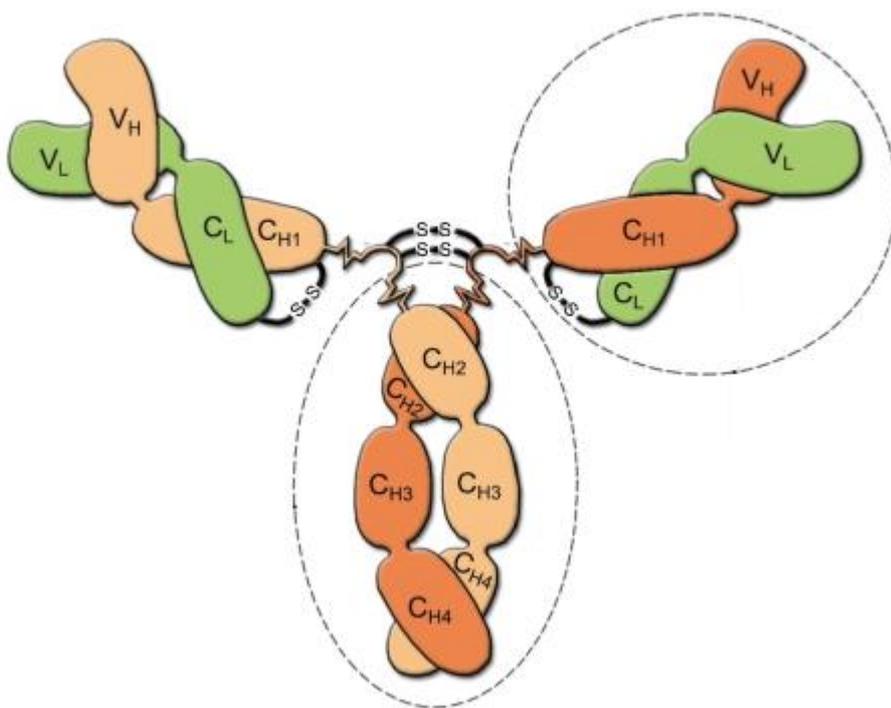


Чеховский А. Л., Дроздов Д. Н.,
Гончаренко Г. Г., Евтухова Л. А.

ОСНОВЫ ИММУНОЛОГИИ

Электронный учебно-методический комплекс
для студентов специальности 1-31 01 01-02 «Биология (научно-
педагогическая деятельность)»



Гомель 2019

**Учреждение образования Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»**

Биологический факультет

Кафедра зоологии, физиологии и генетики

СОГЛАСОВАНО

Заведующий кафедрой

_____ Г. Г. Гончаренко
_____ 2019

СОГЛАСОВАНО

Декан факультета

_____ В. С. Аверин
_____ 2019

Регистрационный номер № УД

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
ПО УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ**

Основы иммунологии

для специальности I – 31 01 01 02 – «Биология»
(научно – педагогическая деятельность)

Составители: канд. биол. наук, ст. преподаватель Чеховский А. Л.,
канд. биол. наук, доцент Дроздов Д.Н.,
докт. биол. наук, член-корр.,
профессор Гончаренко Г.Г.,
канд. с/х. наук, доцент Евтухова Л.А.,

Рассмотрено и утверждено на заседании
кафедры зоологии, физиологии и генетики
« __ » _____ 2019 г., протокол №

Рассмотрено и утверждено
на заседании научно-методического совета
УО «Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины»
« __ » _____ 2019 г., протокол №

УДК 581.17.8 (075.8)

ББК 28.56. я73

Д 754

Рецензенты:

Рекомендовано к изданию научно-методическим советом учреждения образования «Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины».

Чеховский А. Л., Дроздов Д. Н., Гончаренко Г. Г., Евтухова Л. А.

Д 754 Основы иммунологии: учебно-методический комплекс для студентов 3 курса специальности 1-31 01 01-02 «Биология (научно-педагогическая деятельность)» / А. Л. Чеховский, Д. Н. Дроздов, Г. Г. Гончаренко, Л. А. Евтухова; М-во образ. РБ, Гомельский государственный университет им.Ф.Скорины. – Гомель: ГГУ им. Ф.Скорины, 2019. – 185 с.

ISBN

Учебно-методический комплекс своей целью оптимизировать учебно-познавательную деятельность по усвоению материала курса «Основы иммунологии». Оно включает в себя теоретический, практически и методический разделы, может быть использовано освоения и контроля знаний по данной дисциплине.

Адресовано студентам биологического факультета.

УДК 581.8 (075.8)

ББК 28.56. я73

© Чеховский А. Л., Дроздов Д.Н., Гончаренко Г.Г., Евтухова Л. А.

© УО «ГГУ им. Ф.Скорины», 2019

СОДЕРЖАНИЕ

Пояснительная записка	
Требования образовательного стандарта	
Рабочая программа	
Лекция 1 Введение	
Лекция 2 Иммунная система млекопитающих	
Лекция 3 Общие свойства и классификация антигенов	
Лекция 4 Структура, классификация и свойства антител	
Лекция 5 Взаимодействие антиген-антитело	
Лекция 6 Факторы неспецифической резистентности ..	
Лекция 7 Специфическая резистентность	
Лекция 8 Виды иммунитета к инфекционным заболеваниям	
Лекция 9 Вакцины и сыворотки	
Лекция 10 Гиперчувствительность	
Лекция 11 Аутоиммунные процессы	
Лекция 12 Иммунологическая толерантность	
Лекция 13 Реакции агглютинации, преципитации и лизиса	
Лекция 14 Конъюгированные иммуноглобулины	
Тематика лабораторных занятий	
Глоссарий	
Тестовые задания	
Литература	

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) по дисциплине «Основы иммунологии» разработан в соответствии с требованиями Положения об учебно-методическом комплексе на уровне высшего образования и предназначен для студентов специальностей 1-31 01 01 Биология (научно-педагогическая деятельность). Содержание разделов ЭУМК соответствует образовательным стандартам высшего образования специальности. Главная цель ЭУМК – оказание методической помощи студентам в систематизации учебного материала в процессе подготовки к итоговому экзамену «Основы иммунологии».

Структура УМК включает:

1. Учебно-методическое обеспечение дисциплины.

1.1. Теоретический раздел (тексты лекций в объеме, установленном типовым учебным планом по специальности).

1.2. Практический раздел (материалы для проведения лабораторных занятий по дисциплине в соответствии с учебным планом).

2. Контроль самостоятельной работы студентов (материалы текущей и итоговой аттестации, в т. ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания и вопросы для самоконтроля).

3. Вспомогательный раздел.

3.1. Учебно-программные материалы (типовая учебная программа, учебные программы (рабочий вариант) для студентов дневной и заочной форм получения образования).

3.2. Информационно-аналитические материалы (список рекомендуемой литературы, перечень электронных образовательных ресурсов и их адреса и др.).

Работа с ЭУМК включает этап ознакомление с тематическим планом дисциплины типовой учебной программе. Для подготовки к лабораторным занятиям необходимо использовать материалы, представленные в разделе учебно-методическое обеспечение дисциплины, а также материалы для текущего контроля самостоятельной работы. В ходе подготовки к итоговой аттестации рекомендуется ознакомиться с требованиями к компетенциям по дисциплине, изложенными в типовой учебной программе, структурой рейтинговой системы, а также перечнем вопросов к экзамену.

Требования Государственного образовательного стандарта специальности 1-31 01 01 «Биология (научно-педагогическая деятельность)»

В рамках курса «Основы иммунологии». студенты получают представление о строении и функционировании иммунной системы млекопитающих. В курсе рассматриваются основные составляющие иммунной системы: органы, клетки и молекулы, их роль в защите внутренней среды организмов от антигенов. Дается представление об антигенных свойствах органических молекул, описываются основные механизмы взаимодействия клеток иммунной системы в ходе развития иммунных ответов. Приводятся сведения о молекулярном строении иммуноглобулинов и их свойствах с целью обоснования их роли как защитных молекул и понимания возможностей их применения в методическом арсенале современной биологии.

Использование ЭУМК решает следующие задачи: дает современное представление о значении и роли иммунной системы, а современных методов биологических исследований, основанных на применении иммуноглобулинов.

В результате изучения учебной дисциплины студент должен **знать:**

- развитие, строение, функционирование и роль органов (первичных и вторичных), клеток (моноцитов и других макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, Т- и В-лимфоцитов), регуляторных молекул иммунной системы – цитокинов;

- характер взаимодействия клеток и роль белков главного комплекса гистосовместимости в развитии иммунных ответов, механизмы возникновения гиперчувствительности немедленного и замедленного типов;

- механизм возникновения и реализации иммунной памяти как основы активных форм приобретенного иммунитета к инфекционным болезням, функционирование конститутивных защитных факторов как основы врожденного (видового) иммунитета;

- общие свойства молекул, обладающих антигенными свойствами, химическую структуру и классификацию иммуноглобулинов, генетические основы формирования их специфичности по отношению к антигенам;

- принципы получения поли- и моноклональных антител и постановки реакций с ними;

уметь:

- объяснять роль и значение иммунной системы человека;
- использовать полученные в рамках учебной дисциплины знания в научно-исследовательской работе;
- осуществлять ориентировочную и развернутые реакции агглютинации и преципитации, определять фагоцитарное число и фагоцитарный индекс;

владеть:

- принятой в иммунологии терминологией.

Поскольку материал курса включает сведения об особенностях развития, строения и функционирования органов, клеток и молекул, то он базируется на знаниях, полученных студентами при изучении таких дисциплин, как «Биохимия», «Цитология и гистология», «Генетика», «Анатомия человека», «Физиология человека и животных».

Дисциплина «Основы иммунологии» изучается студентами III курса дневной формы обучения и IV-V курсов заочной формы обучения специальности 1-31 01 01-02 «Биология (научно-педагогическая деятельность)».

Общее количество часов – 106;

- аудиторное количество часов для дневной формы обучения (III курс 6 семестр) – 46, из них: лекции – 32, лабораторные занятия – 10, контролируемая самостоятельная работа – 4. Форма отчётности – экзамен в 6 семестре.

- аудиторное количество часов для заочной формы обучения (IV курс 7 семестр, V курс 8 семестр) – 12, из них: лекции – 8, лабораторные занятия – 4. Форма отчётности – экзамен в 8 семестре.

Лекция 1

Введение

История формирования представлений об инфекционных заболеваниях и невосприимчивости к ним. Работы Эдварда Дженнера по оспопрививанию. Исследования Луи Пастера и Роберта Коха как основа для формирования научного представления о характере резистентности млекопитающих к инфекционным болезням. Создание теорий гуморального (Пауль Эрлих) и клеточного (Илья Мечников) иммунитета. Формирование представлений о характере ответов иммунной системы на антигены различного происхождения.

Развитие иммунологии в 20 веке:

- открытие групп крови человека (К. Ландштейнер), изучение явления гиперчувствительности (Рише) и системы комплемента (Ж. Борде);
- формирование представлений об иммунотолерантности (Ф. Бернет, П. Медавар) и гистосовместимости (Дж. Снелл, Ж. Доссе, Б. Бенацерафф);
- изучение молекулярной структуры иммуноглобулинов (Р. Портер, Дж. Эдельман) и выяснение генетических механизмов формирования их разнообразия (С. Тонегава), определение роли поверхностных молекул лимфоцитов в развитии иммунных ответов (Р. Цинкернагель, П. Догерти).

Предмет и задачи современной иммунологии, ее место в биологии и медицине, значение иммунологических исследований для развития естественных наук.

1. Предмет, задачи и методы иммунологии

Латинское слово «*immunitas*» означает «освобождение от обязанностей, неприкосновенность». Медицинское содержание термина было закреплено во французском словаре 1869 года издания и означает «освобождение от болезни». Иммунитет – особое биологическое свойство многоклеточных организмов, в норме предназначенное для защиты от инфекций и иных внешних патогенов, способных при попадании во внутреннюю среду вступать в прочные связи с клетками и/или межклеточным пространством. Иммунология возникла как наука об иммунитете, структуре и функциях иммунной системы.

В настоящее время наиболее приемлемым является определение: иммунология – наука об иммунитете, изучающая молекулярные и клеточные механизмы реагирования организма на генетически

чужеродные субстанции экзо- или эндогенной природы, именуемые антигенами.

Антигены – это бактерии, вирусы, мутировавшие клетки тела, тканевые и органные трансплантаты, химические соединения, приобретающие иммуногенные свойства в определенных условиях. Механизмы защиты направлены на сохранение и поддержание гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма, биологической индивидуальности и видовой принадлежности.

Задачами иммунологии в современных условиях являются:

- разработка средств и методов диагностики и специфической защиты человека и животных от инфекционных болезней;
- поиск путей стимуляции иммунитета против синтетических антигенов, полученных методами биотехнологии, а также против искусственных и природных токсинов и аллергенов;
- изыскание путей оценки состояния иммунной системы, методов и средств поддержания ее нормального функционирования у человека и животных;
- изучение болезней иммунной системы,
- разработка методов коррекции иммунитета с помощью различных иммуномодуляторов;
- изучение трансплантационного иммунитета,
- разработка средств диагностики, лечения и профилактики онкологических заболеваний;
- предупреждение и лечение аллергий.

Иммунология самостоятельная медико-биологическая наука, которая находится в тесной связи с такими биологическими дисциплинами как: молекулярной биологией, генетикой, цитологией, физиологией, эволюционным учением. В своих исследованиях иммунология пользуется как физическими биохимическими и гистологическими методами, а также собственными специфическими методами.

Общая иммунология изучает клеточные и молекулярные основы иммунных реакций, их регуляцию, генетический контроль, а также роль иммунных механизмов в процессах индивидуального развития.

Частная иммунология носит прикладной характер и включает следующие направления:

1. Клиническая иммунология (иммунопатология) – занимается диагностикой и лечением больных с заболеваниями, развивающимися в результате нарушения иммунных механизмов.

2. Инфекционная иммунология – изучает иммунный ответ при инфекционных болезнях человека и животных и разрабатывает методы специфической профилактики, диагностики и лечения.

3. Неинфекционная иммунология – изучает иммунный ответ на антигены, не связанные с возбудителями инфекционных и инвазионных болезней, например, опухолевые антигены и т.д.

4. Радиационная иммунология – изучает иммунный ответ под действием ионизирующих излучений и разрабатывает методы использования этого действия в клинической практике.

5. Иммунология эмбриогенеза или иммунология репродукции – изучает процессы развития антигенной структуры тканей и органов в ходе эмбрионального развития.

6. Иммунохимия – изучает химические основы иммунного ответа.

7. Трансплантационная иммунология изучает иммунную несовместимость тканей, отторжение трансплантатов, условия и способы преодоления несовместимости.

8. Иммуногенетика изучает поведение антигенов и роль генетических механизмов в осуществлении иммунных реакций.

2. История и этапы развития иммунологии как науки.

С доисторических времен людям было известно, что если человек переболел какой-либо повальной болезнью, повторно он не ей не заболит. Из таких людей формировали отряды для оказания помощи больным и захоронения умерших. Стараясь обезопасить себя от оспы, в Китае за тысячу лет до Рождества Христова делали первые прививки от оспы: вкладывали в носовую полость высушенные оспенные струппы. Индейцы втирали порошок из них в надрезы кожи, надеясь перенести легкую форму инфекции. Инокуляция (прививка, введение – лат.) содержимого оспенных пустул здоровым людям с целью их защиты от острой формы заболевания распространилась затем в Индию, Малую Азию, Европу, на Кавказ.

В 1546 году в Европе вышла книга итальянского врача Джироламо Фракасторо под названием «Зараза», в которой он развивает теорию приобретенного иммунитета, выдвинутую еще в XI веке Авиценной. Авиценна и Фракасторо полагали, что все болезни вызываются мелкими «семенами», переносимыми от человека к человеку. Разные «семена заразы» имеют различное сродство к разным растениям и животным, а внутри организма – к различным органам и жидкостям тела.

Попытки использования вариоляция (прививание от оспы) известны с XVIII века, например в 1722 году принц и принцесса Уэльские привили оспу двум своим дочерям. В Лондоне в 1746 году был открыт специальный госпиталь Святого Панкраса, в котором всем желающим прививали оспу. Во время эпидемии оспы в Австрии, когда заболели императрица Мария Терезия и члены ее двора, Екатерине II и ее сыну Павлу 12 октября 1768 года было произведено оспопрививание с благоприятным исходом. Однако искусственное заражение натуральной (человеческой) оспой зачастую переходило в острую форму заболевания и заканчивалось смертью.

Прародителем иммунологии считают Эдварда Дженнера (1749-1823), выдающегося английского врача, который эмпирически открыл способ предохранения людей от «черной» оспы», эпидемии от которой в Европе в XVIII веке ежегодно погибало полумиллиона человек. Дженнер обратил внимание на тот факт, что молочницы, ухаживавшие за больными животными, заболели в крайне слабой форме оспой коров, но при этом никогда не болели натуральной оспой. В 1796 году Эдвард Дженнер успешно опробовал метод прививания людей коровьей оспой на 8-летнем мальчике, а затем еще на 23 людях. В 1798 году Дженнер опубликовал результаты своих исследований и стал родоначальником оспопрививания лимфой, содержащей вирус коровьей оспы. Спустя 100 лет Луи Пастер, отмечая заслуги Дженнера¹, предложил называть профилактические препараты вакцинами (от лат. «*vacca*» - корова).

Несмотря на большой практический вклад Эдварда Дженнера в борьбу с оспой, его исследования носили частный характер и не объясняли смысл происходящих в организме иммунологических процессов. Зарождение инфекционной иммунологии связывают с именем выдающегося французского ученого Луи Пастера (1822-1895), основоположника научной микробиологии и иммунологии. Первый шаг к целенаправленному поиску вакцинных препаратов, создающих устойчивый иммунитет к инфекции, был сделан после наблюдения Пастера над патогенностью возбудителя куриной холеры в 1879 году. Одна из пробирок с возбудителем была забыта в термостате перед уходом сотрудников института на летний отдых. По возвращению из отпуска Пастер возобновил опыты с куриной холерой. Каково же было его удивление, когда ни одна из птиц, зараженных состарившейся

¹ – В 1803 году в Лондоне основано Королевское дженнеровское общество и институт. В Лондоне и французской Булони ученому поставлены памятники. В 1978 году ВОЗ провозгласила полная ликвидация оспы на Земле.

культурой, не заболела. Более того, введение таким птицам свежеприготовленного возбудителя также не вызывало инфекционного процесса. Из этого простого наблюдения Пастер делает вывод: состарившаяся культура, потеряв свою патогенность, остается способной к созданию устойчивости к инфекции. В 1880 году состоялась публикации статьи по защите кур от холеры, которая вошла в историю науки как год рождения экспериментальной иммунологии. В 1881 году Пастер проводит публичный эксперимент по прививке 27 овцам сибиреязвенной вакцины, а в 1885 г. успешно испытывает вакцину от бешенства на мальчике, укушенном бешеной собакой. Эти события знаменуют собой зарождение инфекционной иммунологии и начало эры вакцинации. Великие открытия Пастера были оценены общественностью, научным миром и многими государствами, на средства которых в 1888 году в Париже организован Пастеровский институт для вакцинации против бешенства, изучения инфекционных болезней и подготовки специалистов-микробиологов.

Развитие иммунологии в России связан с работами Владимира Аароновича Хавкина (1860-1930), который работал в Пастеровском институте, в 1893 году работал в Индии, где использовал в борьбе с холерой и чумой созданные им убитые вакцины, организовал в Бомбее противочумную лабораторию. Савченко Иван Григорьевич (1862-1932) вместе И. Мечниковым работал в Пастеровском институте. В 1883 году в опытах на себе показал, что пероральное (через рот) введение ослабленной культуры холерного вибриона предохраняет человека от заболевания холерой, чем положил начало энтеровакцинации. Ценковский Лев Семенович (1822-1887) создал живую ослабленную сибиреязвенную вакцину.

В Европе работы немецкого врача Эмиля фон Беринга (1854-1917) и Сибасабуро Китазато положили начало изучению механизмов гуморального иммунитета (*humor*-жидкость), которые показали, что сыворотка, от мышей предварительно иммунизированных столбнячным токсином и введенная интактным животным, защищает последних от смертельной дозы токсина. Образовавшийся в результате иммунизации сывороточный фактор – антитоксин – представлял собой первое обнаруженное специфическое *антитело*. На основе этих открытий был разработан метод лечения кровяной сывороткой. В 1902 году Эмилю фон Берингу присуждена первая Нобелевская премия по физиологии и медицине «за работу по сывороточной терапии при лечении дифтерии, которое открыло новые пути в медицинской науке и дало в руки врачей победоносное оружие против болезни и смерти».

В 1905 году Нобелевская премия присуждается Роберту Коху (1843-1910) за исследования и открытия, связанные с туберкулезом. Немецкий микробиолог открыл возбудителя туберкулеза, разработал способы изготовления туберкулина и иммунодиагностики с помощью туберкулинового теста. «Феномен Коха» состоит в утолщении кожной складки на месте введения туберкулина возбудителем туберкулеза.

У истоков познания вопросов клеточного иммунитета стоял русский биолог-эволюционист Илья Мечников (1845-1916). В 1883 году он сделал первое сообщение по фагоцитарной теории иммунитета на съезде врачей и естествоиспытателей в Одессе. Мечников утверждал, что способность подвижных клеток беспозвоночных животных поглощать пищевые частицы, т.е. участвовать в пищеварении, является способностью поглощать любые «чужеродные», т.е. не свойственное организму объекты. Эволюция сохранила поглотительную способность амeboидных клеток одноклеточных животных у высших позвоночных и человека, однако, функция этих клеток у высокоорганизованных многоклеточных связана с борьбой против микробной агрессии. В 1888 году Пастер пригласил Мечникова возглавить его иммунологическую лабораторию в Париже, где все последующие годы ученый работал и исследовал роль и значение фагоцитов в иммунитете.

Параллельно с Мечниковым теорию иммунной защиты от инфекции разрабатывал немецкий фармаколог Пауль Эрлих (1854-1915). Он знал о том факте, что в сыворотке крови животных, зараженных бактериями, появляются белковые вещества, способные убивать патогенные микроорганизмы. Эти вещества впоследствии были названы им «антитела». Характерное свойство антител – это их выраженная специфичность, т.е. способность действовать против одного микроорганизма, они нейтрализуют и разрушают только его, оставаясь безразличными к другим. Пытаясь понять это явление специфичности, Эрлих выдвинул теорию «боковых цепей», по которой антиген микроорганизмов выступает в качестве рецептора, а антитело – это вещество, способное взаимодействовать с этим рецептором.

В 1908 году Илья Мечников и Пауль Эрлих получили Нобелевскую премию за открытия клеточного и гуморального иммунитета. С 1908 года в Германии и Франции стали выходить научные журналы, публикующие статьи по иммунологии, с 1916 года в США выходит *American Journal of Immunology*. В 1913 году была организована Американская ассоциация иммунологов *American Association of Immunologists*

В 1913 году Шарль Рише получил Нобелевскую премию за исследования в области анафилаксии. Ученый открыл новое весьма неожиданное направление в медицине, показав, что защитные механизмы иммунитета могут вызывать развитие болезни.

В 1930 году австрийский врач-иммунолог Карл Ландштейнер был удостоен Нобелевской премии за открытие у человека групп крови (в 1900 году). В 1940 году открыт резус фактор крови Rh, что послужило началом широкого применения переливания крови у людей. Эти открытия дали начало неинфекционной иммунологии.

В 1951 г. Нобелевскую премию получил Макс Тейлер за разработку вакцины против желтой лихорадки. Южно-африканский микробиолог доказал, что возбудителем этого заболевания является вирус. Описанный им тест защиты мышей стал важным инструментом в эпидемиологических исследованиях желтой лихорадки. М. Тейлеру удалось получить штаммы вируса желтой лихорадки на культурах тканей куриных эмбрионов, которые сохраняли иммуногенность, но теряли патогенность.

В 1957 г. Нобелевская премия присуждается Даниэль Бове за разработку антигистаминных препаратов для лечения аллергии. Итальянский фармаколог установил, что при анафилаксии организм выделяет гистамин, серотонин и другие биологически активные вещества. Ученый разработал препараты, обладающие действием против гистамина и эффективные при лечении астмы и сенной лихорадки.

В 40-50-е года XX века иммунология вступили в молекулярно-генетический этап развития, который связан с именем австралийского вирусолога Фрэнка Макфарлейна Бернета (1899-1985), автора клонально-селективной теории иммунитета: «один клон лимфоцитов способен реагировать только на одну конкретную, антигенную, специфическую детерминанту», Нобелевская премия 1960 года. Бернет указал на особую роль тимуса в формировании иммунного ответа. Позднее в работах Джеймса Гованса была показана роль лимфоцитов на крысах, хронический дренаж грудного лимфатического протока, который физически «вынимает» лимфоциты из организма, приводит к утрате способности животных к развитию иммунного ответа.

Из исследований трансплантационного иммунитета появилось учение об иммунологической толерантности. Толерантность открыли в 1953 году независимо П. Медавар и М. Гашек. Иммунологическая толерантность – это распознавание «чужого» и специфическая

терпимость к нему, тогда как иммунитет – распознавание «чужого» и нетерпимость к нему.

Изучение иммуноглобулинов началось с работы по электрофорезу белков крови Арне Тизелиуса 1937 года. Затем в течение 40х–60х гг. были открыты классы и изотипы иммуноглобулинов, а в 1962 году Родни Портер предложил модель универсальной структуры молекул иммуноглобулинов всех изотипов. В 1972 г. Родни Портер и Джералд Эдельман был удостоен Нобелевской премии за исследования химической структуры антител. Ученые доказали, что молекула иммуноглобулина состоит из двух легких и двух тяжелых цепей.

В 1980 году американский генетик и иммунолог Джордж Снелл в опытах на мышах открыл главный комплекс гистосовместимости и закон трансплантации, за что получил Нобелевскую премию. В 1984 г. Нобелевская премия присуждена английскому иммунологу Нильсу Йерне, Георгу Келлеру (Германия) и Цезарю Мильштейну (Великобритания) за разработку способа получения моноклональных антител и обоснование сетевой регуляции иммунитета. В 1987 г. Сузуму Тонегаву (Япония) получил Нобелевскую премию за открытие генетической основы разнообразия антител. В 1996 г. Питер Догерти (США) и Рольф Цинкернагель (Швейцария) удостоены Нобелевской премии за открытие явления двойного распознавания. В 1997 Стенли Прусинер (США) за открытие прионов, нового биологического принципа инфекции, непохожих на ранее известные в медицине. К ним относят возбудителей губчатого энцефалита – бешенства коров, заразного и для человека, всколыхнувшего Европу в 1996-1997 годах.

В 2011 году Нобелевскую премию в области физиологии и медицины получили французский иммунолог Жюль Хоффманн и Ральф Стейнман (США) за работу «по исследованию активации врожденного иммунитета и за открытие дендритных клеток и изучение их значения для приобретённого иммунитета». Это открытие позволило объяснить, как связаны врожденный и адаптивный иммунитеты.

В XXI веке основными задачами иммунологии стало изучение молекулярных механизмов врождённого и приобретённого иммунитета, разработка новых вакцин, методов лечения аллергии, онкологических заболеваний и иммунодефицитов.

3. Значение иммунологических исследований.

Изучение структуры и закономерностей образования антител раскрыло тайну их бесконечного разнообразия и привело к созданию технологий, позволяющих получать моноклональные антитела любой специфичности. Одним из достижений иммунологии является

разработка принципиально новых методов диагностики: на стыке биохимии и иммунологии – иммуноферментного анализа (ИФА), радиологии и иммунологии – радиоиммунного анализа (РИА). Важным открытием иммунологии стало выделение в иммунной системе двух независимых, но совместно функционирующих систем лимфоцитов – Т-лимфоцитов (тимусзависимых) и В-лимфоцитов (бурсазависимых). В мировой иммунологии используется клонально-селекционная теория Ф. Бёрнета (1964), которая наиболее полно объясняет основные феномены иммунитета. Теория селекции клонов исходит из четырех основных предположений:

1. Обширность популяции лимфоидных клеток в организме – до 10^{12} , родоначальником всех клеточных форм является ретикулярная клетка. Большинство клеток в лимфоидной ткани клетками и их производными. Они объединяются под общим названием «бласты».

2. Гетерогенность популяции лимфоидных клеток, объясняется мутационным процессом, идущим в соматических клетках, составляющих данную популяцию. Поскольку лимфоидная ткань характеризуется постоянно происходящим делением клеток, вся популяция состоит из большого числа клеточных клонов. Клон – это популяция организмов, происходящая от одного предшественника путем размножения, исключая обмен генетическим материалом. В результате мутаций в большой популяции накапливаются варианты разных специфичностей (в организмах человека и животных находятся клоны против 10000 антигенов).

3. Малое количество антигена стимулирует клетку преадаптированного клона к размножению и дифференцировку в сторону клеток – продуцентов антител. Данный клон активно пролиферирует, в течение нескольких дней накапливается большое число продуцентов антител, и антитела появляются в крови.

4. Большое количество антигена убивает преадаптированные иммунокомпетентные клетки, элиминирует соответствующий клон. Эта предпосылка является основой для распознавания «своего». В процессе эмбрионального развития, когда появляется большое количество вариантов иммунокомпетентных клеток – родоначальниц будущих клонов; возникают и клетки, способные реагировать против собственных антигенов. Однако, контактируя с избытком антигенов собственного тела, они погибают. Этим свойством обусловлена и иммунологическая толерантность.

Лекция 2

Иммунная система млекопитающих

1. Центральные и периферические органы иммунной системы.

Лимфоидную и кроветворную системы объединяют в единый лимфо-миелоидный комплекс, куда входят: костный мозг, тимус, селезенка, лимфатические узлы, лимфоидные образования пищеварительного тракта, соединительная ткань. Функциональное назначение комплекса – обеспечение кроветворения (миелопоэза) и формирование клеток иммунной системы (лимфопоэза). Среди органов и тканей комплекса имеются лимфоидные образования, в которых происходит только лимфопоэз (тимус, лимфатические узлы, лимфоидная ткань кишечника) и «смешанные» образования, где представлен как лимфо-, так и миелопоэз (костный мозг, селезенка).

Лимфоциты происходят от стволовых клеток костного мозга и дифференцируются в центральных лимфоидных органах: В-лимфоциты периферические органы – в костном мозге, Т-лимфоциты – в тимусе. Из этих органов они мигрируют по кровеносному руслу в периферическую лимфоидную ткань – лимфатические узлы, селезенку и лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником (пейеровы бляшки, аппендикс, миндалины). Это движение лимфоцитов от центральных органов иммунной системы на периферию является главным миграционным путем. Кроме того, имеется путь рециркуляции, через лимфатические сосуды, которые собирают внеклеточную жидкость (лимфу) вместе с лимфоцитами и переносят ее в лимфатические узлы, из которых лимфоциты попадают в грудной проток и возвращаются в общий кровоток через левую подключичную вену.

Сроки закладки органов иммунной системы: 4-5 неделя эмбриогенеза – костный мозг и тимус, 5-6 лимфоузлы, селезенка, центры размножения в лимфоидных узелках появляются после рождения. Развитие клеточных элементов костного мозга начинается от полипотентной стволовой кроветворной клетки (СКК), которая дает начало 6 росткам: эритроидному, мегакарио-, гранулоцитарному, моноцитарно-макрофагальному, Т- и В-клеточному.

Органы иммуногенеза делятся на центральные, периферические, «забарьерные», куда запрещен доступ иммунокомпетентным клеткам (например, ЦНС, семенники, плод) и внутрибарьерные (кожа).

Центральные органы:

а) вилочковая железа (тимус), обеспечивает созревание и дифференцировку Т-лимфоцитов

б) красный костный мозг, продуцирует ИКК из стволовой полипотентной клетки.

Особенности центральных органов – инволюция с возрастом, лимфоцитопоз не зависит от антигенных стимулов, удаление органов ведет к значительным дефектам в реакциях иммунного ответа.

К периферическим органам относятся селезенка, лимфатические узлы, миндалины и скопления лимфоидной ткани, локализованной в полых органах ЖКТ (пейеровы бляшки, аппендикс), дыхательной и мочеполовой систем. Периферические органы сохраняются на протяжении всей жизни, лимфоцитопоз является антигензависимым, удаление вызывает не столь значительные изменения.

2. Центральные органы иммуногенеза.

Костный мозг (*medulla ossea rubra*) локализован во внутренней полости трубчатых костей и представляет собой тканевое объединение ретикулярной стромы, плотно упакованных гемопоэтических и лимфоидных клеток, а также разветвленной сети капилляров. Костный мозг оценивается как первичный орган иммунной системы, поскольку является источником В-клеток для вторичных лимфоидных образований периферии – в основном для селезенки и в меньшей степени для лимфатических узлов.

Вилочковая железа (*thymus*) – орган, расположенный в грудной полости за грудиной над сердцем, где происходят события, связанные с дифференцировкой субпопуляций. Тимус состоит из двух долей, которые делятся на более мелкие дольки. Орган заключен в капсулу, внутренняя полость которой включает эпителиальную сеть, заполненную лимфоцитами. В каждой дольке выявляются два слоя: кора и мозговое вещество (медуллярный слой). Особенность тимуса состоит в наличии двух структурно-гистологических единиц – фолликулов Кларка и телец Гассалья. Из фолликулов Кларка построен корковый слой, а тельца Гассалья – медуллярную зону с округлыми скоплениями эпителиальных клеток, продуцирующих гормон тимуса – тимозин.

В тимусе происходит продукция ряда биологически активных факторов:

– тимозин, индуцирует экспрессию Т-клеточных рецепторов, восстанавливает иммунологическую компетентность;

- тимопоэтин-2 – усиливает экспрессию Т-клеточных антигенов на мембранах клеток костного мозга, увеличивает содержание цАМФ в лимфоцитах;
- убикивин – индуцирует экспрессию антигенов на Т- и В-лимфоцитах, лимфоцитов и лейкоцитоз, синтез антител;
- лимфоцитоз-стимулирующие факторы, которые индуцируют лимфоцитоз и синтез антител;
- гомеостатический тимический гормон, являющийся антагонистом АКТГ и синергистом соматотропного гормона;
- тимический гипокальциемический фактор, вызывающий гипокальциемию, сопровождающуюся лимфоцитозом.

3. Периферические органы иммуногенеза.

Селезенка обеспечивает формирование гуморального иммунного ответа в виде продукции специфических иммуноглобулинов. Селезенка покрыта капсулой, от которой внутрь отходят трабекулы. Характерной чертой строения селезенки является наличие двух гистологически участков красной и белой пульпы. Белая пульпа (мальпигиевы тельца) – скопление лимфоцитов вокруг артериального канала. Красная пульпа – место локализации клеток макрофагов, эритро-, мегакарио-, грануло-, лимфоцитов. Белая пульпа и пограничная область между белой и красной пульпой заселяются Т- и В-лимфоцитами, мигрирующими из центральных органов иммунной системы. Они распределяются по двум зонам: тимусзависимой, где накапливаются Т-лимфоциты и тимуснезависимой, накапливающей В-лимфоциты. В этой зоне хорошо различимы фолликулы с центрами размножения, которые образуются в ответ на антигенный стимул. Четких границ между белой и красной пульпой нет, и между ними происходит частичный клеточный обмен.

Лимфоцитами красной пульпы являются Т-клетки, покидающие селезенку через венозные синусы. Плазмциты этой зоны представляют собой те завершившие дифференцировку В-клетки, которые вышли из зародышевых центров. В пренатальный период селезенка работает как лимфо-эпителиальный орган с хорошо выраженным эритропоэзом. В постнатальный период эритро- и миелопоэтические процессы в селезенке млекопитающих постепенно затухают. Важнейшая функция селезенки – удаление и деструкция старых и поврежденных эритро-, тромбоцитов, дифференцировка лимфоцитов, образование антителосинтезирующих клеток, выработка тафтсита. Селезенка в большей мере вовлекается в иммунный ответ при внутривенном введении антигена, при интоксикации, бактериемии.

Лимфатические узлы выполняют неспецифическую барьерную функцию – элиминацию микробов из лимфы, они являются местом развития клеточного и гуморального иммунного ответа. Наружный слой мезенхимы дифференцируется в соединительнотканную капсулу, от которой внутрь узла отходят трабекулы-перегородки. Непосредственно под капсулой находится краевой синус, куда поступает лимфа по афферентным (приносящим) лимфатическим сосудам. Из краевого синуса лимфа поступает в промежуточные синусы, пронизывающие всю толщу узла, и собирается в эфферентном (выносящем) лимфатическом сосуде, который выносит ее в грудной проток.

В лимфоузле различают корковый слой – первичные и вторичные фолликулы, и мозговое вещество. Корковый слой узла В-зона – место концентрации В-клеток (тимуснезависимая зона). Мозговое вещество представлено лимфоцитами, плазмочитами, свободными макрофагами и ретикулярными клетками стромы. Область между корой и мозговым веществом (паракортикальная территория) – место концентрации Т-клеток (тимусзависимая зона). Т-лимфоциты этой зоны являются зрелыми клетками с выраженной способностью к киллерной функции. В процессе иммунного ответа в корковом слое появляются вторичные фолликулы – центры размножения, место формирования эффекторных иммунокомпетентных В-клеток. На долю Т-клеток приходится 65%, а на долю В-клеток – около 28% от общего количества всех лимфоцитов узла.

Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми покровами – это периферические не заключенную в соединительнотканную капсулу клетки иммунной системы, которые локализуется в стенках желудочно-кишечного, респираторного и уrogenитального трактов. Ее обозначают как лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистыми покровами. Ткань представлена либо в виде диффузной инфильтрации, либо в форме узелковых скоплений. В тонкой кишке эти узелки называются пейеровые бляшки. Близки по строению и функции миндалина, расположенные вдоль дыхательного тракта. Купферовские клетки-макрофаги печени очищают кровь от токсинов, захватывают и удаляют иммунные комплексы, осуществляют фагоцитоз. В слизистой оболочке червеобразного отростка также имеются лимфоидные элементы.

4. Клеточный уровень организации иммунного ответа.

Иммунная система состоит из разных компонентов, но выступает как единое целое, которое определяет клеточный и гуморальный гомеостаз. Основной рабочий орган иммунной системы – это лейкоцит, а специфическая реакция иммунной системы выработка лимфоцитов.

Лимфоциты важнейшие клетки иммунной системы. Вместе моноцитами, макрофагами, нейтрофилами, базофилами, эозинофилами, тучными, эпителиальными клетками и фибробластами они формируют Клеточный уровень организации иммунного ответа.

Формирование ИКК начинается в костном мозге, где из полипотентной стволовой клетки формируются все циркулирующие в крови форменные элементы, в том числе лейкоциты. В норме в периферической крови взрослого человека число лейкоцитов колеблется от $4,90 \pm 0,26$ до $6,53 \pm 0,25 \cdot 10^9$ /л. В крови циркулирует 5 типов лейкоцитов, которые с позиции иммунологии можно разделить на: фагоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы и моноциты) и иммунциты (лимфоциты). Морфологически лейкоциты разделяются на полиморфноядерные лейкоциты (нейтрофилы, эозинофилы и базофилы) и мононуклеары (лимфоциты и моноциты). Особенность полиморфноядерных лейкоцитов – наличие в цитоплазме нескольких гранул, почему они и получили название «гранулоциты».

В отличие от эритроцитов и тромбоцитов полиморфноядерные лейкоциты в крови – временные представители, ибо их главная функция – фагоцитоз – осуществляется в тканях. Группу фагоцитов составляют макрофаги (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) и мононуклеарные фагоциты (моноциты, макрофаги). В костном мозге гранулопоэз осуществляется в виде колоний, из групп клеток, включающих 50 и более гранулоцитов и макрофагов. Процесс созревания лейкоцитов осуществляется в митотической лакуне в течение 5-10 дней и в зрелой постмитотической лакуне 3-5 дней. Созревшие фагоциты из костного мозга поступают в кровоток, где находятся только несколько часов, а дальше поступают в ткани и там функционируют несколько дней. Нейтрофилы в связи с непродолжительностью жизни называют «камикадзе», ибо они быстро покидают и костный мозг, и кровь. Моноциты из кровотока поступают в ткани, где дифференцируются на различные виды макрофагов. Лимфоциты первоначально образуются в костном мозге, откуда поступают в кровь. В отличие от фагоцитов они живут дольше и могут циркулировать многократно между лимфатической системой и кровотоком. Нейтрофилы, базофилы и эозинофилы играют определенную роль в фагоцитозе условно-патогенных бактерий, развитии аллергий. Активированной формой базофилов являются т.н. тучные клетки, их также называют тканевыми базофилами. Они принимают участие в иммунном ответе аллергического характера. Зрелые нейтрофилы имеют сегментарное ядро с 2-5 долями, в их цитоплазме содержится несколько сот гранул,

включающих и себя в основном ферменты лизоцим (мурамидаза) и лактоферин. В цитоплазме несколько больших азурофильных гранул, содержащих пероксидазу, лизоцим, кислые гидролазы.

В норме и периферической крови взрослого человека на долю нейтрофилов приходится 57-80% от общего количества лейкоцитов (1-5% палочки 45-75% – сегменты). Количество увеличивается при гнойной инфекции, так как они принимают участие в уничтожении многих гноеродных бактерий, в частности кокков; их число снижается (нейтропения, агранулоцитоз) при некоторых вирусных заболеваниях, действии токсических веществ, в том числе некоторых лекарственных средств, на гранулопоэз. Поступившие из костного мозга нейтрофилы в крови находятся около 6 часов, после чего переходят в ткани, где функционируют 3-5 дней

Эозинофилы обладают меньшей фагоцитарной активностью, менее подвижны. В периферической крови содержится не более 1% всей популяции эозинофилов, живут они в кровотоке не более 10 часов, после чего поступают в ткани и осуществляют там свои защитные функции в течение 1-2 дней, затем погибают. Регулирует сосудисто-инфильтративную фазу воспаления через контроль выделения гистамина базофилами и тучными клетками. Эозинофилы нейтрализуют избыточно выброшенный гистамин. Иными словами, эозинофилы – регуляторы функции базофилов и тучных клеток. Эозинофилия как защитная реакция, сформировавшаяся против гельминтов, развивается в основном в ответ на крупные антигены, размеров, не подлежащих фагоцитозу.

Базофилы. В крови человека на долю базофилов приходится около 0,5 % всей популяции лейкоцитов. Из костного мозга созревшие базофилы поступают в кровоток, затем в ткани, где их функция сводится к выделению биологически активных веществ гистамина, серотонина, тетрапептидов и др. Гистамин составляет почти 10% массы гранул базофила и, освобождаясь при дегрануляции базофила, обуславливает расширение кровеносных сосудов, чем способствует миграции клеток в очаг повреждения. Гистамин и тетрапептиды стимулируют уничтожение паразита эозинофилами и нейтрофилами при участии комплемента.

Моноцитарно-макрофагальная система (СМФ) – моноциты, макрофаги, эпителиальные клетки, многоядерными гигантскими клетками. Макрофаг обладает фагоцитарной активностью и подвижностью в тканях. Моноциты являются предшественниками тканевых макрофагов. Дифференцировка идет по стадиям: монобласт –

промоноцит – моноцит крови – тканевой макрофаг. Образуются моноциты в костном мозге, после чего поступают в кровь, но быстро покидают ее и в тканях под названием макрофаги выполняют свою эффекторную функцию. Макрофаги — своеобразные «мусорщики», они участвуют в формировании фагоцитарной реакции, гуморального иммунитета. Главная функция макрофагов – «презентация» антигенов.

Основные функции клеток СМФ включают:

а) синтез биологически активных веществ, регулирующих образование других иммунокомпетентных клеток;

б) защита от чужеродных веществ путем киллинга и переваривания;

в) роль клеток-«мусорщиков», убивающих и разрушающих собственные поврежденные, дефектные, состарившиеся клетки;

г) киллинг и переваривание собственных клеток, несущих на себе генетически чужеродную информацию (опухолевые клетки и другие мутанты);

д) участие в двухсторонних клеточных регуляторных взаимодействиях с лимфоцитами и представление им чужеродных антигенов.

Лимфоциты – в периферической крови $1-4 \cdot 10^9$ /л лимфоцитов, все лимфоциты делятся на популяции Т-клеток, В-клеток и 0 (нулевых) клеток. Т-лимфоциты содержат кислую фосфатазу, нет гликогена, долгоживущие, радиоустойчивы. Клетки являются основными участниками клеточной формы иммунного ответа. Т-лимфоциты разрушают чужеродные клетки при непосредственном контакте с клеточной формой. Распознавание чужеродных клеток осуществляется антиген распознающими клеточными рецепторами (ТКР), которые экспрессируются на поверхности Т-лимфоцитов. Помимо основной, цитотоксической функции, рассматриваемый тип клеток осуществляет регуляторное воздействие на гуморальный и клеточный иммунный ответ. Самые начальные этапы дифференцировки Т-лимфоцитов осуществляются в костном мозге, когда из стволовой кроветворной клетки образуется наиболее ранний предшественник, мигрирующий в тимус. Здесь происходят события, приводящие к формированию субпопуляций Т-клеток: цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), Т-хелперов и Т-супрессоров.

Методом клональных антител ИКК дифференцируют по качественному составу антигенов на мембранах этих клеток. Выделен ряд дифференцировочных антигенов – CD-маркеры, CD4-антиген (1979-81 гг.) дифференцировочный антиген, выполняющих функции хелперов

и индукторов. ЦТЛ и Т-хелперы легко определяются не только функционально, но и по наличию специфических маркеров дифференцировки, или корцепторов. Существует еще субпопуляция естественных киллеров (НК) – большие гранулярные клетки, в гранулах содержится белок перфорин, способный проникать в мембрану клетки-мишени, образуя комплекс атакующий мембрану и вызывающий осмотический «взрыв» и лизис клетки.

В-лимфоциты – это клетки, содержащие щелочную фосфатазу, гликоген, они отличаются высокой радиочувствительностью. На клеточной оболочке имеется много иммуноглобулиновых рецепторов, которые по структуре представляют мономеры IgG. Основная эффекторная функция – участие в формировании гуморального иммунного ответа посредством активной продукции специфических иммуноглобулинов. Взаимодействие В-лимфоцита с антигеном приводит к его антигензависимой дифференцировке по двум направлениям – до активно продуцирующего антитела плазмочита и к формированию пула В-клеток памяти.

Нулевые клетки составляют 5-10% лейкоцитов периферической крови. Их число увеличивается при ряде заболеваний (например, при ревматоидном артрите). Среди нулевых клеток по функциональным характеристикам выделяют естественные киллеры (НК-клетки), эффекторы антителозависимой клеточной цитотоксичности (К-клетки). Повышение уровня нулевых клеток обычно является свидетельством снижения количества Т-лимфоцитов. Среди нулевых клеток К-клетки и НК-клетки осуществляют главнейшую функцию иммунной системы — сохранение генетического гомеостаза организма путем киллинга всех клеток, несущих генетическую чужеродность: мутантов (в основном опухолевые клетки), клеток, зараженных вирусом, или клеток трансплантата. НК-клетки оказывают цитотоксическое действие при первичном контакте с клеткой, генетически чужеродной клеткам организма. В гранулах цитоплазмы этих клеток содержится цитотоксический фактор натуральных киллеров (перфорин).

Плазмачиты высокоспециализированные клетки, функция которых синтез и секреция иммуноглобулинов. Фибробласты и эпителиоциты составляют микроокружение лимфоидных органов, участвуют в локализации микроорганизмов и воспалительных процессов, вырабатывают фибробластный интерферон.

5. Молекулярный уровень иммунного ответа.

В функции иммунной системы важнейшая роль принадлежит молекулам – иммуноглобулинам, цитокинам, антигенам и рецепторам. Цитокины – это низкомолекулярные гормоноподобные молекулы, продуцируемые активированными иммунокомпетентными клетками моноцитами и лимфоцитами, являются регуляторами межклеточных взаимодействий. К ним относятся интерлейкины, факторы роста, КОЕ (лимфопоэтины), хемотаксические факторы, фактор некроза опухолей.

Цитокины делятся на три группы:

1. Цитокины приобретенного иммунитета.
2. Цитокины, активирующие неспецифические эффекторные клетки воспаления (НЭКВ).
3. Цитокины природного иммунитета.

Все цитокины, обуславливающие приобретенный иммунитет, подразделяют на три группы:

- 1) регулируют активацию, рост и дифференцировку лимфоцитов;
- 2) активируют неспецифические клетки воспаления;
- 3) стимулируют гемопоэз.

