**Занятие 8**

Учение об инфекции. Иммунитет и его виды: врожденный (неспецифический) и приобретенный (специфический). Врожденный (неспецифический) иммунитет, его особенности и факторы.

**Инфекция**, или **инфекционный процесс**

***Инфекция***, или ***инфекционный процесс*** это совокупность всех патологических процессов, возникающих в макроорганизме в результате попадания и размножения патогенного микроорганизма. Сходный процесс вызванный простейшими, гельминтами и насекомыми носит название ***инвазия (***от лат**.** *Invаziо –* нашествие, вторжение)***.*** С клинической и патогенетической точки зрения, взаимодействие макро- и микроорганизма при инфекционном процессе, проявляет себя как ***инфекционная болезнь.***

**Условия возникновения инфекционного процесса.**

* Наличие патогенного микроорганизма
* Наличие чувствительного макроорганизма
* Условия окружающей среды

**Роль микроорганизма в инфекционном процессе.**

* *Сапрофитные микроорганизмы* (от греч., *sаprоs -* гнилой, *phytоn* - растение) – комменсалы, живущие в организме человека , животных и в окружающей среде, не вызывают заболевания.
* *Патогенные микроорганизмы* (от лат., *pаthоs* – страдание, *gеnоs* - рождение)попадая в чувствительный макроорганизм вызывают инфекционный процесс.
* *Условно-патогенные (оппортунисты)* только при определенных условиях (состояние реактивности макроорганизма) , оказывают болезнетворное действие.

**Понятие о патогенности и вирулентности.** Способность микроорганизма вызвать патологический процесс или болезнь называется патогенностью. Патогенность это генетическое свойство каждого вида микроорганизма и носит специфический характер, т.е. каждый патоген вызывает определенное заболевание. Патогенные свойства могут отличатся даже среди микроорганизмов одного вида. Степень патогенности называется вирулентностью (от лат. *virulеntus* - ядовитый). В вирусологии вместо термина «вирулентность» применяют «инфекционность».

**Изменение вирулентности.** Все штаммы определенного вида микроорганизма по вирулентности можно подразделить на высоко-, слабо- и авирулентные. Изменение вирулентности-ослабление или усиление, могут носить фенотипический или генотипический характер. Устранив действующий фактор, приводящий к фенотипическим изменениям можно восстановить вирулентность. Если изменение вирулентности носит генотипический характер, то оно будет передаваться из поколения в поколение.

**Факторы, действующие на вирулентность.** Неблагоприятные условия, длительное культивирование в искусственных питательных средах, пассаж малочувствительным животным, воздействие различных физических и химических факторов могут способствовать снижению вирулентности микроорганизмов. Длительное воздействие этих факторов может привести к стабильному снижению вирулентности – аттенуации. Этот принцип лежит с основе получения вакцин. Можно усилить вирулентность микроорганизмов пассажем в организм чувствительных животных. Предположительно, что в данном случае в популяции микроорганизмов происходит селекция вирулентных особей.

**В лабораторных условиях вирулентность микроорганизмов обычно оценивается на лабораторных животных, особенно на белых мышах. Для этого определяется летальная и инфекционная дозы.**

**Летальная доза**– это наименьшее количество живого возбудителя или его токсина , вызывающее в определенный срок гибель конкретного количества животных.

* **Безусловно смертельная доза** (DCL - *dоsis cеrtа lеtаlis*) - наименьшее количество живого микроба или его токсина, вызывающее в течение определенного времени гибель 100% экспериментальных животных .
* ***Минимальная смертельная доза*** (DLM - *dоsis lеtаlis minimа*) – наименьшее количество живого микроба или его токсина, вызывающее в течение определенного времени гибель 90% экспериментальных животных.
* ***Средняя летальная доза*** (LD50) – минимальное количество живых микробов, способное вызвать развитие инфекционного заболевания у 50% зараженных экспериментальных животных.
* **К инфицирующей дозе относятся** İD100 и İD50 .

**Факторы патогенности микроорганизмов.** Патогенность микроорганизмов обеспечивается факторами патогенности. Наличие этих факторов отличают патогенные микроорганизмы от сапрофитов. Факторами патогенности являются морфологические структуры, ферменты и токсины микроорганизмов. Указанные факторы обеспечивают внедрение микроорганизма в организм, адгезию его на клетки и ткани, а также предохранение от защитных факторов организма.

**Факторы патогенности микроорганизмов.**

* **Адгезия***–*специфическое соединение микроба с чувствительными клетками макроорганизма*.*
* **Колонизация** –размножение микроба на поверхности чувствительной клетки макроорганизма.
* **Пенетрация** – внедрение некоторых возбудителей внутрь клеток (эпителиальных, лейкоцитарных, лимфоцитарных и пр.).
* **Инвазия** – распространение через слизистые и соединительнотканные барьеры в ткани (нейраминидаза и гиалуронидаза).

**Адгезия.**

* **Адгезия** (от лат. *аdhаеsiо* – притяжение, прилипание)– способность микроорганизмов к прикреплению на соответствующих клетках и тканях хозяина.
* С одной стороны этот процесс обеспечивается за счет пилей и других поверхностных структур микроорганизмов (**адгезины или лиганды**).
* С другой стороны - наличием на поверхности клеток макроорганизма специальных структур - **рецепторов**.
* Таким образом, адгезия микроорганизмов на клетках и тканях опосредуется **лиганд-рецепторным механизмом взаимодействия.**

**Колонизация.** После адгезии начинается процесс колонизации микроорганизмов – заселение и размножение. Первоначально микроорганизмы колонизируют поверхность кожи и слизистых. Они могут находиться как на поверхности так и внутри клеток. Например, возбудитель холеры размножается на поверхности эпителия тонкого кишечника, а возбудитель дизентерии - внутри клеток эпителия толстого кишечника.

**Пенетрация и инвазивность.** Внедрение – пенетрация, микроорганизмов во внутрь клетки-хозяина обусловлена инвазивностью. Инвазивность – это способность микроорганизмов проникать в клетки ткани. Колонизация микроорганизмов не всегда ограничивается поверхностью кожи и слизистых. Патогенность некоторых микроорганизмов ( шигеллы, иерсинии и др. ) обусловлена их пенетрацией в эпителиальные клетки. Пенетрация обеспечивается наличием специфических факторов: среди них наиболее хорошо изучены инвазины – белки наружной мембраны. Взаимодействие инвазинов с интегринами - специфическими рецепторами на поверхности клетки-хозяина, обеспечивает эндоцитоз – «проглатывание» бактерий.

