



СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА В ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЯХ

СИСТЕМА МОНОНУКЛЕАРНЫХ ФАГОЦИТОВ В ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЯХ

Учебно-методическое пособие по общей иммунологии. Тверь 2008.

Учебно-методическая рекомендация для практических занятий по общей иммунологии для студентов 5 курса лечебного и педиатрического факультетов, а также для клинических ординаторов и врачей, интересующихся вопросами иммунологии.

Составлена доцентом Ю.И.Будчановым.

Методическая рекомендация обсуждена и утверждена на методическом совещании кафедры клинической иммунологии с аллергологией. Заведующий кафедрой, профессор А.А.Михайленко.

Методическая рекомендация утверждена на цикловой методической комиссии ТГМА по преподаванию специальных дисциплин 02 октября 200 г., на ЦКМС ТГМА 26 октября 2001 г.

© Ю.И.Будчанов 2008 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CR - (от англ. complement receptors) рецептор для комплемента.
Fab - (от англ. fragment antigen binding) фрагмент антигенсвязывающий.
Fc - (от англ. fragment crystallizable) фрагмент кристаллизующийся.
FcR – рецептор к Fc-фрагменту Ig.
FcγR1 - рецептор для Fc-фрагмента IgG.
IgG, IgA, IgM, IgE, IgD - классы сывороточных иммуноглобулинов.
ИЛ-1(-6,-8) – интерлейкин 1(-6, -8).

МАК – мембраноатакующий комплекс.

МАС – (от англ. membrane attack complex) мембраноатакующий комплекс.

НСТ - нитросиний тетразолий.

С – компонент комплемента.

СРБ – С-реактивный белок.

СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА

В 1898 году Ю. Борде (Bordet) установил, что бактерии лизируются при добавлении к ним гипериммунной сыворотки животных. Однако способность лизировать бактерии исчезала после прогревания сыворотки при 56⁰ С, хотя антитела в такой сыворотке сохранялись. Литическую активность можно было восстановить добавлением свежей, даже неиммунной, сыворотки. Эти опыты показали, что лизис бактерий зависит от двух факторов: антител и термолабильного, содержащегося как в иммунной сыворотке, так и в нормальной. В отсутствие комплемента иммунный лизис (лизис антителами) эритроцитов не наступает.

КОМПЛЕМЕНТ — это термолабильные сывороточные белки, которые при активации вызывают лизис мембран клеточных антигенов.

В последующем были установлены и др. биологические функции комплемента: активация фагоцитоза, освобождение биологически активных аминов из гранул тучных клеток (гистамина, серотонина, брадикинина), повышение проницаемости клеточных мембран, снижение сосудистого тонуса, положительный хемотаксис, иммунное прилипание, опсонизация. **Система комплемента – одна из основных систем белков врожденного иммунитета.**

Комплемент представляет собой систему сывороточных белков, состоящую из 9 компонентов и 3 ингибиторов. Компоненты, входящие в состав системы комплемента, обозначаются буквой С с порядковым номером от 1 до 9. Например, С1, С4, С2, С3. Первый компонент комплемента С1 состоит из трех фрагментов (субкомпонентов, белков), которые обозначаются С1q, С1r, С1s, т.о. система комплемента представлена 11 белками. При расщеплении компонентов комплемента образуются субъединицы и фрагменты, которые обозначаются номерами с малыми буквами: С2а, С2в, С4а, С4в и т.д. Фрагменты, обозначаемые буквой «а» имеют меньший размер, фрагменты, обозначаемые буквой «в» – больший размер. Так при расщеплении С4 компонента комплемента образуются фрагменты С4а и С4b. Эти, как и все остальные фрагменты обладают высокой биологической активностью. См. ниже биологически активные фрагменты комплемента.

Активированные формы комплемента, обладающие энзиматической активностью, обозначают штрихом над номером компонента С1, С142.

Лимфоциты, нейтрофилы и тромбоциты содержат на своих мембранах **рецепторы для С3**. Посредством этих рецепторов к ним могут прикрепляться комплексы антигенов с Ig М или Ig G, адсорбированные на себе комплемент. Последний при активации приводит к лизису клетки.

Биосинтез белков системы комплемента.

Следует подчеркнуть, что более чем **90% С3, С6, С8** синтезируется в **ПЕЧЕНИ**. Поэтому при ряде заболеваний, поражающих гепатоциты, например циррозе, гепатите, хроническом холецистите, происходит снижение общего уровня комплемента. Оказалось, что **МОНОЦИТЫ** периферической крови и тканевые **МАКРОФАГИ** особенно при активации тоже способны синтезировать большой набор компонентов комплемента. По всей видимости, большая часть белков комплемента плазмы синтезируется гепатоцитами, но локальное образование компонентов комплемента макрофагами, концентрирующимися в очаге воспаления, может играть важную роль в воспалительном процессе.

Доказано, что синтез белков системы комплемента осуществляется и в других клетках и органах. Фрагменты С1q продуцирует эпителий толстой и тонкой кишок человека, С3 синтезируется в печени и костном мозге, С2 и С4 вырабатывают макрофаги легких и костного мозга, С5 синтезируется макрофагами селезенки и костного мозга, С6, С7, С9 - в печени, С8 - в селезенке и печени.

При большинстве острых инфекций гнойной этиологии, а также при стафилококковой бактериемии в начальный период наблюдается повышение титра комплемента. Это связано с активацией макрофагов, синтезирующих С2, С4, С5. Как правило, уровень комплемента снижается при аллергических состояниях, аутоиммунных заболеваниях и болезнях иммунных комплексов за счет связывания комплемента циркулирующими в крови и имеющимися в тканях иммунными комплексами.

