

НОВИ СХВАЩАНИЯ ЗА ФАГОЦИТОЗАТА

Светла Байкушева

Институт по микробиология, БАН

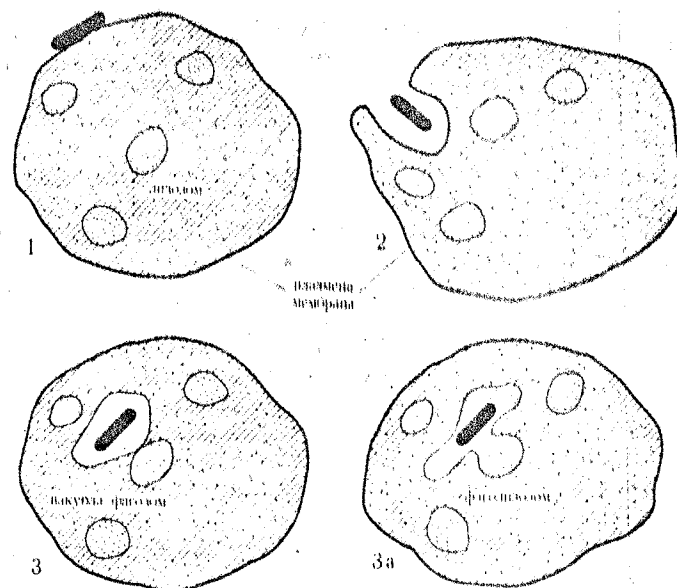
Класическите представи за механизмите на фагоцитозата претърпяха значителни изменения през последните десетилетия поради бързото развитие и напредъка при изследването на клетъчните повърхности и мембраните. Фагоцитозата се определя като поглъщане на частици от отделни клетки на макроорганизма. В онтологично и филогенетично отношение фагоцитозата е най-старата защита на гостоприемника или макроорганизма срещу чужди тела. След като микробът проникне през лигавиците или през кожата, фагоцитната активност на подвижните и фиксирани клетки на ретикуло-ендотелната система се явява главният защитен механизъм на тялото. Класическите схващания за процеса на фагоцитоза са формулирани в множество обзори и монографии (Мечников, 1901; Вълчанов, 1966; Брайде, 1966; Хаджиолов, 1973).

Съществуват два вида фагоцитни клетки: полиморфонуклеари (неутрофили и еозинофили) и мононуклеари (кръвни моноцити и тъканни макрофаги). Тези фагоцити се различават по произход, морфология, съставни части и по бактерицидното си действие. И двата вида клетки могат да функционират както неспецифично, така и специфично при бактериалните инфекции. Те лесно елиминират бактериите от заразените тъкани чрез неспецифична фагоцитоза. Освен това те се намират под контрола на хуморалните и клетъчно медираните механизми, които действуват специфично при контролирането на болезнения процес. Функцията на фагоцитните клетки — разпознаването и взаимодействието им с обектите за фагоцитиране, се определят от структурата и функцията на фагоцитните мембрани.

Процесът на фагоцитоза протича в три етапия: контакт, поглъщане и вътрешноклетъчно разрушаване (Смит, 1968) (фиг. 1). Детерминантите на тези три етапия са различни и зависят до голяма степен от природата на подлежащия на фагоцитиране обект. След като се осъществи контакт между обекта за фагоцитиране и фагоцита, мембраната на последния се вдлъбва и поглъща обекта, който остава затворен във вакуола, наречена фagoзoм. За да разрушат и отстранят чуждите частици, фагоцитите си служат с разрушителни ензими, които се намират във вакуоли, наречени лизозoми (де Дюв, 1955). Когато бактериалната клетка се поглъща от фагоцита и попадне във фagoзoма, лизозoмите се насочват към него и се сливат с фagoзoма, образувайки фagолизoзoм, където става разрушаването на поглъщания обект.

Осъществяването на контакт между обекта за фагоцитиране и фагоцитната клетка е в същност взаимодействие на две повърхности — на фагоцита и на обекта за фагоцитиране. Това, дали една частица ще се фагоцитира или не, зависи изключително от физическите и други свойства на нейната повърхност, както и от повърхността на фагоцита.