* **Ферменты агрессии.** Инвазивность микроорганизмов тесно связана со способностью синтезировать некоторые ферменты - ферменты агрессии. Механизм действия их заключается в разрушении мембран и межклеточного вещества, увеличении проницаемости клеточной стенки, что способствует распространению микроорганизмов в тканях.
* *Гиалуронидаза*
* *Лецитиназа* (фосфолипаза)
* *Нейраминидаза*
* *Коллагеназа*
* *Плазмокоагулаза*
* *Фибринолизин*
* *Цитолизины* (*гемолизины*), *лейкоцидин*, *IgА1-протеаза*

**Факторы, препятствующие фагоцитозу.** Многие микроорганизмы, в частности бактерии, обладают такими факторами как микрокапсула, капсула, слизистая оболочка препятствующими фагоцитоз*.* Некоторые микробы синтезируют вещества подавляющие хемотаксис или расщепляющие хемоаттрактанты.

* Микроорганизмы также обладают факторами, защищающими их от внутриклеточного киллинга при фагоцитозе:
* вещества препятствующие слиянию фагосомы с лизосомой
* защита от окислительных факторов , образующихся внутри фагоцитов
* резистентность против лизосомальных ферментов фагоцитов
* вещества способствующие лизису фагосомы ( например, листериолизин)
* некоторые микроорганизмы, например трипаносомы, покидая фаголизисому переходят в цитоплазму клетки, защищаясь фагоцитоза .

**Незавершенный фагоцитоз.** Перечисленные факторы обеспечивают микроорганизмам способность выживать внутри фагоцита. Эта способность позволяет не только выживать внутри фагоцита, но и способствует распространению их через кровь и лимфу (диссеминация).

**Токсины бактерий.** Токсины являются одним из важных факторов патогенности многих микроорганизмов. Токсины бактерий делятся на две основные группы экзо- и эндотоксины.

**Экзотоксины.**

***Экзотоксины -*** вещества белковой природы (ферменты) , вызывающие в малых дозах гибель клеток макроорганизма. Экзотоксины секретируются клеткой в окружающую среду или находятся в связанном состоянии с клеткой, освобождаясь после ее автолиза. Таким образом, выделение экзотоксинов из клетки не является обязательным условием. По этой причине в последнее время вместо термина «экзотоксин» используют термин «**белковые токсины**»

**Характеристика экзотоксинов.**

* Вещества белковой природы (ферменты)
* Не связаны с микробной клеткой
* Обладают высокой токсичностью
* Относительно термолабильны
* Избирательно действуют на органы и ткани
* Под воздействием формалина, кислот, нагревания могут превращаться в анатоксин (токсоид)
* Синтезируются как грамположительными, так и грамотрицательными бактериями.

**Эндотоксины.**

**Эндотоксины** отличаются от экзотоксинов по многим свойствам. Эндотоксины являются липополисахаридами (ЛПС) наружной мембраны грамотрицательных бактерий

**Характеристика эндотоксинов.**

* Представлены липополисахаридным комплексом
* Связаны с микробной клеткой
* Относительно малотоксичны
* Термостабильны
* Вызывают симптомы общей интоксиации
* Не превращаются в анатоксин (токсоид)
* В основном образуются грамотрицательными бактериями

**Липополисахарид (полисахаридный комплекс).** ЛПС по химическому составу состоит из комплекса полисахарида и липида. Полисахаридный комплекс состоит из О-антигена и базисной части и обеспечивает антигенность ЛПС. О-антиген обладает значительной изменчивостью и может отличаться даже у представителей одного вида. Поэтому в пределах одного вида бактерий по различию антигенной структуры выделяют О-серовары. Базисная часть достаточна стабильна и остается постоянной у микроорганизмов одного рода и даже семейства. Этим объясняется наличие перекрестно реагирующих антигенов у многих микроорганизмов.

**Липополисахарид (липидный комплекс).** Липидный комплекс состоит из липида А, который обусловливает токсигенность ЛПС. Структура липида А одинакова у всех видов грамотрицательных бактерий ( исключение составляют - *Bаctеrоidеs frаgilis, Bоrdеtеllа pеrtussis, Brucеllа аbоrtus, Psеudоmоnаs аеruginоsа* и др.)

|  |  |
| --- | --- |
|  **Экзотоксины** |  **Эндотоксины**  |
| Вырабатывается жиивыми микробными клетками, достигают высокой концентрации в жидкой питательной среде. | Являясь составной частью клеточной стенки грамотрицательных бактерий, высвобождается после их гибели.  |
| Вырабатывается как грамположительными так и грамотрицательными бактериями. | Образуется только грамотрицательными бактериями |
| Белки с молекулярной массой 10000-900000 Да. | Липополисахаридный комплекс. Токсигенность обусловлена липидом А |
| Относительно термолабильны, быстро разрушаются при температуре выше 60 C . | Относительно термостабильны, при температуре 60 C сохраняет токсичность в течении часа.  |
| Обладают высокой антигенностью. | Обладает низкой антигенностью |
| Под воздействием некоторых факторов превращаются в анатоксин, используемый в качестве вакцины  | Не превращаются в анатоксин( токсоид). |
|  Обладает высокой токсичностью. | Обладает слабой токсичностью. |
| Не обладают пирогенным эффектом | Обладают пирогеннным эффектом |
| Синтез детерминируется внехромосомными генами. | Синтез детерминируется только хромосомными генами. |
| Обладает избирательным действием на органы и ткани. | Не обладает избирательным действием. |

 **Роль макроорганизма в развитии инфекционного процесса.**

* **Возраст** («*детские инфекции*»)
* **Состояние нервной системы**
* **Состояние эндокринной системы**
* **Роль питания**
* **Пол**
* **Наследственные факторы**
* **Состояние иммунной системы**
* **Роль нормальной микрофлоры** (*колонизационая резистентность*)

**Роль окружающей среды в развитии инфекционного процесса.**

* **Воздействие температуры** («простудные» заболевания)
* **Действие облучения**
* **Действие общественных факторов**(«общественные заболевания»)
* **Действие антропогенных и экологических факторов** (природные бедствия)
* **Действие ятрогенных факторов**

**Особенности инфекционных заболеваний.** Каждая инфекционная болезнь вызывается определенным возбудителем (этиологический фактор), другими словами каждый патогенный микроорганизм вызывает только определенную болезнь (или болезни).