Пути активации комплемента.

Существует два основных пути активации комплемента, приводящих к лизису клеток. Первый путь - **КЛАССИЧЕСКИЙ**, через каскадную активацию С1q, С1r, С1s, С4, С2 с последующим вовлечением центрального компонента комплемента - С3.

Второй путь - обходной (**АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ**) — непосредственной активации С3 без вовлечения в процесс первых трех компонентов (С142).

КЛАССИЧЕСКИЙ ПУТЬ активации комплемента осуществляется с участием Ig M и Ig G, входящих в комплекс АГ-АТ. Запомните, этот путь активации начинается с первого компонента, а активатором является комплекс АГ-АТ.

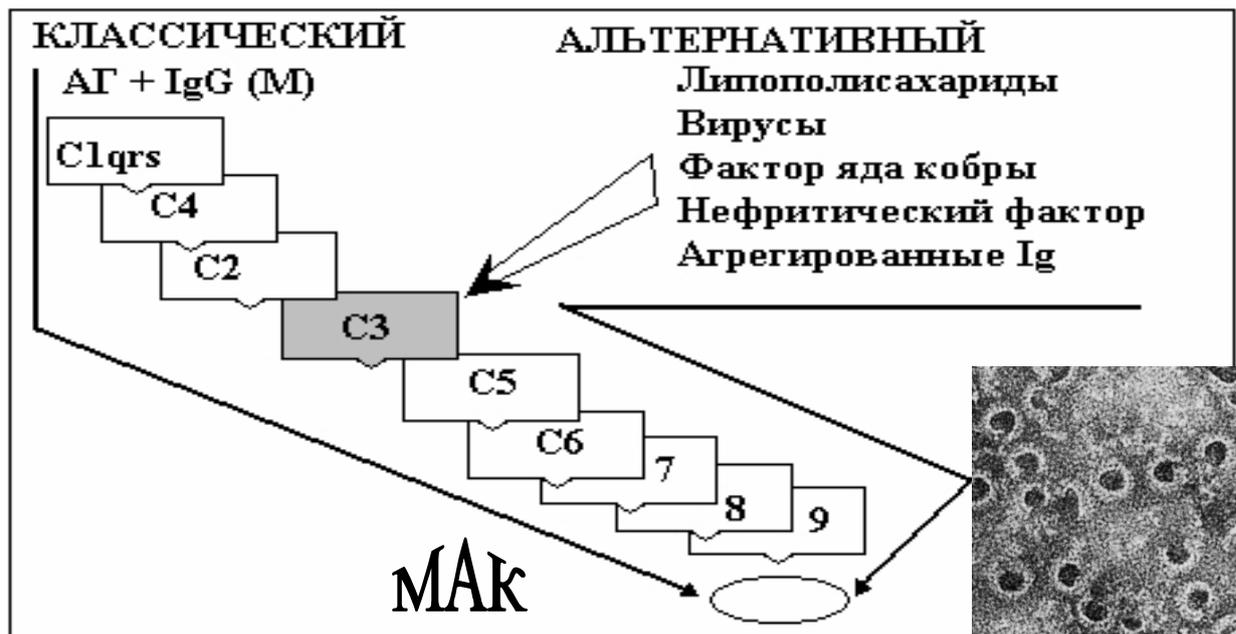
Комплемент не активируется и не связывается со свободными антителами, циркулирующими в крови. Центр связывания первого компонента комплемента (C1q) на антителах, расположенный в CH2 домене, прикрыт. Он становится доступными для него вследствие конформационных изменений в молекулах антител, наступающих **только после присоединения их к антигену**. Таким образом, первый компонент комплемента **C1 активируется комплексом АТ-АГ (Ig-АГ)**. Связывать C1 (точнее C1q) могут не все классы антител. **Только антитела классов Ig M и Ig G(1, 2, 3)** обладают такой способностью, а антитела классов IgE, IgD, IgA и IgG4 - нет. Это обусловлено тем, что в CH2 доменах IgM и IgG находится (Вспомните, что находится в CH2 домене Fc-фрагментов указанных Ig? Если уверены - впишите.)

Различают три стадии активации комплемента: 1) инициации, 2) вовлечения в процесс ферментных систем и 3) мембранной атаки.

В системе комплемента различают образование **трех макромолекулярных комплексов**: 1) C1q,r,s - ответственный **за фиксацию** на иммуноглобулине, входящем в состав комплекса АГ-АТ, 2) C4в2а3в — активирует литические ферменты, 3) терминальный комплекс белков от C5 до C9 - осуществляет лизис сенсibilизированных клеток.

Инициация активации комплемента по классическому пути происходит путем связывания C1q в области CH2 домена молекул IgM, IgG1, IgG2, IgG3 (IgG4 комплемент не фиксирует и не активирует его), которые соединились с антигеном. Условия фиксации C1q даны в лекции. Графическое изображение реакции активации системы комплемента смотри на схеме, которая находится на титульном листе данной методической разработки.

Сущность последовательных взаимодействий состоит в том, что каждый из первых пяти белков в результате активации превращается в фермент, расщепляющий последующий компонент и придающий ему свойства фермента (энзима). Возникает аутокаталитический процесс. Последний этап — терминальный, приводит к образованию атакующего мембрану комплекса, индуцирующего осмотический лизис клетки (см. ниже).



