

Радиационная ИММУНОЛОГИЯ

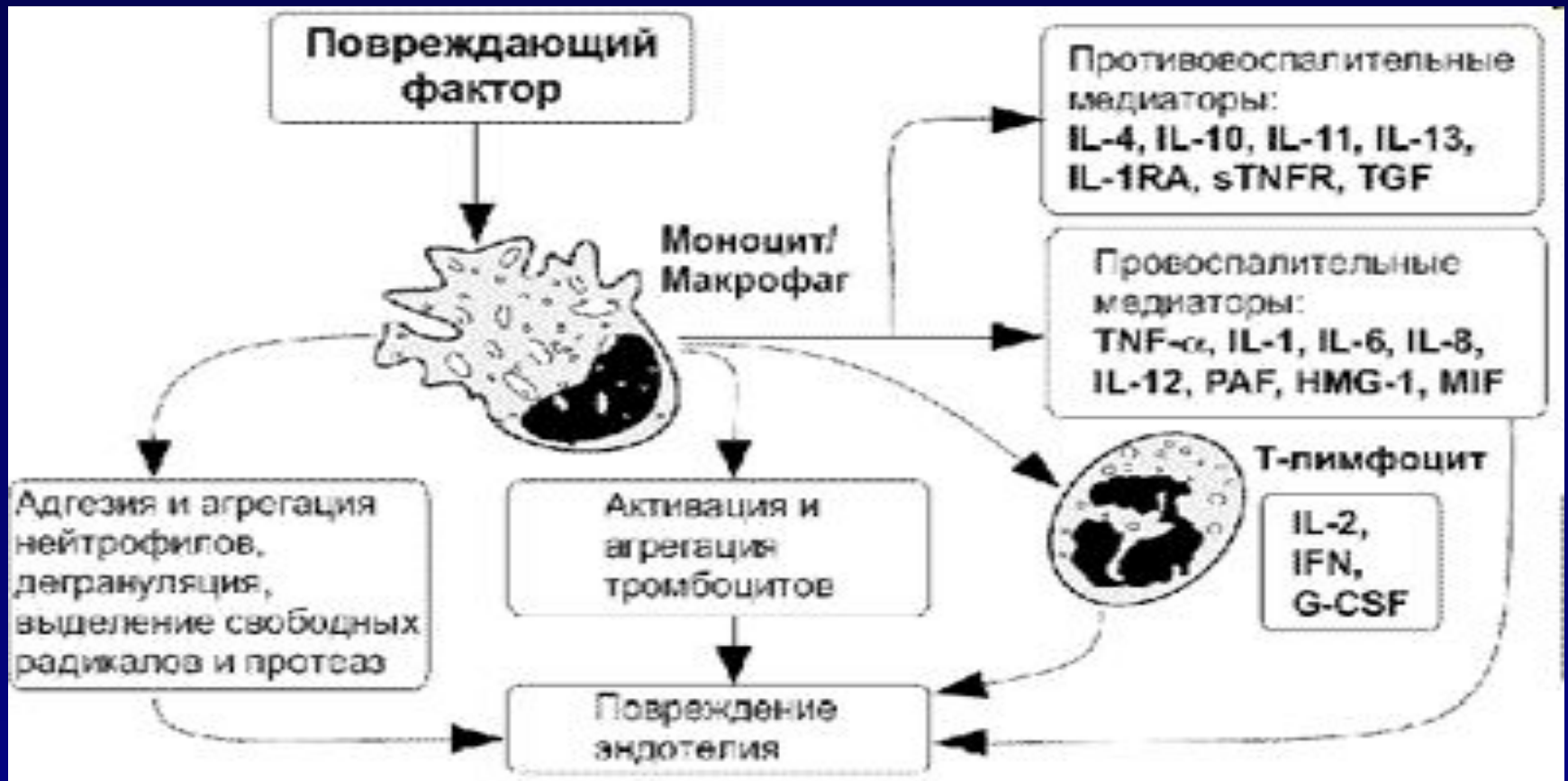
Лекция 3

Влияние облучения на неспецифический иммунитет

- На первом этапе столкновения с чужеродным антигеном запускается неспецифический патологический защитный процесс — воспаление, сопровождающийся фагоцитозом, выделением медиаторов воспаления - гистамина, серотонина, цитокинов и т. п. Фагоциты (макрофаги) поглощают антигены и контактируют с лимфоцитами Т-хелперами, представляя им на поверхности антигенные детерминанты. Т-хелперы запускают размножение (выделяя специфические белковые вещества — интерлейкины) специфических для данного антигена клонов Т-киллеров и В-лимфоцитов из предсуществующих стволовых клеток, которые прошли проверку на толерантность в эмбриональном периоде (клонально-селекционная теория Бернета).

- Воспаление (лат. *inflammatio*) — это комплексный, местный и общий патологический процесс, возникающий в ответ на повреждение (*alteratio*) или действие патогенного раздражителя и проявляющийся в реакциях (*exudatio* и др.), направленных на устранение продуктов повреждения, а если возможно, то и агентов (раздражителей), а также приводящий к максимальному для данных условий восстановлению (*proliferatio* и др.) в зоне повреждения.