 - Бактериальные и вирусные инфекции, микозы

 - Протозоозы, гельминтозы, инфестации

* Инфекционные заболевания характеризуются контагиозностью

 *- Индекс контагиозности* – показывает отношение числа заболевших после контакта с источником инфекции к общему числу контактировавших с этим источником.

* Инфекционным заболеваниям свойственна цикличность течения
* После инфекционного заболевания формируется приобретенный иммунитет

**Источники инфекции**

* *Антропонозы-* источник инфекции только человек
* *Зоонозы-* источник инфекции больные животные
* *Сапронозы*  - источник инфекции объекты окружающей среды

**Механизмы заражения.**

* *Воздушно-капельный механизм* – возбудитель в основном локализован в верхних дыхательных путях , при разговоре, кашле и чихании попадает в окружающую среду воздушно-капельным или воздушно-пылевым путем . Данным механизмом передаются возбудители инфекций дыхательных путей
* *Фекально-оральный механизм* – возбудитель в основном локализован в кишечнике, в окружающую среду выделяется с испражнениями и передается алиментарным путем ( пищевой и водный пути). Данный механизм передачи присущ для кишечных инфекций.
* *Контактный механизм* – возбудители могут локализоваться в разных меcтах, и разными путями попадают в окружающую среду.

 *- заражение возможно прямым или опосредованным контактом*

* *Трансмиссивный механизм-*  возбудитель находится в крови больного человека или животного и передается кровососущими насекомыми (малярия, сыпной тиф и др.)

 *- парентеральный путь* заражения также относится к трансмиссивному механизму

**Периоды инфекционных болезней.**

* **Инкубационный**, или скрытый период охватывает период от попадания патогенного микроба в организм до появления первых симптомов. У большинства заболеваний этот период длится 1-2 недели.
* **Продромальный** (от греч. *prоdrоmоs* – предвестник), или период предвестников наступает после инкубационного и характеризуется неспецифическими симптомами ( повышение температуры, головные боли, слабость, вялость)
* Период **клинических проявлений**, начинается после продромального периода и характеризуется специфическими для каждой инфекции симптомами.

 *-* общие признаки, характерные симптомы, патогномоничные симптомы.

* **Выздоровление** (реконвалесценция) – период угасания симптомов и восстановления функций организма.

 - Выздоровление, микробоносительство, переход в хроническую форму, летальный исход.

**Формы инфекционного заболевания.**

* В зависимости от происхождения:

 - ***экзогенная***, ***эндогенная*** инфекция или *аутоинфекция*

* В зависимости от локализации возбудителя в организме

 - ***очаговая****,* ***генерализованная***инфекция

* В зависимости от распространения возбудителя и его токсина в организме

 *-* ***бактериемия*** *(сепсис), вирусемия, токсинемия*

* В зависимости от количества возбудителя

 *-* ***моноинфекция****, микст-инфекция*

* **Суперинфекция** – повторное заражение тем же возбудителем до выздоровления
* **Реинфекция** - повторное заражение тем же возбудителем после полного выздоровления.
* **Рецидив** - возврат симптомов заболевания без повторного заражения.
* **Формы инфекционного заболевания.** В зависимости от продолжительности пребывания возбудителя в организме различают:

 *-* ***Острые инфекции*** *–* относительно непродолжительные , длятся от одной недели до одного месяца ( грипп, корь, чума и др.) .

 *-* ***Хронические инфекции*** *-* характеризуются длительным ( 6 месяцев и более) течением (туберкулез, лепра, бруцеллез, сифилис и др.) . При хронических инфекциях наблюдают длительную персистенцию возбудителя в организме.

 *-* ***Микробоносительство*** (бактерио-, паразито-, вирусо-, мико-носительство) – возбудитель персистирует в организме определенное время, иногда может оставаться на всю жизнь. Микробоносительство может протекать латентно, скрыто или же как дремлющая инфекция.

* В зависимости от клинического проявления различают:

 *-* ***Типичные, атипичные, инаппарантные (латентные, скрытые, субклинические,бессимптомные), стертые, молниеносные (фульминантные), абортивные.***

* ***Эпидемия***  - прогрессирующее во времени и пространстве массовое распространение инфекционного заболевания среди населения.
* Распространяясь инфекционное заболевание может охватывать несколько стран, даже континенты – **пандемия*.***
* Иногда инфекция встречается в единичных - **спорадических** случаях.
* Если инфекционная болезнь распространена только в определенной местности то это называется **эндемией**. **Эндемии** – это чаще всего *природно-очаговые* заболевания с определённым источником инфекции и переносчиками.

**Биологический метод.**

Заражение лабораторных животных проводят с целью:

* **изучения патогенности и вирулентности микробов,**
* **выделения чистой культуры из патологического материала,**
* **создания экспериментальных инфекций**

**Подготовка лабораторных животных к эксперименту.**

* Выбор животных по весу, полу и возрасту

 - при выборе лабораторных животных учитывается степень их чувствительности к исследуемому возбудителю (например, морские свинки чувствительны к туберкулезу, дифтерии, чуме, сибирской язве; белые мыши – туляремии, ботулизму, столбняку и др.) .

* Маркировка животных

**Подготовка инструментов и материалов.** Все инструменты используемые при манипуляции должны быть стерильными. Материал, вводимый животному, разбавляют в стерильном физиологическом растворе. Раствор набирают в шприц. Пузырьки воздуха со шприца, также лишний материал выводится в стерильную вату замоченную в 5%-ом хлорамине, 5%-ой карболовой кислоте или же в спирте. Все инструменты используемые в заражении животных должны быть простерилизованы.

**Методы заражения лабораторных животных.** Заражение лабораторных животных (морские свинки, белые мыши, крысы, кролики) проводят разными путями – на поверхность кожи, внутрикожно, подкожно, внутримышечно, внутривенно, в полость живота, интраназально, перорально, интратрахеально, интрацеребрально.