Цитокины регулирующие активацию, рост и дифференцировку лимфоцитов: интерлейкин-2 (ИЛ-2), интерлейкин-4 (ИЛ-4), трансформирующий фактор роста β (ТРФ- β). ИЛ-2 вырабатывается Т-хелперами и Т-супрессорами при воздействии антигенов. Высокие концентрации ИЛ-2 ускоряют рост нормальных киллеров и усиливают их цитолитический эффект. ИЛ-2 активирует рост В-клеток и повышает синтез антител. ИЛ-4 продуцируется Т-хелперами, оказывает медиаторное действия, являясь фактором роста и дифференциации В-лимфоцитов (стимулирует образование IgG и IgM, а впоследствии IgE), является активатором и стимулятором различных субпопуляций Т-клеток в тимусе, фактором роста стволовых клеток, а в синергизме с ИЛ-3 – стимулятором их пролиферации, активатором макрофагов. ТРФ- β трансформирующий фактор роста является антагонистом целого ряда цитокинов, ингибирует рост клеток, подавляет процесс пролиферации Т-лимфоцитов и приостанавливает иммунный ответ при некоторых опухолях, тормозит активацию макрофагов, регулирует взаимодействие полиморфноядерных лейкоцитов при воспалительных процессах.

Цитокины, активирующие НЭКВ: γ -интерферон (γ -ИНФ), лимфотоксин и интерлейкин-5 (ИЛ-5). γ -ИНФ продуцируется Т-хелперами и супрессорами, является активатором мононуклеарных фагоцитов, стимулирует процесс переваривания поглощенных микробов и опухолевых клеток. Индуцирует экспрессию антигенов

МНС, способствует распознаванию чужеродных антигенов, созреванию и дифференциации Т- и В-лимфоцитов, стимулирует образования антител, активирует нейтрофилы, киллеры, эндотелиальные клетки. Лимфотоксин вырабатывается активированными Т-лимфоцитами, имеет сходство с фактором некроза опухолей и общие с ним рецепторы. Стимулирует лизис клеток-мишеней, активирует нейтрофилы и эндотелиальные клетки, повышает проницаемость капилляров. ИЛ-5 секретируется активированными Т-хелперами и стволовыми клетками. В синергизме с ИЛ-2 и ИЛ-4 стимулирует рост и дифференциацию В-клеток. Повышает синтез антител, обладает способностью активировать рост и дифференциацию эозинофилов и таким образом усиливает их гельминтоцидное действие.

Цитокины стимулирующие гемопоэз – интерлейкин ИЛ-3, ИЛ-7 и три КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный (ГМ), моноцитарно-макрофагальный (М) и гранулоцитарный (Г). ИЛ-3 продуцируется Т-клетками; ИЛ-7 – фибробластами и стромальными костномозговыми клетками; ГМ КСФ, М КСФ и Г КСФ – мононуклеарными фагоцитами, эндотелиальными клетками, фибробластами. ИЛ-3 и ГМ КСФ индуцируют рост и дифференциацию незрелых костномозговых клеток в разные типы клеток миелоидного.

В группу цитокинов природного иммунитета, кроме ИНФ I типа и фактора некроза опухолей, относят три интерлейкина – ИЛ-1, ИЛ-6 и семейство цитокинов воспаления ИЛ-8. Они секретируются при воздействии вирусов и бактерий, активированными мононуклеарными фагоцитами, фибробластами и эндотелиальными клетками, реже – Т-клетками. ИЛ-1 – неспецифический медиатор воспалительной реакции. Его выработка запускается продуктами распада бактериальных клеток и фактором некроза опухолей. ИЛ-6 продуцируется вслед за секрецией ИЛ-1 и фактора некроза опухолей. В его синтезе как посредники участвуют активированные Т-клетки. ИЛ-6 индуцирует выработку фибриногена, С-реактивного белка и других белков острой фазы воспаления, является активатором роста и дифференциации В-клеток, стимулятором Т-клеток. Совместно с другими цитокинами влияет на процессы роста и трансформацию стволовых клеток. ИЛ-8, или низкомолекулярные цитокины воспаления, продуцируются под воздействием бактериальных эндотоксинов и цитокинов, главным образом фактора некроза опухолей и ИЛ-1. Активируют нейтрофилы, в меньшей мере другие гранулярные лейкоциты, вызывает их хемотаксис в очаг воспаления. Точно такой же эффект оказывается некоторыми ИЛ-8 на моноциты.

Лекция 3

Общие свойства и классификация антигенов

1. Строение антигенов. Молекулярная структура антигенов.

Антигенами называются структурно чужеродные для организма вещества, способные вызывать иммунный ответ. Любые чужеродные клетки (ткани, органы) не собственного организма являются для его иммунной системы комплексом антигенов. Даже некоторые собственные «забарьерные ткани» (хрусталик глаза и др.) являются антигенами. В норме они не контактируют с внутренней средой организма. При попадании в организм антигены способны вызывать различные иммунологические реакции: образование иммуноглобулинов (антител), гиперчувствительность различного типа, инициировать образование клеток иммунной памяти, цитотоксических и плазматических клеток, состояние иммунологической толерантности и другие.



Рисунок 1 – Строение антигена

Химическая природа антигенов различна – это могут быть белки, полисахариды, липиды и нуклеиновые кислоты. Все антигены делятся на высокомолекулярные, индуцирующие образование антител и низкомолекулярные химические соединения, которые реагируют с антителами, но не обеспечивающие их образование. Последние

называются гаптены (греч. *hapto* – схватываю), отличаются отсутствием иммуногенности (неполные антитела). Наличие чужеродности при низкой молекулярной массе лишает гаптены иммуногенности. При этом комплекс гаптена с белком-носителем иммуногенен.

2. Виды антигенов.

Многочисленные виды антигенов условно подразделяют на экзогенные и эндогенные. Экзогенные – попадают в организм из внешней среды: инфекционные антигены бактерий, вирусов, грибов и паразитов (простейшие, гельминты). Все они могут быть аллергенами. Антигены разных видов микроорганизмов по структуре и составу резко отличаются друг от друга. Антигены бактерий делятся на: клеточные (связанные с клеткой), экстраклеточные (не связанные с клеткой). По специфичности антигены бактерий подразделяют на гомологичные – видо- и типоспецифические и гетерогенные – групповые, межвидовые. Группоспецифические – характерны для разных видов, обнаружены у эритроцитов человека и гноеродных кокков, энтеробактерий, вирусов оспы, гриппа и др. Например, гемолитические стрептококки группы А содержат антигены общие с антигенами эндокарда и клубочков почек человека. Подобная общность структуры у различных видов клеток получила название – антигенной мимикрии. В случаях антигенной мимикрии иммунная система человека утрачивает способность быстро распознавать чужеродную метку и вырабатывать иммунитет, в результате чего патогенные микробы некоторое время могут беспрепятственно размножаться в организме. Антигенной мимикрией пытаются обосновать длительное выживание патогенных микробов в организме больного, или персистенцию, резидентное (устойчивое) микробоносительство и поствакцинальные осложнения. Иммунизируя кролика водной вытяжкой из почек морской свинки, он вызвал образование в его сыворотке групповых АТ, реагирующих с эритроцитами барана.

Видоспецифические – внутривидовые, характерны для особей одного вида. Типоспецифические – характерны для внутривидовых популяций и являются определяющими для штаммов внутри одного вида. На внедрение видоспецифических и особенно типоспецифических антигенов в организме вырабатываются высокоспецифичные антитела, которые реагируют с антигенами только данного вида.

Антигены грибов – это полисахариды клеточной стенки, белки цитоплазмы и ядра, ферменты, обладают общими эпитопами, оказывают иммуностимулирующим, иммунодепрессивным действием и аллергическим. Антигенами вирусов являются суперкапсидные белки и

гликопротеиды капсидные белки и гликопротеиды, нуклеопротеидные (сердцевидные) комплексы. Каждый антиген вирусов поливалентен. По строению они переменны даже в пределах одного вида. При этом вирусы постоянно изменяют свой АГ состав за счет генных мутаций. Наиболее иммуногенные, протективные пептиды вирусов используются для создания синтетических вакцин. Антигены паразитов сложны по строению и содержат большое количество полисахаридов и белков. Стимулируя иммунные реакции, они часто вызывают аллергии. Антигены растений часто вызывают аллергические реакции. Пыльца вызывает поллинозы, сальную лихорадку. Химические вещества, практически все, и особенно ксенобиотики (чуждые жизни синтетические вещества, не встречающиеся в природе) и лекарства – это гаптены, которые индуцируют аллергию у длительно контактировавших с ними людей. Антигены животных и человека: клетки, взвеси органов и тканей, кровь, сыворотка животных, введенные в организм другого вида, обладают свойствами иммуногенов. Установление этого факта привлекло вначале внимание к частным вопросам осложнений у больных, возникающих после введения им чужеродной иммунной сыворотки и крови здорового человека (анафилактиксий).

Эндогенные антигены – изоантигены (греч. – одинаковый), это антигены эритроцитов – система АВО, Rh – фактор, лейкоцитов – HLA-система -распознающих молекул МНС и тромбоцитов. Они определяют индивидуальную специфичность внутри вида. Обычно не антигенны для организма, в котором находятся и синтезируются. Естественная толерантность (терпимость) организма к изоантигенам объясняется тем, что в эмбриональном периоде развития плода происходит элиминация (разрушение) всех клонов лимфоидных клеток, способных реагировать с ними. Для других особей даже одного и того же вида изоантигены являются иммуногенами. Так, эритроцитарные, лейкоцитарные, тромбоцитарные изоантигены проявляют антигенность в организме индивидуумов, не содержащих их или же имеющих разноименную по отношению к ним структуру.

Антигены эритроцитов находятся на поверхности эритроцитов (более 194), относящихся к 23 системам. Наиболее важными являются гликопротеины – изогемагглютинины системы АВО групп крови. По наличию А и В антигены различают 4 группы крови у человека. Изоагглютинины обладают способностью взаимодействовать с определенными антигенами (агглютиногенами) и вызывать реакцию склеивания (агглютинации) эритроцитов. У 85% людей на эритроцитах есть резус-антиген (Rh^+), обнаруженный впервые у обезьян вида макака-

резус Левином и Стетсоном в 1939 г. Тромбоциты несут более 20 различных молекул, которые можно выявить с помощью антител. Они ассоциируются с интегринами и могут быть причиной аллоиммунных тромбоцитопений у новорожденных и при переливании плазмы крови (АТ). Эндогенные (аутологичные, аутоантигены) – собственные антигены организма, вызывающие активацию иммунной системы. Возникновение таких антигенов происходит при изменении конформации собственных молекул и нарушении механизмов супрессии аутоиммунной реакции. В результате накапливаются антитела и иммунные Т-клетки, специфично взаимодействующие с аутоантигенами.

3. Полные и неполные антигены.

Полный (полноценный) антиген состоит из двух частей: носитель (97-99% молекулы антигена), и детерминантная группа (эпитоп, антигенная детерминанта). Эпитоп – это участок поверхности антигена, который реагирует с антителами и сенсibilизированными лимфоцитами и индуцирует антигенный ответ. На одном носителе может быть несколько эпитопов, в связи с этим вводят понятия эпитопная плотность и валентность антигена. Валентность антигена определяется количеством эпитопов. Например, молекула рибонуклеазы имеет 5 эпитопов, а вирус табачной мозаики – 650 эпитопов, гемоцианин гадюки – 231 эпитоп. Детерминантная группа определяет специфичность антигена. В проявлении специфичности антигена существенную роль играет степень соответствия антигенной детерминанты антиген-связывающему центру (антидетерминанты) иммуноглобулина. Если будет структурное сходство или подобие детерминант специфического антигена с детерминантами другого антигена, то с антителами, образование которых было вызвано одной из таких детерминант, будут реагировать и другие, сходные по структуре, детерминанты. К примеру, альбумины сыворотки крови различных животных, определенные антигены стрептококка и сарколеммы миокарда. Что касается остальной (неактивной) части молекулы антигена, то, как предполагают, ее функция как носителя детерминант, заключается в проникновении антигена во внутреннюю среду и обеспечении последующего контакта с клетками иммунной системы. В естественных белках-антигенах эпитопом являются аминокислотные остатки, в полисахаридных антигенах – молекулы гексозы и т.д.

Гаптен рассматривают как модель эпитопа, он может быть фиксирован на специальные носители – адьюванты. Адьюванты создают депо антигенов, укрупняют молекулу, активируют

лимфоидную ткань. Впервые гаптены были объектом исследования К. Ландштейнера, который показал, что антитела (антиген распознающие рецепторы В- и Т-лимфоцитов) взаимодействуют не с целой антигенной молекулой, а с эпитопами. В- и Т-лимфоциты распознают разные по особенностям эпитопов антигена. В-клеточные эпитопы – эпитопа, с которым взаимодействует антитело. Т-клеточные эпитопы – это антигенный рецептор Т-клетки (ТКР) распознает не собственно антиген, а его комплекс с продуктами главного комплекса гистосовместимости (МНС). Участки антител, взаимодействующие с молекулами МНС, которые не перекрываются с эпитопами, получили название агрептопов. Таким образом, антиген, распознаваемый Т-клетками, должен иметь по крайней мере два участка: один – для распознавания молекулами МНС (агрептоп) и другой – для распознавания ТКР (эпитоп).

Чтобы молекула выступила в качестве иммуногена, она должна быть распознана иммунной системой как «чужая». Не все чужеродные молекулы способны вызвать иммунный ответ равной силы. Филогенетическая удаленность донора антигена от реципиента и выраженность иммунного ответа находятся в прямой зависимости. Так, синтез антител к бычьему сывороточному альбумину легче вызвать у кролика, чем у козы. Кролики относятся к отряду зайцеобразных, а козы и быки включены в отряд парнокопытных. Отмечается общность строения инсулина лошади или быка, он слабо иммуногенен для человека. Установлено, что на данный антиген одни животные реагируют (респондеры), а другие не реагируют (нереспондеры), т.е. они толерантны. Так, некоторые полисахариды, являющиеся иммуногенами у человека и морской свинки, не вызывают иммунного ответа у кроликов.

4. Свойства антигенов.

В зависимости от особенностей антигена будут проявляться его иммуногенные свойства: антигенная специфичность – свойство, отличающее данный антиген от антигенного состава реципиента (организма, в который он проникает) и иммуногенность – способность инициировать иммунную систему к формированию эффекторов, нейтрализующих антигенную чужеродность. Сила иммунного ответа зависит от размеров антигена. Все корпускулярные антигены (бактерии, гетерологичные эритроциты) – хорошие иммуногены. Для белковых антигенов иммунный ответ будет тем сильнее, чем больше его молекулярная масса. Молекулы небольшой молекулярной массой (меньше 5000), как правило, неиммуногены, с увеличением относительной молекулярной массы иммуногенность антигена

возрастает. Однако некоторые низкомолекулярные полипептиды и синтетические полимеры относительно молекулярная масса которых меньше 5000, приобретают антигенные свойства при комплексации с другими веществами. Вместе с тем имеются вещества с высокой относительной молекулярной массой, но слабо иммуногенные (желатин). Вирус табачной мозаики 40 000 кДа – сильный иммуноген, в отличие от рибонуклеазы (13 000 Да) – слабого иммуногена.

Чужеродность и значительный молекулярный вес не являются достаточным условием для проявления иммуногенности антигена. Наиболее иммуногенными являются белки. При этом сополимеры разных аминокислот более иммуногенны, чем гомополимеры одной кислоты. Иммуногенность значительно усиливается, если в структуру сополимера включены ароматические аминокислоты. Так, например, сополимер аминокислот лизина и глутаминовой кислоты приобретает иммуногенность при минимальной молекулярной массе 30-40 кДа. Добавление в сополимер тирозина снижает молекулярную массу, достаточную для проявления иммуногенности, до 10-20 кДа. При включении еще одной ароматической аминокислоты – фенилаланина – иммуногенность сополимера проявляется при 4 кДа. К этой же категории явлений относится увеличение иммуногенности очень слабого антигена – желатина – добавлением небольшого количества тирозина.

Определенной иммуногенностью обладают полисахариды, имеющие большую относительную молекулярную массу. Известны декстраны с различной относительной молекулярной массой, Декстран с относительной молекулярной массой около 75000 неиммуногенен, а поэтому он используется в качестве кровезаменителя. Декстран с относительной молекулярной массой свыше 600 000 является иммуногенным, а поэтому непригодным в качестве заменителя крови.

Нуклеиновые кислоты становятся иммуногенными, если они находятся в комплексе с полипептидами. Применение таких комплексов позволяет получать антитела к ДНК и РНК. Липиды сами по себе неиммуногенны. Некоторые сложные липиды могут приобретать свойства гаптенных и в комплексе с белками проявлять антигенные свойства. Это используется для получения антител: к стероидам и фосфолипидам. Еще одна особенность, связанная с химическим строением полимерных молекул: антиген распознается Т-хелперами на поверхности антигенпрезентирующей клетки, где он экспрессируется в иммуногенной форме после переработки гидролитическими ферментами. Если антигенные макромолекулы под действием

ферментов лизосом не способны подвергаться деструкции, то они остаются неиммуногенными или слабоиммуногенными.

Антигенными свойствами обладают белковые молекулы, содержащие левовращающие изомеры аминокислот. Это объясняется тем, что право вращающиеся изомеры аминокислот не разрушаются макрофагами, а поэтому не происходит доставка остатков антигена иммунной системе. Для того чтобы какое-либо вещество проявляло свойства антигена оно должно обладать еще сложностью строения, жесткостью структуры, растворимостью, способностью переходить в коллоидное состояние. Антигены специфически взаимодействуют с различными молекулами и клетками организма. На мембранах клеток расположены рецепторы, которые являются анализаторами внешней среды. На поверхности каждой клетки 10²-10⁵ рецепторов, обеспечивающих поступление в клетку цитокинов, гормонов и т.д.

Перечисленные выше свойства антигенов: чужеродность, достаточная молекулярная масса, особенности химической структуры, – не всегда являются гарантом развития полноценного иммунного ответа. Конечный результат – формирование иммунного ответа – зависит от иммунизируемого организма, его генотипа. При наличии всех перечисленных требований к антигену его потенциальная способность к инициации иммунного ответа может остаться нереализованной, если иммунизируемый организм по тем или иным причинам неспособен воспринять чужеродную информацию. Одно из требований к отвечающему организму – это наличие соответствующих генов иммунного ответа (I_g-генов). Полиморфизм по I_g-генам определяет неоднозначность ответа различных индивидуумов к одному и тому же антигену. Следует также заметить, что развитие той или иной силы иммунного ответа зависит как от дозы антигена, так и от способа его введения. Низкая доза сильного иммуногена не является гарантом полноценного иммунного ответа даже у тех индивидуумов, которые обладают соответствующим I_g геном.

Свойства антигенов изменяются под действием адъювантов и конкурирующих молекул. Адъюванты усиливают фагоцитоз, оказывают митогенное действие на В-лимфоциты и потенцируют присутствие антигена, что способствует повышению его иммуногенности. В качестве адъювантов используют гидроокись или фосфат алюминия, эмульсии минеральных масел и другие. Наличие конкурирующих антигенов. При иммунизации антигенами с высокими детерминантами или ассоциированными препаратами, включающими два и более антигена, отмечается явление конкуренции. В результате

иммунологический ответ будет более сильным. Данное явление преодолевается путем предварительного введения более слабого в иммуногенном отношении антигена или же подбором оптимального соотношения доз антигена, в котором преобладает количество структур с меньшей антигенностью. Проявление иммуногенных свойств антигена может быть блокировано также врожденным или приобретенным патологическим состоянием самой иммунной системы. Иммунодефицит по тем или иным факторам специфической защиты будет препятствовать проявлению специфических свойств полноценных антигенов.

5. Тимусзависимые и тимуснезависимые антигены.

Большинство природных антигенов является тимусзависимыми. Это означает, что полноценное развитие специфического иммунного ответа на такие антигены начинается только после подключения Т-клеток. Действительно, неонатально тимэктомированные мыши либо вообще не отвечают на полноценный антиген продукцией IgG, либо такой ответ крайне слабый. Трансплантация тимуса мышам восстанавливает специфический ответ. При использовании конъюгата гаптена с различными белками в качестве носителя установлено, что Т-клетки отвечают на носитель (Т-клеточный эпитоп), в то время как В-клетки – на гаптен (В-клеточный эпитоп). В опытах *in vitro* показано, что чистая популяция В-клеток отвечает на антиген только пролиферацией, но при этом неспособна пройти весь путь развития до зрелых, продуцирующих антитела плазмоцитов. Внесение в культуру Т-клеток и макрофагов обеспечивает продукцию специфических антител. Роль макрофагов в комплексной культуре состоит в представлении Т-клеточных эпитопов в иммуногенной форме.

Тимуснезависимые антигены, способные инициировать иммунный ответ в отсутствие Т-клеток. Антигены этой группы в основном относятся к полисахаридам и характеризуются многократным повторением структурно идентичных эпитопов. Подобное однообразие приводит к многоточечному взаимодействию с В-клеткой, что и обеспечивает их полноценное развитие до зрелых, продуцирующих антитела плазмоцитов. Кроме того, в структуре некоторых тимуснезависимых антигенов имеются последовательности с поликлональной, митогенной активностью (например, бактериальные липополисахариды), что также вносит свой вклад в развитие В-клеток в обход помощи со стороны Т-клеток. Представленная схема ясно иллюстрирует функциональную гетерогенность антигенного материала, способность различных эпитопов и участков по-разному включать

иммунную систему. Но каким бы способом ни инициировалась иммунореактивность, главным, определяющим условием остается чужеродность антигена по отношению к иммунизируемому организму.

6. Типы антигенной специфичности.

Различают следующие виды антигенной специфичности: видовую, групповую, тканевую, органную, органоидную и патологическую. Видовая специфичность антигенов характеризуется тем, что антигены особей какого-либо одного вида животных отсутствуют у особей другого вида. Например, антигены лейкоцитов человека свойственны только человеку. Их не содержат даже приматы, находящиеся с человеком в близкородственных отношениях.

Групповая специфичность обусловлена антигенами, которые имеются у индивидумов одного вида, которые иммуногенны у других членов популяции данного вида. Такие антигены получили название аллоантигены, т.е. доноры и реципиенты в этом случае принадлежат к генетически неидентичным индивидумам одного и того же вида. Например, в эритроцитах человека определено около 100 антигенов, образующих 20 систем аллоантигенов.

Тканевая и органная специфичность характерна для всех тканей и органов, что обусловлено тканевое и органной специфичностью белков.

Органоидная специфичность заключается в том, что существуют антигенные различия структурных образований клетки (ядер, митохондрий и др.).

Различают еще специфичность стадии, которая заключается в том, что специфичность антигена органа или ткани может появляться на определенной стадии онтогенеза. Например, обладающий неспецифичностью α -фетопроtein характерен для эмбриона, отсутствует в постэмбриональном периоде.

Патологической специфичности, то она проявляется при аутоиммунных заболеваниях и вызывается аутоантигенами, возникающими при патологических состояниях органов или тканей. Такие состояния получили название иммунопатологических.

Лекция 4

Структура, классификация и свойства антител

Первое специфическое антитело было обнаружено Берингом и Китагато в 1890 году. При этом о природе обнаруженного столбнячного антитоксина, кроме его специфичности и присутствия в сыворотке

иммунного животного, ничего определенного сказать было нельзя. При электрофорезе сыворотки крови (1937 г), иммунизированных животных наблюдается значительное увеличение γ -глобулиновой фракции. Адсорбция такой сыворотки антигеном, который был использован для иммунизации, снижает содержание белка в этой фракции до уровня, свойственного интактным животным. Антитела – белки гамма-глобулиновой фракции, назвали иммуноглобулинами. Антитела могут нейтрализовать токсины бактерий и вирусы (антитоксины и вируснейтрализующие антитела), осаждают растворимые антигены (преципитины), склеивают корпускулярные антигены (агглютинины), повышают фагоцитарную активность лейкоцитов (опсонины), связывают антигены, не вызывая каких-либо видимых реакций (блокирующие антитела), совместно с комплементом лизировать бактерии и другие клетки, например эритроциты (лизины).

1. Молекулярная структура антител

Первый шаг к пониманию строения иммуноглобулинов был сделан английским исследователем Р. Портером в 1959 г. Он продемонстрировал, что обработка кроличьих антител IgG-класса ферментом папаином расщепляет молекулу на два фрагмента с молекулярной массой 45 кД и 50 кД. Один из этих фрагментов сохранял способность связывать антиген и в силу этого получил название Fab-фрагмента (от англ. «*antigenbinding*»). Второй фрагмент не взаимодействовал с антигеном. Его удалось легко кристаллизовать, что и послужило основанием для его обозначения как Fc-фрагмента (от англ. «*crystallizable*»). В количественном отношении Fab-фрагментов в два раза больше, чем Fc-фрагментов. Естественно было предположить, что молекула IgG имеет два участка, которые взаимодействуют с антигеном, и один участок – антигенноинертный. Выяснено, что папаин разрушает иммуноглобулин в шарнирной области, выше межцепевых, дисульфидных связей, что и приводит к образованию двух идентичных и одного отличающегося участков. При работе с пепсином выделен один 2-х валентный антигенсвязывающий фрагмент. Часть молекулы IgG, соответствующая Fc-фрагменту, полностью разрушается. Получение двухвалентного фрагмента иммуноглобулина обеспечено действием пепсина на дистальный конец шарнирной области. В результате N-концевая половина молекулы остается нетронутой. Такой двухвалентный фрагмент обозначают как F(ab)₂.

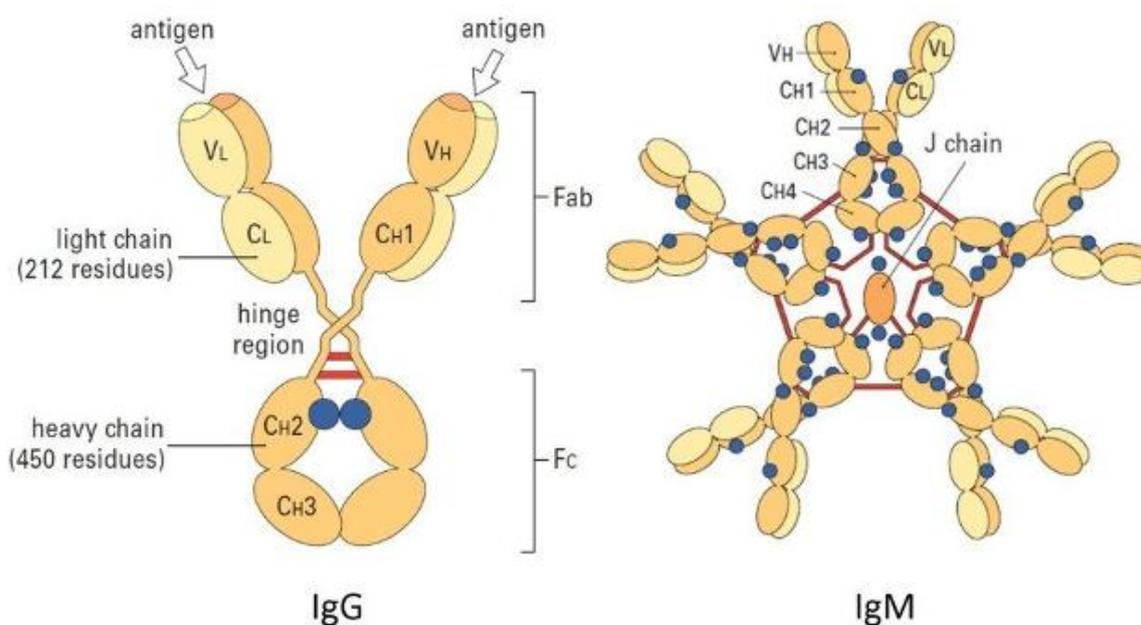


Рисунок 2 – Схема организации IgG и IgM

Исследования Эдельмана, выполненные с использованием меркаптоэтанола, которые разрушает $-S-S-$ связи, показали наличие в молекуле иммуноглобулина двух тяжелых (H) цепей с массой каждой из них около 50 кД и двух легких (L) с массой 25 кД. У млекопитающих известно пять классов иммуноглобулинов: IgM, IgG, IgA, IgE и IgD, которые имеют общий план строения, но отличаются структурными особенностями тяжелых (H) цепей. Существует 5 типов тяжелых цепей, обозначаемых буквами греческого алфавита: μ , γ , α , ϵ , σ и 2 типа легких κ и λ . Изучение полной аминокислотной последовательности различных миеломных белков выявило принципиальные особенности в строении иммуноглобулинов. Иммуноглобулины разных классов имеют общий план строения. На рисунке представлена схема организации IgG и IgM.

Этот иммуноглобулин содержит две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, которые объединены в четырех цепочечную молекулу посредством ковалентных дисульфидных связей ($-S-S-$). Каждая цепь включает переменную область (соответственно VL и VH для V- и H-цепей), от которой зависит специфичность иммуноглобулинов как антител, и константную (C), подразделяющуюся на гомологичные участки: CH1, CH2, CH3. L-цепь имеет один константный участок (C1). Между CH1 и CH2 расположена так называемая шарнирная область, обогащенная пролиновыми остатками. Повышенное содержание пролина в данной области обеспечивает конформационную гибкость

молекулы, что необходимо для лучшего взаимодействия с антигенными детерминантами, более выраженными на поверхности клеток. Рентгеноструктурный анализ подтвердил общий принцип доменной организации полипептидных цепей иммуноглобулинов и вскрыл ряд тонких деталей строения. Электронная микроскопия показала, что молекула IgG имеет форму буквы Y с меняющимся углом между отрезками, что говорит о гибкости ее структуры. В пространственной организации IgG человека тяжелые и легкие цепи, взаимодействуя друг с другом, образуют плотно упакованную структуру с тремя частями: два Fab-фрагмента и один Fc-фрагмент.

2. Варибельность и гетерогенность иммуноглобулинов.

Антигенсвязывающий участок, или активный центр антител, формируется при взаимодействии VH- и VL-доменов. Изменения в последовательности аминокислотных остатков этих доменов от белка к белку определяют собственно меняющуюся специфичность антител. Все V-домены делятся на три основные группы: для легких цепей κ - и λ -типов соответственно, и VH – для тяжелых цепей. Каждая группа включает в свою очередь несколько подгрупп: V κ – три, V λ – пять и VH – четыре. Белки одной подгруппы имеют около 75% идентичных остатков, тогда как белки разных подгрупп идентичны только в 50% положений. Число индивидуальных вариантов для всех четырех подгрупп VH – более 30000, для V κ – более 1000.

В общей линейной последовательности аминокислотных остатков V-доменов имеются положения консервативные, где замены одних аминокислот на другие незначительны или даже отсутствуют, и положения с частыми заменами. Эти последние получили название гипервариабельных участков. Количество гипервариабельных положений по отношению к количеству относительно инвариантных положений незначительно и составляет всего 15-20% от общего числа аминокислотных остатков V-домена.

С помощью метода рентгеноструктурного анализа кристаллизованных белков выяснена «морфология» V-доменов. Конформационная особенность V-домена состоит в том, что все гипервариабельные участки в результате формирования третичной структуры оказываются в непосредственной близости друг от друга (черные участки рисунка). Каркасные (инвариантные) участки взаимодействуют с соответствующими участками VL-домена при формировании антигенсвязывающего центра (заштрихованные участки рисунка)

При анализе структуры и функции иммуноглобулинов следует различать два понятия: гетерогенность и варибельность. Гетерогенность определяет свойства иммуноглобулинов, обусловленные константной (С) частью молекулы, т.е. теми структурными особенностями, которые позволяют делить всю группу этих белков на классы, подклассы, аллотипы и типы легких цепей. Гетерогенность подразумевает также различия в функциональной активности разных классов иммуноглобулинов за исключением их свойства специфического взаимодействия с антигеном.

Варибельность – это индивидуальная характеристика иммуноглобулинов, относящихся к одному и тому же классу или подклассу. Она проявляется в специфической антиген связующей активности и обусловлена меняющейся от белка к белку последовательностью аминокислотных остатков в N-концевой части молекулы. Два свойства иммуноглобулинов – гетерогенность и варибельность – определяют функциональный дуализм данной группы белковых молекул

Каждая иммуноглобулиновая молекула имеет активный (антигенсвязывающий) центр (паратоп) и участок, не связанный с основным антиген распознающим свойством антител, но выполняющий эффекторные физиологические функции. Две молекулы иммуноглобулина, распознающие тот же самый антиген, могут проявлять разную физиологическую активность. В то же время иммуноглобулины, специфичные к разным антигенам, в физиологическом отношении могут быть идентичными.

3. Антигенная структура иммуноглобулинов.

Как все белки, иммуноглобулины являются антигенами и по отношению к ним вырабатываются антииммуноглобулины, т. е. – антитела против антител. В молекулах иммуноглобулинов различают 3 вида детерминант: изотипические, аллотипические и идиотипические. Изотипические и аллотипические детерминанты локализованы в С-областях иммуноглобулинов и специфичны для H- и L-цепей определенного типа. Дифференциация иммуноглобулинов на классы и подклассы зависит от различия строения тяжелых цепей. Известно 9 изотипов, характеризующихся тяжелыми цепями γ_1 , γ_2 , γ_3 и γ_4 , μ , α_1 и α_2 , σ , ϵ . Изотипические детерминанты разных классов иммуноглобулинов идентичны для всех особей определенного вида. Аллотипические детерминанты – кодируются аллельными генами и у одних особей имеются, а у других отсутствуют. Идиотипические

детерминанты (идиотип) расположены в антигенсвязывающих центрах и часто ассоциированы с гипервариабельными участками иммуноглобулинов. Идиотип – особенности строения антигенсвязывающего центра, определяющие специфичность антитела. Антитела, относящиеся к одному и тому же изотипу, но выработанные на различные антигены, называются идоитипом.

Идиотипические детерминанты уникальны для структуры антигенсвязывающих центров определенных антител, имеются у отдельных индивидуумов популяции и выявляются с помощью антиидиотипических антител. Иммунизируя животных антителами с определенным идиотипом, можно получать антитела, специфически реагирующие с этим идиотипом (антиидиотипические АТ), причем антигенсвязывающие области антиидиотипических антител будут фактически отражать структуру антигенной детерминанты, на которую был вызван синтез антител указанного идиотипа. Иммунная система функционирует как развитая и устойчивая сеть идиотип-антиидиотип. Антиидиотипические антитела играют существенную роль в регуляции иммунного ответа.

4. Классы иммуноглобулинов.

Иммуноглобулины по структуре, антигенным и иммунобиологическим свойствам разделяются на пять классов: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD.

Иммуноглобулин класса G. Изотип G составляет основную массу Ig сыворотки крови. На его долю приходится 70-80 % всех сывороточных Ig, при этом 50 % содержится в тканевой жидкости. Среднее содержание IgG в сыворотке крови здорового взрослого человека 12 г/л. Период полураспада IgG – 21 день. IgG – мономер, имеет 2 антигенсвязывающих центра, молекулярную массу около 160 кДа и константу седиментации 7S. Различают подтипы G1, G2, G3 и G4. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Хорошо определяется в сыворотке крови на пике первичного и вторичного иммунного ответа.

Обладает высокой аффинностью. IgG1 и IgG3 связывают комплемент, причем G3 активнее, чем G1. IgG4, подобно IgE, обладает цитотропностью (тропностью, или сродством, к тучным клеткам и базофилам) и участвует в развитии аллергической реакции I типа. В иммунодиагностических реакциях IgG может проявлять себя как неполное антитело. Легко проходит через плацентарный барьер и обеспечивает гуморальный иммунитет новорожденного в первые 3—4

месяца жизни. Способен также выделяться в секрет слизистых, в том числе в молоко путем диффузии. IgG обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск комплемент-опосредованного цитолиза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Иммуноглобулин класса М. Наиболее крупная молекула из всех Ig. Это пентамер, который имеет 10 антигенсвязывающих центров, т. е. его валентность равна 10. Молекулярная масса его около 900 кДа, константа седиментации 19S. Различают подтипы M1 и M2. Тяжелые цепи молекулы IgM в отличие от других изотипов построены из 5 доменов. Период полураспада IgM – 5 дней. На его долю приходится около 5–10 % всех сывороточных Ig. Среднее содержание IgM в сыворотке крови здорового взрослого человека составляет около 1 г/л. Этот уровень у человека достигается уже к 2–4-летнему возрасту. IgM филогенетически — наиболее древний иммуноглобулин. Синтезируется предшественниками и зрелыми В-лимфоцитами. Образуется в начале первичного иммунного ответа, также первым начинает синтезироваться в организме новорожденного — определяется уже на 20-й неделе внутриутробного развития.

Обладает высокой авидностью, наиболее эффективный активатор комплемента по классическому пути. Участвует в формировании сывороточного и секреторного гуморального иммунитета. Являясь полимерной молекулой, содержащей J-цепь, может образовывать секреторную форму и выделяться в секрет слизистых, в том числе в молоко. Большая часть нормальных антител и изоагглютининов относится к IgM. Не проходит через плаценту. Обнаружение специфических антител изотипа М в сыворотке крови новорожденного указывает на бывшую внутриутробную инфекцию или дефект плаценты. IgM обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск комплемент-опосредованного цитолиза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Иммуноглобулин класса А. Существует в сывороточной и секреторной формах. Около 60 % всех IgA содержится в секретах слизистых. На его долю сывороточного IgA приходится около 10–15% всех сывороточных Ig. В сыворотке крови здорового взрослого человека содержится около 2,5 г/л IgA, максимум достигается к 10-летнему возрасту. Период полураспада IgA – 6 дней. IgA – мономер, имеет 2 антигенсвязывающих центра (т. е. 2-валентный), молекулярную массу около 170 кДа и константу седиментации 7S. Различают подтипы A1 и

A2. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и плазматическими клетками. Обладает высокой аффинностью. Может быть неполным антителом. Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер. IgA обеспечивает нейтрализацию, опсонизацию и маркирование антигена, осуществляет запуск антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности.

Секреторный IgA в отличие от сывороточного, секреторный sIgA существует в полимерной форме в виде ди- или тримера (4- или 6-валентный) и содержит J- и S-пептиды. Молекулярная масса 350 кДа и выше, константа седиментации 13S и выше. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и их потомками — плазматическими клетками соответствующей специализации только в пределах слизистых и выделяется в их секреты. Объем продукции может достигать 5 г в сутки. Пул sIgA считается самым многочисленным в организме — его количество превышает суммарное содержание IgM и IgG. В сыворотке крови не обнаруживается.

Секреторная форма IgA — основной фактор специфического гуморального местного иммунитета слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и респираторного тракта. Благодаря S-цепи он устойчив к действию протеаз. sIgA не активирует комплемент, но эффективно связывается с антигенами и нейтрализует их. Он препятствует адгезии микробов на эпителиальных клетках и генерализации инфекции в пределах слизистых. Иммуноглобулин класса E. Называют также реагином. Содержание в сыворотке крови крайне невысоко — примерно 0,00025 г/л. Обнаружение требует применения специальных высокочувствительных методов диагностики. Молекулярная масса — около 190 кДа, константа седиментации — примерно 8S, мономер. На его долю приходится около 0,002 % всех циркулирующих Ig. Этот уровень достигается к 10–15 годам жизни. Синтезируется зрелыми В-лимфоцитами и плазматическими клетками преимущественно в лимфоидной ткани бронхолегочного дерева и ЖКТ. Не связывает комплемент. Не проходит через плацентарный барьер. Обладает выраженной цитотоксичностью — тропностью к тучным клеткам и базофилам. Участвует в развитии гиперчувствительности немедленного типа — реакция I типа.

Иммуноглобулин класса D. Сведений об Ig данного изотипа не так много. Практически полностью содержится в сыворотке крови в концентрации около 0,03 г/л (около 0,2 % от общего числа циркулирующих Ig). IgD имеет молекулярную массу 160 кДа и константу седиментации 7S, мономер. Не связывает комплемент. Не

проходит через плацентарный барьер. Является рецептором предшественников В-лимфоцитов.

5. Неполные и полные антитела.

Виды антител IgG, IgM, IgA реагируют с детерминантами антигенов всеми имеющимися в их молекуле антигенсвязывающими центрами. Вследствие этого в растворах образуются крупные конгломераты веществ. Антитела, вызывающие видимые реакции, называют полными. В противоположность этому некоторые иммуноглобулины-мономеры реагируют с антигеном лишь одним паратопом, видимых реакций не дают и поэтому называются неполными антителами. Если же реакция взаимодействия этих антител происходит в крови и не вызывает каких-либо нарушений в организме, их называют антителами-свидетелями. Последние блокируют антиген, а нередко одновременно связывают комплемент, вследствие чего называются блокирующими и комплементсвязывающими. Реагирование IgE и IgG с антигенами может приводить к развитию аллергий. При незначительных, бесследно исчезающих проявлениях аллергии на кожных покровах аллергические антитела называют реагинами, а при ярко выраженных повреждениях клеток кожи – агрессинами или кожно-сенсibiliзирующими антителами. В сыворотке крови человека всегда имеется базальный уровень иммуноглобулинов – нормальные или естественные антитела. Например, изигемагглютинины, АТ против эритроцитарных антигенов группы крови, а также против бактерий кишечной группы, кокков и некоторых вирусов. Нормальные АТ образуются в организме без явной стимуляции. Они отражают готовность микроорганизмов к иммунному реагированию, а с другой стороны может свидетельствовать об отдаленном контакте с антигеном.

6. Гены иммуноглобулинов.

На основании данных о двойственности в строении иммуноглобулинов – наличии вариабельной и константной областей в структуре молекулы – Дрейер и Беннет еще в 1965 г. высказали предположение об участии двух генов (V и C) в построении единой тяжелой или легкой цепей молекулы. Для млекопитающих известны три группы сцепления иммуноглобулиновых генов, расположенных на разных хромосомах: группы сцепления для двух легких цепей и группа сцепления для тяжелых цепей. В незрелых В-клетках или в любых других клетках V-гены и C-гены той или иной группы сцепления, находясь на одной и той же хромосоме, удалены друг от друга на

значительное расстояние. Подобная нативная локализация генов для иммуноглобулинов определяется как состояние зародышевой линии (англ. «*germline*»). Однако по мере созревания В-клеток от некоммутированных предшественников к зрелым формам происходит реорганизация генома, так что пространственно удаленные генные сегменты оказываются в непосредственной близости друг от друга, образуя единый информационный участок. Этот процесс перестройки генетического материала получил название соматической рекомбинации. Он связан только с соматическими клетками (в случае с иммуноглобулиновыми генами – только с В-клетками), не наследуется и, следовательно, не затрагивает половые клетки.

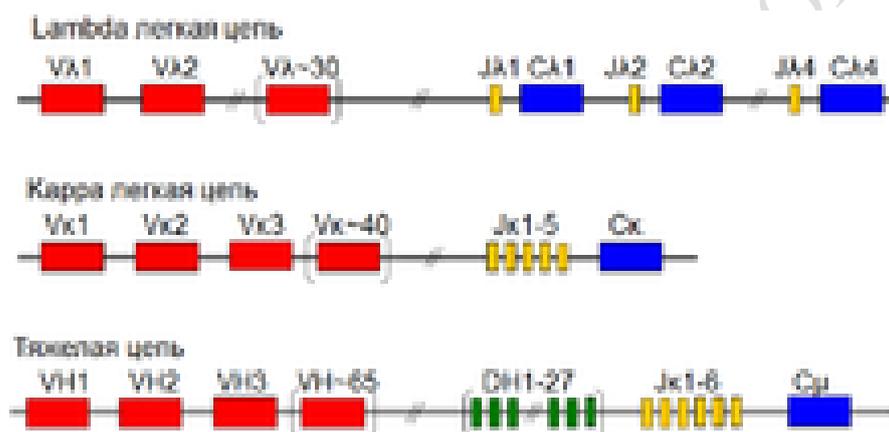


Рисунок 3 – Гены иммуноглобулинов

Вариабельность иммуноглобулинов, точнее V-доменов тяжелых (IgH) и легких (IgL) цепей этих молекул, зависит от нескольких внутриклеточных явлений:

- 1) наличия в геноме множества V-генов как для IgH, так и для IgL, каждый из которых кодирует самостоятельный и отличающийся по специфичности V-домен;
- 2) процесса соматической рекомбинации: поскольку V-локус включает не только собственно V-гены, но и несколько дополнительных генных сегментов – D и J, то образование зрелого V-гена (VDJ для IgH или VJ для IgL) является результатом случайного сочетания в процессе рекомбинации одного из V-генов с одним из D- и J-генных сегментов;
- 4) ошибок рекомбинации: в процессе рекомбинации – объединения одного из V-генов с одним из D- и J-генных сегментов, когда идет процесс делеции («вырезания» некодируемой части ДНК, расположенной между генными сегментами), возможен захват

пограничных для V-, D-, J-генных сегментов нуклеотидов, ошибки рекомбинации также вносят свой вклад в разнообразие зрелых V-генов;

5) взаимодействия IgHc IgL при внутриклеточном образовании иммуноглобулина: поскольку сформировавшаяся иммуноглобулиновая молекула состоит из H- и L-полипептидов, V-домены которых совместно образуют антигенраспознающий участок, а в клонах В-клеток специфичность таких V-доменов случайна, то случайной будет и специфичность всей молекулы;

б) явления соматического мутагенеза — точечных замен в последовательности нуклеотидов V-генов при созревании В-клеток.

7. Теории образования иммуноглобулинов в клетках

В самой сжатой форме все появившиеся со времен П. Эрлиха гипотетические построения, касающиеся феномена иммунологической специфичности, можно разбить на две группы: инструктивные и селективные. Инструктивные теории рассматривали антиген в качестве пассивного материала — матрицы, на которой формируется антиген связующий участок антител. По этой теории все антитела имеют одну и ту же последовательность аминокислотных остатков. Различия касаются третичной структуры и возникают в процессе окончательного формирования молекулы антитела вокруг антигена. В настоящее время инструктивные теории полностью оставлены и имеют лишь исторический интерес. Они не выдержали проверки временем и вошли в противоречие с данными как иммунологии, так и молекулярной биологии. С иммунологических позиций они не объясняли, во-первых, почему количество антител в молярном отношении значительно больше количества проникшего в организм антигена, и, во-вторых, не отвечали на вопрос, за счет чего формируется иммунологическая память.

С позиций молекулярной биологии они противоречили основной догме биологии, гласящей, что специфичность белка строго закодирована в последовательности нуклеотидов ДНК в хромосоме, а третичная структура связана с первичной структурой и не может в определенных пределах свободно меняться под влиянием факторов внешней среды без нарушения или полной потери функции. Более плодотворными оказались селективные теории варибельности антител. История развития иммунологической мысли в направлении селективных теорий началась с первого построения П. Эрлиха. В основе всех селективных теорий лежит представление о том, что специфичность антител predetermined, и антиген выступает лишь в

качестве фактора отбора соответствующих по специфичности иммуноглобулинов.

В 1955 г. вариант селективной теории выдвинул Н. Эрне (1955). По его представлениям, в организме постоянно присутствуют антитела самой разнообразной специфичности. Антитело после взаимодействия с соответствующим антигеном поглощается фагоцитирующим и мононуклеарами, что приводит к активной продукции этими клетками антител исходной специфичности. Особое место в иммунологии занимает клонально-селекционная теория иммунитета М. Бернета (1959). Он использовал представления П. Эрлиха и Н. Эрне о предсуществовании антител разной специфичности, но указывал на то, что каждое специфическое антитело синтезируется отдельным клоном клеток. По М. Бернету, при дифференцировке лимфоцитов от стволовой кроветворной клетки и при параллельном процессе мутационных изменений в генах, контролирующих синтез специфических антител, возникают клоны клеток, которые способны взаимодействовать только с антигеном соответствующей специфичности. В результате такого взаимодействия формируется отобранный по специфичности клон, который либо секретирует антитела заданной специфичности, либо обеспечивает строго специфическую клеточную реакцию. Клонально-селекционный принцип организации иммунной системы, выдвинутый М. Бернетом, полностью подтвердился в настоящее время. В то время, когда М. Бернет разрабатывал свою теорию, ничего не было известно о генах иммуноглобулинов и их рекомбинации в процессе созревания В-клеток. Основной принцип селекции специфических клонов сохранен в теории зародышевой линии Л. Худа (1971). Однако причина многообразия клонов авторы видят не в повышенной мутабельности иммуноглобулиновых генов, а в исходном зародышевом их существовании. Весь набор V-генов, контролирующих переменную область иммуноглобулинов, представлен изначально в геноме и передается от поколения к поколению без изменений. В процессе развития В-клеток происходит рекомбинация иммуноглобулиновых генов, так что отдельно взятая созревающая В-клетка способна синтезировать иммуноглобулин одной специфичности. Такая моноспецифическая клетка становится источником клона В-клеток, продуцирующих определенный по специфичности иммуноглобулин.

