Приобретенный (адаптивный) иммунитет развивается только в ответ на агрессию (адаптационная реакция на внедрение антигенов).

Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

- Распознавание «чужого» у клеток врожденного иммунитета грубое, «образное». Распознаются общие черты «чужого» ограниченным числом рецепторов.
- 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

- Все клетки врожденного иммунитета реагируют на агрессию как единая популяция.
- Клетки адаптивного иммунитета (Т и В-лимфоциты) реагируют на антиген избирательно : активируются; пролиферируют и выполняют свои эффекторные функции только те лимфоциты, у которых рецептор комплементарен к проникшему в организм антигену.

Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

- Реакции врожденного иммунитета разворачиваются почти мгновенно.
- Для развития реакций адаптивного иммунитета требуется более продолжительное время.

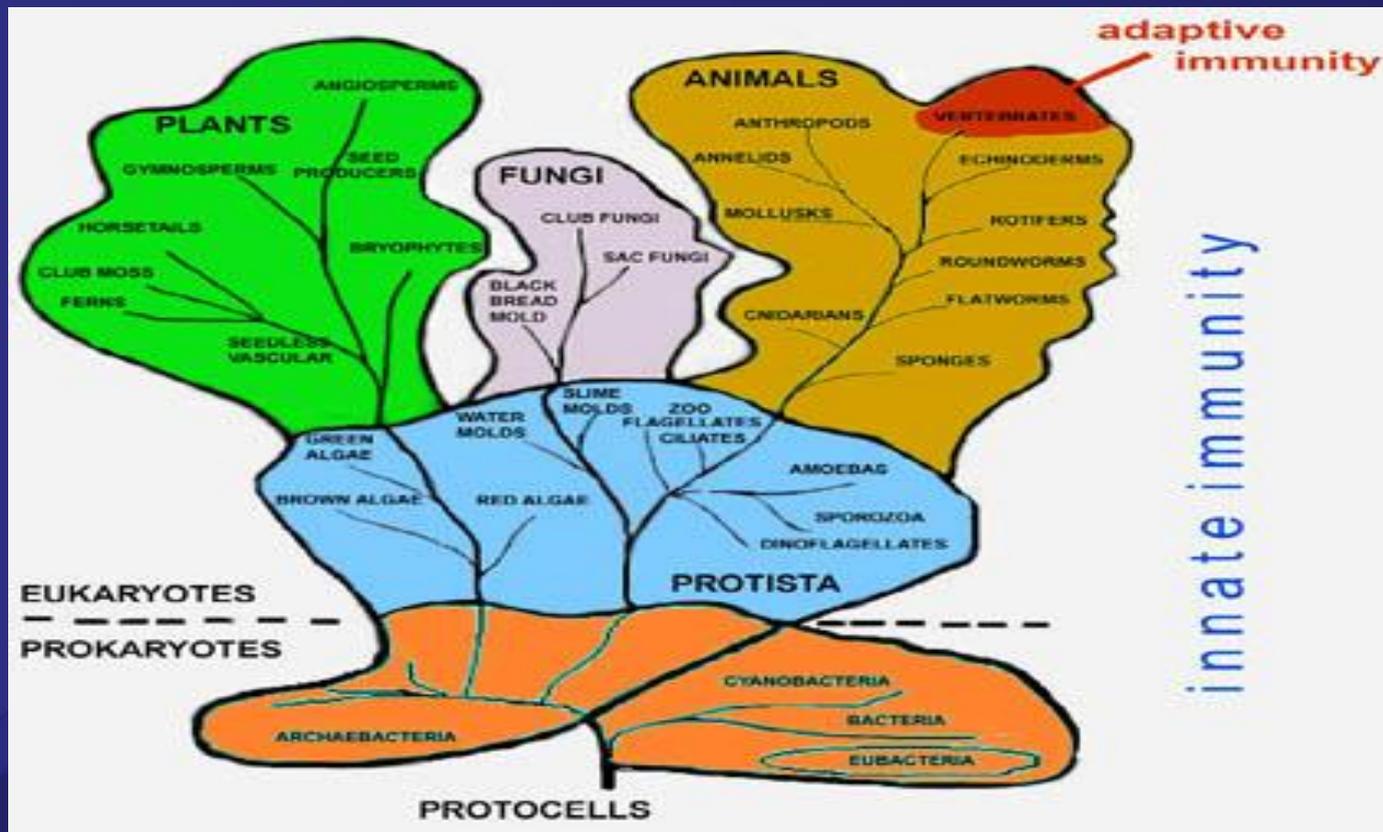
Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

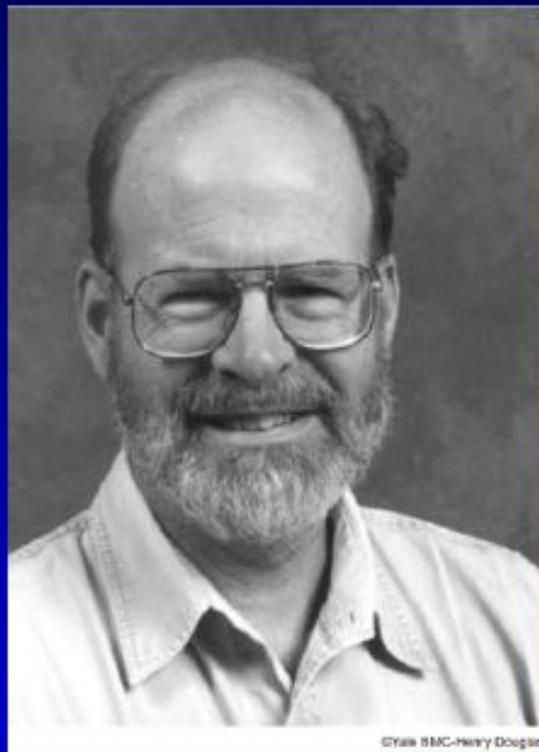
- Повторная встреча с патогенами в приобретенном иммунитете повышает уровень иммунного ответа (феномен «иммунологической памяти»)
- во врожденном иммунитете иммунологическая память отсутствует.

Врожденный и приобретенный иммунитет: основные различия

- Врожденный иммунитет представлен у всех видов организмов; он филогенетически более древний.
- Адаптивный иммунитет представлен только начиная с позвоночных животных.
- У позвоночных механизмы врожденного и адаптивного иммунитета действуют совместно против агрессивных факторов.

Филогенетическое дерево эволюции иммунной системы (Dr. Nadia Danilova.)





Чарльз Джейнуэй

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

Врожденный иммунитет (innate immunity)

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».

Врожденный иммунитет (innate immunity)

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).

Врожденный иммунитет (innate immunity)

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

Врожденный иммунитет (innate immunity)

5. Для запуска эффективного иммунного ответа вместе с антигеном добавляют адъюванты («маленький грязный секрет иммунологов»).
6. Адъювант Фрейнда : Жюль Фрейнд (1890-1960) экспериментально нашел эффективный адъювант – смесь водно-масляной эмульсии и убитых микобактерий.

Врожденный иммунитет (innate immunity)

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).

Врожденный иммунитет (innate immunity)

8. Сигналом 2 клетки врожденного иммунитета сообщают Т и В лимфоцитам информацию о внедрении «чужого» в организм хозяина и о необходимости иммунного ответа.
9. Сигнал 2 (костимуляция) запускает ответ адаптивного иммунитета.

Врожденный иммунитет (innate immunity)

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

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

1. 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