След установяването на контакт между фагоцита и бактериалната клетка последната бързо се поглъща от него, освен ако тя не притежава някакви повърхностни структури, които да ѝ позволят да избегне тази съдба. Веднъж попаднали във фагоцитите, много бактерии, като например *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis*, *Salmonella typhi*, *Yersinia pestis*, бързо биват унищожени. Поради това способността на бактериите да избягнат вътрешноклетъчното бактерицидно действие е много съществена за преживяването на тези видове. Процесът на еволюция е развил у патогенните микроорганизми средства, които им помагат да преодолеят защитните механизми на макроорганизма. Вирулетентите



Фиг. 1. Схематично представяне на процеса на фагоцитоза
1 — прилепване на частицата към фагоцит; 2 — излизане на мембраната на фагоцита; 3 — обитаване на вакуола (фагозома) около поглътната частица; 3а — сливане на фагозома с лизозома и разрушаване на поглътния обект от лизозомните ензими (по Ванесман, 1975)

бактерии имат способността да продуцират агресини, които инхибират който и да е от трите стадия на фагоцитозата. Установени са агресини, като например капсулните полизахариди на *Streptococcus pneumoniae*, М-протеинът на клетъчната стена и капсулната хидруронова киселина на *Streptococcus pyogenes*, капсулната поли-Д-глутаминова киселина на антраксниа бактерия. Те са повърхностни продукти, които инхибират стадия на поглъщане, но механизъмът на тяхното действие все още не е съвсем ясен.

Познаването на природата на микроорганизма и тези на гостоприемника повърхности и ролята им в паразитно-гостоприемниковите взаимоотношения е много съществено за правилното разбиране на микробната патогенност. Патогенността е способността на микроорганизмите да предизвикват заболяване в животинските и растителните организми. Дали в конкретния случай заболяването ще протече или ще бъде предотвратено, зависи от изхода на взаимодействието на микроб и организма. Някои от тези взаимоотношения могат да се осъществят само между извънклетъчни продукти като токсини и антитоксини, но повечето включват участието на повърхностите — както тези на микроорганизмите, както е при резистентността спрямо хуморалната защита, така и на клетките на организма, както е при увреждането от токсините, или пък и двата вида повърхности, както е при фагоцитозата (Смит, 1977).

Развитието на системите антитела, тъканни антибактериални вещества и други бактерицидни агенти в организма несъмнено е определило и еволюционното развитие на тези компоненти от бактериалната клетъчна повърхност, чрез които инфекцията преодолява бактерицидното действие на защитните фактори на микро-организма.

Бактериалната клетка притежава голяма повърхност и нейният близък контакт и взаимоотношения с непосредствено заобикалящата я среда в инвазираните

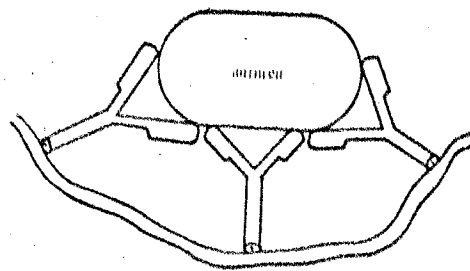
клетки и тъкани на гостоприемника е от голямо значение за разбирането на патогенитета. През последните няколко години клетъчните повърхности на Грам-положителните и Грам-отрицателните микроорганизми бяха подробно изследвани и много от повърхностните клетъчни компоненти заеха важно място при изясняването на взаимоотношенията на микроорганизмите с макроорганизма. Особено клетъчни структури бяха охарактеризирани и беше изяснена ролята на повърхностно изразените макромолекули (като полизахариди, липотейхоеви киселини, пептидогликан и др.) в биологичните взаимоотношения с клетките на гостоприемника. Механизмите на устойчивост спрямо защитните механизми на макроорганизма започнаха да се разглеждат в светлината на повърхностните клетъчни структури като капсули и компоненти, взаимодействащи с имуноглобулините (Солън, 1975).

Повечето изследвания, проведени през първата половина на нашия век, върху взаимоотношенията между гостоприемник и паразит бяха в същност насочени към идентифициране на полизахаридни и белтъчни компоненти на бактериите, които им позволяват да устоят на фагоцитоза, и неутрализиране на този механизъм на устойчивост на бактериите например чрез обвиването им с термолабилни компоненти или специфични антитела.