Запомните последовательность связывания и активации первых четырех компонентов комплемента - C1, C4, C2, C3 (четвертый находится на втором месте), а остальные пять активируются по порядку их номеров C5, C6, C7, C8, C9. (Порядок активации компонентов таков: C1, C4, C2, C3, а открыты эти компоненты были в последовательности их номеров 1 - 4).

Факторы, АКТИВИРУЮЩИЕ комплемент по АЛЬТЕРНАТИВНОМУ ПУТИ:

1. Бактериальные субстанции: липополисахариды, пептидогликаны, зимозан, инулин.
2. Вирусы (гриппа и др.);
3. Полисахариды грибов;
4. Паразиты;
5. Фактор яда кобры;

6. Клетки некоторых опухолей;
7. Нефритический фактор (аутоантитела, стабилизирующие C3b).
8. Агрегированные иммуноглобулины А, Е, G4.

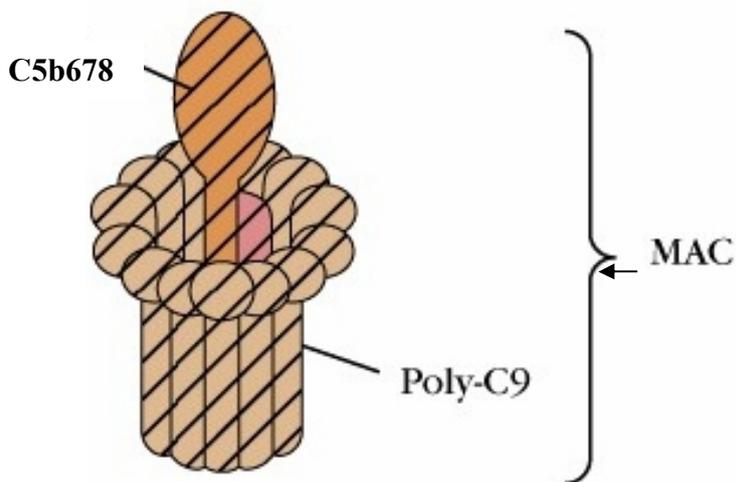
В отличие от классического пути активации системы комплемента, альтернативный механизм начинается с **С3 компонента**, в связи с этим не требуется активации C1, C4, C2. Иммуные комплексы в активации альтернативного пути участия не принимают. Однако альтернативный путь протекает с обязательным участием **БЕЛКОВ ПРОПЕРДИНОВОЙ СИСТЕМЫ**. Альтернативный путь срабатывает сразу после внедрения антигенов, т.е. вышеуказанных факторов активирующих комплемент ☒.

Пропердиновая система представлена группой белков: пропердин (**P**), факторы **D** и **B**. Пропердин - гамма-глобулин. Он присоединяется к фиксированному на цитомембране фрагменту C3b. Последний совместно с факторами B и D образует P-C3 конвертазу.

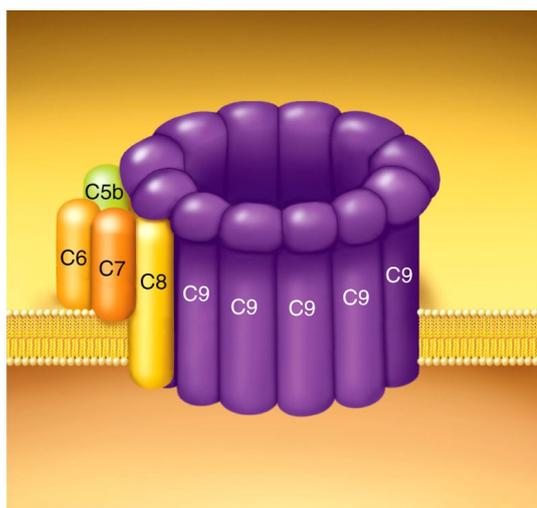
Фактор D находится в сыворотке крови в виде активного фермента, субстратом которого является фактор B. Расщепление последнего сопровождается образованием активного фрагмента.

После активации C3 компонента классическим или альтернативным путем происходит последовательная не ферментативная сборка компонентов C5, C6, C7, C8, C9, которые образуют **МЕМБРАНОАТАКУЮЩИЙ КОМПЛЕКС (МАК, MAC)**. Мембраноатакующие комплексы **C5b6789** погружаются в билипидный слой мембраны клетки-мишени и создают в стенке клетки отверстия, поры как «дыры», которые нарушают обмен ионов, аминокислот, воды. Вода поступает в клетку, что приводит к осмотической гибели клетки. ☼ Формула МАК - C5-9. Причем в состав МАК входит несколько белков девятого компонента комплемента (C9). Смотри рисунок.

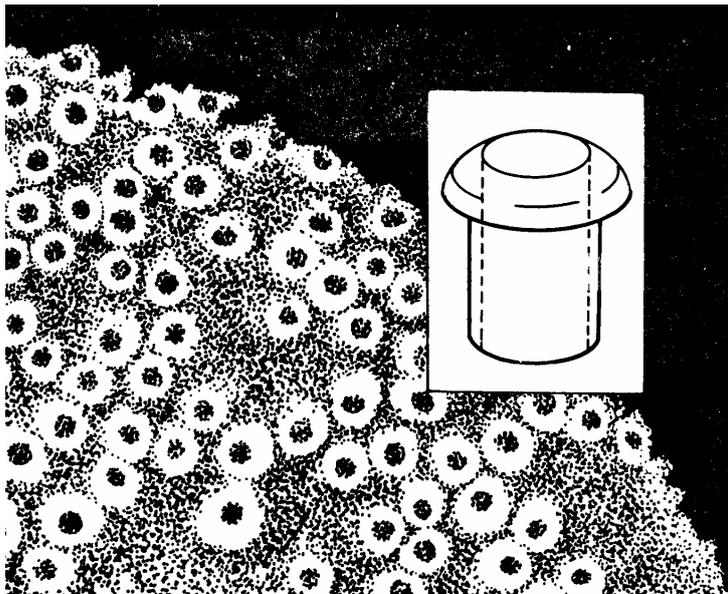
Рис. Схема МАК.