**Вскрытие и бактериологическое исследование трупа лабораторного животного (белые мыши).**

Целью бактериологического исследования трупа животного является выделение возбудителя, вызвавшего смерть животного, установление места локализации и получения чистой культуры возбудителя. Для предотвращения загрязнения, вскрытие трупа и взятие материала для посева проводится сразу после гибели животного в асептических условиях. В случае необходимости животное умерщвляют согласно **принципам биоэтики.** Согласно этим принципам манипуляцию проводят в условиях полного обезболивания лабораторных животных.

**Бактериологическое исследование лабораторных животных.**

**Живое животное:**

* Кровь
* Экссудат из полости живота и др.

**Погибшее животное**:

* Кровь
* Кусочки различных органов
* Спинномозговая жидкость
* Жидкости с различных полостей и др.

**Бактериологическое исследование трупов лабораторных животных.**

После вскрытия исследуют внутренние органы, готовят мазок-отпечаток с органов и делают инокуляцию в кровяной агар (поверхностью среза органа касаются питательной среды). Параллельно готовятся мазки-отпечатки с печени, селезенки, почек. Мазки-отпечатки фиксируют раствором Никифорова (равные концентрации спирта и эфира ) и красят метиленовым синим или методом Романовского-Гимзы, микроскопируют. Инокулированные питательные среды инкубируют 24-48 часов при температуре 37°C. Полученные в результате культивации патологического материала микроорганизмы, идентифицируют по морфологическим, культуральным, биохимическим и др. свойствам

**Обезвреживание трупов животных.** После вскрытия тела животных кремируют, стерилизуют в автоклаве или же кипятят в растворе фенола 1-2 часа. Bсе инструменты, кювет и доска для фиксации обрабатываются дезинфицирующим раствором или стерилизуются в автоклаве.

**Определение патогенности и вирулентности (определение летальной дозы).**

С этой целью определяют среднюю летальную дозу (LD50)

* При определении LD50 микробного штамма в обязательном порядке стандартизируют вид, пол, вес, условия содержания лабораторных животных (в основном белых мышей).
* Разведенную в несколько десятков раз (10-1, 10-2, 10-3 и т.д.) культуру микроба, вводят в несколько групп, включающих как минимум по 4-6 особей.
* Через определенное время проводят подсчет умерших и живых особей в каждой группе для определения LD50.

**Вычисление средней летальной дозы (LD50) *методом Кребера.***

Для вычисления существует много методов. Наиболее используемый - ***метод Кербера***. LD50рассчитывается путем подстановки числа погибших и выживших животных каждой группы в формулу Кербера.

IgLD50 = IgDN – S (∑Li – 0,5)

* Ig – десятичный логарифм;
* ∑ - сумма;
* S – десятичный логарифм соотношения последующей дозы к предыдущей;
* Li – соотношение числа умерших к общему числу животных в одной группе;
* N – общее число исследуемых доз ( разбавлений);
* IgDN – максимальная доза среди исследуемых доз.

**Определение патогенности и вирулентности.** В нынешнее время согласно *принципам биоэтики* использование лабораторных животных с целью изучения патогенности и вирулентности ограничено. Наибольшее применение получили другие методы- заражение культуры клеток, куриных эмбрионов, культуры простейших. Также определяют отдельные факторы патогенности микроорганизмов или же их генетические детерминанты.

**Определение патогенности и вирулентности (изучение адгезивности, инвазивности и цитотоксичности микробов)**

Для изучения адгезивности, инвазивности и цитотоксичности микробов проводят заражение стандартных однослойных клеточных культур (HeLa, Hep-2 и др.). Спустя определенное время культивирования в оптимальных условиях, сливают культуральную жидкость, проводят смыв для удаления не прикрепившихся клеток, фиксируют и микроскопируют. Под микроскопом подсчитывают 200-300 клеток с цитопатическими изменениями. Также подсчитывается внутриклеточно и внеклеточно расположенные микроорганизмы. Определяют число микроорганизмов расположенных внутри и вне одной клетки (индексы адгезии и инвазии), определяют процентное содержание клеток, подвергшихся цитопатическому действию  *(индекс цитотоксичности)*

* Прямым показателем патогенности микроорганизмов является определение ферментов патогенности.
* На практике их определяют для идентификации микроорганизмов и с целью дифференциации сапрофитных видов от патогенных.

**Определение фермента плазмокоагулазы**

* Исследуемую микробную культуру инокулируют в стерильную цитратную плазму крови. Инкубируют 2-5 часов при температуре 370C.
* Синтезирующие плазмокоагулазу микробы свертывают плазму, а в контрольной пробирке плазма остается в жидком состоянии.

**Определение фермента лецитиназы**

Выявление фермента *лецитиназы,* основывается на расщеплении субстрата содержащего лецитин.

* Исследуюмую микробную культуру инокулируют в чашки Петри с желточным агаром и инкубируют при температуре 370C в течении суток.
* Лецитиназная активность проявляется появлением помутнения вокруг колоний.

**Оперделение фермента гиалуронидазы**

Опеределение ***гиалуронидазы*** основывается на реакции гидролиза гиалуроновой кислоты этим ферментом. Исследуемую микробную культуру инокулируют в субстрат с гиалуроновой кислотой. Инкубируют при температуре 370C в течении 15 минут, потом добавляют 2-3 капли концентрированной уксусной кислоты. При наличии гиалуроновой кислоты в пробирках образуются сгустки слизи.

**Определение гемолитической активности**

* Для определения **гемолитической активности** исследуюмую микробную культуру инокулируют в чашку Петри с кровяным агаром.
* Инкубируют при температуре 370C в течение суток.
* При наличии гемолитической активности вокруг колоний наблюдают зоны гемолиза.