Лекция 5

Взаимодействие антиген-антитело

1. Понятие паратопа и эпитопа. Аффинитет и avidность.

Обратимость реакций антиген-антитело и ее значение. Условия оптимального взаимодействия антиген-антитело. Агглютинация и преципитация как биологические феномены. Эпитоп (антигенная детерминанта) – участок антигена, распознаваемый антителами; эпитоп, ассоциированный с молекулами I или II классов распознается Т-клеточным рецептором.

Эпитоп В-клеточный – часть молекулы антигена, соответствующая той пространственной организации, которая свойственна ей в нативном белке; антиген распознающие рецепторы В-клеток и иммуноглобулины распознают нативную конформацию эпитопа, но не линейную последовательность аминокислотных остатков.

Эпитоп Т-клеточный – линейная последовательность аминокислотных остатков, составляющих часть антигена; не требует сохранения нативной конформации. Антигенсвязывающий участок, паратоп, (антигенкомбинирующий участок, активный центр антител) — N-концевой участок антителиантиген распознающих рецепторов, взаимодействующий с антигеном посредством прямого физического контакта; образуется тремя гипервариабельными петлями V-доменов тяжелой и легкой цепей.

Avidность – суммарная сила множественных («многоточечных») взаимодействий между клетками или молекулами, что отличает этот показатель взаимодействия от аффинности как силы взаимодействия отдельного участка в системе рецептор-лиганд.

Антигенами называют макромолекулы, способные вызывать иммунный ответ организма при условии их распознавания специфическими рецепторами лимфоцитов. Для индукции ответа В- и Т-клеток требуются различные условия и свойства антигена. При индукции гуморального В-клеточного ответа обязательными свойствами антигена являются чужеродность (т.е. отсутствие аналогичных субстанций в реагирующем организме), специфичность (способность распознавать иммуноглобулиновые рецепторы В-клеток и взаимодействовать с антителами той же специфичности) и иммуногенность (способность вызывать иммунный ответ вне зависимости от его специфичности).

2 Специфичность реакции антиген-антитело.

В основе реакции антиген – антитело лежит взаимодействие между эпитопами антигена и активными центрами антител, основанное на их пространственном соответствии (комплементарности). Антигены детерминанты и специфичные для них антитела пространственно подходят друг другу как кисть к перчатке или ключ к замку. Иммуные комплексы — агрегаты антигена со специфическими антителами. Реакция протекает в два этапа. На первом этапе происходит взаимодействие как таковое, на втором – видимые его проявления, возникающие вследствие изменения физико-химического состояния компонентов реакции при их комплексовании. Первый этап реакции происходит очень быстро. Взаимодействие эпитопов с активными центрами антител основано на установлении химических связей (нековалентных), не отличающихся от тех, которые возникают между молекулами других типов. В основе этих связей лежат следующие типы сил межмолекулярных взаимодействий:

- водородные (связанные с образованием водородных мостиков между гидрофильными группами);
- гидрофобные (энергетическими преимуществами контакта гидрофобных участков молекул между собой по сравнению с их взаимодействием с водой);
- силы Ван-дер-Ваальса (основанные на взаимодействии электронных облаков).

Все эти взаимодействия проявляются при близком контакте молекул, основой которого является комплементарность участков молекул антигена и антител. Возникающие силы тем больше, чем точнее соответствие между эпитопом и паратопом. Взаимодействие антигена с антителом обратимо и подчиняется закону действия масс, на основе которого рассчитывают константу равновесия формирования и диссоциации иммунных комплексов:

$$K = [AbH]/[Ab][H], \quad (1)$$

где, K – константа равновесия, $[Ab]$ – концентрация несвязанных антител, $[H]$ – концентрация свободного антигена, $[AbH]$ – концентрация комплекса антител с антигеном.

Константа равновесия служит мерой сродства (аффинности) антител. Поскольку аффинность отражает степень пространственного соответствия активного центра антитела и эпитопа, она может служить

количественной оценкой специфичности антител по отношению к данному эпитопу. Для ее определения используют метод равновесного диализа. Антитела находятся внутри диализуемого объема, а свободный (но не связанный) гаптен способен проникать через диализационную мембрану. Это создает возможность прямого измерения всех параметров приведенной выше формулы. Для расчетов аффинности используют также графический подход с применением координат Скэтчарда.

Помимо кинетического подхода к изучению аффинности, существует термодинамический подход, основанный на анализе изменений свободной энергии при взаимодействии антиген – антитело. Изменение свободной энергии обратно пропорционально логарифму константы аффинности. При использовании высокомолекулярных и поливалентных антигенов измерение аффинности антител осложняется. Для суммарной оценки сродства (функциональной аффинности, или авидности) антител в этом случае применяют дополнительные приемы, позволяющие оценить концентрацию хотя бы одного из компонентов реакции. Это осуществляют обычно на основе радиоиммунного или иммуноферментного тестов. Оценка функциональной аффинности актуальна также с точки зрения учета эффекта поливалентности антител.

Так, каждый активный центр IgM-антител обычно имеет меньшую аффинность по отношению к эпитопам, чем активный центр IgG-антител той же специфичности, но суммарная (функциональная) аффинность IgM-антител может оказаться выше вследствие большего числа активных центров. При анализе взаимодействий с антителами сложных молекул (особенно белковых), которые несут несколько эпитопов, необходимо учитывать взаимные влияния связывания различных пар эпитоп – антитело. Установлено, что при связывании различных эпитопов молекулы антигена с соответствующими антителами эффективность (т.е. сродство) каждого взаимодействия повышается. Это объясняют снижением вероятности диссоциации связи при сохранении контакта взаимодействующих молекул благодаря наличию других связей.

Другая проблема, осложняющая изучение сродства антигенов и антител, это гетерогенность популяции антител по показателю сродства. Гетерогенность обусловлена тонкими различиями антител по специфичности. С помощью перечисленных выше подходов удастся оценить усредненную аффинность популяции антител, а также рассчитать показатель их гетерогенности по аффинности. Указанная

проблема полностью решается в случае использования моноклональных антител, «гомогенных» по всем показателям, включая специфичность и, следовательно, аффинность.

По мере уменьшения пространственного и химического сродства уменьшаются силы связывания, хотя способность взаимодействия с родственными АГ частично сохраняется. Этим объясняется тот факт, что в значительных разведениях антитела взаимодействуют только с гомологичным антигеном, а в небольших разведениях могут давать перекрестные реакции с антигенами, имеющими пространственное или химическое сродство.

Установлено, что при взаимодействии АГ-АТ образуются иммунные комплексы, процесс образования которых носит обратимый характер. Иммунные комплексы образуются при каждой встрече антител с антигеном и разрушаются мононуклеарными фагоцитами (макрофагами) после активации комплемента. Персистенция антигена при длительной инфекции или при аутоиммунном заболевании может приводить к болезни иммунных комплексов. Образование иммунных комплексов может происходить в крови, приводя к системным заболеваниям, или локально, например в легких. Комплемент способствует разрыву связей между антигеном и антителом и поддерживает иммунные комплексы в растворимом состоянии.

Иммунные комплексы образуются при каждой встрече антител с антигеном и обычно эффективно разрушаются мононуклеарными фагоцитами, но иногда сохраняются в течение длительного времени и откладываются в различных тканях и органах. Развивающиеся в результате повреждения, опосредуемые комплементом и эффекторными клетками, называют реакциями гиперчувствительности III типа или болезнью иммунных комплексов.

В каких местах произойдет отложение иммунных комплексов, отчасти зависит от локализации антигена в тканях и отчасти от условий попадания комплексов из крови в ткани. Эритроциты приматов обладают рецептором к С3 и играют важную роль в транспорте содержащих комплемент иммунных комплексов в селезенку, где они разрушаются. При недостаточности комплемента происходит образование крупных, слабо растворимых комплексов с отложением их в тканях. Положительно заряженные антигены обладают способностью связываться с тканями, особенно с почечными клубочками, и способствовать локальному накоплению комплексов в почках. Факторы, повышающие проницаемость кровеносных сосудов, увеличивают отложение иммунных комплексов в тканях.

Крупные иммунные комплексы, как правило, уже за несколько минут извлекаются из крови в печени, тогда как комплексы меньших размеров остаются в крови более длительное время. Это объясняется тем, что крупные комплексы эффективнее фиксируют комплемент и за счет этого лучше связываются с эритроцитами. Они и медленнее отделяются от эритроцитов под действием фактора I. Поэтому все, что влияет на размер комплексов, должно изменять их клиренс. Как предполагается, генетический дефект, способствующий образованию низкоаффинных антител, вполне может обуславливать формирование мелких комплексов и тем самым развитие болезни иммунных комплексов. Повышение аффинности зависит от эффективного соматического мутирования и селекции В-клеток в центрах размножения после связывания антигена. Этот процесс протекает гораздо эффективнее в тех случаях, когда В-клетки стимулируются антигеном или иммунными комплексами, покрытыми комплементом.

3. Методы обнаружения антигенов и антител.

Первый этап взаимодействия антигена с антителом сам по себе не имеет видимых проявлений. Для его обнаружения используют разного рода метки (флюоресцентные красители, ферменты, изотопы и др.). Обычно метят антитела; при их связывании с материалом, содержащим антиген (клетками, веществами, фиксированными на носителе и др.), на нем удается обнаружить метку. Этот подход лежит в основе разнообразных тестов, широко используемых в исследовательской и клинико-лабораторной практике. Традиционно его комбинировали с гистологическим или электронно-микроскопическим исследованием фиксированного биологического материала (срезов).

В последние годы широкое распространение получило определение мембранных молекул клеток с помощью моноклональных антител, меченных флюорохромами; определение в этом случае осуществляют методом проточной цитофлюорометрии. Созданы новые высокочувствительные методы регистрации связывания антигенов антителами, фиксированными на поверхностях, в основу которых положена оценка трансформации энергии связывания в физические сигналы (биосенсорные системы).

Другая группа методов основывается на оценке второго этапа реакции антиген – антитело, проявляющегося в образовании иммунного комплекса с разнообразными физико-химическими и биологическими последствиями. Основное из этих проявлений — формирование преципитата. Еще в те времена, когда структура антител и их валентность были неизвестны, анализ реакции преципитации

(количественная преципитация по Гейдельбергеру), позволил сформулировать основные иммунохимические закономерности. Реакция количественной преципитации послужила важнейшим источником информации о свойствах антител, когда иные методы их изучения были недоступны.

Тогда же была создана теория решетки, согласно которой в основе формирования преципитата лежат бивалентность антитела и поливалентность антигена. В результате при взаимодействии антигена с малым количеством антител формируются комплексы из одиночных пар молекул. Эти комплексы растворимы. По мере увеличения количества антител возникает возможность не только каждой молекуле антитела связывать две молекулы антигена, но и разным молекулам антитела взаимодействовать с одной молекулой антигена. В результате формируется молекулярная решетка, не способная «удержаться» в растворе и формирующая преципитат. Размер решетки и объем преципитата увеличиваются с нарастанием дозы антител (при постоянной концентрации антигена). В зоне эквимоллярных соотношений (когда в жидкости над преципитатом не удастся обнаружить ни антигена, ни антител), а также при некотором избытке антител объем преципитата максимален. Дальнейшее добавление антител приводит к своеобразной блокаде молекулы антигена: антиген оказывается связанным с обеими валентностями нескольких антител. Это препятствует формированию решетки и сопровождается образованием относительно небольших растворимых комплексов состава Ag_4Ab_3 , Ag_3Ab_2 или Ag_2Ab . Такие представления, в основном, подтвердились, хотя и были уточнены во многих деталях.

В настоящее время методы, основанные на преципитации, продолжают использоваться в экспериментальной и клинической иммунологии. Примером может служить метод радиальной диффузии, позволяющий оценивать концентрацию антигена по радиусу кольца преципитации. Кольцо формируется при диффузии антигена из лунки в агар, содержащий антитела. На иммунопреципитации основаны многие современные методы иммунохимического анализа, например осаждение моноклональными антителами клеточных лизатов с последующим электрофоретическим анализом преципитированного материала. Преципитация лежит в основе широко распространенного в настоящее время метода иммуноблоттинга, при котором комплекс белков разделяют электрофорезом, переносят в целлюлозу и «проявляют», осаждавая антителами. В обоих этих случаях удается определить молекулярную массу изучаемых молекул и другие их свойства.

Другой подход к регистрации реакции антиген — антитело основан на феномене агглютинации. Его сущность в том, что при взаимодействии частиц (в том числе клеток, например, эритроцитов), суспендированных в растворе, с антителами происходит перекрестное связывание, которое приводит к формированию агрегатов частиц. Стабильность суспензии частиц, поддерживаемая их взаимным электростатическим отталкиванием, нарушается, и формируется агглютинат, обнаруживаемый визуально. В реакции агглютинации используют как нативные клетки, так и клетки (или другие частицы), нагруженные антигенами (непрямые варианты метода).

Практическое применение реакции агглютинации:

- идентификация штаммов *E. coli*, сальмонелл, бруцелл с применением моноспецифических сывороток,
- обнаружение специфических антител в сыворотке крови.

Третий подход к выявлению второй фазы взаимодействия антиген – антитело основан на лизисе клеток, с поверхностью которых связались антитела, в присутствии комплемента. Для осуществления реакции лизиса требуется перекрестное сшивание антителами мембранных молекул. Этот подход лежит в основе реакций гемолиза и лимфоцитотоксичности.

Лекция 6

Факторы неспецифической резистентности

1. Защитная функция кожи и слизистых оболочек.

Для большинства микроорганизмов, в том числе патогенных, неповрежденная кожа и слизистые оболочки служат барьером, препятствующим их проникновению внутрь организма. Постоянное слущивание верхних слоев эпителия, секреты сальных и потовых желез способствуют удалению микроорганизмов с поверхности кожи. Однако кожа представляет собой не только механический барьер, она обладает также бактерицидными свойствами, связанными с действием молочной и жирных кислот, различных ферментов, выделяемых потовыми и сальными железами. Поэтому микроорганизмы не входящие в число постоянных обитателей кожных покровов быстро исчезают с ее поверхности.

Еще более выраженными защитными функциями обладают конъюнктивы глаза, слизистые оболочки носоглотки, дыхательного, желудочно-кишечного и мочеполового трактов. Слезы, моча и секреты, выделяемые слизистыми, слюнными и пищеварительными железами, не

только смывают микроорганизмы с поверхности слизистых оболочек, но и оказывают бактерицидное действие, обусловленное содержащимися в них ферментами, в частности лизоцимом.

Защитные функции кожи и слизистых не ограничиваются неспецифическими механизмами. На поверхности слизистых, в секретах кожных, молочных и других желез присутствуют секреторные иммуноглобулины, обладающие бактерицидными свойствами и активирующие местные фагоцитирующие клетки. Кожа и слизистые принимают активное участие в антиген-специфических реакциях приобретенного иммунитета. Их относят к самостоятельным компонентам иммунной системы.

2. Роль нормальной микрофлоры в защите от инфекции.

Для возникновения инфекционного процесса важное значение наряду со свойствами возбудителя имеет состояние макроорганзма. Оно определяется сложным комплексом факторов и механизмов, тесно связанных между собой, и характеризуется как восприимчивость (чувствительность) или невосприимчивость (резистентность) к инфекции. Неспецифическую противoinфекционную защиту организма осуществляют кожные и слизистые покровы, внутренние барьеры организма, лимфатические образования во всех тканях и в виде самостоятельных органов – лимфатических узлов, фагоцитирующие клетки в естественные киллеры, а также гуморальные факторы - лизоцим, белки острой фазы, комплемент, интерферон и другие цитокины. Важнейшим фактором неспецифической защиты является нормальная микрофлора кожи и слизистых. Часть упомянутых факторов действует постоянно (лизоцим), другие – только после активации (комплемент), либо после стимуляции продуцирующих их клеток (интерферон).

Нормальная микрофлора человека играет важную роль в защите организма от патогенных микроорганизмов. Представители нормальной микрофлоры участвуют в неспецифической защите заселенных ими участков желудочно-кишечного, дыхательного, мочеполового трактов, кожных покровов. Обитающие в определенных биотопах микроорганизмы препятствуют адгезии и колонизации поверхностей тела патогенными микроорганизмами. Защитное действие нормальной микрофлоры может быть обусловлено конкуренцией за питательные вещества, изменением рН среды, продукцией колицинов и других активных факторов, препятствующих внедрению и размножению патогенных микроорганизмов.

Нормальная микрофлора способствует созреванию иммунной системы и поддержанию ее в состоянии высокой функциональной активности, так как компоненты микробной клетки неспецифически стимулируют клетки иммунной системы. Существенная защитная и иммуностимулирующая роль нормальной микрофлоры выявляется тогда, когда гнотобионты (животные, выращенные в стерильных условиях) погибают после инфицирования непатогенными микробами.

Лечение антибиотиками при котором меняется состав нормальной микрофлоры, существенно осложняющие заболевание. В случаях нарушения состава биотопов или при существенном снижении естественной иммунной защиты организма заболевания могут вызвать и представители нормальной микрофлоры организма.

3. Воспалительная реакция. Медиаторы, лизины.

Воспаление – сосудисто-тканевая реакция, в развитие которой выделяют три стадии:

- альтерацию – повреждение клеток и тканей,
- экссудацию — выход жидкости и клеток крови из сосудов в ткани и органы,
- пролиферацию (или продуктивную стадию) – размножение клеток и разрастание ткани, в результате чего и происходит восстановление целостности ткани (репарация ДНК).

Первым этапом воспалительной реакции является появление в тканевой жидкости веществ, называемых медиаторами воспаления: гистамин, серотонин, брадикинин, простагландины и лейкотриены, компоненты комплемента С3а и С5а, плазмин, цитокины.

В кровеносной системе в районе формирующегося очага воспаления изменяется просвет кровеносных сосудов, что увеличивает количество притекающей к месту воспаления крови. В то же время проницаемость стенок капилляров изменяется таким образом, что из кровотока в тканевую жидкость проникает гораздо больше, чем в норме, воды, ионов солей и белков плазмы крови. Такие изменения в кровеносных сосудах лежат в основе проявления видимых симптомов воспаления – покраснения и отечности, что характерно для второго этапа воспаления – сосудистой реакции.

Поскольку некоторые из медиаторов воспаления являются хемоаттрактантами для лейкоцитов, через стенки капилляров в очаг воспаления активно мигрируют фагоцитирующие клетки, главным образом нейтрофилы и моноциты. Миграция осуществляется в первые же минуты воспаления, и по мере увеличения их числа в тканях возрастает и количество выделяемых уже этими клетками медиаторов

воспаления в ответ на контакт с вызвавшим воспаление фактором, т. е. имеет место лавинообразное усиление воспалительной реакции.

Переходящие в очаг воспаления нейтрофилы и моноциты практически сразу проявляют свои фагоцитирующие свойства, что со временем приводит к уменьшению количества кислорода (гипоксии) и сдвигу рН в кислую сторону (ацидозу) в воспаленной ткани. Такие изменения в тканевой жидкости совместно с активно осуществляемым фагоцитозом должны приводить к элиминации вызвавшего воспаление агента. Попавшие в очаг воспаления белки плазмы крови также обеспечивают защитный эффект. Белки системы комплемента и иммуноглобулины оказывают прямое характерное для них воздействие на чужеродный агент и стимулируют, проявляя себя в качестве опсопинов фагоцитоза.

Воспалительная реакция создает условия для максимального проявления других защитных механизмов. Их совокупное действие и приводит к устранению причин, вызвавших воспаление, после чего происходит третья фаза воспаления – постепенное исчезновение симптомов воспаления и восстановление нарушенных воспалением функций подвергшегося атаке органа или ткани. Реализующиеся в ходе воспаления защитные конститутивные механизмы могут проявлять себя и вне рамок воспалительной реакции и рассматриваются как отдельные. Условно их можно разделять на клеточные и гуморальные. Одним из наиболее ярко проявляющихся клеточных защитных механизмов является фагоцитоз.

4. Этапы фагоцитоза.

Основные фагоцитирующие клетки организма млекопитающих еще со времен их открытия разделены на микро- и макрофаги. Эти клетки развиваются из стволовых кроветворных клеток красного костного мозга, дающих при делении стволовую миелоидную клетку. Стволовая миелоидная клетка является предшественником всех не относящихся к лимфоцитам клеток крови и в зависимости от воздействующих на нее гуморальных факторов (цитокинов) в дальнейшем способна развиваться в гранулоцитарно-моноцитарную клетку. Последняя же имеет два потенциальных пути развития - либо в монобласт (моноцитарную клетку), являющуюся предшественником моноцитов, либо в миелобласт (гранулоцитарную клетку) – прародительницу гранулярных лейкоцитов.

Монобласты, при воздействии таких гуморальных факторов, как моноцитарно-макрофагальный КСФ и частично интерлейкин-6, превращаются в промоноциты, а те – в моноциты. Этот этап развития

имеет среднюю продолжительность 50-60 часов, но в кровотоке моноциты попадают еще через 13-26 часов, которые уходят на окончательное формирование всех поверхностных молекул, необходимых для транспортировки по кровеносным сосудам и последующего проникновения в ткани. Считается, что моноциты непосредственно в крови находятся не более 4-х суток и большая их часть уже на вторые сутки перемещается через стенки капилляров, превращаясь в тканевые макрофаги.

Отличительной чертой макрофагов является их способность к активному движению, что обусловлено особыми свойствами их цитоскелета и наличием на их поверхности еще одной группы специализированных молекул - рецепторов для хемокинов (хемокинами называют различные вещества, способные побудить фагоцитирующую клетку к движению в определенном направлении). Главными фагоцитирующими клетками среди микрофагов являются нейтрофилы. Они, как и другие гранулоциты, развиваются в красном костном мозге из миелобластов. На поверхности нейтрофилов также присутствуют рецепторы бактериальных липополисахаридов (CD 14), рецепторы для хемокинов и интерлейкинов. Нейтрофилы эффективнее всех других клеток отвечают на хемотаксические стимулы, поэтому их количество в месте запуска воспалительной реакции увеличивается в 100 раз уже через две минуты после введения активного чужеродного агента.

Эозинофилы способны осуществлять внеклеточный цитолиз, выделяя из своих гранул переведенный при определенной активации в жидкое состояние щелочной белок. Благодаря такой активности, например, осуществляется борьба с некоторыми паразитами, которых невозможно фагоцитировать сразу (паразитические черви). Базофилы и происходящие от них тучных клеток выбрасывать содержимое своих гранул при воздействии на эти клетки антигенов, комплементарных закрепленных на их поверхности иммуноглобулинов, и тем самым выступать в качестве основных эффекторов гиперчувствительности немедленного типа. В случаях же первичного проникновения чужеродных агентов во внутреннюю среду организма именно базофилы и тучные клетки, как уже указывалось выше, определяют развитие воспаления как защитной реакции.

Процесс фагоцитоза может различаться в некоторых деталях у различных групп фагоцитов, но общая схема его осуществления является следующей. Первый этап – хемотаксическое перемещение фагоцитирующей клетки к объекту фагоцитирования. Аттрактантами для фагоцитов могут являться как вещества, выделяемые проникшим во

внутреннюю среду чужеродным агентом, так и вещества, появившиеся в тканевой жидкости в результате воздействия чужеродного агента на клетки организма. Для этих веществ на поверхности фагоцитирующих клеток имеются специфические рецепторы, присоединение к которым действующего агента вызывает изменение связанного с рецепторами белка G. На мембране фагоцита в большом количестве интегрины и усиливается продукция катепсинов, коллагеназы и эластазы. Чужеродный агент в это время опсонизируется, т. е. к его поверхности прикрепляются молекулы системы комплемента и иммуноглобулины класса G, комплементарные антигенным детерминантам чужеродного агента. От того, насколько эффективно произойдет опсонизация, зависит следующий этап фагоцитоза – связывание фагоцита и чужеродного объекта.

Подобного рода связывание (часто называемое адсорбцией или адгезией) может происходить тремя способами. В том случае, когда чужеродный агент еще не успел опсонизироваться, его прикрепление к мембране фагоцита происходит в результате неспецифических взаимодействий. В частности, это может быть прилипание либо за счет лектиноподобной активности поверхностных молекул наружной мембраны грамотрицательных бактерий, либо за счет имеющихся на поверхности фагоцита интегринов. Два других способа связывания обеспечиваются специфическими взаимодействиями и реализуются в тех случаях, когда чужеродная частица опсонизирована.

Следующим этапом фагоцитоза является формирование фагосомы. Активация начинается с диссоциации связанного с рецепторами внутриклеточного белка G, который в диссоциированном состоянии активирует фосфолипазу C, катализирующую распад фосфоинозитидов до диацилглицерина и инозитол-3-фосфата. Под влиянием последнего начинается мобилизация из внутриклеточных депо ионов Ca^{2+} , а диацилглицерин в присутствии ионов кальция активирует протеинкиназу C. Под воздействием последней происходит перемещение белков цитоскелета к рецепторам, связанным с адгезированной частицей, и в данном месте клетки возникают псевдоподии, охватывающие частицу. Внутри псевдоподии низкомолекулярный G-актин полимеризуется в нитевидный F-актин, из которого формируются цитофиламенты псевдоподии. Вследствие сокращения этих филаментов и изменения вязкости цитоплазмы за счет сшивания актиновых филаментов специальным белком актиногелином возникает зона повышенной жесткости цитоплазмы, что обеспечивает ее локальное вдавливание в области контакта с фагоцитируемой

частицей. При этом частица полностью охватывается мембраной фагоцита и происходит замыкание ее по принципу застешки «молния».

Далее происходит превращение фагосомы в фаголизосому благодаря объединению с ней имеющихся в цитоплазме фагоцитирующей клетки лизосом. Начавшаяся при адгезивном контакте чужеродной частицы и фагоцита активация ведет к развитию так называемого кислородного (или дыхательного) взрыва. Под этим понимают происходящее с обязательным участием молекулярного кислорода и развивающееся в течение нескольких секунд после поглощения частицы образование химических продуктов, обладающих сильно выраженным окислительным действием. В основе кислородного взрыва лежит ряд последовательно происходящих реакций, начинающийся с накопления значительных количеств восстановленного НАДФ в процессах превращения глюкозы, описанных как гексозомонофосфатный шунт. Присутствующий в мембране образовавшейся фагосомы фермент НАДФН-оксидаза активируется уже упоминавшейся выше протеинкиназой С и катализирует превращение молекулярного кислорода в супероксид-анион, при участии которого образуются еще несколько обладающих бактерицидной активностью агентов: перекись водорода, синглетный кислород и гидроксил-радикал. Считается, что после слияния фагосомы с лизосомами в сформированной фаголизосоме появляются миелопероксидаза, супероксиддисмутаза и каталаза. Под влиянием первой образуются дополнительные бактерицидные радикалы гипохлорит-анион и гипоиодит-анион, а каталаза и супероксиддисмутаза обеспечивают удаление избыточных количеств перекиси и супероксид-аниона, поскольку они опасны и для самой фагоцитирующей клетки.

5. Система комплемента и пути ее активации.

Еще на заре развития иммунологии было установлено, что лишённая клеток кровь (сыворотка) также обладает бактерицидными свойствами. Причем помимо открытых Берингом и Китасато относительно термоустойчивых белковых молекул, называемых антителами, в реализации бактерицидности сыворотки существенную роль играют термолабильные (теряющие активность при 56 С) белки, названные Паулем Эрлихом комплементом, т.е. «дополнительными» белками. Дальнейшее изучение этих белков, проведенное Жюлем Борде и его сотрудниками, показало, что эта фракция белков плазмы крови является как раз не дополнительной, а основной в разрушении

чужеродных клеток и что антитела лишь стимулируют деятельность этих белковых молекул.

С развитием в XX веке методов выделения и очистки белков удалось показать, что комплемент представляет собой совокупность последовательно взаимодействующих при определенных условиях специфических белков, присутствующих в плазме крови млекопитающих изначально и постоянно, и что действие этих белков на любые чужеродные клетки практически одинаково, исходя из чего систему комплемента и рассматривают как конститутивный фактор защиты организма. В настоящее время в систему комплемента включают 19 белков, условно разделяемых на группы в связи с их функциями.

Это белки так называемого классического пути активации, белки альтернативного пути активации, белки атакующего мембрану комплекса и регуляторные белки системы комплемента. Все эти белки продуцируются и секретируются в плазму крови моноцитами и гепатоцитами (клетками печени) и их количества в норме постоянны для млекопитающих конкретных видов. Первую группу составляют 6 белков, обозначаемых заглавной латинской буквой С (от лат. «*complement*») с соответствующим индексом: qrs, C1q, C1r C1s, C2, C4, C3. Последний белок является ключевым для активации системы комплемента, которая может происходить двумя путями.

Первый – спонтанная активация C3 достаточного взаимодействия с молекулой воды, что и происходит с небольшой частью находящихся в плазме крови молекул C3. Вторая возможность перехода молекулы C3 в активированное состояние заключается в ферментативном отщеплении небольшого фрагмента α -цепи, которое способны осуществлять C3-конвертазы обоих путей активации системы комплемента. Удаление из C3-молекулы участка с массой 10 килодальтон, получившего название C3a, имеет такой же конечный эффект, как и описанное выше присоединение к тиоэфирной связи молекулы воды – оставшийся фрагмент C3b также получает ярко выраженное сродство к амино- и гидроксигруппам.

Лекция 7

Специфическая резистентность

1. Иммунный ответ как индуцибельный защитный механизм.

Наиболее характерными признаками иммунной системы, отличающими ее от других систем организма, являются:

- способность дифференцировать все «свое» от всего «чужого»;
- создание памяти от первичного контакта с чужеродным антигенным материалом;
- клональная организация иммунокомпетентных клеток, проявляющаяся в способности отдельного клеточного клона реагировать только на одну из множества антигенных детерминант.

Специфический (приобретенный) иммунитет проявляется всегда, когда конкретный организм приходит в контакт с тем или иным антигенно чужеродным материалом, будь то микроорганизмы, трансплантаты, мутационно измененные собственные клетки или простые химические соединения, которым приданы иммуногенные свойства.

Приобретенный постинфекционный иммунитет создается в онтогенезе и по наследству не передается. Этот вид иммунитета обусловлен гуморальными и тканевыми факторами высокой специфичности — иммуноглобулинами и иммунокомпетентными клетками. Его образование индуцируется антигенами патогенных микроорганизмов.

Характерной особенностью приобретенного иммунитета является его индуцибельность. В условиях нормы выраженность и функциональная активность клона лимфоцитов незначительны. Специфические антитела либо полностью отсутствуют, либо их количество крайне мало. В то же время контакт организма с антигеном провоцирует как усиленную продукцию соответствующих антител, так и нарастание и функциональное созревание специфического клона клеток.

Образующиеся в ответ на антиген иммуноглобулины (антитела) составляют основу гуморального иммунитета. Они образуются В-лимфоцитами. Основу клеточного иммунитета составляют Т-лимфоциты, которые под влиянием антигена превращаются в сенсibilизированные клетки. Образованные под влиянием антигена иммуноглобулины и сенсibilизированные Т-лимфоциты взаимодействуют со специфическим (вызвавшим их образование) антигеном и тем самым выполняют функции защиты. Одновременно с

образованием плазматических клеток и сенсibilизированных Т-лимфоцитов образуются клетки иммунологической памяти, которые при повторном контакте со специфическим антигеном ускоряют и усиливают иммунный ответ.

Иммунные реакции направлены на денатурацию, элиминацию (отторжение) или уничтожение антигена. При хронических бактериальных и вирусных инфекциях, трансплантации, аутоиммунных заболеваниях решающее значение имеют реакции клеточного иммунитета, а при острых инфекционных заболеваниях – реакции гуморального иммунитета.

Образование антител как иммунная реакция на антигены происходит в лимфоидной ткани периферических органов иммунитета, главным образом в лимфатических узлах и белой пульпе селезенки. Продуцентами антител являются плазмциты.

Синтез антител начинается с захвата антигенов макрофагами локализации их в тимусзависимой зоне и в стенках лимфатических синусов, сопровождаясь общим нарастанием клеточности лимфоузлов, увеличением; в них центров размножения с большим количеством митотически делящихся лимфоцитов, появлением вокруг них и в медуллярных тяжах плазматических клеток.

В первые сутки после введения антигена резко снижается выход лимфоцитов из лимфатических узлов, а в последующие 3-4 дня, наоборот, значительно возрастает и ведет к интенсивной миграции (расселению) стимулированных лимфоцитов через кровь во все лимфоидные ткани.

2. Формирование клонов плазматических клеток и клеток иммунной памяти.

Развитие клона плазмцитов от плазмобласта до зрелой формы занимает 5-6 суток. Жизненный цикл плазмцитов, продуцирующих тот или иной вид антител, не превышает 48 ч. Весь путь развития В-лимфоцитов от стволовой кровяной клетки до плазмцита включает несколько этапов, каждый из которых характеризуется своим клеточным типом. Всего вычленено 7 таких типов:

1) стволовая кровяная клетка — общий предшественник для всех ростков дифференцировки лимфоидного ряда;

2) общий лимфоидный предшественник для Т- и В-клеточного пути развития – наиболее ранняя лимфоидная клетка, для которой еще не определилось одно из двух направлений развития;

3) ранняя про-В-клетка – ближайший потомок предыдущего клеточного типа и предшественник последующих, продвинутых в дифференцировке клеточных типов (приставка "про" от англ. "progenitor");

4) поздняя про-В-клетка;

5) пре-В-клетка – клеточный тип, окончательно вышедший на В-клеточный путь развития (приставка "пре" от англ. "precursor");

6) незрелая В-клетка – завершающая костномозговое развитие клеточная форма, которая активно экспрессирует поверхностный иммуноглобулин и находится в стадии отбора на способность взаимодействовать с собственными антигенами;

7) зрелая В-клетка – клеточный тип периферии, способный взаимодействовать только с чужеродными антигенами;

8) плазматическая клетка – эффекторная, антитело продуцирующая клеточная форма, которая образуется из зрелой В-клетки после ее контакта с антигеном.

Оставшаяся после отрицательного отбора на аутореактивность часть популяции незрелых В-клеток подвергается дальнейшему развитию на периферии. Еще не встречавшиеся с чужеродным антигеном В-клетки мигрируют по кровеносным сосудам в периферические лимфоидные органы. Здесь они формируют первичные фолликулы лимфатических узлов и селезенки, являющиеся составной частью так называемой В-зоны этих органов.

Часть В-клеток мигрирует в лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником, известную как пейеровы бляшки. В этой лимфоидной ткани концентрируются в основном В-клетки, продуцирующие секреторный IgA. Мигрирующие на периферию В-клетки не остаются на месте постоянно и по истечении определенного времени пребывания *in situ*, если не произошло их стимуляции антигеном, вступают в процесс рециркуляции.

Основной фенотип большинства зрелых В-клеток неотличим от незрелых, за исключением экспрессии иммуноглобулиновых рецепторов (IgM – у незрелых В-клеток; IgM и IgD – у зрелых В-клеток периферии).

Среди зрелых В-клеток имеется отличающаяся по ряду свойств субпопуляция, клетки которой характеризуются наличием специфического рецептора CD5. CD5+В-клетки возникают в течение эмбриогенеза и остаются во взрослом состоянии благодаря способности к самообновлению. В постнатальный период формирование данного типа клеток от стволовой кроветворной клетки не происходит, а их

присутствие у взрослых является формой «онтогенетического атавизма». Одно из определяющих свойств данных клеток – это низкая специфичность их антиген распознающих иммуноглобулиновых рецепторов и способность реагировать в основном с общими полисахаридными антигенами бактерий. Реакция на общие бактериальные антигены имеет значение в раннем периоде формирования иммунитета как один из способов срочной мобилизации антибактериальной защиты.

3. Механизм распознавания антигенов. Процессинг антигена.

Иммунная реакция организма может иметь различный характер, но всегда начинается с захвата антигена макрофагами крови и тканей или же со связывания с внешними мембранами отростчатых и ретикулярных клеток стромы лимфоидных органов. Нередко антиген адсорбируется также на клетках паренхиматозных органов. В макрофагах он может полностью разрушаться, но чаще подвергается лишь частичной деградации. В частности, большинство антигенов в течение часа в лизосомах фагоцитов подвергается ограниченной денатурации и протеолизу, или, как чаще говорят, процессингу. Оставшиеся от них пептиды (как правило, 9-10, 12-25 остатков аминокислот), называемые номинальным антигеном, компенсируются с экспрессированными на внешней мембране макрофагов молекулами МНС класса II. В отростчатых и ретикулярных клетках антиген тоже процессируется, но может оставаться, как на паренхиматозных клетках, в нативном виде. В случае процессинга во всех этих вспомогательных клетках трансформированный антиген в зависимости от его природы комплексируется с молекулами МНС класса II или МНС класса I.

Макрофаги и все другие вспомогательные клетки, несущие на внешней мембране антигены, называются антиген презентующими. Выполняя функцию презентации (лат. *presentatio* – представление, предъявление), они позволяют быстро распознавать антиген. Распознают его Т- и В-лимфоциты. Ввиду различий рецепторного аппарата В-клетки реагируют с одними детерминантами, а Т-клетки – с другими. Механизм взаимодействия рецепторов Т-лимфоцитов изучен недостаточно. Комплекс сцепленных генов, основное предназначение которых – контроль различных функциональных проявлений иммунной реактивности, называется главный комплекс гистосовместимости. Первоначально было обнаружено, что гены комплекса контролируют реакцию тканевой несовместимости, отсюда и название всего комплекса. В настоящее время известны значительно более широкие функции генов МНС.

Первые опыты, которые легли в основу открытия главного комплекса гистосовместимости, были выполнены в самом начале века. Любители-селекционеры, используя близкородственное скрещивание, поддерживали в ряду поколений мутантных мышей с нарушением вестибулярного аппарата, так называемых японских танцующих мышей. Они представляли собой, вероятно, первую инбредную линию животных. Спонтанная опухоль, возникшая у одного из животных этой линии, успешно приживалась у всех особей данной линии, но отторгалась при ее трансплантации белым лабораторным мышам. После установления наследственной основы несовместимости началась целенаправленная работа по выведению инбредных линий животных для целей экспериментальной онкологии.

Работая с кроличьей антисывороткой к эритроцитам мыши, Gorer обнаружил антиген и условно обозначил его римской цифрой II. Наличие данного антигена на эритроцитах мыши-реципиента и перевиваемой опухоли обеспечивало приживание и развитие опухолевого трансплантата. При различиях по антигену II опухоль отторгалась. Так был обнаружен первый антиген гистосовместимости.

Изучение экспрессии молекул I и II классов МНС на различных типах клеток выявило более широкое тканевое распространение молекул I класса в сравнении с молекулами II класса. Если молекулы I класса экспрессируются практически на всех изученных клетках, то молекулы класса II экспрессируются в основном на иммунокомпетентных клетках или клетках, принимающих относительно неспецифическое участие в формировании иммунного ответа, таких как клетки эпителия. Особое место занимает вопрос о связи антигенов МНС с заболеваниями. При некоторых формах неинфекционных заболеваний частота отдельных антигенов среди больных значительно выше, чем в популяции здоровых людей. Четких механизмов подобной корреляции установить не удается.

До начала 60-х годов было известно лишь одно свойство антигенов МНС — выступать в качестве фактора, инициирующего реакции отторжения чужеродного трансплантата. Тогда же многие понимали, что это свойство является побочным и не отражает полностью функционального предназначения комплекса. Обращает на себя внимание тот факт, что большинство из известных генов МНС предназначены для реализации иммунных реакций на разных уровнях развития процесса. Во-первых, они принимают непосредственное участие в инициации иммунного ответа, контролируя молекулы, представляющие антиген в иммуногенной форме для его распознавания

цитотоксическими и хелперными Т-клетками. Во-вторых, в МНС локализованы гены, контролирующие синтез иммунорегуляторных и эффекторных молекул — цитокинов ФНО- α , ФНО- β , а также некоторых компонентов комплемента.

4. Кооперация иммунокомпетентных клеток.

Иммунный ответ в виде антителообразования происходит при распознавании В-клеткой антигена, который индуцирует ее пролиферацию и дифференциацию в плазмоцит. Прямое воздействие на В-клетку без участия Т-клеток могут оказать только тимуснезависимые антигены. По механизму стимулирующего действия их разделяют на два типа:

- тип 1, к которому относятся бактериальные липополисахариды,
- тип 2, в состав которого входят не подвергающиеся деградации полисахариды стрептококков, полимеры D-аминокислот и др.

Тимуснезависимые антигены типа 1 стимулируют деление В-клеток неспецифически, воздействуя, как митогены, на какие-то структуры поверхностных мембран. Антигены типа 2 с многократно повторяющимися детерминантами реагируют с иммуноглобулиновыми рецепторами В-клеток. При этом в специфическом механизме активации В-клеток, кроме этих антигенов, участвуют макрофаги, выделяя неизвестной природы факторы, стимулирующие их деление и трансформацию в плазмоциты.

В иммунном ответе В-клеток на тимусзависимые антигены с ними кооперируют Т-хелперы и макрофаги.

Это происходит потому, что Т-зависимые антигены:

- 1) не обладают собственной митогенной активностью на В-клетки;
- 2) не распознаются в нативном виде;
- 3) быстро деградируют в фагоцитах до пептидов и распознаются хелперами в комплексе с молекулами МНС класса 2, которые располагаются на макрофагах;
- 4) связываются гаптенной группой с рецепторами В-клетки, а белком-носителем – с рецепторами хелпера,

Механизм этого распознавания сложный. Ключевую роль в нем имеют молекулы МНС класса II, так как рецепторы Т-хелперов распознают номинальный антиген не сам по себе или его структуру в мембране, а комплекс в целом или же модифицированные номинальным антигеном молекулы МНС, которые приобрели чужеродность.

Распознав антиген, Т-хелперы секретируют γ -интерферон, который активирует макрофаги и способствует уничтожению захваченных ими микроорганизмов. Хелперный эффект на В-клетки проявляется пролиферацией и дифференциацией их в плазмоциты. Этот сигнал активации В-клетки получают после того, как связываются с гаптенем антигена, носитель которого сцеплен с рецептором Т-хелпера. Сигнал для синтеза антител в В-клетку может поступать при непосредственном контакте ее рецепторов с комплементарными рецепторами Т-хелперов, если такие, конечно, имеются. Не исключено, что в В-клетку, сшитую с Т-хелпером посредством антигена, сигнал стимуляции передается в виде растворимого медиатора. Медиатором В-клетки могут активироваться дистанционно от хелпера, связанного с аналогичным антигеном. Антителогенез регулируется Т-супрессорами. Индукторами супрессоров являются те же хелперы, впоследствии испытывающие эффект обратного воздействия. В целом супрессоры регулируют пролиферацию В-клеток, блокируют выработку аутоантител и обеспечивают толерантность к собственным тканям.

5. Влияние гуморальных факторов на клетки, обеспечивающие иммунный ответ.

Процессы кооперативных взаимодействий иммунокомпетентных клеток, начиная с момента распознавания антигена и кончая образованием эффекторных клеток, независимо от характера иммунного ответа обуславливаются особыми веществами с медиаторными свойствами, которые секретируются Т-хелперами, Т-киллерами, мононуклеарными фагоцитами и некоторыми другими клетками, участвующими в реализации клеточного иммунитета. Вещества, активирующие и координирующие взаимодействие Т-клеток, ранее называли лимфокинами (греч. *kineo* – возбуждать) или интерлейкинами (лат. *inter* – взаимно и греч. *leukos* – белые); стимулирующие В-клетки или макрофаги – факторами; индуцирующие образование и дифференциацию других кроветворных клеток – гемопоэтинами (греч. *haima* – кровь и *poiesis* – выработка). Сейчас всех их называют цитокинами.

Известно, что стрессовые ситуации могут служить причиной подавления иммунных функций организма, например снижения его способности преодолевать инфекции. Имеются многочисленные данные, указывающие на взаимодействие между нервной, эндокринной и иммунной системами. В общем виде два основных пути, посредством которых процессы, происходящие в центральной нервной системе,

могут отражаться на иммунной функции, состоят в следующем. Большая часть лимфоидных тканей имеет прямую симпатическую иннервацию – как кровеносных сосудов, проходящих через лимфоидную ткань, так и непосредственно самих лимфоцитов.

Нервная система прямо или опосредованно контролирует секрецию различных гормонов, в частности кортикостероидов, гормона роста, тироксина и адреналина. Лимфоциты экспрессируют рецепторы для многих гормонов, медиаторов и нейропептидов, включая рецепторы для стероидов, катехоламинов, энкефалинов, эндорфинов и др. Степень экспрессии рецепторов и клеточная реактивность варьируют у различных популяций лимфоцитов и моноцитов, в связи с чем эффект разных медиаторов также варьирует в зависимости от условий. Однако применительно к иммунной системе особое значение имеет регуляция, опосредованная кортикостероидами, эндорфинами и энкефалинами – агентами, высвобождающиеся при стрессе и обладающие иммуносупрессивным действием *in vivo*.

Эффекты эндорфинов *in vitro* существенно различаются в зависимости от экспериментальной системы и дозы; в одних дозах они оказывают супрессивное влияние, в других — усиливают иммунный ответ. Однако одним из важных факторов, регулирующих иммунный ответ по механизму обратной связи, служат, несомненно, кортикостероиды. Установлено, что сами лимфоциты способны реагировать на кортикотропин, синтезируя собственный АКТГ, который в свою очередь индуцирует секрецию кортикостероидов.

По имеющимся данным, кортикостероиды ингибируют продукцию цитокинов Тх1-клетками, не влияя на Тх2-ответ. Кроме того, они индуцируют образование фактора, который может подавлять иммунный ответ. Установлено, что цитокины, в частности ИЛ-1 и ИЛ-6, действуют в обоих направлениях, играя роль модуляторов взаимодействия этих двух систем. Данные цитокины служат мощными стимуляторами продукции кортикостероидов надпочечниками благодаря своему влиянию на кортикотропин-рилизинг-гормон. Помимо того, что ИЛ-1 продуцируют макрофаги, а ИЛ-6 – Т-клетки, способностью к синтезу обоих этих цитокинов обладают нейроны и клетки глии, а также клетки, локализованные в гипофизе и надпочечниках. Это еще раз подчеркивает важную роль данных цитокинов как медиаторов двунаправленного действия при реакции организма на стресс.

Генетическая регуляция иммунного ответа. Хорошо известно, что разные индивиды неодинаково реагируют на один и тот же антиген.

Резистентность или чувствительность к инфекции может быть наследуемым признаком. В пользу этого свидетельствуют и данные, полученные на морских свинках разных линий, неодинаково резистентных к дифтерии; различия были определены как генетически детерминированные. В 1943 г. Фьёрд Шайбель в исследованиях по селекции линий морских свинок с высокой и низкой иммунореактивностью продемонстрировал, что продукцию дифтерийного антитоксина контролирует один ген и она наследуется как доминантный менделевский признак. В этом исследовании впервые был установлен также доминантный тип наследования высокой иммунореактивности. В потомстве первого поколения, полученном от скрещивания животных с высокой иммунореактивностью, 90% особей продуцировали антитоксин, тогда как при скрещивании низкорезирующих свинок лишь в пятом поколении удалось получить 90% животных с низкой иммунореактивностью. Способность отвечать на антиген зависит от гаплотипа МНС.

Получение инбредных, или чистых, линий мышей позволило более глубоко исследовать влияние генетических факторов и окончательно доказать их роль в иммунологической реактивности. Мыши с различными гаплотипами МНС различаются по способности к гуморальному ответу на специфические антигены. Эта функция зависит от МНС-молекул класса II и специфична для каждого антигена: линия с высоким уровнем ответа на один антиген может на другие отвечать слабо. Гены МНС, как было установлено, выполняют наиболее важную роль в регуляции ответа на инфекционные агенты.

6. Взаимосвязь между факторами неспецифической и специфической защиты организма.