На другой схеме изображен МАК встроенный в билипидный слой клеточной мембраны.



На электронограмме представленной, ниже видны «поры» в клеточной мембране образованные МАК, а в прямоугольнике схематично изображена структура МАК в виде «воронки» или канала (поры).



(Effect of membrane attack complex (MAC; C5b6789) on cell membrane.)

Кроме указанных двух основных путей активации системы комплемента существует еще третий. Называется он **лектиновый**. Активатором этого пути являются ряд грам-положительных и грам-отрицательных бактерий. Бактерии связываются в организме человека с сывороточным белком, который называется **маннансвязывающий лектин**. Маннансвязывающий лектин, провзаимодействовав с поверхностью бактериальной клетки (маннозные остатки есть на поверхности микробов), приобретает способность к связыванию с C1q. И таким образом активируется система комплемента с первого компонента. Этот путь очень похож на классический, но активация происходит без участия антител.

Биологически активные фрагменты комплемента:

Напомним, при активации системы комплемента компоненты расщепляются на фрагменты, обладающие важным биологическим эффектом. Фрагменты компонентов комплемента обозначаются буквами a, b.

1. Фрагмент C1q - активирует свертывающую и кининообразующую системы, повышает **проницаемость** сосудов и играет иницирующую роль в активации системы комплемента по классическому пути.
2. Фрагмент C2b - усиливает **проницаемость** кровеносных и лимфатических сосудов.
3. Фрагмент C3b - **опсонирует бактерии**, агрегирует тромбоциты.
4. Фрагмент C3a - способствует освобождению **гистамина** из тучных клеток и тромбоцитов (дегрануляция тучных клеток с высвобождением гистамина приводит к увеличению проницаемости сосудов).
5. Фрагмент C4a – способствует освобождению серотонина.
6. Фрагмент C4b - стимулирует **иммунное прилипание**, опсонизирующий эффект.
7. C5a – вызывает, наряду с C3a, дегрануляцию тучных клеток, сосудистые реакции характерные воспалению, активирует клетки миелоидного ряда в очаге воспаления.

C3a и C5a называют **анафилатоксинами** комплемента, так как являются мощными индукторами воспалительной реакции. Они обеспечивают экстравазацию из сосудов в очаг жидкости и клеток крови. Активируют нейтрофилы и моноциты. Для них имеются рецепторы на тучных клетках и гладких мышцах. При массивной внутрисосудистой активации комплемента, что наблюдается при сепсисе, возникает сосудистый коллапс и бронхоспазм. Эта реакция напоминает анафилаксию и поэтому их назвали анафилатоксинами.

ИНГИБИТОРЫ системы комплемента. Ингибиторы регулируют каскадную реакцию активации комплемента. К ним относятся:

1. Ингибитор C1-эстеразы (IC1Э, C1inh – C1-ингибитор) - гликопротеин сыворотки. Он связывается с активированными фрагментами C1r и C1s и подавляет их протеиназную активность. Тормозится активация C2 и C4. Ингибитор C1- эстеразы играет важную роль не только в регуляции системы комплемента, но и в регуляции сосудистой проницаемости, свертывающей системы, т.к. подавляет плазмин, калликреин, фактор Хагемана.

При генетическом дефекте ингибитора C1-эстеразы развивается наследственный ангионевротический отек, который передается по аутосомно-доминантному признаку. Для этого заболевания характерно периодическое возникновение ограниченного отека различных частей тела. Особенно опасен отек дыхательных путей.

2. Инактиватор C3b (C3b-инактиватор) - расщепляет C3b и C4b.
3. Ингибитор анафилатоксина - инактивирует как C3a, так и C5a фрагменты комплемента.

Рецепторы комплемента

На многих клетках организма человека содержатся рецепторы к компонентам комплемента. Рецептор к компоненту комплемента обозначается **CR** (complement receptors).

CR1 (по международной классификации кластеров дифференцировки - **CD35**) – содержится на В-лимфоцитах, нейтрофилах, моноцитах/макрофагах, эритроцитах, клетках почечных клубочков. Лигандом является C3b, т.е. CR1 рецепторно связывается с указанным фрагментом компонента. Этот рецептор ещё называют рецептором иммуноадгезии.

CR2 (CD21) – содержится на В-лимфоцитах, дендритных клетках. Участвует в активации В-лимфоцитов. Связывается с C3b и с вирусом Эпштейна-Барр (можно сказать является лигандом) для названных объектов.

CR3 CR4 - являются молекулами клеточной адгезии, связывают фрагменты C3, имеются на моноцитах, макрофагах, нейтрофилах, обеспечивают опсонизирующий эффект комплемента.