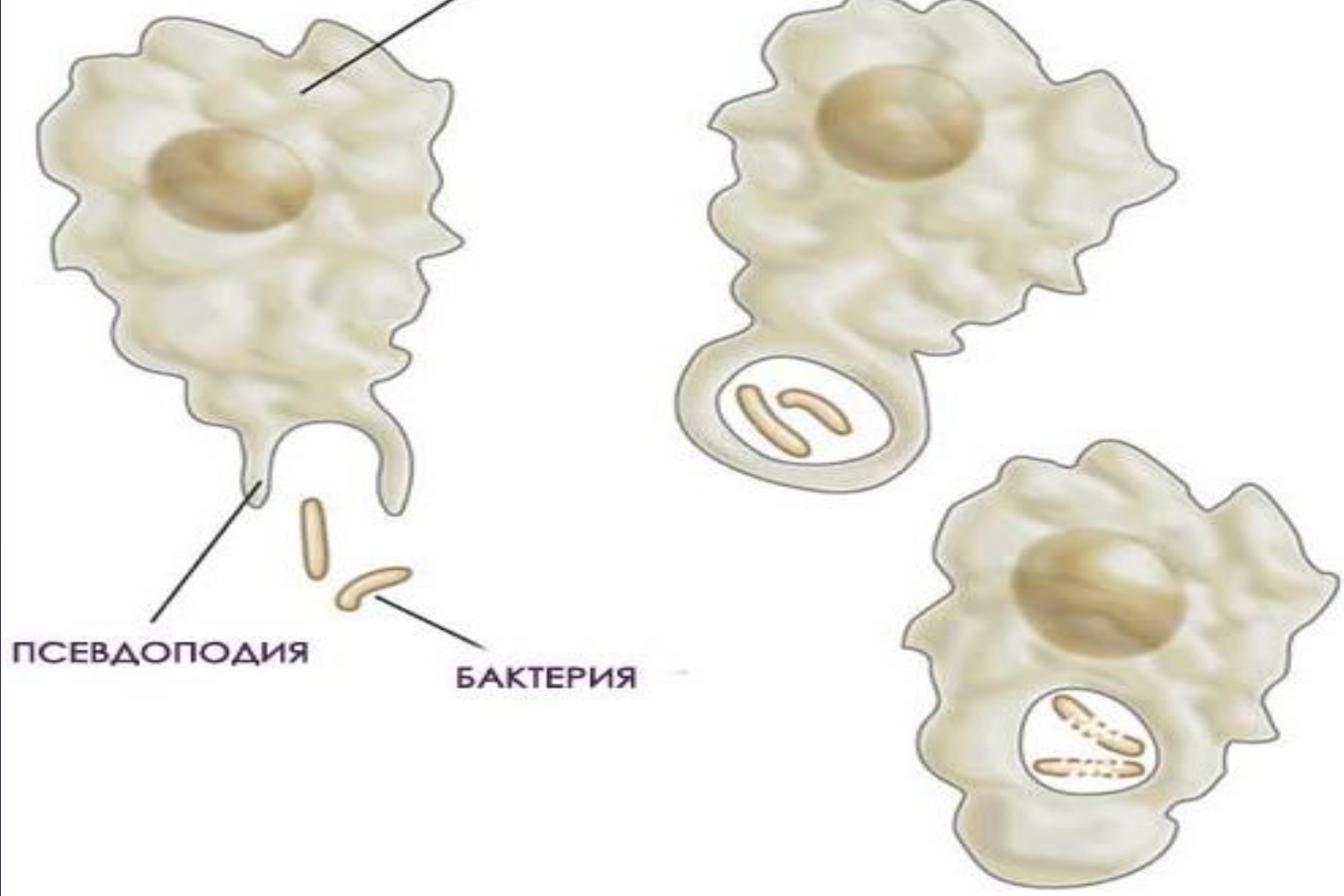
Воспаление



Фагоцитоз

- (Фаго — пожирать и цитос — клетка) — процесс, при котором специальные клетки крови и тканей организма (фагоциты) захватывают и переваривают возбудителей инфекционных заболеваний и отмершие клетки. Осуществляется двумя разновидностями клеток: циркулирующими в крови зернистыми лейкоцитами (гранулоцитами) и тканевыми макрофагами. Открытие фагоцитоза принадлежит И. И. Мечникову, который выявил этот процесс, проделывая опыты с морскими звёздами и дафниями, вводя в их организмы инородные тела. Например, когда Мечников поместил в тело дафнии спору грибка, то он заметил, что на нее нападают особые подвижные клетки. Когда же он ввел слишком много спор, клетки не успели их все переварить, и животное погибло. Клетки, защищающие организм от бактерий, вирусов, спор грибов и пр. Мечников назвал фагоцитами.

ФАГОЦИТ



ПСЕВДОПОДИЯ

БАКТЕРИЯ

- Фагоцитоз может быть: **завершенным** (киллинг и переваривание прошло успешно), **незавершенным** (для ряда патогенов фагоцитоз является необходимой ступенью их жизненного цикла, например у микобактерий и гонококков).

ФУНКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

- - **распознавание и удаление** из организма всего чужеродного - микробов, вирусов, грибков и даже собственных клеток и тканей, если они под действием факторов окружающей среды изменяются и становятся чужеродными.
- Защита организма осуществляется с помощью двух систем - **неспецифического (врожденного, естественного)** и **специфического (приобретенного)** иммунитета. Эти две системы могут рассматриваться и как две стадии единого процесса защиты организма.
- Неспецифический иммунитет выступает как первая линия защиты и как заключительная ее стадия. Система приобретенного иммунитета выполняет промежуточные функции специфического распознавания и запоминания болезнетворного агента (или чужеродного вещества) и подключения мощных средств врожденного иммунитета на заключительном этапе процесса.