**Определение экзотоксинов.**

* Основным показателем патогенности микробов является синтез экзотоксинов. В классических исследованиях это свойство изучали в опытах на лабораторных животных.
* В настоящее время изучение способности синтезировать экзотоксины проводится на культурах клеток, куриных эмбрионах, культурах простейших.
* Также определяются генетические детерминанты токсинов микроорганизмов, например гены токсигенности, с помощью ПЦР.
* Для определения экзотоксина возбудителя дифтерии применяют серологический метод- реакцию преципитации (тест Элека)

**Иммунитет, виды иммунитета: врожденный (неспецифический) и приобретенный (специфический). Врожденный (неспецифический) иммунитет, его особенности и факторы. Фагоцитоз. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов.**

**Иммунитет**

От греч. «*immunitаs*» - освобождение от чего-либо, неприкосновенность. *Иммунитет* –это способ защиты организма от генетически чужеродных веществ- антигенов экзогенного и эндогенного происхождения, направленный на поддержание и сохранение гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма

**Виды иммунитета.**

* **Врожденный или видовой иммунитет** – передающаяся по наследству невосприимчивость данного вида и его индивидов к какому-либо антигену.
* **Приобретенный иммунитет** – это невосприимчивость приобретаемая в процессе онтогенеза в результате естественной встречи с этим антигеном организма. От поколения к поколению не передается.

**Приобретенный иммунитет.**

Приобретенный иммунитет делят на две группы активный и пассивный .

* Активный иммунитет

 -естесственный

 -искусственный

* Пассивный иммунитет

 -естесственный

 -искусственный

**Формы проявления иммунитета.**

* **антибактериальный**
* **антивирусный**
* **антитоксический**
* **антифунгальный**
* **антипаразитарный**
* **трансплацентарный**
* **противоопухолевый**
* **стерильный и нестерильный иммунитет**

**Неспецифический и специфический иммунитет**

**Стерильный и нестерильный иммунитет.**

* **Стерильный иммунитет –** обеспечивает полную эллиминацию возбудителя из организма.
* **Нестерильный иммунитет -** не обеспечивает полное удаление возбудителя из организма, он сопровождается присутствием возбудителя, н-р при туберкулезе, сифилисе и др. болезнях. Его называют также **инфекционным иммунитетом**

 **Специфический иммунитет.**

Выработка специфических факторов зависит от вида антигенов, попадающих в организм. Факторы защиты образованные против одного вида антигена, не защищают от других, точнее эти факторы обладают специфичностью.

 **Факторы неспецифического иммунитета.**

Неспецифические факторы защиты можно подразделить на: гуморальные и клеточные , специализированные и неспециализированные.

* ***Специализированные факторы защиты*** первым делом выражают функцию защиты в то время как ***неспециализированные факторы*** или неспецифическая резистентность , выполняют другую функцию, при этом защитная функция играет второстепенную роль
* ***Гуморальные факторы –*** представлены растворимыми веществами.
* ***Клеточные факторы*** – представлены различными клетками.

**Неспециализированные факторы защиты, или неспецифическая резистентность.** Кожа и слизистые оболочки –наружные защитные барьеры организма. Обязательным условием для выполнения защиты от поступающих снаружи антигенов является- целостность кожи и слизистых. При нарушении целостности кожи и слизистых облегчается проникновение микроорганизмов в организм.

Неспецифические факторы защиты обнаруживаются во всех тканях организма и в крови в большом количестве. Обычно они обладают антимикробным действием, или же участвуют в активации других факторов иммунитета. К неспецифическим гуморальным факторам защиты относятся **секреторные иммуноглобулины, белки системы комплемента, лизоцим, С-реактивный белок, трансферрин, интерферон (ИФН)** и др.

**Лизоцим.** Лизоцим – вещество с ферментативной активностью, имеет молекулярную массу около 14 кДа. Разрушает гликозидные связи между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозамином клеточной стенки бактерий. В результате нарушается синтез клеточной стенки бактерий, образуются сферопласты и протопласты.

Лизоцим вырабатывается в основном моноцитами, макрофагами, нейтрофилами. Относительно в больших концентрациях содержится в яичном белке, в слезной жидкости, в слюне, мокроте, в секрете слизистой носа, сыворотке крови. Высокие концентрации лизоцима обнаруживаются в тканях – хрящевой ткани, желудке, в меньшей концентрации- в кишечнике, почках, печени, миндалинах и мозге. Лизоцим не обнаруживается в спинно-мозговой жидкости, его содержание в слезе в 100-160 раз превышает содержание в сыворотке крови.

**Комплемент.** Приблизительно 130 лет назад В. Исаев и Р. Пфейффер в свежей сыворотке крови животных обнаружили вещество, обладающее бактериолитическим действием. В последствии этот сывороточный антимикробный фактор назвали алексином или комплементом (от лат. *cоmplеmеntum* – пополнение). По современным представлениям система комплемента представлена более чем 20 термолабильными и термостабильными компонентами (С1,С2,С3 и др.) и составляют до 10% глобулиновой фракции крови.

Активация комплемента происходит вследствие взаимных биологических превращений протеаз в определенной последовательности. Система комплемента обладает достаточно широкой биологической активностью, но основная функция заключается в лизисе клеток.

Систему комплемента можно представить в виде 3 групп белковых комплексов. Две из них обеспечивают разными путями активацию С3-компонента. Этот компонент обладает свойством опсонинов и участвует в фагоцитозе. Один из фрагметнов С3-С3b активирует третий комплекс (С5-С9). Последний, в свою очередь, действуя на мембрану клетки-мишени вызывают ее осмотический лизис. Этот комплекс получил название мембраноатакующий комплекс. Одновременно фрагменты компонентов С3а и С5а участвуют в хемотаксисе. С3а и С5а анафилотоксины, вызывают дегрануляцию тучных клеток и базофилов, а это в свою очередь вызывает аллергическую реакцию.

**Активация системы комплемента.**

Известны три пути активации системы комплемента:

* **Классический путь**
* **Альтернативный путь**
* **Лектиновый путь**

***По классическому пути -*** первый компонент (С1) системы комплемента активируется комплексом антиген-антитело. В результате С1 компонент приобретает ферментативные свойства и расщепляет следующие компоненты системы С2 и С4. Образованные из С2 и С4 субкомпоненты (С2а и С4b) формируют протеазный комплекс и расщепляют С3 компонент с образованием С3 конвертазы классического пути. В результате образуется мембраноатакующий комплекс.