Между факторами неспецифической резистентности и специфическими иммунными реакциями существуют тесная связь и взаимодействие. Так, антигены, прежде чем проникнуть в организм, должны преодолеть механические и физико-химические барьеры. Если эти барьеры преодолены, на пути антигена возникает третий мощный барьер в виде клеточной реакции (фагоцитоз) и многочисленных гуморальных факторов (комplement, интерферон, защитные белки крови). В случае прорыва третьего барьера (например, фагоцитирующие клетки не полностью разрушают антиген) фрагменты антигена (его детерминанта) передаются системе Т- и В-клеток для распознавания и включения одной или нескольких специфических реакций иммунитета с целью полной нейтрализации и обезвреживания антигена.

В зависимости от природы и характера антигена на каждом из этапов (барьеров) включаются наиболее эффективные формы реагирования и иммунореагенты. При необходимости обезвреживания токсинов (дифтерийного, столбнячного) основную роль играют антитела (антитоксины), для защиты от многих живых бактерий (возбудителей чумы, туберкулеза и др.) – фагоцитоз, для противодействия клеткам злокачественных опухолей — цитотоксические Т-лимфоциты. В других случаях, например при многих вирусных инфекциях (грипп, корь и др.), иммунитет имеет гуморально-клеточный характер.

Конечным результатом взаимодействия антигена с организмом человека являются восстановление гомеостаза, формирование специфической невосприимчивости организма (иммунитет), иммунологическая память к данному антигену, толерантность (устойчивость) к антигену. Неблагоприятным последствием является приобретение повышенной чувствительности к антигену (аллергия).

Фазы развития иммунного ответа.

1. Латентная фаза – происходит распознавание антигена при взаимодействии макрофагов, Т- и В-лимфоцитов и превращение В-лимфоцитов в плазматические клетки, которые начинают синтезировать специфические антитела, но антитела еще не выделяются в кровь.

2. Логарифмическая фаза – антитела выделяются плазматическими клетками в лимфу и кровь и их количество постепенно увеличивается.

3. Стационарная фаза – количество антител достигает максимума.

4. Фаза снижения уровня антител – количество антител постепенно уменьшается.

При первичном иммунном ответе (антиген впервые попадает в организм) латентная фаза длится 3 – 5 суток, логарифмическая – 7 – 15 суток, стационарная – 15 – 30 суток, фаза снижения – 1 – 6 мес. и более. При первичном иммунном ответе вначале синтезируются Ig M, а затем Ig G, позже Ig A.

При вторичном иммунном ответе (антиген попадает в организм повторно) длительность фаз изменяется: более короткий латентный период (неск. часов – 1-2 дня), более быстрый подъем антител в крови до более высокого уровня (выше в 3 раза), более медленное снижение уровня антител (в течение нескольких лет). При вторичном иммунном ответе сразу же синтезируются Ig G.

Эти различия между первичным и вторичным иммунным ответом объясняются тем, что после первичного иммунного ответа образуются

В- и Т-клетки памяти о данном антигене. Клетки-памяти вырабатывают рецепторы к этому антигену, поэтому сохраняют способность реагировать на данный антиген. При его повторном попадании в организм более активно и быстро формируется иммунный ответ.

Лекция 8

Иммунитет к инфекционным заболеваниям и его формы

Выделяют наследственный и приобретенный антимикробный иммунитет. Наследственный иммунитет (естественный, врожденный, неспецифический) передается по наследству, в ряду многих поколений. По направленности действия на генетически чужеродную метку (клетки, молекулы) наследственный иммунитет можно подразделить на три вида – противоопухолевый, антимикробный и трансплантационный, как частное, искусственное проявление антимутогенного механизма выживания. Приобретенный антимикробный иммунитет вырабатывается в процессе жизни в природных условиях (естественный) или вызывается искусственным путем (искусственный). Постинфекционный иммунитет – возникает у человека в результате заболевания или неяркого инфицирования. Приобретенный искусственный иммунитет подразделяют на активный и пассивный. Активный создается вакцинами, а пассивный – иммунными сыворотками и гамма-глобулинами.

1. Основные факторы вирулентности микробов.

Под факторами вирулентности понимают приспособительные механизмы возбудителей инфекционных болезней к меняющимся условиям макроорганизма, синтезируемые в виде специализированных структурных или функциональных молекул, при помощи которых они участвуют в осуществлении инфекционного процесса. По функциональному значению их разделяют на четыре группы:

1) микробные ферменты, деполимеризующие структуры, препятствующие проникновению и распространению возбудителя в макроорганизме;

2) поверхностные структуры бактерий, способствующие закреплению их в макроорганизме;

3) поверхностные структуры бактерий, обладающие антифагоцитарным действием;

4) факторы патогенности с токсической функцией.

2. Особенности иммунитета при различных инфекциях и состояниях.

Реакция макроорганизма на антигены достаточно однотипна, так как она ограничена набором факторов иммунной защиты и физиологическими возможностями макроорганизма. Однако в зависимости от природы антигена иммунная система необязательно должна включать для его устранения все механизмы и факторы защиты — достаточно использовать лишь наиболее эффективные в отношении конкретного антигена. Поэтому характер иммунного реагирования макроорганизма имеет свои особенности при воздействии различных по природе и свойствам антигенов.

Иммунная реакция макроорганизма в ответ на бактериальную инфекцию в значительной степени определяется факторами патогенности микроба, в том числе его способностью к токсинообразованию. Различают антибактериальный (против структурно-функциональных компонентов бактериальной клетки) и антитоксический (против белковых токсинов) иммунитет.

Основными факторами антибактериальной защиты в подавляющем большинстве случаев являются антитела и фагоциты. Антитела инактивируют биологически активные молекулы бактериальной клетки, маркируют их, запускают механизм комплементзависимого бактериолиза и участвуют в иммунном фагоцитозе. Фагоциты осуществляют фагоцитоз, в том числе иммунный, внеклеточный киллинг патогена при помощи ион-радикалов и антителозависимый бактериолиз.

Некоторые бактерии, относящиеся к факультативным внутриклеточным паразитам, отличаются повышенной устойчивостью к действию комплемента, лизоцима и фагоцитов. К ним относятся микобактерии туберкулеза, возбудители лепры, бруцеллы, сальмонеллы и др. В отношении этих микробов антитела и фагоциты недостаточно эффективны, а сам инфекционный процесс имеет склонность к хроническому течению. В такой ситуации макроорганизм вынужден переключать нагрузку на клеточное звено иммунитета: активируются Т-лимфоциты (в том числе Т-киллеры), что ведет к аллергизации организма и формированию специфической реакции ГЗТ.

3. Особенности противовирусного иммунитета.

Иммунную защиту макроорганизма при вирусных инфекциях осуществляет противовирусный иммунитет. Его особенности обусловлены двумя формами существования вируса: внеклеточной и

внутриклеточной. Основными факторами, обеспечивающими противовирусный иммунитет, являются специфические антитела, Т-киллеры, интерферон и сывороточные ингибиторы вирусных частиц. Основу противовирусного иммунитета составляют неспецифические факторы естественной невосприимчивости, эффективность которых в процессе инфицирования организма возрастает и дополняется выработкой α - и β -интерферонов, вируснейтрализующих антител, а главное, активацией Т-лимфоцитов. В связи с этим различают два типа невосприимчивости против вирусов:

1) естественную (видовую, наследственную), связанную с врожденной или возрастной устойчивостью организма к определенным вирусным инфекциям, и

2) приобретенную, создающуюся после перенесения болезни, инфицирования или искусственной иммунизации.

Специфические противовирусные антитела способны взаимодействовать только с внеклеточным вирусом, внутриклеточные структуры прижизненно для них недоступны. Антитела нейтрализуют вирусную частицу, препятствуя ее адсорбции на клетке-мишени, инфицированию и генерализации процесса, и обеспечивают иммунный фагоцитоз «маркированных» вирусных частиц. Специфические антитела также связывают вирусные белки и нуклеиновые кислоты, которые попадают в межклеточную среду и секреты после разрушения зараженных вирусами клеток.

Клетки, инфицированные вирусом и приступившие к его репликации, экспрессируют вирусные белки на поверхности цитоплазматической мембраны в составе молекул антигенов гистосовместимости – HLA I класса. Изменение структуры этих антигенов гистосовместимости служит сигналом для активации Т-киллеров. Последние специфически распознают клетки макроорганизма, зараженные вирусом и приступившие к биосинтезу его компонентов, и уничтожают их.

Мощным противовирусным действием обладает интерферон. Он не влияет непосредственно на внеклеточный и внутриклеточный вирус, а адсорбируется на мембране клеток и индуцирует ферментные системы, подавляющие синтез компонентов вируса. Вырабатывается всеми клетками организма человека и животных, в том числе нейронами, но в наибольшей мере макрофагами и лимфоцитами.

Бурная выработка ИНФ I типа начинается вслед за проникновением вируса в организм в местах входных ворот. Продолжительность образования интерферона зависит от времени

репродукции вируса в клетках, в частности после введения живой гриппозной вакцины составляет 5-7 дней, а после пероральной вакцинации против полиомиелита – 21-28 дней. Индуцирует образование интерферона вирионная нуклеиновая кислота. Искусственными стимуляторами могут быть синтетические полианионы, полисахариды и полинуклеотиды. В отличие от антител ИНФ I типа обладают широким спектром антивирусного действия, подавляют размножение не только инфекционных, но и онкогенных вирусов. Однако полиэтиологическая антивирусная активность интерферонов ограничена тем видом животного, клетки которого его выработали. Даже в организме родственных видов противовирусная эффективность ИНФ I типа почти полностью утрачивается. Исключение составляют ИНФ I типа человека, активные также в организме кролика.

4. Особенности иммунитета при протозойных инфекциях.

Противопаразитарный иммунитет изучен недостаточно. Известно, что паразитарная инвазия сопровождается формированием в макроорганизме гуморального и клеточного иммунитета. В крови определяются специфические антитела классов M и G, которые чаще всего не обладают протективным действием. Активируется также звено T-киллеров, что проявляется усилением аллергизации макроорганизма – реакции ГЗТ (реакции IV типа) на протозойные антигены. Активируется также фагоцитоз. Характер противопаразитарного иммунитета определяется структурными и функциональными особенностями паразита, и его жизненного цикла при инвазии макроорганизма. Многие паразиты обладают большой антигенной изменчивостью, что позволяет им избегать действия факторов иммунитета. Например, каждой стадии развития плазмодия малярии соответствуют свои специфические антигены. Напряженность противопаразитарного иммунитета оценивают в серологических тестах по титру специфических антител и в кожно-аллергических пробах с протозойным антигеном.

5. Взаимосвязь между факторами неспецифической и специфической защиты организма.

Между факторами неспецифической резистентности и специфическими иммунными реакциями существуют тесная связь и взаимодействие. Так, антигены, прежде чем проникнуть в организм, должны преодолеть механические и физико-химические барьеры. Если эти барьеры преодолены, на пути антигена возникает третий мощный

барьер в виде клеточной реакции (фагоцитоз) и многочисленных гуморальных факторов (комплемент, интерферон, защитные белки крови). В случае прорыва третьего барьера (например, фагоцитирующие клетки не полностью разрушают антиген) фрагменты антигена (его детерминанта) передаются системе Т- и В-клеток для распознавания и включения одной или нескольких специфических реакций иммунитета с целью полной нейтрализации и обезвреживания антигена.

В зависимости от природы и характера антигена на каждом из этапов (барьеров) включаются наиболее эффективные формы реагирования и иммунореагенты. Так, при необходимости обезвреживания токсинов (дифтерийного, столбнячного) основную роль играют антитела (антитоксины), для защиты от многих живых бактерий (возбудителей чумы, туберкулеза и др.) — фагоцитоз, для противодействия клеткам злокачественных опухолей — цитотоксические Т-лимфоциты. В других случаях, например при многих вирусных инфекциях (грипп, корь и др.), иммунитет имеет гуморально-клеточный характер. Конечным результатом взаимодействия антигена с организмом человека являются восстановление гомеостаза, формирование специфической невосприимчивости организма (иммунитет), иммунологическая память к данному антигену, толерантность (устойчивость) к антигену. Неблагоприятным последствием является приобретение повышенной чувствительности к антигену (аллергия).

Лекция 9

Вакцины и сыворотки

Приобретенный антимикробный иммунитет вырабатывается в процессе жизни в природных условиях (естественный) или вызывается искусственным путем (искусственный). Постинфекционный иммунитет — возникает у человека в результате заболевания или неяркого инфицирования. Приобретенный искусственный иммунитет подразделяют на активный и пассивный. Активный создается вакцинами, а пассивный — иммунными сыворотками и γ -глобулинами.

1. Патогенность и вирулентность.

Проблема создания относительно безопасных и надежных прививок против натуральной оспы была решена благодаря гениальной прозорливости Э. Дженнера, которого наука по праву считает основоположником эмпирической вакцинопрофилактики. Научные

основы создания и применения предохранительных прививок из живых микробов разработал Л. Пастер, показав возможность резкого ослабления (аттенуации) вирулентности микробов без существенного снижения антигенности при естественном старении культур, выращивании на необычных средах, путем воздействия на них неблагоприятных факторов окружающей среды или пассирования возбудителей инфекционных болезней через организм невосприимчивых животных. Используя эти методы, Л. Пастер получил вакцины против куриной холеры, сибирской язвы и бешенства.

Чтобы возникла инфекционная болезнь, необходимо наличие возбудителя, обладающего патогенностью вообще и вирулентностью в частности. Одинаковы ли эти понятия? Патогенность микроба — видовой генетический признак, его потенциальная возможность вызвать при благоприятных условиях инфекционный процесс. По этому признаку все существующие микроорганизмы подразделяют на патогенные, условно-патогенные и сапрофиты. Фактически все возбудители инфекционных болезней являются патогенными, но далеко не все из них способны вызвать инфекционную болезнь, чтобы это произошло, микроорганизм, хотя и принадлежащий к патогенному виду, должен обладать вирулентностью. Поэтому нельзя ставить знак равенства между патогенностью и вирулентностью.

Микроорганизм считается вирулентным, если он при внедрении в организм животного, даже в исключительно малых дозах, приводит к развитию инфекционного процесса. Никто не сомневается в патогенности сибиреязвенной бациллы, между тем среди культур этого микроба изредка, но встречаются авирулентные штаммы, не способные вызвать заболевания у овец и даже кроликов. Бактерии рожи свиней принадлежат к патогенному виду, но немало разновидностей этого микроба было выделено из организма совершенно здоровых свиней, индеек, рыб.

Патогенность – видовое свойство возбудителя, характеризующее его способность размножаться и вызывать те или иные патологические изменения в организме без дополнительной адаптации. В вирусологии понятие патогенность относится к типу вируса и означает, что данное свойство представлено у всех штаммов (изолятов) этого типа. Понятию патогенность не противоречит тот факт, что высокоаттенуированные штаммы практически утратили многие отличительные черты своего типа, т. е. оказались лишенными способности к патологическому воздействию на организм хозяина. Патогенность обычно описывается только качественными признаками

Вирулентность – это степень патогенности конкретного микроорганизма. Ее можно измерить. За единицу измерения вирулентности условно приняты летальная и инфицирующая дозы. Минимальная смертельная доза – это наименьшее количество живых микробов или их токсинов, вызывающее за определенный срок гибель большинства взятых в опыт животных определенного вида. Но поскольку индивидуальная чувствительность животных к патогенному микробу (токсину) различна, то была введена безусловно смертельная доза, вызывающая гибель 100 % зараженных животных. Наиболее точной является средняя летальная доза – LD 50, т. е. наименьшая доза микробов (токсинов), убивающая половину животных в опыте. Для установления летальной дозы следует принимать во внимание способ введения возбудителя, а также массу и возраст подопытных животных, например, белые мыши – 16–18 г, морские свинки – 350 г, кролики — 2 кг. Таким же образом определяют инфицирующую дозу (ID), т. е. количество микробов или их токсинов, которое вызывает соответствующую инфекционную болезнь.

Высоковирулентные микроорганизмы способны вызвать заболевание животных или человека в самых малых дозах. Так, например, известно, что 2—3 микобактерии туберкулеза при введении в трахею вызывают у морской свинки туберкулез со смертельным исходом. Вирулентные штаммы сибиреязвенной бациллы в количестве 1—2 клеток могут вызвать смерть у морской свинки, белой мыши и даже крупного животного.

У одного и того же микроорганизма вирулентность может значительно колебаться. Это зависит от ряда биологических, физических и химических факторов, воздействующих на микроорганизм. Вирулентность микроорганизма можно повысить или понизить искусственными приемами.

Длительное выращивание культур вне организма на обычных питательных средах, выращивание культур при максимальной температуре (опыты Л. Пастера и Л. С. Банковского), добавление к культурам антисептических веществ (двухромовокислый калий, карболовая кислота, щелочь, сулема, желчь и т. д.) ослабляют вирулентность микроорганизмов.

Пассирование (последовательное проведение) возбудителя какой-либо инфекционной болезни через определенный вид животного от зараженного к здоровому, например возбудителя рожи свиней через организм кролика, ослабляет вирулентность для свиней, но усиливает ее

для самих кроликов. Действие бактериофага (биологический фактор) может привести к ослаблению вирулентности микроорганизмов.

Усиление вирулентности под действием протеолитических ферментов можно наблюдать у *Cl. perfringens* при естественной ассоциации с возбудителями гниения (например, сарцинами) или при искусственном воздействии ферментом животного происхождения (например, трипсином).

Вирулентность микроорганизмов связана с токсигенностью и инвазивностью. Токсигенность (греч. *toxicum* – яд и лат. *genus* – происхождение) – способность микроба образовывать токсины, которые вредно действуют на макроорганизм, путем изменения его метаболических функций. Инвазивность (лат. *invasio* – нашествие, нападение) – способность микроба преодолевать защитные барьеры организма, проникать в органы, ткани и полости, размножаться в них и подавлять защитные средства организма. Инвазионные свойства патогенных бактерий обеспечиваются за счет микробных ферментов (гиалуронидаза), капсул и других химических компонентов.

2. Вакцины.

Вакцины — это биологические препараты, предназначенные для создания у людей, животных и птиц иммунитета к инфекционным заболеваниям или реже — к ядам. Имеются корпускулярные и некорпускулярные вакцины. Корпускулярные вакцины содержат аттенуированные или убитые микробы (вирионы), некорпускулярные — продукты их химического расщепления (химические вакцины), обезвреженные экзотоксины бактерий или яды животного и растительного происхождения (анатоксины).

По числу антигенов, входящих в вакцину, различают моно- и поливакцины (ассоциированные), по видовому составу — бактериальные, риккетсиозные, вирусные. Кроме традиционных, широко апробированных в практике вакцин, созданы синтетические, рекомбинантные и антиидиотипические вакцины будущего.

Живые вакцины – это, как правило, моновакцины. Одни из них содержат ослабленные бактерии (бруцеллезная, туляремийная, чумная, сибиреязвенная, туберкулезная вакцины), другие – вирусы (против натуральной оспы, желтой лихорадки, бешенства, полиомиелита, гриппа, кори, эпидемического паротита). Живые вакцины более иммуногенны, чем другие, и обычно создают очень напряженный и длительный иммунитет вследствие того, что измененные штаммы (мутанты) сохраняют свойство размножаться (репродуцироваться) в

привитом организме, вызывая миниатюрную вакцинную инфекцию, сжатую в сроках течения и сглаженную по тяжести проявления. Например, противооспенная и туляремиальная вакцины обеспечивают устойчивость на протяжении 5-7 лет. Исключение составляет, пожалуй, только антигриппозная вакцина, создающая выраженный иммунитет на 6-8 месяцев. К недостаткам живых вакцин относится то, что они очень реактогенны (энцефалитогенны), обладают аллергическими свойствами, за счет остаточной вирулентности могут вызывать ряд серьезных осложнений, вплоть до генерализации вакцинного процесса и развития менингоэнцефалита.

Убитые вакцины используются в виде моно- и поливакцин для профилактики тифопаратифов, дизентерии, холеры, коклюша, лептоспироза, сыпного тифа, гриппа, полиомиелита, клещевого энцефалита. Лептоспирозная и антигриппозная вакцины, включающие несколько разновидностей (сероваров) возбудителя, – поливалентные. Убитые вакцины мало иммуногенны и создают непродолжительный иммунитет сроком до года, вероятно, потому что в процессе их изготовления происходит денатурация антигенов.

Химические вакцины – это полные антигены микробов, очищенные от балластных веществ. Применяются для профилактики брюшного тифа, паратифов А и В (вакцина ТАВtесо столбнячным анатоксином), коклюша, туберкулеза. Разрабатываются методы получения вакцин из протективных и рибосомальных антигенов. Реактогенность хорошо очищенных химических вакцин ничтожно мала. По профилактической эффективности они превосходят убитые.

Анатоксины (столбнячный, дифтерийный, гангренозные, ботулинический, стафилококковый) относительно мало реактогенны, создают напряженный и длительный иммунитет до 4-5 лет и более.

Предназначаются вакцины для создания активного индивидуального и коллективного иммунитета. Для изготовления вакцин применяют химические соединения – формалин, ацетон, фенол, мертиолат, хинозол; физические агенты – УФ-облучение, ультразвук, повышенную температуру; биологические факторы – антибиотики и фаги. В частности, анатоксины получают по методу Г. Рамона, который для детоксикации бактериальных экзотоксинов предложил прибавлять к ним 0,3–0,8 % формалина с последующим выдерживанием на протяжении 3–4 недель при температуре 37–42 °С. Для получения живых вакцин вирулентные микробы и вирусы обычно пассируются через организм невосприимчивых животных, куриный эмбрион, культуры клеток. При этом происходит направленное изменение

биологических свойств и утрата ими вирулентности. Нередко в процессе изменчивости в бактериальных и вирусных популяциях появляются мутанты, которые используют как вакцинные штаммы. Убитые бактериальные вакцины готовят по методу В. Колле, для чего микробы выращивают на плотных средах, смывают, стандартизируют, обезвреживают химическими соединениями (ацетоновые, формол-, фенолвакцины и т. п.) или нагреванием (гретые вакцины).

Для лечения вялотекущих инфекций, например хронического фурункулеза и пиодермий стафилококковой этиологии, в бактериологической лаборатории можно приготовить гретую аутовакцину. Для этого гной фурункула засевают на пластинчатый агар и на следующие сутки колонии стафилококка пересевают на скошенный агар (I этап). Чистую культуру стафилококка на скошенном агаре смывают изотоническим раствором натрия хлорида, взвесь прогревают на водяной бане при температуре 70 °С в течение 1 ч и отсевают на питательный агар для проверки стерильности (II этап). С помощью стандарта мутности, изготовленного из пирексгекла, взвесь стафилококка разводят до соответствующей концентрации и вновь проверяют на стерильность (III этап).

Пути введения Вакцины вводят в организм подкожно, внутривенно, подкожно, реже – через рот и нос. Широкое распространение может получить массовая вакцинация с помощью безыгольных инъекторов. С той же целью разрабатывается аэрогенный способ одновременной аппликации вакцины на слизистые оболочки верхних дыхательных путей, глаз и носоглотки.

Живые вакцины, кроме полиомиелитной, применяются однократно, убитые корпускулярные, химические вакцины и анатоксины вводятся два-три раза с интервалами от 7–10 до 25–40 дней. Ввиду того что многократная вакцинация не обеспечивает высокого охвата населения прививками, применяются депо-вакцины. В качестве депонирующих веществ используют минеральные коллоиды, чаще всего гели гидроксида алюминия или фосфата алюминия, масла, сложные адьюванты типа Фрейнда, которые не только адсорбируют, удлиняют период воздействия антигенов, но и являются неспецифическими стимуляторами антителогенеза.

Вакцинацию проводят по эпидемическим показаниям (при возникновении заболеваний) и в плановом порядке. Так, на первом году жизни детей прививают против туберкулеза (в роддоме на 5–7-й день), полиомиелита (в 3 мес.), коклюша, дифтерии и столбняка (на 4–5-м мес.) и кори (по достижении года).

3. Иммунные сыворотки (γ -глобулины).

Сыворотка – жидкая часть крови, лишенная фибриногена. Она образуется при свертывании крови и отделении плазмы от сгустка и форменных элементов. Сыворотки бывают нормальные и иммунные, гомологичные, полученные от человека, и гетерологичные, или чужеродные, полученные от иммунизированных животных. По целевому назначению иммунные сыворотки подразделяют на диагностические и лечебно-профилактические, а по характеру содержащихся в них антител – на антитоксические и антимикробные.

Диагностические сыворотки используются для идентификации патогенных микробов и других антигенов. С помощью лечебно-профилактических сывороток у человека и животных создается пассивный иммунитет. Надобность в нем возникает при инфицировании (серопротекция) или заболевании (серотерапия).

Антитоксические сыворотки нейтрализуют бактериальные экзотоксины и применяются для лечения и профилактики токсинемических инфекций. К ним относятся противодифтерийная, противоботулиническая, противостолбнячная, антигангренозная и антистафилококковая сыворотки.

Антимикробные сыворотки обезвреживают бактерии и вирусы. Лучшими из них являются вируснейтрализующие, в частности антикоревая, противооспенная, антирабическая, противоэнцефалитная, противополиомиелитная и противогриппозная сыворотки. Лечебно-профилактическая эффективность антибактериальных сывороток низка и они используются для профилактики коклюша, при лечении чумы, сибирской язвы и лептоспироза.

Антитоксические сыворотки титруются в антитоксических или международных единицах. За 1 АЕ (МЕ) принимают минимальное количество сыворотки, предохраняющее определенный вид животных от гибели при заражении специально подобранной дозой токсина. Например, 1 АЕ антидифтерийной сыворотки – это наименьшее ее количество, которое на протяжении 4 суток предохраняет от смерти морскую свинку массой 250 г, инфицированную 100 ДЛМ дифтерийного токсина.

Антибактериальные и противовирусные сыворотки не титруются. Лечебная доза определяется по объему, улучшающему состояние здоровья больных, что зависит от тяжести заболевания и возраста людей.

По направленности действия к различным группам микробов или токсинов иммунитет делят на антимикробный и антитоксический. В

свою очередь антимикробный иммунитет подразделяют на антибактериальный, антипаразитарный, противогрибковый и т. д. В качестве самостоятельного выделяют антивирусный иммунитет, отличающийся от других многими иммунологическими особенностями развития.

4. Получение сывороток для иммунологических реакций.

В сыворотке крови людей и животных содержатся в невысоких титрах естественные или нормальные антитела к некоторым микроорганизмам, к энтеробактериям и коккам, которые образуются, как полагают, в результате постоянных контактов организма с данными бактериями. В высоких титрах антитела к патогенным микроорганизмам обнаруживаются в сыворотке после активной иммунизации вакцинными препаратами или перенесения инфекционного заболевания. Причиной появления антител к Rh- и HLA-антигенам могут быть переливания несовместимой крови, а также естественная иммунизация матери антигенами плода при беременности.

Иммунные диагностические сыворотки – препараты, содержащие известные антитела для определения родовой, видовой и типовой принадлежности антигена. Их получают путем многократного введения животным антигенов в нарастающих дозах. Диагностикумы – препараты, содержащие известный антиген в виде взвеси живых или убитых бактерий, продуктов их расщепления, токсины, вирусы. В ряде случаев используют экстракты или выделенные химическим путем антигены из микроорганизмов и тканей животных.

Антисыворотки для иммунологических реакций должны отвечать следующим требованиям:

- специфичностью
- достаточным содержанием антител.

Поскольку сила иммунного ответа и его специфичность зависят от биологической близости животных, которые служат источником антигена и продуцентом антител, то при получении антисывороток необходимо тщательно выбирать экспериментальных животных.

К видоспецифическим антигенам лучшими продуцентами антисывороток будут филогенетически более отдаленные животные, а к антигенам, определяющим внутривидовые различия биополимеров, – филогенетически близкие животные.

Так, обезьяны представляют собой более удачный источник антисывороток к субклассам IgG2, IgG3, IgG4 человека, чем кролики, овцы и морские свинки. В то же время морские свинки больше, чем

обезьяны, пригодны для получения антисыворотки против IgG1 человека. Сила иммунного ответа у животных разных видов определяется также природой антигена. При иммунизации сложными в химическом отношении антигенными смесями кролики синтезируют антитела преимущественно к белковым антигенам, а мыши – к полисахаридным.

Более того, даже среди представителей одного биологического вида существуют индивидуальные различия в количестве и свойствах продуцируемых антител. Поэтому при получении антисыворотки к любому антигену необходимо одновременно иммунизировать несколько животных.

Выбор животных для иммунизации зависит также от количества имеющегося антигена и объема антисыворотки, который необходимо получить. В лабораторной практике обычно отдают предпочтение кроликам. Если требуются большое количество антисывороток, донорами служат более крупные животные – козы, овцы, ослы, лошади. Для изучения закономерностей развития иммунного ответа отбирают мелких животных – морских свинок, крыс, мышей.

Получение сыворотки с высокими титрами антител можно облегчить, учитывая механизмы регуляции гуморального иммунного ответа, в частности, феномен иммунологической памяти. Для вторичного ответа характерны укороченный латентный период, ускоренный подъем концентрации и более высокие титры антител, что обуславливается значительным увеличением количества клеток иммунологической памяти после первичной иммунизации и количества антителообразующих клеток при повторном введении антигена.

Первичный и вторичный ответы имеют различные количественные и качественные характеристики. При первичном ответе через короткий латентный период после введения антигена первыми продуцируются антитела класса М, а спустя несколько дней происходит переключение синтеза IgM на IgG. При вторичном ответе сразу после введения антигена вырабатываются антитела обоих классов с преобладанием IgG.

Способность индуцировать иммунный ответ по вторичному типу свойственно тимусзависимым антигенам (эритроциты барана, корпускулярный антиген стафилококка, сывороточные белки).

Иммунный ответ на большинство тимуснезависимых антигенов (пневмококковый полисахарид, декстран, жгутиковый флагеллин), ограничен продукцией антител класса М, IgG – антитела обнаруживаются лишь в отдельных случаях. Повторная иммунизация

этим антигенами не вызывает развития реакции по вторичному типу. Динамику образования IgM и IgG важно учитывать при получении иммунных сывороток, так как антитела этих классов, отличаясь по биологическим свойствам, по-разному проявляют себя в различных иммунологических тестах. Так, антитела класса M более активны в реакции агглютинации и лизиса, чем IgG.

Гуморальный иммунный ответ можно усилить, вводя антиген с адьювантом. Этот прием часто используют при получении антисывороток к слабоиммуногенным антигенам, индуцирующим синтез антител в низких титрах, а так же к веществам, не способным самостоятельно вызывать иммунный ответ. Адьювантами служат минеральные сорбенты и масла, целые бактериальные клетки, извлеченные из них химические вещества (пептидогликан, липополисахарид), некоторые синтетические соединения (полианионы, полинуклеотиды) или смесь веществ. Наиболее распространен при иммунизации растворимыми и корпускулярными антигенами полный адьювант Фрейнда, в состав которого входят ланолин, вазелиновое масло и убитые микобактерии туберкулеза.

Неадсорбированные сыворотки обладают высокими титрами антител, но способны давать групповые (перекрестные) реакции. Адсорбированные сыворотки отличаются строгой специфичностью действия (реагируют только с гомологичным антигеном). Сыворотки, содержащие антитела только к одному определенному антигену называются монорецепторными.

Получение моносpezifических антисывороток предполагает использование для иммунизации высокоочищенных антигенов, выделение которых связано с большими трудностями. Такие моносpezifические антисыворотки содержат антитела к различным детерминантам молекулы антигена, которые гетерогенны по классовой (подклассовой) принадлежности и авидности, поскольку синтезируются разными клонами лимфоцитов, вовлеченными в иммунный ответ.

Идентичными по всем характеристикам являются антитела к одной антигенной детерминанте, продуцируемые клеточным клоном, происходящим из одного лимфоцита, т. е. моноклональные антитела. Возможность выработки моноклональных антител в больших количествах появилась после внедрения в практику гибридомной технологии, при помощи которой получены гибридомы иммунных лимфоцитов и миеломных (опухолевых) клеток. Синтезируемые гибридомамимомоноклональные антитела служат идеальными реагентами

на конкретные антигенные субстанции и применяются в качестве диагностических, а также лечебных средств.

Этапы получения антисывороток. Антисыворотки получают в несколько этапов, включающих приготовление антигена, иммунизацию животных и оценку полученной антисыворотки. Для иммунизации животных готовят корпускулярные и растворимые антигены различной степени очистки в зависимости от задач исследования.

Получение антисыворотки, отвечающей предъявленным требованиям, во многом зависит от схемы иммунизации кратности, последовательности, сроков и способов введения определенных доз антигенов.

Дозы антигена, оказывающие наиболее интенсивное стимулирующее влияние на синтез антител, как правило, небольшие и составляют для мелких животных в среднем от 10⁸ до 10¹⁰ клеток (для корпускулярных антигенов) и от 10 до 100 мкг – для большинства белков человека.

Доза растворимого антигена определяется степенью его очистки (высокоочищенные антигены применяют в меньших количествах) и влияет на количество и качество синтезирующихся антител. Малые дозы индуцируют выработку высокоavidных антител, способных прочно связывать антиген.

Способы введения антигена могут быть различными. Наиболее высокие титры антител удается получить при внутривенной инъекции, так как в иммунный ответ включается селезенка, где находится большое количество антителообразующих клеток. В то же время внутрикожное, подкожное и внутримышечное введения обеспечивают медленное всасывание, что способствует длительному сохранению антигена в организме и более продолжительной стимуляции лимфоидной ткани. Поэтому при получении антисывороток часто комбинируют внутривенные и локальные инъекции.

Существуют различные схемы иммунизации, предполагающие инъекции постепенно увеличивающихся доз антигена или повторные циклы иммунизации с соблюдением определенных интервалов времени, продолжительность которых варьируют в зависимости от величины предыдущих доз.

Тестирование антисывороток. После завершения курса иммунизации определяют пригодность антисывороток при пробных кровопусканиях у животных. Оценивая специфичность антисывороток, необходимо учитывать, в каких методах предполагается их использовать. Высокой степенью специфичности должны обладать

антисыворотки, предназначенные для применения в высокочувствительных иммунохимических анализах, как, например, иммуноферментный, радиоиммунологический.

Количество иммунореагентов в реакциях выражают титром максимальным разведением сыворотки или антигена, при котором еще наблюдается реакция. Количество антител в антисыворотке устанавливают титрованием ее в соответствующей серологической реакции с гомологичным антигеном.

Хранение антисывороток. При удовлетворительных результатах тестирования проводят тотальное обескровливание животного или берут кровь в несколько приемов через определенные интервалы времени. В последнем случае животных можно повторно использовать для получения антисыворотки, проводя реиммунизацию небольшими дозами антигена через 30-60 дней после курса первичной иммунизации.

Из полученной крови выделяют сыворотку и при необходимости подвергают ее адсорбции и дальнейшей обработке. Более пригодны для исследования в высокочувствительных иммунологических методах не цельные антисыворотки, а их гамма-глобулиновые фракции, отдельные классы или Fab-фрагменты антител. Такие препараты, представляющие собой реагенты повышенного качества, получают путем многоступенчатого фракционирования антисывороток.

Лекция 10

Гиперчувствительность

1. Аллергия (гиперчувствительность).

Термин аллергия (греч. *alios* – другой и *ergon* – действие) ввел австрийский педиатр С. Пирке для определения изменений реагирования организма ребенка при инфекционных заболеваниях. Исходя из этого, в рубрику аллергий первоначально включали практически все явления повышенной и пониженной чувствительности к болезни и даже состояния, способствующие ее возникновению. Теперь под аллергией понимают неадекватный по силе иммунный ответ организма на определенное вещество-агент (аллерген), связанный с повышенной к нему чувствительностью (гиперчувствительностью) индивидуума (особи). Аллергия специфична и возникает при повторном контакте с аллергеном, вызвавшим изменение иммунореактивности организма.

Аллергия свойственна только теплокровным животным и особенно человеку. Сенсibilизация (от лат. *sensibilis* –

чувствительный), повышение реактивной чувствительности клеток и тканей. Понятие С. является основой, на которой построено все учение об аллергии (см.), или об аллергических заболеваниях: то или иное заболевание включается в группу аллергических, если в его возникновении и течении имеет место С. или если таковую по крайней мере можно предполагать. Кроме специфической аллергии С. имеет значение также и при параллергии (Мого и Keller), при которой аллерген (сенсibilизатор) и разрешающий фактор не идентичны, а отличны друг от друга.

Природа сенсibilизаторов, т. е. тех веществ и энергий, которые могут быть причиной изменения реактивной чувствительности организма, чрезвычайно разнообразна. Сюда входят различные факторы окружающего нас мира. Составные элементы воздуха и света, разнообразнейшие вещества животного и растительного царства, в том числе и продукты жизнедеятельности бактерий, различные проявления электрической и химической энергии и т. д. могут при известных обстоятельствах играть роль сенсibilизаторов. При этом отмечается разница в отношении к сенсibilизирующему действию между нормальным организмом и таковым с измененной уже реактивной чувствительностью.

Далеко не все из перечисленных факторов обладают способностью сенсibilизировать нормальный организм. Последняя присуща главным образом протеинам. В отношении других агентов такой способности доказать пока не удалось. Организм с уже измененной реактивной чувствительностью легко может подвергнуться сенсibilизации (вторично) под влиянием самых различных агентов, даже неспецифических, не способных дать тот же эффект у индивидов с нормальной реактивной чувствительностью. Вместе с тем в организме, сенсibilизированном уже каким-нибудь агентом, реактивная чувствительность вообще становится лабильной, вследствие чего дальнейшие колебания чувствительности легко возникают под влиянием самых разнообразных причин. При этих условиях инсоляция напр. может вызвать такие реактивные процессы на коже (крапивница, экзема, дерматиты), какие не наблюдаются в коже нормального индивида при той же силе воздействия того же фактора.

2. Реакции гиперчувствительности.

Определенные формы антигена при повторном контакте с организмом могут вызвать реакцию, специфическую в своей основе, но включающую неспецифические клеточные и молекулярные факторы

острого воспалительного ответа. Известны две формы повышенной реактивности: гиперчувствительность немедленного типа и гиперчувствительность замедленного типа. Первый тип реакции проявляется при участии антител IgE, которые цитотропны по отношению к тучным клеткам и базофилам – продуцентам медиаторов воспаления, а также IgG. Второй тип реализуется с помощью Т-клеток воспаления (Th1) как основных эффекторов реакции, обеспечивающих накопление в зоне воспаления макрофагов.

1. Впервые гиперчувствительность замедленного типа наблюдал немецкий бактериолог Р.Кох. Введение туберкулезных бацилл в кожу зараженного туберкулезом животного вызывает через 1-2 суток сильное местное воспаление с образованием гранулем. У интактных животных такая инъекция приводит лишь к очень слабой кратковременной реакции.

2. В 1902 г. Рише и Портье, изучая антитоксический иммунитет к яду морской анемоны, описали феномен анафилактического шока. Повторное внутривенное введение предварительно иммунизированным собакам яда в количестве, значительно меньшем летальной дозы, приводило к развитию острой системной реакции, проявляющейся в спазме сосудов, коллапсе и гибели животных. Введение яда в кожу иммунизированным животным провоцировало только местную реакцию воспаления.

3. Артус описал одну из форм местной аллергической реакции. Исследователь работал с нетоксическими формами антигена. Первая инъекция такого антигена в кожу либо не вызывала реакции, либо она была очень слаба. Повторное введение того же антигена в ряде случаев приводило к интенсивной инфильтрации места инъекции полиморфноядерными лейкоцитами, геморрагической реакции, некрозу сосудов.

4. Еще один феномен, связанный с аллергической реакцией, был обнаружен при широком применении лошадиных антидифтерийных и антистолбнячных сывороток для лечения соответствующих заболеваний. Введение значительного количества этих сывороток на поздних этапах лечения иногда приводит к системной реакции, сопровождающейся повышением температуры, высыпанием, крапивницей, а в ряде случаев – поражением суставов и почек. Феномен получил название сывороточной болезни, так как связан с образованием антител к белкам вводимой сыворотки.

Способность развивать все эти аллергические реакции в интактном организме можно инициировать с помощью переноса

сыворотки от больных доноров. Причем сенсibilизированный подобным способом реципиент при введении разрешающей дозы аллергена разовьет столь же быстрый ответ повышенной чувствительности, что и донор сыворотки.

Если гиперчувствительность немедленного типа можно передать с помощью сыворотки, то инициировать гиперчувствительность замедленного типа в интактном организме возможно только при адаптивном переносе жизнеспособных лимфоидных клеток от сенсibilизированного донора. Как и у донора, время развития реакции замедленного типа у пассивно сенсibilизированного реципиента достигает 1-2 суток. Эти первые результаты ясно указывали на то, что в основе двух типов повышенной чувствительности лежат разные механизмы.

3. Природа и классификация аллергенов.

Аллергию вызывают многочисленные факторы окружающей среды, но чаще химические вещества, обладающие свойствами иммуногенов и гаптенов. Все аллергены делят на экзо- и эндогенные. Экзогенные А., с которыми контактирует человек, в свою очередь подразделяют на аллергены неинфекционного и инфекционного происхождения. Среди неинфекционных аллергенов различают бытовые, эпидермальные (перхоть, шерсть, волосы), лекарственные (пенициллин, сульфаниламиды и др.), промышленные (формалин, бензол), пищевые. Отдельно выделяют поллинозы, вызываемые цветочной пылью растений. Самыми сильными сенсibilизирующими свойствами среди аллергенов инфекционного происхождения обладают аллергены грибов, бактерий и вирусов. Аллергии могут возникать при переохлаждении, перегревании, других резких изменениях организма, связанных с действием на человека производственных и метеорологических факторов.

4. Гиперчувствительность немедленного типа.

В основе возникновения реакций ГНТ лежит процесс взаимодействия между IgE и аллергеном. В иммунологической фазе аллерген реагирует с цитотфильными IgE и свободноплавающими в крови и межтканевой жидкости IgG, При этом аллергические антитела могут иметь характер преципитинов, осаждающих аллергены. В патохимической фазе, наступающей вслед за образованием иммунных комплексов на тучных клетках и базофилах, высвобождаются гистамин, гепарин, хемотаксические факторы нейтрофилов и эозинофилов,

простогландины и другие медиаторы, которые повышают проницаемость капилляров и слизистых оболочек, способствуют всасыванию аллергенов в ткани и развитию воспалительной реакции. Усиливают воспалительный процесс, воздействуя на тучные клетки и нейтрофилы, малые пептиды С3а и С5а, отщепляющиеся от соответствующих фракций комплемента в процессе одновременно происходящей его активации. При этом нарушается активность ферментных систем, может изменяться коллоидный состав и свертываемость крови.

Патофизиологическая фаза является следствием биохимических сдвигов в организме и непосредственного воздействия на клетки и ткани иммунных комплексов. Выражается она в виде отека слизистых оболочек и кожных покровов, покраснения и припухлости, удушья в результате спазма гладкой мускулатуры бронхов (астма), припухлости и болезненности суставов (сывороточная болезнь), других местных воспалительных реакций, а при резких нарушениях деятельности сердечно-сосудистой системы – внезапно возникающим анафилактическим шоком.

В качестве примера можно взять реакцию на пыльцу растений (сенную лихорадку). Первая встреча с аллергеном не приводит к проявлению каких-либо признаков повышенной чувствительности. Однако проникшая через дыхательные пути пыльца сенсibiliзирует организм через активацию как В- так и Т-клеток. Продукция антител класса IgE начинается после распознавания аллергена В-клетками и их взаимодействия с хелперными Т-клетками (Тн2), секретирующими интерлейкин-4. Как уже отмечалось ранее, этот цитокин обеспечивает переключение внутриклеточного синтеза иммуноглобулинов В-клетками на продукцию IgE. Образовавшийся IgE взаимодействует с соответствующим рецептором (FcR) на поверхности тучных клеток. На этой стадии завершается сенсibiliзация организма после первичной встречи с аллергеном. Когда пыльца растения того же вида вновь попадает в дыхательные пути, белки такой пыльцы проникают через эпителий в подслизку, где они взаимодействуют с предсуществующим на поверхности тучных клеток IgE. Факт образования комплекса антиген-антитело на мембране тучных клеток является сигналом к активному выбросу медиаторов этими клетками, что вызывает быстрое развитие симптома, получившего название аллергический ринит, или сенная лихорадка.

5. Гиперчувствительность замедленного типа.

Гиперчувствительность замедленного типа — есть результат работы антигенспецифических CD4 Т-клеток воспаления.

Гиперчувствительность замедленного типа:

- 1) развивается в течение многих часов или несколькими сутками после контакта с аллергеном;
- 2) вызывается после длительного воздействия инфекционных аллергенов и химических веществ;
- 3) возникает в самых разнообразных тканях с явлением альтерации (повреждения);
- 4) передается пассивно введением донору взвеси Т-лимфоцитов, а не сыворотки сенсibilизированных животных;
- 5) как правило, десенсибилизировать не удается.

Прототипом данной формы реагирования является туберкулиновая проба, до сих пор используемая в клинике инфекционных заболеваний.

Инфекционная аллергия Развитие инфекционной аллергии и природу ее иммунологической сущности описал Р. Кох. Повторно заражая морскую свинку микобактериями туберкулеза, он обнаружил необычно бурную на них реакцию больного животного. На месте подкожного введения суперинфицирующей дозы в считанные дни некротизировалась ткань, возникала язва и вместе с ее содержимым удалялись туберкулезные бактерии, что предупреждало их распространение в регионарные лимфоузлы и через кровь во внутренние органы свинки.

Подобное состояние гиперчувствительности характерно для многих инфекционных заболеваний, но интенсивность проявления этой аллергической реакции не имеет столь яркого характера, как при туберкулезе. Обычно гиперчувствительность возникает при хронических инфекциях, реже — при остропротекающих. Механизм реакций ГЗТ. Реакции ГЗТ обусловлены взаимодействием Т-лимфоцитов с соответствующим аллергеном, к которому имеются специфические рецепторы. В развитии ГЗТ выделяют те же три фазы реакций, что и при ГНТ. В иммунологической фазе аллерген реагирует с неиммунными лимфоцитами, которые в результате бластотрансформации превращаются в зрелые эффекторные тимоциты, способные узнавать «свой» аллерген. В патохимической фазе сенсibilизированные лимфоциты выделяют лимфотоксины, факторы, которые обуславливают хемотаксис и усиливают фагоцитоз, защищают фагоциты от повреждения, ингибируют миграцию макрофагов и др.

Патофизиологическая фаза выражается в развитии воспаления под влиянием медиаторов Т-лимфоцитов и непосредственного (прямого) их действия.

Последовательность событий, приводящих к проявлению реакции, складывается из следующих этапов.

1. Первичное внедрение антигена в организм приводит к накоплению специфических CD4 Т-клеток воспаления (Тн1).

2. При повторном подкожном проникновении антигена происходит его захват регионально локализованными тканевыми макрофагами. Эти антигенпрезентирующие клетки выводят фрагменты антигена в комплексе с молекулами II класса МНС на свою поверхность.

3. Предсуществующие антигенспецифические ТН1-клетки взаимодействуют с иммуногенным комплексом на поверхности макрофага — ключевое событие для последующего развития всей реакции ГЗТ. После прошедшего взаимодействия Т-клетки воспаления начинают секрецию целого набора цитокинов: фактора, подавляющего миграцию макрофагов (макрофагингибирующего фактора — МИФ), макрофагального хемотаксического фактора (МХФ), интерферона- γ и интерферона- ρ (ИФН- γ и ИФН- ρ), ФНО- ρ , интерлейкина-3 (ИЛ-3) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ).

4. Секретируемые цитокины обеспечивают собственно реакцию воспаления и, как следствие, ее визуальное проявление. МИФ и МХФ привлекают в зону проникновения антигена дополнительные фагоцитирующие клетки. ИФН- γ активирует макрофаги, которые усиливают продукцию медиаторов воспаления.

В результате первичной иммунизации накапливаются зрелые CD4 Т-клетки воспаления. При повторном введении антигена происходит его презентация в иммуногенной форме на поверхности макрофага. Зрелые CD4 Т-клетки, распознав антиген, начинают продукцию набора цитокинов, которые организуют очаг воспаления в зоне проникновения антигена.

ФНО- ρ определяет локальное тканевое повреждение и усиливает экспрессию адгезивных молекул на кровеносных сосудах зоны воспаления, способствуя тем самым более легкому поступлению дополнительных клеток воспаления. И, наконец, ИЛ-3 и ГМ-КСФ как факторы гемопоэтической дифференцировки обеспечивают созревание моноцитов из прекурсоров костного мозга. Вновь образующиеся моноциты-макрофаги, мигрируя в зону воспаления, компенсируют

убыль тех макрофагов, которые, выполнив свою функцию, разрушаются.