Человеческий организм имеет несколько взаимосвязанных линий защиты против чужеродных агентов

Первая линия защиты – **местный иммунитет**, который присутствует в организме всегда, даже если на него не оказывается негативное влияние антигены.

■ К нему относят:

1. - непроницаемость кожи и слизистых оболочек для большинства микробов – нос, глотка, пищевод, слизистая желудка;
2. - наличие в кожных секретах бактерицидных веществ, уничтожающих бактерии;
3. - присутствие в крови, слюне и слезах различных защитных веществ.

■ Вторая линия защиты – **общий иммунитет**. Это - иммунная система организма. Она распределена по всему организму. Сюда входят лимфоидные органы и ткани: вилочковая железа, селезенка, лимфатические узлы и скопления лимфоидной ткани (например, небные миндалины), а также клетки костного мозга и крови – лимфоциты, которые являются функциональной единицей иммунной системы и постоянно циркулируют по телу с кровотоком.

Неспецифический иммунитет

- Неспецифический иммунитет включает в себя комплекс защитных факторов организма, которые существуют в нем независимо от того, встретится ли организм с "чужим" или нет.
- В понятие "чужое" входят чужеродные молекулы (в основном крупные), микроорганизмы, пытающиеся проникнуть в организм без его на то согласия. Организм может позволить жить некоторым микроорганизмам в кишечнике, ротовой полости... и других местах, сообщающихся со внешней средой (лишь бы не мешали, а еще лучше: помогали). А вот насчет того, чтобы эти микроорганизмы (или, еще хуже, патогенные) жили, скажем, в кровеносном русле - увольте. Здоровый организм этого не позволит.

Неспецифический иммунитет

- Другим критерием, по которому врожденный (он же неспецифический) иммунитет отличается от приобретенного, является то, что он **врожденный** (то есть с ним организм уже рождается). У каждого вида животных этот иммунитет различен. Например, собаки никогда не болеют чумой человека, а куры сибирской язвой. Возбудители этих инфекций у них просто не приживаются в обычных условиях.

Неспецифический иммунитет

- И последнее свойство неспецифического иммунитета, которое хотелось бы отметить: после первичного контакта с чем-либо чужеродным факторы неспецифического иммунитета не сохраняют память.

Защита организма от чужеродных агентов осуществляется всеми звеньями иммунитета. Важная роль принадлежит и неспецифическим фазам иммунитета. К неспецифическим факторам защиты принято относит:

- Непроницаемость покровов
- Бактерицидные субстанции тканей
- Интерферон и лимфокины
- Гидролитические ферменты
- Лизоцим
- Пропердин
- Фагоцитоз
- Комплимент

- Неспецифическим иммунитет назван потому, что действует неспецифически... Взять ту же кожу. Она является механическим барьером, препятствующим попаданию болезнетворных агентов в организм. Коже (если она выступает в качестве механического барьера) все равно, каким микроорганизмам противостоять, то есть независимо от того, какой микроорганизм захочет преодолеть это препятствие, санкции ко всем будут предъявлены одни и те же. Другой вопрос, что микроорганизмам не все равно и некоторые из них преодолевают этот барьер.

- Острое облучение кроликов в дозах 4-11 Гр приводит к снижению бактерицидности кожи, бактерицидности цельной крови и сыворотки [Фишман у крыс при 6 Гр]. При лучевой болезни у животных отмечается снижение содержания лизоцима и пропердина в тканях организма.
- У людей отмечается снижение барьерных антимикробных функций кожи, снижение содержание лизоцима в слюне, понижение фагоцитарной активности нейтрофилов крови у людей, средняя доза хронического облучения на красный костный мозг которых составила 85 сЗв.
- Так при обследовании тяжелого случая лучевой болезни человека со смертельным исходом получены следующие данные. На всей поверхности кожи возрастало количество микроорганизмов. При этом в начальный период не отмечалось изменений видового состава микрофлоры кожи. Однако во второй половине заболевания картина изменилась — на коже больного появились микроорганизмы, которые обычно не размножаются на коже здоровых людей. Количественные и качественные изменения состава микрофлоры кожи, слизистой рта, кишечника наблюдались у людей после облучения с терапевтической целью и у экспериментальных животных.

- При облучении животных, особенно высокими дозами, одной из основных причин гибели являются инфекции.
- В работах ряда авторов (Миллер, 1950; Брендер, 1952, Киселев, 1955; Петров 1957) было показано, что под влиянием облучения у различных животных развивается бактериемия, вызванная микробами нормальной микрофлоры кишечника). Развивающийся аутоинфекционный процесс оказывает существенное влияние на течение лучевой болезни. Бактериемия развивается у кроликов в дозе 100 р, которая не приводит к гибели животных.

- После облучения наблюдается изменения не только количественные, но и качественного состава микрофлоры. Так, у крыс в норме молочнокислые бактерии являются доминирующим видом микрофлоры тонкого кишечника и присутствуют там в огромных количествах. После облучения количество этих микроорганизмов резко сокращается и возрастает количество синегнойной палочки. Эти виды микроорганизмов являются антогонистами. И при уменьшении одного из них увеличивается численность другого.
- Развитие инфекционных процессов, как эндогенного характера, так и экзогенного происхождения находится в прямой зависимости от состояния естественных механизмов защиты от инфекции.

