***Занятие 17***

**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.