Все эти процессы, направленные на изоляцию патогена (или какого-либо иного антигена), завершаются за 24-48 часов формированием воспалительного очага. В заключение следует подчеркнуть, что провести резкую грань между реакциями ГНТ и ГЗТ невозможно. Вначале, по-видимому, формируется ГЗТ как Т-клеточная реакция организма на аллерген, а после выработки иммуноглобулинов – проявляется в виде ГНТ. Возможно, обе реакции развиваются параллельно и независимо одна от другой. В ответ на повторное воздействие аллергена у разных животных возникает то ГНТ, то ГЗТ либо обе реакции гиперчувствительности одновременно.

6. Патогенез и характер проявления анафилаксии и инфекционной аллергии

В возникновении различных типов аллергий ведущее значение принадлежит индивидуальной резистентности организма человека, т. е. склонности к развитию гиперчувствительности обусловлена его конституциональной особенностью. В процессе жизни этот особый характер реагирования может в значительной мере изменяться, что хорошо прослежено у людей разных возрастов в отношении пищевых аллергенов. Полное исчезновение пищевых идиосинкразий при половом созревании говорит, в пользу того, что определяющую роль в создании аллергического фона играют нервная и гормональная системы. О том же свидетельствует глубокая аллергическая перестройка организма при стрессовых ситуациях, многих соматических и нервных болезнях. Есть, однако, ряд аллергий, доминирующую роль в развитии которых играет характер аллергена. К ним в первую очередь относятся анафилаксии, в частности анафилактический шок, и инфекционная аллергия, являющиеся классическими реакциями гиперчувствительности немедленного и замедленного типов на разнообразные аллергены неинфекционного (белок животных) и инфекционного (микробные антигены) происхождения.

Анафилаксия (греч. *anaphylaxis* – беззащитность) представляет собой реакцию ГНТ, которая возникает при повторном парентеральном введении аллергена (анафилактогена), обычно сывороточного белка или антибиотика. Виды анафилаксии по признаку генерализации различают общую и местную анафилаксию, а по способу приобретения – активную и пассивную.

Общая анафилаксия проявляется как системная реакция, нарушающая жизнедеятельность всего организма, а местная — как локальная, ограниченная определенным участком кожи, ткани, органа. Активная анафилаксия является следствием выработки антител под влиянием аллергена, а пассивная — результатом пассивной передачи иммунных сывороток (иммуноглобулинов) от сенсibilизированных доноров.

Самой тяжелой формой общей (системной, активной) анафилаксии является анафилактический шок. Легче всего его вызвать у морских свинок, сенсibilизируя их лошадиной сывороткой. Вводят ее подкожно, внутривенно или внутривенно. Отмечено, что сенсibilизация животных происходит тем быстрее, чем меньше доза антигена. Эффективной дозой является даже 0,000001 мл сыворотки. Готовность животных отвечать анафилактическим шоком возникает спустя 9-12 дней инкубации и совпадает с моментом появления антител в крови.

Реализуется шок при соблюдении двух условий:

1) повторная доза сыворотки превышать сенсibilизирующую в 10 – 100 раз и быть не менее 0,1 мл;

2) для развития шока разрешающую дозу антигена необходимо вводить в кровоток (внутривенно или внутрисердечно).

Картина шока у животных одного и того же вида одинакова и не зависит от природы антигена, которым сенсibilизируют и воспроизводят анафилаксию. Так, у морской свинки при возникновении анафилактического шока вначале появляются возбуждение, одышка, затрудненное дыхание, далее, после конвульсивных прыжков и судорог, животное падает и погибает при явлениях непроизвольных дефекации и мочеиспускания. При вскрытии отмечают резкую эмфизему легких вследствие спазма гладкой мускулатуры бронхов, кровоизлияния в слизистые и серозные оболочки. У других животных внешние признаки анафилактического шока такие же, как у свинок, однако патологоанатомическая картина в связи с неодинаковым распределением в органах и тканях гладкой мускулатуры существенно различается. Так, у кроликов спазмируются легочные артерии и расширяется правый желудочек сердца, а у собак — печеночные вены, что приводит к застойным явлениям в печени и увеличению ее массы.

У человека при возникновении анафилактического шока учащается пульс, повышается температура тела, возникает одышка, появляются судороги, отеки, боли в суставах, высыпания, резко

нарушается деятельность сердечно-сосудистой системы. Смерть от анафилаксии наступает редко.

Наиболее часто острая аллергическая реакция в виде анафилактического шока проявляется к пенициллину. Он действует как гаптен. Введенный в организм пенициллин образует ковалентную связь с аминокислотной группой собственных белков пациента. Такой сформировавшийся конъюгат активизирует ответ Т-клеток к белковому носителю и В-клетки — к антибиотику. Результатом будет анафилактический шок.

В патогенезе анафилактического шока различают обычные для аллергической реакции ГНТ три стадии. В иммунологической фазе происходит взаимодействие аллергена с IgE и IgG. Анафилактические IgE термолабильны, прочно и надолго (3-4 недели) фиксируются в организме реципиента; IgG, наоборот, термостабильны и сохраняются в кожных покровах всего лишь несколько дней.

Согласно гуморальной теории, реакция аллергена с антителом происходит в крови. Сторонники клеточной теории возникновения анафилактического шока полагают, что аллерген соединяется с антителом на поверхности тучных клеток и базофилов. Вслед за образованием иммунных комплексов наступает патохимическая фаза активации и выброса ими медиаторов, в том числе медленно реагирующих веществ анафилаксина и анафилатоксина, усиливающих протеолитические свойства сыворотки.

В патофизиологической фазе освобождающиеся из клеток медиаторы вызывают шоковое состояние и характерные для различных животных органно-тканевые изменения в результате нарушения рефлекторных механизмов регуляции функций центральной и периферической нервной систем.

Лекция 11

Аутоиммунитет

1. Индукция образования аутоантител.

В норме иммунная система способна отличать чужеродные структуры от собственных и к веществам собственного организма антител не образуется, т.е. существует иммунологическая толерантность. Однако в некоторых случаях, как свидетельствуют клинические и экспериментальные данные, возможна выработка иммуноглобулинов против собственных антигенов. Такое явление получило название, аутоиммунная реакция или аутоиммунитет.

Антитела, которые образуются на собственные антигены, называются аутоантителами. А собственные антигены, на которые образуются аутоантитела, получили название аутоантигенов.

К аутоантигенам относятся субстанции, которые в период эмбриогенеза не имеют контакта с клетками иммунной системы, следовательно, они не обладают аутоотолерантностью. К ним относятся некоторые субстанции хрусталика, щитовидной железы, яичка и головного мозга. Кроме того, аутоантигенами могут быть и некоторые вещества, которые образуются в тканях под влиянием физических, химических и биологических воздействий.

2. Теории аутоиммунизации

Что касается механизмов аутоиммунизации, то они до настоящего времени раскрыты не полностью. В этом отношении известно несколько теорий и гипотез, объясняющих механизмы возникновения аутоиммунизации:

- 1) теория запретных клонов,
- 2) теория секвестральных антигенов,
- 3) теория иммунологического дефицита.

Теория запретных клонов (предложена Ф. Бернетом) основывается на том, что в результате соматической мутации появляется клон изменённых лимфоцитов, которые начинают реагировать с собственными антигенами тканей. А поскольку мутированные лимфоциты лишены поверхностных антигенов, то они не могут быть распознанными как чужеродные, а поэтому не подвергаются разрушению. Некоторые инфекционные и другие агенты могут выполнять функцию мутантов к индукции поликлональной пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов, приводящих к образованию аутоагрессивных клонов.

Пусковым механизмом к аутоиммунизации могут служить перекрёстно-реагирующие антигены (гетероантигены). Такие антигены имеют часть детерминант, сходных с детерминантами антигенов тканей. К примеру, некоторые штаммы стрептококков группы А имеют общие детерминанты с антигенами миокарда. Это приводит к тому, что при попадании стрептококков в организм происходит образование аутоантител, способных реагировать с антигенами миокарда. Этот механизм имеет место в развитии ревмокардита. Таким образом, происходит «срыв» толерантности к собственным антигенам, приводящий к образованию аутоантител.

Теория секвестрированных антигенов основывается на наличии скрытых (секвестрированных) антигенов. Это такие антигены, которые в результате анатомических обстоятельств (антигены забарьерных тканей головного мозга, хрусталика, семенников, щитовидной железы) не поступают в кровоток и в результате не контактируют с клетками иммунной системы. К таким антигенам относятся также антигены, которые образуются в тот период онтогенеза, когда закончилось формирование естественной иммунологической толерантности.

В результате травмы или инфекции повреждаются ткани и секвестрированные антигены выходят в общий кровоток, иммунная система их распознает как чужеродные, что приводит к образованию аутоантител. К примеру, при травме хрусталика его антигены становятся доступными для иммунной системы, в результате чего образуются аутоантитела, способные поражать и хрусталик здорового глаза.

Теория иммунологического дефицита основывается на том, что в организме существуют гены высокого и низкого иммунного ответа на те или иные антигены. Если имеется недостаточность иммунной реакции к определенному микроорганизму, то он не уничтожается и поражает ткани. В результате деструкции ткани происходит высвобождение скрытых антигенных детерминант тканевых антигенов, вызывающих образование аутоантител и реакции аутоантитело-аутоантиген. К примеру, такой механизм имеет место в развитии ревматоидного артрита.

Иммунологический дефицит может возникать также в результате врожденного нарушения развития тимуса или под влиянием токсических, вирусных или других воздействий на него, приводящих к дефициту Т-супрессоров, т.е. факторов, препятствующих В-лимфоцитам реагировать на собственные антигены.

С возрастом связь между иммунодефицитными состояниями и частотой проявления аутоиммунных заболеваний проявляется более четко.

Имеется теория, согласно которой аутоиммунное состояние возможно и в силу того, что к клеточным структурам (рецепторам), участвующим в распознавании своего и чужого, могут вырабатываться антитела, реагирующие с этими структурами, что приводит к нарушению нормального процесса распознавания и возникновению аутоиммунного заболевания. Такой механизм возможен при развитии инсулинрезистентной формы сахарного диабета в результате

образования аутоантител против рецепторов клеток, предназначенных для распознавания инсулинового сигнала.

3. Аутоиммунные заболевания и их диагностика.

Болезни, в патогенезе которых имеет место определяющая или частичная роль аутоиммунных процессов, являются аутоиммунными. К таким заболеваниям относятся: тиреоидит Хашимото, ревматоидный артрит, красная волчанка, пернициозная анемия и другие. Для заключения об аутоиммунном характере заболевания, согласно предложению Л. Витебского (1961) требуется, чтобы были выявлены следующие критерии:

- а) наличие аутоантител и/или аутоенсибилизованных лимфоцитов;
- б) определение аутоантигена и его идентификация;
- в) воспроизводимость аутоиммунного процесса в экспериментальных условиях путём пассивного переноса антител или лимфоцитов от опытных животных к контрольным, а также путём провоцирования заболевания соответствующим аутоантигеном.

За последние годы количество болезней, в патогенезе которых лежат аутоиммунные процессы, резко возросло, что связано определённым образом с резким нарушением экологической ситуации в результате применения большого количества гербицидов, пестицидов, других химических веществ, попадающих в конечном итоге в организм человека и животных, и оказывающих влияние как на иммунную систему, так и на ткани-мишени. Весьма существенным фактором, влияющим на проявление аутоиммунных заболеваний, является ионизирующая радиация.

Лекция 12

Иммунологическая толерантность

1. Понятие иммунологическая толерантность

Иммунологическая толерантность (от англ. *tolerance* – терпимость) – состояние иммунологической специфической а реактивности организма к определенным антигенам (толерогенам) при сохранении иммунного ответа на другие антигены. Разработке учения об иммунологической толерантности способствовали результаты исследований эмбриональной и постнатальной иммунологической реактивности. В частности, было выявлено (Оуэн, 1945), что в крови телят, являющихся двух яйцевыми близнецами, содержались

эритроциты разных групп крови. Несколько позже М.Гашек (1953) в опытах на цыплятах, которые на стадии эмбрионов имели общее кровообращение, пока зал, что если им вводить эритроциты друг от друга, то они оставались а реактивными.

Весьма интересным явился опыт, проведенный П. Медавара (1953), который производил инъекции взвеси клеток селезенки от одной чистой линии мышей непосредственно через стенку матки в зародыш беременной мыши другой чистой линии мышей. В результате этого эмбрионы становились ареактивные. После рождения животных пересаженные кусочки от тканей, клетки которых инъецированы им во время эмбрионального периода, приживались и не отторгались. Это свидетельствует о том, что если эмбрион имел контакт с чужеродными антигенами, организм во взрослом состоянии становится толерантным к данному антигену. Исследования показали, что иммунологическая толерантность отмечается при некоторых видах инфекционной патологии, а также может возникать после вакцинации животных во время беременности. Например, толерантность может возникать у плодов после перебеливания матерей гепатитом в период беременности. Особого внимания заслуживают заболевания, при которых происходит передача вирусов от матери к плоду с последующим длительным сохранением возбудителя у потомства при выраженной толерантности. К таким заболеваниям можно отнести краснуху человека, лейкоз кур и др. Явление иммунологической толерантности отмечено при бруцеллезе, столбняке, хронических вирусных инфекциях. Толерантные животные представляют собой потенциальные источники инфекций. У таких животных возбудитель представляет собой своеобразный симбионт, инициирующий толерантность.

Различают естественную к приобретенную (индуцированную) иммунологическую толерантность. К естественной толерантности относится отсутствие иммунологической реакции на собственные антигены тканей и органов, а реактивности в системе "мать-плод". Такой вид толерантности формируется в эмбриональном периоде и остается на всю жизнь. Индуцированная иммунологическая толерантность – это искусственно созданная а реактивность к экзогенным чужеродным антигенам. Она может проявляться в виде полной или частичной а реактивности к антигену. В последнем случае может иметь место снижение реакции гуморального и клеточного типа. Кроме того, выделяют еще индуцированную гомеостатическую иммунологическую толерантность, в основе которой лежат механизмы, предотвращающие перепроизводство антител.

Состояние а реактивности можно вызвать на несколько антигенов (поливалентная толерантность). Если же толерантность возникает не ко всем клеточным антигенам донорского генотипа, то такое состояние называется расщепленной толерантностью. Толерантно подобное состояние может наступать при введении больших доз антигена иммунным животным (иммунологический паралич Фелтона). В частности, отмечена а реактивность мышей на большие дозы пневмококкового полисахарида (1000 мкг) при нормальной реакции на дозу 1 мкг. Состояние иммунологической а реактивности можно вызвать введением и небольших доз антигенов (феномен Дрессера или низкодозовая толерантность).

Иммунологическую толерантность легче всего можно вызвать, если антиген вводить плоду или новорожденному (до определенного срока) животному. Это объясняется низкой степенью зрелости иммунной системы и дефицитом созревших иммунокомпетентных лимфоидных клеток в этот период жизни организма.

Период, в течение которого представляется возможным вызвать толерантность, называется адаптивным периодом. Продолжительность зависит от вида животных, дозы антигена, его иммуногенности и др. факторов. Для аллогенных антигенов этот период начинается с 13-14-го дня эмбриональной жизни и может заканчиваться как в период эмбриогенеза (например, к 22-24-му дню у кроликов), так и в первые дни (1-2 дня у мышей, кур, индюшек и 5-7 дней у крыс и собак) после рождения. Вызвать иммунологическую толерантность у взрослого организма значительно труднее. Индуцирование толерантности обратно пропорционально чужеродности антигена. Между высокими и низкими дозами антигена, вызывающими толерантность, имеется область иммуногенных доз антигена, т. е. промежуточные дозы способны вызывать обычную иммунную реакцию. Чем взрослее животное, тем выше разрыв между этими дозами.

Толерантность после введения антигена может возникать довольно быстро, в течение нескольких часов или дней и продолжаться в течение нескольких месяцев. Механизмы развития иммунологической толерантности во многом остаются недостаточно изученными. В ее возникновении придается значение таким механизмам как элиминация клонов клеток, активизация клеток-супрессоров к иммунным комплексам антиген-антитело (Покровский с соавт., 1979 Г.)

Как естественная, так и индуцированная технологическая толерантность не являются абсолютными. Такое состояние может поддерживаться при условии постоянного присутствия в организме

антигена (толерогена). Потеря толерантности может произойти в результате модификации собственных антигенов под влиянием различных воздействий, поступления в организм антигенов, перекрестно реагирующих с толерогеном. Срыв естественной толерантности является одной из причин развития аутоиммунных заболеваний.

Вызывание искусственной иммунологической толерантности имеет важное значение при трансплантации органов и тканей с целью предотвращения их отторжения. Для этого используют различные вещества и воздействия, инактивирующие и подавляющие пролиферацию и дифференцировку лимфоидных клеток в иммунокомпетентные клетки (лекарственно-индуцированная толерантность). Эти вещества получили название иммунодепрессантов. Сильным иммунодепрессивным эффектом обладают рентгеновские лучи и другие виды ионизирующего излучения.

2. Трансплантационный иммунитет.

При пересадке чужеродной ткани в результате иммунных реакций происходит отторжение трансплантата. Это связано с несовместимостью антигенов донора и реципиента. Система генов, контролирующая синтез антигенов, определяющих несовместимость тканей при трансплантации и вызывающих реакцию отторжения пересаженной ткани, составляет главный комплекс гистосовместимости. При этом гены, кодирующие образование таких антигенов, получили название генов гистосовместимости, а антигены были названы антигенами гистосовместимости или трансплантационными антигенами. Их у человека идентифицируют по системе лейкоцитарных антигенов и обозначают HLA (Human Leucocyte Antigens). Главный комплекс гистосовместимости HLA представляет собой небольшой сегмент на 6-й хромосоме и включает 4 локуса: HLA-A, HLA-B, HLA-C и HLA-D, контролирующие антигены гистосовместимости. Группа антигенов, кодируемых локусами A, B и C, выявляется серологически, а HLA-D, кроме того, и в реакциях клеточного иммунитета. В локусе D выделены 3 сублокуса: HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP. Каждый из локусов содержит еще множество аллелей (A20, B31, C6).

Антигены гистосовместимости локализованы на поверхности всех ядросодержащихся клеток и тромбоцитов. Их содержание в различных тканях неодинаково. Они содержатся (по убывающей концентрации) в печени, легких, кишечнике, почке, сердце, аорте и мозге. Антигены системы HLA выявлены и в клеточных органеллах, в

особенности их много на цитоплазматических мембранах. Растворимые антигены гистосовместимости обнаружены в молоке и сыворотке крови. На поверхности эритроцитов и жировой ткани человека они отсутствуют.

У мышей главной системой гистосовместимости является H-2, расположенная на 17-й хромосоме. Комплекс H-2 включает 5 участков: K, I, S, G, D, из которых в участках K и D локализованы гены, кодирующие образование антигенов гистосовместимости, располагающиеся на поверхности всех клеток (в том числе и на эритроцитах), среди которых первое место занимают лимфоциты.

3. Реакция отторжения трансплантата.

Различают 3 вида трансплантатов:

- аутотрансплантат (при пересадке в пределах одного и того же организма),
- гомотрансплантат или аллотрансплантат (при пересадке между организмами одного и того же вида)
- гетеротрансплантат или ксенотрансплантат (при пересадке между организмами разных видов).

Аутотрансплантаты приживаются хорошо. С успехом пересаживают трансплантаты у однояйцевых близнецов и при принадлежности донора и реципиента к природной линии (сингенны у трансплантаты). Приживление аллотрансплантата определяется степенью идентичности антигенов гистосовместимости реципиента и донора. Выраженные различия по антигенам при ксеногенных пересадках являются причиной интенсивного отторжения трансплантата.

Реакция отторжения (реакция «реципиент против трансплантата» – РПТ) хорошо проявляется при аллотрансплантации кожи. После кажущегося по внешнему виду приживления трансплантата через 5-8 дней (латентный период) вокруг него развивается воспалительная реакция, отек, геморрагия, инфильтрация лимфоцитами, некроз и отторжение кожного лоскута на 10-12-й день (отторжение по первичному типу). Повторная трансплантация кожи от того же донора приводит к более острому (на 5-й день) ее отторжению (отторжение по вторичному типу).

При пересадке кожи от другого донора, не имеющего общих антигенов с первым, отторжение не ускоряется и происходит по первичному типу. Скорость отторжения трансплантата зависит от степени интенсивности его васкуляризации. Трансплантаты, более

снабженные кровеносными сосудами и связанные с тканью реципиента, подвергаются быстрейшему отторжению. Этим объясняется успешность трансплантации роговицы глаза, хряща (ткани, погруженной в мукополисахаридную оболочку, защищающую от проникновения лимфоцитов), питающихся диффузно. В зависимости от времени после аллотрансплантации ткани различают отторжение поверхностное, ускоренное, острое и хроническое. Например, для трансплантированной почки оно соответственно равняется 48 ч, 5-7, 8-30 и 60 дням.

В реакциях отторжения трансплантата главную роль отводят эффекторам клеточного иммунитета, среди которых основное значение имеют малые тимусзависимые долгоживущие лимфоциты. По мере васкуляризации аллотрансплантата в месте его прикрепления лимфоциты подвергаются сенсibilизации, затем гематогенное или лимфогенно поступают в лимфатические узлы – места образования клона эффекторных клеток. По лимфатическим сосудам они поступают в кровотоки и с кровью подносятся к клеткам-мишеням трансплантата, оказывая на них цитотоксическое действие.

Одним из доказательств участия клеточных реакций в отторжении трансплантата является возможность адаптивного переноса трансплантатов от реципиента, предварительно сенсibilизированного первичной пересадкой аллотрансплантата кожи, интактному животному ускоряет отторжение (по вторичному типу) трансплантата того же донора. Если же второй трансплантат не имеет общих антигенов с первым, то отторжение не ускоряется. Переливание сыворотки крови вместо лимфоцитов в таких же условиях эксперимента не ускоряет реакцию отторжения трансплантата.

Немаловажная роль в реакциях отторжения трансплантата принадлежит макрофагам и полиморфноядерным гранулоцитам, активность которых индуцируется лимфокинами, выделяемыми Т-клетками при их контакте с антигеном. Кроме эффекторов клеточного иммунитета в возникновении трансплантационного иммунитета определенную роль играют гуморальные факторы. Гуморальный иммунный ответ на трансплантат проявляется в выработке лейкотоксинов, цитотоксинов, гемолизинов и гемагглютининов. Благодаря выработке специфических антител к антигенам трансплантата обеспечивается антителозависимая клеточная цитотоксичность (АКЦТ), т.е. разрушение несенсibilизированными эффекторными клетками, обладающими Fc-рецепторами, клеток трансплантата, нагруженными специфическими к ним антителами. Антителам и комплементу принадлежит важная роль в реакциях

сверхострого отторжения трансплантата (он даже не васкуляризуется – белый трансплантат).

4. Феномен иммунологического усиления.

Наряду с участием антител в реакциях отторжения аллотрансплантата известно, что они могут и способствовать его приживлению. Если предварительно перед трансплантацией активно или пассивно проиммунизировать реципиента, то в большинстве случаев отмечается усиление роста аллотрансплантата. Данное явление получило название иммунологического усиления. В этих случаях антитела препятствуют проявлению трансплантационного клеточного иммунитета. Данный феномен представляет большую практическую значимость в трансплантологии, так как специфичен и не влияет на противои инфекционный иммунитет. Механизм данного явления недостаточно ясен. Полагают, что антитела либо маскируют поверхностные детерминанты трансплантационных агентов и тем самым предотвращают сенсibilизацию лимфоцитов реципиента (афферентная блокада), либо специфические антитела маскируют трансплантационные антигены и делают их недоступными для цитотоксических клеток (эфферентная блокада), либо угнетают пролиферацию иммунокомпетентных клеток и их дифференцировку в цитотоксические (центральная блокада). Конкретный механизм как повреждающего, так и защитного влияния антител по отношению к трансплантату остается невыясненным.

5. Преодоление трансплантационного иммунитета.

Тканевая несовместимость при трансплантации преодолевается двумя путями: подбором донора и подавлением иммунных реакций реципиента. Основным методом подбора является типирование антигенов системы HLA. Учитывают совместимость донора и реципиента по антигенам HLA, ABO, Rh, отсутствие или наличие цитотоксических антител реципиента к лимфоцитам донора. Типирование антигенов системы HLA проводят 4 способами: определением антигенов, кодированных лоскутами HLA, красного костного мозга и при массивных переливаниях крови. Реакция проявляется через 10-30 дней в виде дерматита, гепатита с желтухой, диареи, иммунодефицита, гипоплазии тимуса, воспалительных очагов в кишечнике и других.

6. Плод как аллотрансплантат.

Свойства аллотрансплантата плод приобретает в результате наследования от отца трансплантационных антигенов, отсутствующих в организме матери. Однако плод не отторгается как аллогенный трансплантат. Трансплантирование ткани эмбриона и плаценты вне матки отторгаются как чужеродные. Вопрос, почему в отношении плода не наблюдается реакции трансплантационного иммунитета, не получил однозначного ответа. Полагают, что антитела по принципу иммунологического усиления защищают плод. Некоторые компоненты сыворотки крови индуцируют иммунологическую толерантность. Возможно, это связано с особенностью структуры плаценты, которая у человека имеет гемохориальный тип строения и трофобласт омывается материнской кровью.

Важным является и то, что лимфоидные клетки плода характеризуются низкой плотностью антигенов гистосовместимости, а также толерантности лимфоцитов матери к антигенам плода, унаследованных от отца. При нормальной беременности поддерживается определенное равновесие между иммунологической толерантностью и реактивностью, обусловленными трансплацентарным проникновением антигенов, способных индуцировать в организме матери два состояния толерантность и сенсибилизацию. Последнее состояние отмечается при токсикозах беременности. Таким образом, хотя плод и является чужеродным в антигенном отношении трансплантатом, однако комплексом различных механизмов предотвращается контакт между иммунологическими системами матери к плода.

Лекция 13

Реакции агглютинации, преципитации и лизиса

Иммунологическими называют такие методы, в которых визуализируются реакции антиген-антитело. Раздел иммунологии, изучающий взаимодействие антител сыворотки с антигенами называют серологией (от лат. *serum* — сыворотка). Применение реакции антиген-антитело в медицинской практике называется иммунодиагностикой.

1. Иммунологические методы.

В фундаментальных исследованиях по иммунологии используют все известные в естественных науках методы. Самые современные методы в иммунологии — это методы молекулярной биологии и

молекулярной генетики, например, метод полимеразной цепной реакции ПЦР. В прикладной клинической иммунологии методическая база не столь широка. Еще в 30-е годы после работ Карла Ландштейнера по получению антител к искусственно синтезированным гаптенам, к антителам стали относиться как к специфическим реагентам, избирательно связывающим антигены, и, следовательно, антитела можно использовать для обнаружения и определения количества этого вещества в тех или иных смесях.

В основе иммунологических методов лежат серологические реакции, для постановки которых используют:

- сыворотку, содержащую антитела (основаны на взаимодействии антигенов и антител)
- клеточные реакции, базирующиеся на взаимодействии антигенов (аллергенов) с Т-клетками.

Антигены бывают разные, но далеко не все видны невооруженным глазом и большинство также растворимые. Связывание двух растворимых молекул часто приводит к образованию также растворимого комплекса, следовательно, невидимого глазом. Поэтому с технической стороны разные методы различаются между собой средствами визуализации факта связывания антитела с антигеном.

Реакция антиген-антитело в системе *in vitro* может сопровождаться возникновением нескольких феноменов – агглютинации, преципитации, лизиса. Внешние проявления реакции зависят от физико-химических свойств антигена (размер частиц, физическое состояние), класса и вида антител (полные и неполные), а также условий опыта (консистенция среды, концентрация солей, рН, температура). Характер и выраженность реакции зависят от количественного соотношения антигенов и антител. Наиболее интенсивно реакции проявляются в том случае, если реагенты находятся в эквивалентном соотношении.

С 30-х и до конца 60-х годов методы визуализации комплексов антиген — антитело представляли собой преципитацию в геле – т.е. выпадение этих комплексов в осадок, а также гемолиз или гемагглютинацию, т.е. использовали хорошо видимые эритроциты, на поверхность которых сорбировали либо антиген, либо (реже) антитела. До настоящего времени в некоторых случаях эти методы применяют для определения содержания иммуноглобулинов классов М, G и А в сыворотке крови. Но для определения уровня IgE метод преципитации в геле уже неприменим, так как не «хватает» его чувствительности (как

той наименьшей концентрации искомого вещества, которая еще может быть достоверно определена данным методом).

Из нескольких «простых» складываются сложные серологические реакции: бактериолиз, реакция связывания комплемента и др.

Иммунологические методы можно разделить на 6 категорий:

1. Методы фракционирования – физического разделения гуморальных факторов иммунитета (молекул) или клеток:

- электрофорезы;
- проточная микроцитофлюорометрия.

2. Методы, использующие бактериальные и другие антигены (непосредственная агглютинация антигена, гемагглютинация, нефелометрия). Серологические реакции могут быть прямыми (двухкомпонентными) — агглютинация, пассивная гемагглютинация, преципитация и др., и косвенными (трёхкомпонентными) — реакция нейтрализации (например, микроба), реакция торможения гемагглютинации.

3. Методы, использующие технологию гемолиза (тесты фиксации комплемента).

4. Иммуногистохимические методы (иммунофлюоресцентная микроскопия; микроскопия препаратов тканей или клеток с фиксированными антителами, мечеными ферментной меткой).

5. Методы иммуноанализов (радио-, иммуноферментный анализ).

6. Методы молекулярной биологии (ПЦР; иммуноблоттинг).

Иммунологические методы применяют для решения многих задач:

1. Оценка состояния иммунной системы человека (иммунного статуса) по определению количественных и функциональных характеристик клеток иммунной системы и их продуктов.

2. Определение состава и характеристик тканей человека: групп крови, резус-фактора, трансплантационных антигенов.

3. Диагностика инфекционных болезней и резистентности к ним по обнаружению и установлению титров антител (серодиагностика), выявлению антигенов возбудителей в организме, определению клеточных реакций на эти антигены.

4. Сероидентификация культур бактерий и вирусов, выделенных из организма человека и животных.

5. Выявление в организме человека и во внешней среде любых веществ, обладающих антигенными или гаптенными свойствами (гормоны, ферменты, яды, лекарства, наркотики и т.п.).

6. Выявление иммунопатологических состояний, аллергий, трансплантационных и противоопухолевых реакций.

2. Реакции агглютинации.

Феномен агглютинации заключается в том, что антитела, взаимодействуя с корпускулярными антигенами вызывают их склеивание с образованием агрегатов, хлопьев, зерен, комочков, различаемых невооруженным глазом или с помощью лупы. Антитела, принимаемые участие в реакции агглютинации, называются агглютининами, а антигены – агглютинатами, образующийся при этом осадок – агглютинатом. Для постановки реакции агглютинации (РА) необходимы три компонента:

- антиген (агглютиноген);
- антитело (агглютинин);
- электролит (изотонический раствор хлорида натрия).



Различают реакции прямой и непрямой агглютинации. При реакции прямой агглютинации антитела агглютинируют корпускулы непосредственно, а при реакции непрямой (пассивной) агглютинацией подвергаются растворимые антигены, предварительно адсорбированные на корпускулярном носителе, которым могут быть инертные частицы (латекс, оксид бария, бентонит) или клетки (эритроциты). Если в качестве носителя применяются эритроциты, то реакция называется реакцией пассивной гемагглютинации (РПГА).

3. Реакция гемагглютинации.

(РГА) представляет собой реакцию антиген (эритроциты крови) + антитело (стандартная сыворотка) + электролит = гемагглютинат

Применяется для обнаружения групп крови АВО. Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА, РПГА) ставится

1) для обнаружения полисахаридов, белков, экстрактов бактерий и других высокодисперстных веществ, риккетсий и вирусов, комплексы которых с агглютининами в обычных РА увидеть не удастся;

2) для выявления антител в сыворотках больных к этим высокодисперстным веществам и мельчайшим микроорганизмам.

В лунках полистироловых планшетов готовят ряд последовательных разведений сыворотки. В предпоследнюю лунку вносят – 0,5 мл заведомо положительной сыворотки и в последнюю 0,5 мл физиологического раствора (контроли). Затем во все лунки

добавляют по 0,1 мл разведенного эритроцитарного диагностикума, встряхивают и помещают в термостат на 2 ч.

В положительном случае эритроциты оседают на дне лунки в виде ровного слоя клеток со складчатым или зазубренным краем (перевернутый зонтик), в отрицательном - оседают в виде пуговки или колечка.

4. Реакция преципитации.

Реакция преципитации – это формирование и осаждение комплекса растворимого молекулярного антигена с антителами в виде помутнения, называемого преципитатом. Антитела, вызывающие преципитацию антигена, называются преципитинами, антигены – преципитиногенами. В основе реакции преципитации лежит образование, агрегация и выпадение комплексов «антиген-антитело». В качестве антигенов могут быть экстракты микроорганизмов, тканей, органов и др. Количество преципитата возрастает с увеличением концентрации антигенов, достигая максимума в зоне эквивалентности, когда все антитела связаны с антигеном.

Реакция преципитации проводится как в жидкой, так и в твердой среде (геле). Реакция в жидкой среде проводится путем наслаивания раствора антигена на преципитирующую сыворотку, в результате чего образуется кольцо на границе соприкосновения двух сред (реакция кольцепреципитации).

Реакция преципитации в геле заключается в том, что иммунореагенты диффундируют в порах геля навстречу друг другу и на границе их контакта образуется линия преципитации. Если для этого используются заполненные гелем трубки или капилляры, то диффузия иммунореагентов происходит линейно (линейная иммунодиффузия).

Различают простую линейную иммунодиффузию (на гель в пробирке, пропитанный антисывороткой, наслаивают антиген) и двойную линейную иммунодиффузию (антиген и антитела разделены слоем нейтрального геля, где в результате их диффузии, они встречаются). При радиальной иммунодиффузии иммунореагенты вносят в лунки в агаровом геле, откуда они диффундируют радиально. Кольцо преципитации образуется вокруг лунки, которое выявляется путем окраски белковым красителем.

5. Реакции с участием комплемента.

Реакции с участием комплемента основаны на связывании комплемента с комплексом антиген-антитело, в результате чего

происходит лизис используемого в реакции антигена. Реакция лизиса – реакция растворения бактерий, эритроцитов и других клеток под действием антител (лизинов) в присутствии комплемента. Лизины, растворяющие бактерии, называют бактериолизинами, а реакцию — бактериолизом. Лизины, растворяющие эритроциты в реакции иммунного гемолиза, называют гемолизинами. В реакциях лизиса используют консервированный комплемент — сыворотку крови морской свинки.

К реакциям с участием комплемента относятся:

- реакции связывания комплемента;
- реакции лизиса;
- реакции радиального гемолиза и др.

Реакция связывания комплемента (РСК) протекает в две фазы:

- взаимодействие антигена и антител при обязательном участии комплемента;
- выявление результатов реакции при помощи индикаторной гемолитической системы (эритроциты барана и гемолитическая сыворотка).

При наличии в исследуемой сыворотке антител, комплементарных антигену, образующийся комплекс антиген-антитело связывает (адсорбирует) на себе комплемент. При добавлении гемолитической системы гемолиза не происходит (задержка гемолиза), т.к. весь комплемент израсходован на специфическую связь комплекса антиген-антитело, а эритроциты остались неизменными.

При отсутствии в сыворотке антител, комплементарных антигену, специфический комплекс антиген-антитело не образуется и комплемент остается несвязанным, поэтому при добавлении гемолитической системы комплемент присоединяется к ней. Результатом реакции в данном случае будет гемолиз эритроцитов – в пробирках образуется так называемая «лаковая» кровь.

Результат опыта оценивают, отмечая наличие или отсутствие гемолиза во всех пробирках. Реакцию считают положительной при полной задержке гемолиза, когда жидкость в пробирке бесцветна и эритроциты оседают на дно, отрицательной – при полном лизисе эритроцитов, когда жидкость интенсивно окрашена («лаковая» кровь). Степень задержки гемолиза оценивают в зависимости от интенсивности окраски жидкости и величины осадка эритроцитов на дне.

РСК широко используют для лабораторной диагностики венерических болезней, риккетсиозов, вирусных инфекций. РСК

позволяет выявить антитела к любому штамму одного и того же серотипа вируса.

6. Реакция локального гемолиза.

Реакция радиального гемолиза эритроцитов может протекать в геле. Взвесь эритроцитов барана помещают в агарозный гель с комплементом. В застывшем на стекле слое делают лунки и вносят в них гемолитическую сыворотку. Вокруг лунок в результате радиальной диффузии антител образуется зона гемолиза, радиус которой прямо пропорционален титру сыворотки. Если сорбировать на эритроцитах какой-либо антиген, например гликопротеиновый гемагглютинин вируса гриппа, краснухи или клещевого энцефалита, то можно воспроизвести феномен гемолиза иммунными сыворотками к этим вирусам. Реакцию радиального гемолиза в геле применяют в диагностике вирусных инфекций. Она характеризуется простотой постановки, нечувствительностью к сывороточным ингибиторам, позволяет титровать сыворотки крови по диаметру зоны гемолиза, не прибегая к серийным разведениям.

7. Опсонофагоцитарная реакция.

В нормальной и иммунной сыворотке крови содержатся антитела, сенсibiliзирующие бактерии и усиливающие их фагоцитоз, получившие название опсононов (от греч. «опсоно» – готовить пищу). Фагоцитоз представляет собой одну из важнейших реакций неспецифической, антибактериальной реактивности организма против различных микроорганизмов, который осуществляется нейтрофилами, с участием в этом процессе опсононов сыворотки крови. В качестве последних выступают система комплемента, иммуноглобулины, а также специфические антибактериальные антитела. Фагоцитоз можно разделить на три фазы:

- 1) фаза адсорбции, когда опсонизированная бактерия «прилипает» к мембране фагоцитирующей клетки;
- 2) фаза поглощения микроорганизма;
- 3) фаза его переваривания фагоцитирующей клеткой.

8. Реакция нейтрализации

Антитела иммунной сыворотки способны нейтрализовать повреждающее действие микробов или их токсинов на чувствительные клетки и ткани. Это связано с блокадой микробных антигенов антителами, т.е. их нейтрализацией. Реакцию нейтрализации (РН)

проводят путем введения смеси антиген-антитело животным или в другие чувствительные тест-объекты (культуру клеток, эмбрионы). При отсутствии у животных или в тест-объектах повреждающего действия, обусловленного введенным микробом или токсином, говорят о нейтрализующем действии иммунной сыворотки и, следовательно, о специфичности взаимодействия комплекса антиген-антитело.

Реакцию нейтрализации токсина антитоксином проводят так же *in vitro*. Внешне эта реакция проявляется феноменом флоккуляции, т.е. помутнением раствора в пробирке, содержащей смесь токсина и антитоксина. Феномен флоккуляции является специфической реакцией и его используют для титрования антитоксических сывороток или анатоксинов при определении степени их активности и силы действия.

На практике РН применяют для выявления вирусов и различных токсинов. В сыворотке крови переболевших лиц циркулируют антитела, нейтрализующие вирусы. Их наличие выявляют смешиванием культуры возбудителей с сывороткой с последующим введением лабораторному животному или заражением культуры клеток. На эффективность нейтрализации указывает выживание животного либо отсутствие гибели клеток в культурах.

Лекция 14

Конъюгированные иммуноглобулины

Иммуноанализами называют такие методы качественного и количественного определения растворимых веществ, в основе которых лежит взаимодействие антигена с антителом (т.е. иммунологическое распознавание), которое детектируется (визуализуется) с помощью специальной метки, заранее конъюгированной либо с антителом, либо с антигеном. В качестве меток используют вещества, которые при определенных условиях может увидеть либо тот или иной прибор, либо глаз человека. Приборы могут не только «увидеть», но и измерить количество метки. Реакции с использованием меченых антител и антигенов составляют основу методов экспресс-диагностики инфекционных заболеваний, так как выявляют минимальное содержание антигена и антител в исследуемых образцах.

1. Реакция иммунофлюоресценции (РИФ).

Данный метод является экспрессным и высокочувствительным. Существуют две его разновидности. При прямом методе к исследуемой взвеси микробов, фиксированной на стекле, добавляют сыворотку,

меченную флуорохромом. Образующийся комплекс антиген-антитело при освещении ультрафиолетовыми (сине-фиолетовыми) лучами дает ярко-зеленое свечение. При непрямом РИФ используют обычные диагностические сыворотки против какого-либо вида микробов. Добавление этой сыворотки к испытуемой взвеси микробов вызывает образование комплекса антиген-антитело. Этот комплекс выявляется с помощью универсальной флуоресцирующей сыворотки, содержащей антитела к гамма-глобулиновой фракции крови того вида животного, от которого была получена диагностическая сыворотка.

Для бактериальных инфекций в некоторых случаях сохраняется использование методов прямой агглютинации бактерий для идентификации их чистой культуры (при респираторных, кишечных инфекциях) либо определение антител (кишечные инфекции), хотя значение этих реакций в сравнении с другими более чувствительными, постепенно снижается. Такая же закономерность наблюдается и при использовании методов прямой агглютинации при паразитарных заболеваниях.

Для вирусных инфекций аналогом является метод прямой гемагглютинации. Однако, из-за его относительно невысокой специфичности, практически более важным является метод ингибирования (торможения) реакции гемагглютинации с целью определения антител к вирусу. Для этих же целей используют метод нейтрализации вирусов, однако он более трудоемок из-за необходимости поддержания культуры вируса.

На смену этим реакциям при бактериальных, вирусных и паразитарных инфекциях приходят методы коагглютинации (определение антигенов) и латексагглютинации (определение антигенов, либо антител). Эти методы находят все большее практическое применение, особенно при диагностике менингитов, респираторных и некоторых кишечных инфекций. Реакция пассивной агглютинации по-прежнему популярна при диагностике паразитарных заболеваний, реже при определении антител к вирусам (краснуха, мононуклеоз).

Иммунофлуоресцентный метод для определения антигенов и антител в силу своей универсальности также распространен при различных видах инфекционной патологии. В обычных вариантах он основан на микроскопии и визуальном наблюдении. Это одновременно и недостаток (субъективная оценка) и достоинство (наглядность), что в значительной мере руководит при его выборе врачом, в зависимости от целей анализа. Модификации последних лет, основанные на

инструментальном учете, вместе с ИФА теснят другие иммунохимические методы.

2. Реакция связывания комплемента.

Реакция связывания комплемента используется для определения антител при большинстве видов инфекций, а особенно широко - при вирусных заболеваниях и болезнях, вызываемых риккетсиями, микоплазмами и т. п. Однако в последнее десятилетие этот метод вытесняется ИФА. Иммуноферментный анализ для определения антигенов и антител к микроорганизмам находит все более широкое применение в практике. В настоящее время по частоте применения он не уступает, а в многих случаях (гепатиты, СПИД) превосходит другие методы иммунохимического анализа. При бактериальных, вирусных, паразитарных заболеваниях с его помощью определяют различные антигены микробов и антитела к ним, относящиеся к разным классам иммуноглобулинов.

3. Иммуноферментный анализ (ИФА).

Иммуноферментный анализ (ИФА) — метод выявления антигенов (или антител) с помощью соответствующих им антител, конъюгированных с меткой-ферментом (пероксидазой хрена, галактозидазой или щелочной фосфатазой). После соединения антигена с меченой ферментом иммунной сывороткой в смесь добавляют субстрат-хромоген. Субстрат расщепляется ферментом и изменяется цвет продукта реакции – интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител. ИФА применяют для диагностики вирусных, бактериальных и паразитарных болезней, в частности для диагностики ВИЧ-инфекций, гепатита В и др., а также определения гормонов, ферментов, лекарственных препаратов и других биологически активных веществ, содержащихся в исследуемом материале. Наиболее распространен твердофазный ИФА – вариант иммунологического теста, когда один из компонентов иммунной реакции (стандартные диагностические антигены или антитела) сорбирован на твердом носителе, например, в лунках микропанели (планшета для реакций) из полистирола.

4. Радиоиммунологический анализ (РИА)

Радиоиммунологический анализ (РИА) – высокочувствительный метод, основанный на реакции «антиген–антитело» с применением антигенов или антител, меченных одним из радионуклидов (^{125}I , ^{14}C , ^3H ,

⁵¹Сг и др.). После их взаимодействия отделяют образовавшийся радиоактивный иммунный комплекс и определяют его радиоактивность в соответствующем счетчике γ - или β -излучения: интенсивность излучения прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена или антител, которые подлежат идентификации.

Радиоиммунологический анализ применяют для выявления антигенов микробов, определения гормонов, ферментов, лекарственных веществ и иммуноглобулинов, а также иных веществ, содержащихся в исследуемом материале. Метод представляет определенную экологическую опасность из-за присутствия радиоактивной метки и поэтому требует специальных мер защиты от радиоактивности.

Радиоиммунологический анализ для диагностики инфекций применяется для подтверждения некоторых форм гепатита В, а также СПИДа. Расширение области его использования в практике диагностики инфекционной патологии мало вероятно.

5. Иммуноблоттинг.

Иммуноблоттинг – это метод исследования белковых антигенов. Белки разделяют с помощью электрофореза и переносят на мембрану. Затем мембрану инкубируют в растворе антител и связанные антитела выявляют с помощью радиоизотопного или ферментного методов. Данный метод получил широкое распространение. Например, он используется для идентификации компонентов нейрофиламентов, которые предварительно разделяют в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН).

Иммуноблоттинг используют как диагностический метод при ВИЧ-инфекции и др. Итак, проведение аналитических процедур при подозрении на инфекционное заболевание, должно быть направлено на обнаружение патогенного агента (вируса, бактерии, простейшего и т. п.), а также иммунологического ответа макроорганизма на этот агент.

Рассматривая примеры использования различных методов для специфической диагностики инфекционных заболеваний можно отметить, что коммерческие препараты, используемые в мире для этих целей, относятся в основном к методам агглютинации, преципитации, нейтрализации вирусов, ингибирования гемагглютинации, пассивной гемагглютинации, коагглютинации, латексагглютинации, реакции связывания комплемента, иммунофлуоресценции. Значительно реже для этих целей используют радиоиммунологический анализ, метод генного зондирования, а коммерческие иммуносенсоры и липосомальные методы еще только разрабатываются.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1

СИСТЕМА ИММУНИТЕТА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Цель: изучить клетки, органы и молекулы иммунной системы млекопитающих

Ход работы:

1. Изучить основные понятия по теме.
2. Зарисовать органы иммунной системы (тимус, селезенку, лимфатический узел, пейерову бляшку) с обозначениями структурных элементов, зон и клеток.
3. Устно ответить на вопросы по теме.
4. Проверить усвоение темы по тестам, приведенным в учебной программе по курсу «Основы иммунологии».

Иммунная система – совокупность органов, клеток и молекул, основной функцией которых является сохранение антигенного гомеостаза, нарушение которого может быть обусловлено проникновением в организм чужеродных антигенов, спонтанной мутацией и другими факторами.

Иммунная система представлена следующими компонентами:

- 1) Клетки иммунной системы
 - фагоциты (микрофаги, макрофаги)
 - вспомогательные клетки – фибробласты и эпителиальные клетки;
 - иммунокомпетентные клетки:
 - а) Т- и В- лимфоциты;
 - б) цитотоксические клетки;
 - в) предшественники иммунокомпетентных клеток.
- 2) Биологически активные макромолекулы:
 - медиаторы иммунных реакций – интерлейкины;
 - ростовые факторы:
 - а) интерфероны;
 - б) опухольнекротизирующий фактор;
 - в) лимфотоксин;
 - г) эктодермальный фактор роста;
 - д) фактор роста фибробластов;
 - е) гранулоцитарный колониестимулирующий фактор;
 - ж) макрофагальный колониестимулирующий фактор;
 - гормоны – тимопептиды, миелопептиды.

3) Органы иммунной системы.

- красный костный мозг;
- тимус (вилочковая железа);
- селезенка;
- лимфатические узлы;
- диффузные скопления лимфоидной ткани в слизистых оболочках внутренних органов (миндалины, пейеровы бляшки, аппендикс и др.).

КЛЕТКИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Клетки иммунной системы – лейкоциты крови, фибробласты и эпителиальные клетки, являющиеся микроокружением лимфоидных органов.

В норме в периферической крови взрослого человека число лейкоцитов колеблется от $4,9$ до $6,5 \cdot 10^9/\text{л}$.