***Альтернативный путь*** активациикомплемена проходит без участия антител. Этот путь характерен для защиты от грамотрицательных микробов. Каскадная реакция при альтернативном пути начинается с взаимодействия антигена (полисахарида) с протеинами В,D и пропердином Р с последующей активацией компонента С3. Далее реакция идет как при классическом пути – образуется мембраноатакующий комплекс.

Лектиновый путь активации комплемента также происходит без участия антител. Он инициируется особым ***маннозосвязывающим белком*** сыворотки крови, который после взаимодействия с остатками маннозы на поверхности микробных клеток катализирует С4. Дальнейший каскад реакций сходен с классическим.

-***маннозосвязывающий белок-***  нормальный протеин сыворотки крови. Прочно связываясь с маннозой на поверхности микробной клетки, способна опсонизировать их.

**С - реактивный белок.** Во время острого воспалительного процесса в сыворотке крови наблюдается резкое возрастание количества белков острой фазы, н-р, С-реактивного белка. С-реактивный белок получил название из-за способности взаимодействовать с полисахаридом С клеточной стенки пневмококков. Вместе с пропердином С-реактивный белок является инициатором активации комплемента по альтернативному пути. Количество С-реактивного белка в крови увеличивается при различных инфекционных заболеваниях.

**Простагландины.** Простагландины синтезируются в процессе фагоцитоза, под действием гормонов тимуса, компонентов комплемента ( С3b), антител и др. Способствуют миграции нейтрофилов в очаг воспаления и их дегрануляции, обладают пирогенной активностью.

**Кинины.** Кинины – это щелочные протеины. Образуются в плазме или тканях из высокомолекулярных белков (кининогенов) под действием специальных ферментов –калликреинов при активации процессов свертывания крови и протеолизе. Они меняют тонус сосудов, снижают артериальное давление, способствуют выработке лейкоцитами растворимых факторов.

**Цитокины.** Цитокины - это низкомолекулярные иммуномедиаторы белковой природы, синтезируемые клетками иммунной системы и *обеспечивающие межклеточную кооперацию.* При отсутствии антигенной стимуляции цитокины не синтезируются.В результате антигенной стимуляции соответствующих клеток, в них происходит индукция генов, запускающих синтез цитокинов.

Для восприятия цитокинового сигнала клетка экспрессирует соответствующие рецепторы, которые могут взаимодействовать с несколькими различными цитокинами;

* Цитокины не депонируются в клетке, а синтезируются после соответстующего стимула;
* Цитокины могут воздействовать как на рядом расположенную клетку, так и на клетку-продуцент;
* Цитокиновая регуляция носит каскадный характер: активация клетки одним цитокином вызывает синтез другого;
* В отличие от гормонов внутренней секреции, в подавляющем большинстве это короткодистантные медиаторы- их эффекты проявляются на месте выработки. Вместе с тем ряд провоспалительных цитокинов ( ИЛ-1, -6, α-ФНО и др.) могут оказывать действие системного характера.

**Классификация цитокинов.**

По биологическому действию и структуре различают:

* интерлейкины (ИЛ),
* интерфероны (ИФН),
* фактор некроза опухоли (ТНФ),
* колониестимулирующий фактор,
* хемокины и др. цитокины.

В зависимости от клетки-продуцента различают:

* синтезируемые моноцитами и макрофагами- **монокины** ,
* синтезируемые лимфоцитами- **лимфокины** и т.д.

**Лимфокины.** Основной продуцент лимфокинов T-хелперы. Стимуляция Т- хелпера (Тh) антигеном приводит к активации и синтезу ИЛ-2 , дифференциации на Th1 и Th2 лимфоциты. Th1 лимфоциты синтезируют интерферон, ИЛ-2, ТНФ. Th2 лимфоциты синтезируют ИЛ-4,5,6,9,10,13.

**Цитокины классифицируются в зависимости от выполняемой функции.**

* Провоспалительные иммунные медиаторы (ИЛ-1, -6, -12, ТНФ-α и др.);
* Воспалительные иммунные медиаторы (ИЛ-5, -9, -10, γ-ИФН и др.);
* Регуляторы пролиферации и дифференциации лимфоцитов (ИЛ-2, -4, -13 и др.);
* Факторы развития клеток и колониестимулиующие факторы (ИЛ-3, -7, ГМ-КСФ и др.);
* Хемокины, или клеточные хемоаттрактанты (ИЛ-8 и др.);

**Интерлейкины (ИЛ-1).**

К настоящему времени известно более 20 видов. Их обозначают арабскими цифрами.

* Одним из первых был открыт ИЛ-1, главными продуцентами которого являются моноциты и макрофаги.
* На первых этапах реакций иммунного ответа – играют роль неспецифических переносчиков информации об антигенной стимуляции от макрофагов Т-хелперам.

**Интерлейкины (ИЛ-2).**

* ИЛ-2 изучен также одним из первых. Основные продуценты Т-хелперы, основными объектами действия являются активированные Т- и В-лимфоциты и естественные киллеры.
* Способствует пролиферации Т-лимфоцитов, стимулируют дифференциацию Т-киллеров, усиливают цитотоксическую активность естественных киллеров.
* ИЛ-2 считается одним из факторов роста активированных В-лимфоцитов. Под его действием усиливается синтез иммуноглобулинов.

**Факторы некроза опухоли.**

* *Факторы некроза опухоли (ФНО)* получили название из-за способности индуцировать лизис опухолевых клеток .
* α-ФНО и β-ФНО, β-лимфотоксины – гликопротеины этой группы.
* β-ФНО также называется α-лимфотоксином. Главными продуцентами α- и β-лимфотоксинов являются Т-киллеры.
* Эти цитокины имеют соответствующие рецепторы на клетках-мишенях. Через рецепторы они передают сигнал во внутрь клеток, в результате происходит апоптоз клетки-мишени.

**Интерферон.**

*Интерферон (ИФН)* – синтезируется не только в иммунокомпетентных клетках, но и в соматических клетках.

* Обладает видовой специфичностью- интерферон, образованный клетками человека, функционально активен только в организме человека
* Индуктором синтеза ИФН в первую очередь являются вирусы. Бактерии, грибы, микоплазмы и другие микроорганизмы , их антигены и неспецифические стимуляторы типа фитогемагглютинина также могут быть его индукторами.
* Интерферон замедляет репликацию вирусов внутри клетки-хозяина воздействуя на тРНК и синтез белков.