- Инфекционные процессы, развивающиеся при костномозговом синдроме, уже играют значительную роль в течение и исходе лучевой болезни.
- У больных острой лучевой болезнью в Японии и США в подавляющем большинстве случаев наблюдались ангины, язвенные стоматиты, пневмонии. Подобные инфекционные осложнения отмечаются при облучении крупных животных. При экспериментальном заражении облученных животных, как патогенным, так и условно патогенными микробами, наблюдается повышенная чувствительность облученных животных к микробам. При этом отмечается прямая зависимость между сроками гибели животных и сроками возникновения бактериемии.

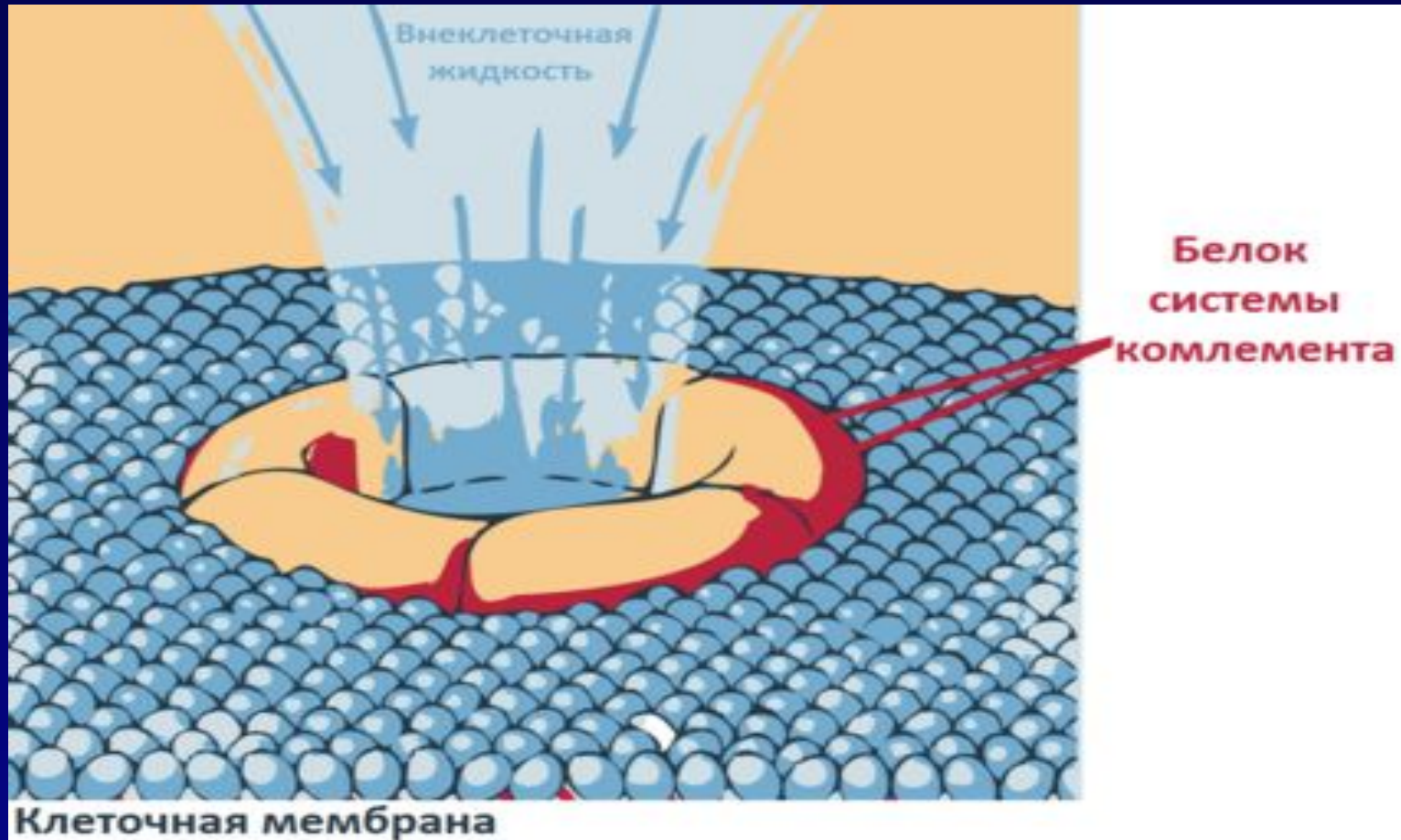
Комплемент

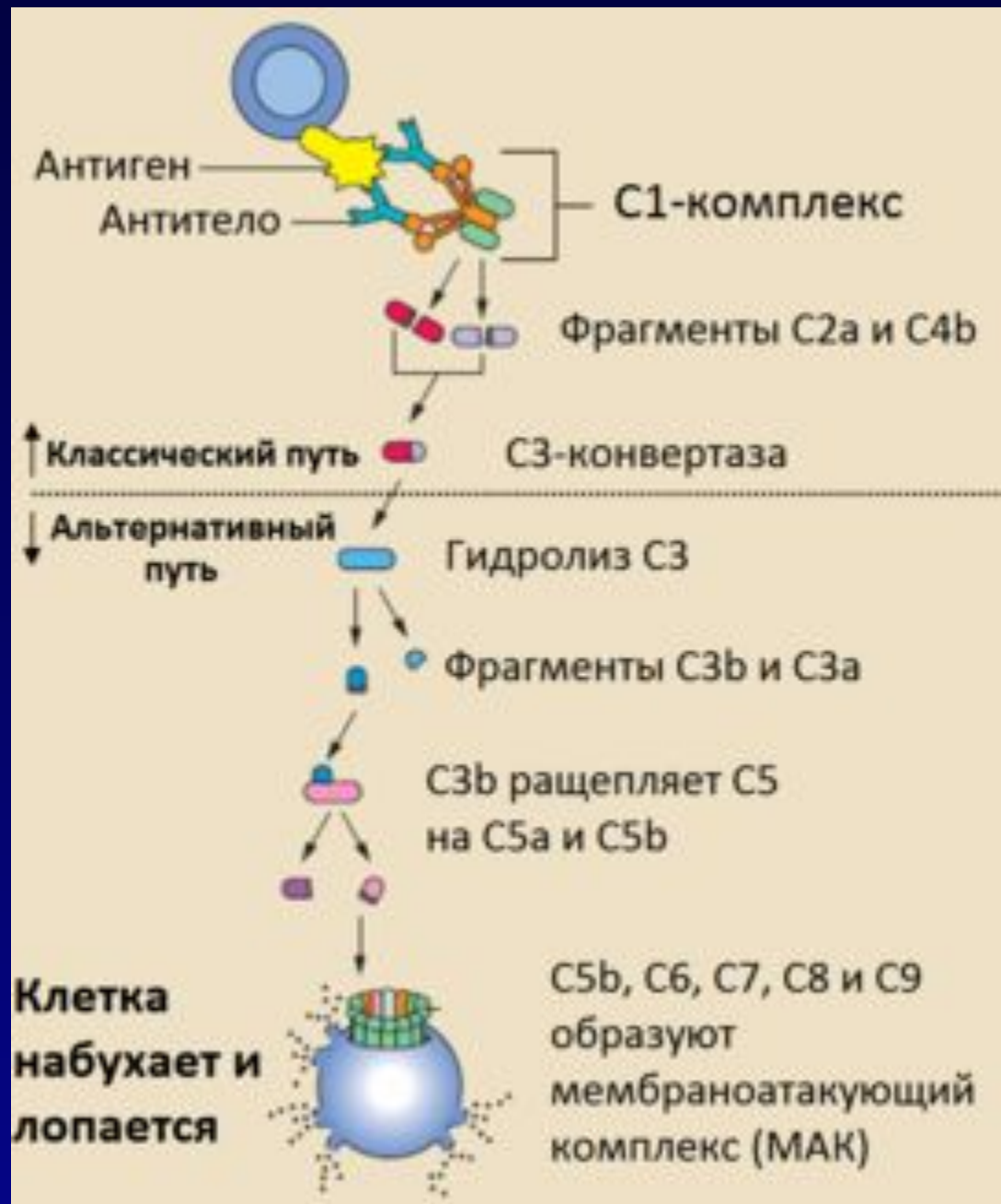
■ Система комплемента — комплекс сложных белков, постоянно присутствующих в крови. Это каскадная система протеолитических протеолитических ферментов протеолитических ферментов, предназначенная для гуморальной протеолитических ферментов, предназначенная для гуморальной защиты организма от действия чужеродных агентов, она участвует в реализации иммунного ответа организма. Является важным компонентом как врождённого, так и приобретённого иммунитета. Комплементом называются сложный комплекс белков (около 20), которые, так же как и белки, участвующих в процессе свертывания крови, фибринолиза и образования кининов, формирует каскадные системы, обнаруженные в плазме крови. Для этих систем характерно формирование быстрого, многократно усиленного ответа на первичный сигнал за счет каскадного процесса. В этом случае продукт одной реакции служит катализатором последующей. система белков сыворотки крови, принимающая участие в регуляции воспалительных процессов, активации фагоцитоза и разрушающем (литическом) действии на клеточные мембраны.