Напоследък се натрупаха интересни данни за характера на силите, обуславящи взаимодействието на бактериалната клетъчна повърхност и повърхността на фагоцита. От термодинамиката е известно, че ако един хипотетичен процес се съпровожда с понижаване на хелмхолцовата свободна енергия, този процес ще бъде благоприятен, т. е. вероятно и той да се осъществи. Нойман и сътр. (1973) смятат, че поглъщането на частици от фагоцита е резултат от намаляването на свободната енергия на неговата повърхност, настъпващо при установяване на контакт с обекта на фагоцитиране. Затова за протичането на фагоцитирания процес имат значение не само физиологичните и имунологичните фактори, но и термодинамичните взаимодействия на повърхностите.

Редица автори показаха (Зинин — Бермес и сътр., 1974, ван Ос и сътр., 1975), че съществува зависимост между хидрофобността на частиците и степента, в която те се фагоцитират. Така например бактерии с по-голям контактен ъгъл от левокоцитите охотно се фагоцитират от тях (Нойман и сътр., 1973). Бактериите с по-малък контактен ъгъл от левокоцитите се фагоцитират в доста по-малка степен и са обикновено патогенни (ван Ос и Гилман, 1972). Контактният ъгъл, т. е. ъгълът, който образува кинка физиологичен разтвор с монослой от клетки (бактериални или фагоцитни) (ван Ос и сътр., 1975), характеризира повърхностното напрежение. Колкото по-хидрофобна е частицата или клетката, толкова по-голям е нейният контактен ъгъл. За да може частицата да се погълне от фагоцита, тя трябва да е по-хидрофобна от него, или повърхностното напрежение между повърхността на частицата и физиологичния разтвор да е по-високо от повърхностното напрежение между повърхността на фагоцита и разтвора.

Повечето непатогенни бактерии са по-хидрофобни, отколкото фагоцитите и поради това се поглъщат спонтанно от тях (ван Ос и Гилман, 1971). Бактерии, които са по-хидрофилни от фагоцитите, почти не се фагоцитират. Такива са например *Diplococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, някои щамове *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, както и *Staphylococcus aureus*, щам Smith. Допуска се, че отстраняването на хлъзгавата капсула прави повърхността на микроорганизмите много по-хидрофобна и изключително много засилва способността им да се фагоцитират. Силно вирулентни бактерии, които притежават хидрофилни капсули (Дейвис и сътр., 1968), устояват на фагоцитоза, докато не се образуват специфични антикапсулни антитела. В присъствието на антитела и комплемент, дори такива капсулирани бактерии ще се фагоцитират (Мак Леод, 1958; Дейвис и сътр., 1968, 1973). Антителата от класовете IgG и IgM спомагат за фагоцитирането на



Фагоцитна мембрана. Вътрешна част на фагоцита

Фиг. 2. Антиген е три молекули, прикрепени към него посредством специфичните си Fc краища, така че хидрофобните краища Fe осигуряват достатъчно хидрофобна висина по повърхност, за да се осъществи фагоцитозата (по ван Ос и сътр., 1975)

патогенните хидрофилни бактерии, като повишават тяхната хидрофобност и следователно тяхната готовност да се фагоцитират. Това действие на антителата се засилва от едновременно действие на съставките на комплемента C1, C2, C3 и C4. Действието специално на IgG изглежда, се дължи на неговата хидрофобна опашка. Отделните IgG молекули обаче са твърде малки, за да се фагоцитират. Само комплексите антиген — антитяло е поне три IgG молекули (или две, но в присъствие на комплемент) имат достатъчно ниска кинетична енергия на повърхността за прикрепяне, за да се фагоцитират (фиг. 2). IgA например не

увеличава хидрофобността на частиците над степен, в която те могат лесно да се фагоцитират. Съставките на комплемента от C5 до C9 не оказват влияние нито върху контактния ъгъл, нито върху фагоцитозата на така сенсibiliзирани бактерии или клетки. Силно капсулираният щам Smith на *Staphylococcus aureus* е адсорбирал същото количество неспецифичен имуноглобулин, както и обикновеният некапсулиран щам. Въпреки това капсулираните микроорганизми изобщо трудно се фагоцитират, докато фагоцитозата на некапсулирания щам е била доста голяма. Предполага се, че неспецифичната адсорбция на имуноглобулините върху капсулирания щам се е извършила вътре в капсулата и по този начин адсорбираните имуноглобулини се разполагат пространствено неспригодно и не могат да изпълняват опсонизиращите си функции. След декансулирането на тези микроорганизми те могат да адсорбират същото количество имуноглобулин, но в този случай те се фагоцитират много по-лесно (Сингел и ван Ос, 1971).