Опсонизация. Компоненты комплемента, в частности C3-компонент, присоединяясь к бактериальным клеткам или корпускулярным антигенам, *облегчают их фагоцитирование*. Фрагмент C3b связывается со специфическими клеточными рецепторами макрофагов и активирует фагоцитарную активность. Поэтому C3 является **опсоином**.

При нарушении синтеза белков, входящих в систему комплемента, развивается недостаточность функции этой системы. См. приложение. Более подробно с генетическими дефектами синтеза компонентов комплемента, Вы познакомитесь на занятии «Иммунодефицитные состояния» на клинической иммунологии в следующем учебном году.

СИСТЕМА МОНОНУКЛЕАРНЫХ ФАГОЦИТОВ

— поглощение частиц специальными подвижными и фиксированными клетками крови и тканей (фагоцитами). Фагоцитоз осуществляют две системы клеток — гранулоциты и мононуклеарные фагоциты, к которым относятся макрофаги и моноциты. Макрофаги возникают из содержащихся в костном мозге предшественников, общих для макрофагов и гранулоцитов. Все этапы их созревания до моноцитов происходят в костном мозге.

Стадии дифференцировки макрофагов:

Гемопоэтическая стволовая клетка → клетка предшественник миелопоэза → клетка предшественник гранулоцитов-макрофагов → промоноцит → моноциты (циркулируют в крови) → макрофаги (тканевые).

Все макрофаги, по классификации ВОЗ (1972 г), объединены в **МОНОНУКЛЕАРНУЮ ФАГОЦИТАРНУЮ СИСТЕМУ (МФС)**. К ней отнесены макрофаги тканей: гистиоциты, звездчатые ретикулоэндотелиоциты печени (синоним, который легче запоминается - клетки Купфера), свободные и фиксированные макрофаги селезенки, лимфатических узлов, лимфатических сосудов, серозных полостей, плевральные и перитонийные, легочные макрофаги представлены альвеолярными и интерстициальными макрофагами. Макрофаги мозга – микроглиальные клетки. В наибольшем количестве макрофаги содержатся в костном мозге, в печени, в селезенке, легких, серозных полостях, в соединительной ткани.

Мононуклеарные фагоциты (моноциты/макрофаги) являются важной системой врожденного неспецифического иммунитета. Значительна их роль на доиммунном этапе защиты. В то же время они нужны для презентации антигена Т- лимфоцитам, так как с «диким» антигеном Т-лимфоциты не взаимодействуют. (Сразу следует подчеркнуть, что важнейшими презентующими антиген клетками являются дендритные клетки.)

Основные функции макрофагов – 1) **Фагоцитоз** корпускулярных частиц, микроорганизмов (важный клеточный фактор естественной резистентности – «профессиональные мусорщики»); 2) **секреция биологически активных веществ** и 3) **презентация антигена**. Биологическая функция макрофагов заключается в том, что они фагоцитируют антиген и презентуют его лимфоцитам, участвуют в индукции воспаления, в цитотоксическом противоопухолевом иммунитете, в процессах регенерации и инволюции, в гуморальном и клеточном иммунитете.

Всем фагоцитам присущи следующие функции: миграция и хемотаксис, адгезия и фагоцитоз, цитотоксичность, секреция биологически активных веществ.

Основные стадии фагоцитоза: 1) хемотаксис, 2) адгезия, 3) эндоцитоз (поглощение), 4) переваривание, которое состоит из дегрануляции, киллинга микроорганизмов, образования активных форм кислорода.

Хемотаксис – направленное движение фагоцитов, обуславливается хемокинами (хемотаксинами) и наличием рецепторов к хемокинам на мембране фагоцитов.

Адгезия – прилипание. На этой стадии важную роль играют также рецепторы, а именно **рецепторы** для C3b-фрагмента комплемента CR3, CR4, рецептор для Fc-фрагментов IgG, IgM и IgE. Указанные рецепторы обеспечивают иммунное прилипание опсонированного объекта фагоцитоза к фагоциту. Важно отметить, что **рецептор для Fc-фрагмента IgG (FcγR1 = CD64) является мембранным маркером моноцитов/макрофагов**.

Маркерами макрофагов являются так же молекулы **CD14**, которые представляют собой **рецепторы для ЛПС** (липополисахаридов бактерий).