Лейкоциты морфологически разделяются на:

- полиморфноядерные, или гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы и базофилы);
- мононуклеарные (лимфоциты, моноциты, тканевые макрофаги).

Лейкоциты функционально разделяются на:

- клетки, осуществляющие специфическую защиту (лимфоциты);
- фагоциты (нейтрофилы, эозинофилы, моноциты, тканевые макрофаги);
- вспомогательные клетки (базофилы, тучные клетки, тромбоциты) (рисунок 1).

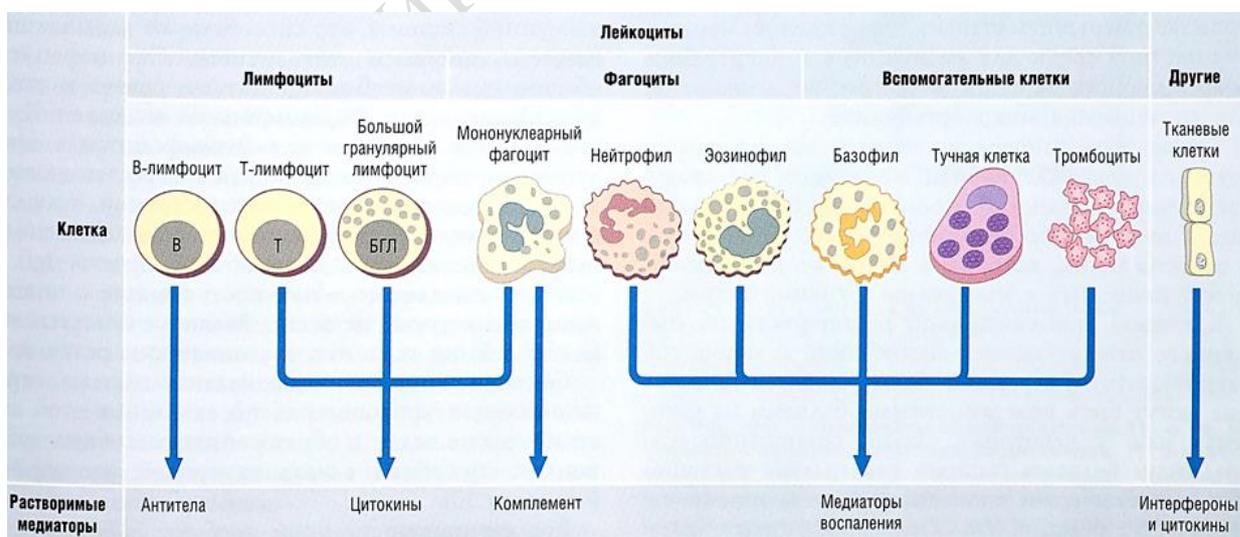


Рисунок 1 – Основные клеточные и молекулярные элементы иммунной системы

Нейтрофилы в зрелом виде имеют диаметр 9 – 12 мкм и сегментарное ядро с 2 – 5 долями. В цитоплазме нейтрофил содержится несколько сот гранул, включающих ферменты лизоцим и лактоферин, и несколько больших гранул, содержащих миелопероксидазу, лизоцим, кислые гидролазы и ряд других бактерицидных протеинов. Нейтрофилы составляют 57 – 80 % от общего количества лейкоцитов. Поступившие из красного костного мозга нейтрофилы в крови находятся около 6 часов, после чего переходят в ткани, где функционируют 3 – 5 дней. Основная функция нейтрофилов – уничтожение бактерий.

Эозинофилы обладают меньшей фагоцитарной активностью, менее подвижны. В периферической крови содержится не более 1 % всей популяции эозинофилов, живут они в кровотоке не более 10 часов, после чего поступают в ткани и осуществляют там свои защитные функции в течение 1 – 2 дней, затем погибают. Их роль – регуляция сосудисто-инфильтративной фазы воспаления через контроль выделения гистамина и других биологически активных веществ базофилами и тучными клетками. Эозинофилы нейтрализуют избыточно выброшенный гистамин.

Базофилы в крови человека составляют около 0,5 % всей популяции лейкоцитов. Из костного мозга созревшие базофилы поступают в кровотоки, затем в ткани, где их функция сводится к выделению биологически активных веществ гистамина, серотонина, тетрапептидов и др.

Моноциты – предшественники тканевых макрофагов: из кровотока поступают в ткани, где дифференцируются на различного вида макрофаги (гистиоциты) с продолжительностью жизни от нескольких месяцев до нескольких лет. Макрофаги дифференцируют на перитонеальные, легочные, купферовские клетки печени, клетки Лангерганса, мезангиальные клетки почек, остеокласты, клетки микроглии (рисунок 2).

Макрофаги участвуют в формировании фагоцитарной реакции. Важнейшая функция макрофагов – «презентация» антигенов.

Лимфоциты делятся на популяции Т-клеток, В-клеток и 0-клеток (нулевых клеток).

Т-лимфоциты имеют размер 6 – 6,5 мкм, округлое, компактное и интенсивно окрашенное ядро и узкий ободок цитоплазмы. Перинуклеарная область выражена слабо или отсутствует. Клетки содержат кислую фосфатазу. Т-лимфоциты – долгоживущие и радиоустойчивые клетки.

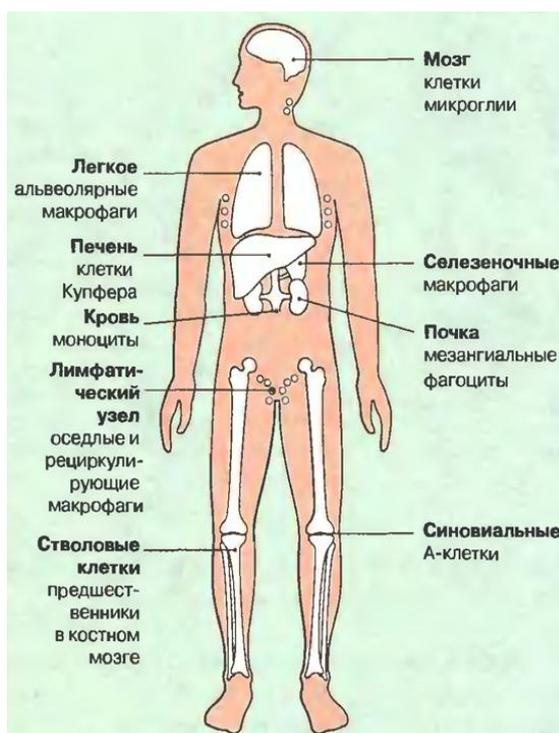
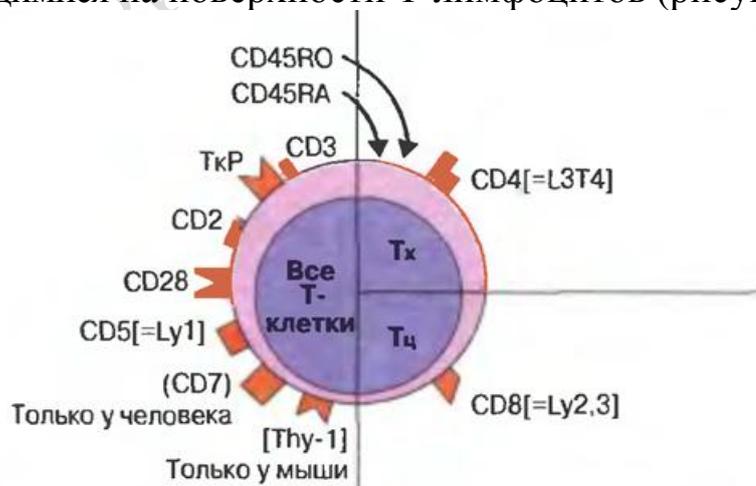


Рисунок 2 – Фагоциты моноцитарного ряда

T-лимфоциты разрушают чужеродные клетки (трансплантаты, опухолевые, вируstransформированные) при непосредственном контакте с ними. Распознавание чужеродных клеток осуществляется антигенраспознающими T-клеточными рецепторами (ТкР), экспрессирующимися на поверхности T-лимфоцитов (рисунок 3).



Тх – T-хелперы, Тц – T-киллеры, CD – дифференцировочные маркеры,
ТкР – T-клеточные рецепторы

Рисунок 3 – Поверхностные маркеры T-клеток человека и мыши

В тимусе происходят основные дифференцировочные события, приводящие к формированию субпопуляций Т-клеток:

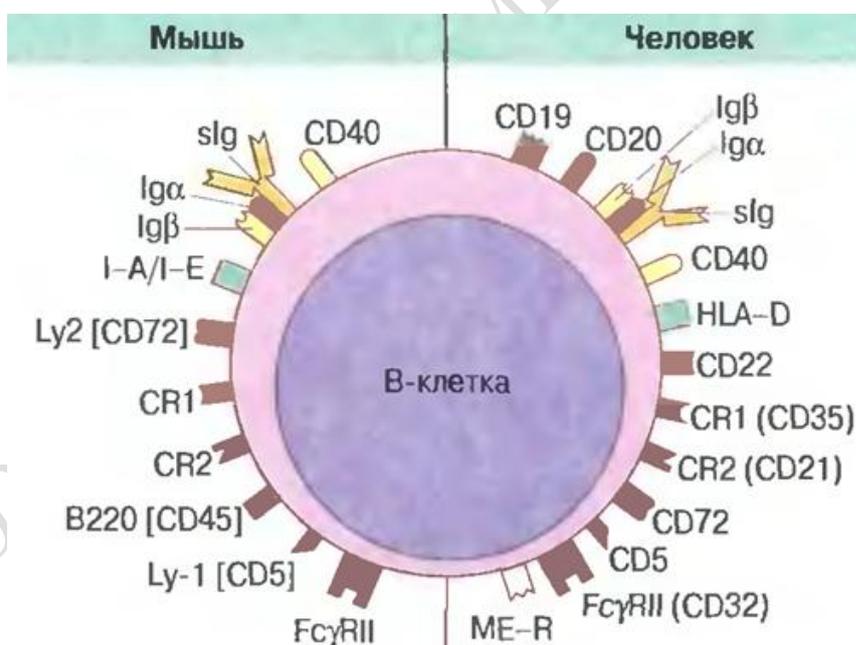
- цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ), или Т-киллеры;
- Т-хелперы;
- Т-супрессоры.

Хелперы и супрессоры являются иммунорегуляторными, а киллеры – эффекторными клетками.

В-лимфоциты имеют размер 8,5 мкм, светлое слабоокрашенное ядро. Перинуклеарная зона хорошо выражена. Выросты цитоплазмы более выражены, чем у Т-клеток. Клетки содержат щелочную фосфатазу, гликоген, они маложивущие и радиочувствительные. В-лимфоциты составляют 15 – 20 % лимфоцитов периферической крови. Взаимодействие В-лимфоцита с антигеном приводит к его антигензависимой дифференцировке по двум направлениям:

- активно продуцирующие иммуноглобулины плазмоциты;
- В-клетки памяти.

На завершающей стадии дифференцировки В-лимфоцит на своей мембране несет антигены, рецепторы и маркеры (рисунок 4).



CD – дифференцировочные маркеры, Ig – иммуноглобулиновые рецепторы, HLA-антигены главного комплекса гистосовместимости человека

Рисунок 4 – Поверхностные маркеры В-клеток человека и мыши

Плазматические клетки, или плазмоциты – высокоспециализированные клетки, синтезирующие и секретирующие

иммуноглобулины. Плазмоциты имеют диаметр 10 – 20 мкм в зависимости от зрелости. Вблизи ядра локализуется аппарат Гольджи. Ядро расположено эксцентрично, содержит крупные глыбки хроматина, расположенные в виде спиц в колесе. В цитоплазме плазмоцита имеется хорошо развитая гранулярная эндоплазматическая сеть, на мембранах – большое количество рибосом.

Нулевые клетки (0-клетки) составляют 5 – 10 % лейкоцитов периферической крови. Среди нулевых клеток по функциональным характеристикам выделяют:

- естественные киллеры (NK-клетки);
- эффекторы антителозависимой клеточной цитотоксичности (К-клетки).

Субпопуляция естественных киллеров (NK) представлена большими гранулярными клетками, в гранулах которых содержится белок перфорин. Перфорин способен проникать в мембрану клетки-мишени, образуя мембраноатакующий комплекс, вызывающий осмотический «взрыв» и лизис клетки. NK-клетки оказывают цитотоксическое действие при первичном контакте с клеткой, генетически чужеродной клеткам организма. NK-клетки составляют 4 – 6 % всех лимфоцитов. NK-клетки секретируют интерлейкины 1 и 2, интерферон, ростовые факторы для В-лимфоцитов.

В отличие от фагоцитов лимфоциты живут дольше и могут циркулировать многократно между лимфатической системой и кровотоком (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение Т- и В-клеток по органам иммунной системы

Орган иммунной системы	Т-клетки, %	В-клетки, %
Тимус	100	0
Кровь	85	15
Лимфатические узлы	70	30
Селезенка	40	60
Костный мозг	10	90

Фибробласты и эпителиальные клетки являются микроокружением лимфоидных органов, участвуют в локализации микроорганизмов и воспалительных процессов, вырабатывают фибробластный интерферон.

ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Органы иммунной системы (ИС) подразделяются на центральные и периферические.

К центральным органам относятся:

- красный костный мозг, осуществляющий продукцию иммунокомпетентных клеток из стволовой полипотентной клетки;
- вилочковая железа, или тимус, в ней происходит созревание и дифференцировка Т-лимфоцитов (рисунок 5).

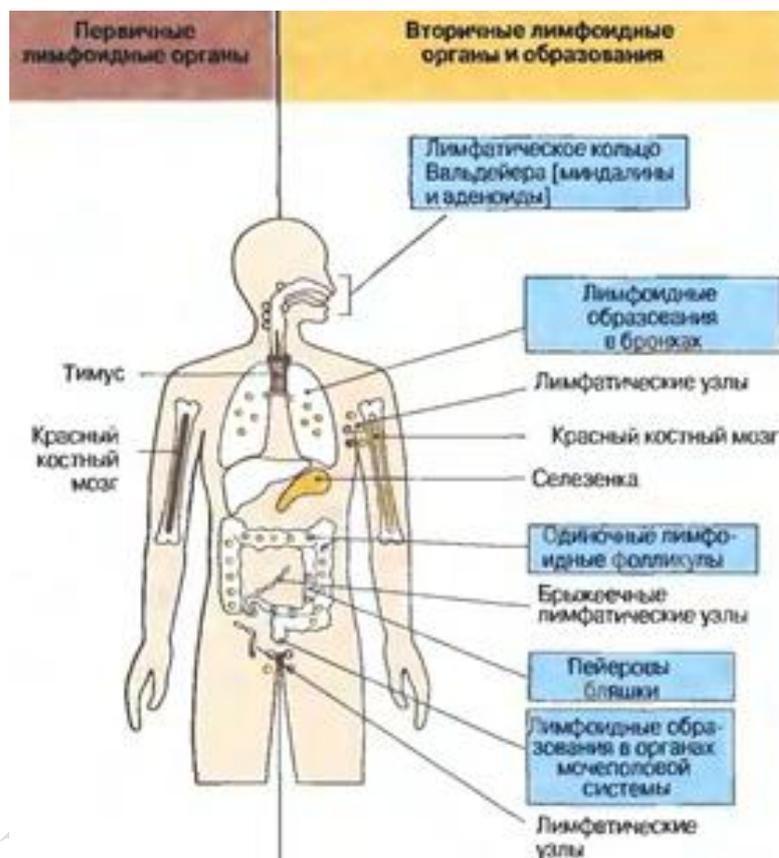


Рисунок 5 – Основные лимфоидные органы и образования

Особенности центральных органов:

- инволюция с возрастом;
- лимфоцитопоз не зависит от антигенных стимулов;
- удаление ведет к значительным дефектам в иммунной системе.

К периферическим органам относятся:

- селезенка,
- лимфатические узлы,

- диффузные скопления лимфоидной ткани в слизистых оболочках внутренних органов дыхательной, пищеварительной и мочеполовой систем (миндалины, пейеровы бляшки, аппендикс и др.).

Особенности периферических органов:

- сохраняются на протяжении всей жизни,
- лимфоцитопоз является антигензависимым,
- удаление вызывает не столь значительные изменения в организме.

Выделяют также забарьерные органы – органы, куда запрещен доступ иммунокомпетентных клеток (ЦНС, семенники, глаза, паренхима тимуса и при беременности – плод), и внутрибарьерный орган – кожу.

Красный костный мозг локализован во внутренней полости трубчатых костей и представляет собой тканевое объединение ретикулярной стромы, плотно упакованных гемопоэтических и лимфоидных клеток, а также разветвленной сети капилляров. Главная функция — продукция иммунокомпетентных клеток из полипотентной стволовой клетки.

Печень в эмбриональном периоде является источником первичной популяции В-клеток, поэтому ее можно отнести к центральным органам иммунитета. Купферовские клетки-макрофаги печени очищают кровь от токсинов, захватывают и удаляют иммунные комплексы, осуществляют фагоцитоз.

Тимус – лимфоэпителиальный орган, расположенный у млекопитающих в грудной полости непосредственно за грудиной над сердцем. Тимус состоит из двух основных долей, которые делятся на более мелкие дольки. Орган в целом и отдельные дольки заключены в соединительнотканную капсулу, внутренняя полость которой включает эпителиальную сеть, заполненную лимфоцитами (лимфоциты тимуса – ТИМОЦИТЫ). В каждой дольке ясно выявляются два слоя: кора с плотной упаковкой малых тимоцитов и мозговое вещество (медуллярный слой), где количество тимоцитов снижено (рисунок б).

Особенностью организации тимуса является наличие двух элементарных структурно-гистологических единиц: **Фолликулов Кларка** и **Телец Гассалья**. Кортикальный слой построен из фолликулов Кларка: плотно упакованные лимфоциты и расположенные среди них макрофаги окружены эпителиальными клетками. В медуллярной зоне наблюдаются свободные от лимфоцитов округлые скопления эпителиальных клеток – телец Гассалья, продуцирующих гормон тимуса – тимозин. Гематотимусный барьер ограждает кортикальный слой от

взаимодействия с антигеном и обеспечивает антигеннезависимость дифференцировки клеток.

Периферические органы иммунитета не являются местом, определяющим дифференцировку стволовых кроветворных элементов по пути формирования Т- и В-клеточных популяций. Данные органы служат для развития иммунного ответа после взаимодействия Т- и В-клеток с антигеном и между собой.

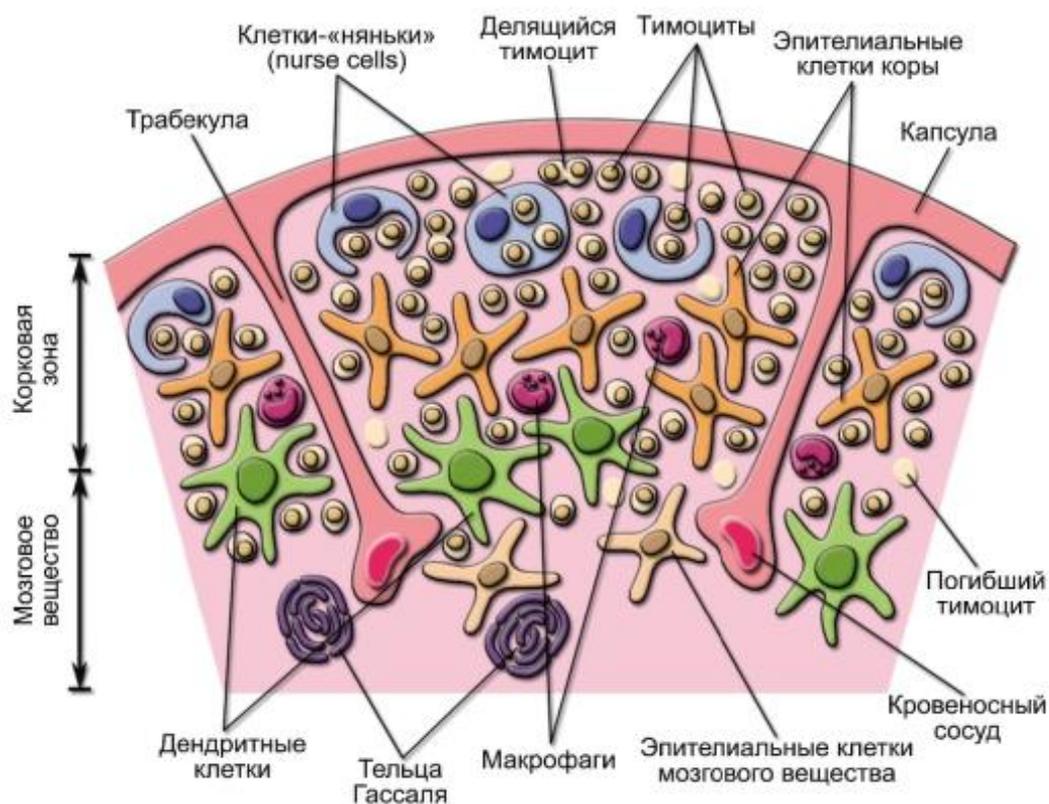


Рисунок 6 – Клеточный состав тимуса

Лимфатические узлы (ЛУ) выполняют неспецифическую барьерную функцию – элиминацию микробов из лимфы. Они являются местом развития клеточного и гуморального иммунного ответа. ЛУ – истинно лимфоидные образования, расположенные обычно в месте слияния крупных лимфатических сосудов. Размеры узлов у человека колеблются от 3 до 30 мм.

Как и в тимусе, в ЛУ различают корковый слой, расположенный по периферии и организованный в первичные и вторичные фолликулы, и мозговое вещество, находящееся в центре узла (рисунок 7).

Корковый слой узла – место концентрации В-клеток, тимуснезависимая, или В-зона. Мозговое вещество представлено

относительно слабо упакованными лимфоцитами, плазмочитами, свободными макрофагами и ретикулярными клетками стромы. Область между корой и мозговым веществом (паракортикальная) — место концентрации Т-клеток, тимусзависимая, или Т-зона. Т-лимфоциты этой зоны являются зрелыми тимуспроизводными клетками с ярко выраженной способностью к киллерной функции.

В процессе иммунного ответа в корковом слое появляются вторичные фолликулы, или центры размножения – место формирования эффекторных иммунокомпетентных В-клеток. В центрах размножения помимо В-лимфоцитов различной степени зрелости хорошо представлены дендритные клетки, входящие в состав стромы, и свободные макрофаги с выраженной фагоцитарной активностью. Подобная близость всех трех типов функционально зрелых клеток создает реальные условия для успешного их взаимодействия при развитии иммунного ответа.

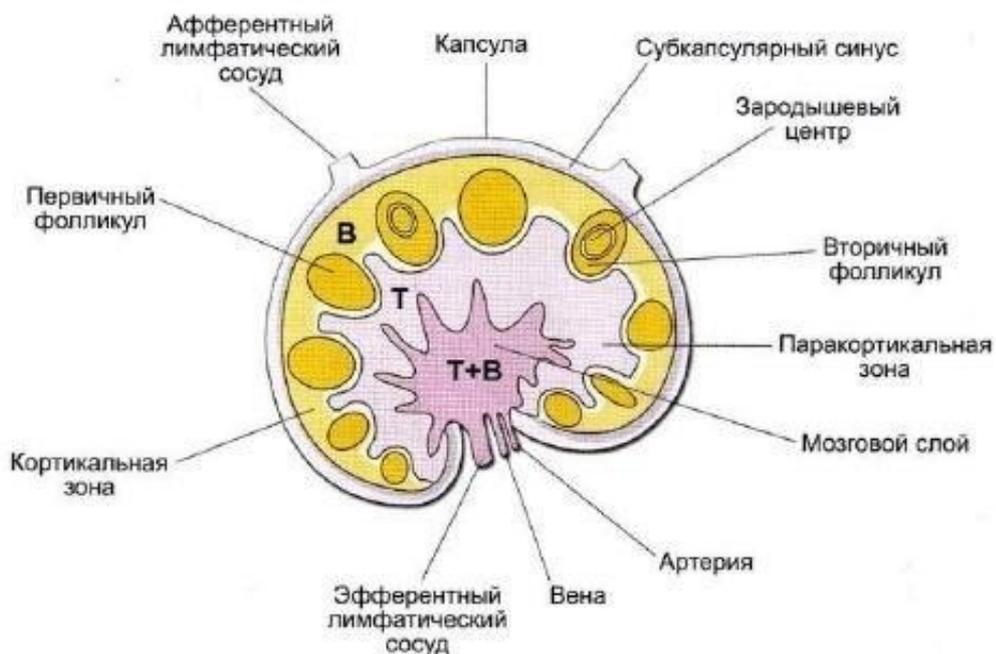


Рисунок 7 – Схема строения лимфатического узла

Селезенка – крупный орган в верхней левой части брюшины. Снаружи он окружен соединительнотканной капсулой, от которой внутрь отходят поддерживающие перегородки – трабекулы. Характерной чертой строения селезенки является наличие двух гистологически различающихся участков красной и белой пульпы (рисунок 8).

Белая пульпа (ПАЛМ – периартериолярная лимфоидная муфта, или мальпигиевы тельца) представляет собой скопление лимфоцитов вокруг эксцентрично расположенного артериального канала. Красная пульпа – место локализации большого количества эритроцитов, макрофагов, мегакариоцитов, гранулоцитов, лимфоцитов. Белая пульпа и пограничная область между белой и красной пульпой заселяются Т- и В-лимфоцитами, мигрирующими из центральных органов иммунной системы. Они распределяются по двум зонам: тимусзависимой, где скапливаются Т-лимфоциты вокруг пронизывающих пульпу артериол, и тимуснезависимой, накапливающей В-лимфоциты. В этой зоне хорошо различимы фолликулы с центрами размножения, которые образуются в ответ на антигенный стимул.

Лимфоцитами красной пульпы являются Т-клетки, покидающие селезенку через венозные синусы. Плазмциты этой зоны представляют собой завершившие дифференцировку В-клетки, которые вышли из зародышевых центров.

Селезенка является лимфоидным органом и фильтрующим аппаратом, в котором осуществляется:

- детоксикация, удаление и деструкция старых и поврежденных эритроцитов, тромбоцитов и других клеток;
- дифференцировка лимфоцитов;
- образование антитело-синтезирующих клеток;
- образование тафтсина – тетрапептида, который может повышать миграцию, фагоцитарную активность и продолжительность жизни макрофагов и нейтрофилов, увеличивает цитотоксическое действие Т-лимфоцитов, стимулирует синтез антител.

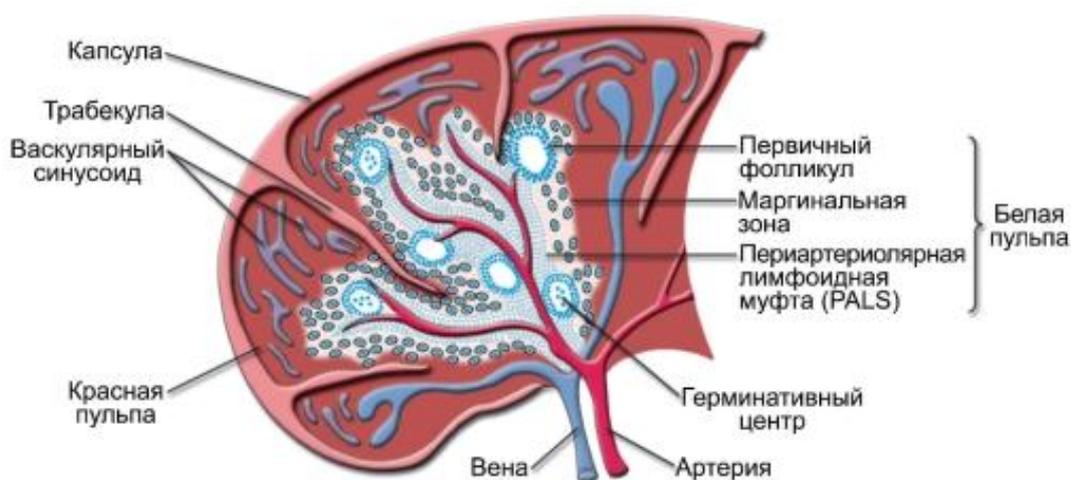


Рисунок 8 – Схема строения селезенки

Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками, представлена либо в виде диффузной инфильтрации, либо в форме узелковых скоплений, лишенных замкнутого соединительнотканного футляра.

В тонком кишечнике такие узелки получили название **Пейеровых бляшек** (рисунок 9).

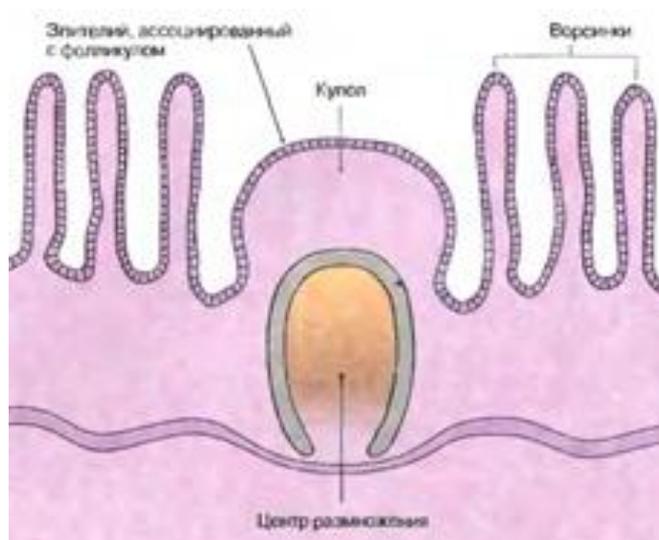


Рисунок 9 – Схема строения пейеровой бляшки

Лимфоциты этих образований представлены как В-, так и Т-клетками. Продуцирующие антитела плазмоциты и Т-клетки способны проникать в слизистую оболочку кишки, находящуюся в прямом контакте с бляшками. В слизистой находятся фагоцитирующие клетки, которые поглощают патогены, оказавшиеся на эпителиальной слизистой поверхности просвета кишечника. Близки по строению и функции **миндалины**, расположенные вдоль дыхательного тракта. Небные миндалины осуществляют защиту верхних дыхательных путей от инфекции, снабжают лимфатическую систему по всему организму иммунокомпетентными клетками и участвуют в формировании микробной флоры полости рта и носоглотки.

Червеобразный отросток – придаток слепой кишки. В слизистой оболочке имеется большое количество лимфоидных элементов. В куполе, короне и фолликулах большое количество микробных клеток. Полагают, что эти микробы способствуют созданию толерантности к нормальной микрофлоре кишок и формированию клонов относительно патогенных видов организмов.

Контрольные вопросы:

1. Что такое иммунная система?
2. Перечислите компоненты иммунной системы.
3. Почему необходимо такое множество различных клеток, участвующих в иммунном ответе?
4. Какие мембранные молекулы являются абсолютными маркерами Т- и В-клеток?
5. Опишите вспомогательные клетки иммунной системы.
6. Классификация и особенности органов иммунной системы.
7. Чем лимфоидная система отличается от любой другой системы организма?
8. Какой физиологический смысл миграции В-клеток в зародышевые центры?

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2

СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА АНТИГЕНОВ. ИСТОЧНИКИ ЭКЗОГЕННЫХ АНТИГЕНОВ

Цель: изучить строение, свойства и классификацию антигенов

Ход работы:

1. Изучить теоретическую часть, ознакомиться с терминами.
2. Изобразить модель антигена, локализацию антигена в бактериальной клетке и у вирусной частицы.
3. Ответить на вопросы.
4. Проверить усвоение темы по тестам, приведенным в учебной программе по курсу «Основы иммунологии».

Антиген (АГ) (англ. antigen от antibody-generating — «производитель антител») – это любая молекула, которая специфично связывается с антителом. Укоренились следующие названия АГ:

корпускулярные – различные клетки и крупные частицы: бактерии, грибки, простейшие, эритроциты;

растворимые – белки различной степени сложности, полисахариды, липополисахариды;

ксеноантигены – АГ тканей и клеток, отличающиеся от реципиента на видовом уровне;

аллоантигены – АГ тканей и клеток, отличающиеся от реципиента на внутривидовом (индивидуальном) уровне;

трансплантационные – АГ клеточной поверхности, контролируемые главным комплексом гистосовместимости;

аутоантигены – АГ собственных клеток, полимерных молекул;

аллергены – АГ пищи, пыли, пыльцы растений, ядов насекомых, вызывающие повышенную реактивность;

толерогены – АГ клеток, белков, вызывающие ареактивность;

синтетические – искусственно синтезированные полимеры аминокислот, углеводов;

гаптены – простые химические соединения, в основном, ароматического ряда.

Общие свойства антигенов. При попадании в организм антигены способны вызывать различные иммунологические реакции: образование иммуноглобулинов (антител), гиперчувствительность различного типа,

инициировать образование клеток иммунной памяти, цитотоксических и плазматических клеток, состояние иммунологической толерантности и другие.

Антигенная специфичность – свойство, отличающее данный АГ от антигенного состава организма, в который он проникает.

Иммуногенность – способность инициировать иммунную систему к формированию эффекторов, нейтрализующих антигенную чужеродность. Иммуногенность АГ определяется чужеродностью для организма, молекулярным весом, химическим строением, физико-химическими свойствами и др.

С учетом антигенной специфичности и иммуногенности АГ делятся на 2 группы:

1) высокомолекулярные соединения (белки, полисахариды с молекулярной массой 100 000 и выше), индуцирующие образование антител и взаимодействующие с ними, обладающие свойствами специфичности и иммуногенности (**полные АГ – иммуногены**)

2) простые низкомолекулярные химические соединения (молекулярная масса менее 1 000), реагирующие с антителами (свойство специфичности), но не обеспечивающие их образование (отсутствие иммуногенности) – **гаптены (неполные АГ)**. Наличие чужеродности при низкой молекулярной массе лишает гаптены иммуногенности. При этом комплекс гаптена с белком-носителем иммуногенен.

Зависимость антигенных свойств от молекулярной структуры. Антигены, как правило, являются белками или полисахаридами и представляют собой части бактериальных клеток, вирусов и других микроорганизмов. Липиды и нуклеиновые кислоты, как правило, проявляют иммуногенные свойства только в комплексе с белками. Простые вещества, даже металлы, также могут вызывать продукцию специфичных антител, если они находятся в комплексе с белком-носителем.

Для того чтобы какое-либо вещество проявляло свойства антигена оно должно обладать сложностью строения, жесткостью структуры, растворимостью, способностью переходить в коллоидное состояние.

Понятие об антигенных детерминантах и валентности АГ. Полный антиген состоит из двух частей:

а) носитель (стабилизирующая часть), составляет 97 – 99 % молекулы АГ; как правило, это макромолекулы, инертные корпускулярные частицы;

б) детерминантная группа (эпитоп, антигенная детерминанта) – участок поверхности антигенной молекулы, который реагирует с

антителами и сенсibilизированными лимфоцитами и индуцирует антигенный ответ – выработку антител плазматическими клетками.

На одном носителе может быть несколько эпитопов, в связи с этим вводят понятия **эпитопная плотность** и **валентность антигена** (рисунок 10). Валентность антигена определяется количеством эпитопов. Например, молекула рибонуклеазы имеет 5 эпитопов, гемоцианин гадюки – 231 эпитоп, а вирус табачной мозаики – 650 эпитопов.

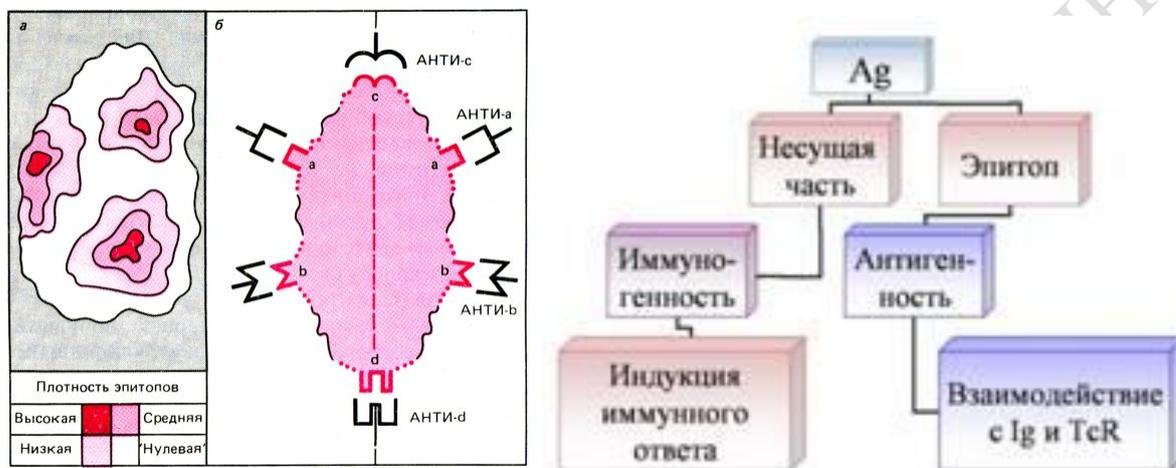


Рисунок 10 – Модель и свойства антигена

Детерминантная группа определяет специфичность антигена.

В естественных белках-АГ эпитопом являются аминокислотные остатки, в полисахаридных АГ – молекулы гексозы, в более сложных АГ – антибиотики, азокраски, липиды, низкомолекулярные полисахариды, элементы и другие гаптены.

В липопротеидах, гликопротеидах, бромированных, йодированных протеидах белок несет функцию носителя, или индуктора продукции антител, а гаптен – функцию детерминантной группы. Гаптен рассматривают как модель эпитопа.

В- и Т-лимфоциты распознают разные по характерологическим особенностям эпитопы АГ.

В-клеточные эпитопы. Величина эпитопа, с которым взаимодействует антитело или иммуноглобулиновый рецептор В-клеток, как правило, должна соответствовать размеру антигенраспознающего участка. Обычное число аминокислот или сахаров, составляющих эпитоп, равно 6 – 8 мономерам.

В-клеточные эпитопы находятся, как правило, на внешней поверхности антигена и относятся к так называемому *конформационному*

титу, т.е. обладают третичной структурой и составляют часть общей пространственной организации антигенной молекулы.

Т-клеточные эпитопы Антигенный рецептор Т-клеток (ТкР) распознает не собственно антиген, а его комплекс с продуктами главного комплекса гистосовместимости (МНС). Участки антигенных молекул, взаимодействующие с молекулами МНС, которые не перекрываются с эпитопами, получили название **агрегопов** (рисунок 11).

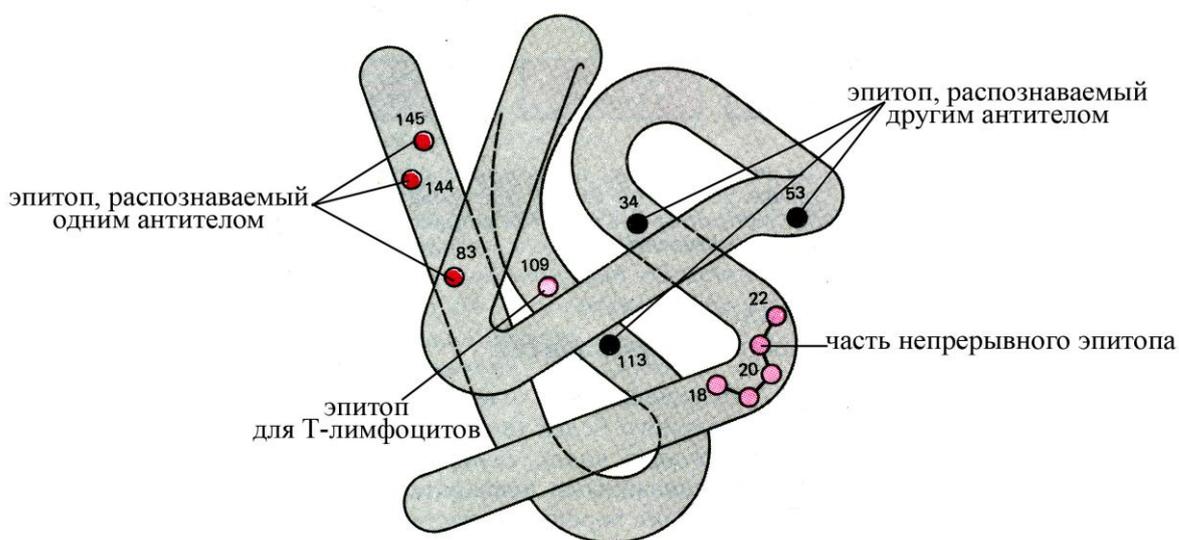


Рисунок 11 – Модель АГ

Тимусзависимые и тимуснезависимые антигены. Большинство природных антигенов является **тимусзависимыми**. Это означает, что полноценное развитие специфического иммунного ответа на такие антигены начинается только после подключения Т-клеток. При использовании конъюгата гаптена с различными белками в качестве носителя установлено, что Т-клетки отвечают на носитель (Т-клеточный эпитоп), в то время как В-клетки – на гаптен (В-клеточный эпитоп).

Тимуснезависимые АГ – АГ, способные инициировать иммунный ответ в отсутствие Т-клеток. АГ этой группы, в основном, относятся к полисахаридам и характеризуются многократным повторением структурно идентичных эпитопов.

По отношению к организму антигены могут быть как внешнего, так и внутреннего происхождения.

Экзогенные АГ – попадают в организм из внешней среды.

Неинфекционные АГ – АГ растений, лекарственные препараты, химические вещества (природные и синтетические), АГ клеток и тканей животных, в т.ч. трансплантаты.

Инфекционные АГ – АГ бактерий, вирусов, грибов и паразитов (простейшие, гельминты). Все они могут быть аллергенами.

Антигены разных видов микроорганизмов по структуре и составу резко отличаются друг от друга. Большинство возбудителей инфекционных заболеваний человека, их структуры и токсины – полноценные антигены, вызывающие развитие иммунных реакций.

Антигены бактерий по локализации делятся на:

- целлюлярные (связанные с клеткой),
- экстрацеллюлярные (не связанные с клеткой).

Среди целлюлярных АГ основными являются: соматический О-антиген (глюцидо-липоидо-полипептидный комплекс), жгутиковый Н-антиген (белок), поверхностные капсульные К-антиген, f_i-антиген, Vi-антиген (представлены протеиновыми субстанциями (сибирязвенная палочка) или сложными полисахаридами (стрептококк) (рисунок 12).

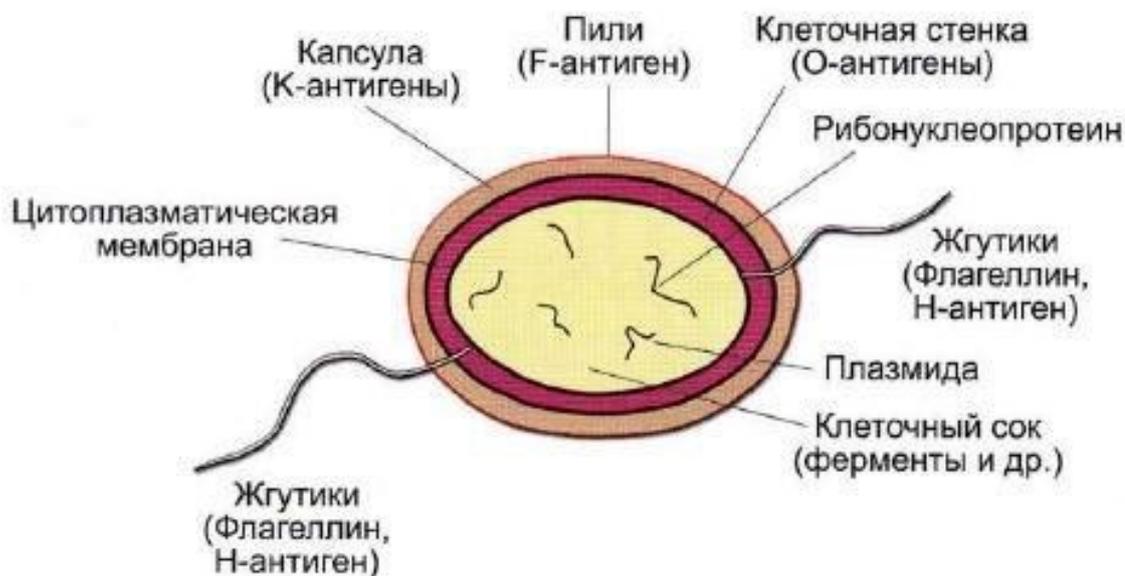


Рисунок 12 – Локализация антигенов в бактериальной клетке

Экстрацеллюлярные АГ – это продукты, секретируемые бактериями во внешнюю среду, в том числе АГ экзотоксинов, ферментов агрессии и защиты, и другие.

По специфичности АГ бактерий подразделяют на **гомологичные** – видо- и типоспецифические и **гетерогенные** – групповые, межвидовые. Группоспецифические АГ – характерны для разных видов. Общие АГ обнаружены у эритроцитов человека и гноеродных кокков, энтеробактерий, вирусов оспы, гриппа и других микроорганизмов. Видоспецифические АГ – внутривидовые, характерны для особей одного вида. Типоспецифические АГ – характерны для внутривидовых

популяций и являются определяющими для штаммов внутри одного вида. На внедрение видоспецифических и особенно типоспецифических АГ в организме вырабатываются высокоспецифичные АТ, которые реагируют с АГ только данного вида или варианта микроорганизма.

АГ грибов:

- полисахариды клеточной стенки;
- белки цитоплазмы и ядра, ферменты (протеиназы и др.).

Все они обладают общими эпитопами, из-за чего перекрестно реагируют с АТ. АГ грибов обладают иммуностимулирующим, аллергическим и иммунодепрессивным действием. АТ к грибковым АГ выявляют у многих здоровых лиц.

АГ вирусов:

- суперкапсидные – белки и гликопротеиды (гемагглютинин и нейраминидаза вируса гриппа);
- капсидные – белки и гликопротеиды, обладают протективными свойствами.
- нуклеопротеидные (сердцевидные) АГ – комплекс белок + нуклеиновая кислота.

Каждый АГ вирусов поливалентен. По строению они вариабельны даже в пределах одного вида. При этом вирусы постоянно изменяют свой АГ состав за счет генных мутаций. Наиболее иммуногенные, протективные пептиды вирусов используются для создания синтетических вакцин (рисунок 13).

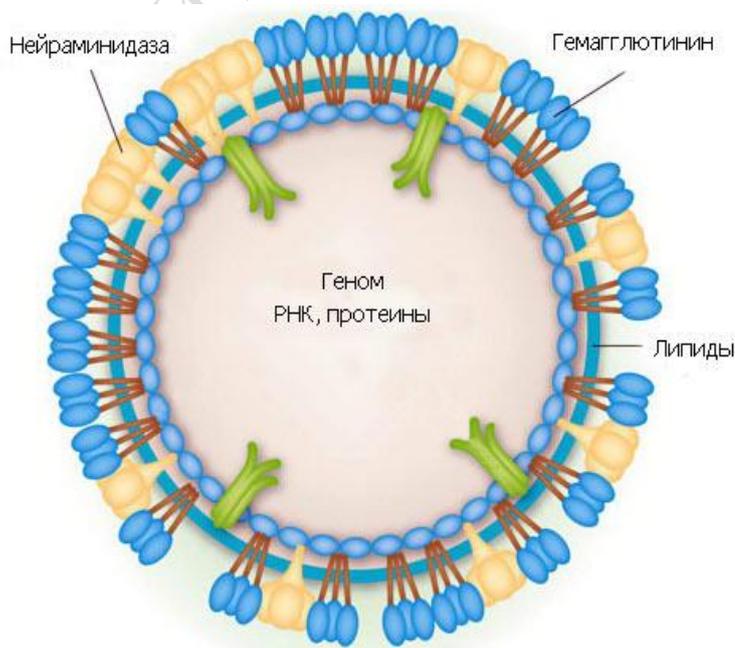


Рисунок 13 – Антигены вирусной частицы

АГ паразитов. Гельминты и другие паразиты сложны по строению и содержат большое количество полисахаридных и белковых АГ. АГ мозаика специфична для каждого вида паразитов. Стимулируя иммунные реакции они часто вызывают аллергии.

Антигены животных и человека. Клетки, взвеси органов и тканей, кровь, сыворотка животных, введенные в организм другого вида (особи, индивидуума), обладают свойствами иммуногенов.

К экзогенным АГ относятся изоантигены:

- АГ эритроцитов – система АВО, Rh – фактор;
- АГ лейкоцитов – HLA-система распознающих молекул МНС;
- АГ тромбоцитов.