Под действието на специфични антитела или термостойчиви опсонини (непестни, улесняващи фагоцитозата) и на комплемента фагоцитозата на бактериите значително се повишава. От друга страна, много бактерии (предимно непатогенни) лесно и бързо се фагоцитират без видимата намеса на специфични антитела. Както установиха ван Ос и сътр., хидрофобните повърхности са особено склонни към физическа адсорбция на имуноглобулини. Обяснението на тези явления би могло да се крие в това, че по-хидрофилните бактерии и частици по-лесно адсорбират неспецифично имуноглобулините и по този начин се фагоцитират в присъствието на комплемент. Очевидно най-важното свойство на голям брой непатогенни бактерии е повърхностната им хидрофобност, която е по-висока от тази на фагоцитите, така че те лесно и бързо се фагоцитират.

Известно е, че промяната в морфологията на колоните от *Salmonella* при някои етеробактерии се предизвиква от мутации, блокиращи синтеза на полизахарида, което от своя страна води до загуба на О-аглютиниращата способност, силно снижение на вирулентността и устойчивостта на салмонелни щамове към фагоцитоза. Предполага се, че антифагоцитната активност на някои О-соматични антигени може да се дължи на липофилен характер, обусловен от дезокен- и от ацетилен групи в полизахаридните странични верижки на салмонелните хемотипове. Генетичните изследвания напоследък показваха (Меларие и сътр., 1968; Валтонен и сътр., 1976), че качествената промяна на страничните полизахаридни вериги в клетъчната стена на салмонелите оказва влияние върху вирулентността

и фагоцитируемостта на плазмите и че точната структура на липополизахарида е тази, която допринася за биологичните свойства на О-антигена. Стендал и сътр. (1974) доказаха, че мутанти, които се различават от родителския си плазм по това, че са дефинитни по отношение на синтеза на липополизахарида си, се различават по вирулентност, имуногенност и устойчивост на фагоцитоза според дължината на полизахарида си верига. Тези различия са корелирани с хидрофобността на плазмите и с разпределението им в двуфазова водно-полимерна система.

Съществуват също така и патогенни микроорганизми, които са доста хидрофобни (микобактерии, туберкулози, менингококи, бруцели и др.) и които лесно се фагоцитират от фагоцитите. Тяхната патогенност се дължи на способността им да устояват на вътрешноклетъчните бактерицидни механизми на фагоцитите, в които са попаднали. Устойчивостта например на *Mycobacterium tuberculosis* се обуславя от наличието на повърхностни компоненти, които влияят специфично на лизозомните мембрани и предотвратяват сливането на фагозома, в който са попаднали след фагоцитирането, с лизозома, съдържащ разрушителни хидролази. Действието на тези компоненти може да се дължи на йонни взаимодействия между повърхностните мицели на микобактериалните сулфати и лизозомните мембрани, модифицирайки последните и предизвиквайки нарушения в тяхната функция (Горен, 1977).

Процесът на фагоцитоза може да се влияе от присъствието на различни вещества. Такива са антибиотиките, лектините, хепарин, повърхностно активни вещества и хидрофобни частици и капчици. Някои антибиотици (пеницилин, хлорамфеникол, полимиксин, бацитрацин, ампицилин) понижават контактния съглас на бактериите и ги правят по-лесно фагоцитиреми. Гентамицинът пък потиска контактния съглас на фагоцитиращите клетки, а повишава контактния съглас на бактериите, което води до засилена фагоцитоза.