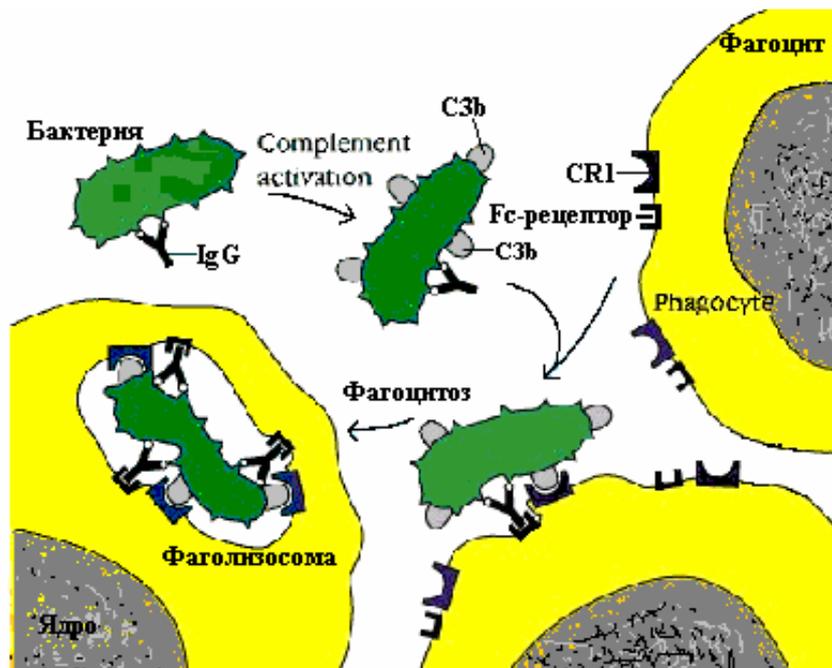
Маркеры макрофагов: CD14 CD64

Активный захват макрофагами чужеродных веществ обусловлен их адгезивностью (прилипаемостью) к веществам органической и неорганической природы и наличием рецепторов. Активации фагоцитоза способствует **ОПСОНИЗАЦИЯ** антигена специфическими антителами. **Опсонины** – факторы облегчающие фагоцитоз и к ним относятся не только антитела, но и комплемент (C3b), а так же СРБ – С-реактивный белок.

Захват макрофагом осуществляется путем поглощения чужеродной субстанции, адгезированной непосредственно на цитомембране макрофага или же в комплексе с антителом и связанной макрофагом через **Fc-рецепторы** или через **рецепторы к С 3 компоненту комплемента** (смотри рис.) или через рецепторы к ЛПС.

Расщепление экзогенных веществ, антигенов, бактерий в фагоцитах зависит от лизосомальных ферментов фаголизосомы и от изменений окислительных процессов в клетке. Катаболизм корпускулярных субстанций осуществляется ферментными системами лизосом. **Кислороднезависимую бактерицидность** (осуществляемую в анаэробных условиях цитоплазмы фагоцита) оказывают ферменты лейкоцитарных гранул: **лизоцим, липазы, нуклеазы, протеазы, эстеразы, фосфорилазы** и др. Процесс катаболизма происходит **внутри вакуоли**, поэтому собственные вещества не перевариваются.

Кислороднезависимую бактерицидность в фагоцитах осуществляют еще **катионные белки и лактоферрин**. **Катионные белки** связываются с протеинами бактерий и вызывают их гибель. **Лактоферрин** связывает железо, необходимое для метаболических процессов бактерий, чем и обуславливает бактерицидный эффект. В настоящее время ведущим микробицидным фактором макрофагов считается активная форма азота (**NO**). **Оксид азота** убивает множество типов микроорганизмов (вирусы, бактерии, грибы, простейшие) и даже опухолевые клетки. Большинство внутриклеточных инфекций (*Chlamidia*, *Mycobacterium*, *Toxoplasma*, *Trypanosoma*, *Listeria*) очень чувствительны к NO.



Кислородзависимая бактерицидность. Усиление метаболизма макрофагов повышает окисление глюкозы, что сопровождается образованием больших количеств, **обладающей бактерицидностью H_2O_2 , высокореактивных гидроксильных радикалов (OH·) и супероксидных анионов (O_2^-)**, оказывающих выраженное бактерицидное действие в отношении многих видов микробов. К ферментам, участвующим в кислородзависимых бактерицидных механизмах, относятся: **миелопероксидаза, каталаза, НАД- и НАДФ-оксидазы** и др.

Для оценки функциональной активности фагоцитов используются методики направленные на изучение стадий фагоцитоза, продукции цитокинов, рецепторного аппарата. Наиболее простым и в тоже время очень надежным в оценке респираторного взрыва фагоцитирующих клеток является НСТ-тест, который получил свое название из-за использования реактива нитросиний тетразолий.

С помощью **НСТ-теста** выявляют функциональную активность фагоцитов. Этот тест позволяет выявить наличие **«метаболического взрыва»**, который возникает в нейтрофильных гранулах в связи с процессом фагоцитоза. Известно, что осуществление фагоцитоза лейкоцитами сопровождается повышением потребления кислорода, интенсификацией гексозомонофосфатного шунта, а также возрастает образование перекиси водорода и супероксид-аниона в этих клетках.

При контакте с раствором НСТ (нитросинего тетразолия) стимулированные в процессе фагоцитоза лейкоциты поглощают нитросиний тетразолий и восстанавливают его в темно-синий формазан.

С помощью этой пробы можно выявить энзиматические дефекты клеточного иммунитета, ведущие к дисфагоцитозу. Проведение НСТ-теста позволяет обнаружить в организме наличие системных бактериальных инфекций и от- дифференцировать их от лихорадок другой этиологии.

НСТ-тест позволяет диагностировать самое частое врожденное нарушение фагоцитоза – **хроническую гранулематозную болезнь.**

В клинике для оценки активности фагоцитов так же применяется определение фермента миелопероксидазы в нейтрофилах, определение завершенности фагоцитоза микробных клеток.

Макрофаг представляет процессированный антиген в иммунной форме (удобной для распознавания) в комплексе с HLA-II (подробно о HLA на 6-м занятии) на поверхность цитомембраны **Т-хелпера** (популяция Т-лимфоцитов, способствующая иммунному ответу на антиген). После распознавания антигена Т-хелперы выделяют медиаторы, оказывающие «помощь» В-лимфоцитам в индукции пролиферации и трансформации их в антителопродуценты.

Макрофаги, таким образом, участвуют в иммунном ответе. При этом макрофаги взаимодействуют с лимфоцитами. Только в результате непосредственного контакта рецепторы лимфоцитов могут вступить во взаимодействие с частицами антигена, расположенными на поверхностной мембране макрофагов. Почти всегда, только в результате кооперативного взаимодействия макрофагов (антигенпрезентирующей клетки) с Т-лимфоцитами и В-лимфоцитами возникает выработка антител на тимус-зависимые антигены.