■ В систему комплемента входит около двух десятков белков, их содержание составляет ~ 5 % от всех белков плазмы крови, т. е. концентрация в крови 3 – 4 г/л. Белки комплемента обозначают символом «С» и цифрой, соответствующей хронологии их открытия, продукты расщепления компонентов комплемента — маленькой латинской буквой (C3b, C5a и др.). В наибольшем количестве в крови содержится компонент C3, который выполняет центральную роль в активации комплемента.

■ Следует сказать, что количество комплимента, пропердина, лизоцима, гидролитических ферментов, а также их функциональные свойства снижаются при достаточно высоких дозах, т.е. эти факторы естественной защиты являются достаточно радиоустойчивыми. Например, изменения количества комплимента в сыворотке крови облученных животных регистрируется после облучения в летальных дозах, начиная с 7-го дня. Вместе с тем по данным Хендола и др. (1956) облучение сыворотки крови рентгеновскими лучами в дозе 2000 Гр не снижает ее комплементарную активность. Лизоцим представляет собой фермент, находящийся, как известно, почти во всех тканях и жидкостях организма и обладающий бактериолитическим действием. Титр лизоцима в сыворотке здоровых животных достаточно постоянная величина. Снижения титра лизоцима регистрируются при облучении животных в сублетальных дозах. Отмечается прямая зависимость от дозы. Падение показателя регистрируется на 2 сутки после облучения, в дальнейшем происходит восстановление показателя (12-15 сутки). При облучении в летальных дозах отмечается резкое падение титра лизоцима в сыворотке крови животных со 2-го дня и до гибели. Лизоцим устойчив к облучению. Вероятно, снижение уровня лизоцима можно объяснить снижением его продукции гистocyтaми-макрофагами. Снижение пропердина в крови облученных животных также наблюдается при облучении в летальных дозах. При хронической лучевой болезни угнетения пропердиновой системы не отмечается.