**Виды интерферонов.**

* В зависимости от того, какими клетками синтезируется интерферон, различают:
* Лейкоцитарный (альфа),
* Фибробластный (бета),
* Иммунный (гамма).

**Альфа-ИФН (α-ИФН).**

* α-ИФН вырабатывается лейкоцитами.
* α-ИФН влияя на функциональную активность иммунокомпетентных клеток играет роль медиатора иммунной системы.
* Под его действием активируются макрофаги, лимфоциты, натуральные киллеры.

**Бета-ИФН (β-ИФН).**

Вырабатывается соматическими клетками (фибробластами) организма в ответ на вирусную инфекцию.

**Гамма-ИФН (γ-ИФН).**

* Синтезируется в результате активации митогенами или же рестимуляцией антигенами T- и B-лимфоцитов.
* γ-ИФН ослабляет пролиферацию лейкоцитов и других клеток, снижает биосинтез антител *in vitro.*

**Клеточные факторы неспецифической защиты.**

* В первую очередь неспецифическая клеточная защита осуществляется фагоцитами. Фагоциты разделяют на микро- и макрофаги.
* К микрофагам в первую относятся нейтрофильные гранулоциты, а к макрофагам относятся моноциты и тканевые макрофаги.
* Все эти клетки относятся к моноцитарно-фагоцитарной системе.

**Другие клетки, обладающие фагоцитарной активностью.**

* эндотелиальные клетки крови и лимфатических сосудов,
* клетки плевральной и перитонеальной оболочек,
* звездчатые ретикулоэндотелиоциты печени (Купферовские клетки),
* дендритные клетки лимфатических узлов (клетки Лангерганса),
* гистиоциты,
* фибробласты и др.

**Фагоцитоз- (от греч. *phаgоs*- пожираю, *cytоs*-клетка)** процесс поглощения и обезвреживания, в основном нейтрофильными гранулоцитами и макрофагами, попавших в организм микроорганизмов, чужеродных частиц, измененных по антигенным свойствам клеток организма.

**Этапы фагоцитоза.**

Процесс фагоцитоза состоит из трех этапов- миграция, поглощение, гибель (киллинг) .

* Процесс начинается с приближения-миграции фагоцита к объекту поглощения.
* Хемоаттрактанты – продукты деятельности микроорганизмов, вещества образуемые в результате повреждения тканей и разрушения клеток. Под их воздействием происходит *хемотаксис* (от греч. *chymеiа*-искусство сплавливания металлов, *tахis*-расположение, построение).

**Опсонизация.** Опсонизация объекта подвергнутого фагоцитозу, т.е. соединение его с иммуноглобулинами и комплементом имеет большое значение в процессе фагоцитоза. Объект подвергающийся опсонизации с легкостью адгезируется либо адсорбируется на поверхности фагоцита, так как на мембранах фагоцитов имеются рецепторы для опсонинов. Процесс фагоцитоза может протекать и без опсонизации объекта, в этом случае эффективность его низкая.

**Механизм фагоцитоза.** Объекты адгезированные на мембране фагоцита окружаются псевдоподиями, заглатываются. И в результате в их протоплазме фагоцита образуются *фагосомы* (вакуоли). В следующей стадии внутри фагоцита происходит слияние фагосомы с лизосомами – образуется *фаголизосома*, в которой происходит обработка объекта ферментами, дезинтеграция и переваривание. Полное переваривание поглощенных фагоцитами микрорганизмов носит название *завершенного фагоцитоза*.

Обработка*, процессинг,* некоторых микроорганизмов внутри фагоцита может происходить и без процесса опсонизации. В некоторых случаях в активированных фагоцитах объекты не подвергаются процессингу . Это явление наблюдается при гранулематозных инфекциях (н-р, туберкулезе, бруцелезе) и носит название *незавершенного фагоцитоза*.

**Киллинг микроорганизмов в фагоцитах.** Киллинг микроорганизмов в фагоцитах протекает по нескольким механизмам. Их можно подразделить на два вида - кислородзависимый и кислороднезависимый. Кислородзависимый механизм начинается сразу после формирования фагосомы, гибель микробов происходит за счет кислородных радикалов. Поглощение объектов фагоцитами сопровождается «респираторным взрывом»- выработкой свободных кислородных радикалов (супероксидного радикала и пероксида водорода).

* ***Кислородзависимый механизм ( свободные кислородные радикалы-*** О2- , 1О2, ОH-,ОCl-, НО- и др., также H2О2)
* ***Кислороднезависимый механизм*** *-*  ферменты лизосом фагоцитов после формирования фаголизосом оказывают литическое действие (лактоферрин, лизоцим, дефенсины, катионные белки, эластаза, коллагеназа и др.).

**Антигенпрезентирующие клетки (АПК).** Макрофаги и моноциты выполняют не только фагоцитарную функцию. По функциональной активности их делят на 2 большие субпопуляции:

* Первые участвуют только в процессе фагоцитоза, вторые участвуют в фагоцитозе и презентации антигена лимфоидным клеткам.
* Эти клетки получили название антигенпрезентирующих. Они обрабатывают антиген, подвергают процессингу и презентируют клеткам иммунного ответа - Т- и В- лимфоцитам, таким образом участвуют в формировании специфического иммунитета.

**Дендритные клетки.** Дендритные клетки – отростчатые клетки (отсюда и название), локализуются в лимфоидных органах и барьерных тканях-в основном в эпидермисе кожи (клетки Лангерганса), в лимфатических узлах (интердгитальные клетки) и дендритные клетки тимуса. На поверхности этих клеток экспрессируется МНС II класса. Являются наиболее активными антигенпрезентирующими клетками. Способны поглощать путем эндоцитоза, перерабатывать (процессировать) и представлять (презентировать) антиген Т-хелперам в комплексе с МНС II класса.

**Эозинофилы.** Эозинофилы – гранулярные лейкоциты крови, содержатся в соединительной ткани. Относятся к эффекторным клеткам-участникам иммунного ответа. В большом количестве накапливаются в очагах местных воспалений, вызванных гельминтами и выполняют функцию киллеров (антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность). На мембранах эозинофилы несут рецепторы к IgА и IgЕ, «распознающие» паразитов, отмеченные такими антителами. Активированная клетка выделяет ряд токсических субстанций, губительно действующих на гельминты.