Антигены эритроцитов. На поверхности эритроцитов имеется более 194 АГ, относящихся к 23 системам. Наиболее важными являются гликопротеины – изогемаггулинины системы АВО групп крови. По наличию А и В-АГ и соответствующих им естественных АТ (α - альфа и β - бета) различают 4 группы крови у человека:

- 0(I): нет АГ, есть α -АТ и β -АТ;
- A(II): А-АГ, и β -АТ;
- B(III): В-АГ и α -АТ;
- AB(IV): А- и В-АГ, нет АТ (рисунок 14).

Антигены А \cup и В \cap – олигосахариды, синтезируются из антигена Н \oplus под действием белков-ферментов А (аллель I^A) или В (аллель I^B). Мутация «0» в гене (аллель I^O) привела к образованию неактивного белка.

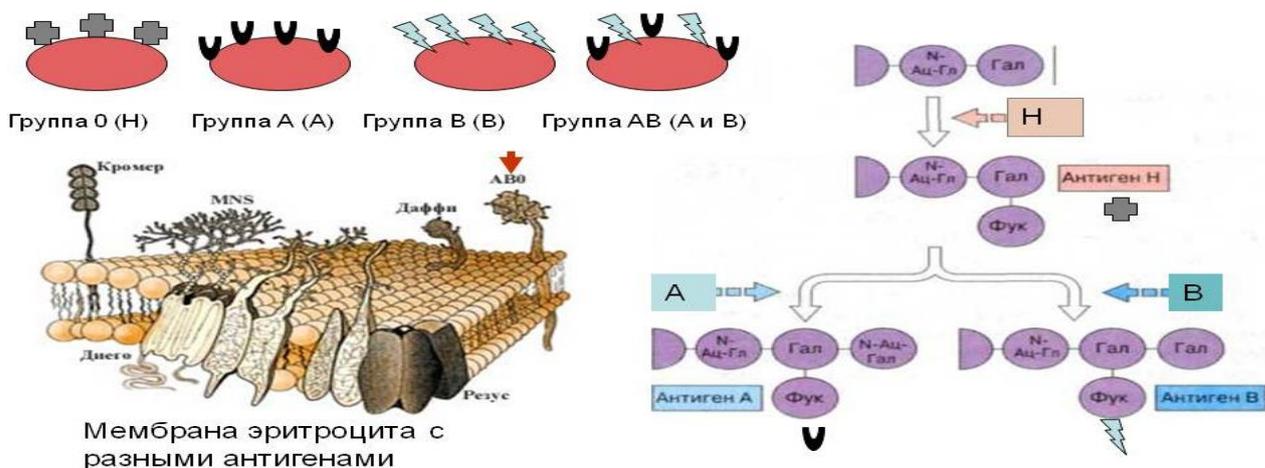


Рисунок 14 – Антигены эритроцитов

Изоагглютинины обладают способностью взаимодействовать с определенными антигенами (агглютиногенами) и вызывать реакцию склеивания (агглютинации) эритроцитов.

Чужеродные белки лечебной (иммунной) сыворотки при парентеральном введении в организм вызывают образование антител и активируют клеточные факторы иммунитета независимо от вида и иммуногенности донора

Система Rhesus У 85 % людей на эритроцитах есть резус-АГ (Rh). При наличии у резус-отрицательной женщины плода, на эритроцитах которого есть этот АГ за счет генов отца, происходит иммунизация матери, и ее IgG-АТ, проникшие через плаценту, могут разрушать эритроциты плода (гемолиз), особенно при повторной беременности. В итоге возникает резус-конфликт – гемолитическая болезнь новорожденных.

АГ тромбоцитов Тромбоциты несут более 20 различных молекул, которые можно выявить с помощью АТ. Они ассоциируются с интегринами и могут быть причиной аллоиммунных тромбоцитопений у новорожденных и при переливании плазмы крови.

АГ животных по отношению к человеку являются ксеногенными АГ. Поэтому при повторном введении белков сыворотки крови животных (лошадиной противодифтерийной и др.) всегда возникает аллергическая иммунная реакция. Шерсть и перхоть животных являются сильными аллергенами для человека.

По локализации (тканевой и клеточной принадлежности) АГ тканей и клеток животных можно выделить следующие типы органоспецифических и типоспецифических эндогенных веществ, которые могут быть АГ:

- стромальные АГ;
- поверхностные клеточные – мембранные АГ;
- цитоплазматические (микросомальные, микротубулярные);
- митохондриальные;
- ядерные (нуклеопротеиды, нуклеиновые кислоты).

Имеются также стадиспецифические АГ (альфа-фетопротеин характерен для эмбриона).

Контрольные вопросы:

1. Укажите синоним понятия «антигенная детерминанта».
2. Выберите вещества, которые по своей химической структуре являются полными антигенами:
 - а) белки;
 - б) нуклеиновые кислоты;
 - в) гликопротеиды;
 - г) липополисахариды;
 - д) полисахариды;
 - е) нуклеопротеиды;
 - ж) липиды;
 - з) глюкоза;
 - и) хлористый натрий.
3. Выберите вещества, которые относятся к гаптенам и только при конъюгации с носителем способны вызывать иммунный ответ:
 - а) белки;
 - б) нуклеиновые кислоты;
 - в) гликопротеиды;
 - г) липополисахариды;
 - д) полисахариды;
 - е) нуклеопротеиды;
 - ж) хром.
4. Напишите синоним понятия «неполные антигены».
5. Антигенами не могут быть:
 - а) искусственные вещества;
 - б) растительные вещества;
 - в) низкомолекулярные вещества, имеющиеся в организме.
 - г) белки;
 - д) полисахариды;
6. К тимуснезависимым антигенам относятся:
 - а) трансплантационные антигены;
 - б) сывороточные белки;
 - в) чужеродные эритроциты;
 - г) микробные полисахариды;
 - д) липополисахариды бактерий.

РЕПОЗИТОРИЙ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И СТРУКТУРА АНТИТЕЛ

Цель: изучить структуру, классификацию и свойства антител

Ход работы:

1. Изучить теоретическую часть.
2. Нарисовать структурные схемы молекул иммуноглобулинов разных классов, отметить в них разные функциональные фрагменты.
3. Переписать таблицу в тетрадь и заполнить пустые ячейки в соответствии со строением и свойствами иммуноглобулинов разных классов.
4. Проверить усвоение темы по тестам, приведенным в учебной программе по курсу «Основы иммунологии».

Антитела – **иммуноглобулины**, белки-гликопротеины, продуцируемые зрелыми В-лимфоцитами (плазмócитами) в ответ на введение антигена. Характерная особенность антител – строгая специфичность по отношению к введенному в организм антигену.

Свойства антител:

- нейтрализовать токсины бактерий и вирусы (антитоксины и вируснейтрализующие антитела),
- осаждать растворимые антигены (преципитины),
- склеивать корпускулярные антигены (агглютинины),
- повышать фагоцитарную активность лейкоцитов (опсонины),
- связывать антигены, не вызывая каких-либо видимых реакций (блокирующие антитела),
- совместно с комплементом лизировать бактерии и другие клетки, например, эритроциты (лизины).

Молекулярная структура антител. У млекопитающих известно пять классов иммуноглобулинов: IgM, IgG, IgA, IgE и IgD, которые имеют общий план строения, но отличаются структурными особенностями. На рисунке 15 представлена схема организации IgG.

Этот иммуноглобулин содержит две тяжелые (H) цепи с молекулярной массой каждой из них около 50 кД и две легкие (L) цепи с молекулярной массой по 25 кД, которые объединены в четырехцепочечную молекулу посредством ковалентных, межцепевых, дисульфидных связей (-S-S-).

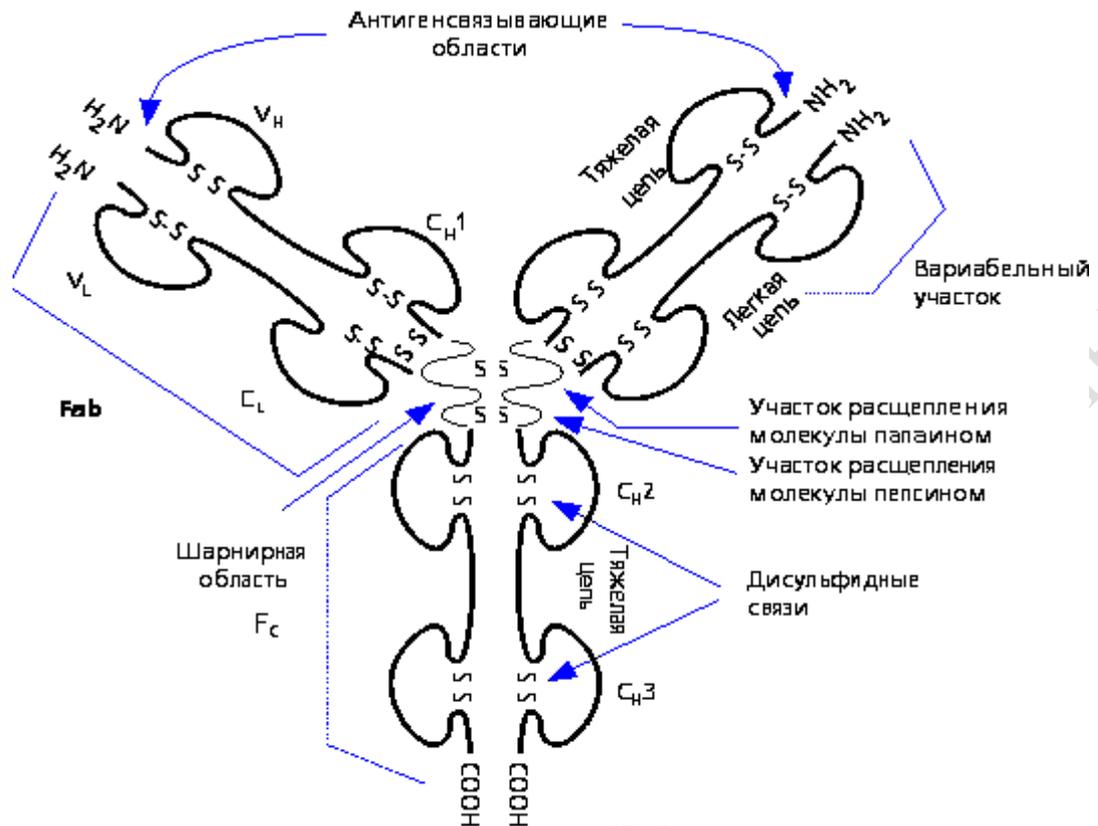


Рисунок 15 Схема строения иммуноглобулина G

В молекуле IgG выделяют два фрагмента:

1. Fab-фрагмент (от англ. «antigen binding») из двух одинаковых фрагментов с молекулярной массой 45 кД, связывает антиген;
2. Fc-фрагмент (от англ. «crystallizable») с молекулярной массой 50 кД легко кристаллизуется, связывается с комплементом и макрофагами.

Легкие и тяжелые цепи включают

- переменную область V (соответственно V_L и V_H для V- и H-цепей), от которой зависит специфичность иммуноглобулинов как антител;
- константную область (C), подразделяющуюся на гомологичные участки: C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} , C_{L1} .

Между C_{H1} и C_{H2} расположена **шарнирная область**, обогащенная пролиновыми остатками, обеспечивающими конформационную гибкость молекулы, что необходимо для лучшего взаимодействия с антигенными детерминантами, более выраженными на поверхности клеток. Антигенсвязывающий участок (паратоп) взаимодействует с эпитопом антигена.

Каждый гомологичный участок организован в замкнутую сферу – *домен*, за счет внутрицепевых дисульфидных связей, образующихся полуцистеиновыми остатками. Дисульфидная связь замыкает в петлю около 60 аминокислот. Приблизительно по 20 аминокислот, не входящих в замкнутую часть участка, служат для взаимодействия с соседними доменами.

В пространственной организации IgG человека тяжелые и легкие цепи, взаимодействуя друг с другом, образуют плотно упакованную структуру с тремя частями: два Fab-фрагмента и один Fc-фрагмент (рисунок 16).

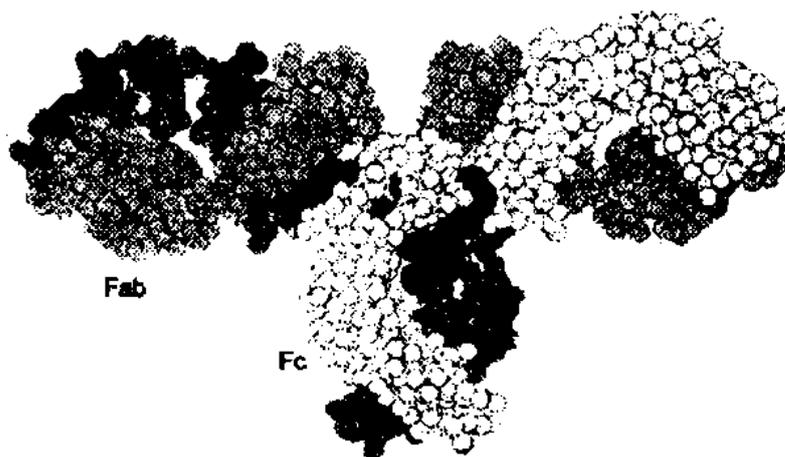


Рисунок 16 – Трехмерная структура IgG человека

Светлое и темно-серое изображение обозначают тяжелые цепи; светло-серое – легкие цепи; черное – углеводы

Классы иммуноглобулинов (изотипы) IgM, IgG, IgA, IgE и IgD млекопитающих имеют общий план строения, но отличаются структурными особенностями тяжелых (H) цепей. Существует 5 типов тяжелых цепей, обозначаемых буквами греческого алфавита: μ , γ , α , ϵ , σ и 2 типа легких к и λ (рисунок 17).

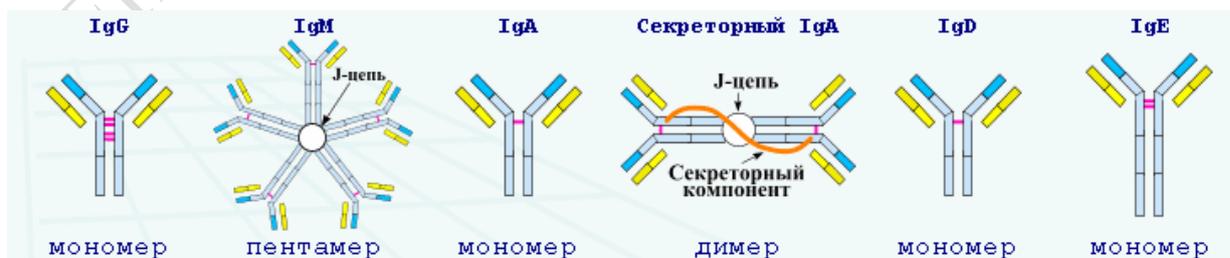


Рисунок 17 – Структура Ig разных классов

Авидность – суммарная сила множественных («многоочечных») взаимодействий между клетками или молекулами, что отличает этот показатель взаимодействия от аффинности как силы взаимодействия отдельного участка в системе рецептор-лиганд.

Таблица 2 – Основные физико-химические и биологические свойства иммуноглобулинов человека.

Свойство	IgM	IgG	IgA	IgD	IgE
Молекулярная формула	пентамер	мономер	мономер, димер	мономер	мономер
H-цепи					
L-цепи					
Молекулярная формула					
Дополнительные цепи	J-цепь		J-цепь, секреторный компонент		
Подклассы		IgG 1, IgG 2, IgG 3, IgG 4	IgA 1, IgA 2		
Количество доменов	5	4	4	4	5
Молекулярная масса, Д	950 000	150 000	160 000	175 000	190 000
Валентность антител					
Концентрация в сыворотке (мг/100 мл)	125 ± 50	1250 ± 300	210 ± 50	4	0,03
Процент от общего количества	5 – 10	75 – 85	7 – 15	0,3	0,003
Период полураспада (дни)	5,1	23	5,8	2,8	2,5
Скорость синтеза (мг/кг в день)	6,7	33	24	0,4	0,016
Агглютинирующая активность	100	1	-	-	-
Фиксация комплемента	+	+	-	-	-

ТЕРМИНЫ

Аллотипы иммуноглобулинов – полиморфные формы иммуноглобулинов, связанные с изменением аминокислотной последовательности в тяжелых цепях одного и того же класса этих молекул.

Аффинность – сила связывания (степень сродства) между отдельными участками взаимодействующих молекул (пример: взаимодействие молекулы антигена с молекулой антитела).

Варибельная область (V-область) – N-концевая часть иммуноглобулина или T-клеточного рецептора, ответственная за антигенсвязывающую специфичность, которая формируется в результате взаимодействия V-доменов тяжелой и легкой цепей.

Варибельность иммуноглобулинов – индивидуальная характеристика иммуноглобулинов, относящихся к одному и тому же классу или подклассу; обусловлена меняющейся от белка к белку последовательностью аминокислотных остатков в N-концевой части молекулы; отражает антигенсвязывающую специфичность иммуноглобулинов как антител.

Гетерогенность иммуноглобулинов – свойство, обусловленное константной частью молекулы, т.е. теми структурными особенностями, которые позволяют делить все иммуноглобулины на классы (изотипы), подклассы, аллотипы и типы легких цепей.

Гиперварибельные участки – положения в аминокислотной последовательности V-доменов, в которых наиболее часто встречаются замены аминокислот; эти замены от белка к белку собственно и определяют специфичность иммуноглобулинов и антигенраспознающих рецепторов.

Гуморальный иммунный ответ – специфический иммунный ответ, обусловленный антителами.

Изотипы иммуноглобулинов – все иммуноглобулины по структурным особенностям константной области тяжелых цепей делятся на пять изотипов (классов): IgM, IgG, IgA, IgE и IgD.

Каркасные участки – положения в аминокислотной последовательности V-доменов, в которых замены аминокислот от белка к белку встречаются редко в отличие от гиперварибельных участков; такие каркасные участки определяют конформационный консерватизм V-доменов.

Константная область (С-область) – инвариантная часть тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов, ответственная за их гетерогенность; состоит из одного С-домена у легких цепей и 3 или 4 С-доменов у тяжелых цепей в зависимости от класса иммуноглобулинов.

Опсонизация – процесс изменения клеточной поверхности патогена или других частиц в результате их взаимодействия с внеклеточными молекулами, что приводит к захвату опсонизированных клеток фагоцитами; специфические антитела и комплемент – активные факторы опсонизации патогенов.

Плазмоцит – клетка, продуцирующая антитела; заключительная клеточная форма в В-клеточной линии дифференцировки.

Репертуар антител – общее количество вариантов антител, которые потенциально может продуцировать индивидуум; для млекопитающих количество вариантов антител составляет величину $2,8 \cdot 10^8$.

Суперсемейство иммуноглобулинов – группа близкородственных белков, эволюционно возникших от общих предшественников – однодоменных белков: Thy-1, р₂- микроглобулин, Р₀; критериями для включения белков в суперсемейство служат гомология их аминокислотной последовательности с иммуноглобулинами и характер доменной организации; в состав суперсемейства входят: иммуноглобулины, антигенраспознающие рецепторы В- и Т-клеток, молекулы I и II классов МНС, корецепторы CD8 и CD4, рецепторы к иммуноглобулинам, ряд адгезивных молекул, однодоменные белки, отмеченные выше.

С-домен – составная часть константной области иммуноглобулинов и антигенраспознающих рецепторов; каждый домен включает более 100 аминокислотных остатков, замкнутых на себя дисульфидной (-S-S-) связью; С-домены не принимают участия в распознавании антигена, однако выполняют иные физиологические функции: связывание комплемента, взаимодействие с Fc-рецептором, прохождение через эндотелиальные барьеры.

Fab-фрагмент – фрагмент, образующийся в результате обработки IgG папаином; состоит из легкой цепи и N-концевой половины тяжелой цепи; включает V-домены, взаимодействующие с антигеном.

Fc-фрагмент – фрагмент, образующийся в результате обработки IgG папаином; состоит из С-концевых половин тяжелых цепей иммуноглобулинов, соединенных между собой дисульфидными связями.

V-домен – представляет собой переменную область тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов и T-клеточных рецепторов; включает около 100 аминокислотных остатков, замкнутых на себя дисульфидной (-S-S-) связью; при взаимодействии V-доменов тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов формируется антигенраспознающий участок.

Контрольные вопросы:

1. Главные механизмы защитного действия антител?
2. Иммуноглобулины каких классов имеют 4 константных домена?
3. Ig каких изотипов присутствуют на поверхности зрелых наивных В-клеток?
4. Классы иммуноглобулинов, субклассы, аллотипы, идиотипы. Биологические функции иммуноглобулинов разных классов.
5. Какие антитела доминируют при первичном и вторичном иммунном ответе?
6. Какими способами можно определить иммуноглобулины в сыворотке крови?

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф.С.СКОРНОВО

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 4

УСЛОВИЯ ОПТИМАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ «АНТИГЕН-АНТИТЕЛО»

Цель: изучить условия оптимального взаимодействия антиген-антитело и виды реакций антиген-антитело

Ход работы:

1. Изучить теоретическую часть.
2. Изобразить схемы реакций агглютинации, преципитации и лизиса.
3. Ознакомиться с терминами.
4. Ответить на контрольные вопросы.

Реакция «антиген-антитело» – важнейший защитный механизм, направленный на устранение антигена.

Серологические реакции могут быть:

- **прямыми** (двухкомпонентными): агглютинация, пассивная гемагглютинация, преципитация и др.,
- **косвенными** (трехкомпонентными): реакция нейтрализации (например, микроба), реакция торможения гемагглютинации.

Из нескольких «простых» складываются сложные серологические реакции: бактериолиз, реакция связывания комплемента и др. Процесс взаимодействия антигена и антитела в серологических реакциях протекает в две фазы:

1) **специфическая** – фаза взаимодействия, в которой происходит комплементарное соединение активных центров антител (паратопов) и эпитопов антигена, длится несколько секунд или минут;

2) **неспецифическая** – фаза проявления, характеризуется внешними признаками образования иммунных комплексов, может развиваться от нескольких минут до нескольких часов.

Оптимальное специфическое взаимодействие антител с антигеном происходит в изотоническом растворе с рН близким к нейтральному. Реакция «антиген-антитело» в системе *in vitro* может сопровождаться возникновением нескольких феноменов – **агглютинации, преципитации, лизиса.**

Внешние проявления реакции зависят

- от физико-химических свойств антигена (размер частиц, физическое состояние),

- класса и вида антител (полные и неполные),
- условий опыта (консистенция среды, концентрация солей, рН, температура).

При взаимодействии антигена со специфическим антителом образуется комплекс, который может представлять

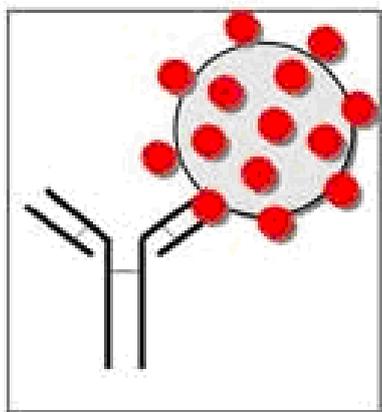
- **преципитат**, если антиген растворим;
- **агглютинат**, если антиген корпускулярный.

Механизм реакции «антиген-антитело». Вначале происходит первичное соединение молекул антигена и антитела, приводящее к образованию первичного комплекса. Так как антиген поливалентен, а антитело, по меньшей мере, двухвалентно, создаются условия присоединения данным первичным комплексам свободных молекул антигена. Кроме того, возможно взаимное комплексообразование первичных комплексов.

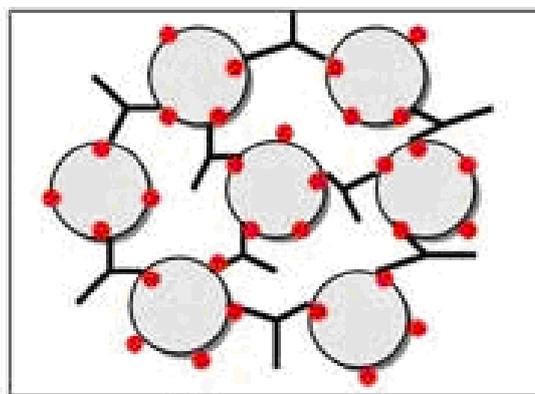
На последующих этапах такого взаимодействия происходит насыщение всех свободных валентностей антигена или антител. В итоге возникают иммунные агрегаты в виде преципитата или агглютината, которые выявляются визуально и представляют собой сетевые структуры, возникшие в результате образования многочисленных связей между эпитопами и паратопами.

Необходимое условие образования решетки (сетей) – наличие более трех антигенных детерминант на каждую молекулу антигена и по два активных центра на каждую молекулу антитела. Молекулы антигена являются узлами решетки, а молекулы антител – связующими звеньями (рисунок 18).

Специфическая фаза



Неспецифическая фаза



● - антиген;

Y - антитела.

Рисунок 18 – Схема взаимодействия антигена с антителами

Характер и выраженность реакции зависят от количественного соотношения антигенов и антител. Наиболее интенсивно реакции проявляются в том случае, если реагенты находятся в **эквивалентном соотношении**. Область оптимальных соотношений (зона эквивалентности) концентраций антигена и антител наблюдается, когда в надосадочной жидкости после образования осадка не обнаруживаются ни свободные антигены, ни свободные антитела.

Агрегаты, способные выпадать в осадок, образуются при соединении антигенов с **полными антителами**. **Неполные антитела** (моновалентные) не вызывают образования сетевых структур и крупных агрегатов. Для выявления таких антител используют специальные методы, основанные на использовании антиглобулинов (реакция Кумбса).

Количество иммунореагентов в реакциях выражают *титром* – максимальным разведением сыворотки или антигена, при котором еще наблюдается реакция.

Реакция преципитации. Антитела, вызывающие преципитацию антигена, называются **преципитинами**, антигены – **преципитиногенами**, а образовавшийся в результате их взаимодействия осадок – **преципитатом**. В основе реакции преципитации лежит образование, агрегация и выпадение комплексов «антиген-антитело». В качестве антигенов могут быть экстракты микроорганизмов, тканей, органов и др. Выпадение преципитата проявляется в помутнении прозрачных жидкостей.

Для получения реакции преципитации антиген в возрастающей концентрации добавляют к раствору антител. Количество осаждающихся иммунных комплексов вначале возрастает, а затем падает. Таким образом, кривая преципитации имеет три зоны.

Зона избытка антител – количество антигена недостаточно для того, чтобы в реакцию вступили все антитела; в супернатанте определяются свободные антитела.

Зона эквивалентности – количество антигена достаточно для связывания и осаждения всех имеющихся антител; свободные антигены и антитела в супернатанте отсутствуют.

Зона избытка антигена – количество антигена превышает необходимое для связывания всех антител, что ведет к снижению содержания антител в преципитате. Это обусловлено солюбилизацией комплексов антиген-антитело вследствие избытка антигена. Выраженность этого феномена варьирует в зависимости от типа антител и вида организма, от которого получены антитела.

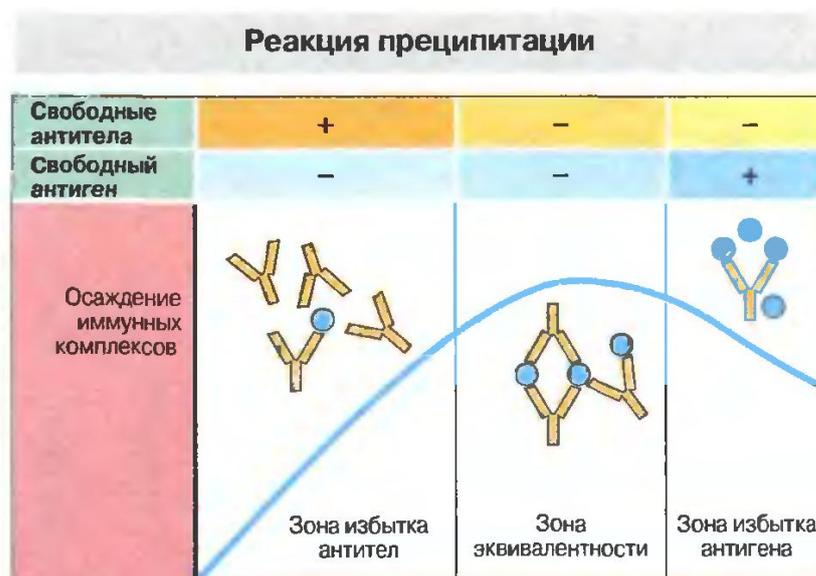
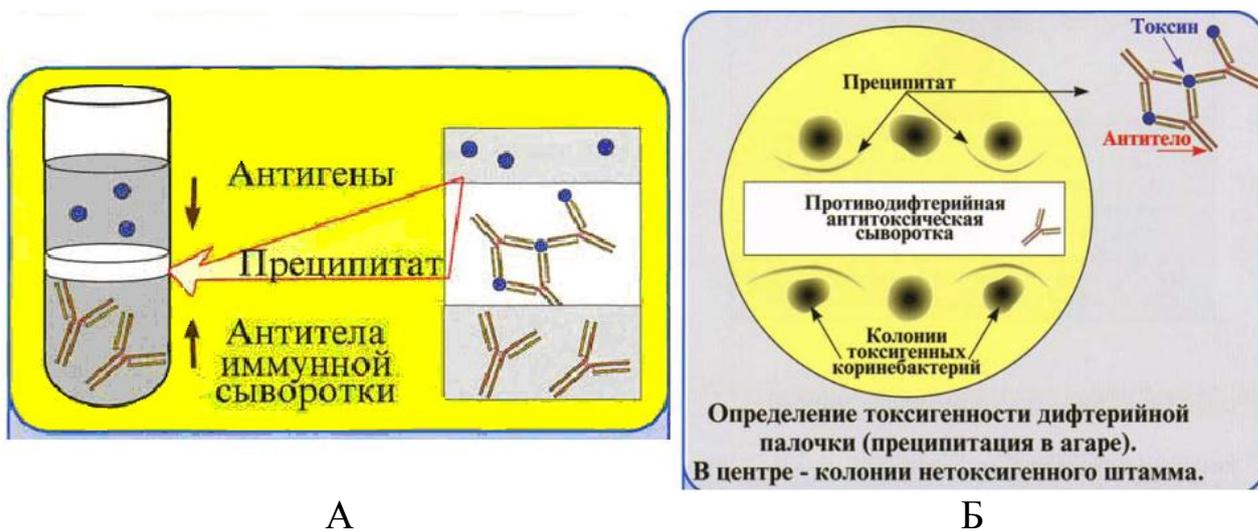


Рисунок 19 – Схема реакции преципитации

Реакция преципитации проводится как в жидкой, так и в твердой среде (геле). **Реакция в жидкой среде** проводится путем наслаивания раствора антигена на преципитирующую сыворотку, в результате чего образуется кольцо на границе соприкосновения двух сред (**реакция кольцепреципитации**).



А – Реакция кольцепреципитации; Б – Реакция преципитации в агаре для определения дифтерийного экзотоксина

Рисунок 20 – Схема реакции кольцепреципитации

Реакция преципитации в геле заключается в том, что иммунореагенты диффундируют в порах геля навстречу друг другу и на границе их контакта образуется линия преципитации. Если для этого используются заполненные гелем трубки или капилляры, то диффузия иммунореагентов происходит линейно (*линейная иммунодиффузия*).

Различают **простую линейную иммунодиффузию** (нагель в пробирке, пропитанный антисывороткой, наслаивают антиген) и **двойную линейную иммунодиффузию** (антиген и антитела разделены слоем нейтрального геля, где в результате их диффузии, они встречаются). При **радиальной иммунодиффузии** иммунореагенты вносят в лунки в агаровом геле, откуда они диффундируют радиально. Кольцо преципитации образуется вокруг лунки, которое выявляется путем окраски белковым красителем. Различают двойную радиальную иммунодиффузию по Ухтерлони и простую радиальную иммунодиффузию по Манчини. Реакцию преципитации можно сочетать с электрофорезом (**иммуноэлектрофорез**).

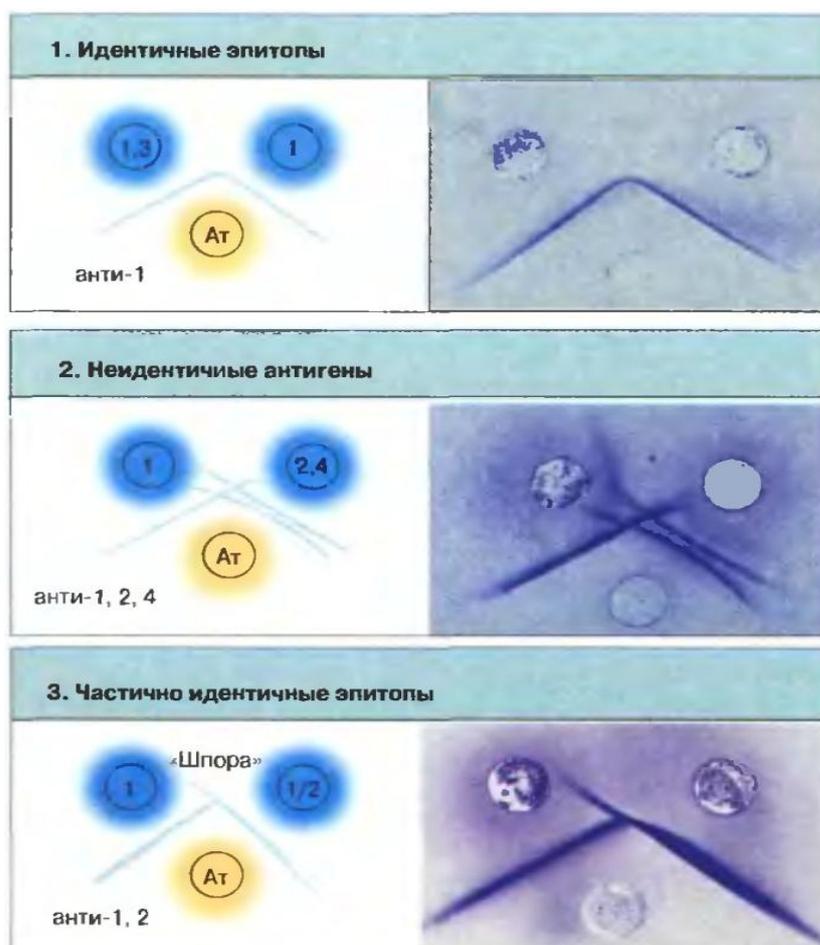


Рисунок 21 – Схема реакции преципитации в геле (двойная иммунодиффузия)

Реакция преципитации используется для изучения антигенной структуры, бактерий, сложных белковых веществ, тканей, диагностики ряда заболеваний (чума, сибирская язва), установления степени родства видов микробов, животных, видовой принадлежности белков, выявления примесей в мясных, рыбных и мучных изделиях.

Реакция агглютинации. Феномен агглютинации заключается в том, что антитела, взаимодействуя с корпускулярными антигенами вызывают их склеивание с образованием агрегатов, хлопьев, зерен, комочков, различаемых невооруженным глазом или с помощью лупы. Антитела, принимаемые участие в реакции агглютинации, называются агглютинидами, а антигены – агглютиногенами, образующийся при этом осадок – агглютинатом.

Реакция агглютинации используется для диагностических целей и идентификации микроорганизмов (риккетсий, вирусов, простейших), определения групп крови, обнаружения аутоантител.

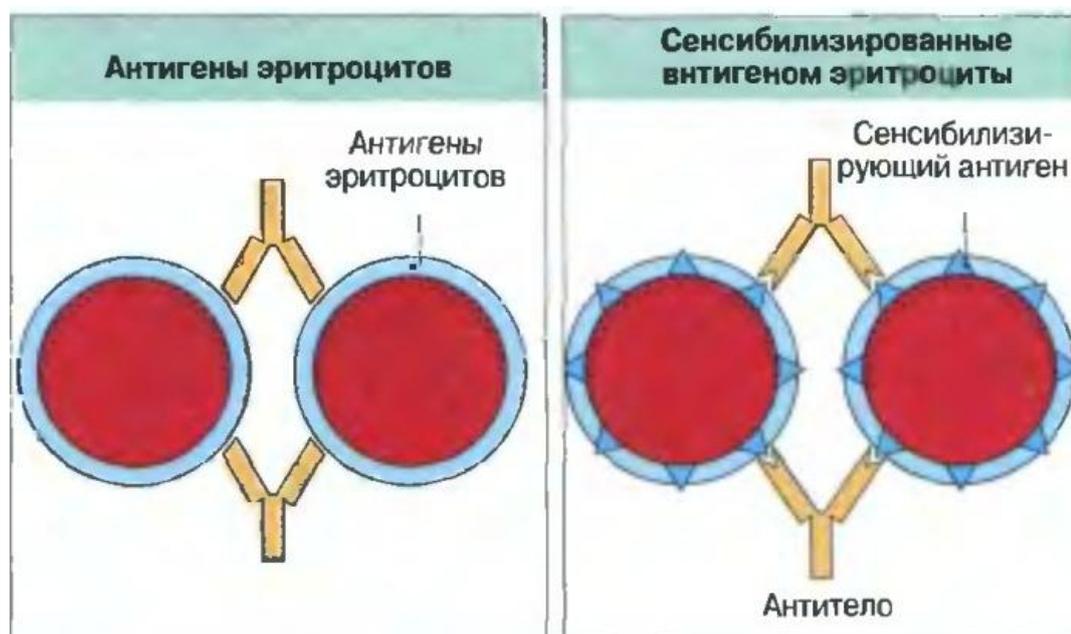


Рисунок 21 – Схема реакции гемагглютинации

Реакция лизиса. Под влиянием различных агентов, например ферментов, бактериолизин, бактериофагов, антибиотиков происходит растворение, разрушение клеток и их систем, в том числе микроорганизмов.

Реакция лизиса – реакция растворения бактерий, эритроцитов и других клеток под действием антител (**лизинов**) в присутствии комплемента. Лизины, растворяющие бактерии, называют

бактериолизинами, а реакцию – **бактериолизом**. Лизины, растворяющие эритроциты в реакции иммунного гемолиза, называют **гемолизинами**. В реакциях лизиса используют консервированный комплемент — сыворотку крови морской свинки.

Реакции с участием комплемента основаны на связывании комплемента с комплексом антиген-антитело, в результате чего происходит лизис используемого в реакции антигена.

К реакциям с участием комплемента относятся:

- реакции связывания комплемента;
- реакции лизиса;
- реакции радиального гемолиза и др.

Реакция связывания комплемента (РСК) протекает в две фазы:

- взаимодействие антигена и антител при обязательном участии комплемента;
- выявление результатов реакции при помощи индикаторной гемолитической системы (эритроциты барана и гемолитическая сыворотка).

При наличии в исследуемой сыворотке антител, комплементарных антигену, образующийся комплекс антиген-антитело связывает (адсорбирует) на себе комплемент. При добавлении гемолитической системы гемолиза не происходит (задержка гемолиза), т.к. весь комплемент израсходован на специфическую связь комплекса антиген-антитело, а эритроциты остались неизменными.

При отсутствии в сыворотке антител, комплементарных антигену, специфический комплекс антиген-антитело не образуется и комплемент остается несвязанным, поэтому при добавлении гемолитической системы комплемент присоединяется к ней. Результатом реакции в данном случае будет гемолиз эритроцитов – в пробирках образуется так называемая «лаковая» кровь.

Результат опыта оценивают, отмечая наличие или отсутствие гемолиза во всех пробирках. Реакцию считают положительной при полной задержке гемолиза, когда жидкость в пробирке бесцветна и эритроциты оседают на дно, отрицательной – при полном лизисе эритроцитов, когда жидкость интенсивно окрашена («лаковая» кровь). Степень задержки гемолиза оценивают в зависимости от интенсивности окраски жидкости и величины осадка эритроцитов на дне (++++, +++, ++, +).



Рисунок 23 – Схема реакции связывания комплемента

В условиях *in vitro* все эти реакции используются для диагностических целей, так как они позволяют качественно и количественно определить антигены и антитела. Применение реакции «антиген-антитело» в медицинской практике называется иммунодиагностикой.

Контрольные вопросы:

1. Для каких целей используют реакцию «антиген-антитело»?
2. В чем различия между реакциями преципитации, агглютинации и лизиса?
3. Как выявить неполные антитела?
4. Под влиянием каких факторов происходит лизис эритроцитов?
5. Перечислить виды реакций преципитации.

ТЕРМИНЫ

Агглютинация – реакция агрегации клеток или корпускулярных частиц (например, липосом); в иммунологии используется для описания взаимодействия клеток со специфическими антителами, где антитела выступают в качестве связующего звена между клетками.

Преципитация (лат. praecipitatio – «стремительное падение») – иммунологическая реакция осаждения.

Серология (от лат. serum – сыворотка) – наука о свойствах сыворотки крови.

Лизис – растворение, разрушение клеток и их систем, в том числе микроорганизмов, под влиянием различных агентов, например, ферментов, бактериолизин, бактериофагов, антибиотиков.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 5

ГЕМАГГЛЮТИНАЦИЯ, РАЗНОВИДНОСТИ И АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Цель: изучить реакции агглютинации и их основные свойства

Ход работы:

1. Изучить условия протекания реакции агглютинации.
2. Зарисовать схемы реакций прямой и непрямой агглютинации, гемагглютинации
3. Ответить на контрольные вопросы.

Феномен агглютинации заключается в том, что антитела, взаимодействуя с корпускулярными антигенами, вызывают их склеивание с образованием агрегатов, хлопьев, зерен, комочков, различаемых невооруженным глазом или с помощью лупы.

Антитела, принимаемые участие в реакции агглютинации, называются агглютинидами, а антигены – агглютиногенами, образующийся при этом осадок – агглютинатом. Для постановки реакции агглютинации (РА) необходимы три компонента:

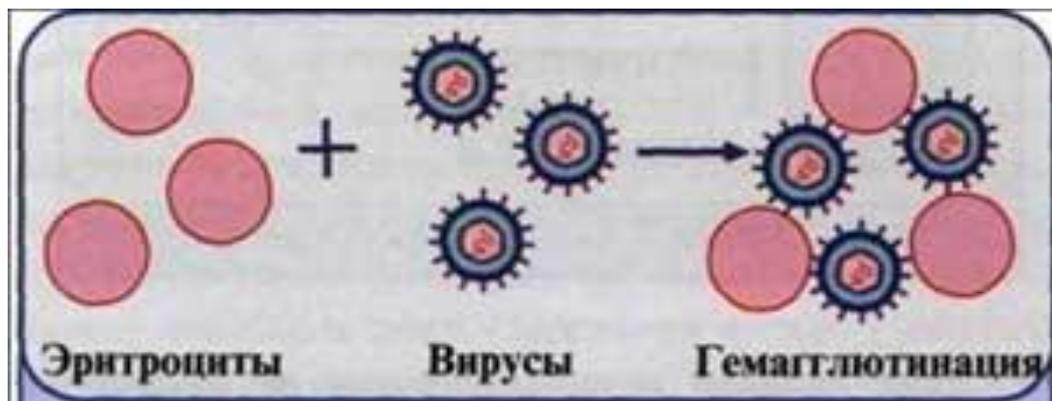


Рисунок 23 – Схема реакции агглютинации

Различают реакции прямой и непрямой агглютинации. При реакции **прямой агглютинации** антитела агглютинируют корpusкулы непосредственно, а при реакции **непрямой (пассивной) агглютинации** ей подвергаются растворимые антигены, предварительно адсорбированные на корpusкулярном носителе, которым могут быть инертные частицы (латекс, оксид бария, бентонит) или клетки (эритроциты барана, I(0)-группы крови человека). Если в качестве носителя применяются эритроциты, то реакция называется **реакцией пассивной гемагглютинации (РПГА)**.

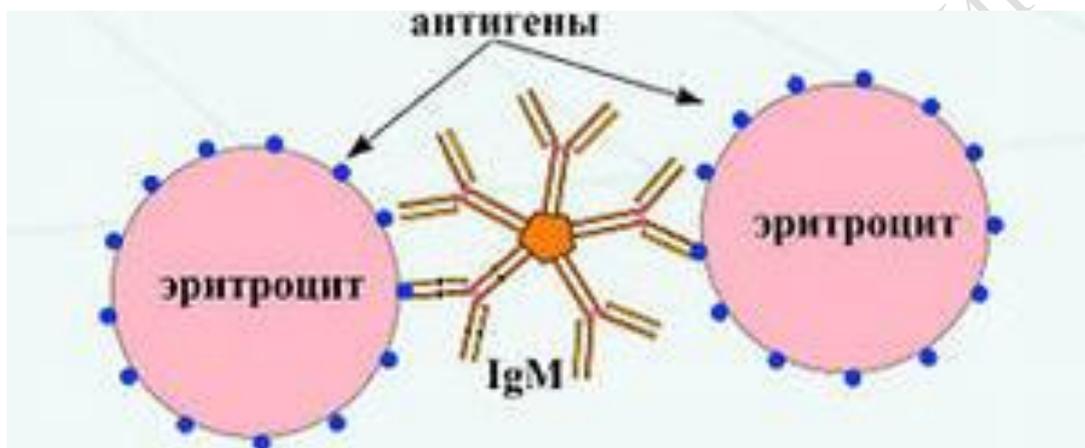
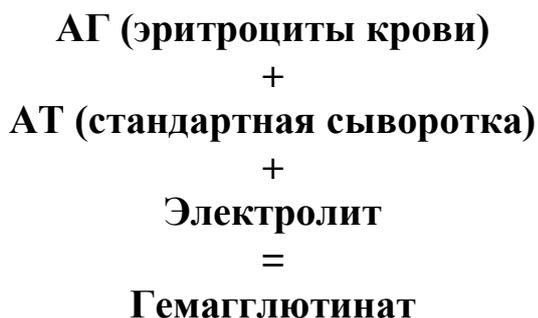


Рисунок 24 – Схема реакции пассивной гемагглютинации (РПГА)

Эритроциты при их использовании в качестве носителя взаимодействуют с антигеном, склеиваются в присутствии специфических антител к данному антигену и выпадают в осадок.

Сенсибилизированные антигеном эритроциты используют в РПГА как эритроцитарный диагностикум для обнаружения антител (серодиагностика). Если нагрузить эритроциты антителами (эритроцитарный антительный диагностикум), то можно применять для выявления антигенов.

Реакцию гемагглютинации (РГА) применяют для обнаружения групп крови АВО (рисунок 26). Данная реакция представляет собой:



КЛАССИФИКАЦИЯ КРОВИ ПО ГРУППАМ				
ГРУППА	A	B	AB	O
ЭРИТРОЦИТЫ				
АНТИТЕЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ	АНТИ-B	АНТИ-A	НЕТ	АНТИ-B И АНТИ-A
АНТИГЕНЫ В МЕМБРАНЕ ЭРИТРОЦИТОВ	A	B	A И B	НЕТ

Рисунок 25 – Классификация групп крови по системе АВО

Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА, РПГА) ставится следующим образом: в лунках полистироловых планшетов готовят ряд последовательных разведений сыворотки. В предпоследнюю лунку вносят – 0,5 мл положительной сыворотки и в последнюю 0,5 мл физиологического раствора (контроли). Затем во все лунки добавляют по 0,1 мл разведенного эритроцитарного диагностикума, встряхивают и помещают в термостат на 2 ч.

Patient	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	Pos.	Neg.	Titer
1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	64
2	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	8
3	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	512
4	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	<2
5	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	32
6	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	128
7	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	32
8	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	4

В положительном случае эритроциты оседают на дне лунки в виде ровного слоя клеток со складчатым или зазубренным краем ● (перевернутый зонтик, в отрицательном – оседают в виде пуговки или колечка ○).

Рисунок 26 – Результат реакции непрямой (пассивной) гемагглютинации

РНГА применяют для обнаружения полисахаридов, белков, экстрактов бактерий и других высокодисперсных веществ, риккетсий и вирусов, комплексы которых с агглютинидами в обычных РА увидеть не удастся; для выявления в сыворотках больных антител к этим высокодисперсным веществам и микроорганизмам.