Мембраноатакующий комплекс

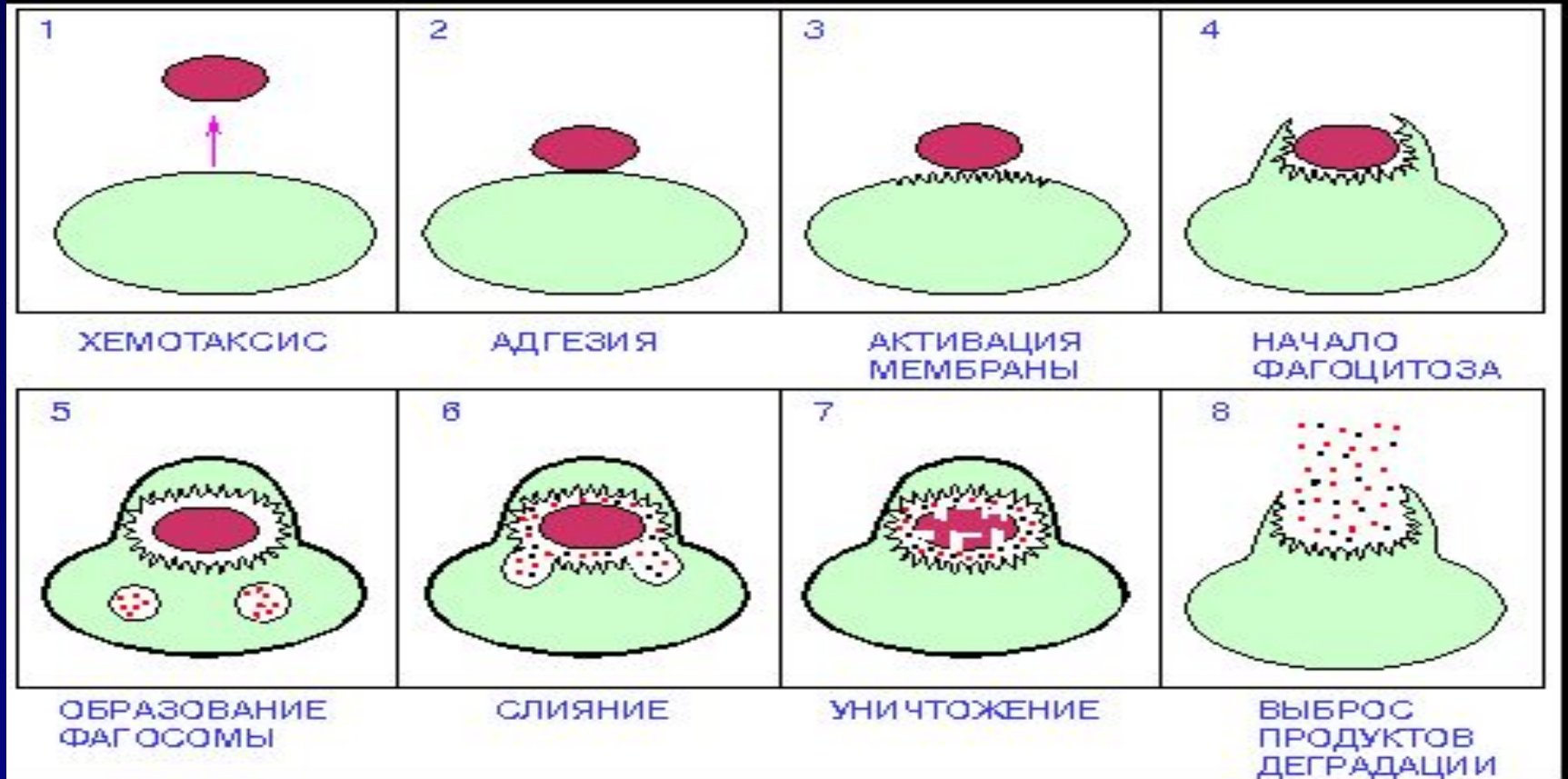




Фагциты

- Фагоциты — клетки иммунной системы, которые защищают организм путём поглощения (фагоцитоза) вредных чужеродных частиц, бактерий, а также мёртвых или погибающих клеток
- Фагоциты и фагоцитоз как способ пищеварения у животных были открыты И.И. Мечниковым при изучении губок и плоских червей. Роль фагоцитов в защите от бактерий была впервые открыта И.И.Мечниковым в 1882 году, когда он изучал личинок морских звёзд. Мечников был удостоен в 1908 году Нобелевской премии по физиологии за создание клеточной теории иммунитета.
- У человека различают два типа профессиональных фагоцитов: нейтрофилы и моноциты (в ткани - макрофаги)
- Основные этапы фагоцитарной реакции сходны для клеток обоих типов.