**Базофилы.** К клеткам участвующим в неспецифической защите можно отнести базофилы - гранулярные лейкоциты, циркулирующие в крови. Различают базофилы слизистых и соединительной ткани. Наибольшее их количество содержится в коже, где в совокупности с иммунной системой участвуют в реакциях иммунного ответа, выполняя эффекторную функцию.

**Тучные клетки.** Клетки миелоидного ряда, располагающиеся вдоль барьерных тканей - слизистых оболочек и подкожной соединительной ткани. По набору синтезируемых биологически активных соединений и локализации выделяют две разновидности тучных клеток - клетки слизистых оболочек и клетки соединительной ткани.

**Эритроциты и тромбоциты.** Эритроциты вырабатывая эритропоэтин участвуют в иммунной защите. Стимулируя гемопоэз способствуют образованию не только эритроцитов, также других клеток крови в том числе иммунокомпетентных клеток. Тромбоциты также относятся к категории защитных клеток, благодаря выработке больших количеств серотонина и участии в противоопухолевой защите.

**Определение функциональной активности фагоцитарных клеток.** Функциональная активность фагоцитарных клеток оценивается по способности к фагоцитозу, дегрануляции, внутриклеточному киллингу, способности образовывать активные формы кислорода. Для определения активности фагоцитирующих клеток подсчитывают фагоцитарный показатель, фагоцитарное число, опсоно-фагоцитарный индекс, ставят тест с нитросиним тетразолием (НСТ) и др.

**Фагоцитарная активность и фагоцитарный индекс.** *Фагоцитарная активность-*относительное количество клеток участвующих в фагоцитозе*.* Для его определения инкубируют лейкоциты больного с различными микроорганизмами или другими частичками (латекс и др). Затем готовят мазки из смеси, окрашивают по Гимзе, подсчитывают 100 лейкоцитов и определяют количество клеток, поглотивших микроорганизмы. В приготовленных препаратах также возможно определить *фагоцитарный индекс (число)* –среднее количество микроорганизмов поглощенных одним фагоцитом.

**Определение фагоцитарной активности лейкоцитов.**

* В пробирку с 2 % цитратом натрия в объеме 0,2мл добавляют 0,1мл исследуемой крови и перемешивают.
* Добавляют 0,05 мл микробной массы (0,5 млрд микробных клеток в 1 мл)
* Выдерживают 30 минут при температуре 37°C.
* Центрифугируют (2000-3000 об/мин), пастеровской пипеткой забирают осадок.
* Готовят мазки (3-5 шт.), окрашивают по Романовскому-Гимзе. Под микроскопом просматривают 100 лейкоцитов и количество проглоченных ими микробных клеток. Результат выражают в процентах.

**Определение фагоцитоза *in vivo.***

* В брюшную полость белой мыши вводят 2-3 мл стерильного мясо-пептонного бульона.
* Спустя 3-4 часа вводят 0,5-1 мл суспензии стафилококка (в 1 мл 2 млрд.микробных клеток)
* Спустя 10-15 минут из брюшной полости отбирают жидкость, готовят мазок, окрашивают метиленовым синим и микроскопируют.
* Лейкоциты окрашиваются в голубой цвет, а внутриклеточно расположенные стафилококки - в темно-синий цвет.
* Среди просмотренных 100 клеток, определяют количество лейкоцитов, поглотивших стафилококки

***Определение опсонического индекса.***

* Фагоцитарная активность меняется в зависимости от количества опсонинов в сыворотке крови. Для оценки степени активности опсонинов вычисляют ***опсонический индекс*.**
* Для этого проводят тест фагоцитоза с сывороткой больного и контрольной сывороткой и оценивают опсонический индекс для каждой сыворотки.
* Отношение фагоцитарного показателя сыворотки больного к таковому в контрольной сыворотке называется ***опсоническим индексом***.
* При наличии в сыворотке больного опсонинов, индекс бывает больше единицы. Более высокий показатель опсонического индекса указывает на благоприятное течение инфекционного процесса.

**Определение «*киллинговой»* активности фагоцитов.**

* Для оценки способности фагоцитов к ***«киллингу***», необходимо знать первоначальное количество фагоцитов и микробных клеток в проводимом тесте.
* Изменение количества микробных клеток до и после фагоцитоза позволяет судить о «киллинговой » способности фагоцитов.
* Количество выживших после фагоцитоза микроорганизмов определяют культивированием на соответствующих питательных средах.

**Определение активных форм кислорода.**

С этой целью определяют способность фагоцитов образовывать H202, которая отображает активность их миелопероксидазной системы. Наиболее простым способом среди множества имеющихся тестов считается тест с *нитросиним тетразолием (НСТ-тест).* Принцип теста заключается в редукции нитросинего тетразолия до формазана под воздействием образованной лейкоцитами H202 .

* Исследуюмую кровь инкубируют с нитросиним тетразолием при 370C в течении 20 минут. Включения формазана внутри фагоцитов определяют микроскопически, количество формазан позитивных клеток фагоцитов с вычисляют в процентах

**Тест с нитросиним тетразолием (НСТ).**

* Кровь больного инкубируют в присутствии нитросинего тетразолия при температуре 37°C в течении 20 минут
* Микроскопией выявляют включения (гранулы) формазана в фагоцитах.
* Вычисляют процентное содержание формазан позитивных клеток.
* Норма- 10-30%.

**Параметры характеризующие состояние фагоцитоза.**

* **Фагоцитарное число**: норма 5-10 микробных клеток. Характеризует поглотительную способность нейтрофилов.
* **Фагоцитарный показатель**: норма 65-95% . Процентный показатель нейтрофилов участвующих в фагоцитозе.
* **Число активных фагоцитов**: норма 1,6-5,0x109. Количество активных фагоцитов - число фагоцитирующих нейтрофилов в 1 л крови
* **Индекс завершенности фагоцитоза** – выражает переваривающую активность фагоцитов. Норма более 1.

 - активность нейтрофилов повышается в начале воспалительного процесса.

 - снижение активности нейтрофилов способствует хронизации процесса и развитию аутоиммунных процессов.