След фагоцитирането на убити клетки *Mycobacterium butyricum* или на полистиренови частички (и двете със силно хидрофобни повърхности), повърхностите на алвеоларните макрофаги на морско свинче стават много по-хидрофилни и придобиват повишена способност за фагоцитиране на други частици (ван Ос и сътр., 1974). Това отчасти може да обясни адювантното действие на убитите микобактерии. Изследваните лектини (фитохемаггулини и конканавалин А) повишават контактния съглас на фагоцитните клетки, като по този начин потискат фагоцитозата. Това може да има отношение и към техните имуносупресивни свойства. Левамизолът и хепаринът също предизвикват понижаване на контактния съглас на фагоцитите и по този начин повишават тяхната фагоцитна активност. Установено бе (Рену, 1973), че левамизолът има имуностимулиращи и туморинхибиращи свойства. Неговото действие, изглежда, се дължи на неспецифично стимулиране на макрофагите, като ги прави по-хидрофилни и засилва тяхната фагоцитарна способност.

Редица автори отдавна са установили, че понижението на повърхностната енергия на левкоцитите от повърхностно активно вещество води до засилване на фагоцитозата, докато понижението на повърхностната енергия на бактериите, предизвикано чрез същия детергент, има за последица намалена фагоцитоза. Ако теорията, която предлагат ван Ос и сътр. (т. е. че фагоцитозата се осъществява главно поради разлики в свободните повърхностни енергии на фагоцита и бактериалната клетка), е валидна, то въвеждането на повърхностно активни вещества като туин-80 и натриев дезоксихолат, които понижават повърхностното напрежение на фагоцитите по един и същ начин, значително биха намалили фагоцитозата. Следователно такъв повърхностно активен и биологически активен вещество, като мицелогенния инхибиторен фактор и Хегемановия фактор, в крайна сметка ще повлияят на клетъчната прилепчивост и фагоцитозата.

След като един инфекциозен агент се фагоцитира, той може да бъде убит, може да остане жив и да се размножава или да преживява в клетката в променена форма. Антигените на микроорганизмите могат да предизвикат клетъчен и хуморален имуен отговор. Много са факторите, които влияят на съдбата на погълнатите микроорганизми. Излагането на макрофагите на дразнители като бактериите или техните продукти води до ултрасруктурни и физиологични изменения у тях.* Макрофагите стават по-активни в метаболитно отношение и се увеличават лизозомните елементи в тях. Ако макрофагите преживяват излагането на бактериалните продукти, те стават "димуни" и в действителност са много силни бактериостатични агенти.

Пътят на инокулацията, метаболитното състояние на фагоцитите, наличието и видът на лизозомните ензими в тях, наличието на опсонини, на неспецифични фактори като комплемента, състоянието на целия организъм, както и това на инвазиращия микроорганизъм, са допълнителни фактори, които обуславят съдбата на микроорганизма, навлизащ в тялото.

В близко бъдеще разглеждането на фагоцитозата като повърхностно явление несъмнено ще допринесе до голяма степен за развитието на схващанията за функцията на макрофагите, за взаимодействията между лимфоцити и макрофаги, за карциногенезата, за взаимоотношението вирус — клетка, за действието на различни лекарствени средства върху клетките, както и за механизмите, по които имуноглобулинът А допринася за инактивирането на патогенните микроорганизми.

ОТДАЛЕЧЕНА ХИБРИДИЗАЦИЯ НА РАСТЕНИЯТА

Д-р Йорданка Георгиева-Тодорова ст. и с.

Институт по генетика, БАН

Един от главните проблеми на биологичната и селскостопанската наука е проблемът за усъвършенстване на живата природа чрез създаване на нови форми растения, животни и микроорганизми. За разрешаването на този проблем определена роля играе хибридизацията, особено отдалечената, която дава възможност да се създават не само нови форми и сортове растения, но и усъвършенно нови видове, несъществуващи в природата.

В основата на отдалечената хибридизация стои кръстосването на растения, принадлежащи към различни видове и родове, както и отдалечени в географско отношение форми.

Растителните видове, подложени под действието на различни, много често сурови условия на средата, са натрупали в продължение на историческото си развитие редица ценни признаци, като устойчивост спрямо болести, невзискателност към условията, високо съдържание на въглехидрати, белтъци и други полезни за човека вещества.

Първите опити на човека обаче да кръстоса дивите видове с културни не са имали практически характер, а са били насочени към изясняване на някои биологични въпроси, като например проблема за съществуването на пола при растенията.

В първата половина на XIX в. заедно с изследванията по междувидовата хибридизация, имамци за задача да докажат съществуването на пола в растенията,