Фагоцитоз



- Реакция фагоцитоза может быть подразделена на несколько этапов:

- 1. Хемотаксис. В реакции фагоцитоза более важная роль принадлежит положительному хемотаксису. В качестве хемотрактантов выступают продукты выделяемые микроорганизмами и активированными клетками в очаге воспаления (цитокины, лейкотриен В₄, гистамин), а также продукты расщепления компонентов комплемента (С3а, С5а), протеолитические фрагменты факторов свертывания крови и фибринолиза (тромбин, фибрин), нейропептиды, фрагменты иммуноглобулинов и др. Однако, "профессиональными" хемотаксинами служат цитокины группы хемокинов.

- Ранее других клеток в очаг воспаления мигрируют нейтрофилы, существенно позже поступают макрофаги. Скорость хемотаксического перемещения для нейтрофилов и макрофагов сопоставима, различия во времени поступления вероятно связаны с разной скоростью их активации.

- 2. Адгезия фагоцитов к объекту. Обусловлена наличием на поверхности фагоцитов рецепторов для молекул, представленных на поверхности объекта (собственных или связавшихся с ним). При фагоцитозе бактерий или старых клеток организма хозяина происходит распознавание концевых сахаридных групп - глюкозы, галактозы, фукозы, маннозы и др., которые представлены на поверхности фагоцитируемых клеток. Распознавание осуществляется лектиноподобными рецепторами соответствующей специфичности, в первую очередь маннозосвязывающим белком и селектинами, присутствующими на поверхности фагоцитов.

- В тех случаях когда объектами фагоцитоза являются не живые клетки, а кусочки угля, асбеста, стекла, металла и др, фагоциты предварительно делают объект поглощения приемлемым для осуществления реакции, окутывая его собственными продуктами, в том числе компонентами межклеточного матрикса, который они продуцируют.

- Хотя фагоциты способны поглощать и разного рода "неподготовленные" объекты, наибольшей интенсивности фагоцитарный процесс достигает при опсонизации т.е. фиксации на поверхности объектов опсонинов к которым у фагоцитов есть специфические рецепторы - к Fc-фрагменту антител, компонентам системы комплемента, фибронектину и т.д.

3. Активация мембраны. На этой стадии осуществляется подготовка объекта к погружению. Происходит активация протеинкиназы C, выход ионов кальция из внутриклеточных депо. Большое значение играют переходы золь-гель в системе клеточных коллоидов и актино-миозиновые перестройки.

4. Погружение. Происходит обволакивание объекта

5. Образование фагосомы. Замыкание мембраны, погружение объекта с частью мембраны фагоцита внутрь клетки.

6. Образование фаголизосомы. Слияние фагосомы с лизосомами, в результате чего образуются оптимальные условия для бактериолиза и расщепления убитой клетки. Механизмы сближения фагосомы и лизосом не ясны, вероятно имеется активное перемещение лизосом к фагосомам.

7. Киллинг и расщепление. Велика роль клеточной стенки перевариваемой клетки. Основные вещества участвующие в бактериолизе: перекись водорода, продукты азотного метаболизма, лизоцим и др. Процесс разрушения бактериальных клеток завершается благодаря активности протеаз, нуклеаз, липаз и других ферментов, активность которых оптимальна при низких значениях pH.

Выброс продуктов деградации

Фагоцитоз («поедание» клетками) – первая реакция

иммунной системы на внедрение чужеродного антигена.

Механизм фагоцитоза включает 8 последовательных стадий:

- **Хемотаксис** – направленное перемещение фагоцитирующих клеток к объекту по градиенту концентрации хемотаксических соединений.
- **Адгезия** - распознавание и прикрепление чужеродного объекта к поверхности фагоцита.
- Активация мембраны.
- **Инициация фагоцитоза** - в результате активации мембраны фагоцит окружает чужеродный объект выростами плазматической мембраны (псевдоподиями).
- Образование фагосомы – объект фагоцитоза, заключенный в оболочку из плазматической мембраны, - фагосома, поглощается фагоцитом. В фагосоме поглощенная чужеродная клетка погибает.
- Слияние. Для переваривания поглощенного и убитого материала происходит слияние фагосомы с органеллами клетки, лизосомами, содержащими набор гидролитических ферментов, и образование фаголизосомы.
- **Гибель и разрушение.** Активация гидролитических ферментов приводит к перевариванию поглощенного объекта.
- **Выделение продуктов деградации.** Продукты расщепления антигена, представляющие собой антигенные детерминанты, выносятся на поверхность фагоцита в комплексе с белками МНС.

Фагоциты и система комплемента занимают особое положение.

- Особенность фагоцитов (гранулоциты и макрофаги) состоит в том, что, не смотря на неспецифичность самого фагоцитарного акта, они принимают участие в подготовке антигенов и в переработке их в иммуногенную, т.е. распознаваемую, форму. Кроме того они участвуют в кооперации Т- и В- клеток, необходимой для инициирования иммунного ответа.
- Система комплимента также участвует в специфических реакциях – вместе с антителами обеспечивает лизис клеток, содержащих антигены. Неспецифичность – Однако, выработка комплимента не является реакцией на введение антигена.

- Влияние радиации на фагоцитарную способность лейкоцитов изучается давно. Существует общее мнение о снижении фагоцитарной активности лейкоцитов после облучения. Первые сообщения об этом относятся к 1915 году. Симонс и Джонс при многократном облучении в малых дозах наблюдали уменьшение фагоцитоза бактерий лейкоцитами крови. Зарегистрировано снижение фагоцитарной активности нейтрофилов крови в экспериментах при облучении кошек в дозах 5-6 Гр, собак - 6 Гр, кроликов- 5-6 Гр и крыс - 5 и 10 Гр. В этих работах показано, что угнетение фагоцитоза обусловлено функциональными нарушениями самих фагоцитов – угнетением переваривающей способности и подвижности клеток, что наряду с уменьшением количества фагоцитирующих клеток в крови ведет к резкому снижению противоифекционного иммунитета.
- Известно, что процесс фагоцитоза состоит из нескольких стадий: миграция фагоцитов, адгезия, захват чужеродной частицы и образование лизосомы, разрушение и переваривание фагоцитированного объекта. Эти стадии различаются по радиочувствительности. (Больше страдают миграционные и переваривающая способности).