Макрофаги катаболизируют и элиминируют антиген, повышая его иммуногенность, представляют антиген Т-лимфоцитам для распознавания и активируют Т-хелперы посредством цитокина (медиатора межклеточных взаимодействий) - **интерлейкина-1.**

Макрофаги продуцируют и секретируют большое количество **БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**, оказывающих влияние на процесс воспаления и иммунный ответ. К этим веществам относятся: гидролитические ферменты (лизоцим, кислые гидролазы, коллагеназа, эластаза, которые при значительной их продукции могут вызвать повреждение тканей), компоненты комплемента (С4, С1, С2, С3, белки пропердиновой системы В и Д), продукты окисления арахидоновой кислоты (простагландины, тромбоксан А 2, В 2) и очень важные, как для развития воспалительной реакции, так и для развития иммунного ответа медиаторы – **цитокины (интерлейкин-1, ФНО – фактор некроза опухолей, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12).**

Необходимо отметить, что одним из главных биологически активных веществ, продуцируемых макрофагом, является **интерлейкин 1**, сокращенно ИЛ-1. Интерлейкины – (ИЛ, IL) факторы межлейкоцитарного взаимодействия. Все они являются гликопротеинами с молекулярной массой (ММ) от 15 до 60 КД. Выделяются лейкоцитами при стимуляции продуктами микробов и другими антигенами/.

ИЛ-1 выделяется макрофагами, является пирогеном (вызывает повышение температуры), стимулирует и активирует стволовые клетки, Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы, активирует синтез гепатоцитами СРБ, участвует в развитии воспаления. Он существует в двух формах – ИЛ-1α и ИЛ-1β. **У человека ИЛ-1β является главной формой секреторного (секретируемого клетками – моноцитами и тканевыми макрофагами) ИЛ-1.**

В России клиническое применение препаратов ИЛ-1 стало возможным благодаря клонированию генов ИЛ-1 и созданию медицинского препарата - рекомбинантного ИЛ-1 β человека под названием «Беталейкин», получившего разрешение Минздрава РФ для клинического применения.

В настоящее время признано, что ведущую роль в представлении антигена играют дендритные клетки. (!) **ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ** – система специализированных клеточных популяций, которые распознают и представляют антигены Т- и В-лимфоцитам в ассоциации с антигенами главного комплекса гистосовместимости (и костимулирующими молекулами). С современной точки зрения дендритные клетки играют ключевую роль в обеспечении направленного иммунного ответа и именно у них важнейшей функцией является **ПРЕДСТАВЛЕНИЕ АНТИГЕНА** (у макрофагов эта функция вторична).

Все органы и ткани человека содержат дендритные клетки, которые имеют различные названия, но обладают схожими свойствами. В крови их менее 2 %. В селезенке в паракортикальной Т-зависимой зоне они называются интердигитальными дендритными клетками и представляют антиген Т-клеткам. В В-зависимой области селезенки они называются фолликулярными дендритными клетками. В коже они представлены в большом количестве и называются клетками Лангерганса. Из кожи, поглотив антиген, они мигрируют в лимфоидные органы. Презентируя антиген в комплексе с антигенами HLA Т-лимфоцитам.

☞ Учебное пособие не заменяет учебник и лекции, но значительно облегчает подготовку к занятию.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ЗАНЯТИЯ

Мотивация

Важным является знание системы комплемента и путей её активации, так как сами по себе только антитела не вызывают лизис клеток. Именно система комплемента является ответственной за цитолиз. Кроме того, именно фрагменты и компоненты комплемента вызывают опсонизацию, активацию фагоцитоза, усиление подвижности фагоцитов. Важно знать, что макрофаги и фагоциты не только атрибут неспецифической противоинфекционной защиты, но и важнейшие участники иммунного ответа, клетки выделяющие биологически активные вещества, регулирующие иммунный ответ.

Цель.

1. Студент должен знать:

1. Основные компоненты системы комплемента.
2. Биологическую роль компонентов комплемента.
3. Пути активации комплемента и какие вещества являются активаторами этих путей.
4. Диагностическое значение уровня сывороточного комплемента.
5. Какие клетки входят в систему мононуклеарных фагоцитов.
6. Этапы дифференцировки макрофагов и их рецепторы.
7. Кислородзависимые и кислороднезависимые бактерицидные системы фагоцитов.
8. Роль макрофагов в иммунитете.
9. Методы оценки системы фагоцитов.

2. Студент должен уметь:

Применить полученные знания для оценки системы комплемента, функциональной активности фагоцитов и интерпретации клинических данных.

Для усвоения темы необходимо вспомнить, повторить:

1. По микробиологии – фагоцитоз, комплемент.
2. По патологической физиологии – воспаление, фагоцитоз, биологически активные вещества.