Типоспецифическая противогрипповая сыворотка	Разведение сыворотки					Контроль		
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	Сыворотки	Вируса	Эритро- цитов
H0N1								
H1N1								
H3N2								

Рисунок 27 – Результат реакции непрямой гемагглютинации при диагностике штаммов гриппа

Учет результатов РНГА, поставленной с целью обнаружения ботулотоксина. Возбудитель ботулизма – *Clostridium botulinum* вырабатывает токсины семи сероваров (А, В, С, D, Е, F, G), однако чаще других встречаются серовары А, В, Е. Все токсины отличаются по антигенным свойствам и могут быть дифференцированы в реакциях типоспецифическими сыворотками. Для этой цели можно поставить реакцию пассивной (непрямой) гемагглютинации с сывороткой больного, в которой предполагается наличие токсина, и эритроцитами, нагруженными антителами антитоксических противоботулинических сывороток типов А, В, Е. Контролем служит нормальная сыворотка.

В положительном случае эритроциты оседают на дне лунки в виде ровного слоя клеток со складчатым или зазубренным краем (перевернутый зонтик), в отрицательном – оседают в виде пуговки или колечка.

Контрольные вопросы:

1. В чем заключается феномен агглютинации? 2. Какие компоненты необходимы для протекания реакции агглютинации? 3. Какие выделяют типы реакций агглютинации и в чем их особенности? 4. Опишите процесс протекания реакции непрямой (пассивной) гемагглютинации в лабораторных условиях.

ГЛОССАРИЙ

А

Авидность (функциональный аффинитет) – суммарная сила, с которой связываются между собой молекулы антигена и антитела; при этом учитывается валентность взаимоотношений. Авидность зависит как от аффинности, так и от числа активных центров на молекулу антитела.

Агглютинация – слипание клеток, обусловленное действием антител.

Адгезия – прилипание, основа взаимодействия клеток иммунной системы между собой, с сосудистым эндотелием, обусловлена специализированными молекулами типа интегринов, селектинов и их рецепторов.

Адьювант – любое вещество, неспецифически усиливающее иммунный ответ на конкретный антиген.

Аллель – вариант полиморфного гена, имеющийся в данном конкретном локусе.

Аллерген – антиген, являющийся причиной развития аллергии.

Аллергия – повышение чувствительности иммунной системы организма к аллергену (антигену) при повторном с ним контакте, что клинически проявляется повреждением тканей организма.

Аллогенный – термин, обозначающий генетические различия между индивидуумами одного вида. Например, орган, трансплантированный от одного человеческого донора к другому, является *аллогенным*, в то время как трансплантат от бабуина к человеку является *ксеногенным*.

Аллотип – аллельный вариант антигена, который в силу того, что он присутствует не у всех индивидуумов, может быть иммуногенен для представителей данного вида, имеющих другой отличный вариант данного аллеля.

Аллотипы иммуноглобулинов – полиморфные формы иммуноглобулинов, связанные с изменением аминокислотной последовательности в тяжелых цепях одного и того же класса этих молекул.

Аллотрансплантат – тканевый или органнй трансплантат между аллогенными индивидуумами, т. е. пересадка органов или тканей в пределах одного вида.

Амниоцентез – процедура получения фетальных клеток для пренатальной диагностики посредством забора амниотической жидкости от эмбриона млекопитающих.

Анергия – потенциально обратимая, специфическая иммунологическая толерантность, при которой лимфоциты становятся функционально неответающими по отношению к конкретному антигену.

Антибиотик – класс естественных и синтетических компонентов, которые подавляют рост или убивают некоторые микроорганизмы.

Антибиотическая чувствительность – способность микроорганизмов блокировать антибиотик или предотвращать его транспорт в клетку.

Антиген – чужеродная субстанция, при попадании в организм способная вызвать иммунный ответ, направленный на ее удаление. Обычно белок или полисахарид.

Антигенная детерминанта (эпитоп) – часть молекулы антигена, обычно характеризующаяся структурной индивидуальностью, которая обуславливает специфичность антител и эффекторных Т-клеток, образующихся в процессе иммунного ответа.

Антигенная специфичность – свойство, отличающее данный АГ от антигенного состава организма, в который он проникает.

Антигенпрезентирующая клетка (АПК) – клетка, способная презентировать (представлять) процессированный антигенный пептид вместе с молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) для распознавания Т-клеточным антигенраспознающим рецептором на Т-лимфоцитах-хелперах (CD4⁺ клетки).

Антигенспецифические рецепторы – ключевые структуры поверхности лимфоцитов, определяющие распознавание ими антигенных эпитопов и специфичность иммунного ответа.

Антисыворотка – сыворотка, содержащая антитела. Антитело – иммуноглобулин (растворимый белок), продуцируемый плазматическими клетками и способный специфически связываться с антигеном.

Антитела – иммуноглобулины, обладающие специфичностью, т.е. сродством к конкретным антигенным эпитопам.

Антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ) – разновидность эффекторных клеточных реакций при иммунном ответе, состоящая в цитолизе опсонизированных клеток-мишеней НК-клетками.

Апоптоз – одна из форм программированной клеточной смерти, которая характеризуется повреждением ДНК под влиянием эндонуклеазы. Образующиеся при этом апоптотические тельца подвергаются фагоцитозу. В отличие от некроза, апоптоз представляет собой физиологический механизм смерти клетки, закончившей свою программу жизни. Апоптотическая гибель клеток не сопровождается воспалением.

Аутоантитела – антитела, реагирующие с антигенами собственного организма.

Аутоиммунное заболевание – заболевание, которое является результатом того, что иммунная система «ошибочно» атакует ткани собственного организма.

Аутоиммунный тиреоидит – хроническое воспалительное заболевание щитовидной железы аутоиммунного генеза.

Аутокринный – термин используется в тех случаях, когда хотят подчеркнуть, что вещество, продуцируемое конкретной клеткой необходимо для воздействия и поддержания функций той клетки, которая это вещество продуцировала.

Аутологичный – имеющий отношение к данному конкретному индивидууму, например, аутологичный трансплантат – трансплантат, который пересажен в пределах одного индивидуума.

Аффинитет – обозначает понятие, характеризующее степень соответствия, которая определяет силу (прочность) связи между антигеном и антителом, рецептором и лигандом.

Аффинность – сила связывания между отдельными участками взаимодействующих молекул (пример: взаимодействие молекулы антигена с молекулой антитела).

Б

В-лимфоциты – одна из популяций лимфоидных клеток, принимающих непосредственное участие в специфических иммунных защитных реакциях организма. Созревание В-лимфоцитов происходит в костном мозге. На поверхности В-лимфоцитов имеется В-клеточный антигенраспознающий рецептор, представляющий собой молекулу мономерного мембранного IgM. После контакта с антигеном В-лимфоциты превращаются в плазматические клетки, которые начинают продуцировать специфические иммуноглобулины – антитела.

Базофил – одна из разновидностей лейкоцитов периферической крови, отличающаяся содержанием большого количества лизосом и гранул (секреторных пузырьков). На поверхности базофила имеется

рецептор к Fc-фрагменту IgE. После связывания IgE, находящегося на поверхности базофила, со специфическим аллергеном происходит реакция дегрануляции с высвобождением большого количества биологически активных компонентов из гранул базофила.

Болезнь Бехчета – системное воспаление сосудов неустановленной этиологии, характеризующиеся преимущественным поражением слизистой оболочки глаз, полости рта, кожи и половых органов.

Болезнь Шегрена – системное аутоиммунное заболевание, относящееся к болезням соединительной ткани; характеризуется поражением многих секретирующих желез, главным образом слюнных и слезных.

В

Валентность антигена – это число детерминант идентичного строения, содержащихся в молекуле антигена.

Вариабельный домен – регион молекулы иммуноглобулина, аминокислотные последовательности которого непостоянны и меняются от одной молекулы иммуноглобулина к другой.

Вариабельная область (V-область) – N-концевая часть иммуноглобулина или T-клеточного рецептора, ответственная за антигенсвязывающую специфичность, которая формируется в результате взаимодействия V-доменов тяжелой и легкой цепей.

Вариабельность иммуноглобулинов – индивидуальная характеристика иммуноглобулинов, относящихся к одному и тому же классу или подклассу, которая обусловлена меняющейся от белка к белку последовательностью аминокислотных остатков в N-концевой части молекулы.

Вариабельных сегментов гены (V-гены) – гены, оранжировка которых вместе с генами сегментов D (diversity-различие) и G (joining-связывание) кодирует аминокислотные последовательности вариабельных регионов иммуноглобулинов и T-клеточных рецепторов.

Васкулит – иммунопатологическое воспаление мелких кровеносных сосудов (артерий, артериол, капилляров, венул и вен).

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) – вирус, вызывающий синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Поражает преимущественно T-лимфоциты-хелперы. Врожденный иммунитет – (неспецифические факторы иммунитета, естественная резистентность) – совокупность защитных механизмов организма, которые реализуются без участия лимфоцитов.

Вторичные мессенджеры – внутриклеточные сигнальные медиаторы, которые, будучи активированы, приводят к изменению поведения других клеточных белков, что в конечном счете реализуется в виде клеточной активации.

Вторичный иммунный ответ – более сильный (относительно первичного) иммунный ответ, который развивается при повторном контакте уже зрелых лимфоцитов с распознанным ранее антигеном.

Г

Гаплотип – определенные генетические детерминанты, локализующиеся на одной хромосоме.

Гаптен – молекула с низкой молекулярной массой, которая может быть распознана антителами, но не является иммуногенной до тех пор, пока не будет конъюгирована с молекулой носителя. Молекула носителя совместно с гаптенем образует общий эпитоп, который распознается Т-лимфоцитами-хелперами и это приводит к включению иммунного ответа.

Ген – единица генетического материала (ДНК), которая занимает определенное место в хромосоме и содержит информацию, используемую клеткой для выполнения ее специфической функции (например, для продукции определенного белка).

Гены иммунного ответа (IR-гены) – совокупность генов, расположенных в ГКГ, функциональная активность которых суммарно обеспечивает степень иммунного ответа на конкретный антиген у конкретного индивидуума.

Герминативный (зародышевый) центр – дискретные области в пределах лимфатических узлов и селезенки, где происходит индуцированное антигеном созревание В-клеток и накопление В-клеток памяти.

Гетерогенность иммуноглобулинов – свойство, обусловленное константной частью молекулы, т.е. теми структурными особенностями, которые позволяют делить все иммуноглобулины на классы (изотипы), подклассы, аллотипы и типы легких цепей.

Гибридома – гибридная клеточная линия, получаемая после слияния опухолевой лимфоидной клетки с нормальным лимфоцитом. В результате полученная гибридная клетка приобретает «бессмертие» от опухолевой клетки и способность осуществлять эффекторную функцию, например синтез антител, от нормального лимфоцита. Описанная ситуация лежит в основе технологии получения моноклональных антител.

Гидроксильный радикал – токсическая форма кислорода (ОН), которая продуцируется фагоцитами.

Гипервариабельные участки – участки (или зоны) аминокислотных последовательностей в пределах вариабельных регионов иммуноглобулина, которые проявляют наибольшую изменчивость. Это создает очень большое разнообразие специфических иммуноглобулинов и Т-клеточных антигенраспознающих рецепторов.

Гиперчувствительность – иммунный ответ, в результате которого наступает повреждение органов или тканей. Обусловлен повышением реактивности организма в результате предшествующей сенсибилизации. Различают гиперчувствительность немедленного и замедленного типа.

Гиперчувствительность замедленного типа – иммунная реакция, которая развивается через 48-72 ч после контакта с антигеном и опосредуется высвобождением цитокинов из сенсибилизированных Т-лимфоцитов с последующим привлечением в очаг воспалительных клеток.

Гистамин – главный вазоактивный амин, который высвобождается из гранул базофилов периферической крови и тканевых базофилов (тучных клеток). Один из основных реагентов, участвующих в развитии аллергических реакций немедленного типа.

Гистосовместимость – совместимость по антигенам главного комплекса гистосовместимости, т. н. тканевая совместимость; обозначает способность реципиента воспринять трансплантат от донора. При определении гистосовместимости между донором и реципиентом выявляют их фенотипы по антигенам локусов А, В, С, DR, DP и DQ. Для этой цели используется как серологическое типирование, так и, в последнее время, ДНК-типирование с помощью полимеразной цепной реакции.

Главный комплекс гистосовместимости (ГКГ) (major histocompatibility complex – МНС) – генный комплекс, расположенный на коротком плече 6-й хромосомы, который кодирует молекулы белков, часть из которых принимает участие в презентации антигенов при иммунном распознавании.

Гранзимы – сериновые протеиназы, которые выделяются Т-киллерами и НК-клетками, проникают в клетку-мишень через перфориновые поры и запускают процесс апоптоза.

Гранулоциты – лимфоидные клетки, содержащие цитоплазматические гранулы. Различают три вида гранулоцитов – нейтрофилы, эозинофилы и базофилы.

Группа крови – описание индивидуальных антигенных характеристик эритроцитов, обусловленных наличием специфических групп углеводов и белков, включенных в их мембраны.

Группа крови 0 (I группа) – характеризующаяся отсутствием специфических антигенов (гемагглютиногенов) А и В на эритроцитах и наличием в плазме крови соответствующих им антител (гемагглютининов) α и β .

Группа крови А (II группа) – характеризующаяся наличием специфического антигена (гемагглютиногена) А на эритроцитах, а также наличием в плазме крови специфического антитела (гемагглютинина) β .

Группа крови В (III группа) – характеризующаяся наличием специфического антигена (гемагглютиногена) В на эритроцитах, а также наличием в плазме крови специфического антитела (гемагглютинина) α .

Группа крови АВ (IV группа) – характеризующаяся наличием специфических антигенов (гемагглютиногенов) А и В на эритроцитах и отсутствием в плазме крови соответствующих им антител (гемагглютининов) α и β .

Гуморальный иммунитет (гуморальный фактор иммунитета, гуморальное звено иммунитета) – защитные иммунные реакции, выполняемые с помощью иммуноглобулинов (антител). В некоторых ситуациях это звено иммунитета является преобладающим. Примером такой ситуации может быть антибактериальный иммунный ответ.

Д

Дендритные клетки – различают фолликулярные и интердигитальные дендритные клетки. Первые обнаруживаются в герминативных центрах лимфатических узлов и селезенки (В-зонах), имеют на своей поверхности рецептор к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, но не имеют антигенов гистосовместимости класса II. Предполагается, что они несут на своей поверхности иммунные комплексы и способствуют развитию генерации антителопродуцирующих клеток, презентирова антиген В-лимфоцитам. Напротив, интердигитальные дендритные клетки обнаруживаются в Т-клеточных областях лимфатических узлов и селезенки. Имеют на своей поверхности антигены ГКГ класса II, но не имеют рецепторов к Fc-фрагменту. Интердигитальные дендритные клетки участвуют в презентации антигена для Т-лимфоцитов.

Дерматомиозит – воспалительное поражение мышц, характеризующееся поражением поперечно-полосатой и гладкой мускулатуры с нарушением двигательной функции, а также поражением кожи в виде покраснения и отека, преимущественно на открытых участках тела.

Дифференцировка Т- и В-клеток антигензависимая – процесс превращения зрелых покоящихся Т- и В-лимфоцитов под влиянием антигена в эффекторные клетки: для Т-лимфоцитов – это Т-хелперы-индукторы и Т-киллеры-супрессоры; для В-лимфоцитов – плазматические клетки.

Дифференцировка Т- и В-клеток антигеннезависимая – процесс развития из стволовой клетки зрелого покоящегося Т- или В-лимфоцита, готового к встрече с антигеном. Процесс антигеннезависимой дифференцировки Т-лимфоцитов проходит в тимусе, а В-лимфоцитов – в костном мозге, не требует участия антигена, но находится в зависимости от микроокружения и цитокинового профиля.

Дифференцировочный антиген – молекула на поверхности клетки, которая экспрессируется на определенных стадиях развития данной клетки.

Е

Естественные антитела – совокупность молекул мономерного IgM, служившихся с поверхности зрелых покоящихся В-лимфоцитов. Обладают поливалентной специфичностью и представляют собой один из гуморальных факторов естественной резистентности организма.

Естественные киллеры ЕК(NK) – большие гранулярные лимфоциты, не имеющие на своей поверхности ни иммуноглобулинового рецептора, ни антигенраспознающего Т-клеточного рецептора, однако способны распознавать и разрушать определенные опухолевые и вирусинфицированные клетки. Этот киллинговый эффект осуществляется ЕК-клетками независимо от антител и комплемента. Описаны киллинг-ингибирующие и киллинг-активирующие рецепторы для ЕК-клеток, в качестве которых могут выступать молекулы ГКГ.

И

Идиотип – участок аминокислотных последовательностей в пределах вариабельного региона антител или Т-клеточного распознающего рецептора, который является для них специфическим и способен вызвать продукцию антиидиотипических антител.

Идиотипическая сеть – регуляторное сетевое взаимодействие, основанное на том, что антиидиотипические антитела и идиотипы, имеющиеся на иммуноглобулинах и Т-клеточных распознающих рецепторах, взаимодействуют между собой.

Изотипы иммуноглобулинов – все иммуноглобулины по структурным особенностям константной области тяжелых цепей делятся на пять изотипов (классов): IgM, IgG, IgA, IgE и IgD.

ИЛ-1 – продуцируется макрофагальными клетками. Известен ранее как эндогенный пироген. Под влиянием ИЛ-1 инициируются важные биологические эффекты. С точки зрения иммунного ответа, ИЛ-1 способствует тому, что Т-лимфоциты-хелперы начинают продуцировать ИЛ-2; одновременно с этим под влиянием ИЛ-1 на Т-лимфоцитах экспрессируется рецептор к ИЛ-2.

ИЛ-2 – известен как фактор роста лимфоцитов, т. е. белок, способствующий пролиферации лимфоцитов. Продуцируется Т-лимфоцитами-хелперами 1-ю типа.

ИЛ-3 – продуцируется активированными Т-клетками и обладает способностью усиливать пролиферацию всех гемопоэтических клеток.

ИЛ-4 – продуцируется Т-лимфоцитами хелперами 2-го типа. Основная его роль – усиление развития гуморального иммунного ответа и переключение продукции IgM на продукцию IgG4 или IgE. Таким образом, повышенная выработка ИЛ-4 способствует в свою очередь повышенной продукции IgE.

ИЛ-5 – эозинофильный фактор. Способствует активации эозинофилов и удлиняет срок их персистенции в очагах эозинофильного воспаления.

ИЛ-10 – супрессорный интерлейкин, продуцируется так же, как ИЛ-4 и ИЛ-5, Т-лимфоцитами-хелперами 2-го типа. Является цитокином, подавляющим функционирование Т-лимфоцитов-хелперов 1-го типа.

Иммунная система – совокупность органов, клеток и молекул, основной функцией которых является сохранение антигенного гомеостаза, нарушение которого может быть обусловлено проникновением в организм чужеродных антигенов, спонтанной мутацией и другими факторами.

Иммунные комплексы – молекулярные комплексы, образующиеся при взаимодействии антигенов и антител.

Иммунный ответ – это сложная многокомпонентная, кооперативная реакция иммунной системы организма, индуцированная

антигеном, уже распознанным как чужеродный, и направленная на его элиминацию.

Иммуноадсорбция – метод удаления антител или антигена, в основе которого лежит способность антигена и антитела связываться между собой.

Иммуноблоттинг – метод, основанный на выявлении индивидуальных белков в смесях путем переноса компонентов, разделенных методом электрофореза, на целлюлозную основу с последующим проявлением мечеными антителами.

Иммуноген – любая субстанция, вызывающая иммунный ответ. Следует учитывать, что все иммуногены являются антигенами, но не все антигены обладают свойствами иммуногенов (см. гаптен).

Иммуногенность – способность инициировать иммунную систему к формированию эффекторов, нейтрализующих антигенную чужеродность. Иммуногенность АГ определяется чужеродностью для организма, молекулярным весом, химическим строением, физико-химическими свойствами и др.

Иммуноглобулины (Ig) – класс молекул, выполняющих функции антител.

Иммунокомпетентность – способность организма развивать иммунный ответ.

Иммунолигандный анализ – группа методов исследований, основанная на количественном определении концентраций иммунологически значимых компонентов смесей (антигенов, антител) на основе связывания их с лигандами (соответственно антителами или антигенами), мечеными ферментами (**иммуноферментный анализ**) или радионуклидами (**радиоиммунный анализ**).

Иммунопатология – патологические процессы и заболевания, в патогенезе которых принимают участие иммунные механизмы. Аллергические заболевания представляют собой часть иммунопатологии.

Иммуносупрессия – подавление иммунного ответа, например, с помощью лекарственных средств, предотвращающих трансплантационную реакцию отторжения.

Иммунотоксин – моноклональные антитела, связанные с токсическим веществом или радиоактивной субстанцией. Получение таких антител – один из подходов к созданию специфически действующих на клетки препаратов. В этом случае моноклональное антитело распознает нежелательный объект, например, опухолевую клетку, а конъюгированный с моноклональным антителом токсин,

например, дифтерийный токсин, разрушает этот нежелательный объект (клетку опухоли).

Иммунофлюоресценция – феномен, основанный на визуализации клеток, несущих антигены, с помощью антител, меченных флюорохромами.

Иммуноэлектрофорез – метод анализа антигенных смесей, основанный на последовательном электрофоретическом разделении компонентов и иммунодиффузии с использованием антител заданной специфичности.

Интегрины – молекулы адгезии, экспрессируемые на поверхности клеток. Обуславливают двустороннюю передачу сигналов в клетку и из нее.

Интерлейкины – группа молекул, входящих в состав цитокинов, которые продуцируются клетками иммунной системы и получили название «гормоны клеток иммунной системы». Необходимы для кооперации клеток иммунной системы в реализации этапов иммунного ответа. В настоящее время описано около 20 видов интерлейкинов.

К

К-клетка – одна из популяций лимфоидных клеток, обладающих киллинговым эффектом. Реализует антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность. Имеет на своей поверхности рецептор к Fc-фрагменту Ig, но не имеет T-клеточного распознающего рецептора.

Каркасные участки – положения в аминокислотной последовательности V-доменов, в которых замены аминокислот от белка к белку встречаются редко в отличие от гипервариабельных участков; такие каркасные участки определяют конформационный консерватизм V-доменов.

Кеппинг (образование шапочек) – активный процесс, в результате которого под влиянием перекрестного связывания поверхностных клеточных молекул, например, антигенов и антител, возникает их агрегация с последующей миграцией на мембране и скоплением этих молекул в одном из мест клеточной поверхности.

Кинины – семейство полипептидов, образующихся в период развития воспалительного иммунного ответа; усиливают сосудистую проницаемость и сокращение гладких мышц, способствуют развитию отека и появлению болевого синдрома.

Кислородный взрыв – серия превращений, происходящих в фагоцитарных клетках с участием атома кислорода, с образованием продуктов, обладающих высокой бактерицидной активностью.

Кластеры дифференцировки (CD) – обозначения мембранных маркеров клеток костномозгового происхождения (буквы CD с номером; CD – от английского *cluster designation*), основанные на выявлении маркеров с помощью группы (кластера) моноклональных антител, реагирующих с одним и тем же или разными эпитопами одной и той же молекулы.

Клетки иммунной системы – лейкоциты крови, *фибробласты* и эпителиальные клетки, являющиеся микроокружением лимфоидных органов.

Клеточный иммунитет (клеточный фактор иммунитета, клеточно-опосредованный иммунитет, клеточные реакции иммунитета) – защитные реакции организма, основную роль в реализации которых осуществляют Т-лимфоциты. К таким реакциям относятся, прежде всего, реакции трансплантационного иммунитета, реакции противоопухолевого иммунитета, защита от пораженных вирусом клеток и участие в аутоиммунных реакциях.

Клиническая иммунология – клиническая и лабораторная дисциплина, которая занимается обследованием, диагностикой и лечением больных с заболеваниями или патологическими процессами, развивающимися в результате нарушения иммунных механизмов, а также теми случаями, когда иммунологические манипуляции являются важной частью терапии и/или профилактики.

Клон – идентичные клетки, происходящие из одной и той же клетки предшественника.

Клональная делеция – процесс, при котором в результате контакта аутологичного антигена с лимфоцитом на ранней стадии его созревания происходит разрушение такого лимфоцита путем апоптоза. Клональная делеция является одним из механизмов индукции толерантности в организме.

Клональная селекция – отбор под влиянием антигена лимфоцитов, несущих специфический рецептор к данному антигену. После селекции и активации такие лимфоциты пролиферируют и образуют клон специфических клеток.

Клонально-селекционная теория – теория формирования иммунного ответа, согласно которой под влиянием антигена происходит отбор (селекция) лимфоцитов, имеющих на своей поверхности специфический антигенраспознающий рецептор, с последующим

формированием из таких лимфоцитов клона специфически реагирующих иммунокомпетентных клеток.

Ко-стимуляция – дополнительная стимуляция лимфоидных клеток в момент распознавания антигена. Реализуется с помощью так называемых ко-стимуляционных молекул: например, для пары «макрофаг – Т-хелпер» – это CD80, 86-CD28, соответственно; для пары «Т-хелпер – В-лимфоцит» – это CD4 лиганд – CD40, соответственно. Таким образом, макрофаг дает ко-стимуляционный сигнал Т-хелперу, а Т-хелпер – В-лимфоциту. В случае отсутствия такого сигнала наступает анархия клетки либо развивается апоптоз.

Колониестимулирующие факторы – факторы, обеспечивающие пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических клеток.

Комплемент – система белковых факторов, каскадно активируемых в условиях внедрения в организм чужеродных агентов. Результатом является опсонизация или лизис клеток-мишеней.

Константная область (С-область) – инвариантная часть тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов, ответственная за их гетерогенность; состоит из одного С-домена у легких цепей и 3 или 4 С-доменов у тяжелых цепей в зависимости от класса иммуноглобулинов.

Комплементная система – группа сывороточных белков, которые в процессе их активации превращаются в эффекторные молекулы, приводящие к развитию воспаления (С3а, С4а, С5а), фагоцитозу (С3b) и разрушению клеток (С6-9). Таким образом, белки комплемента участвуют в развитии воспалительных реакций, реакций опсонизации и лизиса клеточных мембран.

Конканавалин А – белок растительного происхождения, к которому на поверхности Т-лимфоцита имеется специфический рецептор. Связываясь со своим рецептором, конканавалин А способствует пролиферации Т-лимфоцитов. Эта реакция лежит в основе реакции бластной трансформации лимфоцитов, с помощью которой можно оценить пролиферативную активность Т-лимфоцитов. Таким образом, конканавалин А служит растительным митогеном для Т-лимфоцитов.

Конкуренция антигенов – процесс, характеризующийся тем, что при введении смеси антигенов продукция антител на один или несколько антигенов, входящих в ее состав, снижена по сравнению с тем уровнем антител, который продуцируется при раздельном введении этих же антигенов.

Красный косный мозг локализован во внутренней полости трубчатых костей и представляет собой тканевое объединение

ретикулярной стромы, плотно упакованных гемопоэтических и лимфоидных клеток, а также разветвленной сети капилляров. Главная функция – продукция иммунокомпетентных клеток из полипотентной стволовой клетки.

Ксеногенный – термин, в общем случае обозначающий генетические различия между видами.

Ксенотрансплатат – трансплантат органов или тканей между индивидуумами, принадлежащими к разным видам.

Купферовские клетки – фиксированные (резидентные) тканевые макрофаги печени.

Л

Лангерганса клетки – антигенпредставляющие дендритные клетки кожи, которые обладают рецептором к Fc-фрагменту иммуноглобулинов имеют на своей поверхности антигены гистосовместимости класса II и CD 1a.

Лейкотриены – продукты метаболизма арахидоновой кислоты, которые усиливают воспалительный процесс, хемотаксис и увеличивают сосудистую проницаемость. Продуцируются базофилами, в том числе и тканевыми, и макрофагами.

Лектины – семейство белков, как правило растительного происхождения, которые связывают специфические сахара на гликопротеинах и гликолипидах. Некоторые лектины, прежде всего фитогемагглютинин и конканавалин А, являются митогенами для Т-лимфоцитов; митоген лаконоса является митогеном для В-лимфоцитов.

Лиганд (контррецептор) – общий термин, употребляемый для молекул, предназначение которых состоит в распознавании и специфическом связывании с такими структурами, как рецептор.

Лизис – растворение, разрушение клеток и их систем, в том числе микроорганизмов, под влиянием различных агентов, например, ферментов, бактериолизин, бактериофагов, антибиотиков.

Лизосомы – цитоплазматические гранулы, содержащие гидролитические ферменты, с помощью которых антигенный материал подвергается процессингу (перевариванию).

Лизоцим – антибактериальный фермент, присутствующий в гранулах фагоцитирующих клеток, в слезной жидкости и слюне, который расщепляет пептидогликаны мембраны бактериальной клетки.

Лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником (GALT) – включает изолированные солитарные фолликулы (пейеровы бляшки), червеобразный отросток и лимфоидные узелки в подслизистом слое.

Лимфоидные органы (центральные) – органы, в которых происходит развитие иммунокомпетентных лимфоцитов. К ним относятся тимус и костный мозг у млекопитающих.

Лимфокинактивированные киллерные клетки (ЛАК) – в основном, К- и ЕК- клетки, активированные *in vitro* ИЛ-2 для усиления киллерного эффекта по отношению к клеткам-мишеням.

Лимфокины – цитокины, продуцируемые лимфоцитами.

Липополисахарид – эндотоксин, получаемый из грамотрицательных бактериальных клеток, оказывает воспалительное и митогенное влияние на лимфоидные клетки.

М

Макрофаг – фагоцитирующая клетка, которая происходит из моноцита периферической крови и может функционировать как антигенпредставляющая клетка и клетка, опосредующая антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность.

Маркер клеток – признак, молекула (обычно антиген или фермент), наличие которого позволяет идентифицировать ее и отличить от других клеток.

Мимикрия (подобие) – одна из многих причин развития аутоиммунных процессов. Доказано, что некоторые инфекционные возбудители имеют структуры (эпитопы), подобные антигенным детерминантам тканей хозяина. Образовавшиеся после иммунного ответа антитела и цитотоксические Т-лимфоциты за счет перекрестных реакций могут повреждать собственные ткани.

Митоген – субстанция, вызывающая неспецифическую пролиферацию лимфоцитов; например, фитогемагглютинин, конканавалин А, митоген лаконоса.

Митоген лаконоса – белок растительного происхождения (лектин), который является В-клеточным митогеном. Пролиферация В-клеток под влиянием митогена лаконоса зависит от Т-лимфоцитов.

Множественная миелома – плазмоклеточная опухоль, которая приводит к повышению уровня моноклональных иммуноглобулинов в сыворотке крови и увеличению содержания в моче свободных легких цепей, так называемых белков Бенс-Джонса.

Молекулы адгезии (адгезивные молекулы) – белковые молекулы, которые экспрессируются на поверхности клеток крови и, в

частности, клеток иммунной системы, а также на поверхности эндотелиальных и эпителиальных клеток и помогают клеткам воспаления осуществлять кооперацию между собой и миграцию в очаг воспаления. Различают несколько семейств молекул адгезии: селектины, интегрины и др.

Монокины – цитокины, синтезируемые макрофагами-моноцитами и принимающие участие в регуляции, активации, пролиферации и дифференцировке Т- и В-клеток и других типов лимфоцитов.

Моноклональные антитела – антитела, продуцируемые одним единственным В-клеточным клоном, получившим название гибридома. Принадлежат к одному классу Ig и имеют единую антигенсвязывающую специфичность.

Мононуклеарных фагоцитов система – система, в которую входят моноциты крови и тканевые макрофаги.

Моноциты – предшественники тканевых макрофагов: из кровотока поступают в ткани, где дифференцируются на различного вида макрофаги (гистиоциты) с продолжительностью жизни от нескольких месяцев до нескольких лет. Макрофаги дифференцируют на перитонеальные, легочные, купферовские клетки печени, клетки Лангерганса, мезангиальные клетки почек, остеокласты, клетки микроглии.

Мукозоассоциированная лимфоидная ткань – (лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками) – лимфоидная ткань, присутствующая в слизистой оболочке дыхательных путей, пищевого канала и мочевых путей.

Н

Нейтрофилы – основная часть циркулирующих, фагоцитирующих полиморфноядерных гранулоцитов, характеризующихся тем, что они раньше других попадают в ткани при развитии воспалительного ответа. Кроме того, обладают способностью осуществлять антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность.

Носитель – любая молекула, которая после связывания с неиммуногенной молекулой (например, гаптенем) придает последней иммуногенные свойства.

Нулевые клетки (0-клетки) составляют 5 – 10 % лейкоцитов периферической крови. Среди нулевых клеток по функциональным

характеристикам выделяют: естественные киллеры (НК-клетки) и эффекторы антителозависимой клеточной цитотоксичности (К-клетки).

О

Опсонизация – покрытие антигена опсоном для усиления фагоцитоза.

Опсонин – субстанции, усиливающие фагоцитоз.

П

Памяти клетки – клоны Т- и В-клеток, образовавшиеся в течение первичного иммунного ответа; способны распознавать антиген, вызвавший их образование, и отвечать на него по типу вторичного иммунного ответа.

Память иммунологическая – характеристика специфического иммунного ответа, заключающаяся в том, что повторное попадание в организм специфического антигена индуцирует развитие иммунного ответа по вторичному типу, который характеризуется более быстрым и в более высоких титрах, чем при первичном иммунном ответе, появлением антител, а также Т-лимфоцитов-киллеров.

Паратоп – часть антитела, распознающая антигенную детерминанту.

Пейеровы бляшки – элементы лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником в виде отдельных лимфоидных узелков, расположенных главным образом в тонкой кишке.

Первичный иммунный ответ – сравнительно слабый иммунный ответ, который развивается при первом контакте наивных лимфоцитов с конкретным антигеном.

Переключение класса иммуноглобулинов – генетически обусловленная способность В-лимфоцитов переключать продукцию иммуноглобулинов с одного класса на другой, например, переключение продукции IgM на продукцию IgG. Специфичность иммуноглобулина при этом не изменяется.

Перфорин – молекула, продуцируемая гранулами цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров, которая, формирует поры в мембране клеток-мишеней, приводя к их разрушению.

Плазматическая клетка – конечный этап антигенной дифференцировки В-лимфоцитов; активно секретирует большое количество антител.

Плейотропный эффект – способность вещества воздействовать на различные клетки, вызывая самые разнообразные эффекты. Например, веществом с плейотропным эффектом является опухоленекротизирующий фактор.

Поликлональная сыворотка – антисыворотка, содержащая большое количество иммуноглобулинов, которые продуцировались различными клонами В-лимфоцитов.

Поликлональные активаторы – агенты, которые обладают способностью стимулировать активацию (пролиферацию) различных типов клеток, например В- лимфоцитов. Особенностью таких неспецифических поликлональных активаторов является наличие мембраны с жесткой структурой и большое количество повторяющихся одинаковых антигенных детерминант на мембране.

Поликлональный ответ – разновидность иммунного ответа, состоящая в вовлечении в иммунный ответ лимфоцитов различных клонов.

Презентация (представление) антигенная – процесс, во время которого определенные антигенпредставляющие клетки в организме экспрессируют антиген на своей клеточной поверхности в форме, которую способны распознать лимфоциты.

Преципитация (лат. *praecipitatio* – «стремительное падение») – иммунологическая реакция осаждения.

Примирование – процесс, в течение которого наступает первичная сенсibilизация к конкретному антигену.

Приобретенный (адаптивный) иммунитет – иммунный ответ, основную роль в осуществлении которого играют лимфоциты; характеризуется антигенной специфичностью и памятью.

Простагландины – жирные кислоты, которые образуются из арахидоновой кислоты; способны усиливать проницаемость сосудов и вызывать лихорадку; могут как стимулировать, так и ингибировать иммунный ответ.

Протеосома – ферментный комплекс, содержащий протеолитические ферменты и находящийся в цитоплазме клеток; участвует в процессировании (переваривании) цитозольных белков.

Р

Рассеянный склероз – хроническое аутоиммунное заболевание, при котором поражается миелиновая оболочка нервных волокон головного и спинного мозга.

Реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) – иммунная реакция клеточного типа, развивающаяся при трансплантации Т-лимфоцитов в условиях тканевой несовместимости донора и реципиента. Обусловлена иммунным ответом трансплантированных Т-клеток против антигенов МНС хозяина.

Ревматоидный артрит – системное воспалительное заболевание соединительной ткани с преимущественным поражением мелких суставов по типу эрозивно-деструктивного полиартрита неясной этиологии со сложным аутоиммунным патогенезом.

Рецепторы – молекулы, расположенные как правило, на поверхности клетки или внутри нее. Специфически связывают субстанции (лиганды).

С

С-домен – составная часть константной области иммуноглобулинов и антигенраспознающих рецепторов; каждый домен включает более 100 аминокислотных остатков, замкнутых на себя дисульфидной (-S-S-) связью; С-домены не принимают участия в распознавании антигена, однако выполняют иные физиологические функции: связывание комплемента, взаимодействие с Fc-рецептором, прохождение через эндотелиальные барьеры.

Серология (от лат. serum – сыворотка) – наука о свойствах сыворотки крови.

Системная красная волчанка – системное воспалительное заболевание, связанное с продукцией аутоантител и иммунных комплексов к собственным тканям организма.

Склеродермия – заболевание соединительной ткани, основные проявления которого связаны с нарушением кровоснабжения и уплотнением органов и тканей. Среди больных преобладают женщины (приблизительное соотношение женщин и мужчин — 6:1).

Специфичность – свойство антигенов, обусловленное структурой распознающих участков антител и рецепторов антигенов.

Т

Т-лимфоциты – разновидность лимфоцитов, проходят дифференцировку в тимусе. Эффекторы клеточного иммунитета. Т-лимфоциты имеют размер 6 – 6,5 мкм, округлое, компактное и интенсивно окрашенное ядро и узкий ободок цитоплазмы. Перинуклеарная область выражена слабо или отсутствует. Клетки

содержат кислую фосфатазу. Т-лимфоциты – долгоживущие и радиоустойчивые клетки.

Тельца Гассала – скопления эпителиальных клеток, продуцирующих гормон тимуса – тимозин.

Тимус – лимфоэпителиальный орган, расположенный у млекопитающих в грудной полости непосредственно за грудиной над сердцем. Тимус состоит из двух основных долей, которые делятся на более мелкие дольки. Орган в целом и отдельные дольки заключены в соединительнотканную капсулу, внутренняя полость которой включает эпителиальную сеть, заполненную лимфоцитами.

Х

Хемотаксис – направленное движение клеток, обусловленное действием хемотаксических агентов.

Э

Экзема – аутоиммунное острое или хроническое незаразное воспалительное заболевание кожи, характеризующееся разнообразной сыпью, чувством жжения, зудом и склонностью к рецидивам.

Эпитоп (антигенная детерминанта) – часть молекулы антигена, обычно характеризующаяся структурной индивидуальностью, которая обуславливает специфичность антител и эффекторных Т-клеток, образующихся в процессе иммунного ответа.

Эозинофилы обладают меньшей фагоцитарной активностью, менее подвижны. В периферической крови содержится не более 1 % всей популяции эозинофилов, живут они в кровотоке не более 10 часов, после чего поступают в ткани и осуществляют там свои защитные функции в течение 1 – 2 дней, затем погибают. Их роль – регуляция сосудисто-инфильтративной фазы воспаления через контроль выделения гистамина и других биологически активных веществ базофилами и тучными клетками. Эозинофилы нейтрализуют избыточно выброшенный гистамин.

Рекомендуемые тестовые задания

Тема 1 Антигены

<p>Активный центр антигена называется: паратоп эпитоп гаптен аллерген</p>	<p>Неполноценные антигены обладают свойством: иммуногенностью специфичностью валентностью клональностью</p>
<p>Какие клетки способны специфически распознать антиген? нейтрофилы лимфоциты базофилы эозинофилы</p>	<p>Иммунологическая неспособность взаимодействовать с антигенами собственного организма называется: аллергия толерантность элиминация чужеродность</p>
<p>Специфическая повышенная вторичная иммунная реакция организма на аллерген: иммунологическая память иммунологическая толерантность иммунологический ответ аллергия</p>	<p>Неинфекционными аллергенами могут быть антигены: бактерий грибов растений паразитов</p>
<p>Антиген может проникнуть в организм: путем фагоцитоза через слизистые через поврежденный эпителий любым из перечисленных путей</p>	<p>Агглютиногены А и В находятся в: плазме лейкоцитах эритроцитах нейтрофилах</p>
<p>В крови четвертой группы содержатся: агглютинины α и β агглютиногены А и В агглютиногены А и агглютинины β агглютиногены В и агглютинины α</p>	<p>Резус-антиген входит в состав: плазмы лейкоцитов тромбоцитов эритроцитов</p>

<p>Агглютинины α и β входят в следующую составную часть крови:</p> <p>эритроциты лейкоциты тромбоциты плазму</p>	<p>Фактор, от которого зависит степень иммуногенности антигена:</p> <p>химический состав эпитопа пространственная структура эпитопа количество эпитопов все перечисленное верно</p>
<p>Вещества, усиливающие иммуногенность антигенов:</p> <p>гаптены адьюванты липиды лектины</p>	<p>Способность антигена к специфическому взаимодействию с рецепторами клеток системы иммунитета:</p> <p>иммуногенность антигенность специфичность все перечисленное верно</p>

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ В.СКОРИНЫ

Тема 2 Антитела

<p><i>Активный центр антитела:</i> паратоп эпитоп гаптен аллерген</p>	<p><i>Плазматические клетки</i> происходят из: предшественников В-клеток В-лимфоцитов Т-хелперов Т-супрессоров</p>
<p><i>Антитела синтезируются:</i> плазмочитами Т-хелперами Т-супрессорами макрофагами</p>	<p><i>При первичном иммунном ответе:</i> первыми вырабатываются IgM сразу синтезируются IgG синтез Ig A синтез Ig E</p>
<p><i>Антиген связывается с антителом фрагментом</i> Fab Fc V C</p>	<p><i>Иммуноглобулины класса IgG:</i> первые, которые появляются после внедрения антигена отвечают за аллергические реакции составляют 75% всех иммуноглобулинов сыворотки крови отвечают за местный иммунитет</p>
<p><i>Иммуноглобулины класса G являются:</i> пентамерами димерами мономерами тримерами</p>	<p><i>Антитела синтезируются в:</i> нейтрофилах базофилах эозинофилах лимфоцитах</p>
<p><i>Первая фаза образования антител:</i> лаг-фаза лог-фаза спада стабилизации</p>	<p><i>Аффинность – это:</i> степень прочности связи антитела с соответствующим антигеном степень прочность связи между отдельными антидетерминантами прочность связи тяжелых и легких цепей прочность связи между отдельными детерминантами</p>

<p><i>Генетическая предрасположенность к синтезу большого количества Ig E:</i></p> <p>атопия аллергия идеосинক্রазия сенсбилизация</p>	<p><i>Иммуноглобулин, обладающий способностью проходить через плаценту:</i></p> <p>Ig G IgA IgD IgM</p>
<p><i>По химической природе антитела относят к:</i></p> <p>белкам липополисахаридам альбуминам иммуноглобулинам</p>	<p><i>Обнаружение у плода антител этого класса указывает на внутриматочную инфекцию:</i></p> <p>Ig D Ig A Ig M Ig E</p>

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф.СКОРИНЬКО

Тема 3 Виды иммунитета

<p>Естественный иммунитет характеризуется: специфичностью наличием памяти неспецифичностью приобретается после контакта с антигеном</p>	<p>После введения вакцин формируется: искусственный пассивно приобретенный иммунитет нестерильный иммунитет стерильный иммунитет искусственный активно приобретенный иммунитет</p>
<p>После перенесенного заболевания формируется: естественный пассивно приобретенный иммунитет искусственный пассивно приобретенный иммунитет естественный активно приобретенный иммунитет искусственный активно приобретенный иммунитет</p>	<p>При полной элиминации возбудителя из организма после перенесенного заболевания, формируется: индивидуальный иммунитет нестерильный иммунитет стерильный иммунитет сывороточный иммунитет</p>
<p>Активно приобретенный иммунитет становится достаточно напряженным: через 14 суток сразу же после поступления антител в организм через 2 суток через 60 суток</p>	<p>Вторичный иммунный ответ обеспечивается: Т-лимфоцитами макрофагами лейкоцитами клетками памяти</p>
<p>Фермент, обладающий сильным растворяющим действием в отношении муреина клеточных стенок бактерий, называется: нейроминидаза гемолизин лизоцим сурфактант</p>	<p>Активация системы комплемента чаще происходит по: классическому пути альтернативному пути одинаково часто по обоим путям пентозофосфатному пути</p>

<p>Фагоцитоз, при котором происходит гибель фагоцитированного микроба, называется:</p> <p>незавершенным</p> <p>завершенным</p> <p>полным</p> <p>неполным</p>	<p>Третья фаза фагоцитарного процесса называется:</p> <p>хемотаксис</p> <p>поглощение</p> <p>прилипание</p> <p>переваривание</p>
<p>Вторичный иммунный ответ:</p> <p>значительно сильнее первичного</p> <p>слабее первичного</p> <p>одинаков по силе с первичным</p> <p>развивается медленнее, чем первичный</p>	<p>Специфическая</p> <p>адекватность организма в результате предшествующего контакта с антигеном называется:</p> <p>иммунологическая память</p> <p>иммунологическая</p> <p>толерантность</p> <p>гипоаллергия</p> <p>гипераллергия</p>

Тема 4 История развития иммунологии

<p>Основоположник иммунологии, в 1796 году эмпирически открывший способ предохранения от натуральной оспы</p> <p>Л. Пастер Э. Дженнер Р. Кох П. Эрлих</p>	<p>Ученый, открывший изоантигены групп крови:</p> <p>П. Медавр Э. Беринг П. Эрлих К. Ландштайнер</p>
<p>Основоположник клеточной теории иммунитета:</p> <p>И. Мечников Н. Чистович Э. Дженнер Р. Кох</p>	<p>Автор клонально-селекционной теории иммунитета:</p> <p>Ф. Бернет Н. Эрне П. Эрлих Т. Морган</p>
<p>Основоположник экспериментальной иммунологии:</p> <p>Пастер Мечников Павлов Дженнер</p>	<p>Исследователь, открывший общий принцип стимуляции иммунитета с помощью вакцин:</p> <p>Дженнер Пастер Миллер Эрлих</p>
<p>Создатель клонально-селекционной теории иммунитета:</p> <p>Тизелиус Келер Бернет Кэбот</p>	<p>Исследователь, доказавший зависимость иммунного ответа от тимуса:</p> <p>Миллер Кох Бернет Келер</p>
<p>Создатель клеточной теории иммунитета:</p> <p>Ландштейнер Эрлих Мечников Снелл</p>	<p>Открытие явления анафилаксии принадлежит:</p> <p>Медавру, Гашеку Рише, Портье Бернету, Эрне Тизелиусу, Кэботу</p>

Теорию боковых цепей сформулировал: Ландштейнер Эрлих Монтанье Брейль	Учение об иммунологической толерантности сформулировали: Келер, Мильштайн Медавар, Гашек Бернет, Медавар Келер, Эрне
---	--

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

Рекомендуемая литература

Основная

- 1 Вершигора, А.Е. Общая иммунология / А.Е. Вершигора. – Киев: Выща школа, 1990.
- 2 Галактионов, В.Г. Иммунология / В.Г. Галактионов. М.: Академия, 2004.
- 3 Павлович, С.А. Основы иммунологии / С.А. Павлович. – Мн.: Вышэйшая школа. 1997.
- 4 Ройт, А. Основы иммунологии / А. Ройт – М.: Мир. 1991.
- 5 Ройт, А. Основы иммунологии / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д.Мейл. – М.: Мир, 2000.
- 6 Ярилин, А.А. Основы иммунологии / А.А. Ярилин. – М.: Медицина, 1999.

Дополнительная

- 1 Галактионов, В.Г. Очерки эволюционной иммунологии. / В.Г. Галактионов. – М.: Наука, 1995.
- 2 Иммунология / под ред. У.Пола. – М.: Мир, Т.1-3, 1987.
- 3 Медуницин, Н.В. Вакцинология. / Н.В. Медуницин. – М.: Триада-Х. 1999.
- 4 Микробиология с вирусологией и иммунологией: учеб.пособие / С.А. Павлович. – 3-е изд., испр. – Минск: Выш.шк., 2013. – 799 с.
- 5 Павлович, С.А. Медицинская микробиология: Практикум. / С.А. Павлович, К.Д. Пяткин. Мн.: Вышэйшая школа, 1993.
- 6 Практикум по иммунологии. / Под ред. И.А. Кондратьева, А.А. Ярилина. – М.: Академия, 2004.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