- Одной из причин понижения фагоцитарной активности является уменьшение миграционной способности лейкоцитов. (у кроликов при облучении 500 р и выше). Экспериментальные данные показывают, что при облучении значительно страдает переваривающая способность фагоцитов. Ряд исследователей показали, что после облучения в дозах, не приводящих к угнетению поглотительной функции, а иногда даже наблюдается увеличение поглотительного индекса фагоцитов, отмечается снижение переваривающей способности этих клеток. Вероятно, отсутствие подавления поглотительной способности фагоцитов при нарушениях пререваривающей функции при облучении в какой-то мере может вызвать блокаду этой системы отмирающими лимфоцитами и их фрагментами.

- Так исследователями Фриденштейном А.Я., Троицким В.Л., Соболевым С.М. в 60-е был изучен фагоцитарный аппарат аппендикса нормальных кроликов, который захватывает и перерабатывает большое количество микробов, поступающих из просвета в стенку аппендикса. При облучении в дозах 800 р наблюдали нарушения фагоцитоза. Особенно завершающей стадии фагоцитоза – переваривание микробов. Угнетение фагоцитоза имеет прямую зависимость от дозы облучения. Нужно отметить, что описанные изменения наблюдали при тотальном облучении животных. При местном облучении не обнаруживаются существенных отличий фагоцитарной активности лейкоцитов облученных и необлученных животных. Может наблюдаться даже некоторое повышение этой функции. Фагоцитарный индекс увеличивается уже через 48-96 часов после облучения. Это связано с увеличением продуктов клеточного распада в облученных тканях.

- Облучение приводит к снижению количества клеток в системе крови. Костный мозг - лимфоидные органы - периферическая кровь. Зрелые нейтрофилы являются достаточно радиоустойчивыми по сравнению с другими клетками крови. Они способны сохранять жизнеспособность и функциональные свойства при облучении в дозе 50 Гр. Поэтому их убыль в крови обусловлена не столько гибелью этих клеток при облучении, а в большей степени постлучевыми нарушениями кроветворения. Срок жизни нейтрофила в периферической крови. Затем следует естественная элиминация этих клеток с нормальной скоростью. В норме им на смену системой кроветворения постоянно поставляются новые клетки, что обеспечивает необходимое количество этих клеток. Радиационно-индуцированные изменения в гемопоэзе не позволяют обеспечить организм функциональными клетками в достаточном количестве. Наблюдается дозозависимая убыль нейтрофилов. После острого облучения минимум приходится на период с 6-7 суток по 20-25. На это же время приходится максимум леталий. Основными причинами летальных исходов являются инфекционные процессы, обусловленные гранулопенией, и геморрагией, последнее является следствием тромбоцитопении (падение количества тромбоцитов наступает чуть позже, чем нейтрофилов). Если животное не погибло, то наблюдается восстановление численности нейтрофилов. Уровень восстановления нейтрофилов в периферической крови определяется состоянием гемопоэза в костном мозге, что в свою очередь зависит от дозы облучения.

Хроническое облучение

- Одним из наиболее информативных методов исследования функциональной активности фагоцитирующих клеток, позволяющих оценить целый спектр метаболических процессов, происходящих в фагоцитах, является исследование активности пероксидазы крови и гранулоцитов.
- Известно, что процесс фагоцитоза сопровождается резким возрастанием потребления кислорода фагоцитирующими клетками. Этот феномен, образно названный "метаболическим или дыхательным взрывом", является одним из эффекторных механизмов (возможно ведущим) бактерицидности клетки. Сущность этого феномена сводится к выраженной активации оксидаз. Модуляция активности пероксидазы или уменьшение ее количества в нейтрофилах будет сопровождаться изменениями эффективности фагоцитоза. С этой точки зрения определение миелопероксидазы (МПО) дает важную информацию для оценки фагоцитарного звена иммунитета.
- Активность пероксидазы крови тестировали спектрофотометрическим способом. Метод основан на фотометрической регистрации понижения концентрации индигокармина, который окисляется перекисью водорода в присутствии пероксидазы.
- Пероксидазная активность крови в данном измерении - объем индигокармина, который окисляется за 1 мин. 1 мл крови.
- Результаты данного исследования таковы. Интегральный показатель фагоцитоза в организме определяется двумя составляющими: количеством клеток в организме и их функциональным состоянием.

Специфический иммунитет

- Специфический иммунитет характеризуется специфичностью. То есть против каждого отдельного патогена используется свое оружие.
- Специфический иммунный ответ реализуется через синтез антител и формирование клонов лимфоцитов, способных взаимодействовать только с одним антигеном, чужеродным для данного организма.
- Специфический иммунитет характеризуется индуцибельностью, то есть, иммунный ответ возникает только при воздействии на организм чужеродного антигена.
- Специфический иммунитет способен сохранять память о первой встрече с антигеном.