Вопросы для самоподготовки по теме занятия:

1. Каковы основные компоненты системы комплемента.
2. Какую биологическую роль играет система комплемента.
3. Как происходит активация комплемента по классическому пути.
4. Как происходит активация комплемента по альтернативному пути.
5. Укажите биологическую роль фрагментов компонентов системы комплемента.
6. Назовите ингибиторы системы комплемента.
7. Феномен антителозависимого комплемент-опосредованного лизиса клеток.
8. Диагностическое значение определения уровня комплемента в сыворотке крови.
9. Какие клетки входят в систему мононуклеарных фагоцитов?
10. Каковы основные этапы дифференцировки макрофагов?
11. Какие рецепторы имеются на поверхности макрофагов?
12. Роль рецепторов макрофагов в иммунологических реакциях.
13. Укажите кислородзависимые и кислороднезависимые бактерицидные системы макрофагов.
14. Какую роль играют макрофаги в иммунитете? (Фагоцитоз, переработка и представление антигена, секреторная, цитотоксическая, генерация активных форм кислорода и азота.)
15. Какие цитокины продуцируют макрофаги, их биологические эффекты?
16. Какие методы используются для определения функциональной активности макрофагов?

ЛИТЕРАТУРА ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология. Учебник. – 3-е изд., М., Медицина, 2010. – 752 с. – [с. 111 - 168].
2. Хаитов Р.М. Иммунология: учебник для студентов медицинских вузов. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2006. – 320с. – [с. 40 – 51, 100].
3. Новиков Д.К. Медицинская иммунология. Минск-Витебск, 1999 г.
4. Дж Плейфер Наглядная иммунология. М., 1999, с. 16-17
5. Методическая разработка. 6. ЛЕКЦИЯ.

Дополнительная литература:

1. Учитель И.Я. Макрофаги в иммунитете. Москва, 1978 г.
2. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск, 1983 г.



СМОЖЕТЕ ЛИ ВЫ ОТВЕТИТЬ?

(Впишите дома. Это позволит судить об уровне Вашей подготовки.

На занятии Вы проверите правильность ответов, дополните или исправите их.)

1. Укажите, где синтезируются белки системы комплемента
2. Отметьте пути активации комплемента:
3. Что такое опсонизирующий эффект комплемента?
4. Укажите, какие факторы активируют комплемент по альтернативному пути
5. Какой класс иммуноглобулинов является самым сильным активатором комплемента по классическому пути, если он входит в комплекс АГ-АТ?
6. Что такое мембраноатакующий комплекс системы комплемента (напишите его формулу)
7. Укажите биологический эффект С3а
8. Какой компонент системы комплемента является центральным?
9. При каких заболеваниях снижается комплементарная активность сыворотки крови и почему?
10. Напишите, какие макрофаги есть в дыхательной системе
11. Как называются фиксированные макрофаги печени?
12. Укажите относительное количество моноцитов в крови здорового взрослого человека?
13. Какие клетки крови кроме моноцитов обладают фагоцитарной активностью?
14. Какие биологически активные вещества секретируют макрофаги?
15. Какую роль играют Fc-рецепторы на поверхности макрофага?
16. Какие клетки взаимодействуют с макрофагом при иммунном ответе на тимусзависимые антигены?
17. Перечислите методы оценки функциональной активности макрофагов (фагоцитов)
18. Укажите, как связаны системы комплемента и мононуклеаров?
19. Клетки сердечных пороков. Вспомните, что это такое?
20. С3b. Что обозначает этот значок?
21. Какова роль дендритных клеток?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА

В 4 пробирки прилить по 2 мл 3% суспензии эритроцитов барана. Затем в первые три добавить гемолитическую сыворотку (сыворотку содержащую антитела против эритроцитов барана, но не содержащую комплемента). Такая смесь называется гемолитической системой. Затем в 1 пробирку добавить свежую нормальную сыворотку человека,

во вторую – старую или прогретую сыворотку человека,
в третью пробирку – комплемент (разведенный ампулярный лиофилизированный препарат сыворотки морской свинки),
в четвертую пробирку добавляют комплемент.
 Все пробирки инкубируют в термостате при 37 С.

Результаты наличия или отсутствия гемолиза впишите. Результаты объяснить.

Пробирка №	Эр. барана	Гемолитическая сыворотка	Свежая сыворотка человека	Старая сыворотка человека	Комплемент	Результат 2 вписать ↓
1.	+	+	+	-	-	
2.	+	+	-	+	-	
3.	+	+	-	-	+	
4.	+	-	-	-	+	

Приложение:

Генетические дефекты системы комплемента человека

Генетические дефекты описаны почти для всех компонентов комплемента человека, включая дефициты C1q, C1r (и C1s), C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8 и C9. Во всех случаях дефекты наследуются фенотипически как аутосомно-рецессивные. Гетерозиготы могут быть выявлены, так как их сыворотка содержит половину нормального уровня дефектного компонента, измеряемого функциональными и/или иммунохимическими тестами.

Распознаны также генетические дефекты трех ингибиторов системы комплемента.

Дефицит C1-ингибитора передается по аутосомно-доминантному типу. Этот дефицит ассоциируется с наследственным ангионевротическим отеком (НАЕ), или болезнью Квинке.

Все больные с дефектами комплемента в большей или меньшей степени чувствительны к инфекциям и развитию иммунокомплексных заболеваний. Например, больные с дефицитом C1-ингибитора страдают от тяжелых ангионевротических отеков, кроме того, они подвержены развитию иммунокомплексных заболеваний.

Эффективным лечением наследственного ангионевротического отека является применение пролонгированных препаратов андрогенов. Существуют препараты очищенного C1-ингибитора для внутривенного введения. Их следует применять для лечения остро возникших отеков. Удовлетворительной заместительной терапии при других дефицитах комплемента не разработано в основном из-за того, что уровень катаболизма этих белков очень высок. В некоторых случаях больным с дефицитами поздних компонентов комплемента требуется назначение профилактического антибактериального лечения или иммунизация из-за повторных нейссерийных инфекций.

